Review Article

Platelet-Derived Extracellular Vesicles: A New Generation of Drug Carriers

Fardad Farzaneh[1], Masoumeh Sadeghi[1], Kamran Mousavi Hosseini[1], Massoud Vosough[2], Mahsa Salehi[1]

[1]Biological Products and Blood Safety Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran
[2]Department of Regenerative Medicine, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran

Received: 2026/06/27
Accepted: 2026/08/25

http://dx.doi.org/10.66224/bloodj.23.2.173

Citation:
Farzaneh F, Sadeghi M, Mousavi Hosseini K, Vosough M, Salehi M. Platelet-Derived Extracellular Vesicles: A New Generation of Drug Carriers. J Iran Blood Transfus. 2026: 23 (2): 173-190

Correspondence: Vosough M, Department of Regenerative Medicine, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR.
P.O.Box: 1665664511, Tehran, Iran.
Tel: (+9821) 22518388
E-mail:
massoud.vosough@gmail.com
Correspondence: Salehi M, Biological Products and Blood Safety Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.
P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran.
Tel: (+9821) 88601573
E-mail:
s.mahsasalehi@gmail.com

ABSTRACT

Background and Objectives

Platelet-derived extracellular vesicles (PEVs) are lipid-bilayer membrane-enclosed particles released by platelets into the extracellular space. They carry a diverse array of bioactive molecules, including proteins, metabolites, coagulation factors, cytokines, lipids, and miRNAs. Through the transfer of these bioactive cargos to recipient cells, PEVs participate in various physiological and pathological processes, including hemostasis, inflammation, regulation of immune responses, and tissue repair. Their lack of nuclear DNA, intrinsic biological activity, and potential for relatively large-scale, and cost-effective isolation have attracted increasing attention to PEVs as promising carriers for drug-delivery applications.

Materials and Methods

In this narrative review, relevant studies addressing the biology, molecular composition, functional characteristics, isolation approaches, drug-loading strategies, and drug-delivery applications of PEVs were comprehensively examined. The literature search included articles indexed in reputable databases, including PubMed and Google Scholar.

Results

PEVs have demonstrated potential for delivering a broad range of therapeutic cargos, including chemotherapeutic agents, miRNAs, antivirals, and anti-inflammatory agents to target cells. The delivery of drugs using PEVs may improve drug stability, enhance cellular uptake, and increase therapeutic efficacy while reducing undesirable side effects. However, the lack of standardized isolation methods and drug-loading procedures remains an important obstacle. Moreover, the stability of PEVs during storage should be further investigated.

Conclusions

Despite the considerable potential of PEVs as drug-delivery carriers, their successful clinical application will require standardization and optimization of isolation methods and drug-loading techniques. Further studies are needed to comprehensively evaluate their safety profile, particularly their procoagulant activity and potential risk of thrombosis, as well as possible immunogenicity following repeated administration. Additional investigations are also required to determine optimal storage conditions that preserve vesicular structural integrity and biological activity during long-term storage.

Keywords: Extracellular vesicles, Drug Delivery Systems, Exosomes, Blood Platelets

Copyright © 2025 Journal of Iranian Blood Transfusion, Published by Blood Transfusion Research Center.
This work is licensed under a Creative Common Attribution-Non Commercial 4.0 International license.

فصلنامه پژوهشی خون
دوره ۲۳ شماره ۲ تابستان ۱۴۰۵ (۱۹۰-۱۷۳)

مقاله مروری

وزیکول‌های خارج‌سلولی مشتق از پلاکت: نسل جدید حامل‌های دارورسانی

فرداد فرزانه[۱]، معصومه صادقی[۱]، کامران موسوی حسینی[۲] ، مسعود وثوق[۳] ، مهسا صالحی[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست فناوری پزشکی- مرکز تحقیقات فرآورده‌های بیولوژیک و سلامت خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۲- دکترای تخصصی شیمی دارویی ـ استاد مرکز تحقیقات فرآورده‌های بیولوژیک و سلامت خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۳- دکترای تخصصی زیست فناوری پزشکی ـ دانشیار پژوهشگاه رویان ـ پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی ـ مرکز تحقیقات علوم سلولی ـ گروه پزشکی بازساختی ـ تهران ـ ایران
۴- دکترای تخصصی زیست فناوری پزشکی ـ استادیار مرکز تحقیقات فرآورده‌های بیولوژیک و سلامت خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۴/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۰۳

http://dx.doi.org/10.66224/bloodj.23.2.173

Citation:
Farzaneh F, Sadeghi M, Mousavi Hosseini K, Vosough M, Salehi M. Platelet-Derived Extracellular Vesicles: A New Generation of Drug Carriers. J Iran Blood Transfus. 2026: 23 (2): 173-190

نویسنده مسئول:
دکتر مسعود وثوق. دانشیار پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی ـ مرکز تحقیقات علوم سلولی ـ گروه پزشکی بازساختی ، تهران ـ ایران
صندوق پستی: ۱۶۶۵۶۶۴۵۱۱
E-mail: massoud.vosough@gmail.com

نویسنده مسئول:
دکتر مهسا صالحی. استادیار مرکز تحقیقات فرآورده‌های بیولوژیک و سلامت خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران ـ ایران
صندوق پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷
E-mail: s.mahsasalehi@gmail.com

کد اخلاق:
IR.TMI.REC.1404.038

چکیده

سابقه و هدف

وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت ذرات احاطه شده با غشای دولایه لیپیدی هستند که توسط پلاکت‌ها به فضای خارج سلولی رهاسازی شده و مجموعه‌ای متنوع از پروتئین‌ها، فاکتورهای انعقادی، سایتوکاین‌ها، لیپیدها و miRNAها را حمل می‌کنند. این وزیکول‌ها با انتقال محتوای خود به سلول‌های هدف، در فرآیندهای مهمی مانند هموستاز، التهاب، تنظیم پاسخ ایمنی و ترمیم بافت نقش‌آفرینی می‌کنند. با توجه به عدم وجود DNA هسته‌ای و امکان جداسازی در مقیاس بزرگ و با هزینه پایین، وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به‌عنوان حامل‌های نویددهنده در دارورسانی مطرح شده‌اند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مروری نقلی، مقاله‌های مرتبط با زیست‌شناسی، محتوای مولکولی، ویژگی‌های عملکردی، روش‌های جداسازی و بارگذاری دارو، و هم‌چنین کاربردهای دارورسانی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت که در پایگاه‌های معتبر از جمله PubMed و Google Scholar نمایه شده بودند، به صورت جامع مورد تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت، پتانسیل قابل توجهی برای انتقال طیف گسترده‌ای از محموله‌های درمانی، از جمله عوامل شیمی درمانی، miRNAها، عوامل ضد ویروسی و عوامل ضد التهابی به سلول‌های هدف نشان داده‌اند. انتقال داروها با استفاده از این وزیکول‌ها در حالی که می‌تواند موجب بهبود پایداری دارو، افزایش برداشت سلولی و ارتقای اثربخشی درمانی شود، عوارض جانبی نامطلوب را کاهش می‌دهد. با این حال، نبود روش‌های استاندارد برای جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی و فرآیندهای بارگذاری دارو هم‌چنان از موانع مهم در توسعه و کاربرد این سامانه‌های دارورسانی محسوب می‌شود. علاوه بر این، بررسی پایداری وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت در طول دوره ذخیره‌سازی نیز ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه گیری

علی‌رغم پتانسیل بالای وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت برای بهره‌برداری به عنوان حامل‌های دارورسانی، استفاده بالینی موفق از آن‌ها مستلزم استانداردسازی روش‌های جداسازی و بارگذاری دارو است. علاوه بر این، انجام پژوهش‌های بیشتر برای تعیین شرایط بهینه نگهداری که بتواند یکپارچگی ساختاری و فعالیت زیستی وزیکول‌ها را در طول ذخیره‌سازی طولانی مدت حفظ کند، نیز ضروری است. هم‌چنین، تحقیقات گسترده‌تر آزمایشگاهی و پیش بالینی برای ارزیابی ایمنی و اثربخشی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: وزیکول‌های خارج سلولی، سیستم‌های دارورسانی، اگزوزوم، پلاکت

مقدمه

در سال‌های اخیر، علی‌رغم پیشرفت‌های قابل توجه در توسعه داروهای نوین، بخش زیادی از ترکیبات دارویی هم‌چنان با چالش‌هایی نظیر حلالیت پایین در محیط‌های آبی، فراهمی زیستی ناکافی، پایداری محدود و توزیع غیر اختصاصی روبه‌رو هستند (۲، ۱). از این رو ارائه راه‌کارهایی مؤثر جهت غلبه بر این چالش‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. در این راستا، در سال‌های اخیر نانوساختارها، شامل نانو ذرات پلیمری، لیپوزوم‌ها، دندریمرها، میسل‌ها، نانوامولسیون‌ها و دیگر حامل‌های نانویی، به طور گسترده به عنوان سیستم‌های دارورسانی توسعه یافته‌اند (۳). اگرچه این نانوحامل‌ها توانسته‌اند از طریق غلبه بر محدودیت‌های ذکر شده، به صورت قابل توجهی منجر به بهبود اثرات داروها شوند، با این حال کاربرد بالینی گسترده آن‌ها به دلیل چالش‌های بالقوه‌ای مانند سمیت و تحریک سیستم ایمنی محدود می‌باشد. بر این اساس، دستیابی به سیستم‌های نوین دارورسانی که بتوانند بر چالش‌های موجود غلبه کنند از اهمیت بالایی برخوردار است. در این راستا اخیراً، وزیکول‌های خارج سلولی به عنوان نسل جدید حامل‌های دارورسانی معرفی شده‌اند.

وزیکول‌های خارج سلولی ذرات غشادار فاقد توانایی همانندسازی هستند که توسط انواع مختلف سلول‌ها تولید و به فضای خارج سلولی و مایعات زیستی آزاد می‌شوند. این ذرات به واسطه حمل مولکول‌های عملکردی مختلف مثل پروتئین‌ها، متابولیت‌ها، لیپیدها، قندها و مواد ژنتیکی مانند DNA ، mRNA و RNA های غیر کدکننده، از سلول‌های دهنده به سلول‌های گیرنده نقش مهمی را در ارتباط سلول-سلول ایفا می‌کنند (۱۰-۴). به علاوه مشخص شده است که آن‌ها از طریق برهمکنش با سلول‌های هدف و انتقال محموله خود در طیف گسترده‌ای از فرآیندهای مرتبط با سلامتی و بیماری نیز نقش اساسی دارند (۱۱، ۸، ۵، ۴). بر اساس مکانیسم بیوژنز، وزیکول‌های خارج سلولی به سه دسته میکروووزیکول‌ها (۱۰۰۰-۱۰۰ نانومتر)، اگزوزوم‌ها (۱۲۰-۵۰ نانومتر) و اجسام آپوپتوتیک (۵۰۰-۵۰ نانومتر) تقسیم می‌شوند. بخشی از وزیکول‌های خارج سلولی از طریق جوانه‌زنی رو به بیرون غشای پلاسمایی تشکیل می‌شوند که معمولاً با عنوان میکروووزیکول‌ها یا اکتوزوم‌ها شناخته می‌شوند (۱۲، ۱۱، ۸، ۵). در مسیر دیگر، جوانه‌زنی رو به داخل غشای اندوزومی منجر به تشکیل اجسام چند وزیکولی شده و با ادغام این اجسام با غشای پلاسمایی، اگزوزوم‌ها به فضای خارج سلولی آزاد می‌شوند (۸، ۶، ۵). گروهی دیگر از وزیکول‌های خارج سلولی اجسام آپوپتوتیک هستند که به دنبال مرگ برنامه‌ریزی شده (آپوپتوز) سلول‌ها تشکیل می‌شوند (۱۴، ۱۳). به دلیل هم‌پوشانی قابل توجهی که میان ویژگی‌های بیوفیزیکی و بیوشیمیایی این ذرات وجود دارد، در حال حاضر و با استفاده از روش‌های موجود، تشخیص قطعی نوع وزیکول‌های خارج سلولی (اگزوزوم، میکروووزیکول یا اجسام آپوپتوتیک) تنها بر اساس اندازه یا مارکرهای سطحی بسیار دشوار است . به همین علت، انجمن بین‌المللی وزیکول‌های خارج سلولی (International Society for Extracellular Vesicles : ISEV)، در آخرین دستورالعمل خود (MISEV2023) توصیه کرده است که پژوهشگران به جای به کارگیری اصطلاحات اگزوزوم، اجسام آپوپتیک و میکروووزیکول‌ها از واژه‌ی کلی وزیکول‌های خارج سلولی استفاده کنند (۱۵).

وزیکول‌های خارج سلولی به دلیل برخورداری از مجموعه‌ای از ویژگی‌های منحصر به فرد، به عنوان نانوحامل‌های زیستی امید بخشی برای انتقال داروها و طیف گسترده‌ای از مولکول‌های زیست فعال مورد توجه قرار گرفته‌اند. یکی از مهم‌ترین مزایای آن‌ها، زیست‌سازگاری بالاتر در مقایسه با بسیاری از نانوذرات مصنوعی است که می‌تواند احتمال بروز سمیت را کاهش دهد. هم‌چنین آن‌ها تحریک کننده سیستم ایمنی نیستند که در نتیجه، امکان باقی ماندن نسبتاً طولانی‌تر آن‌ها در گردش خون فراهم می‌شود. تولید طبیعی وزیکول‌های خارج سلولی توسط طیف وسیعی از سلول‌ها نیز ظرفیت مناسبی برای دسترسی و جداسازی آن‌ها فراهم می‌کند. از سوی دیگر، ساختار غشایی دولایه لیپیدی وزیکول‌های خارج سلولی از محموله درونی آن‌ها در برابر عوامل تخریب کننده محیط خارج سلولی محافظت کرده و امکان انتقال پایدار ترکیبات مختلف را فراهم می‌سازد. علاوه بر این، وجود مولکول‌های سطحی می‌تواند به آن‌ها نوعی تمایل ذاتی برای برهم‌کنش با سلول‌های خاص یا بافت‌های مشخص، موسوم به تروپیسم، اعطا کند. وزیکول‌های خارج سلولی برای هدف قراردادن سرطان نیز مزیت زیادی دارند چرا که اتصال و ورود آن‌ها به درون سلول‌های توموری به‌میزان قابل توجهی بیش‌تر از نانوذرات مصنوعی با اندازه مشابه است. هم‌چنین، ویژگی‌های غیر طبیعی عروق توموری و افزایش نفوذپذیری عروقی می‌تواند تجمع این ذرات را در بافت تومور نسبت به بافت‌های سالم افزایش دهد (۱۸-۱۶).

در سال‌های اخیر پژوهش‌های متعددی به بررسی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از رده‌های سلولی مختلف و امکان استفاده از آن‌ها به عنوان سامانه‌های انتقال دارو و سایر ترکیبات زیستی پرداخته‌اند (۲۲-۱۹). اگر چه نتایج حاصل از این مطالعات نشان دهنده ظرفیت قابل توجه وزیکول‌های خارج سلولی در حوزه دارورسانی است، چالش‌های مرتبط با مقیاس پذیرکردن (وقت‌گیر بودن و هزینه بالای کشت سلول در مقیاس بالا) و بی‌خطری آن‌ها از موانع مهم در توسعه و ورود این ناقل‌های کارآمد به بالین است. به طور کلی، جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از رده‌های سلولی مختلف یا نمونه‌های بیماران در مقیاس مورد نیاز برای تولید تجاری فرآورده‌های دارویی، با محدودیت‌های قابل توجهی همراه است. از این رو، دستیابی به منابعی در دسترس و مقیاس‌پذیر که امکان تولید مقادیر بالای وزیکول‌های خارج سلولی را فراهم کنند و در عین حال الزامات مربوط به ایمنی و بی‌خطر بودن را برآورده سازند، می‌تواند بخش قابل توجهی از چالش‌های موجود در مسیر توسعه و تجاری‌سازی این سامانه‌های دارورسانی را برطرف کند (۲۳). در این راستا وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان حامل‌های نوید دهنده‌ای معرفی شده‌اند. دارورسانی به وسیله وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت مزایای زیادی دارد. پلاکت‌ها فاقد DNA هسته‌ای هستند بنابراین نگرانی درخصوص انتقال ژن‌های ناخواسته و یا معیوب از طریق وزیکول‌های خارج سلولی مشتق شده از آن‌ها وجود ندارد. هم‌چنین سال‌هاست که پلاکت‌ها به صورت گسترده در مراکز درمانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و بنابراین ایمنی بالقوه‌ای دارند. به علاوه آن‌ها به راحتی از مراکز انتقال خون قابل تهیه هستند و بنابراین نیازی به زیر ساخت‌های لازم برای کشت سلول نیست. افزون براین جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت در مقیاس بالا با هزینه‌ی کم امکان-پذیر است (۲۵، ۲۴).

بر این اساس، هدف از مقاله مروری نقلی حاضر ارائه یک بررسی جامع از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان نسل جدیدی از سامانه‌های دارورسانی است. در این راستا، ویژگی‌های زیستی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت، روش‌های جداسازی و بارگذاری دارو، کاربردهای درمانی آن‌ها در بیماری‌های مختلف، و هم‌چنین چالش‌های ترجمه بالینی آن‌ها مورد بحث قرار می‌گیرد تا چارچوبی یکپارچه برای توسعه و بهره‌برداری بالینی از این حامل‌های نوین فراهم شود.

۲- وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت: محتویات و خصوصیات عملکردی

وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت حامل مجموعه‌ای غنی از مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌های غشایی پلاکتی، فاکتورهای انعقادی، سایتوکین‌ها، microRNAها و دیگر مولکول‌های زیست فعال هستند که بازتابی از وضعیت عملکردی پلاکت‌های مادری محسوب می‌شوند. پس از رهایش آن‌ها به محیط خارج سلولی و یا مایعات بیولوژیک بدن، این وزیکول‌ها به انواع مختلفی از سلول‌ها از جمله سلول‌های اندوتلیال، ایمنی و توموری وارد شده و نقش‌های عملکردی مهمی را میانجی‌گری می‌کنند (۲۷، ۲۶). وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت نقش مهمی در هموستاز دارند. به علاوه آن‌ها به واسطه حضور فسفاتیدیل سرین و فاکتورهای انعقادی مانند فاکتور V و فاکتور VIII ، قادر به فعال‌سازی آبشارهای انعقادی هستند، که این ویژگی آن‌ها را به جزء مؤثری در فرآیند انعقاد خون تبدیل می‌کند (۲۹، ۲۸). در حوزه ایمنی و التهاب، وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت می‌توانند پاسخ‌های ایمنی را تنظیم کنند. آن‌ها با انتقال سایتوکین‌ها و miRNAها، توانایی تقویت یا تعدیل فعالیت سلول‌های ایمنی را دارند و به این ترتیب در فرآیندهای التهابی و پاسخ به آسیب نقش دارند (۳۰، ۲۷). آن‌ها با سلول‌های اندوتلیال نیز تعامل فعالی برقرار می‌کنند و به واسطه حمل مولکول‌های چسبندگی مشتق از پلاکت، از جمله P-selectin و انواعی از اینتگرین‌ها، توانایی اتصال به اندوتلیوم آسیب دیده را دارند. علاوه بر این، این وزیکول‌ها به دلیل دارا بودن مجموعه‌ای غنی از فاکتورهای رشد و مولکول‌های زیست‌فعال نظیر vascular endothelial growth factor (VEGF) ، platelet-derived growth factor (PDGF) ، basic fibroblast growth factor (b-FGF) و transforming growth factor-β (TGF-β) قادرند مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با تکثیر، مهاجرت و بقای سلول‌های اندوتلیال را فعال کرده و در نتیجه فرآیندهای آنژیوژنز، بازسازی عروقی و ترمیم بافتی را تقویت کنند. بر این اساس، وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان پیام رسان‌های زیستی مهم در تنظیم پاسخ‌های ترمیمی عمل کرده و پتانسیل قابل‌توجهی برای کاربرد در پزشکی بازساختی و راهبردهای نوین درمانی دارند (۳۰، ۲۵).

فعال‌سازی پلاکت‌ها مرحله‌ای اساسی در بیوژنز وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت محسوب می‌شود. مولکول‌هایی مانند کلاژن، ترومبین و Adenosine (ADP) diphosphate از آگونیست‌های مهم در این فرایند هستند و مطالعه‌های اخیر نشان داده‌اند که نوع آگونیست استفاده شده می‌تواند بر میزان آزادسازی، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، محتوای مولکولی و در نهایت عملکرد زیستی این وزیکول‌ها تأثیر بگذارد (۳۲، ۳۱). بر این اساس، در مطالعه‌ای نشان داده شد که تحریک پلاکت‌ها با محرک‌های متفاوت می‌تواند جمعیت‌هایی از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت با ویژگی‌های مولکولی و عملکردی متمایز ایجاد کند (۳۱).

در این مطالعه، وزیکول‌های خارج سلولی حاصل از تحریک پلاکت با ترومبین با وزیکول‌های خارج سلولی تولید شده در اثر تماس پلاکت‌ها با سلول‌های سرطان پستان مقایسه شدند و نتایج نشان داد که اگرچه هر دو محرک قادر به القای آزادسازی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت هستند، اما محتوای پروتئینی مرتبط با این وزیکول‌ها متفاوت است. از نظر عملکردی نیز هر دو نوع وزیکول موجب کاهش مهاجرت سلول‌های Jurkat و افزایش آپوپتوز شدند، در حالی که وزیکول‌های خارج سلولی حاصل از پلاکت‌های القا شده با ترومبین علاوه بر این اثرات، نکروز سلولی را نیز افزایش دادند که نشان‌دهنده تفاوت در ماهیت زیستی وزیکول‌های تولید شده تحت شرایط فعال‌سازی مختلف است. در مطالعه‌ای دیگر که بر روی پلاسمای غنی از پلاکت انجام شد، اثر روش‌های مختلف فعال‌سازی پلاکت بر تولید و عملکرد وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت بررسی گردید (۳۲).

نتایج این تحقیق نشان داد که ترکیب ترومبین و کلسیم گلوکونات نسبت به هر یک از این محرک‌ها به تنهایی، موجب افزایش بیشتر آزادسازی وزیکول‌های خارج سلولی می‌شود و وزیکول‌های حاصل از این نوع فعال‌سازی توانایی بالاتری در افزایش مهاجرت سلول‌های اندوتلیال، تقویت تشکیل ساختارهای شبه عروقی و فعال‌سازی مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با آنژیوژنز دارند. علاوه بر این، تفاوت‌هایی در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و محتوای فاکتورهای رشد وزیکول‌های خارج سلولی تولید شده تحت شرایط فعال‌سازی مختلف مشاهده شد. بنابراین، فعال‌سازی پلاکت‌ها با انواع مختلف اگونیست‌ها می‌تواند منجر به دستیابی به وزیکول‌هایی با ویژگی‌های زیستی متفاوت شود؛ موضوعی که اهمیت مطالعه این فرآیند را برای دستیابی به وزیکول‌هایی با خصوصیات مطلوب در کاربردهای دارورسانی بیش از پیش برجسته می‌سازد.

۳- روش‌های جداسازی و تعیین خصوصیت وزیکول‌های خارج‌سلولی مشتق از پلاکت

یکی از گام‌های اساسی جهت مطالعه‌های پایه و یا کاربردهای بالینی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت، جداسازی آن‌ها می‌باشد. این وزیکول‌ها را می‌توان از پلاسمای غنی از پلاکت و هم‌چنین از کنسانتره‌های پلاکتی موجود در انتقال خون جداسازی کرد. تاکنون روش‌های مختلفی توسعه پیدا کرده‌اند که از خصوصیات مختلف وزیکول‌های خارج سلولی از جمله اندازه، دانسیته و... برای جداسازی آن‌ها از سایر اجزا بهره می‌برند. اولتراسانتریفیوژ افتراقی یکی از روش‌های محبوب برای جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی می‌باشد (۳۶-۳۳). در این روش به وسیله تنظیم دورهای مختلف سانتریفیوژ در زمان‌های مختلف، اجزای سلولی و در نهایت وزیکول‌های خارج سلولی جداسازی می‌شوند. (۳۴، ۳۳، ۲۷). اگر چه این روش امکان پردازش حجم‌های بالا از نمونه را فراهم می‌کند، با این حال دور بالای سانتریفیوژ و اعمال نیروی گریز از مرکز بالا می‌تواند موجب تجمع وزیکول‌ها و آسیب به آن‌ها شود. به علاوه مطالعه‌های متعددی نشان داده‌اند که این روش با هم‌رسوبی قابل توجه پروتئین‌های محلول و لیپوپروتئین‌ها، به ویژه Low-Density Lipoprotein (LDL) و (VLDL) Very Low-Density Lipoprotein همراه است که خلوص نهایی وزیکول‌های خارج سلولی را کاهش می‌دهد (۳۸، ۳۷، ۳۵، ۳۴). در این راستا برای دستیابی به وزیکول‌هایی با خلوص بالاتر، استفاده از سانتریفیوژ گرادیان چگالی با موادی مانند سوکروز یا یودیکسانول توسعه یافته است که جداسازی را بر اساس چگالی شناوری انجام می‌دهند (۴۱، ۴۰، ۳۹، ۳۳، ۲۷). با این وجود، این روش زمان‌بر بوده و برای کاربردهای بالینی یا در مقیاس بزرگ با محدودیت‌های زیادی مواجه است (۴۲، ۳۴). اخیراً روش کروماتوگرافی مبتنی بر اندازه (size exclusion chromatography; SEC)، به عنوان رویکردی جدید برای دستیابی به وزیکول‌های خارج سلولی با خلوص بالا نیز مورد توجه قرار گرفته است (۴۴، ۴۳، ۲۷). در این روش، جداسازی وزیکول‌ها بر اساس اندازه انجام می‌شود، به طوری که ذرات بزرگ در فرکشن‌های ابتدایی بازیابی شده و پروتئین‌ها و ذرات کوچک‌تر با تأخیر خارج می‌شوند (۴۵، ۳۹). در مقایسه با روش

جدول ۱: روش‌های موجود جهت جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت

روش	اساس	مزایا	معایب
اولتراسانتریفیوژ افتراقی	جداسازی ذرات با اندازه و دانسیته مختلف در دورهای متفاوت سانتریفیوژ	در دسترس، امکان پردازش حجم‌های بالا	تجمع وزیکول‌ها و آسیب به آن‌ها، هم‌رسوبی قابل توجه پروتئین‌های محلول و لیپوپروتئین‌ها
سانتریفیوژ گرادیان چگالی	جداسازی ذرات بر اساس چگالی شناوری به وسیله سانتریفیوژ گرادیان چگالی	تفکیک نسبی وزیکول‌های خارج سلولی از لیپوپروتئین‌ها	زمان‌بر، نیاز به افراد با تجربه و ماهر، محدودیت برای کاربردهای بالینی و مقیاس بزرگ
کروماتوگرافی جداسازی بر اساس اندازه	جداسازی ذرات بر اساس اندازه با استفاده از ستون	کاهش قابل توجه آلودگی پروتئینی و حفظ بهتر یک‌پارچگی ساختاری و عملکرد زیستی وزیکول‌های خارج سلولی	بازده نهایی کم، هم‌پوشانی فراکشن‌ها
فیلتراسیون و اولترافیلتراسیون	جداسازی ذرات بر اساس اندازه به وسیله فیلترهای متخلخل	سریع و نسبتاً ساده	امکان گرفتگی غشا، اعمال تنش مکانیکی به وزیکول‌ها، به دام افتادن وزیکول‌ها در فیلتر، از دست رفتن بخشی از وزیکول‌ها
تمایل ایمنی	جداسازی وزیکول‌ها با به کاربردن آنتی‌بادی علیه مارکرهای سطحی آن‌ها	خلوص بالا، مناسب برای حجم‌های کم نمونه	هزینه بالا، محدودیت مقیاس‌پذیری
رسوب دهی	کاهش حلالیت وزیکول‌ها به وسیله پلیمرهای تجاری	ساده ، ارزان، امکان جداسازی حجم‌های بالای نمونه	آلودگی نمونه با پلیمرهای تجاری، هم‌رسوبی پروتئین‌ها و لیپوپروتئین‌ها

اولتراسانتریفیوژ، کروماتوگرافی مبتنی بر اندازه منجر به کاهش قابل توجه آلودگی پروتئینی و حفظ بهتر یکپارچگی ساختاری و عملکرد زیستی وزیکول‌های خارج سلولی می‌شود، با این حال، بازده نهایی این روش ممکن است کمتر باشد و در صورت عدم بهینه‌سازی شرایط ستون، هم‌پوشانی فرکشن‌ها رخ دهد (۴۶-۴۴). یکی دیگر از روش‌های پرکاربرد، رسوب‌دهی می‌باشد. برای این منظور معمولاً از پلیمرهای تجاری مثل پلی اتیلن گلایکول (Polyethylene glycol, PEG) استفاده می‌شود. در این روش پس از حذف دبری‌های سلولی، نمونه با پلیمر مخلوط شده، وزیکول‌های خارج سلولی به وسیله کاهش حلالیت، رسوب داده شده و در مرحله بعد توسط سانتریفیوژ با سرعت کم جداسازی می‌شوند. روش رسوب‌دهی روشی ساده و ارزان است و هم‌چنین امکان جداسازی حجم‌های بالای نمونه را فراهم می‌کند. با این وجود امکان آلودگی نمونه با پلیمرهای تجاری و پروتئین‌های غیر اختصاصی از معایب این روش می‌باشد (۴۵).

روش‌های فیلتراسیون و اولترافیلتراسیون نیز روش‌های مبتنی بر اندازه هستند و اغلب به عنوان مرحله‌ای جهت تغلیظ وزیکول‌های خارج سلولی به کار می‌روند (۴۲، ۳۳). اگرچه این روش‌ها سریع و نسبتاً ساده هستند، اما امکان گرفتگی غشای فیلتر و اعمال تنش مکانیکی به وزیکول‌ها وجود دارد (۳۵، ۳۳). روش‌های مبتنی بر تمایل، از جمله تمایل ایمنی با استفاده از آنتی‌بادی علیه مارکرهای سطحی وزیکول‌های خارج سلولی یا مارکرهای اختصاصی پلاکتی مانندCD41 ، امکان جداسازی زیر جمعیت‌های خاص از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت را با خلوص بالا فراهم می‌کنند. با این حال، هزینه بالا، محدودیت

مقیاس‌پذیری و احتمال سوگیری در انتخاب زیرجمعیت‌های خاص از جمله چالش‌های اصلی این رویکردها به شمار می‌رود (۴۲، ۳۵، ۲۷). بر این اساس با توجه به محدودیت‌های هرکدام از روش‌های جداسازی، به نظر می‌رسد که ترکیب چندین روش جداسازی، مانند اولتراسانتریفیوژ به دنبال کروماتوگرافی مبتنی بر اندازه یا گرادیان چگالی، راهبردی کارآمد برای دستیابی به تعادلی مناسب میان خلوص و بازده جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت باشد. به صورت خلاصه انواع مختلف روش‌های جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به همراه مزایا و معایب آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

پس از جداسازی، شناسایی، تعیین خصوصیات و مشخصه‌یابی دقیق وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت مطابق با دستورالعمل‌های ISEV ضروری است. بر این اساس تعیین اندازه ذرات معمولاً با آنالیز ردیابی نانو ذرات (Nanoparticle tracking analysis : NTA) انجام می‌شود که امکان ارزیابی توزیع اندازه در محدوده ۳۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر را فراهم می‌کند. با این حال، روش NTA قادر به تمایز وزیکول‌های خارج سلولی از سایر ذرات نیست و استفاده از روش‌های مکمل توصیه می‌شود (۴۸، ۴۷، ۳۳). (DLS) Dynamic Light Scattering با اندازه‌گیری نوسانات شدت نور پراکنده شده ناشی از حرکت براونی ذرات در محلول، اندازه هیدرودینامیکی و پراکندگی اندازه آن‌ها را محاسبه می‌کند. این روش یکی از روش‌های پرکاربرد برای تعیین توزیع اندازه وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت است و به طور گسترده برای اندازه‌گیری ذرات در بازه‌ای حدود ۱ نانومتر تا ۶ میکرومتر به‌کار می‌رود. با این حال، این روش در نمونه‌هایی که دارای جمعیتی با توزیع اندازه ناهمگون هستند، دقت محدودی دارد. افزون بر این، روش DLS اندازه هیدرودینامیک ذرات را اندازه‌گیری می‌کند؛ موضوعی که می‌تواند به برآورد بزرگ‌تر از اندازه واقعی وزیکول‌های خارج سلولی منجر شود (۴۵). ارزیابی مورفولوژی وزیکول‌های خارج سلولی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره (Scanning Electron Microscope : SEM) و میکروسکوپ الکترونی گذاره (Transmission Electron Microscope; TEM) شواهد بصری مستقیمی از ساختار دولایه لیپیدی وزیکول‌ها ارائه می‌دهد و برای تأیید ماهیت آن‌ها ضروری است. با این حال، در این روش نیز آماده‌سازی نمونه ممکن است که موجب تغییر در مورفولوژی وزیکول‌ها شود (۴۷).

در سطح مولکولی، شناسایی مارکرهای سطحی و سیتوزولی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت معمولاً با وسترن بلات، فلوسایتومتری یا آنالیزهای پروتئومیکس انجام می‌شود (۴۹، ۴۷). وجود مارکرهایی مانند CD9 ، CD63 و CD81 به همراه مارکرهای اختصاصی پلاکتی نظیر CD41 یا CD42 برای تأیید منشأ پلاکتی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت توصیه شده است (۴۷، ۴۱). علاوه بر پروتئین‌ها، آنالیز miRNAها، لیپیدها و متابولیت‌ها نیز می‌تواند به عنوان شاخص‌هایی از محتوای عملکردی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت برای تعیین خصوصیت آن‌ها مورد استفاده قرار بگیرد. با این حال در حال حاضر هیچ روش استانداردی برای جداسازی و شناسایی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت معرفی نشده است و بر این اساس انتخاب رویکرد مناسب باید بر اساس هدف مطالعه، نوع آنالیز و کاربرد نهایی انجام می‌شود.

۴- روش‌های بارگذاری دارو در وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت:

کارآیی درمانی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به طور مستقیم به راهبرد بارگذاری دارو وابسته است، زیرا روش بارگذاری می‌تواند بر بازده انتقال، یکپارچگی غشای وزیکولی و عملکرد زیستی این وزیکول‌ها اثر بگذارد. به طور کلی، روش‌های بارگذاری به دو دسته اصلی غیر فعال و فعال تقسیم می‌شوند که هر یک مبتنی بر اصول فیزیکوشیمیایی متفاوتی هستند. در بارگذاری غیر فعال، مولکول درمانی بدون اعمال نیروی خارجی و صرفاً بر اساس گرادیان غلظت، انتشار غشایی و یا برهم‌کنش‌های هیدروفوبیک و الکترواستاتیک به وزیکول‌های خارج سلولی وارد می‌شود. در این رویکرد، نفوذ مولکول‌ها به درون وزیکول تابع ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها از جمله اندازه، بار سطحی و لیپوفیلیسیته است (۵۲-۵۰). ساده‌ترین شکل این روش، انکوباسیون مستقیم دارو با وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت در شرایط کنترل‌شده دما و pH است، که طی آن مولکول‌های کوچک، به‌ویژه ترکیبات هیدروفوبیک، می‌توانند در لایه لیپیدی غشا ادغام شده یا وارد فضای لومن وزیکول شوند. این روش به دلیل عدم دستکاری فیزیکی شدید، ساختار طبیعی وزیکول را تا حد زیادی حفظ می‌کند و خطر تخریب پروتئین‌های سطحی یا از بین رفتن ویژگی‌های بیولوژیک وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت را

جدول ۲: روش‌های بارگذاری دارو در وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت

روش	اساس	مزایا	معایب
انکوباسیون	غیر فعال/ ادغام دارو در لایه لیپیدی غشا و یا ورود به فضای لومن وزیکول	حفظ یکپارچگی ساختاری، کاهش خطر تخریب پروتئین‌های سطحی یا از بین رفتن ویژگی‌های بیولوژیک وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت، ساده و کم خطر	بازده بارگذاری محدود، نامناسب برای داروهای هیدروفیل، نیاز به غلظت اولیه بالاتر دارو
الکتروپوریشن	فعال/ ایجاد منافذ گذرا در غشاء با پالس‌های الکتریکی کوتاه	امکان ورود مولکول‌های بزرگ و باردار	آسیب به ساختار وزیکول
سونیکاسیون	فعال/ ایجاد منافذ موقت در غشا به وسیله امواج فراصوت	بازده بالاتر نسبت به انکوباسیون ساده	تغییر در مورفولوژی وزیکول یا بازآرایی پروتئین‌های غشایی
اکستروژن	فعال/ عبور مخلوط وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت و دارو از فیلترهایی با قطر مشخص، بازآرایی غشا و محصور شدن دارو در وزیکول‌ها	بازدهی قابل قبول	امکان تغییر در توزیع اندازه ذرات و از دست رفتن ویژگی‌های سطحی وزیکول‌ها
چرخه‌های انجماد-ذوب	فعال/ ایجاد تنش حرارتی و ادغام دارو در وزیکول	ساده ، ارزان و در دسترس	تجمع وزیکولی، کارآیی کمتر نسبت به سونیکاسیون یا الکتروپوریشن

کاهش می‌دهد (۵۴، ۵۳، ۵۱، ۵۰).

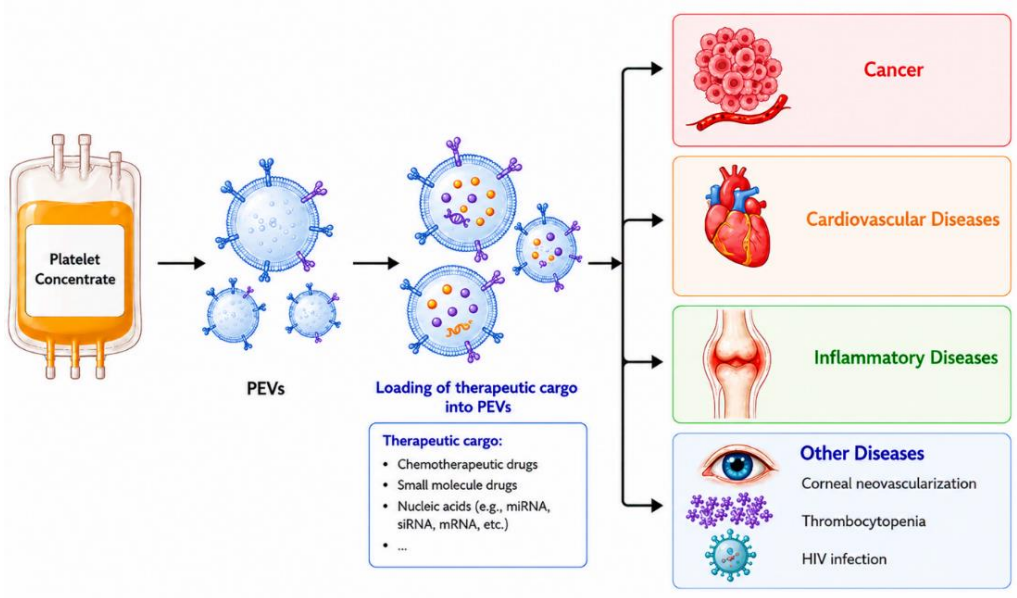
با این وجود، بازده بارگذاری دارو به ویژه برای مولکول‌های بزرگ یا هیدروفیلیک مانند siRNA و پروتئین‌ها که عبور خود به خودی از دولایه لیپیدی برای آن‌ها دشوار است، در روش‌های غیر فعال معمولاً محدود گزارش شده است. با این حال، برای مولکول‌های کوچک و لیپوفیل، این رویکرد هم‌چنان به عنوان روشی ساده و ایمن شناخته می‌شود (۵۳).

روش بارگذاری فعال مبتنی بر اعمال نیروهای فیزیکی یا شیمیایی برای افزایش موقت نفوذپذیری غشای وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت و تسهیل ورود مولکول‌های درمانی است. این رویکرد معمولاً بازده بارگذاری بالاتری نسبت به روش‌های غیر فعال فراهم می‌کند، اما می‌تواند با تغییرات ساختاری در وزیکول همراه باشد (۵۳، ۵۲). الکتروپوریشن یکی از پرکاربردترین روش‌های فعال برای بارگذاری دارو در وزیکول‌های خارج سلولی است، که در آن پالس‌های الکتریکی کوتاه موجب ایجاد منافذ گذرا در غشای وزیکول‌های خارج سلولی می‌شود. این روش امکان ورود مولکول‌های بزرگ را فراهم می‌کند و در مطالعه‌های متعددی نیز به صورت موفقیت آمیزی برای بارگذاری siRNAها به کار رفته است (۵۶-۵۴). با این حال، احتمال تجمع RNA و آسیب به ساختار وزیکول در صورت بهینه‌سازی نامناسب پارامترها وجود دارد (۵۹-۵۶، ۵۴). سونیکاسیون نیز با ایجاد منافذ موقت در غشای وزیکول‌های خارج سلولی از طریق امواج فراصوت باعث افزایش نفوذپذیری می‌شود و برای بارگذاری انواع مختلف داروها به خصوص مولکول‌های بزرگ استفاده شده است. این روش معمولاً بازده بالاتری نسبت به انکوباسیون ساده ایجاد می‌کند، اما همانند الکتروپوریشن می‌تواند موجب تغییر در مورفولوژی وزیکول یا بازآرایی پروتئین‌های غشایی شود (۶۰، ۵۵-۵۳). در روش اکستروژن، مخلوط وزیکول‌های خارج سلولی و دارو از فیلترهایی با قطر مشخص عبور داده می‌شود تا غشاء وزیکول‌های خارج سلولی بازآرایی شده و دارو درون وزیکول‌ها محصور شود. اگرچه این روش می‌تواند بازده بارگذاری قابل قبولی ایجاد کند، اما خطر تغییرات ساختاری و از دست رفتن ویژگی‌های سطحی

طبیعی وجود دارد (۶۱، ۵۳). چرخه‌های انجماد - ذوب نیز از انواع دیگر روش‌های فعال بارگذاری دارو هستند که با ایجاد تنش حرارتی موجب ادغام دارو در وزیکول می‌شوند، اما کارایی آن نسبت به سونیکاسیون یا الکتروپوریشن کمتر گزارش شده و ممکن است موجب تجمع وزیکولی شود (۵۴، ۵۰). به طور کلی، روش‌های فعال برای بارگذاری مولکول‌های بزرگ، هیدروفیل و پروتئین‌ها مناسب‌تر هستند، اما نیازمند بهینه‌سازی دقیق شرایط برای جلوگیری از تخریب غشا، کاهش پایداری یا تغییر خصوصیات زیستی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت می‌باشند. روش‌های مختلف بارگذاری دارو در وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به همراه مزایا و محدودیت آن‌ها در جدول ۲ نمایش داده شده است.

۵- کاربرد وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان ابزارهای دارورسانی:

در سال‌های اخیر، وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به دلیل ایمنی (safety) و قابلیت تولید در مقیاس بالا (scalability)، به عنوان سامانه‌های نویدبخش دارورسانی مورد توجه گسترده قرار گرفته‌اند (شکل ۱). تاکنون مطالعه‌های متعددی از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به‌عنوان حامل‌های دارویی در درمان بیماری‌های مختلف، از جمله سرطان، بیماری‌های قلبی-عروقی و بیماری‌های التهابی استفاده کرده‌اند (جدول ۳). در ادامه، به مهم‌ترین کاربردهای دارورسانی این وزیکول‌ها در بیماری‌های مختلف اشاره می‌شود.



شکل۱: وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان حامل‌های دارورسانی و کاربرد آن در درمان بیماری‌های مختلف

جدول ۳: کاربردهای دارورسانی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت

منبع پلاکتی	روش جداسازی و خصوصیت‌یابی		ماده بارگذاری شده/ روش بارگذاری	کاربرد	مدل مطالعه		نتایج	منبع
	جداسازی	خصوصیت‌یابی			*In vitro*	*In vivo*		
پلاکت‌های Cryopreserved	قرار دادن پلاکت‌ها تحت شرایط مختلف اکستروژن، انجماد و ذوب ، سونیکاسیون و انکوباسیون دمایی جهت تولید وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت و نهایتا جداسازی با اولتراسانتریفیوژ	SEM، DLS و NTA وسترن بلات	Doxorubicin/ انکوباسیون	سرطان سینه	NIH/3T3, MDA-MB 231, MCF7/ADR	-----	افزایش کارایی درمانی ورود سلولی کارآمد	(۶۳)
پلاکت	اولتراسانتریفیوژ	وسترن بلات ، DLS، TEM	Doxorubicin/ انکوباسیون	ملانوما	B16-F10	ملانوما	افزایش کارایی درمانی مهار عود و متاستاز	(۶۶)

کنسانتره پلاکتی منقضی فعال شده با ترومبین	سانتریفیوژ گرادیان چگالی، کروماتوگرافی مبتنی بر اندازه و ترکیب هر دو	TEM، وسترن بلات، NTA	Paclitaxel/ انکوباسیون	سرطان سینه	HUVECs, MDA-MB-231, BT474	----	مهار رشد و پیشرفت تومور	(۴۰)
پلاسمای غنی از پلاکت فعال شده با ترومبین	اولتراسانتریفیوژ افتراقی	DLS،TEM و وسترن بلات	TPCA-1/ انکوباسیون	طوفان سیتوکاینی به دنبال پنومونی حاد	HUVECs, RAW264.7	مدل موشی اسیب حاد ریه	کاهش چشمگیر طوفان سایتوکاینی	(۷۵)
پلاسمای غنی از پلاکت فعال شده با ترومبین	سانتریفیوژ افتراقی	DLS، TEM وسترن بلات	Berberine/ انکوباسیون	آرتریت روماتوئید	RAW264.7 و DC2.4 وHUVECs	مدل موشی آرتریت روماتوئید	القای فنوتیپ M2 در ماکروفاژها مهار فعال‌سازی سلول‌های دندریتیک کاهش سایتوکاین‌های التهابی هدف‌گیری اختصاصی مفاصل درگیر کاهش تورم مفاصل بازگشت توان حرکتی و عملکردی	(۷۶)
کنسانتره پلاکتی	سانتریفیوژ افتراقی	فلوسیتومتری، DLS ، SEM،	لامیوودین و تنوفوویر/ سونیکاسیون و انکوباسیون	HIV-1	U266 ،HeLa HEK-293T	---	افزایش قابل ملاحظه مهار ویروس	(۷۷)
کنسانتره پلاکتی	سانتریفیوژ افتراقی	TEM، DLS، NTA	Kaempferol/ انکوباسیون	**رگ‌زایی قرنیه**	HUVECs	مدل موشی رگ زایی قرنیه القاشده با سوختگی قلیایی	اثر ضد آنژیوژنز سرکوب فاکتورهای التهابی و آنژیوژنیک کاهش فیبروز	(۷۹)
کنسانتره پلاکتی	رسوب دهی با استفاده از کیت تجاری	DLS، TEM ، وسترن بلات	miR-150/ کلرید کلسیم	**ترومبوسیتوپنی**	M07-e	---	کارایی بالا در انتقال miRNA به سلول هدف مهار موفقیت‌آمیز بیان ژن هدف	(۸۰)

BCA: Bicinchoninic Acid Assay; DLS: Dynamic Light Scattering; HUVEC: Human Umbilical Vein Endothelial Cells; NTA: Nanoparticle Tracking Analysis; SDS-PAGE: Sodium Dodecyl Sulfate–Polyacrylamide Gel Electrophoresis; SEM: Scanning Electron Microscopy; TEM: Transmission Electron Microscope

الف - سرطان:

سرطان از مهم‌ترین حوزه‌هایی است که در آن از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان سامانه‌های دارورسانی بهره گرفته شده است. این وزیکول‌ها به دلیل توانایی برهم‌کنش با سلول‌های توموری، به عنوان حامل‌های امیدوارکننده برای انتقال عوامل درمانی شناخته می‌شوند. علاوه بر این، وجود مولکول‌های چسبندگی و گیرنده‌های سطحی مشتق از پلاکت، از جمله اینتگرین‌ها، سلکتین‌ها و سایر پروتئین‌های غشایی، می‌تواند جذب این وزیکول‌ها توسط سلول‌های سرطانی و تجمع آن‌ها در ریز محیط تومور را تسهیل کند. بر همین اساس، در سال‌های اخیر از وزیکول‌های خارج‌سلولی مشتق از پلاکت برای انتقال

طیف گسترده‌ای از داروهای ضدسرطان استفاده شده است (۶۳، ۶۲، ۴۰).

دوکسوروبیسین (Doxorubicin, DOX) یکی از داروهای شیمی درمانی از خانواده آنتراسیکلین‌ها است که به طور گسترده برای درمان طیف وسیعی از سرطان‌ها، از جمله بدخیمی‌های خونی و تومورهای جامد، مورد استفاده قرار می‌گیرد. با وجود کارآیی بالای درمان، کاربرد بالینی DOX با محدودیت‌هایی از جمله سمیت قلبی همراه است که می‌تواند استفاده طولانی‌مدت از این دارو را محدود کند (۶۴). به منظور کاهش عوارض جانبی و افزایش کارآیی درمانی، استفاده از سامانه‌های نوین دارورسانی مورد توجه قرار گرفته است (۶۳، ۶۵). در این راستا گروهی از محققان در مطالعه‌ای از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان ابزاری برای رسانش مؤثر DOX استفاده کردند (۶۳). بر این اساس پس از جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت و بارگذاری DOX در آن‌ها بوسیله روش انکوباسیون، اثرات ضد سرطانی این فرمولاسیون در رده‌های سلولی مختلف از سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در مقایسه با داروی آزاد، داروی بارگذاری شده در وزیکول‌های خارج سلولی جذب بیشتری توسط سلول‌های سرطانی دارد و در مقایسه با سلول‌های طبیعی، انتخاب‌پذیری بهتری نشان می‌دهد. به‌علاوه DOX بارگذاری شده در وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت نسبت به فرم لیپوزومی تجاری DOX عملکرد بهتری نشان داد.

در مطالعه‌ای دیگر ژائو و همکاران یک سامانه ترکیبی مبتنی بر وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت طراحی کردند که با هدف جلوگیری از عود موضعی تومور پس از جراحی توسعه یافت (۶۶). در این مطالعه، DOX به عنوان عامل شیمی درمانی و آنتی‌بادی ضد Programmed death-ligand 1 (PD-L1) به عنوان عامل ایمنی‌درمانی انتخاب شدند تا به صورت هم‌زمان در محل تومور آزاد شوند و علاوه بر از بین بردن سلول‌های سرطانی باقی‌مانده، پاسخ ایمنی ضد توموری نیز تقویت شود. بر این اساس، پس از جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی از پلاکت و بارگذاری با داروی DOX، وزیکول‌های حامل DOX به همراه آنتی‌بادی ضد PD-L1 درون یک هیدروژل فیبرینی قرار گرفتند و کارآیی درمانی این سامانه در محیط *in vitro* و هم‌چنین مدل موشی ملانوما پس از برداشت جراحی تومور بررسی شد. نتایج نشان داد که آزادسازی هم‌زمان DOX و آنتی‌بادی ضد PD-L1 موجب کاهش معنادار عود تومور، مهار رشد تومورهای باقی‌مانده و افزایش بقا در مقایسه با درمان‌های منفرد شد. علاوه بر این، کاهش سلول‌های T تنظیمی، افزایش سلول‌های T سیتوتوکسیک ($CD8^+$ T cells) و کاهش بیان PD-L1 در ریز محیط تومور نشان داد که ترکیب شیمی درمانی و ایمنی درمانی با استفاده از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت می‌تواند پاسخ ایمنی ضد توموری را به طور مؤثری تقویت کند. بر این اساس به نظر می‌رسد که وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به دلیل توانایی حمل هم‌زمان چندین عامل درمانی و قابلیت ادغام با سامانه‌های آزادسازی موضعی مانند هیدروژل‌ها، گزینه‌ای امید بخش برای توسعه درمان‌های ترکیبی سرطان محسوب شوند.

علاوه بر داروی DOX، وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان حامل سایر داروهای شیمی درمانی از جمله پکلی تاکسل (Paclitaxel, PTX) نیز به کار رفته‌اند (۴۰). PTX دارویی است که به عنوان خط اول درمان در سرطان‌هایی نظیر سرطان سینه و تخمدان شناخته می‌شود. اگر چه این دارو پتانسیل خوبی در درمان سرطان دارد اما با معایبی هم‌چون حلالیت بسیار پایین در آب و سمیت غیر انتخابی همراه هست که منجر به کاهش اثربخشی و هم‌چنین بروز عوارض جانبی می‌شود (۶۷). در این مطالعه، پس از جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی از کنسانتره پلاکتی منقضی و تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها، داروی PTX با روش انکوباسیون درون وزیکول‌های خارج سلولی بارگذاری شد. سپس میزان ورود وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به سلول‌های اندوتلیال (HUVEC) و رده‌های سلولی سرطان سینه (MDA-MB-231 و BT474) بررسی گردید و مشخص شد که این سلول‌ها قادر به برداشت وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت هستند. در مقایسه با داروی آزاد، PTX بارگذاری شده در وزیکول‌های خارج سلولی اثربخشی قابل توجهی نشان داد و توانست رگ‌زایی، مهاجرت و تهاجم سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های سرطانی سینه را به صورت قابل توجهی کاهش دهد (۴۰).

در کنار استفاده از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان حامل‌های طبیعی دارو، مطالعه‌هایی بر توسعه سامانه‌های هیبریدی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت و لیپوزوم با هدف بهره‌گیری هم‌زمان از ویژگی‌های هدفمند وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت و ظرفیت بالای بارگذاری لیپوزوم‌ها نیز متمرکز شده‌اند. بر این اساس در مطالعه‌ای نینگ و همکاران یک سامانه هیبریدی نوین

مبتنی بر وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت را برای افزایش کارآیی درمان فوتودینامیک و شیمی درمانی سرطان توسعه دادند (۶۸). در این سامانه، کلروپراکسیداز (chloroperoxidase)و یک حساس کننده نوری (Photosensitizer) به عنوان عوامل درمانی انتخاب شدند تا علاوه بر ایجاد سمیت مستقیم علیه سلول‌های توموری، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نیز افزایش یابد و اثربخشی درمان تقویت شود. بر این اساس، وزیکول‌های خارج سلولی پلاکتی پس از جداسازی، با لیپوزوم‌ها ترکیب شدند و نانوذرات هیبریدی حاصل از نظر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس کارایی ضدتوموری این سامانه در مدل سرطان پستان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نانوحامل هیبریدی حاصل، در مقایسه با لیپوزوم‌ها و همچنین وزیکول‌های خارج‌سلولی مشتق از پلاکت، موجب تولید بیشترROS، القای مؤثرتر آپوپتوز و مهار قابل‌توجه‌تر رشد تومور شده است.

ب- بیماری‌های قلبی- عروقی:

بیماری‌های قلبی عروقی هم‌چنان مهم‌ترین علت مرگ و میر در سراسر جهان محسوب می‌شوند و آترواسکلروز، انفارکتوس میوکارد و ترومبوز از شایع‌ترین علل این مرگ و میر هستند. اگر چه درمان‌های رایج مانند داروهای ضد پلاکتی، ضد انعقادی و ترومبولیتیک نقش مهمی در کاهش مرگ و میر بیماران دارند، اما اثربخشی آن‌ها اغلب به دلیل توزیع غیر اختصاصی، نیمه عمر کوتاه، نیاز به دوزهای بالا و افزایش خطر خونریزی محدود می‌شود. از این رو، توسعه سامانه‌های دارورسانی هدفمند که بتوانند دارو را به طور انتخابی به محل آسیب عروقی یا لخته منتقل کنند، به یکی از مهم‌ترین زمینه‌های پژوهشی در پزشکی قلب و عروق تبدیل شده است. برخلاف بسیاری از نانو حامل‌های مصنوعی، وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به طور طبیعی قادرند به اندوتلیوم فعال شده، پلاک‌های آترواسکلروتیک و لخته‌های در حال تشکیل متصل شوند. این ویژگی موجب افزایش تجمع دارو در محل ضایعه، کاهش مواجهه بافت‌های سالم و در نتیجه کاهش عوارض جانبی درمان می‌شود. علاوه بر این، توانایی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت در عبور از برخی موانع زیستی و تعامل با سلول‌های اندوتلیال، پلاکت‌ها و سلول‌های التهابی، آن‌ها را به یکی از امیدوارکننده‌ترین حامل‌های زیستی برای درمان هدفمند بیماری‌های قلبی- عروقی تبدیل کرده است (۷۰، ۶۹، ۲۶). در مطالعه‌ای که لیوکیس و همکاران نیز انجام دادند، محققان گزارش کردند که وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از لیزات کنسانتره پلاکتی به طور قابل توجهی مرگ کاردیومیوسیت‌ها را کاهش داده، آنژیوژنز را افزایش داده، اندازه اسکار قلبی را محدود کرده و عملکرد قلبی را نیز بهبود می‌بخشد (۷۱). بنابراین با بهره‌گیری از این ویژگی‌های ذاتی وزیکول‌های خارج سلولی پلاکت در کنار سایر عوامل درمانی بارگذاری شده در آن‌ها نیز می‌توان کارآیی درمان بیماری‌های قلبی-عروقی را افزایش داد. با این حال، مطالعه‌هایی در زمینه استفاده از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان حامل درمانی در بیماری‌های قلبی عروقی بسیار محدود است و از این رو، توسعه سامانه‌های مبتنی بر وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت برای انتقال داروها، اسیدهای نوکلئیک و سایر عوامل درمانی در بیماری‌های قلبی- عروقی، هم‌چنان یکی از حوزه‌های نوظهور و نیازمند مطالعه‌های بیشتر محسوب می‌شود.

پالووسکی و همکاران در مطالعه‌ای یک سامانه نانوحامل لیپوزومی الهام گرفته از میکروپارتیکل‌های پلاکتی را با هدف افزایش اختصاصیت درمان ترومبوز و کاهش عوارض ناشی از داروهای ترومبولیتیک طراحی کردند (۷۲). در این تحقیق، پژوهشگران با الگوبرداری از ویژگی‌های سطحی و چسبندگی میکروپارتیکل‌های پلاکتی، نانووزیکول‌های لیپوزومی را با لیگاندهای اختصاصی P-selectin و GPIIb/IIIa اصلاح کردند تا بتوانند به طور انتخابی به پلاکت‌های فعال موجود در لخته متصل شوند. در ادامه داروی ترومبولیتیک استرپتوکیناز درون این نانووزیکول‌ها بارگذاری شد و سامانه به گونه‌ای طراحی گردید که آزادسازی دارو تنها در حضور فسفولیپاز A2 (sPLA2) ، آنزیمی که در ریز محیط ترومبوز به مقدار زیادی وجود دارد، انجام شود. نتایج نشان داد که نانو حامل‌های لیپوزومی الهام گرفته از میکروپارتیکل‌های پلاکتی حامل استرپتوکیناز، به طور اختصاصی در محل ترومبوز تجمع یافته، آزادسازی کنترل شده دارو را امکان‌پذیر کرده و در مقایسه با داروی آزاد، فیبرینولیز مؤثرتری ایجاد کردند.

ج- التهاب:

بیماری‌های التهابی، شامل التهاب حاد و مزمن، یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد آسیب بافتی و اختلال عملکرد اندام‌ها محسوب می‌شوند و در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها از جمله آسیب حاد ریوی، آرتریت روماتوئید و بیماری‌های التهابی

روده نقش اساسی دارند. اگر چه داروهای ضد التهابی، کورتیکواستروئیدها و داروهای تعدیل‌کننده سیستم ایمنی به طور گسترده برای کنترل این بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما توزیع غیر اختصاصی، نیاز به دوزهای بالا، نیمه عمر کوتاه و بروز عوارض جانبی سیستمیک، اثربخشی درمان را محدود می‌کند. از این رو، توسعه سامانه‌های دارورسانی هدفمند که بتوانند عوامل درمانی را به طور انتخابی به بافت‌های ملتهب منتقل کنند، به یکی از مهم‌ترین حوزه‌های پژوهشی در درمان بیماری‌های التهابی تبدیل شده است (۷۴، ۷۳). در این زمینه، وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به طور طبیعی تمایل بالایی به تجمع در محل التهاب دارند و می‌توانند با اتصال اختصاصی به سلول‌های اندوتلیال، لکوسیت‌ها و سایر سلول‌های درگیر در پاسخ التهابی، موجب افزایش تجمع دارو در بافت آسیب دیده، کاهش مواجهه بافت‌های سالم و در نتیجه افزایش اثربخشی درمان و کاهش عوارض جانبی شوند (۷۶، ۷۵).

داروی TPCA-1 مهارکننده قوی کینازهای IkB (IKK) در مسیر سیگنال‌دهی فاکتور هسته‌ایNF-κB می‌باشد و می‌تواند باعث مهار تولید TNF-α ، IL-6 و IL-8 از مونوسیت‌ها شده و از طوفان سایتوکاینی جلوگیری کند. با این وجود به‌دلیل توزیع غیراختصاصی و عدم تجمع مؤثر TPCA-1 در بافت‌های درگیر التهاب ریوی، استفاده از دارو به صورت آزاد با کارایی درمانی محدود همراه است (۷۵). بر این اساس محققان در مطالعه‌ای داروی TPCA-1 را در وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت بارگذاری کردند و اثرات آن را بر روی موش‌های دارای التهاب حاد ریوی بررسی کردند (۷۵). نتایج نشان داد که داروی بارگذاری شده می‌تواند به صورت مؤثر باعث کاهش تولید عواملی هم‌چون ROS و سایتوکاین‌های التهابی شود و طوفان سایتوکاینی را کاهش دهد و بدین طریق منجر به بهبود علائم پنومونی گردد.

در مطالعه‌ای دیگر، محققان از طریق بارگذاری آلکالوئید طبیعی بربرین (Berberine) به عنوان یک ترکیب دارویی با خواص ضد التهابی و سرکوب‌کننده ایمنی بسیار قوی در داخل وزیکول‌های خارج سلولی پلاکت تلاش کردند تا ضمن افزایش پایداری و اثربخشی دارو، عوارض جانبی را کاهش دهند (۷۶). بر این اساس ما و همکاران، پس از تهیه وزیکول‌های خارج سلولی پلاکت حاوی بربرین، جهت ارزیابی کارآیی این سیستم دارورسانی، ارزیابی‌های گسترده‌ای را در محیط‌های آزمایشگاهی (*In vitro*) و مدل‌های حیوانی (*In vivo*) پیش بردند. در بخش ارزیابی‌های سلولی، تأثیر وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت حاوی بربرین بر تغییر فنوتیپ ماکروفاژها، القای آپوپتوز در سلول‌های دندریتیک و میزان سرکوب سایتوکاین‌های التهابی بررسی گردید. در ارزیابی‌های حیوانی نیز با به‌کارگیری مدل موشی آرتریت القاشده با کلاژن نوع ۲ رفتار فارماکوکینتیک و تجمع اختصاصی وزیکول‌های حاوی دارو در مفاصل ملتهب ردیابی شد و سپس روند بهبود حرکتی، کاهش تورم و میزان محافظت از بافت استخوان با تکنیک Micro-CT و بررسی‌های بافت‌شناسی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این ارزیابی‌ها نشان داد که وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به طور اختصاصی در مفاصل درگیر و دارای التهاب تجمع می‌یابند. به علاوه در مقایسه با داروی آزاد، درمان با وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت حاوی بربرین کاهش چشمگیرتری در تورم مفاصل، بهبود عملکرد حرکتی و مهار تخریب استخوان ایجاد کرد و با کارآیی بیشتری تراکم معدنی استخوان را به مقادیر نزدیک به حالت طبیعی باز گرداند. هم‌چنین، در مقایسه با بربرین آزاد، این فرمولاسیون دارویی توانست به طور مؤثرتری بیان مارکرهای پیش التهابی را در ماکروفاژها مهار کرده و فنوتیپ آن‌ها را به سمت فنوتیپ ضد التهابی M2 هدایت کند. علاوه بر این، مهار فعالسازی سلول‌های دندریتیک و القای آپوپتوز در این سلول‌ها در گروه دریافت‌کننده وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت حاوی بربرین بارزتر بود و در نتیجه کاهش بیشتری در ترشح سیتوکاین‌های التهابی مشاهده شد. بنابراین وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به دلیل توانایی ذاتی در هدف‌گیری بافت‌های ملتهب، می‌توانند به عنوان یک پلتفرم مؤثر برای انتقال هدفمند عوامل ضد التهابی مورد استفاده قرار گیرند. با این حال، تعداد مطالعه‌ها در حوزه بیماری‌های التهابی هنوز بسیار محدود است و تقریباً تمامی شواهد موجود به چند مطالعه پیش بالینی محدود می‌شود. بر این اساس، بررسی سایر داروهای ضد التهابی، عوامل زیستی و اسیدهای نوکلئیک در بستر وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت می‌تواند مسیر مهمی برای توسعه نسل جدید سامانه‌های دارورسانی هدفمند در بیماری‌های التهابی باشد.

د- سایر بیماری‌ها:

افزون بر کاربرد وزیکول‌های خارج‌سلولی مشتق از پلاکت به عنوان حامل دارو در سرطان، بیماری‌های قلبی- عروقی و

اختلالات التهابی، شماری از پژوهش‌های پیش بالینی، اثربخشی این وزیکول‌ها را در زمینه سایر بیماری‌ها نیز به اثبات رسانده‌اند. هر چند تعداد این مطالعه‌ها هنوز محدود است، اما نتایج آن‌ها حاکی از پتانسیل قابل توجه این حامل‌های زیستی در انتقال داروها و عوامل درمانی در طیف وسیعی از بیماری‌ها است.

عفونت ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV-1) یکی از چالش‌های بزرگ درمانی در حوزه بیماری‌های ویروسی است که کنترل آن نیازمند تجویز مداوم داروهای ضد ویروسی نظیر لامیوودین (Lamivudine) و تنوفوویر (Tenofovir) می‌باشد. اگر چه این ترکیبات از داروهای اصلی مهارکننده آنزیم ترانس‌کریپتاز معکوس محسوب می‌شوند، اما مصرف شکل آزاد آن‌ها به دلیل نیمه عمر کوتاه در بدن، فراهمی زیستی محدود و بروز سمیت شدید در ارگان‌های حیاتی، با چالش‌های بالینی قابل توجهی همراه است. در مطالعه انجام شده توسط سلیمانی و همکاران (۷۷)، محققان تلاش کردند تا از طریق بارگذاری داروی لامیوودین و تنوفوویر در میکروپارتیکل‌های پلاکتی، از طریق غلبه بر این چالش‌ها بتوانند کارآیی درمان را افزایش دهند. بر این اساس پس از جداسازی میکروپارتیکل‌ها از کنسانتره‌های پلاکتی با استفاده از سانتریفیوژ افتراقی، داروی لامیوودین و تنوفوویر در آن‌ها بارگذاری شد. سپس عملکرد ترکیبات بارگذاری شده در میکروپارتیکل‌های پلاکتی بر روی رده‌های سلولی HeLa و U266 مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در مقایسه با داروی آزاد، این سیستم موجب افزایش جذب و برداشت سلولی شده و می‌توانند به صورت مؤثرتر و حتی در دوزهای پایین، تکثیر ویروس را مهار کرده و در عین حال کارآیی درمانی بالایی را ارائه دهند.

کامفرول (Kaempferol) یک ترکیب گیاهی است که در گیاهان مختلفی از جمله چای، بروکلی، گریپ فروت و لوبیا وجود دارد. این ترکیب خواص دارویی مختلفی دارد و با اثر بر بیان فاکتورهای پیش رگ‌زایی باعث مهار تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیال شده و در محدود کردن رگ‌زایی قرنیه نقش دارد. باوجود مزایای بسیار این ترکیب، خاصیت آب گریزی آن باعث محدودیت اثرات درمانی آن شده است (۷۸). بر این اساس لیو و همکارانش در مطالعه‌ای از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به عنوان ابزار داروررسانی این ترکیب استفاده کردند (۷۹). بر این اساس آن‌ها ظرفیت ترکیب کامفرول بارگذاری شده در وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت را در هدف قرار دادن فعالیت رگ‌زایی سلول‌های اندوتلیال مورد ارزیابی قرار دادند و نشان دادند که در مقایسه با داروی آزاد و وزیکول‌های خارج سلولی پلاکتی تنها، این ترکیب اثر بازدارندگی بیشتری بر مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و تشکیل لوله دارد. پس از آن به منظور ارزیابی های بیشتر، از مدل موشی رگ‌زایی قرنیه القا شده با سوختگی شیمیایی استفاده کردند تا اثر ضد رگ‌زایی این فرمولاسیون را در شرایط درون تنی نیز بررسی کنند. نتایج نشان داد که ترکیب کامفرول بارگذاری شده در وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت در مقایسه با داروی آزاد می‌تواند به صورت موثرتری سایتوکاین‌های التهابی نظیر TNFα وIL-1β و هم چنین رگ‌زایی قرنیه را کاهش دهد.

۶- ملاحظات ایمنی بالینی و چالش‌ها:

اگر چه وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به دلیل ویژگی‌های زیستی منحصر به فرد به‌عنوان ابزاری نویدبخش در داروررسانی مطرح شده‌اند، اما انتقال آن‌ها از فاز آزمایشگاهی به بالین با چالش‌ها و محدودیت‌های متعددی روبرو است. یکی از مهم‌ترین ملاحظات در به کارگیری بالینی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت، خطر بالقوه انعقاد و القای ترومبوز است (۸۴-۸۱). از آن جا که وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به طور طبیعی غنی از فسفاتیدیل‌سرین و فاکتور بافتی هستند، تزریق آن‌ها می‌تواند آبشار انعقادی را فعال کرده و خطر عوارض ترومبوامبولیک را در بیماران مستعد افزایش دهد (۸۵، ۸۱). علاوه بر این، واکنش‌های ایمنی‌زایی احتمالی در پاسخ به آنتی‌ژن‌های غشایی پلاکتی در تزریق‌های متوالی، ارزیابی‌های دقیق ایمنی را پیش از ورود به مطالعه‌های بالینی الزامی می‌سازد (۸۴). از آن جایی که ترکیب مولکولی و محتوای زیستی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت، همانند سایر وزیکول‌ها می‌تواند تحت تأثیر سن، جنسیت، وضعیت فعالیت بدنی و هم چنین روش فعال‌سازی پلاکت‌ها (مانند استفاده از ترومبین، کلسیم یا ..) قرار بگیرد، عدم یکنواختی در محصولات تولیدی، چالش کلیدی دیگری است که در مسیر کاربرد بالینی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت وجود دارد (۸۷، ۸۶، ۳۲). به علاوه نبود دستورالعمل استاندارد برای جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی پلاکت می‌تواند منجر به دستیابی به وزیکول‌هایی با خصوصیت فیزیکوشیمیایی و عملکردی مختلف در مطالعه‌های متفاوت شود (۸۸، ۸۴). ذخیره‌سازی بلند مدت وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت و حفظ پایداری

آن‌ها در طول فرآیند ذخیره‌سازی، از دیگر موانع پیش‌رو در فرآیند تجاری‌سازی هستند. اگر چه استفاده از کنسانتره‌های پلاکتی یا پلاسمای غنی از پلاکت، منبع مناسبی برای استخراج فرآهم می‌آورد، اما حفظ پایداری فیزیکی و عملکرد زیستی وزیکول‌ها در شرایط نگهداری (مانند انجماد یا لیوفیلیزاسیون) نیازمند بهینه‌سازی شرایط ذخیره سازی می‌باشد (۸۳).

نتیجه‌گیری

وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت به دلیل زیست سازگاری و ایمنی بالا، توانایی عبور از موانع بیولوژیک و ظرفیت هدف‌گیری طبیعی بافت‌های آسیب دیده، به عنوان نسل نوینی از سیستم‌های دارورسانی مطرح شده‌اند که می‌توانند بر بسیاری از محدودیت‌های سامانه‌های مرسوم غلبه کرده و بستر طراحی راهبردهای درمانی نوین برای طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها را فراهم آورند. با این حال، گذار از مرحله تحقیقات پیش‌بالینی به کاربردهای متداول بالینی با چالش‌های اساسی همراه است. نبود دستورالعمل‌های استاندارد برای جداسازی وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت و تفاوت در روش‌های به کار رفته در مطالعه‌های مختلف، سبب ناهمگونی در ویژگی‌های ساختاری و عملکردی آن‌ها و در نتیجه، کاهش قابلیت مقایسه و تکرارپذیری نتایج می‌شود. علاوه‌بر این، کارآیی نسبتاً محدود بارگذاری عوامل دارویی در وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلاکت و فقدان درک کافی از شرایط بهینه برای ذخیره‌سازی و حفظ پایداری آن‌ها، از دیگر موانع مهم در مسیر توسعه کاربردی این سامانه‌ها به شمار می‌روند. از این‌رو، انجام مطالعه‌های عمیق‌تر در جهت استانداردسازی روش‌های جداسازی، بارگذاری و نگهداری، می‌تواند زمینه را برای بهره‌گیری گسترده، ایمن و اثربخش از این وزیکول‌ها هموار سازد.

عدم تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

نقش نویسندگان

فرداد فرزانه: جستجوی متون علمی و مقالات، نگارش نسخه اولیه مقاله و ویرایش مقاله

معصومه صادقی: نگارش و ویرایش مقاله

کامران موسوی حسینی: نگارش و ویرایش مقاله

مسعود وثوق: ارائه ایده، بررسی و ویرایش و نگارش مقاله، هدایت و راهنمایی مراحل نگارش

مهسا صالحی: ارائه ایده، بررسی و ویرایش و نگارش مقاله، هدایت و راهنمایی مراحل نگارش

تشکر و قدردانی

مقاله مروری حاضر در راستای پایان‌نامه کارشناسی ارشد که با کد ۱۴۵۶ در حال انجام می‌باشد و با کد اخلاق IR.TMI.REC.1404.038 به تصویب کمیته اخلاق مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون رسیده است، انجام گرفته است. بدین وسیله، از کلیه حمایت‌های مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون کمال تشکر را داریم. شکل ۱ مقاله حاضر با استفاده از ابزار هوش مصنوعی ChatGPT (OpenAI) طراحی و تهیه شده است. لازم به ذکر است که محتوای علمی و مفاهیم ارائه شده در این شکل توسط نویسندگان تعیین، بررسی و تائید شده است و نویسندگان مسئولیت کامل محتوای علمی، دقت و صحت اطلاعات ارائه شده در این شکل را بر عهده دارند.

References:

1- Bakrey H, Abdu A, Shivgotra R, Soni B, Sharma M, Bakrey A, *et al*. Innovative Strategies and Advances in Drug Delivery Systems to Address Poor Solubility: A Comprehensive Review. Curr Drug Targets. 2025 ; 26(13):879-902. [DOI:10.2174/0113894501375776250713110838] [PMID]

2- Chaudhary A, Shambhakar S. Nanotechnology in Drug Delivery: Overcoming Poor Solubility Challenges through Nanoformulations. CN. 2024; 14(3): 200-11. [DOI:10.2174/0124681873276732231207051324]

3- Islam S, Ahmed MMS, Islam MA, Hossain N, Chowdhury MA. Advances in nanoparticles in targeted drug delivery-A review. Results in Surfaces and Interfaces. 2025; 19: 100529. [DOI:10.1016/j.rsurfi.2025.100529]

4- Abels ER, Breakefield XO. Introduction to Extracellular Vesicles: Biogenesis, RNA Cargo Selection, Content, Release, and Uptake. Cell Mol Neurobiol. 2016; 36(3): 301-12. [DOI:10.1007/s10571-016-0366-z] [PMID]

5- Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. Annu Rev Cell Dev Biol. 2014; 30: 255-89. [DOI:10.1146/annurev-cellbio-101512-122326] [PMID] [PMCID]

6- Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. Nat Rev Immunol. 2002; 2(8): 569-79. [DOI:10.1038/nri855] [PMID]

7- Lötvall J, Hill AF, Hochberg F, Buzás EI, Di Vizio D, Gardiner C, *et al*. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for

Extracellular Vesicles. J Extracell Vesicles. 2014; 3: 26913. [DOI:10.3402/jev.v3.26913] [PMID]
8- Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. Nat Rev Immunol. 2009; 9(8): 581-93. [DOI:10.1038/nri2567] [PMID]
9- Salehi M, Vafadar A, Khatami SH, Taheri-Anganeh M, Vakili O, Savardashtaki A, *et al*. Gastrointestinal cancer drug resistance: the role of exosomal miRNAs. Mol Biol Rep. 2022; 49(3): 2421-32. [DOI:10.1007/s11033-021-07007-3] [PMID]
10- Ghaffari Gabaran S, Hassani S, Mahmoodi M, Salehi M, Rezaie J. Bacterial extracellular vesicles in colorectal cancer: mechanisms, biomarker potential, and therapeutic engineering. Cell Commun Signal . 2026; 24(1): 99. [DOI:10.1186/s12964-025-02634-w] [PMID] [PMCID]
11- Salehi M, Sharifi M. Exosomal miRNAs as novel cancer biomarkers: Challenges and opportunities. J Cell Physiol. 2018; 233(9): 6370-80. [DOI:10.1002/jcp.26481] [PMID]
12- György B, Szabó TG, Pásztói M, Pál Z, Misják P, Aradi B, *et al*. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. Cell Mol Life Sci. 2011; 68(16) : 2667-88. [DOI:10.1007/s00018-011-0689-3] [PMID] [PMCID]
13- Doyle LM, Wang MZ. Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. Cells. 2019;8(7): 727. [DOI:10.3390/cells8070727] [PMID]
14- Zou X, Lei Q, Luo X, Yin J, chen S, Hao C, *et al*. Advances in biological functions and applications of apoptotic vesicles. Cell Commun Signal. 2023; 21(1): 260. [DOI:10.1186/s12964-023-01251-9] [PMID] [PMCID]
15- Welsh JA, Goberdhan DC, O'Driscoll L, Buzas EI, Blenkiron C, Bussolati B, *et al*. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. J extracell vesicles. 2024; 13(2): e12404. [DOI:10.1002/jev2.12451] [PMID]
16- Du S, Guan Y, Xie A, Yan Z, Gao S, Li W, *et al*. Extracellular vesicles: a rising star for therapeutics and drug delivery. J Nanobiotechnology. 2023; 21(1): 231. [DOI:10.1186/s12951-023-01973-5] [PMID] [PMCID]
17- Chen T, Chen D, Su W, Liang J, Liu X, Cai M. Extracellular vesicles as vital players in drug delivery: a focus on clinical disease treatment. Fron Bioeng Biotechnol. 2025; 13: 1600227. [DOI:10.3389/fbioe.2025.1600227] [PMID] [PMCID]
18- Dang XTT, Kavishka JM, Zhang DX, Pirisinu M, Le MT. Extracellular vesicles as an efficient and versatile system for drug delivery. Cells. 2020; 9(10): 2191. [DOI:10.3390/cells9102191] [PMID] [PMCID]
19- Soudi T, Bagheri F, Shojaosadati SA, Rezaei M, Motamedian E. Modified exosomes for targeted delivery of doxorubicin and carvedilol to mitochondria in breast cancer cells. Sci Rep. 2025; 15(1): 38386. [DOI:10.1038/s41598-025-22156-2] [PMID] [PMCID]
20- Li H, Xu W, Li F, Zeng R, Zhang X, Wang X, *et al*. Amplification of anticancer efficacy by co-delivery of doxorubicin and lonidamine with extracellular vesicles. Drug Deliv. 2022; 29(1): 192-202. [DOI:10.1080/10717544.2021.2023697] [PMID] [PMCID]
21- Torabi S, Yekzaman E, Taherkhani S, Talachi N, Khoshravesh R, Khosravi A, *et al*. Immune cell-based therapies for solid tumors, current challenges and therapeutic advances. Cell Commu Signal. 2025; 24(1): 73. [DOI:10.1186/s12964-025-02632-y] [PMID] [PMCID]
22- Seydi H, Nouri K, Shokouhian B, Piryaei A, Hassan M, Cordani M, *et al*. MiR-29a-laden extracellular vesicles efficiently induced apoptosis through autophagy blockage in HCC cells. Eur J Pharm Biopharm. 2024; 203: 114470. [DOI:10.1016/j.ejpb.2024.114470] [PMID]
23- Salehi M, Negahdari B, Hashemi M, Seydi H, Salarinejad S, Piryaei A, *et al*. Milk-derived extracellular vesicles enhanced Sorafenib's therapeutic response on hepatocellular carcinoma cells. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2026; 117: 108005. [DOI:10.1016/j.jddst.2026.108005]
24- Johnson J, Wu YW, Blyth C, Lichtfuss G, Goubran H, Burnouf T. Prospective Therapeutic Applications of Platelet Extracellular Vesicles. Trends Biotechnol. 2021; 39(6): 598-612. [DOI:10.1016/j.tibtech.2020.10.004] [PMID]
25- Dai Z, Zhao T, Song N, Pan K, Yang Y, Zhu X, *et al*. Platelets and platelet extracellular vesicles in drug delivery therapy: A review of the current status and future prospects. Front Pharmacol. 2022; 13: 1026386. [DOI:10.3389/fphar.2022.1026386] [PMID] [PMCID]
26- Yao C, Wang C. Platelet-derived extracellular vesicles for drug delivery. Biomaterials Science. 2023; 11(17): 5758-68. [DOI:10.1039/D3BM00893B] [PMID]
27- Chaudhary PK, Kim S, Kim S. Shedding light on the cell biology of platelet-derived extracellular vesicles and their biomedical applications. Life. 2023; 13(6): 1403. [DOI:10.3390/life13061403] [PMID] [PMCID]
28- Burnouf T, Goubran HA, Chou M-L, Devos D, Radosevic M. Platelet microparticles: detection and assessment of their paradoxical functional roles in disease and regenerative medicine. Blood Rev. 2014; 28(4): 155-66. [DOI:10.1016/j.blre.2014.04.002] [PMID]
29- Gasecka A, Nieuwland R, Siljander PRM. Platelet-Derived Extracellular Vesicles. In: Michelson AD, editor. Platelets (Fourth Edition): Academic Press; 2019. p. 401-16. [DOI:10.1016/B978-0-12-813456-6.00022-9]
30- Antich-Rosselló M, Forteza-Genestra MA, Monjo M, Ramis JM. Platelet-Derived Extracellular Vesicles for Regenerative Medicine. Int J Mol Sci. 2021;22(16) :8580. [DOI:10.3390/ijms22168580] [PMID] [PMCID]
31- Vismara M, Manfredi M, Zarà M, Trivigno SMG, Galgano L, Barbieri SS, *et al*. Proteomic and functional profiling of platelet-derived extracellular vesicles released under physiological or tumor-associated conditions. Cell Death Discov. 2022; 8(1): 467. [DOI:10.1038/s41420-022-01263-3] [PMID] [PMCID]
32- Rui S, Yuan Y, Du C, Song P, Chen Y, Wang H, *et al*. Comparison and Investigation of Exosomes Derived from Platelet-Rich Plasma Activated by Different Agonists. Cell Transplant. 2021; 30: 9636897211017833. [DOI:10.1177/09636897211017833] [PMID] [PMCID]
33- Théry C, Amigorena S, Raposo G, Clayton A. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids. Curr Protoc Cell Biol. 2006; Chapter 3: Unit 3.22. [DOI:10.1002/0471143030.cb0322s30] [PMID]
34- Lobb RJ, Becker M, Wen SW, Wong CS, Wiegmans AP, Leimgruber A, *et al*. Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma. J Extracell Vesicles. 2015; 4: 27031. [DOI:10.3402/jev.v4.27031] [PMID] [PMCID]
35- Konoshenko MY, Lekchnov EA, Vlassov AV, Laktionov PP. Isolation of extracellular vesicles: general methodologies and latest trends. BioMed res intl. 2018; 2018(1): 8545347. [DOI:10.1155/2018/8545347] [PMID]
36- Salehi M, Negahdari B, Vosough M, Shekari F. Treatment of milk with various chemicals differentially affects the physicochemical and functional characteristics of extracellular vesicles. Food Bioscience. 2024; 58: 103570. [DOI:10.1016/j.fbio.2023.103570]
37- Simonsen JB. What Are We Looking At? Extracellular Vesicles, Lipoproteins, or Both? Circ Res. 2017; 121(8): 920 - 2. [DOI:10.1161/CIRCRESAHA.117.311767]

[PMID]
38- Karimi N, Cvjetkovic A, Jang SC, Crescitelli R, Hosseinpour Feizi MA, Nieuwland R, *et al*. Detailed analysis of the plasma extracellular vesicle proteome after separation from lipoproteins. Cell Mol Life Sci. 2018; 75(15): 2873-86. [DOI:10.1007/s00018-018-2773-4] [PMID] [PMCID]
39- Salehi M, Zarei-Behjani Z, Shafiee A, Agrawal AK. Milk-Derived Extracellular Vesicles: Unlocking Their Potential in Human Health and Disease Treatment. In: Sheykhhasan M, Yang P, Samadi P, Manoochehri H, editors. Extracellular Vesicles: From the Laboratory to the Clinic. Cham: Springer Nature Switzerland. 2026; p: 197-222. [DOI:10.1007/978-3-032-23810-8_6] [PMID] [PMCID]
40- Meliciano A, Salvador D, Mendonça P, Louro AF, Serra M. Clinically Expired Platelet Concentrates as a Source of Extracellular Vesicles for Targeted Anti-Cancer Drug Delivery. Pharmaceutics. 2023; 15(3): 953. [DOI:10.3390/pharmaceutics15030953] [PMID] [PMCID]
41- Aatonen MT, Ohman T, Nyman TA, Laitinen S, Grönholm M, Siljander PR. Isolation and characterization of platelet-derived extracellular vesicles. J Extracell Vesicles. 2014; 3. [DOI:10.3402/jev.v3.24692] [PMID] [PMCID]
42- Li P, Kaslan M, Lee SH, Yao J, Gao Z. Progress in Exosome Isolation Techniques. Theranostics. 2017; 7(3): 789-804. [DOI:10.7150/thno.18133] [PMID] [PMCID]
43- de Menezes-Neto A, Sáez MJ, Lozano-Ramos I, Segui-Barber J, Martin-Jaular L, Ullate JM, *et al*. Size-exclusion chromatography as a stand-alone methodology identifies novel markers in mass spectrometry analyses of plasma-derived vesicles from healthy individuals. J Extracell Vesicles. 2015; 4: 27378. [DOI:10.3402/jev.v4.27378] [PMID] [PMCID]
44- Böing AN, van der Pol E, Grootemaat AE, Coumans FA, Sturk A, Nieuwland R. Single-step isolation of extracellular vesicles by size-exclusion chromatography. J Extracell Vesicles. 2014; 3. [DOI:10.3402/jev.v3.23430] [PMID] [PMCID]
45- Salehi M, Negahdari B, Mehryab F, Shekari F. Milk-derived extracellular vesicles: biomedical applications, current challenges, and future perspectives. J Agric Food Chem. 2024; 72(15): 8304-31. [DOI:10.1021/acs.jafc.3c07899] [PMID]
46- Baranyai T, Herczeg K, Onódi Z, Voszka I, Módos K, Marton N, *et al*. Isolation of Exosomes from Blood Plasma: Qualitative and Quantitative Comparison of Ultracentrifugation and Size Exclusion Chromatography Methods. PLoS One. 2015; 10(12): e0145686. [DOI:10.1371/journal.pone.0145686] [PMID] [PMCID]
47- Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, *et al*. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. J Extracell Vesicles. 2018; 7(1): 1535750. [DOI:10.1080/20013078.2018.1535750] [PMID]
48- Gardiner C, Ferreira YJ, Dragovic RA, Redman CW, Sargent IL. Extracellular vesicle sizing and enumeration by nanoparticle tracking analysis. J Extracell Vesicles. 2013; 2. [DOI:10.3402/jev.v2i0.19671] [PMID] [PMCID]
49- Kowal J, Arras G, Colombo M, Jouve M, Morath JP, Primdal-Bengtson B, *et al*. Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016; 113(8): E968 - 77. [DOI:10.1073/pnas.1521230113] [PMID]
50- Ha D, Yang N, Nadithe V. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. Acta Pharm Sin B. 2016; 6(4): 287-96. [DOI:10.1016/j.apsb.2016.02.001] [PMID]
51- Andaloussi S E, Mäger I, Breakefield XO, Wood MJA. Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities. Nat Rev Drug Discov. 2013; 12(5): 347-57. [DOI:10.1038/nrd3978] [PMID]
52- Brezgin S, Danilik O, Yudaeva A, Kachanov A, Kostyusheva A, Karandashov I, *et al*. Basic Guide for Approaching Drug Delivery with Extracellular Vesicles. Int J Mol Sciences. 2024; 25(19): 10401. [DOI:10.3390/ijms251910401] [PMID] [PMCID]
53- Mehryab F, Rabbani S, Shahhosseini S, Shekari F, Fatahi Y, Baharvand H, *et al*. Exosomes as a next-generation drug delivery system: An update on drug loading approaches, characterization, and clinical application challenges. Acta Biomater. 2020; 113: 42-62. [DOI:10.1016/j.actbio.2020.06.036] [PMID]
54- Zhang K, Fang J. Extracellular vesicles in drug delivery: from quality assurance to therapeutic application. Int J Nanomedicine. 2026; 21 : 579695. [DOI:10.2147/IJN.S579695] [PMID] [PMCID]
55- Fuhrmann G, Serio A , Mazo M, Nair R, Stevens MM. Active loading into extracellular vesicles significantly improves the cellular uptake and photodynamic effect of porphyrins. J Control Release. 2015; 205: 35-44. [DOI:10.1016/j.jconrel.2014.11.029] [PMID]
56- Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H, Betts C, Lakhal S, Wood MJA. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. Nat Biotechnol. 2011; 29(4): 341-5. [DOI:10.1038/nbt.1807] [PMID]
57- Lamichhane TN, Jeyaram A, Patel DB, Parajuli B, Livingston NK, Arumugasaamy N, *et al*. Oncogene Knockdown via Active Loading of Small RNAs into Extracellular Vesicles by Sonication. Cell Mol Bioeng. 2016; 9(3): 315-24. [DOI:10.1007/s12195-016-0457-4] [PMID] [PMCID]
58- Wahlgren J, De LKT, Brisslert M, Vaziri Sani F, Telemo E, Sunnerhagen P, *et al*. Plasma exosomes can deliver exogenous short interfering RNA to monocytes and lymphocytes. Nucleic Acids Res. 2012; 40(17): e130. [DOI:10.1093/nar/gks463] [PMID] [PMCID]
59- Kooijmans SAA, Stremersch S, Braeckmans K, de Smedt SC, Hendrix A, Wood MJA, *et al*. Electroporation-induced siRNA precipitation obscures the efficiency of siRNA loading into extracellular vesicles. J Control Release. 2013; 172(1): 229-38. [DOI:10.1016/j.jconrel.2013.08.014] [PMID]
60- Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, Gupta R, Plotnikova EG, He Z, *et al*. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. J Control Release. 2015; 207: 18-30. [DOI:10.1016/j.jconrel.2015.03.033] [PMID]
61- Kim MS, Haney MJ, Zhao Y, Yuan D, Deygen I, Klyachko NL, *et al*. Engineering macrophage-derived exosomes for targeted paclitaxel delivery to pulmonary metastases: in vitro and in vivo evaluations. Nanomedicine. 2018; 14(1): 195-204. [DOI:10.1016/j.nano.2017.09.011] [PMID] [PMCID]
62- Zhuang T, Wang S, Yu X, He X, Guo H, Ou C. Current status and future perspectives of platelet-derived extracellular vesicles in cancer diagnosis and treatment. Biomark Res. 2024; 12(1): 88. [DOI:10.1186/s40364-024-00639-0] [PMID] [PMCID]
63- Wu YW, Lee DY, Lu YL, Delila L, Nebie O, Barro L, *et al*. Platelet extracellular vesicles are efficient delivery vehicles of doxorubicin, an anti-cancer drug: preparation and in vitro characterization. Platelets. 2023; 34(1): 2237134. [DOI:10.1080/09537104.2023.2237134] [PMID]
64- Lucas A, Lam D, Cabrales P. Doxorubicin-loaded red

blood cells reduced cardiac toxicity and preserved anticancer activity. Drug Deliv. 2019; 26(1) :433-42. [DOI:10.1080/10717544.2019.1591544] [PMID] [PMCID]
65- Schindler C, Collinson A, Matthews C, Pointon A, Jenkinson L, Minter RR, *et al*. Exosomal delivery of doxorubicin enables rapid cell entry and enhanced in vitro potency. PLoS One. 2019; 14(3): e0214545. [DOI:10.1371/journal.pone.0214545] [PMID] [PMCID]
66- Zhao J, Ye H, Lu Q, Wang K, Chen X, Song J, *et al*. Inhibition of post-surgery tumour recurrence via a sprayable chemo-immunotherapy gel releasing PD-L1 antibody and platelet-derived small EVs. J Nanobiotechnology. 2022; 20(1): 62. [DOI:10.1186/s12951-022-01270-7] [PMID]
67- Haddad R, Alrabadi N, Altaani B, Li T. Paclitaxel Drug Delivery Systems: Focus on Nanocrystals' Surface Modifications. Polymers [Internet]. 2022; 14(4): 658. [DOI:10.3390/polym14040658] [PMID] [PMCID]
68- Ning S, Zhang X, Suo M, Lyu M, Pan Y, Jiang Y, *et al*. Platelet-derived exosomes hybrid liposomes facilitate uninterrupted singlet oxygen generation to enhance breast cancer immunotherapy. Cell Reports Physical Science. 2023; 4(7): 101505. [DOI:10.1016/j.xcrp.2023.101505]
69- Guo J, Cui B, Zheng J, Yu C, Zheng X, Yi L, *et al*. Platelet-derived microparticles and their cargos: The past, present and future. Asian J Pharm Sci. 2024; 19(2): 100907. [DOI:10.1016/j.ajps.2024.100907] [PMID] [PMCID]
70- Weiss L, Macleod H, Maguire PB. Platelet-derived extracellular vesicles in cardiovascular disease and treatment - from maintaining homeostasis to targeted drug delivery. Curr Opin Hematol. 2025; 32(1): 4-13. [DOI:10.1097/MOH.0000000000000845] [PMID] [PMCID]
71- Livkisa D, Chang TH, Burnouf T, Czosseck A, Le NTN, Shamrin G, *et al*. Extracellular vesicles purified from serum-converted human platelet lysates offer strong protection after cardiac ischaemia/reperfusion injury. Biomaterials. 2024; 306: 122502. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2024.122502] [PMID] [PMCID]
72- Pawlowski CL, Li W, Sun M, Ravichandran K, Hickman D, Kos C, *et al*. Platelet microparticle-inspired clot-responsive nanomedicine for targeted fibrinolysis. Biomaterials. 2017; 128: 94-108. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2017.03.012] [PMID] [PMCID]
73- Formica ML, Pernochi Scerbo JM, Awde Alfonso HG, Palmieri PT, Ribotta J, Palma SD. Nanotechnological approaches to improve corticosteroids ocular therapy. Methods. 2025; 234: 152-77. [DOI:10.1016/j.ymeth.2024.12.008] [PMID]
74- Ozbakir B, Crielaard BJ, Metselaar JM, Storm G, Lammers T. Liposomal corticosteroids for the treatment of inflammatory disorders and cancer. Journal of Controlled Release. 2014; 190: 624-36. [DOI:10.1016/j.jconrel.2014.05.039] [PMID]
75- Ma Q, Fan Q, Xu J, Bai J, Han X, Dong Z, *et al*. Calming Cytokine Storm in Pneumonia by Targeted Delivery of TPCA-1 Using Platelet-Derived Extracellular Vesicles. Matter. 2020; 3(1): 287-301. [DOI:10.1016/j.matt.2020.05.017] [PMID] [PMCID]
76- Ma Q, Bai J, Xu J, Dai H, Fan Q, Fei Z, *et al*. Reshaping the Inflammatory Environment in Rheumatoid Arthritis Joints by Targeting Delivery of Berberine with Platelet-Derived Extracellular Vesicles. Advanced NanoBiomed Research. 2021; 1 (11). [DOI:10.1002/anbr.202100115]
77- Soleymani S, Yari F, Bolhassani A, Bakhshandeh H. Platelet microparticles: An effective delivery system for anti-viral drugs. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2019; 51(2). [DOI:10.1016/j.jddst.2019.03.009]
78- Bangar SP, Chaudhary V, Sharma N, Bansal V, Ozogul F, Lorenzo JM. Kaempferol: A flavonoid with wider biological activities and its applications. Crit Rev Food Sci Nutr. 2023; 63(28): 9580-604. [DOI:10.1080/10408398.2022.2067121] [PMID]
79- Liu GS , Chen HA, Chang CY, Chen YJ, Wu YY, Widhibrata A, *et al*. Platelet-derived extracellular vesicle drug delivery system loaded with kaempferol for treating corneal neovascularization. Biomaterials. 2025; 319: 123205. [DOI:10.1016/j.biomaterials.2025.123205] [PMID]
80- Shams SF, Mohammadipour M, Deyhim MR. Platelet-derived exosomes as the nano-carrier for miR-150 to modulate gene expression and cell cycle in the M07-e cell line. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2023; 86: 104644. [DOI:10.1016/j.jddst.2023.104644]
81- Kubaev A, Faez Sead F, Pirouzbakht M, Nazari M, Riyahi H, Sargazi Aval O, *et al*. Platelet-derived extracellular vesicles: emerging players in hemostasis and thrombosis. J Liposome Res. 2025; 35(3): 334-44. [DOI:10.1080/08982104.2025.2495261] [PMID]
82- Dyer MR, Alexander W, Hassoune A, Chen Q, Brzoska T, Alvikas J, *et al*. Platelet-derived extracellular vesicles released after trauma promote hemostasis and contribute to DVT in mice. J Thromb Haemost. 2019; 17(10): 1733-45. [DOI:10.1111/jth.14563] [PMID] [PMCID]
83- Muttiah B, Ng SL, Lokanathan Y, Ng MH, Law JX. Beyond Blood Clotting: The Many Roles of Platelet-Derived Extracellular Vesicles. Biomedicines. 2024; 12(8): 1850. [DOI:10.3390/biomedicines12081850] [PMID] [PMCID]
84- Fan Z, Gan Y, Hu Y. The potential utilization of platelet-derived extracellular vesicles in clinical treatment. Platelets. 2024; 35(1): 2397592. [DOI:10.1080/09537104.2024.2397592] [PMID]
85- Eustes AS, Dayal S. The Role of Platelet-Derived Extracellular Vesicles in Immune-Mediated Thrombosis. Int J Mol Sci. 2022; 23(14): 7837. [DOI:10.3390/ijms23147837] [PMID] [PMCID]
86- Noren Hooten N, Byappanahalli AM, Vannoy M, Omoniyi V, Evans MK. Influences of age, race, and sex on extracellular vesicle characteristics. Theranostics. 2022; 12(9): 4459-76. [DOI:10.7150/thno.72676] [PMID] [PMCID]
87- Orrù V, Virdis F, Marongiu M, Serra V, Schlessinger D, Devoto M, *et al*. Effect of Genetic Factors, Age and Sex on Levels of Circulating Extracellular Vesicles and Platelets. Int J Mol Sci . 2023; 24(8): 7183. [DOI:10.3390/ijms24087183] [PMID] [PMCID]
88- Lou C, Cai X. The emerging roles of platelet-derived extracellular vesicles in disease. Ann Med. 2025; 57(1): 2499029. [DOI:10.1080/07853890.2025.2499029] [PMID] [PMCID]