

New Methods in Cardiac Regenerative Medicine: The Use of Induced Pluripotent Stem Cells, Exosomes, and Cardiac Patch Technology

Abdolreza Dayani¹,
Mohsen Ghiasi²

¹ Assistant Professor, Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² PhD in Cell and Molecular Biology, Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received June 6, 2023; Accepted July 3, 2024)

Abstract

Despite significant advances in the prevention, diagnosis, and treatment of cardiac diseases, this condition is still considered one of the major challenges facing the global healthcare system. According to the World Health Organization (WHO) statistics, cardiovascular diseases (CVD) are among the leading causes of mortality worldwide. It is predicted that in the future, due to population aging, urbanization, and lifestyle changes, the mortality rate from cardiac diseases will increase. Current pharmacological approaches only extend the lifespan of patients without providing cardiac tissue repair. In the advanced stages of these diseases, apart from heart transplantation, there is no curative treatment available. However, due to limited suitable donors and post-operative risks and complications such as graft rejection, primary graft failure, and common infections after heart transplant, transplantation is not always feasible. Stem cells have created a wide range of hope in the world since their discovery. With increased research on stem cells and cell therapy in recent decades, researchers have found that utilizing this innovative therapeutic approach can increase lifespan and improve patient outcomes. Various countries have invested millions of dollars in the application of stem cells for treating various diseases in recent years. Embryonic stem cells (ESCs) have great differentiation potential, but their medical application faces severe ethical and religious constraints. The identification of potent induced pluripotent stem cells has revolutionized regenerative medicine. These cells possess all the capabilities of embryonic stem cells and can easily differentiate into cardiac myocytes. Furthermore, the paracrine effects of induced pluripotent stem cells (iPSCs) and extracellular vesicles (EVs) secreted from these cells in regenerative medicine have garnered significant attention. Among extracellular secretory vesicles, researchers have focused more on exosomes. Exosomes are vesicles ranging from 30 to 100 nanometers that have a plasma membrane-like topology and can enter target cells and deliver their cargo. Cardiac patches are a novel achievement resulting from the integration of tissue engineering and cell sciences and are used to improve cardiac injuries. Cardiac patches consist of a natural or synthetic scaffold designed to support and restore myocardial tissue following injury, and they are implanted into the heart tissue. The primary approach to using cardiac patches is to provide physical support to damaged heart tissue. Nowadays, the combination of cardiomyocytes derived from potent induced pluripotent stem cells along with biocompatible materials and growth factors has created specialized cardiac patches capable of precise delivery of many cells and minimizing cellular damages *in vivo* conditions. This review article aims to explore the latest advances in cardiac regenerative medicine through the use of cardiac patches, induced pluripotent stem cells, and exosomes derived from them; as well as to assess the challenges ahead in cardiac regenerative medicine using the mentioned items to alleviate and improve tissue damage to the heart, and ultimately provide an overview of new perspectives for future research in cardiac regenerative medicine.

Keywords: induced pluripotent stem cells, cardiac patches, exosomes, tissue engineering, regenerative medicine

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (236): 158-176 (Persian).

Corresponding Author: Mohsen Ghiasi- Rajaie Cardiovascular Medical and Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (E-mail: m_ghiasi@rhc.ac.ir)

روش های نوین در پزشکی بازساختی قلب: کاربرد سلول های بنیادی پرتوان القایی، اگزوزوم ها و تکنولوژی پچ های قلبی

عبدالرضا دیانی^۱
محسن قیاسی^۲

چکیده

علی رغم پیشرفت های چشمگیر در پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری های قلبی هنوز این بیماری به عنوان یکی از چالش های اصلی نظام سلامت جهانی محسوب می گردد. براساس آمارهای سازمان جهانی بهداشت، بیماری های قلبی عروقی یکی از مهم ترین عوامل مرگ و میر در سراسر جهان به شمار می روند. پیش بینی می شود که در سال های آینده در نتیجه پیری جمعیت، شهرنشینی و تغییر سبک زندگی آمار مرگ و میر ناشی از بیماری های قلبی افزایش یابد. رویکردهای دارویی موجود تنها طول عمر بیماران را افزایش می دهد، اما ترمیمی در بافت قلبی ایجاد نمی نماید. در مراحل پیشرفته این بیماری ها به غیر از پیوند قلب، درمانی وجود ندارد. با این حال، پیوند به دلیل تعداد محدود اهدا کننده مناسب، عوارض و خطرات بعد از عمل مانند رد پیوند، نارسایی اولیه پیوند و عفونت های شایع بعد از پیوند قلب همیشه قابل اجرا نیست. سلول های بنیادی از زمان شناسایی تا به امروز امید فراوانی را در جهان بوجود آورده است. با افزایش تحقیقات بر روی سلول های بنیادی و سلول درمانی در چند دهه اخیر، محققین به این نتیجه رسیدند که استفاده از این رویکرد درمانی جدید می تواند موجب افزایش طول عمر و بهبود بیماران گردد. کشورهای مختلف در سال های اخیر میلیون ها دلار در زمینه کاربرد سلول های بنیادی برای درمان بیماری های مختلف هزینه کرده اند. سلول های بنیادی جنینی توانایی بسیار بالایی در تمایز دارند، اما کاربرد آن ها در پزشکی بازساختی با محدودیت های اخلاقی و مذهبی شدیدی مواجه است. شناسایی سلول های بنیادی پرتوان القایی انقلابی در زمینه پزشکی بازساختی ایجاد نمود. این سلول ها تمام قابلیت های سلول های بنیادی جنینی را دارا هستند و به راحتی می توانند به میوسیت های قلبی تمایز یابند. علاوه بر این اثرات پاراکرائنی سلول های بنیادی پرتوان القایی و وزیکول های خارج سلولی ترشح شده از این سلول ها در پزشکی بازساختی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در میان وزیکول های ترشحی خارج سلولی، توجه پژوهشگران به اگزوزوم ها بیش تر بوده است. اگزوزوم ها وزیکول هایی با اندازه ۳۰ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که توپولوژی شبیه غشای پلاسمایی دارند و می توانند وارد سلول های هدف شده و محموله های خود را تحویل دهند. پچ های قلبی دستاوردیست نوین که از تلفیق مهندسی بافت و علوم سلولی بوجود آمده است و بمنظور بهبود آسیب های قلبی مورد استفاده قرار می گیرند. پچ های قلبی از یک داربست طبیعی و یا سنتزی با هدف حمایت و بازسازی از میوکارڈ قلب به دنبال آسیب، بر روی بافت قلب کاشته می شوند. رویکرد اصلی استفاده از پچ های قلبی حمایت فیزیکی از بافت آسیب دیده قلب است. امروزه ترکیب کاردیومیوسیت های مشتق از سلول های بنیادی پرتوان القایی به همراه مواد زیست سازگار و فاکتورهای رشد، پچ های قلبی ویژه ای را ایجاد کرده است که توانایی تحویل دقیق بسیاری از سلول ها و به حداقل رساندن تلفات سلولی در شرایط درون تنی را دارند. در این مقاله مروری تلاش شده است به بررسی جدیدترین پیشرفت ها در حوزه پزشکی بازساختی قلب از طریق استفاده از پچ های قلبی، سلول های بنیادی پرتوان القایی و اگزوزوم های مشتق از آن پرداخته شد؛ هم چنین مقاله ای حاضر سعی دارد به ارزیابی چالش های پیش روی پزشکی بازساختی قلب در استفاده از موارد ذکر شده جهت تخفیف و بهبود آسیب های وارد شده به بافت قلب بپردازد و نهایتا با ارائه یک تصویر کلی از چشم اندازهای جدید پیش روی پزشکی بازساختی قلب برای پژوهش های آینده الهام بخش باشد.

واژه های کلیدی: سلول های بنیادی پرتوان القایی، پچ قلبی، اگزوزوم، مهندسی بافت، پزشکی بازساختی

مؤلف مسئول: محسن قیاسی - تهران، خیابان ولی عصر (عج)، انستیتو آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی E-mail: m_ghiasi@rhc.ac.ir

۱. استادیار، مرکز تحقیقات قلب و عروق شهید رجایی، مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۲. دکترای تخصصی بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات قلب و عروق شهید رجایی، مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۳/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۴/۱۳

مقدمه

بیماری‌های قلبی و عروقی به دلیل مرگ و میر بالا به عنوان یک چالش بزرگ در سلامت جهان محسوب می‌شوند و پیش‌بینی می‌شود در آینده حداقل از مجموع سه مرگ، یک مرگ به بیماری‌های قلبی و عروقی اختصاص خواهد داشت (۲۰۱). آسیب‌های بزرگ ناشی از سکه‌های قلبی باعث می‌شود بیمار پس از مدتی نارسایی‌های قلبی حاد از خود نشان دهد که تنها گزینه درمانی برای این بیماران پیوند قلب است. با این حال، پیوند قلب به دلیل تعداد محدود اهداکنندگان سازگار، و هم‌چنین عوارض بسیار مهم این عمل از قبیل رد پیوند، نارسایی اولیه پیوند، عفونت و حتی مرگ همیشه قابل اجرا نیست (۳). بیماری ایسکمی قلب ۱۶ درصد از کل مرگ و میرها را شامل می‌شود و با افزایش سن جمعیت جهان، شیوع بیماری‌های قلبی عروقی (Cardiovascular disease: CVD) افزایش می‌یابد (۵،۴). پیش‌بینی می‌شود در امریکا، نارسایی قلبی از ۶/۵ میلیون مورد به بیش از ۸ میلیون مورد تا سال ۲۰۳۰ افزایش یابد (۷،۶). در سال ۱۹۹۹، بنیانگذار علمی و مدیر ارشد اجرایی علوم ژنوم انسانی، William Haseltine، اصطلاح پزشکی بازساختی را ابداع کرد و در واقع همه این حوزه‌ها را در بر می‌گرفت (۸). در سال‌های اخیر پزشکی بازساختی قلب و عروق به دلیل اهمیت فراوان این ارگان و تمرکز بسیاری از گروه‌های تحقیقاتی در جهان بر روی بررسی مکانیسم‌های اساسی تمایز سلول‌های بنیادی به کاردیومیوسیت‌ها در حال پیشرفت است (۱۰،۹). امیدواری‌های زیادی وجود دارد که بتوان بسیاری از بیماری‌های قلبی از جمله بیماری ایسکمی قلب، بیماری‌های دریچه‌ای قلب، بیماری‌های مادرزادی قلب و کاردیومیوپاتی (Cardiomyopathy) را با استفاده از تکنولوژی‌های جدید با جایگزینی بافت قلب بیمار با بافت سالم و یا پیوند سلولی بهبود داد (۱۱). تحقیقات و استفاده از سلول‌های بنیادی برای پزشکی بازساختی در بسیاری از بیماری‌ها و نقص‌های مهم و عملکردی در

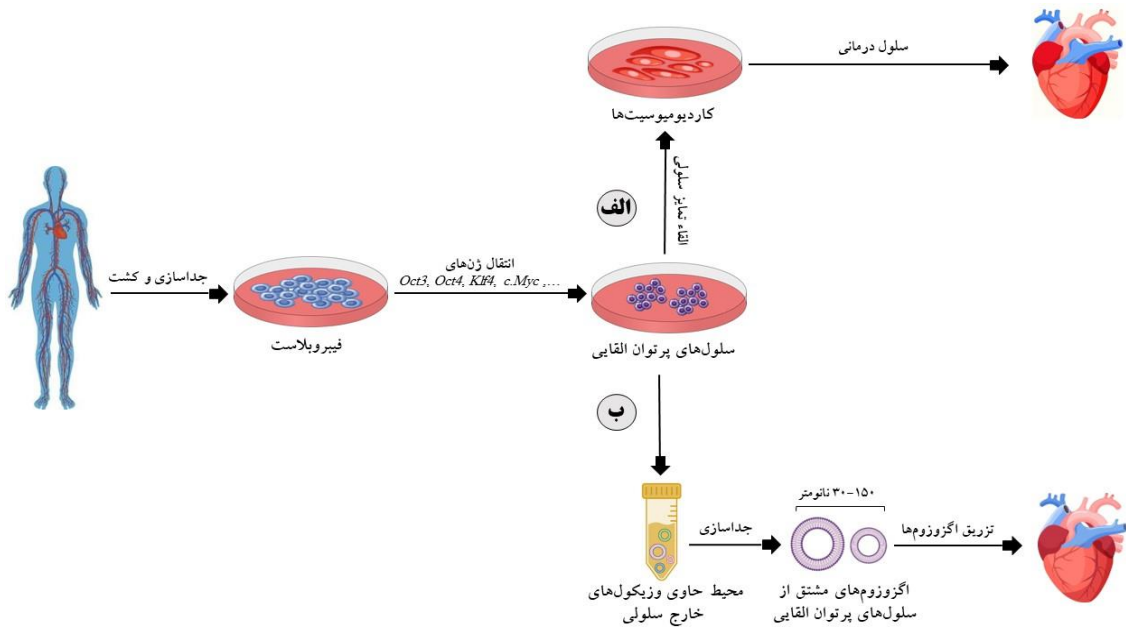
اندام‌ها و بافت‌های مختلف از جمله عصب، استخوان، غضروف، قرنیه و... گزارش شده است (۱۸-۱۲). در تعریف می‌توان سلول‌های بنیادی را سلول‌های تمایز نیافته ای دانست که قابلیت خودنوسازی و تکثیر را دارند (۱۷). این سلول‌ها را می‌توان به گروه‌ها و دسته‌های مختلفی طبقه‌بندی نمود؛ اما در یک طبقه‌بندی کلی می‌توان این سلول‌ها را بر اساس پتانسیل تمایزشان به عنوان همه‌توان، پرتوان، چندتوان و تک‌توان طبقه‌بندی کرد (۲۱-۱۹). سلول‌های بنیادی پرتوان مشتق شده از بلاستوسیست‌ها، مانند سلول‌های بنیادی جنینی (Embryonic stem cell: ESCs)، ظرفیت رشد نامحدودی دارند و پتانسیل آن‌ها برای تمایز به تمام انواع سلول‌های مشتق شده از سه لایه زایشی تایید شده است. از نظر مرفولوژیک، سلول‌های بنیادی جنینی به شکل کلونی‌های فشرده دیده می‌شوند. این سلول‌ها دارای توان تولید مارکرهای پرتوان همانند *Oct3*، *Oct4*، *Sox2*، *TRA-1-81* و *SSEA-1* هستند (۲۲،۲۳). اگر چه سلول‌های بنیادی جنینی پرتوان و با ظرفیت تکثیر بالایی هستند، اما استفاده از این سلول‌ها ملاحظات اخلاقی ویژه‌ای دارد (۲۴،۲۵). در سال ۲۰۰۶، Takahashi و Yamanaka برای اولین بار نشان دادند که سلول‌های سوماتیک کاملاً تمایز یافته، فیبروبلاست‌های مشتق شده از بافت موش‌های بالغ و جنین را می‌توان برای ساختن سلول‌هایی مشابه سلول‌های سلول‌های بنیادی جنینی برنامه ریزی مجدد نمود (۲۶). این موضوع نظر بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرد. روشی که این گروه ارائه داده بودند مبتنی بر معرفی چهار ژن اصلی *Oct3/4*، *Sox2*، *Klf4* و *c-Myc* بود که فاکتورهای رونویسی محسوب می‌شوند و می‌توانند سلول‌های بالغ را برنامه ریزی مجدد (Reprogramming) نمایند. Takahashi و Yamanaka به منظور برنامه‌ریزی مجدد سلول‌ها از تروریروس استفاده نمودند. این گروه این سلول‌ها را سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (Induced pluripotent stem cells) نام نهادند. تنها یک سال بعد، Yamanaka و Thomson

دارد. در حالت ایده آل، خواص مکانیکی یک پچ قلبی باید با ویژگی‌های بافت قلب سالم که مدول یانگ (Young's modulus) آن بین ۸ تا ۱۵ کیلو پاسکال در دیاستول است مطابقت داشته باشد (۳۹). در بررسی حاضر سعی شده است به ارزیابی آخرین پیشرفت‌های صورت گرفته در زمینه پیوند سلول‌های بنیادی پرتوان القایی و آگروژوم‌های مشتق از آن‌ها و هم‌چنین پچ‌های قلبی به عنوان یک رویکرد نوید بخش در ترمیم و بازسازی بافت قلب پرداخته شود. در نهایت، چالش‌های پیش روی سلول درمانی و استفاده از پچ‌های قلبی و همچنین دورنمای این مسیر در آینده پزشکی بازساختی قلب مورد ارزیابی قرار خواهد گرفت.

کاربرد سلول‌های iPS در پزشکی بازساختی قلب

برای مدت‌ها تصور بر این بود که توانایی بازسازی بافت قلب انسان بلافاصله پس از تولد کاهش می‌یابد و سلول‌های قلبی پس از تولد به عنوان سلول‌های تمایز یافته نهایی محسوب می‌شدند (۴۰). با ارائه گزارشی از نوسازی کاردیومیوسیت در پستانداران، دیدگاه جهانی در سال ۲۰۰۹ نسبت به سلول‌های قلبی تغییر کرد (۴۱). گزارشات متعددی از اثر بخشی مثبت کاردیومیوسیت‌های مشتق شده از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (Cardiomyocytes derived from induced pluripotent stem cells: iPSC-CMs) در بازگرداندن عملکرد بافت آسیب دیده قلب به ثبت رسیده است (۴۲-۴۵)، به‌طور کلی در این روش ابتدا سلول‌های فیروبلاستی جدا شده از بیمار در محیط آزمایشگاه (*in vitro*) کشت شده و پس از القاء بنیادینگی توسط ژن‌های خاص به iPSCها تبدیل می‌گردند، در مرحله بعدی این سلول‌ها به کاردیومیوسیت‌های تمایز یافته و سپس به قلب پیوند داده می‌شوند (تصویر شماره ۱ بخش الف). بنابراین کاردیومیوسیت‌های مشتق شده از iPSC به عنوان یک منبع سلولی امیدوارکننده و بسیار جذاب برای افرادی که از نارسایی شدید قلبی رنج می‌برند در

به‌طور مستقل توانستند سلول‌های iPS انسانی (Human induced pluripotent stem cells: hiPSCs) را به وجود آورند. فیروبلاست‌های انسانی با معرفی ترکیبی از چهار فاکتور رونویسی (یعنی *Oct4*، *Sox2*، *Nanog* و *Lin28*) به سلول‌هایی مشابه سلول‌های بنیادی جنینی برنامه‌ریزی مجدد شدند (۲۸، ۲۷). اکثر منابع سلول‌های سوماتیک که جهت تولید iPS مورد استفاده قرار گرفته‌اند اکثراً منشاء انسانی و یا موشی داشته‌اند (۳۲-۲۹). مشخص شده است که سلول‌های پرتوان القایی بسیاری از ویژگی‌های سلول‌های بنیادی جنینی را دارند. این سلول‌ها می‌توانند به انواع رده‌های سلولی لایه‌های جنینی تبدیل شوند (۳۳). پچ‌های قلبی ساختارهای جدیدی هستند که اخیراً به‌عنوان راه‌حلی بالقوه برای بازگرداندن عملکرد قلب ساخته شده‌اند. مهندسی یک پچ قلبی مستلزم در نظر گرفتن معیارهای مختلف طراحی از جمله ساختار مواد مورد استفاده، خواص فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی آن است (۳۴). در واقع پچ‌های قلبی یک سیستم کشت زیست تقلید (بیومیمتیک) هستند که به‌عنوان یک پلنفرم امیدوار کننده برای کمک به درمان آسیب‌های فیزیولوژیکی پدید آمده‌اند (۳۵). پچ‌های قلبی از یک داربست طبیعی و یا سنتزی با هدف حمایت و بازسازی از میوکارد قلب به دنبال آسیب ایسکمی قلبی ناشی از انفارکتوس میوکارد (MI: Myocardial infarction) بر روی قلب کاشته می‌شوند. در استفاده از پچ‌های قلبی دو رویکرد اصلی وجود دارد، رویکرد حمایتی که شامل حمایت فیزیکی از بافت آسیب دیده با محدود کردن استرس دیواره میوکارد و رویکرد احیا کننده، که در این رویکرد سلول‌های بنیادی و یا تمایز یافته از طریق ترکیب با داربست‌هایی با ساختار ویژه برای تحویل به ناحیه آسیب دیده ترکیب می‌کنند (۳۸-۳۶). تحقیقات اخیر سعی بر توسعه تکنولوژی پچ‌های قلبی به منظور چسبیدن به سطح قلب و ادغام آن با بافت قلب میزبان، افزایش توان پشتیبانی ساختاری و ارتقای عملکرد پمپاژ در جهت کشش و استحکام مکانیکی



تصویر شماره ۱: الف: شمای کلی تهیه و پیوند کاردیومیوسیت‌های مشتق از iPSCها به قلب، ب: استفاده از اگزوزوم‌های مشتق از iPSCها در قلب

Caspi و همکاران انجام شد مشخص گردید پیوند ESC-CM به بافت قلب موش منجر به پایداری و جلوگیری از تضعیف و زوال میکارد قلب می‌گردد (۴۸). این موضوع در مطالعه‌ای دیگر که بر روی میکارد انفارکتوس شده رت انجام شد تایید گردید (۴۹). علاوه بر این، Van Laake و همکاران، نشان دادند پیوند ESC-CMs به یک ناحیه قلب موش دارای انفارکتوس منجر به بهبود عملکرد قلب پس از چهار هفته می‌شود (۵۰). بررسی‌ها بر روی حیوانات مدل بزرگ‌تر نیز انجام گردیده است، در یک ارزیابی که در سال ۲۰۱۷ انجام گردید، مشخص شد iPSC-CM انسانی می‌تواند عملکرد قلب آسیب دیده خوک را بهبود ببخشد (۵۱). بررسی‌های انسانی نیز در سال ۲۰۱۸ آغاز شده است، ژاپن به عنوان یکی از کشورهایی که در زمینه سلول‌های بنیادی تحقیقات زیادی را انجام داده است در سال ۲۰۱۷ اعلام کرد پتانسیل iPSC در بازسازی قلب در قالب یک کارآزمایی بالینی در دانشگاه اوزاکا به سرپرستی Yoshiki Sawa بر روی انسان، در حال انجام است، در این بررسی از ورقه‌های نازک بافت قلبی مشتق شده از

نظر گرفته شد. البته استفاده از iPSCها در بالین و شرایط درون تنی (*in vivo*) محدودیت‌هایی به همراه دارد. یکی از مهم‌ترین چالش‌های استفاده از iPSCها در پزشکی بازساختی قلب و عروق این است که کاردیومیوسیت‌های تولید شده در شرایط آزمایشگاهی، تمایل به تشکیل تراتوم (Teratomas) پس از پیوند دارند و این به دلیل وجود سلول‌های تمایز نیافته است. لذا خالص سازی کاردیومیوسیت‌های قبل از استفاده در فاز بالینی بسیار مهم است (۴۶). یک روش پیشنهادی به منظور خالص سازی iPSCs-CMs استفاده از محیط کشت فاقد گلوکز و مکمل لاکتوز جهت فرآیند کشت است، زیرا سلول‌های بنیادی پرتوان بدون گلوکز در محیط کشت زنده نخواهند ماند (۴۷). Shiba و همکاران کاردیومیوسیت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی انسان (Cardiomyocytes derived from embryonic stem cells) را به میکارد یک مدل کوچک هندی که دارای آسیب قلبی بود پیوند زدند، نتایج از بهبود عملکرد مکانیکی و الکتریکی با کاهش آریتمی‌های بطنی در مدل حیوانی خبر داد (۴۳). در بررسی که توسط

iPSCها در قلب‌های بیمار انسان برای کمک به بازسازی قلب استفاده شده است. Miyagawa و همکاران در بررسی خود از سلول‌های iPS برای ایجاد ورقه‌ای متشکل از ۱۰۰ میلیون سلول عضلانی قلب استفاده کردند (۵۲).

اگزوزوم‌های ترشح شده از iPSC در پزشکی بازساختی قلب

وزیکول‌های خارج سلولی (Extracellular vesicles: EVs) یکی از بخش‌هایی هستند که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. اگزوزوم‌ها توسط اکثر انواع سلول ترشح می‌شوند و حاوی انواع پروتئین‌ها و نوکلئوتیدها هستند (۵۳، ۵۴). سلول‌ها از اگزوزوم‌ها برای انتقال اجزای زیست فعال برای ارتباطات بین سلولی استفاده می‌کنند. اگزوزوم‌ها می‌توانند وارد سلول‌های هدف شوند و محموله‌های خود را تحویل دهند (۵۵). اخیراً قدرت ترمیم قلبی اگزوزوم‌های سلول‌های بنیادی، از جمله سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal stem cells: MSC)، سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌های پیش ساز قلبی (Cardiac progenitor cells: CPCs)، سلول‌های بنیادی پرتوان القایی مورد ارزیابی قرار گرفته است (تصویر شماره ۱.ب) (۵۶-۵۹). یکی از ویژگی‌های مهم استفاده از اگزوزوم‌های مشتق از iPSCها این است که برخلاف درمان با سلول‌های بنیادی، اگزوزوم‌ها حداقل تومورزایی و پاسخ ایمنی را ایجاد می‌کنند (۶۰، ۶۱). اگزوزوم‌های مشتق از hiPSCs در مقادیر زیاد در اختیار پژوهشگران قرار دارد و می‌توان آن‌ها را ذخیره‌سازی نمود. hiPSC منابع سلولی خوبی برای تولید محصول قابل اطمینان هستند و مدل‌های سلولی ایده‌آل برای پزشکی شخصی محسوب می‌گردند (۶۲). تحقیقات نشان داده است که میکروویزیکول‌های مشتق شده از hiPSCها قادر به انتقال بیومولکول‌های فعال از جمله mRNA، miRNA و پروتئین هستند. این بیومولکول‌ها از طریق میکروویزیکول‌های مشتق شده از iPSC به سلول‌های

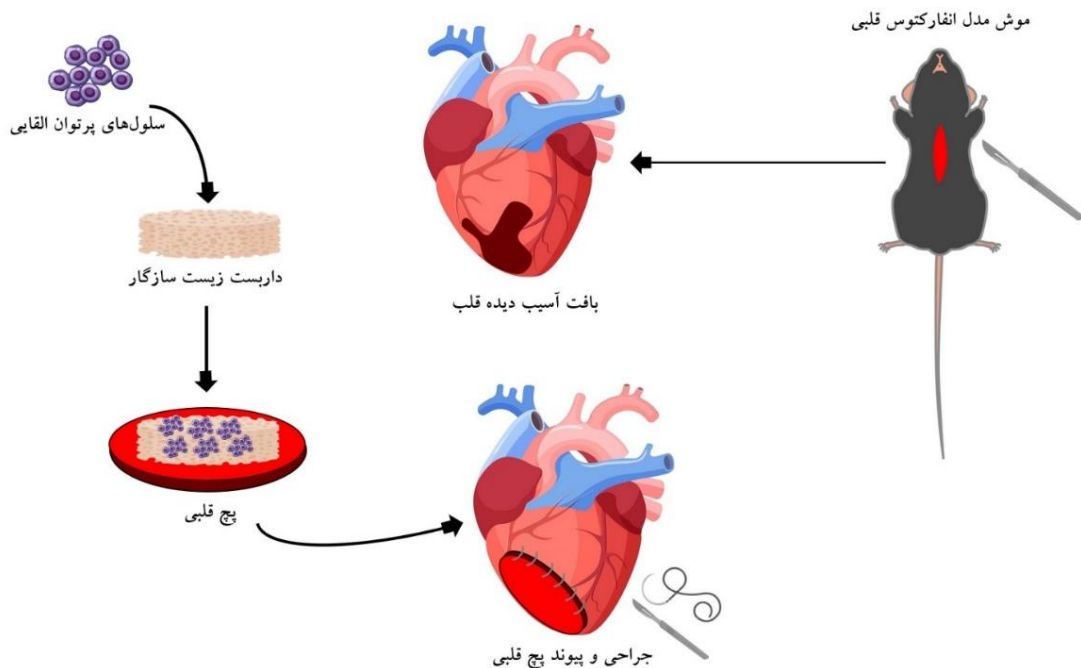
استرومایی مزانشیمی قلب انسان تحویل داده می‌شوند و با تأثیر بر پروفایل‌های پروتئومی سلول‌های گیرنده، اثرات محافظتی دارند. علاوه بر این، میکروویزیکول‌های hiPSCها پتانسیل تمایز قلبی و اندوتلیالی سلول‌های استرومایی مزانشیمی قلبی را نشان می‌دهند (۶۳). در بررسی دیگر نشان داده شده است که تزریق وریدی اگزوزوم‌ها قبل از خون‌رسانی مجدد، اندازه انفارکتوس در موش مدل را تا ۴۵ درصد کاهش می‌دهد (۶۴). توانایی‌های ترمیمی اگزوزوم‌های مشتق شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از iPSC (iPSC-derived MSCs: iMSCs)، کاردیومیوسیت‌ها (iPSC-derived cardiomyocytes: iCMs) و سلول‌های اندوتلیالی (iPSC-derived endothelial: iECs) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این بررسی نشان داد که اگزوزوم‌های iCM، iMSC و iEC دارای قابلیت چند نمودی (پلی‌تروپیک (Pleiotropic)) برای تشکیل یک شبکه مویرگی و بازبانی عملکرد میوکارد آسیب دیده هستند (۶۵). بررسی‌های دیگر نشان دادند که اگزوزوم‌ها دارای پتانسیل افزایش بقا و تکثیر سلول‌های قلبی، کاهش آسیب ایسکمیک، ترویج رگ‌زایی و بهبود عملکرد قلب در مدل‌های حیوانی کوچک و بزرگ هستند (۵۷، ۶۶).

فناوری پیچ‌های قلبی

در سال‌های اخیر استفاده از سلول‌های بنیادی تحویل داده شده از طریق انفوزیون کرونری یا تزریق داخل کرونری آغاز شده است. در بررسی انجام شده در بیماری‌های قلبی ایسکمی و غیر ایسکمی نشان داده شد که تزریق سلول‌های بنیادی موجب بهبود عملکرد قلب می‌شود (۶۷). در ادامه کارآزمایی بالینی دیگری در فاز دوم در حال انجام است که ترکیبی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی همراه با CPC (CONCERT-HF) را ارائه می‌دهد (۶۸). در نارسایی قلبی کودکان، استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی، تک‌هسته‌ای مغز استخوان (Bone marrow-derived mononuclear cells: BM-MNCs)

آزمایشات متعدد است. شمای کلی کاربرد پیچ‌های قلبی در تصویر شماره ۲ نمایش داده شده است. اخیراً پژوهشگران سعی دارند با استفاده از تکنیک سلول زدایی به ECM طبیعی بافت‌ها دست پیدا کنند، زیرا این ECM ویژگی‌های مکانیکی و سیگنال‌های خاص بافتی را همانند هم‌تایان خود در داخل بدن حمل می‌کنند. حال اگر این بستر را با سیگنال‌دهی بیوشیمیایی ترکیب نمود تکثیر سلولی، نفوذ به بافت هدف و القاء تمایز را افزایش می‌دهند (۱۸). این موضوع منجر به استفاده از جفت سلول زدایی شده موش به‌عنوان داربست برای پیچ قلبی با استفاده از کاردیومیوسیت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی انسانی (Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: hiPSC-CMs) در مدل انفارکتوس موش گردید (۷۰). پیچ طراحی شده در این مطالعه پس از گذشت ۷ روز از کاشت hiPSC-CMs سلول‌ها cTnT (Cardiac troponin T) را بیان می‌کنند، این موضوع نشانگر موفقیت در طراحی پیچ قلبی مهندسی است.

و سلول‌های بنیادی خـون بند نـاف (Umbilical cord blood: UCB) مورد استفاده قرار گرفته است، اما به دلیل حجم نمونه کوچک در هر مطالعه نتایج قطعی گزارش نشده‌اند (۶۹). در سلول درمانی بر مبنای تزریق مستقیم سلول به بیمار با چالش بسیار مهمی روبرو هستیم، این چالش شستشوی و حذف سریع سلول‌های تزریق شده به دلیل عدم پشتیبانی مکانیکی است که ممکن است منجر به یک اثر درمانی ناپایدار گردد. اخیراً تکنولوژی پیچ باعث شده است امیدواری‌های تازه‌ای در پزشکی بازساختی قلبی ایجاد گردد، انتظار می‌رود فناوری پیچ قلبی بتواند سلول‌ها را از حالت معلق و بدون پشتیبان خارج نماید و در عین حال بتواند همانند ماتریکس خارج سلولی (Extracellular matrix: ECM) نیازهای اساسی متابولیکی سلول‌های بنیادی را برآورده کند. بررسی‌هایی بر روی کاشت پیچ‌های قلبی بر روی مدل‌های حیوانی انجام شده است اما کشف این که چه روشی برای استفاده بالینی مناسب‌تر می‌باشد، نیازمند گذشت زمان و انجام



تصویر شماره ۲: شمای کلی تهیه و پیوند پیچ‌های قلبی حاوی iPSC در مدل حیوانی

این پیچ به طور خود به خود ۴۰ تا ۱۰۰ ضربه در دقیقه، با پاسخ فعال به تحریک خارجی منقبض می‌گردد. مطالعه نشان داد چندین فاکتور رشد مانند VEGF (Vascular endothelial growth factor)، آنژیوژنین (Angiogenin)، آنژیوپویتین-۲ و فاکتور رشد هیپاتوسیت (Hepatocyte growth factor: HGF) به طور قابل توجهی پس از کاشت hiPSC-CMs روی جفت افزایش یافت. این موضوع نشان می‌دهد انتقال سلول‌ها بر روی داربست می‌تواند اثر پاراکرین را از طریق چندین فاکتور رشد افزایش دهد. در ادامه مشخص شد ژن‌های ساختاری، هدایتی و مرتبط با متابولیسم سلولی کاردیومیوسیت در پیچ مهندسی شده زیستی در مقایسه با تک لایه hiPSC-CMs افزایش بیان دارند. در آنالیز عملکردی، کاشت پیچ کسر جهشی بطن چپ^۱ و کوتاه شدن کسری بطن چپ^۲ را بهبود بخشید و هم‌چنین قطر (دیامتر) پایان دیاستولیک بطن چپ^۳ و قطر پایان سیستولیک بطن چپ^۴ را کاهش داد. با در نظر گرفتن این اتفاقات می‌توان عنوان نمود که استفاده از پیچ قلبی و پیوند آن در اطراف ناحیه انفارکتوس شده در مقایسه با استفاده از بافت جفت یا سلول‌های hiPSC-CM به تنهایی عملکرد قلب را بهبود می‌بخشد. Wang و همکاران از hiPSC-CMs و سلول‌های CD90 مشتق از hiPSC بر روی جفت سلول‌زدایی شده موش‌ها استفاده کردند (۷۱). نتایج این بررسی نشان داد عملکرد قلب موش‌ها پس از ایمپلنت کردن پیچ‌های مهندسی شده بهبود یافت و نتوواسکولاریزاسیون (Neovascularization) در اطراف ناحیه انفارکتوس شده افزایش چشمگیری پیدا کرده است.

یکی دیگر از عرصه‌های جدید در مهندسی بافت قلب استفاده از هیدروژل‌ها است. هیدروژل‌ها شبکه‌های پلیمری سه بعدی هستند که توانایی جذب مایعات بدن را در محیط بیولوژیکی دارد. یکی از هیدروژل‌های مورد استفاده در مهندسی بافت قلب هیدروژل مقاوم به

حرارت است. طحال اندامی است که سلول‌های بنیادی خونساز را در خود جای داده است و به عنوان پایه‌ای برای ایجاد هیدروژل واکنشگر حرارتی مشتق از ECM طحال (SpGel) مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷۲). هیدروژل مقاوم به حرارت در دمای اتاق مایع است، پس می‌توان آن را به شکل مایع به بافت مورد نظر تزریق کرد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تغییر حالت می‌دهد و به صورت جامد در خواهد آمد و به این صورت یک پیچ در بافت مورد نظر تشکیل می‌شود. در یک بررسی SpGel با hiPSC-CMs و hiPSCs (سلول‌های اندوتلیال) ترکیب شد و سپس به صورت تزریقی به بافت قلب موش مبتلا به MI تزریق گردید. نتایج این بررسی نشان داد گروه دریافت کننده این هیدروژل مهندسی شده بیشترین افزایش LVEF را در ۴ هفته نسبت به سایر گروه‌ها از خود نشان دادند، علاوه بر این فیروز قلبی به طور قابل توجهی در گروه دریافت کننده این هیدروژل کاهش یافت (۷۲). در بررسی انجام شده توسط Fan و همکاران، نشان داده شد افزودن نانوذره CHIR99021 و فاکتور رشد فیبروبلاست ۱ (Fibroblast growth factor 1:FGF1) قدرت بازسازی پیچ قلبی طراحی شده با hiPSC-CMs مبتنی بر فیبرین (Fibrin) را افزایش می‌دهد. در این بررسی مشخص شد پیچ قلبی طراحی شده موجب بهبود پارامترهای اکوکاردیوگرافی از جمله LVEF، LVFS، LVEDD، LVESD می‌گردد، هم‌چنین با افزایش تعداد سلول‌ها افزایش بهبود را شاهد خواهیم بود (۷۳). در بررسی دیگر ماده قابل جذب پلی‌گلاکتین (Polyglactin) تولید گردید که با فیبروبلاست انسانی و hiPSC-CMs کشت می‌گردد، و از آن برای درمان موش مبتلا به نارسایی احتقانی قلب القایی (CHF: Congestive heart failure) استفاده شد. نتایج این بررسی نشان داد موش‌های تحت درمان با پیچ ذکر شده کاهش فشار انتهای (پایان) دیاستولی بطن چپ (Heart Left Ventricle Enddiastolic Pressure:LVEDP) و ثابت زمانی دیاستولیک بطن چپ (Tau) را با بهبود عملکرد دیاستولیک نشان دادند (۷۴).

1. Left ventricular ejection fraction: LVEF
2. Left ventricular fractional shortening: LVFS
3. Left ventricular end-diastolic diameter: LVEDD
4. Left ventricular end-systolic diameter: LVESD

جدول شماره ۱، به‌طور خلاصه تحقیقات صورت گرفته بر روی پچ‌های قلبی با استفاده از سلول‌های iPSC را نشان می‌دهد.

توسعه پچ‌های قلبی و بررسی‌های آنسانی آن از دیرباز استفاده از بافت‌های طبیعی سلول‌زدایی شده (دسلولار شده) برای مهندسی بافت مورد توجه قرار داشته است. Oberwallner و همکاران، برش‌هایی

از بافت میوکاردا انسان و خوک را سلول‌زدایی کردند و بر روی آن سلول‌های بنیادی را کشت دادند و عنوان کردند پس از ایجاد ضربان در سلول‌ها می‌توان این داربست را به بافت قلب پیوند زد (۸۰). پروتکل‌های سلول‌زدایی توسط بقیه پژوهشگران از جمله Meglio و همکاران توسعه داده شد (۸۱). جدول شماره ۲، خلاصه‌ای از ECM‌های طبیعی میوکاردا انسان استفاده شده برای پچ قلبی را ارائه می‌دهد.

جدول شماره ۱: خلاصه‌ای از بررسی‌های انجام شده بر روی پچ‌های قلبی با استفاده از hiPSC-CMs

منبع	نوع سلول	تعداد سلول	نتیجه بررسی	منبع
پچ فیبرینی	hiPSC-CMs, hiPSC-ECs, hiPSC-SMCs	6×10^5 cells total و $1:1$	افزایش FS، LVEF، کاهش اندازه انفارکتوس	(۷۵)
ژل فیبرینی	hiPSC-CMs, human pericytes	2.2×10^4 hiPSC-CMs 3.4×10^6 PCs	افزایش FS، LVEF کمتر از پایه، کاهش اندازه انفارکتوس	(۷۶)
نوارهای بافت قلب مهندسی شده انسانی	hiPSC-CMs, hiPSC-ECs	2×10^4 ECs, 5×10^4 CMs	کاهش FAC	(۷۷)
ماتریکس دسلولار شده قلب رت	hiPSC-CMs, hiPSCD90+, cells	3×10^4 CMs, 1×10^4 cells/mm2	افزایش FS، LVEF	(۷۸)
ماتریکس فیبرینی و ترومین	hiPSC-CMs, hiPSC-ECs, hiPSC-SMCs	2×10^4 ECs, 4×10^4 CMs 2×10^6 SMCs	افزایش LVEF، کاهش اندازه انفارکتوس	(۷۸)
پلی گلاکتین	hiPSC-CMs, human neonatal, fibroblast	مشخص نیست	عدم تغییر قابل توجه LVEF، کاهش LVEDP، بهبود عملکرد دیاستولیک	(۷۴)
فیبرین	hiPSC-CMs	2×10^5 per patch	افزایش LVEF	(۷۳)
هیدروژل (ژلاتین متاکریلات-پلی اتیلن گلیکول دیاکریلات)	hiPSC-CMs, hiPSC-ECs, h-MSCs	1×10^4 per/ml	بدون تغییر قابل توجهی در LVEF، کاهش اندازه انفارکتوس، زنده ماندن سلول	(۷۹)
هیدروژل واکشگر حرارتی مشتق از ماتریکس خارج سلولی طحال	hiPSC-CMs, hiPSC-ECs	1×10^4 ECs, 1×10^5 CMs	افزایش LVEF، کاهش فیروز	(۷۲)
جفت سلول‌زدایی شده رت	hiPSC-CMs,	1×10^4 cells/cm ²	افزایش FS، LVEF، کاهش اندازه انفارکتوس	(۷۰)

FS: کسر کوتاه شدگی (Fractional shortening)،

LVEF: کسر جهشی بطن چپ

LVEDP: فشار پایان دیاستولی بطن چپ (Left ventricular end-diastolic pressure)

FAC: کسر تغییر مساحت (Fractional area change)

جدول شماره ۲: خلاصه‌ای از ECM میوکاردا طبیعی انسانی که برای پچ قلبی استفاده شده است

منبع	روش سلول‌زدایی	منبع سلولی مورد استفاده	نتیجه	منبع
خوک و انسان	۱۰ میلی‌مولار تریس/۰/۱ درصد EDTA، ۰/۵ درصد SDS	سلول‌های بنیادی مزانشیمی بخش‌های میوکاردا انسان و خوک با ضخامت ۳۰۰ میکرومتر سلول‌زدایی شدند و سلول‌ها بر روی آن‌ها کشت داده شدند. کاردیومیوسیت‌های مشتق از انسان؛ نفوذ کمتری را در ماتریکس خارج سلولی سلول‌زدایی شده انسان نشان دادند. در کشت استناد، کاردیومیوسیت‌های iPSC؛ کاردیومیوسیت‌های نوزاد موش به‌طور همزمان پس از کاشت روی ماتریکس مقبض می‌شوند و ضربان آن‌ها می‌تواند القای شده‌ای ایجاد نماید.	۱۰ میلی‌مولار تریس/۰/۱ درصد EDTA، ۰/۵ درصد SDS	(۸۰)
انسان	۱۰ میلی‌مولار تریس/۰/۱ درصد EDTA، ۰/۵ درصد SDS	یک ماتریکس خارج سلولی قلب (Cardiac extracellular matrix) سلول‌زدایی شده با ضخامت ۳۰۰ میکرومتر تهیه شده از میوکاردا انسان با ماتریکس دیگری مانند Matrigel، Geltrex، مقابله شد تا اثر مثبت آن‌ها بر تمایز سلول‌های بنیادی نشان داده شود. زنده ماندن، تکثیر، و تمهد به دودمان قلبی سلول‌های بنیادی جنینی و مزانشیمی موش. iPSCهای کشت شده که روی ماتریکس سلول‌زدایی شده کاشته شده اند با رنگ آمیزی ایمنو‌هیتوشیمی تأیید شد. Matrigel و Geltrex قادر به القاء نشانه‌های اختصاصی قلب نبودند.	۱۰ میلی‌مولار تریس/۰/۱ درصد EDTA، ۰/۵ درصد SDS	(۸۲)
انسان	۱ درصد SDS	ماتریکس خارج سلولی قلب سلول‌زدایی شده انسانی با ضخامت ۴۰۰ میکرومتر، هنگامی که با سلول‌های شبه کاردیومیوسیت (Cardiomyocyte-like cells: CLC) مشتق از سلول‌های بنیادی انسانی کشت می‌شود، می‌تواند منجر به تمایز و بلوغ سلول‌های شبه کاردیومیوسیت‌ها به سمت کاردیومیوسیت‌ها شود. بیان ماتریکس خارج سلولی سلول‌زدایی شده (ECM) از سلول‌های اولیه قلبی انسانی حاصل از تمایز سلول‌ها به کاتال‌های یونی مختلف تعیین کننده برای هموستاز کلسیم و عملکرد انقباض قلب به‌طور قابل توجهی افزایش یافت.	۱ درصد SDS	(۸۱)
انسان	پروتکل بک: بافر لیز (۱۰ میلی‌مولار تریس، ۰/۱ درصد وزنی/حجمی EDTA، pH محلول ۷/۴)، ۰/۵ درصد SDS، پروتکل دو: بافر تریس ۱۰ میلی‌مولار و ۰/۱ درصد وزنی/حجمی EDTA، ۰/۵ درصد U/ml DNase، SDS، پروتکل سه: مهارکننده‌های پروتئاز (پروتئیناز، KIU/ML، ۰/۱، ۰/۱ درصد وزنی/حجمی EDTA)، ۱۰ میلی‌مولار Tris-HCl، ۰/۱ درصد پروتکل چهار: ۱ درصد SDS، ۱ درصد Triton-X100.	سلول‌های اولیه قلب انسان	۳۵۰ میکرومتر از میوکاردا انسان جاسازی گردید و با پروتکل‌های مختلف سلول‌زدایی شد. بهترین نتیجه مربوط به سلول‌زدایی با ۱ درصد SDS و ۱۰ درصد ترینون به مدت ۲۴ ساعت تشخیص داده شد. ماتریکس خارج سلولی سلول‌زدایی شده (ECM) از سلول‌های اولیه قلبی انسانی حاصل از تمایز سلول‌ها به CMs و SMCs پشتیبانی می‌کند (با ارزیابی یان‌زاها تأیید شد).	(۸۳)

امروزه پیچ‌های پریکارد در جراحی قلب کودکان استفاده می‌شود. پریکارد اتولوگ (Autologous) از بیمار در حین جراحی گرفته می‌شود و مجدداً به بافت قلب ایمپلنت می‌گردد، در صورت نیاز یک شست و شو با گلو تار آلدهید (Glutaraldehyde) ۰/۶۲۵ درصد به مدت ۲۰ دقیقه بر روی بافت انجام می‌شود (۸۴). البته تحقیقات اخیر در سال ۲۰۲۲ نشان داده است که تثبیت بافت پریکارد با گلو تار آلدهید که به‌طور معمول انجام می‌گردد، تأثیرات منفی بر دوام بافت پس از پیوند دارد (۸۵). پریکارد گاوی ساختار دیگری است که به‌عنوان رایج‌ترین جایگزین پریکارد اتولوگ مورد استفاده قرار می‌گیرد. پیچ CardioCel محصول شرکت Sulzbach، آلمان نوعی پیچ قلبی است که به صورت تجاری ارائه گردیده است، این پیچ تحت یک فرآیند ضد کلسیفیکاسیون خاص و حذف ذرات سلولی و اسیدهای نوکلئیک و به حداقل رساندن محتوای گلو تار آلدهید تهیه شده است (۸۵). پیچ‌هایی از بافت اسب نیز امروزه به‌صورت تجاری تولید شده است، این پیچ‌های جهت استفاده در دسترس هستند (Autotissue Matrix Patch™، برلین، آلمان). این پیچ‌ها از پریکارد اسب سلول‌زدایی شده ساخته شده‌اند (۸۶). البته باید به این موضوع توجه داشت که ساختارهایی از جنس مواد مصنوعی و سنتزی امروزه برای ترمیم آسیب‌های قلبی در کودکان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸۷).

چالش‌های استفاده از iPS در پزشکی بازساختی قلب

بی‌شک همانند همه تکنولوژی‌های نوظهور، این تکنولوژی هم چالش‌هایی با خود به همراه دارد؛ لذا نباید برای استفاده از این دانش شتاب‌زده عمل نمود و حتماً باید تمامی جوانب چالش‌های موجود در این تکنولوژی را شناخت و تا حد امکان آن‌ها را رفع یا تخفیف داد. اگرچه پیشرفت‌های عمده‌ای در سلول درمانی قلبی حاصل شده است، اما تاکنون هیچ درمان مبتنی بر سلول‌های بنیادی تمام مراحل بالینی را برای درمان انفارکتوس میوکارد پشت سر نگذاشته است (۸۸). یکی

از چالش‌های بزرگ استفاده از سلول‌های بنیادی تومورزایی آن‌هاست، iPSها به دلیل شباهت بسیار زیاد به سلول‌های بنیادی جنینی می‌توانند خصوصیت تومورزایی داشته باشند (۸۹). لذا باید تا حد امکان این ویژگی از iPSها سلب گردد. از این رو، برای غلبه بر مشکل تومورزایی، Martens و همکاران، iPSها را قبل از پیوند به بافت قلب در شرایط آزمایشگاهی به کار دیوموسیت تمایز دادند. پس از استفاده از این سلول‌ها گزارش شد سلول‌های پیوندی نه تنها عملکرد قلب را بهبود می‌بخشد، بلکه در میوکارد میزبان نیز جای گرفتند (۹۰). نکته‌ی دیگری که باید حتماً به آن توجه نمود این است که هر چهار فاکتور مورد استفاده برای برنامه ریزی مجدد سلول‌های بالغ و تبدیل آن‌ها به iPSC با تومورزایی ارتباط دارند، به‌خصوص c-Myc که یکی از این فاکتورهاست، این ژن از جمله ژن‌های مهم و جهش یافته در بیش‌تر سرطان‌های انسانی است که اغلب به عنوان یک محرک جهش عمل می‌کند (۹۱). در بررسی انجام شده توسط Okita و همکاران، نشان داده شد که در بدن موش‌های کایمریک ایجاد شده با iPSCهای به‌دست آمده توسط القای ترانسفکشن با واسطه رتروویروس همراه با ۴ چهار ژن شاخص، اغلب تومور ایجاد می‌شود (۹۲). یکی دیگر از چالش‌های پیش‌رو در سلول درمانی با استفاده از iPSها کشت آن‌ها در آزمایشگاه است، تومورزایی ناشی از ناهنجاری‌های ژنتیکی یک چالش بالقوه برای سلول‌هایی است که در شرایط آزمایشگاهی قبل از پیوند کشت و پاساژ داده می‌شوند. کشت سلول‌ها برای تکثیر در محیط آزمایشگاه باعث تغییرات ژنتیکی مانند ناهنجاری کروموزومی، تنوع تعداد کپی و جهش‌های تک نوکلئوتیدی می‌گردد. به‌طور سنتی، ناهنجاری‌های کروموزومی توسط کاریوتایپ بررسی می‌شود و سلول‌های دارای ناهنجاری‌هایی مانند حذف کروموزومی، تکرار، یا بازآرایی برای استفاده در سلول درمانی استفاده نمی‌شوند. در hiESCها و hiPSCها، تکرار کروموزوم‌های ۱، ۱۲، ۱۷ و ۲۰ اغلب پس از کشت

طولانی مدت دیده شده است (۹۳). لذا باید به این موضوع پیش از سلول درمانی توجه ویژه داشت. چالش دیگری که به پیچیدگی استفاده از این روش دلالت دارد این است که حتی افراد سالم دارای جهش‌های متعدد در ژن‌های مربوط به سرطان هستند. در مقایسه با ژنوم استاندارد انسان، هر فردی می‌تواند دارای جهش‌های نادر غیر مترادف در حدود ۵۰ ژن مربوط به سرطان باشد که در پایگاه‌های داده SNP گزارش نشده است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که حتی افراد سالم جهش‌هایی در ژن‌های سرطانی متعدد در بافت‌های غیر سرطانی مانند پوست صورت و مری خود دارند (۹۴، ۹۵). بنابراین یک چالش مهم این است که آیا این جهش‌ها بر استفاده درمانی از iPSCها برای بیماری‌های مختلف از جمله نارسایی قلبی تأثیر می‌گذارد یا خیر، این موضوع جای توجه و تحقیقات بیش‌تری دارد.

چالش‌های استفاده از آگروزوم‌های در پزشکی بازساختی قلب

با وجود این که آگروزوم‌ها در مقایسه با درمان مبتنی بر سلول، رویکرد عملی‌تری ارائه می‌دهند، ولی محدودیت‌هایی برای استفاده از آن‌ها وجود دارد. پایداری، اثرات خارج از هدف، و آندوسیتوز ناکارآمد در بکارگیری آگروزوم‌ها باید مورد توجه قرار گیرد (۹۶). یکی از پارامترهای بسیار مهم در بکارگیری آگروزوم‌ها در پزشکی بازساختی قلب پایداری آگروزوم‌ها است. پتانسیل زتا (Zeta potential)، یک ویژگی فیزیکی آگروزوم‌ها است که میزان دافعه یا جاذبه الکترواستاتیکی بین ذرات را اندازه‌گیری می‌کند (۹۷). نانوذرات معمولاً در مقادیر پتانسیل زتا از ۳۱ تا ۴۰ میلی‌ولت پایدار هستند (۹۸). آزمایش‌های اخیر نشان داد که پتانسیل زتا آگروزوم‌ها در دمای ۳۷ درجه در حدود ۲۳/۸۵- تا ۲۳/۹۵- میلی‌ولت است. از این رو، آگروزوم‌ها ناپایدار هستند و به راحتی تجمع (Aggregate) و رسوب می‌کنند، این موضوع یک چالش مهم و اساسی در کاربرد

آگروزوم‌ها در بالین محسوب می‌گردد (۹۹). علاوه بر این موضوعات مهندسی آگروزوم‌ها زمان‌بر و گران است و باید به این موارد توجه ویژه داشت (۱۰۰). هم‌چنین استفاده درمانی از آگروزوم‌ها به سادگی قابل انجام نیست، آگروزوم‌ها باید خلوص بالایی داشته باشند و مطابق پروتکل‌های ارائه شده توسط انجمن بین‌المللی وزیکول‌های خارج سلولی (International Society for Extracellular Vesicles: ISEV) استانداردهای دقیقی برای استفاده از وزیکول‌های خارج سلولی وجود دارد (۱۰۱).

چالش‌های استفاده از پی‌های قلبی در پزشکی بازساختی قلب

پی‌های قلبی پتانسیل بهبود عملکرد قلب پس از MI را در مدل‌های حیوانی را از خود نشان داده‌اند و برخی از آن‌ها وارد مراحل آزمایش‌های بالینی شده‌اند. اگر چه این مطالعات امکان ترجمه نزدیک به بالین را پیشنهاد می‌کنند، اما هنوز برخی نکات برای دستیابی به ترجمه بالینی بهینه باید بهبود پیدا کند (۱۰۲، ۱۰۳). یکی از چالش‌های بسیار مهم برای کاربرد بالینی و تجاری سازی گسترده پی‌های قلبی این است که اگر چه بسیاری از سلول‌ها را می‌توان با استفاده از یک پیج به قلب پیوند زد، اما هنوز تعداد سلول‌هایی که در نهایت در ناحیه آسیب دیده زنده می‌مانند و در ساختار طبیعی بافت قلب ادغام می‌شوند بسیار کم است (۱۰۴). هم‌چنین نگرانی دیگری که وجود دارد این است که احتمالاً پی‌های قلبی پس از پیوند به جفت شدگی الکتریکی (Electrical coupling) خوبی در قلب نرسند و با ضربان قلب جدا گردند و موجب ایجاد آریتمی شوند (۸۸).

بحث

مرگ و میر بالا و عوارض بیماری‌های قلبی عروقی یک مشکل بهداشتی قابل توجه در سراسر جهان است. با وجود پیشرفت‌های چشمگیر پزشکی هنوز پیوند قلب

میزبان ادغام گردند. پیشرفت‌های روز افزون در علوم باعث شده است هر روز گسترش مرزهای علم را در پزشکی بازساختی شاهد باشیم. بکارگیری ابزارهای جدید همانند RNAهای مداخله‌گر (RNA interference: RNAi)، آگروزوم‌ها و میکروویزیکول‌ها در کنار نیچ (Niche) طبیعی سلول‌های میوکاردی یعنی پیچ‌های سلول‌زادی شده جهت افزایش بازده القاء تمایز سلول‌های بنیادی بتوان القایی می‌تواند اتفاق جدیدی را در زمینه مهندسی بافت قلب و سلول درمانی این اندام بگشاید. به‌عنوان مثال تحقیقات نشان داده است miR-21-5p، می‌تواند نیروی انقباض قلبی و جابجایی کلسیم را از طریق تنظیم سیگنالینگ مسیر PI3K افزایش دهد، هم‌چنین گزارش شده است که آگروزوم‌های مشتق شده از سلول‌های بنیادی مختلف، توانایی‌های بازسازی، به‌ویژه رگ‌زایی برای بافت‌های آسیب‌دیده قلب فراهم کرده‌اند (۱۰۷، ۱۰۰). استفاده از ارتباطات سلول به سلول برای درمان‌های جدید در پزشکی بازساختی قلب از اهمیت بسزایی برخوردار است. آگروزوم‌ها بازیگران اصلی این ارتباطات هستند. مهندسی آگروزوم‌ها به منظور هدایت مناسب و موثر آن‌ها به بافت‌های خاص از جمله قلب و بهبود جذب آن‌ها با دستکاری پروفایل پروتئین سطحی آگروزوم‌ها زمینه‌ای از تحقیقات است که برای موفقیت درمانی پزشکی بازساختی قلب در آینده بسیار مهم خواهد بود.

با در نظر گرفتن تمام جوانب شرح داده شده در مقاله حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مسیر پزشکی بازساختی قلب در سال‌های آینده بی‌شک شاهد تحولات بسیار چشمگیری خواهد بود و امیدواری‌های بسیاری جهت ترمیم آسیب‌های قلبی با استفاده سلول‌های بنیادی بتوان القایی و مشتقات آن از جمله آگروزوم‌ها به همراه پیچ‌های قلبی وجود دارد.

تنها روش درمانی قطعی برای آسیب‌های پیشرفته و نقص‌های مادرزادی در ساختار قلب باقی مانده است. مهندسی بافت دریچه‌ای جدید جهت بکارگیری روش‌های جدید به منظور درمان برخی از آسیب‌های بیولوژیک بافت‌ها به شمار می‌رود. از آنجایی که ساخت و پیوند قلب‌های کاملاً مهندسی شده، با دانش و امکانات فعلی ما، فراتر از دسترس است، تمرکز بر ترمیم قلب آسیب دیده و بازیابی عملکرد صحیح قلب از طریق پیچ‌های قلبی، رویکرد عملی‌تری خواهد بود. پیچ قلبی مهندسی شده ایده آل خواص ساختاری، مکانیکی و الکتروفیزیولوژیکی مناسبی برای زنده نگه داشتن سلول‌های تمایز یافته و یا سلول‌های بنیادی در ناحیه پیچ فراهم می‌کند (۱۰۵). یکی از چالش‌های مهم در مهندسی بافت قلب استفاده از سلول‌ها به همراه این پیچ‌هاست، به‌عنوان مثال کاردیومیوسیت‌ها برای مهندسی بافت قلب قابل استفاده نیستند، زیرا از یک طرف، بیوپسی میوکارد یک روش تهاجمی است و تعداد سلول‌های جدا شده کافی نخواهد بود و از سوی دیگر، اندکی پس از جداسازی کاردیومیوسیت‌ها انسان شاهد از دست دادن قابلیت زنده‌مانی این سلول‌ها هستیم (۱۰۶). یکی از روش‌های جایگزین استفاده از سلول‌های بنیادی است. با این که بیش از دو دهه است که از اولین کارآزمایی‌های بالینی و ارزیابی‌های کاربرد سلول‌های بنیادی بخصوص سلول‌های بنیادی پروتوان القایی در پزشکی بازساختی قلب می‌گذرد، اما هنوز چالش‌های زیادی پیش روی محققین و پژوهشگران سلول درمانی در جهان قرار دارد. ولی این چالش‌ها مانع از ابداع روش‌های نوین به منظور پزشکی بازساختی قلب نشده است. پیچ‌های قلبی با ساختار ماتریکس خارج سلولی میوکارد طبیعی می‌توانند ویژگی‌های یک میوکارد سالم را تقلید کنند و همچنین این پتانسیل را دارند که بتوانند در میوکارد

References

1. Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P. Braunwald's heart disease e-book: A textbook

of cardiovascular medicine. 10th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2011.

2. Maleki Jamasbi M, Azami H, Samari B, Yousofvand V, Shourchegh E. Epidemiological Survey of Mortality and Morbidity Caused by Cardiovascular Diseases in Patients Admitted to the Cardiac Care Units of Hamadan Educational-medical Hospitals, Hamadan, Iran, in 2017. *J Health Res Commun* 2019; 5(3): 27-38 (Persian).
3. Parrotta EI, Lucchino V, Scaramuzzino L, Scalise S, Cuda G. Modeling cardiac disease mechanisms using induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: progress, promises and challenges. *Int J Mol Sci* 2020; 21(12): 4354.
4. Wang H, Naghavi M, Allen C, Barber RM, Bhutta ZA, Carter A, et al. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet* 2016; 388(10053): 1459-1544.
5. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2016; 133(4): e38-e360.
6. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, et al. Heart disease and stroke statistics—2017 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2017; 135(10): e146-e603.
7. Heidenreich PA, Albert NM, Allen LA, Blumhagen DA, Butler J, Fonarow GC, et al. Forecasting the impact of heart failure in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circ Heart Fail* 2013; 6(3): 606-619.
8. Haseltine W, editor *A brave new medicine. A conversation with William Haseltine. Interview by Joe Flower. Health Forum Journal*; 1999.
9. Yuasa S, Itabashi Y, Koshimizu U, Tanaka T, Sugimura K, Kinoshita M, et al. Transient inhibition of BMP signaling by Noggin induces cardiomyocyte differentiation of mouse embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2005; 23(5): 607-611.
10. Fukuda K, Yuasa S. Stem cells as a source of regenerative cardiomyocytes. *Circ Res* 2006; 98(8): 1002-1013.
11. Yuasa S, Fukuda K. Recent advances in cardiovascular regenerative medicine: the induced pluripotent stem cell era. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008; 6(6): 803-810.
12. Masoumi N, Ghollasi M, Halabian R, Eftekhari E, Ghiasi M. Carbachol, along with calcium, indicates new strategy in neural differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Regen Ther* 2023; 23: 60-66.
13. Norouz F, Poormoghadam D, Halabian R, Ghiasi M, Monfaredi M, Salimi A. A Novel Nanocomposite Scaffold Based on Polyurethane (PU) Containing Cobalt Nanoparticles (CoNPs) for Bone Tissue Engineering Applications. *Curr Stem Cell Res Ther* 2023; 18(8): 1120-1132.
14. Shirkoobi FJ, Ghollasi M, Halabian R, Eftekhari E, Ghiasi M. Oxaloacetate as new inducer for osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Mol Biol Rep* 2024; 51(1): 451.
15. Hemati S, Hatamian-Zarmi A, Halabian R, Ghiasi M, Salimi A. Schizophyllan promotes osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in vitro. *Mol Biol Rep* 2023; 50(12): 10037-10045.
16. Salimi A, Ghiasi M, Korani M, Karimi Zarchi AA. Involved molecular mechanisms in stem cells differentiation into chondrocyte: a review. *J Appl Biotechnol Rep* 2021; 8(3): 234-241.

17. Ghiasi M, Jadidi K, Hashemi M, Zare H, Salimi A, Aghamollaei H. Application of mesenchymal stem cells in corneal regeneration. *Tissue Cell* 2021; 73: 101600.
18. Ghiasi M, Hashemi M, Salimi A, Jadidi K, Tavallaie M, Aghamollaei H. Combination of natural scaffolds and conditional medium to induce the differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells into keratocyte-like cells and its safety evaluation in the animal cornea. *Tissue Cell* 2023; 82: 102117.
19. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292(5819): 154-156.
20. Kolterud Å, Carlsson L. Expression of the LIM-homeobox gene LH2 generates immortalized steel factor-dependent multipotent hematopoietic precursors. *EMBO* 1998; 17(19): 5744-5756.
21. Shibata N, Umesono Y, Orii H, Sakurai T, Watanabe K, Agata K. Expression of vasal (vas)-Related genes in germline cells and totipotent somatic stem cells of planarians. *Dev Biol* 1999; 206(1): 73-87.
22. Peng C-H, Huang K-C, Lu H-E, Syu S-H, Yarmishyn AA, Lu J-F, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from a patient with X-linked juvenile retinoschisis. *Stem Cell Res* 2018; 29: 152-156.
23. Ghosh D, Mehta N, Patil A, Sengupta J. Ethical issues in biomedical use of human embryonic stem cells (hESCs). *JRHM* 2016; 2(Suppl 2): S37-S47.
24. Robertson JA. Human embryonic stem cell research: ethical and legal issues. *Nat Rev Genet* 2001; 2(1): 74-78.
25. Wert Gd, Mummery C. Human embryonic stem cells: research, ethics and policy. *Hum Reprod* 2003; 18(4): 672-682.
26. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663-676.
27. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131(5): 861-872.
28. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318(5858): 1917-1920.
29. Lowry W, Richter L, Yachechko R, Pyle A, Tchieu J, Sridharan R, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from dermal fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(8): 2883-2888.
30. Park I-H, Zhao R, West JA, Yabuuchi A, Huo H, Ince TA, et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature* 2008; 451(7175): 141-146.
31. Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science* 2008; 322(5903): 949-953.
32. Miyoshi N, Ishii H, Nagano H, Haraguchi N, Dewi DL, Kano Y, et al. Reprogramming of mouse and human cells to pluripotency using mature microRNAs. *Cell Stem Cell* 2011; 8(6): 633-638.
33. Romito A, Cobellis G. Pluripotent stem cells: current understanding and future directions. *Stem Cells Int* 2016; 2016: 9451492.
34. Sigaroodi F, Rahmani M, Parandakh A, Boroumand S, Rabbani S, Khani M-M. Designing cardiac patches for myocardial regeneration—a review. *Int J Polym Mater* 2024; 73(7): 581-599.

35. Kieda J, Shakeri A, Landau S, Wang EY, Zhao Y, Lai BF, et al. Advances in cardiac tissue engineering and heart-on-a-chip. *J Biomed Mater Res A* 2024; 112(4): 492-511.
36. Lin X, Liu Y, Bai A, Cai H, Bai Y, Jiang W, et al. A viscoelastic adhesive epicardial patch for treating myocardial infarction. *Nat Biomed Eng* 2019; 3(8): 632-643.
37. Zhang Y, Mu W, Zhang Y, He X, Wang Y, Ma H, et al. Recent advances in cardiac patches: materials, preparations, and properties. *ACS Biomater Sci Eng* 2022; 8(9): 3659-3675.
38. Mei X, Cheng K. Recent development in therapeutic cardiac patches. *Front Cardiovasc Med* 2020; 7: 610364.
39. Reis LA, Chiu LL, Feric N, Fu L, Radisic M. Biomaterials in myocardial tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med* 2016; 10(1): 11-28.
40. Poolman RA, Brooks G. Expressions and activities of cell cycle regulatory molecules during the transition from myocyte hyperplasia to hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30(10): 2121-2135.
41. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabé-Heider F, Walsh S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009; 324(5923): 98-102.
42. Kawamura M, Miyagawa S, Miki K, Saito A, Fukushima S, Higuchi T, et al. Feasibility, safety, and therapeutic efficacy of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte sheets in a porcine ischemic cardiomyopathy model. *Circulation* 2012; 126(11(Suppl 1)): S29-S37.
43. Shiba Y, Fernandes S, Zhu W-Z, Filice D, Muskheili V, Kim J, et al. Human ES-cell-derived cardiomyocytes electrically couple and suppress arrhythmias in injured hearts. *Nature* 2012; 489(7415): 322-325.
44. Chong JJ, Yang X, Don CW, Minami E, Liu Y-W, Weyers JJ, et al. Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts. *Nature* 2014; 510(7504): 273-277.
45. Shiba Y, Gomibuchi T, Seto T, Wada Y, Ichimura H, Tanaka Y, et al. Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts. *Nature* 2016; 538(7625): 388-391.
46. Ma J, Guo L, Fiene SJ, Anson BD, Thomson JA, Kamp TJ, et al. High purity human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: electrophysiological properties of action potentials and ionic currents. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 301(5): H2006-H2017.
47. Masumoto H, Matsuo T, Yamamizu K, Uosaki H, Narazaki G, Katayama S, et al. Pluripotent stem cell-engineered cell sheets reassembled with defined cardiovascular populations ameliorate reduction in infarct heart function through cardiomyocyte-mediated neovascularization. *Stem Cells* 2012; 30(6): 1196-1205.
48. Caspi O, Huber I, Kehat I, Habib M, Arbel G, Gepstein A, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes improves myocardial performance in infarcted rat hearts. *Journal of the American College of Cardiology* 2007; 50(19): 1884-1893.
49. Laflamme MA, Chen KY, Naumova AV, Muskheili V, Fugate JA, Dupras SK, et al. Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro-survival factors enhance function of infarcted rat hearts. *Nat Biotechnol* 2007; 25(9): 1015-1024.
50. van Laake LW, Passier R, Monshouwer-Kloots J, Verkleij AJ, Lips DJ, Freund C, et al. Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes survive and mature in the mouse heart and transiently improve function

- after myocardial infarction. *Stem Cell Res* 2007; 1(1): 9-24.
51. Kawamura M, Miyagawa S, Fukushima S, Saito A, Miki K, Funakoshi S, et al. Enhanced therapeutic effects of human iPSC cell derived-cardiomyocyte by combined cell-sheets with omental flap technique in porcine ischemic cardiomyopathy model. *Sci Rep* 2017; 7(1): 8824.
 52. Miyagawa S, Domae K, Yoshikawa Y, Fukushima S, Nakamura T, Saito A, et al. Phase I clinical trial of autologous stem cell-sheet transplantation therapy for treating cardiomyopathy. *Journal of the American Heart Association*. 2017; 6(4): e003918.
 53. Barile L, Moccetti T, Marbán E, Vassalli G. Roles of exosomes in cardioprotection. *Eur heart J* 2017; 38(18): 1372-1379.
 54. Kishore R, Garikipati VNS, Gumpert A. Tiny shuttles for information transfer: exosomes in cardiac health and disease. *J Cardiovasc Transl Res* 2016; 9(3): 169-175.
 55. Lai RC, Arslan F, Lee MM, Sze NSK, Choo A, Chen TS, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. *J Extracell Vesicles* 2010; 4(3): 214-222.
 56. Khan M, Nickoloff E, Abramova T, Johnson J, Verma SK, Krishnamurthy P, et al. Embryonic stem cell-derived exosomes promote endogenous repair mechanisms and enhance cardiac function following myocardial infarction. *Circ Res* 2015; 117(1): 52-64.
 57. Barile L, Cervio E, Lionetti V, Milano G, Ciullo A, Biemmi V, et al. Cardioprotection by cardiac progenitor cell-secreted exosomes: role of pregnancy-associated plasma protein-A. *Cardiovasc Res* 2018; 114(7): 992-1005.
 58. Adamiak M, Cheng G, Bobis-Wozowicz S, Zhao L, Kedracka-Krok S, Samanta A, et al. Induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived extracellular vesicles are safer and more effective for cardiac repair than iPSCs. *Circ Res* 2018; 122(2): 296-309.
 59. Lai CP, Kim EY, Badr CE, Weissleder R, Mempel TR, Tannous BA, Breakefield XO. Visualization and tracking of tumour extracellular vesicle delivery and RNA translation using multiplexed reporters. *Natu Commun* 2015; 6(1): 7029.
 60. Bradley JA, Bolton EM, Pedersen RA. Stem cell medicine encounters the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002; 2(11): 859-871.
 61. Menasché P. Stem cell-derived exosomes and the failing heart: small cause, big effect. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2018; 156(3): 1089-1092.
 62. Bobis-Wozowicz S, Kmiotek K, Sekula M, Kedracka-Krok S, Kamycka E, Adamiak M, et al. Human induced pluripotent stem cell-derived microvesicles transmit RNAs and proteins to recipient mature heart cells modulating cell fate and behavior. *Stem Cells* 2015; 33(9): 2748-2761.
 63. Arslan F, Lai RC, Smeets MB, Akeroyd L, Choo A, Agnor EN, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res* 2013; 10(3): 301-312.
 64. Vaskova E, Tada Y, von Bornstaedt D, Woo Y, Yang P. Pleiotropic effects of the exosomes from iPSC-derivatives in restoring injured myocardium. *Journal of the American College of Cardiology* 2018; 71(11S): A80.
 65. Gallet R, Dawkins J, Valle J, Sinsolo E, De Couto G, Middleton R, et al. Exosomes secreted by cardiosphere-derived cells reduce scarring, attenuate adverse remodelling, and improve

- function in acute and chronic porcine myocardial infarction. *Eur Heart J* 2017; 38(3): 201-211.
66. Fan M, Huang Y, Chen Z, Xia Y, Chen A, Lu D, et al. Efficacy of mesenchymal stem cell therapy in systolic heart failure: a systematic review and meta-analysis. *Stem Cell Res Ther* 2019; 10(1): 1-14.
67. Bolli R, Hare JM, March KL, Pepine CJ, Willerson JT, Perin EC, et al. Rationale and design of the CONCERT-HF trial (combination of mesenchymal and c-kit+ cardiac stem cells as regenerative therapy for heart failure). *Circ Res* 2018; 122(12): 1703-1715.
68. Ishigami S, Sano T, Krishnapura S, Ito T, Sano S. An overview of stem cell therapy for paediatric heart failure. *Eur J Cardiothorac Surg* 2020; 58(5): 881-887.
69. Jiang Y, Sun S-J, Zhen Z, Wei R, Zhang N, Liao S-Y, Tse H-F. Myocardial repair of bioengineered cardiac patches with decellularized placental scaffold and human-induced pluripotent stem cells in a rat model of myocardial infarction. *Stem Cell Res Ther* 2021; 12(1): 1-14.
70. Wang Q, Yang H, Bai A, Jiang W, Li X, Wang X, et al. Functional engineered human cardiac patches prepared from nature's platform improve heart function after acute myocardial infarction. *Biomaterials* 2016; 105: 52-65.
71. Guan G, Huo D, Li Y, Zhao X, Li Y, Qin Z, et al. Engineering hiPSC-CM and hiPSC-EC laden 3D nanofibrous splenic hydrogel for improving cardiac function through revascularization and remuscularization in infarcted heart. *Bioactive Materials* 2021; 6(12): 4415-4429.
72. Fan C, Tang Y, Zhao M, Lou X, Pretorius D, Menasche P, et al. CHIR99021 and fibroblast growth factor 1 enhance the regenerative potency of human cardiac muscle patch after myocardial infarction in mice. *J Mol Cell Cardiol* 2020; 141:1-10.
73. Lancaster JJ, Sanchez P, Repetti GG, Juneman E, Pandey AC, Chinyere IR, et al. Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocyte patch in rats with heart failure. *Ann Thorac Surg* 2019; 108(4): 1169-1177.
74. Ye L, Chang Y-H, Xiong Q, Zhang P, Zhang L, Somasundaram P, et al. Cardiac repair in a porcine model of acute myocardial infarction with human induced pluripotent stem cell-derived cardiovascular cells. *Cell Stem Cell* 2014; 15(6): 750-761.
75. Wendel JS, Ye L, Tao R, Zhang J, Zhang J, Kamp TJ, Tranquillo RT. Functional effects of a tissue-engineered cardiac patch from human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in a rat infarct model. *Stem Cells Transl Med* 2015; 4(11): 1324-1332.
76. Weinberger F, Breckwoldt K, Pecha S, Kelly A, Geertz B, Starbatty J, et al. Cardiac repair in guinea pigs with human engineered heart tissue from induced pluripotent stem cells. *Sci Transl Med* 2016; 8(363): 363ra148 .
77. Gao L, Gregorich ZR, Zhu W, Mattapally S, Oduk Y, Lou X, et al. Large cardiac muscle patches engineered from human induced-pluripotent stem cell-derived cardiac cells improve recovery from myocardial infarction in swine. *Circulation* 2018; 137(16): 1712-1730.
78. Cui H, Liu C, Esworthy T, Huang Y, Yu Z-x, Zhou X, et al. 4D physiologically adaptable cardiac patch: A 4-month in vivo study for the treatment of myocardial infarction. *Sci Adv* 2020; 6(26): eabb5067.
79. Oberwallner B, Brodarac A, Choi YH, Saric T, Anić P, Morawietz L, Stamm C. Preparation of cardiac extracellular matrix scaffolds by

- decellularization of human myocardium. *J Biomed Mater Res A* 2014; 102(9): 3263-3272.
80. Di Meglio F, Nurzynska D, Romano V, Miraglia R, Belviso I, Sacco AM, et al. Optimization of human myocardium decellularization method for the construction of implantable patches. *Tissue Eng Part C: Methods* 2017; 23(9): 525-539.
81. Garreta E, De Oñate L, Fernández-Santos ME, Oria R, Tarantino C, Climent AM, et al. Myocardial commitment from human pluripotent stem cells: Rapid production of human heart grafts. *Biomaterials* 2016; 98: 64-78.
82. Oberwallner B, Brodarac A, Anić P, Šarić T, Wassilew K, Neef K, et al. Human cardiac extracellular matrix supports myocardial lineage commitment of pluripotent stem cells. *Eur J Cardiothorac Surg* 2015; 47(3): 416-425.
83. Sánchez DM, Gaitán DM, León AF, Mugnier J, Briceño JC. Fixation of vascular grafts with increased glutaraldehyde concentration enhances mechanical properties without increasing calcification. *ASAIO J* 2007; 53(3): 257-262.
84. Poppenborg F, Martens S, Martens S. The influence of glutaraldehyde on the microscopic structure of human pericardium. *Cardiovasc Pathol* 2022; 61: 107457.
85. Peivandi AD, Martens S, Asfour B, Martens S. Grafts and Patches: Optimized but Not Optimal Materials for Congenital Heart Surgery. *Pediatr Cardiol* 2023; 44(5): 996-1002.
86. Walhout R, Braam R, Schepens M, Mulder B, Plokker H. Aortic aneurysm formation following coarctation repair by Dacron patch aortoplasty. *Neth Heart J* 2010; 18(8): 376-377.
87. Gil-Cabrerizo P, Scacchetti I, Garbayo E, Blanco-Prieto MJ. Cardiac tissue engineering for myocardial infarction treatment. *Eur J Pharm Sci* 2023: 106439.
88. Riggs JW, Barrilleaux BL, Varlakhanova N, Bush KM, Chan V, Knoepfler PS. Induced pluripotency and oncogenic transformation are related processes. *Stem Cells Dev* 2013; 22(1): 37-50.
89. Martens A, Kensah G, Rojas S, Rotärmel A, Baraki H, Haverich A, et al. Induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived cardiomyocytes engraft and improve heart function in a mouse model of acute myocardial infarction. *Ann Thorac Surg* 2012; 60(S 01): PP26.
90. Yamanaka S. Pluripotent stem cell-based cell therapy—promise and challenges. *Cell Stem Cell* 2020; 27(4): 523-531.
91. Okita K, Ichisaka T, Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007; 448(7151): 313-317.
92. Amps K, Andrews P, Anyfantis G, Armstrong L, Avery S, Baharvand H, et al. International Stem Cell Initiative Screening ethnically diverse human embryonic stem cells identifies a chromosome 20 minimal amplicon conferring growth advantage. *Nat Biotechnol* 2011; 29(12): 1132-1144.
93. Martincorena I, Roshan A, Gerstung M, Ellis P, Van Loo P, McLaren S, et al. High burden and pervasive positive selection of somatic mutations in normal human skin. *Science* 2015; 348(6237): 880-886.
94. Yokoyama A, Kakiuchi N, Yoshizato T, Nannya Y, Suzuki H, Takeuchi Y, et al. Age-related remodelling of oesophageal epithelia by mutated cancer drivers. *Nature* 2019; 565(7739): 312-317.
95. Santulli G, Wronska A, Uryu K, Diacovo TG, Gao M, Marx SO, et al. A selective microRNA-based strategy inhibits restenosis while preserving endothelial function. *J Clin Invest* 2014; 124(9): 4102-4114.

96. Marimpietri D, Petretto A, Raffaghello L, Pezzolo A, Gagliani C, Tacchetti C, et al. Proteome profiling of neuroblastoma-derived exosomes reveal the expression of proteins potentially involved in tumor progression. *PloS One* 2013; 8(9): e75054.
97. Ostolska I, Wiśniewska M. Application of the zeta potential measurements to explanation of colloidal Cr₂O₃ stability mechanism in the presence of the ionic polyamino acids. *Colloid Polym Sci* 2014; 292(10): 2453-2464.
98. Wang Y, Zhang L, Li Y, Chen L, Wang X, Guo W, et al. Exosomes/microvesicles from induced pluripotent stem cells deliver cardioprotective miRNAs and prevent cardiomyocyte apoptosis in the ischemic myocardium. *Int J Cardiol* 2015; 192: 61-69.
99. Jung J-H, Fu X, Yang PC. Exosomes generated from iPSC-derivatives: new direction for stem cell therapy in human heart diseases. *Circ Res* 2017; 120(2): 407-417.
100. 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.
101. Chang T, Liu C, Lu K, Wu Y, Xu M, Yu Q, et al. Biomaterials based cardiac patches for the treatment of myocardial infarction. *Korean Circ J* 2021; 94(8): 77-89.
102. McMahan S, Taylor A, Copeland KM, Pan Z, Liao J, Hong Y. Current advances in biodegradable synthetic polymer based cardiac patches. *J Biomed Mater Res A* 2020; 108(4): 972-983.
103. Ghovvati M, Kharaziha M, Ardehali R, Annabi N. Recent advances in designing electroconductive biomaterials for cardiac tissue engineering. *Adv Healthc Mater* 2022; 11(13): 2200055.
104. Roberts EG, Lee EL, Backman D, Buczek-Thomas JA, Emani S, Wong JY. Engineering myocardial tissue patches with hierarchical structure–function. *Ann Biomed Eng* 2015; 43: 762-773.
105. Banyasz T, Lozinskiy I, Payne CE, Edelmann S, Norton B, Chen B, et al. Transformation of adult rat cardiac myocytes in primary culture. *Exp Physiol* 2008; 93(3): 370-382.
106. Mayourian J, Ceholski DK, Gorski PA, Mathiyalagan P, Murphy JF, Salazar SI, et al. Exosomal microRNA-21-5p mediates mesenchymal stem cell paracrine effects on human cardiac tissue contractility. *Circ Res* 2018; 122(7): 933-944.