ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ miRNA ΣΤΗΝ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΧΟΝΔΡΟΓΕΝΕΣΗ»

ΖΟΥΜΠΟΥΡΤΙΚΟΥΔΗ ΒΑΡΒΑΡΑ

ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΙΩΑΝΝΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ , Επιβλέπων/ουσα

ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ, Μέλος

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2022

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

UNIVERSITY OF THESSALY

SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

FACULTY OF MEDICINE

POSTGRADUATE MASTER PROGRAM

“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”

MASTER’S THESIS

«THE ROLE OF miRNAs IN MESENCHYMAL STEM CELL DERIVED CHONDROGENESIS»

ZOUMPOURTIKOUDI VARVARA

BIOLOGIST

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών “Γενετική Ανθρώπου – Γενετική Συμβουλευτική” κατά το ακαδημαϊκό έτος 2020-2021.

Πρώτα απ' όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την επιβλέπουσα κα Παπαθανασίου Ιωάννα, Επίκουρη καθηγήτρια Ιατρικής Βιολογίας για την απεριόριστη εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου τόσο κατά την ανάθεση όσο και τη διεξαγωγή της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Το αμέριστο ενδιαφέρον, η πολύτιμη καθοδήγηση της και η άψογη συνεργασία καθιστά την παρούσα εργασία μια εξαιρετικά εποικοδομητική εμπειρία για μένα. Η συμβολή της ήταν καθοριστικής σημασίας όχι μόνο για την κατανόηση του αντικειμένου αλλά και για τη συγγραφή της συγκεκριμένης εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς επιτροπής, την κα Τραχανά Βαρβάρα, Επίκουρη καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας και την κα Τσέζου Ασπασία, Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής για το ενδιαφέρον τους και την παροχή ιδιαίτερων συμβουλών κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας.

Πριν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που γνώρισα, συνεργάστηκα και αποτέλεσαν σημαντικούς αρωγούς στην διεκπεραίωση της.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ επίσης, στην οικογένεια και στους φίλους μου για την κατανόηση και την υποστήριξή τους καθ’ όλη τη διάρκεια της προσπάθειάς μου.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Περίληψη

Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα έχουν την ικανότητα αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης σε διάφορους κυτταρικούς τύπους, συμπεριλαμβανομένου και των χονδροκυττάρων. Ως αποτέλεσμα αποτελούν σημαντική πηγή κυττάρων της αναγεννητικής ιατρικής για την ανάπλαση του χόνδρου σε παθολογικές καταστάσεις, όπως η οστεοαρθρίτιδα. Διάφοροι επιγενετικοί παράγοντες πιστεύεται ότι διαδραματίζουν ρόλο στη διαφοροποίηση τους, όπως τα microRNAs, τα οποία εμπλέκονται στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης κατά τη χονδρογένεση. Τα microRNAs είναι μικρά μη κωδικοποιητικά μόρια RNA, τα οποία λειτουργούν ως αρνητικοί ρυθμιστές της έκφρασης γονιδίων. Η παρούσα εργασία αποτελεί μια επισκόπηση για τον τρόπο με τον οποίο τα microRNAs συμμετέχουν στην χονδρογένεση, ενώ επίκεντρο της ήταν η επίδραση τους σε γονίδια-στόχους. Συμπερασματικά, φάνηκε ότι μπορούν να επάγουν ή να καταστέλλουν την χονδρογένεση των μεσεγχυματικών κυττάρων, συμμετέχοντας σε πολύπλοκα ρυθμιστικά δίκτυα και επιδρώντας κυρίως σε μεταγραφικούς παράγοντες κρίσιμων σηματοδοτικών μονοπατιών.

Λέξεις- Κλειδιά: microRNAs, Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, Χονδρογένεση, Οστεοαρθρίτιδα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Abstract

Mesenchymal stem cells have the ability to self-renew and differentiate into various cell types, including chondrocytes. As a result, they are an important source of cells in regenerative medicine for the regeneration of cartilage in pathological conditions such as osteoarthritis. Various epigenetic factors are thought to play a role in their differentiation, such as microRNAs, which are involved in the regulation of gene expression during chondrogenesis. MicroRNAs are small non-coding RNA molecules that act as negative regulators of gene expression. The present study is an overview of how microRNAs are involved in chondrogenesis, focusing on their effect on target genes. In conclusion, it was shown that they can induce or suppress the chondrogenesis of mesenchymal cells, participating in complex regulatory networks and affecting mainly transcription factors of critical signaling pathways.

Key words: MicroRNAs, Mesenchymal Stem Cells, Chondrogenesis, Osteoarthritis

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Πίνακας περιεχομένων

1.Εισαγωγή 1
1.1 Μεσεγχυματικά Βλαστοκύτταρα (MSCs) 2
1.2 Χονδρογονική διαφοροποίηση 5
1.3 Σύσταση και Λειτουργία Αρθρικού Χόνδρου 12
2. miRNAs και χονδρογένεση που επάγεται από MSCs 15
2.1 microRNAs 15
2.1.1 Βιογένεση και Δράση 17
2.2 Επιγενετική ρύθμιση των miRNAs στη χονδρογένεση 20
2.3 Νέα δεδομένα για τα miRNAs και τη χονδρογένεση μέσω μελετών μεγάλης κλίμακας 28
3. miRNAs και MSCs ως συνδυαστική κυτταρική θεραπεία στην εκφυλιτική αρθρίτιδα 31
3.1 Οστεοαρθρίτιδα 31
3.1.1 Παθοφυσιολογία 31
3.1.2 miRNAs στην επιγενετική ρύθμιση της OA 33
3.2 Κυτταρική θεραπεία OA 35
4. Συμπεράσματα 37
5. Βιβλιογραφία 40

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

1.Εισαγωγή

Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs) αποτελούν πολυδύναμα κύτταρα και ως αποτέλεσμα των πιθανών υποσχόμενων ιδιοτήτων τους, έχουν μελετηθεί ευρέως στην αναγεννητική ιατρική, και κυρίως στην αναγέννηση του αρθρικού χόνδρου (Mazzoni et al. 2020). Τα MSCs μπορούν να ανανεωθούν μέσω της κυτταρικής διαίρεσης, ενώ διαφοροποιούνται τόσο σε οστεοβλάστες και λιποκύτταρα όσο και σε χονδροκύτταρα μετά την έκθεση σε συγκεκριμένους διαλυτούς παράγοντες στο μικροπεριβάλλον (Iaquinta et al. 2021). Επειδή αρκετοί επιγενετικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των MSCs, έχει διεξαχθεί μεγάλος αριθμός μελετών σχετικά με τις βιολογικές τους ιδιότητες και τους παράγοντες που θα μπορούσαν να διευκολύνουν τη χονδρογονική διαφοροποίηση τους, με σκοπό τη χρήση τους στην κυτταρική θεραπεία διάφορων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης της οστεοαρθρίτιδας (Iaquinta et al. 2019).

Πολλές έρευνες έχουν αποδείξει, ότι τα miRNAs διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στο πολύπλοκο δίκτυο ρύθμισης της διαφοροποίησης των MSCs σε χονδροκύτταρα (Yang et al. 2021). Τα miRNAs ασκούν την επίδραση τους μέσω της αλληλεπίδρασης τους με γονίδια, μεταγραφικούς παράγοντες και ενδοκυτταρικά μόρια, ενώ συμμετέχουν και σε σηματοδοτικά μονοπάτια (Saliminejad et al. 2019). Έχει αποδειχτεί, ότι τα επίπεδα έκφρασης των miRNAs παρουσιάζουν διακυμάνσεις, γεγονός που υποδεικνύει τον πολύπλοκο ρόλο που έχουν στην ρύθμιση της χονδρογένεσης (Nakamichi et al. 2020). Συγκεκριμένα, αλληλεπιδρούν με τους στόχους τους δημιουργώντας ένα ρυθμιστικό δίκτυο, το οποίο επηρεάζει θετικά ή αρνητικά πολλαπλές κυτταρικές δραστηριότητες (Mens and Ghanbari 2018). Πολλές μελέτες έχουν εντοπίσει τη δημιουργία προφίλ έκφρασης των miRNAs κατά τη διαφοροποίηση των MSCs σε χονδροκύτταρα, τα οποία παρέχουν νέες γνώσεις για τους μηχανισμούς που διέπουν τη συγκεκριμένη διαδικασία. Τα προφίλ έκφρασης των miRNAs στην χονδρογένεση είναι εξειδικευμένα τόσο για το είδος όσο και για τον ιστό (Yang et al. 2021). Παράλληλα, υπάρχουν πολλά στοιχεία που υποδηλώνουν εξωκυτταρική δράση των miRNAs, καθώς μπορούν να εκκριθούν με τη βοήθεια των εξωσωμάτων και να μεταφερθούν από το ένα κύτταρο στο άλλο, συμβάλλοντας στην ενδοκυτταρική επικοινωνία (Zhang et al. 2019). Επιπρόσθετα, πολλά miRNAs είναι υπεύθυνα και για πλήθος ασθενειών, όπως στην περίπτωση της οστεοαρθρίτιδας, των οποίων ο ρόλος διερευνάται συνεχώς (Vishnoi and Rani 2017).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Βέβαια, η διαδικασία της χονδρογένεσης προς δημιουργία λειτουργικού αρθρικού χόνδρου εξακολουθεί ακόμη να αποτελεί μια πρόκληση της επιστημονικής κοινότητας. Πλήθος μεταβολικών και ρυθμιστικών προβλημάτων που σχετίζονται με την χονδρογένεση δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως, ενώ άλλα είναι ακόμα άγνωστα. Είναι επομένως ανάγκη να διευκρινιστούν οι λεπτομερείς μηχανισμοί, που συμμετέχουν στη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, ανοίγοντας τον δρόμο για νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις που περιλαμβάνουν συνδυασμό MSCs και miRNAs (Iaquinta et al. 2021). Σ' αυτή την κατεύθυνση βρίσκεται και η παρούσα μελέτη, στόχος της οποίας είναι η διασαφήνιση της λειτουργίας των miRNAs στην προερχόμενη από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα χονδρογένεση.

1.1 Μεσεγχυματικά Βλαστοκύτταρα (MSCs)

Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs) είναι ενήλικα προγονικά πολυδύναμα βλαστοκύτταρα που είναι ικανά να αυτοανανεώνονται και να διαφοροποιούνται σε διάφορους εξειδικευμένους λειτουργικούς κυτταρικούς τύπους – οστεοκύτταρα, χονδροκύτταρα, λιποκύτταρα κ.α. – (Mushahary et al. 2018). Η ευκολία απομόνωσης, η υψηλή μεταναστευτική ικανότητα, οι σχετικά υψηλοί ρυθμοί αναπαραγωγής και η ικανότητα αποφυγής των αλλογενών αποκρίσεων μετά τη μεταμόσχευση, τα καθιστούν ελκυστικούς υποψήφιους στην αναγεννητική ιατρική (Almalki and Agrawal 2016b).

Παραδοσιακά, ο μυελός των οστών (Bone marrow-BM) ήταν η κυρίαρχη πηγή MSCs στους ανθρώπους. Ωστόσο, ενώ το BM είναι μια πλούσια πηγή αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, αποτελεί μόνο έναν σπάνιο πληθυσμό MSCs (H. Li et al. 2016). Με την πάροδο του χρόνου, ορισμένοι άλλοι ιστοί έχουν αναγνωριστεί ως εναλλακτικές πηγές για hMSCs. Σήμερα, τα MSCs μπορεί να απομονωθούν από πολλούς ιστούς (Ullah, Subbarao, and Rho 2015) συμπεριλαμβανομένου του λιπώδους ιστού (Zhang et al. 2006), των οδοντικών ιστών (Huang, Gronthos, and Shi 2009), του εμμηνορροϊκού αίματος και των περιγεννητικών ιστών (Raynaud et al. 2012). Παράλληλα, περιγεννητικοί ιστοί όπως το άμνιο, το χόριο και ο ομφάλιος λώρος είναι πολλά υποσχόμενες πηγές MSCs λόγω της νεαρής ηλικίας του δότη (Kwon et al. 2016). Βέβαια, το αίμα του ομφάλιου λώρου και η ζελατινώδης ουσία του Wharton, η οποία είναι πλουσιότερη πηγή MSCs, είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες πηγές (Liau et al. 2020).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν συγκεκριμένοι βιοδείκτες για την ταυτοποίηση των ανθρώπινων MSCs (hMSC), ένα σύνολο δεικτών και κυτταρικών χαρακτηριστικών έχει προταθεί το 2006 από τη Διεθνή Εταιρεία Κυτταρικής Θεραπείας (Dominici et al. 2006). Σ' αυτά, τα οποία επικρατούν ως σήμερα, περιλαμβάνονται: α) η ικανότητα αυτοανανέωσης, β) η πολυδυναμία προς οστεογονικές, χονδρογονικές και λιπογονικές σειρές, γ) η έκφραση ενός χαρακτηριστικού προτύπου επιφανειακών δεικτών (Lv et al. 2014). Δεν υπάρχει ένας συγκεκριμένος δείκτης που να διακρίνει τα MSCs από άλλα κύτταρα που παρουσιάζουν παρόμοια ινοβλαστικά χαρακτηριστικά και ως εκ τούτου, αυτά τα κύτταρα ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηρίζονται από θετική και αρνητική έκφραση πολλαπλών επιφανειακών αντιγόνων, όπως την παρουσία των CD73, CD90 και CD105 και την απουσία των CD14, CD34, CD45 και ο HLA-DR (Mizuno et al. 2018).

Από τη στιγμή της ανακάλυψης τους, η διαφοροποίηση πολλαπλών γενεών των MSCs έχει μελετηθεί εκτενώς σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες. Αποδείχθηκε, λοιπόν, ότι τα MSCs έχουν τη δυνατότητα να διαφοροποιούνται σε διάφορες σειρές τύπου μεσοδέρματος, συμπεριλαμβανομένων των μυογονικών, λιπογονικών, οστεογονικών και χονδρογονικών σειρών (Mushahary et al. 2018). Κατά τη διαφοροποίηση των MSCs προς έναν συγκεκριμένο τύπο κυττάρου, υπάρχει ένα πλήθος ερεθισμάτων και αναστολέων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην δέσμευση προς ένα συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο και στα μεταγενέστερα στάδια της διαφοροποίησης. Συγκεκριμένα, προκαλείται μια σειρά από φαινοτυπικές και μεταβολικές μεταβολές, ενώ παράλληλα, μειώνεται η έκφραση των γονιδίων βλαστικότητας και ενεργοποιούνται γονίδια που σχετίζονται με τη λειτουργία του διαφοροποιημένου κυτταρικού τύπου (James 2013). Αξίζει να επισημανθεί, ότι η τύχη ενός MSC καθορίζεται από το προφίλ γονιδιακής έκφρασης και τις αλληλεπιδράσεις του μεταγραφώματος μιας συγκεκριμένης χρονικής στιγμής (Hasin, Seldin, and Lusis 2017).

Η διαφοροποίηση των MSCs σε συγκεκριμένους ώριμους κυτταρικούς τύπους ελέγχεται από διάφορες κυτοκίνες, αυξητικούς παράγοντες και μόρια εξωκυττάριας μήτρας (Almalki and Agrawal 2016b). Πολλοί σημαντικοί στην όλη διαδικασία αποδείχθηκαν επίσης και οι μεταγραφικοί παράγοντες(TFs), οι οποίοι ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την επαγωγή και την πρόοδο της διαφοροποίησης ειδικού τύπου κυττάρου (Chen et al. 2016).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

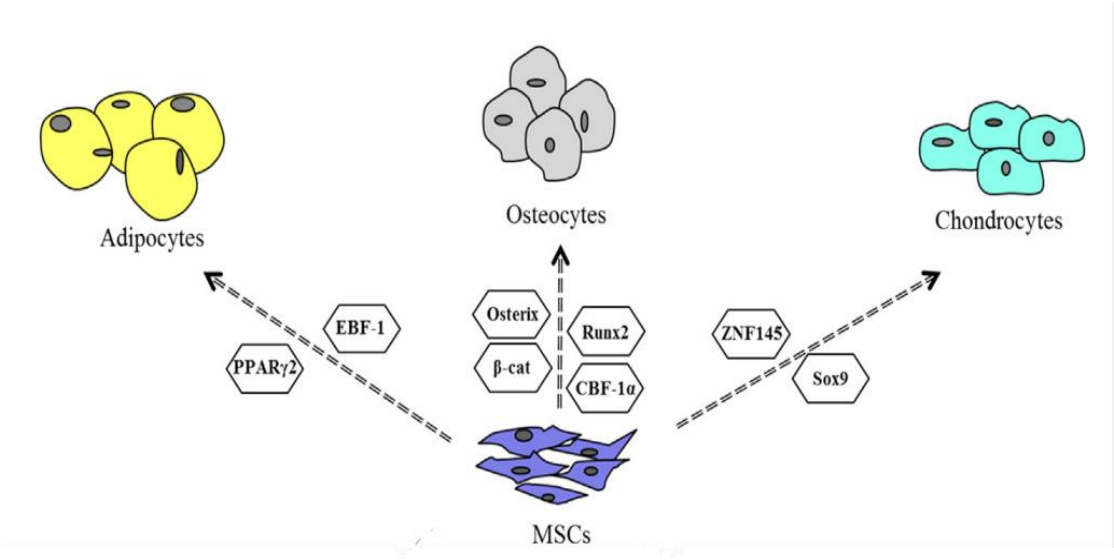
Όσον αφορά την οστεογονική διαφοροποίηση, σε μοριακό επίπεδο οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ορμονών και μεταγραφικών παραγόντων ελέγχουν τη διαφοροποίηση των MSCs σε οστεοκύτταρα. Οι κύριοι μεταγραφικοί παράγοντες που διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη διαφοροποίηση των MSCs σε οστεοκύτταρα είναι οι CBFA-1,Runx2 και Osterix (Almalki and Agrawal 2016b). Ο μεταγραφικός παράγοντας Runx2 είναι ένας ουσιαστικός ρυθμιστής για τον σχηματισμό οστών και την οστεογονική διαφοροποίηση των MSCs. Κατευθύνει τα MSCs να διαφοροποιηθούν σε προ-οστεοβλάστες και αναστέλλει τη λιπογονική και τη χονδρογονική διαφοροποίηση (Varela et al. 2016). Η έκφραση του Runx2 ρυθμίζεται από πολλά μονοπάτια σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένων των μονοπατιών σηματοδότησης Wnt, BMP και Notch. Όταν η BMP συνδεθεί στον υποδοχέα της ενεργοποιεί την έκφραση του Smad, το οποίο εισέρχεται στον πυρήνα και λειτουργεί ως μεταγραφικός παράγοντας. Επομένως, η αλληλεπίδραση Smad-Runx2 είναι απαραίτητη για την οστεογονική διαφοροποίηση (Bharadwaz and Jayasuriya 2021). Επιπρόσθετα, η ενεργοποίηση του μονοπατιού Wnt ενεργοποιεί την έκφραση του Osterix, το οποίο είναι απαραίτητο για την διαφοροποίηση των MSCs σε οστεοβλάστες (Almalki and Agrawal 2016b). Ας μη λησμονηθεί, ότι η μεταγωγική οδός Wnt σχετίζεται με τη δράση της β-κατενίνης. Είναι γνωστό, ότι απουσία της β-κατενίνης αναστέλλεται η οστεογονική διαφοροποίηση, ενώ αντίθετα ενισχύεται η διαφοροποίηση των MSCs σε χονδροκύτταρα (Yuan et al. 2015). Ακόμη, η αυξημένη έκφραση του Hoxa2 προάγει την οστεογονική διαφοροποίηση, ενώ αναστέλλει την έκφραση του Sox9 και κατ΄επέκταση την χονδρογονική διαφοροποίηση (Seifert et al. 2015).

Από την άλλη πλευρά, μέχρι σήμερα έχουν εντοπιστεί αρκετοί μεταγραφικοί παράγοντες που παίζουν κρίσιμους ρόλους στη διαφοροποίηση των MSCs σε λιποκύτταρα (Almalki and Agrawal 2016b). Ο υποδοχέας PPARγ είναι ένας από τους μεταγραφικούς παράγοντες που ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τη λιπογονική διαφοροποίηση των MSCs (Bionaz, Monaco, and Wheeler 2015). Συγκεκριμένα, παρατηρείται αύξηση των επιπέδων του κατά τη λιπογονική διαφοροποίηση, ενώ απουσία του έχουμε καταστολή αυτής (Zhuang et al. 2016). Ομοίως, τα επίπεδα των Sox2 και Oct4 βρέθηκαν αυξημένα κατά τη διαφοροποίηση των MSCs σε λιποκύτταρα (Han et al. 2014). Επομένως, η διαφοροποίηση των MSCs είτε σε λιποκύτταρα είτε σε οστεοκύτταρα ρυθμίζεται από αλληλεπιδράσεις

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

διαφορετικών μεταγραφικών παραγόντων, κυρίως των Runx2 και PPARγ, και διαφορετικών οδών σηματοδότησης, όπως τα μονοπάτια Wnt και BMP (James 2013).

Πέρα από την οστεογονική και χονδρογονική διαφοροποίηση, τα MSCs μπορούν να διαφοροποιούνται και σε χονδροκύτταρα. Είναι σκόπιμο, λοιπόν, να αναφερθούν τα πιο σημαντικά μονοπάτια κυτταρικής σηματοδότησης, τα οποία ρυθμίζουν τη συγκεκριμένη διαδικασία, η οποία αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της συγκεκριμένης εργασίας.



Εικόνα 1. Κύριοι μεταγραφικοί παράγοντες που προάγουν τη διαφοροποίηση των MSCs σε οστεοκύτταρα, χονδροκύτταρα και λιποκύτταρα (Almalki and Agrawal 2016b).

1.2 Χονδρογονική διαφοροποίηση

Ένα από τα πρώτα μορφογενετικά στάδια κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και προϋπόθεση για το σχηματισμό χόνδρου στα αναπτυσσόμενα άκρα αποτελεί η διαφοροποίηση των προγονικών πολυδύναμων κυττάρων του μεσοδέρματος σε χονδροκύτταρα (Fowler and Larsson 2020). Η ανάπτυξη χόνδρου, με άλλα λόγια η χονδρογονική διαφοροποίηση, είναι μια πολύπλοκη και αυστηρά ελεγχόμενη σειρά διεργασιών (J. Li and Dong 2016).

Η χονδρογένεση ξεκινά από μια αρχέγονη σειρά μεσεγχυματικών κυττάρων, τα οποία στρατολογούνται και υφίστανται μια σειρά από διαδοχικές μεταβολές, όπως πολλαπλασιασμό, συμπύκνωση, διαφοροποίηση, υπερτροφία, μεταλλοποίηση και απόπτωση, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό χόνδρου και την ενδοχόνδρια οστεοποίηση (Wuelling and Vortkamp 2011). Συγκεκριμένα, τα μεσεγχυματικά κύτταρα συμπυκνώνονται για να σχηματίσουν τον αρχικό χόνδρο και έπειτα διαφοροποιούνται

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

σε πολλαπλασιαζόμενα χονδροκύτταρα και κύτταρα που μοιάζουν μορφολογικά με ινοβλάστες και εντοπίζονται στο περιχόνδριο. Τα χονδροκύτταρα σχηματίζουν δύο διακριτούς υποπληθυσμούς, οι οποίοι μπορούν να διακριθούν μορφολογικά σε σφαιρικά χαμηλού ρυθμού αναπαραγωγής χονδροκύτταρα (RP) και στα οργανωμένα σε στήλες υψηλού ρυθμού αναπαραγωγής χονδροκύτταρα (CP). Έπειτα, από την διαφοροποίηση τους, τα τελευταία είναι ικανά να εκκρίνουν μόρια της εξωκυττάριας ουσίας, ολοκληρώνοντας τη δομή του αναπτυσσόμενου χόνδρου (Gao et al. 2017).

Αξίζει να επισημανθεί, ότι οι πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας συμμετέχουν στη ρύθμιση της συμπεριφοράς των χονδροκυττάρων κατά τη διαφοροποίηση τους. Αυτό διεκπεραιώνεται είτε με σήματα που αποστέλλουν στα κύτταρα μέσω της σύνδεσης τους με ιντεγκρίνες ή άλλους υποδοχείς, είτε με δέσμευση, απελευθέρωση και παρουσίαση διαλυτών σηματοδοτικών μορίων. Αρχικά παράγεται κολλαγόνο τύπου I και II, φιμπρονεκτίνη και N- καδερίνη σχηματίζοντας την εξωκυττάρια ουσία, τα οποία σταδιακά αντικαθίστανται ενδεικτικά από κολλαγόνο τύπου IX και X, αγγρεκάνη, ρετινοϊκά οξέα (Gao et al. 2017).

Στο στάδιο αυτό, τα χονδροκύτταρα μπορούν να επιλέξουν ανάμεσα σε δυο μονοπάτια, είτε να παραμείνουν ως διαφοροποιημένα χονδροκύτταρα του μόνιμου αρθρικού χόνδρου, είτε να συνεχίσουν περαιτέρω την ωρίμανση και τη διαφοροποίηση τους, σχηματίζοντας ένα ικρίωμα για τον σχηματισμό των μελλοντικών οστών του οργανισμού. Αυτό επιτυγχάνεται με την έξοδο των χονδροκυττάρων από τον κυτταρικό κύκλο και τη διαφοροποίηση τους σε υπερτροφικά χονδροκύτταρα (Wuelling and Vortkamp 2011). Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα είναι οι κύριοι ρυθμιστές της ενδοχονδρικής οστεοποίησης. Η υπερτροφία συνοδεύεται από αυξημένη σύνθεση οργανιδίων και ταχεία ενδοκυτταρική πρόσληψη νερού, τα οποία χρησιμεύουν ως οι κύριοι οδηγοί της διαμήκους οστικής ανάπτυξης. Αυτή η διαδικασία ρυθμίζεται από την αυξητική ορμόνη, τον IGF1, το Ihh, την PTHrP, BMPs, FGFRs, το Runx2 και το Sox9. Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα συντονίζουν την ενδοχονδρική οστεοποίηση μέσω της παραγωγής του VEGF και των μεταλλοπρωτεϊνασών (MMPs) (Hallett, Ono, and Ono 2021b). Στη συνέχεια, ασβεστοποιούνται στο περιχόνδριο και σχηματίζουν το περιόστεο, και ακολουθεί η εισβολή των αιμοφόρων αγγείων στην υπερτροφική περιοχή και ο σχηματισμός οστού στο κέντρο της ζώνης συμπύκνωσης (Wuelling and Vortkamp 2011). Τέλος, ρυθμίζουν έμμεσα την απορρόφηση της εξωκυττάριας μήτρας του χόνδρου, ελέγχοντας τον σχηματισμό ενός ειδικού τύπου οστεοκλαστών, που

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

ονομάζονται χονδροκλάστες. Βέβαια, αξίζει να επισημανθεί, ότι τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα μπορεί να διαθέτουν μια έμφυτη δυνατότητα πλαστικότητας, που τα επιτρέπει να εισέρχονται εκ νέου στον κυτταρικό κύκλο και να διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες και άλλους τύπους μεσεγχυματικών κυττάρων στο νωτιαίο μυελό (Hallett, Ono, and Ono 2021b).

Όπως αναφέρθηκε, κατά τη διαφοροποίηση η μορφολογία των MSCs αλλάζει. Μεταγραφικοί παράγοντες διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης των κολλαγόνων τύπου II,IX και X, καθώς και της αγγρεκάνης και των MMPs, τα οποία αποτελούν γνωστούς δείκτες των χονδροκυττάρων (J. Li and Dong 2016).

Ο κύριος μεταγραφικός παράγοντας που διαδραματίζει βασικό ρόλο στη διαφοροποίηση των MSCs σε χονδροκύτταρα είναι το Sox9. Αποτελεί έναν πρώιμο μεταγραφικό παράγοντα της χονδρογένεσης και ελέγχει την έκφραση των βασικών γονιδίων της (Lefebvre, Angelozzi, and Haseeb 2019). Η έκφραση του είναι απαραίτητη για την επιβίωση των χονδροκυττάρων προκειμένου να οδηγηθούν στην υπερτροφία (Jiang et al. 2018). Υψηλά επίπεδα του Sox9 είναι υπεύθυνα για τη συσσωμάτωση των MSCs πριν από το σχηματισμό του χόνδρου, ενώ η έκφραση του διατηρείται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής σε μόνιμα χονδροκύτταρα υγιούς αρθρικού χόνδρου. Έχει βρεθεί, ότι κατά τη διάρκεια της χονδρογένεσης η έκφραση του Sox9 αρχικά αυξάνεται και στην συνέχεια παρουσιάζει φθίνουσα πορεία. Με τη δράση του Sox9 ενεργοποιείται η έκφραση πολλών γονιδίων, όπως του κολλαγόνου τύπου II και IX και της αγγρεκάνης, για αυτό το λόγο έχει χαρακτηριστεί ως σημαντικός ρυθμιστικός παράγοντας της χονδρογένεσης (Jo et al. 2014; Z. H. Wang et al. 2014). Μετάλλαξη σε ένα αλληλόμορφο του Sox9 αποδείχθηκε ότι προκαλεί σύνδρομο σοβαρής σκελετικής δυσπλασίας, ενώ πλήρης απουσία του Sox9 μπορεί να εμποδίσει τη χονδρογένεση (Lefebvre, Angelozzi, and Haseeb 2019).

Ωστόσο, η έκφραση του Sox9 θα καταστέλλεται στα υπερτροφικά χονδροκύτταρα (Lefebvre and Dvir-Ginzberg 2017). Αν και η ανοδική ρύθμιση του Sox9 μπορεί να προάγει τη χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs, από την άλλη πλευρά επιβραδύνει τη διαδικασία της υπερτροφίας των χονδροκυττάρων επηρεάζοντας την έκφραση ορισμένων βασικών γονιδίων (Yang, Guo, et al. 2011a). Το Sox9 μπορεί να καταστείλει την υπερτροφία των χονδροκυττάρων με διάφορους

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

τρόπους. Ένας τρόπος είναι η αλληλεπίδραση του με τη β-κατενίνη, μέσω της οποίας αναστέλλεται το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt, το οποίο προάγει την υπερτροφία των χονδροκυττάρων (Topol et al. 2009). Άλλος τρόπος είναι η αναστολή του μεταγραφικού παράγοντα Runx2, ο οποίος συμβάλλει στη μείωση της ωρίμανσης των χονδροκυττάρων (Sun et al. 2019). Τέλος, το Sox9 μπορεί να καταστείλει άμεσα την έκφραση των γονιδίων που εκφράζονται σε υπερτροφικά χονδροκύτταρα, όπως του κολλαγόνου τύπου X (Leung et al. 2011).

Επιπλέον, πολλά άλλα γονίδια ρυθμίζουν την χονδρογονική διαφοροποίηση πιθανότητα μέσω της συνεργασίας με το Sox9 ή επηρεάζοντας την έκφραση του (Lefebvre and Dvir-Ginzberg 2017). Τα Sox5 και Sox6 μπορούν να ενεργοποιήσουν τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων μέσω της συνέκφρασης με το Sox9, κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε και in vitro σε επωαζόμενα MSCs (Park et al. 2011). Ακόμη, ο TNF-α έχει βρεθεί ότι ρυθμίζει προς τα πάνω την έκφραση του γονιδίου Sox9 (Jagielski et al. 2014). Επομένως, είναι φανερό, ότι το Sox9 είναι απαραίτητο για την καθιέρωση της χονδρογένεσης.

Είναι γνωστό, ότι η σηματοδότηση Wnt είναι απαραίτητη για πολλές αναπτυξιακές διαδικασίες. Όπως έχει αναφερθεί, τα χονδροκύτταρα και τα οστεοκύτταρα είναι δυο κύριοι τύποι στο σκελετικό σύστημα, τα οποία διαφοροποιούνται από προγονικά μεσεγχυματικά κύτταρα. Έχει αποδειχθεί, ότι η μεταγωγική οδός Wnt μπορεί να ρυθμίσει τη συγκεκριμένη διαδικασία. Συγκεκριμένα, προάγει τη διαφοροποίηση των οστεοκυττάρων, ενώ αντίθετα καταστέλλει την χονδρογονική διαφοροποίηση (Reinhold et al. 2006). Το μονοπάτι Wnt διακρίνεται στο κανονικό και το μη κανονικό (Ryu and Chun 2006). Η κανονική σηματοδότηση Wnt δρα μέσω της β-κατενίνης για την προώθηση της υπερτροφίας των χονδροκυττάρων. Η γενετική αδρανοποίηση της β-κατενίνης αύξησε την έκφραση Sox9 και προκάλεσε διαφοροποίηση χονδροκυττάρων σε βάρος της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών. Ακόμη, οι πρόδρομοι οστεοβλάστες που στερούνται β-κατενίνης έχει αποδειχθεί ότι εξελίσσονται σε χονδροκύτταρα (Schizas et al. 2021). Συνολικά, τα σήματα Wnt που δρουν μέσω της β-κατενίνης φαίνεται να μπλοκάρουν τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων με ταυτόχρονη προαγωγή της υπερτροφίας τους. Αντίθετα, τα σήματα του μη κανονικού μονοπατιού Wnt είναι διαφορετικά από αυτά του κανονικού στον σχηματισμό και την ωρίμανση των χονδροκυττάρων. Αυτά συμπεριλαμβάνουν σήματα για ενεργοποίηση της γονιδιακής έκφρασης χονδρογονικών ρυθμιστών καθώς

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

και σήματα που προάγουν τη χονδρογένεση των MSCs σε συνέργεια με τον TGF-b (Liu et al. 2014).

Θα ήταν παράλειψη να μην αναφερθεί η διεγερτική επίδραση του TGF-β στον πολλαπλασιασμό των χονδροκυττάρων, παρόλο που είναι πολύ γνωστός αναστολέας του κυτταρικού κύκλου. Ο TGF-β παράγεται από τα χονδροκύτταρα σε συνδυασμό με την πρωτεΐνη δέσμευσης του (LTBP). Η δέσμευση του από την LTBP εξαρτάται από την ωρίμανση των κυττάρων, ενώ η πλασμίνη, η τρανσγλουταμινάση και οι MMPs βοηθούν στην απελευθέρωση και ενεργοποίηση του (Baugé et al. 2014). Για τη μιτογόνο δράση του TGF-β απαραίτητη είναι η παροδική έκφραση του Cfos, η οποία προκαλείται μέσω ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC). Ο TGF-β ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των χονδροκυττάρων μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού MEK-ERK-Elk1. Η οδός MEK-ERK ρυθμίζεται αρνητικά από την πρωτεϊνική κινάση A (PKA), αλλά έπειτα επανενεργοποιείται από την PKC (Li, O'Keefe, and Chen 2005). Παρουσία του TGF-β παρατηρείται αύξηση της σύνθεσης της εξωκυττάριας μήτρας του χόνδρου, ιδιαίτερα της παραγωγής αγγρεκάνης και κολλαγόνου τύπου II (Zhu et al. 2015). Ο TGF-β οδηγεί το Smad2 να φωσφορυλιωθεί, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της έκφρασης του γονιδίου της αγγρεκάνης. Ωστόσο, αυτή η ταχεία φωσφορυλίωση του Smad2 δεν είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της έκφρασης της αγγρεκάνης σε υψηλά επίπεδα, καθώς αυτή επιτυγχάνεται κυρίως μέσω της επαγόμενης από τον TGF-β φωσφορυλίωσης των κινασών MAP. Ταυτόχρονα, όμως, ο TGF-β ρυθμίζει προς τα πάνω την έκφραση των αγγρεκανασών, επιταχύνοντας έτσι τον κύκλο σύνθεσης και διαμόρφωσης της εξωκυττάριας μήτρας (Moulharat et al. 2004). Συμπληρωματικά, η έκφραση του Smad7 ενισχύει την επίδραση του TGF-β στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και στη σύνθεση πρωτεογλυκάνης (Baugé et al. 2011).

Αντιθέτως, αν και ο TGF-β ενισχύει τον πολλαπλασιασμό των χονδροκυττάρων, αναστέλλει την τελική διαφοροποίηση τους και τα βοηθά να παραμείνουν στο προ-υπερτροφικό στάδιο. Αυτός είναι και ο λόγος που η έκφραση του στα υπερτροφικά χονδροκύτταρα είναι ασθενής (Li, O'Keefe, and Chen 2005). Συγκεκριμένα, λειτουργεί ως αναστολέας του Ihh και ως ενεργοποιητής της πρωτεΐνης που σχετίζεται με την παραθορμόνη (PTHrP). Το Ihh είναι ένας βασικός ρυθμιστής της ενδοχονδρικής οστεοποίησης, το οποίο εκφράζεται και εκκρίνεται από υπερτροφικά κύτταρα (Zhou et al. 2014). Επιπλέον, το Ihh ελέγχει την έκφραση της PTHrP.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Υπερέκφραση της PTHrP οδηγεί σε χρονικά καθυστερημένη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, ενώ απουσία της παρατηρείται μείωση του πολλαπλασιασμού των χονδροκυττάρων, ωρίμανση σε ακατάλληλη θέση και επιτάχυνση του σχηματισμού οστού (Zhang et al. 2012). Ο TGF-β διεγείρει την έκφραση της PTHrP με τη βοήθεια μελών των Smad μέσω γεγονότων σηματοδότησης. Παράλληλα, ο TGF-β ενεργοποιεί την κινάση ρ38 MAP, η οποία προκαλεί φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα ATF2. Ο φωσφορυλιωμένος ATF2 συνεργάζεται με το Smad3 και προκαλεί αναστολή της ωρίμανσης των χονδροκυττάρων. Καθώς προχωρά η διαδικασία της χονδρογονικής διαφοροποίησης, η δραστηριότητα της ERK μειώνεται, ενώ η δραστηριότητα της ρ38 MAP αυξάνεται συνεχώς, με συνέπεια την επαγωγή της χονδρογένεσης (Li et al. 2010). Συγκριτικά, σύμφωνα με αποτελέσματα μελέτης το Smad3 έχει ισχυρότερη ανασταλτική δράση στην τελική διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων από το Smad2 (Wang et al. 2016), καθώς δεσμεύει τον μεταγραφικό παράγοντα Sox9 (Furumatsu et al. 2005). Από τα παραπάνω υποδηλώνεται, ότι ο TGF-β και ο καταρράκτης σηματοδότησης Smad μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στη χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs.

Αξίζει να αναφερθεί, ότι οι BMPs θεωρούνται θετικοί ρυθμιστές της χονδρογένεσης. Ανήκουν στην υπεροικογένεια των TGF παραγόντων και συμμετέχουν σε μια σειρά βιολογικών διεργασιών, όπως ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων, η διαφοροποίηση και η απόπτωση. Επιπλέον, είναι ικανές να επάγουν την χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs, προωθώντας τον σχηματισμό του χόνδρου και διατηρώντας τον φαινότυπο των χονδροκυττάρων (Urata et al. 2018). Αναστολή της σηματοδότησης των BMPs οδηγεί σε καταστολή του σχηματισμού χόνδρου (P. Guo et al. 2014). Στο παραπάνω σηματοδοτικό μονοπάτι συμμετέχουν οι υποδοχείς BMPR1 και BMPR2, των οποίων η ενεργοποίηση οδηγεί στην φωσφορυλίωση των μεταγραφικών παραγόντων Smad1, Smad5 και Smad8 (Nordin and LaBonne 2014). Αναστολή των παραπάνω Smad έχει ως αποτέλεσμα μειωμένη έκφραση MMPs, του κολλαγόνου τύπου X και ταυτόχρονη αναστολή της μεταλλοποίησης κατά τη διαδικασία της χονδρογένεσης. Από την άλλη πλευρά, αναστολή των υποδοχέων 1 και 2 των BMPs αναστέλλει την έκφραση των Sox5,Sox6 και Sox9 και έτσι οδηγεί σε αναστολή σχηματισμού χονδροκυττάρων και αδυναμία ωρίμανσης τους (Harper et al. 2016).

Από την άλλη πλευρά, μέλη της οικογένειας των μεταγραφικών παραγόντων Runx, συγκεκριμένα οι Runx2 και Runx3, έχει αποδειχθεί ότι διαδραματίζουν

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

σπουδαίο ρόλο στην προώθηση της υπερτροφίας των χονδροκυττάρων. Έκτοπη έκφραση του Runx2 σε ανώριμα χονδροκύτταρα οδήγησε στην έκφραση υπερτροφικών δεικτών, όπως του κολλαγόνου τύπου X, διάφορων MMPs και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) (Wang et al. 2014). Το Runx2 μπορεί να αλληλεπιδράσει με μέλη της οικογένειας των Smad, τα οποία ρυθμίζονται από BMPs, με στόχο την ενεργοποίηση υπερτροφικών γονιδίων (Javed et al. 2008). Μελέτες σε ζωικά μοντέλα, έδειξαν, ότι απαλοιφή του Runx2 οδηγεί σε μειωμένη υπερτροφία των χονδροκυττάρων, ενώ απαλοιφή του Runx3 οδηγεί σε χρονικά καθυστέρηση τόσο της υπερτροφίας των χονδροκυττάρων, όσο και της αγγειακής εισβολής κατά τη διάρκεια ενδοχονδρικής οστεοποίησης. Τέλος, απαλοιφή και των δύο είχε ως αποτέλεσμα την αδυναμία ωρίμανσης των χονδροκυττάρων (Yoshida et al. 2004). Από τα παραπάνω, είναι φανερό, ότι τόσο το Runx2 όσο και το Runx3 είναι απαραίτητα για την ωρίμανση των χονδροκυττάρων.

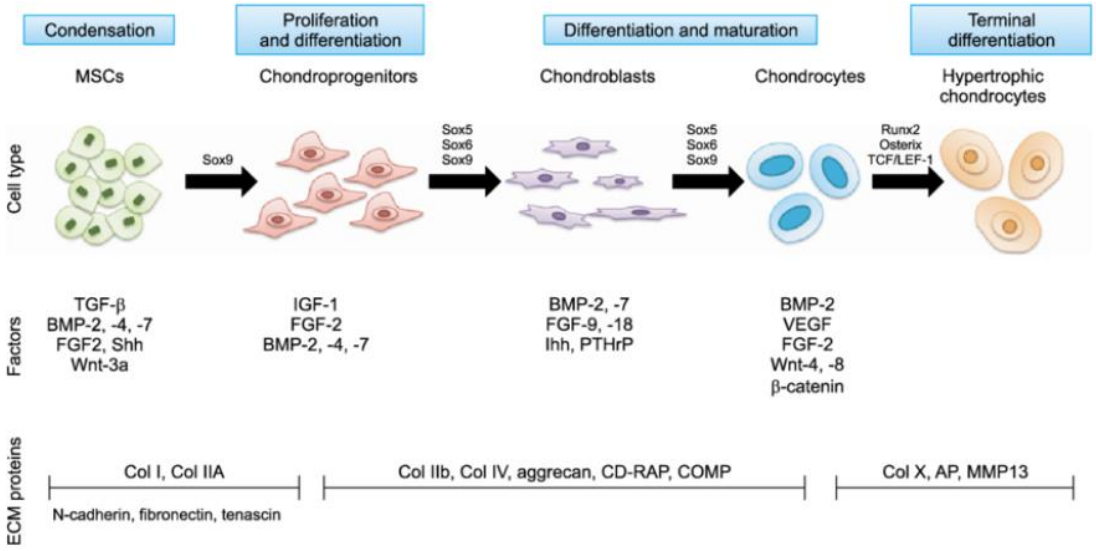
Ένας άλλος μεταγραφικός παράγοντας που έχει βρεθεί ότι συμμετέχει στη διαφοροποίηση των MSCs σε χονδροκύτταρα είναι ο ZNF145, δηλαδή μια πρωτείνη δακτύλου ψευδαργύρου (Liu et al. 2007). Αναστολή του ZNF145 μείωσε τη χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs, ενώ η υπερέκφραση του ZNF145 ενίσχυσε την έκφραση του Sox9 και τη χονδρογένεση (Liu et al. 2011). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί, ότι μια άλλη πρωτεΐνη, η YAP, έχει ανασταλτική επίδραση στην διαφοροποίηση των MSCs σε χονδροκύτταρα, καθώς χαρακτηρίζεται ως ρυθμιστής της οστεογονικής διαφοροποίησης (Karystinou et al. 2015).

Προσθέτως, μέλη της οικογένειας Hox γονιδίων επιδρούν στην χονδρογονική διαφοροποίηση. Το Hoxa2 μειώνεται κατά τη διάρκεια της χονδρογένεσης , ενώ υπερέκφραση του οδηγεί σε αναστολή της διαφοροποίησης των MSCs σε χονδροκύτταρα. Αντίθετα, κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης τα επίπεδα των Hoxd9 και Hoxd13 παρουσιάστηκαν αυξημένα, ενώ αναστολή των Hoxd10 και Hoxd11 αναστέλλει επίσης την χονδρογένεση (Seifert et al. 2015).

Συμπερασματικά, σύμφωνα με τα παραπάνω είναι φανερό, ότι διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια και μεταγραφικοί παράγοντες διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην διαφοροποίηση των MSCs σε χονδροκύτταρα. Τόσο το Sox9 όσο και διάφορες BMPs και η πρωτεΐνη ZNF145 θεωρούνται θετικοί ρυθμιστές της χονδρογένεσης. Άλλοι μεταγραφικοί παράγοντες έχουν επίσης αναφερθεί ότι έχουν

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

λειτουργικό ρόλο στην χονδρογονική διαφοροποίηση, όπως οι Hoxd10 και Hoxd11. Από την άλλη το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt μέσω της β-κατενίνης δρα ανασταλτικά στην χονδρογένεση, όπως και οι μεταγραφικοί παράγοντες Runx2, Runx3 και Hoxa2. Τέλος, ο TGF-β διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των χονδροκυττάρων, ενώ αναστέλλει την ενδοχονδρική οστεοποίηση τους.



Εικόνα 2. Διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε χονδροκύτταρα. Σε κάθε στάδιο επισημαίνονται οι κύριες πρωτεΐνες εξωκυττάριας ουσίας και οι εμπλεκόμενοι αυξητικοί παράγοντες (Park and Cho 2010).

1.3 Σύσταση και Λειτουργία Αρθρικού Χόνδρου

Ο αρθρικός χόνδρος αποτελεί ένα στρώμα εξειδικευμένου συνδετικού ιστού, που χαρακτηρίζεται από μοναδικές ελαστικές και ιξώδεις ικανότητες (Johnstone et al. 2013). Αποτελείται από χονδροκύτταρα και την εξωκυττάρια μήτρα (ECM), η οποία περιλαμβάνει νερό, ινίδια κολλαγόνου και πρωτεογλυκάνες. Κύριες λειτουργίες του είναι η παροχή μιας λείας αρθρικής επιφάνειας για αποφυγή της τριβής μεταξύ των οστών μέσω διαφόρων μηχανισμών λίπανσης και η απορρόφηση κραδασμών κατά την επίδραση ισχυρών μηχανικών πιέσεων, λειτουργώντας προστατευτικά στο υποχόνδριο οστό (Musumeci et al. 2014).

Ο αρθρικός χόνδρος ανήκει στην κατηγορία του υαλώδους χόνδρου και αποτελείται από δυο φάσης, μια υγρή και μια στερεή. Κύριο συστατικό της υγρής φάσης είναι το νερό, το οποίο αποτελεί το 80% του υγρού βάρους του αρθρικού χόνδρου. Περιλαμβάνονται επίσης ανόργανα ιόντα, όπως νάτριο, κάλιο, ασβέστιο και χλώριο. Από την άλλη πλευρά, η στερεή φάση αποτελείται από την ECM, η οποία είναι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

πορώδης και διαπερατή (Nakagawa et al. 2016). Τα χονδροκύτταρα καταλαμβάνουν το 1-5% του όγκου του χόνδρου και βρίσκονται διάσπαρτα μέσα στην ECM, όπου συνθέτουν όλα τα συστατικά της και είναι υπεύθυνα για τη ρύθμιση του μεταβολισμού της, ενώ τα ινίδια κολλαγόνου αντιπροσωπεύουν το 75% του ξηρού βάρους του αρθρικού χόνδρου. Ο κυριότερος τύπος κολλαγόνου που συναντάται στον αρθρικό χόνδρο είναι το κολλαγόνο τύπου II, ενώ μπορεί να υπάρχουν και σε μικρότερη συγκέντρωση κολλαγόνο τύπου I, IV, IX και X. Το κολλαγόνο X βρίσκεται μόνο στον υπερτροφικό χόνδρο, στο ασβεστοποιημένο στρώμα (Fox, Bedi, and Rodeo 2009). Ομοίως, οι πρωτεογλυκάνες αποτελούν το 20-30% του ξηρού βάρους του αρθρικού χόνδρου και διακρίνονται σε δυο κατηγορίες: τις αγγρεκάνες και τις μικρές πρωτεογλυκάνες, οι οποίες μπορεί να είναι ντεκορίνη και ινομοντουλίνη. Αυτές παράγονται και εκκρίνονται από τα χονδροκύτταρα στην εξωκυττάρια μήτρα και ο ρόλος τους είναι η διατήρηση του ισοζυγίου υγρών και ηλεκτρολυτών στον χόνδρο (Bhosale and Richardson 2008).

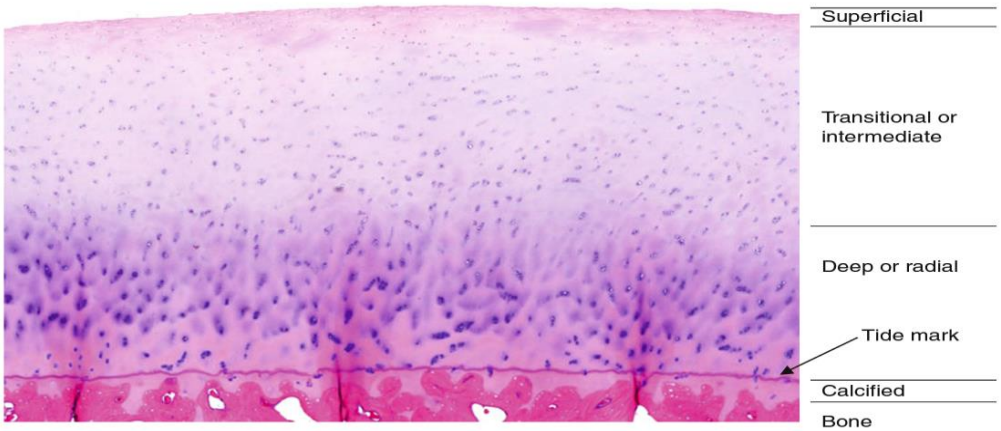
Η σχέση μεταξύ των πρωτεογλυκανών της ECM και του διάμεσου υγρού εξασφαλίζουν στον αρθρικό χόνδρο ανθεκτικότητα σε δυνάμεις συμπίεσης. Οι εσωτερικές δυνάμεις που ασκούνται κατά την εφαρμογή δυνάμεων συμπίεσης προκαλούν αύξηση στην πίεση του ενδιάμεσου υγρού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, το υγρό να ρέει έξω από την ECM, δημιουργώντας μια μεγάλη αντίσταση τριβής στην εξωκυττάρια μήτρα . Με τη διακοπή των δυνάμεων συμπίεσης, το ενδιάμεσο υγρό επανέρχεται στην αρχική του θέση (Bhosale and Richardson 2008). Επιπρόσθετα, η διαπερατότητα του αρθρικού χόνδρου είναι μικρή, με απόρροια να εμποδίζεται η ταχεία έξοδος του υγρού από τη μήτρα. Τα 2 οστά γύρω από την άρθρωση και ο περιβάλλοντας χόνδρος περιορίζουν τον χόνδρο κάτω από την επιφάνεια επαφής, με αποτέλεσμα να περιορίζεται η μηχανική παραμόρφωση του (Carballo et al. 2017).

Επιπλέον, το αρθρικό υγρό διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην εμβιομηχανική συμπεριφορά, στη λίπανση και τη διατροφή του αρθρικού χόνδρου. Αποτελεί κύρια πηγή θρεπτικών συστατικών, μιας και απουσιάζει η αιμάτωση. Στο αρθρικό υγρό είναι δυνατόν να υπάρχουν και πρωτεΐνες τόσο του χόνδρου όσο και του αρθρικού ιστού. Αυτές μπορεί να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες, που μαρτυρούν διάφορες παθοφυσιολογικές καταστάσεις της άρθρωσης (Schmidt et al. 2007). Τέλος, η λιπαντική ικανότητα του αρθρικού υγρού είναι αποτέλεσμα της σύστασης του, λόγω

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

παρουσίας 3 συστατικών, του υαλουρονικού οξέος, της λουμπρικίνης και των φωσφολιπιδίων σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις (Daniel 2014).

Από την παρατήρηση υγιούς αρθρικού χόνδρου σε πειραματόζωα, πρόκειται για μια λεία, γυαλιστερή και πυκνή επιφάνεια. Αντίθετα, το χρώμα του ανώριμου αρθρικού χόνδρου είναι κάπως μπλε, ενώ σε ηλικιωμένα άτομα εμφανίζεται κιτρινωπός (Carballo et al. 2017). Ο αρθρικός χόνδρος έχει μια εξαιρετικά οργανωμένη δομή που αποτελείται από 4 ζώνες: την επιφανειακή ζώνη, τη μέση ζώνη, τη βαθιά ζώνη και την ασβεστοποιημένη ζώνη. Ο φαινότυπος των χονδροκυττάρων, το σχήμα τους και η δομή της ECM ποικίλλουν μεταξύ των διαφορετικών ζωνών (Musumeci et al. 2014). Υψηλότερη περιεκτικότητα κολλαγόνου παρατηρείται στην επιφανειακή ζώνη, η οποία φθίνει έως και 20% όσο προχωράμε στη μεσαία και τη βαθιά ζώνη. Αντίθετα, η περιεκτικότητα των πρωτεογλυκανών είναι χαμηλή στην επιφανειακή ζώνη και αυξάνεται μέχρι και 50% στη μεσαία και βαθιά ζώνη (Carballo et al. 2017). Στο ανώτερο σημείο της επιφανειακής ζώνης, είναι ευδιάκριτη στο μικροσκόπιο η lamina splendens, ένα στρώμα από λεπτές ίνες κολλαγόνου όπου τα χονδροκύτταρα είναι επιμήκη και εφαπτομενικά διατεταγμένα. Στη μεσαία ζώνη, τα κύτταρα είναι στρογγυλεμένα ή ωοειδή και έχουν τυχαία κατανομή, ενώ στη βαθιά ζώνη είναι διατεταγμένα σε στήλες (Nakagawa et al. 2016). Επιπλέον, ύστερα από ειδική χρώση μπορεί να διακριθεί μικροσκοπικά μια γραμμή, γνωστή ως tidemark, η οποία αντιπροσωπεύει το όριο μεταξύ των μεταλλοποιημένων και μη περιοχών διαχωρίζοντας με αυτό τον τρόπο την βαθιά από την ασβεστοποιημένη ζώνη (Carballo et al. 2017).



Εικόνα 3. Διατομή υγιούς αρθρικού χόνδρου, όπου απεικονίζονται οι 4 ζώνες του (Shetty et al. 2014).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Επιπρόσθετα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα χονδροκύτταρα είναι υπεύθυνα για την παραγωγή ECM και τη διατήρηση της ομοιόστασης του χόνδρου με την παραγωγή ενζύμων, αυξητικών παραγόντων και μεσολαβητών φλεγμονής. Διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια, κυτοκίνες και αυξητικοί και μεταγραφικοί παράγοντες ρυθμίζουν τη λειτουργία των χονδροκυττάρων, ώστε τα τελευταία να ανταποκρίνονται στο σχηματισμό χόνδρου, στην ομοιόσταση και στη διατήρηση της υγείας του ώριμου αρθρικού χόνδρου (Kozhemyakina, Lassar, and Zelzer 2015). Οποιοσδήποτε τραυματισμός ή εκφυλιστική διαδικασία μπορεί να διαταράξει αυτή την ομοιοστατική ισορροπία και να οδηγήσει στην ενεργοποίηση προφλεγμονωδών και καταβολικών γονιδίων (Goldring and Otero 2011).

Οι τραυματισμοί του αρθρικού χόνδρου έχουν πολύ περιορισμένη ικανότητα ανανέωσης, ενώ παράλληλα τα ώριμα χονδροκύτταρα δεν έχουν την ικανότητα να παράγουν επαρκή ποσότητα ECM. Κύριοι λόγοι για την περιορισμένη αναγέννηση των κυττάρων φαίνεται να είναι η μη αγγειακή φύση του ιστού και η αδυναμία σχηματισμού θρόμβου, που αποτελεί βασικό βήμα στον καταρράκτη επούλωσης. Γενικά, η εγγενής αποκατάσταση του χόνδρου δεν ακολουθεί τα κύρια βήματα που συνήθως συμβαίνουν μετά από τραυματισμό σε άλλους ιστούς, όπως η νέκρωση, η φλεγμονή και η επιδιόρθωση (Nazempour and Van Wie 2016). Ωστόσο, αρκετοί διαφορετικοί τύποι κυττάρων κινητοποιούνται στον αρθρικό χόνδρο μετά από τραυματισμό και μπορούν να παράγουν νέα μόρια της ECM, αν και αυτή τελικά θα είναι μορφολογικά και μηχανικά κατώτερη από τον αρχικό εγγενή ιστό αρθρικού χόνδρου. Επομένως, είναι πιθανό τραυματισμοί στον αρθρικό χόνδρο, οι οποίοι δεν κατάφεραν να επουλωθούν, να οδηγήσουν στην ανάπτυξη οστεοαρθρίτιδας (Carballo et al. 2017).

2. miRNAs και χονδρογένεση που επάγεται από MSCs

2.1 microRNAs

Τα miRNA είναι μικρά μονόκλωνα μη κωδικά μόρια RNA μήκους 19-22 νουκλεοτιδίων, τα οποία έχουν ανιχνευθεί τόσο σε φυτά και ζώα, αλλά και σε ιούς (Bruscella et al. 2017). Αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη κατηγορία κυκλοφορούντων RNA και κύριος ρόλος τους είναι η ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων σε επίπεδο αγγελιοφόρου RNA (mRNA). Θεωρούνται καταστολείς της έκφρασης των γονιδίων,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

για αυτό το λόγο χαρακτηρίζονται και ως αρνητικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης (Saliminejad et al. 2019).

Παρόλο που το πρώτο miRNA, το let-7, ανακαλύφθηκε πριν από περίπου 20 χρόνια (Roush and Slack 2008), έκτοτε έχουν βρεθεί περισσότερα από 2500 ώριμα ανθρώπινα miRNA, τα οποία είναι αναρτημένα στη βάση δεδομένων miRbase. Έχει βρεθεί, ότι η έκφραση περίπου του 1/3 των ανθρώπινων γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες βρίσκονται κάτω από τον έλεγχο των miRNAs (Bartel 2004). Αυτό επιτυγχάνεται με το ζευγάρωμα του miRNA στο 3΄άκρο του mRNA του γονιδίου – στόχου και οδηγεί είτε σε αποσταθεροποίηση του μετάγραφου είτε σε μεταφραστική καταστολή (Zealy et al. 2017).

Αν και παρομοιάζονται συχνά με μεταγραφικούς παράγοντες, οι οποίοι συντονίζουν την έκφραση των γονιδίων τόσο μεταξύ διαφόρων χρονικών διαστημάτων, όσο και μεταξύ διαφόρων κυτταρικών τύπων, κάτι τέτοιο δεν ισχύει. Τα microRNAs, σε αντίθεση από τους μεταγραφικούς παράγοντες, λειτουργούν αμέσως μετά τη μεταγραφή τους χωρίς να μεταφραστούν σε πρωτείνη, έχουν μικρό μέγεθος και μεταγράφονται ταχύτερα από τα γονίδια τους (Martinez and Walhout 2009).

Έχει αποδειχθεί, ότι ένα miRNA είναι ικανό να προσδένεται σε περισσότερα από 200 διαφορετικά mRNA. Ομοίως και ένα mRNA μπορεί να διαθέτει περισσότερες της μιας θέσεις σύνδεσης διαφορετικών miRNAs. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται ένα πλήθος διαφορετικών συνδυασμών miRNAs – mRNA, αποκαλύπτοντας ένα πολύπλοκο σύστημα γονιδιακής ρύθμισης (Saliminejad et al. 2019).

Διάφορες knockout μελέτες miRNA, καθώς και πειράματα διαγονιδιακής έκφρασης αποκάλυψαν τη λειτουργία διαφόρων miRNAs (Hammond 2015), ενώ παράλληλα μελέτες για τη λειτουργία τους τα συνέδεσαν με πληθώρα βιολογικών διεργασιών, όπως η ανάπτυξη και διαφοροποίηση των κυττάρων, η εμβρυογένεση, η οργανογένεση, η χονδρογένεση και η απόπτωση (Ha and Kim 2014). Αυτός είναι και ένας πρωτεύων λόγος, για τον οποίο έχουν εισαχθεί ως θεραπευτικά μόρια ή ως στόχοι θεραπευτικών μορίων στη θεραπεία πολλών ασθενειών (Petrovic and Ergun 2018).

Εν κατακλείδι, αξίζει να αναφερθεί, ότι τα miRNAs συμβάλλουν στη ρύθμιση της ανάπτυξης των βλαστοκυττάρων, διαδραματίζοντας σπουδαίο ρόλο στη διαφοροποίηση και τη διατήρηση τους (Mens and Ghanbari 2018). Άλλωστε, ένα πολύ σημαντικό εύρημα, που αποτελεί και έναυσμα της παρούσας μελέτη, αποτελεί ο ρόλος

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

τους στη ρύθμιση της επαγόμενης και μη χονδρογένεσης, αλλά και στην παθογένεια ασθενειών, που σχετίζονται με το χόνδρο (C. Wu et al. 2014a).

2.1.1 Βιογένεση και Δράση

Τα γονίδια των miRNAs μπορεί να είναι είτε μόνα τους είτε σε συστοιχίες γονιδίων πάνω στο γονιδίωμα. Παράλληλα, έχουν εντοπιστεί τόσο μέσα στα εξώνια, όσο και στα ιντρόνια γονιδίων, ανάμεσα σε γονίδια και σπάνια σε περιοχές με επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες DNA (Vishnoi and Rani 2017). Έχει βρεθεί, ότι τα miRNAs μπορεί να μεταγράφονται ανεξάρτητα των υπολοίπων γονιδίων μέσω του δικού τους υποκινητή ή ταυτόχρονα με γειτονικά γονίδια μέσω ενός κοινού υποκινητή. Επιπλέον, τα miRNAs, που ανήκουν σε συγκεκριμένες συστάδες, μπορούν να συμμεταγράφονται ως ένα πολυκιστρονικό pri-miRNA (Kalla et al. 2015; Ozsolak et al. 2008). Η έκφραση τους είναι δυνατόν να επηρεαστεί από ένα πλήθος παραγόντων, όπως είναι μεταγραφικοί παράγοντες, διάφοροι πολυμορφισμοί (SNPs), χρωμοσωμικές ανακατατάξεις και επιγενετικοί μηχανισμοί (Misiewicz-Krzeminska et al. 2019).

Τα περισσότερα miRNAs μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II (Pol II) ως μεγάλα πρωτογενή μόρια (pri-miRNAs), τα οποία περιέχουν τουλάχιστον μια δομή φουρκέτας και αποτελούνται από περίπου 100 νουκλεοτίδια το καθένα. Όλα τα pri-miRNAs έχουν δομή καλύπτρας στο 5΄άκρο τους, ωστόσο είναι δυνατόν να απουσιάζει το σήμα πολυαδενυλίωσης στο 3΄άκρο τους (Bartel 2018).

Στον πυρήνα, μετά την ολοκλήρωση της μεταγραφής τα pri-miRNAs πέπτονται και δημιουργείται μια δομή στελέχους – βρόχου, η οποία αποτελείται από περίπου 70 νουκλεοτίδια (García-López, Brieño-Enríquez, and Del Mazo 2013). Η διαδικασία αυτή επιτυγχάνεται από ένα σύμπλοκο που αποτελείται από το γονίδιο DROSHA, το οποίο ανακαλύφθηκε πρώτη φορά στην Drosophila, και από την κρίσιμη περιοχή του γονιδίου 8 (DGCR8) που εμπλέκεται στο σύνδρομο DiGeorge. Η πρωτεΐνη Drosha αποτελεί την καταλυτική υπομονάδα του συμπλόκου και είναι μια ειδική ενδοριβονουκλεάση RNase III, ενώ το DGCR8 λειτουργεί ως μη καταλυτική υπομονάδα και είναι μια πρωτεΐνη δέσμευσης δίκλωνου RNA (Nguyen et al. 2018). Επιπρόσθετα, αξίζει να αναφερθεί ,ότι οι μεταμεταγραφικές τροποποιήσεις είναι δυνατόν να επηρεάσουν τη σταθερότητα ή την επεξεργασία των δομών φουρκέτας (Kalla et al. 2015; Zealy et al. 2017).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

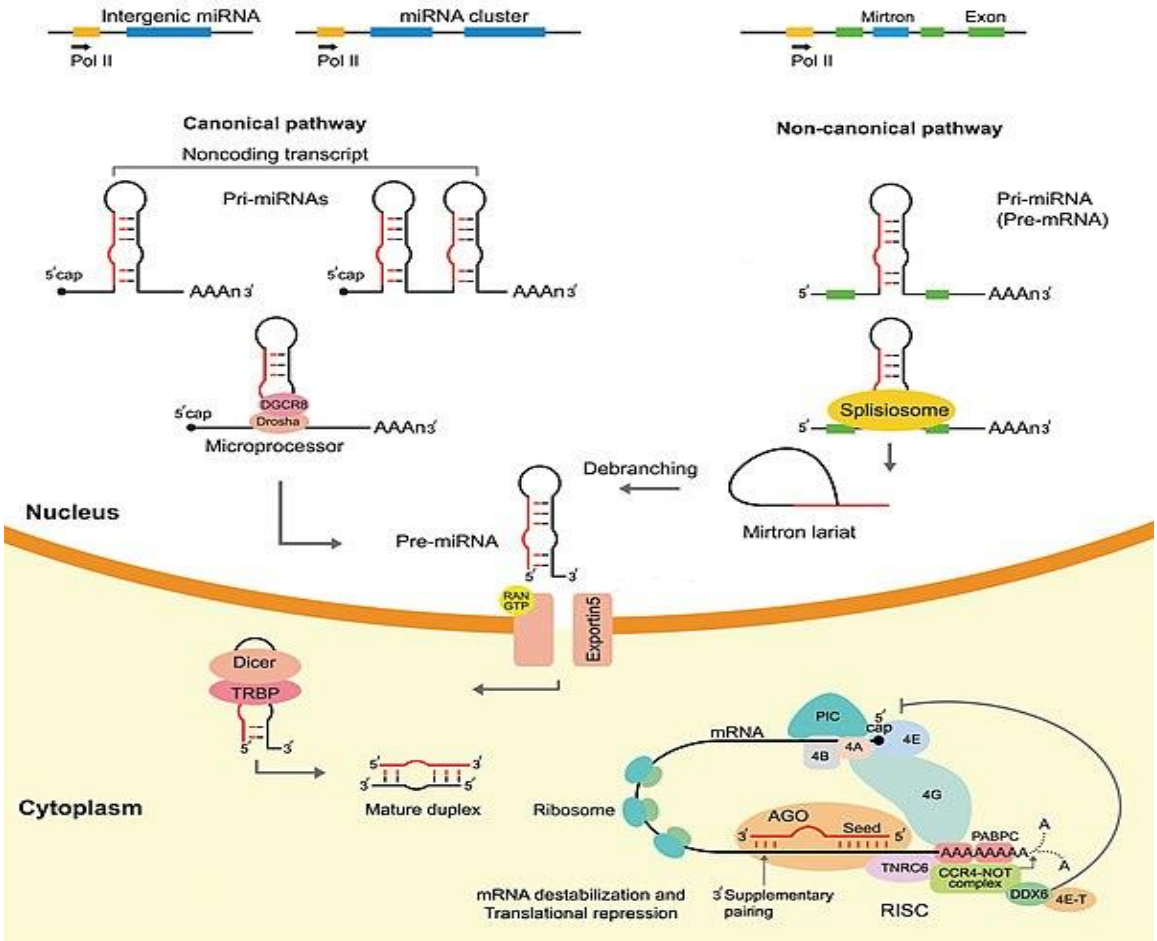
Στη συνέχεια τα πρόδρομα miRNAs (pre-miRNAs) εξάγονται από τον πυρήνα με τη βοήθεια της εξπορτίνης 5 (XPO5) και της Ras-GTP πρωτεΐνης RAN (Lund et al. 2004). Στο κυτταρόπλασμα, τα pre-miRNAs πέπτονται ενζυμικά κοντά στη δομή φουρκέτας δημιουργώντας ένα δίκλωνο μόριο με μονόκλωνα άκρα των 2-3 νουκλεοτιδίων. Η πέψη πραγματοποιείται από τη Dicer, μια RNase III, η οποία σχετίζεται με τη RAN (Ha and Kim 2014).

Κεντρικό ρόλο για τη λειτουργία των miRNAs διαδραματίζουν οι πρωτεΐνες της οικογένειας αργοναυτών (AGO). Αφού το δίκλωνο miRNA προσδεθεί στην πρωτείνη AGO με τη βοήθεια ATP εξαρτώμενων σαπερονών, η AGO επιστρέφει στην αρχική της διαμόρφωση με αποτέλεσμα να αποκόπτεται η μια αλυσίδα RNA και να δημιουργείται τελικά το μονόκλωνο ώριμο miRNA (Bartel 2018). Ωστόσο, ανάλογα ποιος κλώνος θα παραμείνει συνδεμένος με την AGO μπορεί να δημιουργηθούν δύο διαφορετικά λειτουργικά miRNA από τους δύο κλώνους του δίκλωνου pre-miRNA. Επομένως, από ένα μόνο γονίδιο miRNA μπορούν να παραχθούν πολλαπλές ισομορφές miRNA (isomiRs) με διάφορους μηχανισμούς (L. Guo and Chen 2014).

Μετά την πρόσδεση, η AGO προωθεί τη συγκρότηση ενός ριβονουκλεοπρωτεϊνικού συμπλόκου, εν ονόματι RISC, το οποίο συμμετέχει στην αναγνώριση του mRNA – στόχου μέσω της συμπληρωματικότητας των βάσεων (Zealy et al. 2017). Η αναγνώριση γίνεται κυρίως λόγω συμπληρωματικότητας των βάσεων ανάμεσα στα νουκλεοτίδια 2-8 του miRNA και της 3΄αμετάφραστης περιοχής του mRNA (Bartel 2009). Η αναγνώριση μπορεί να επιτευχθεί επίσης και από πρόσθετα στοιχεία αλληλουχίας, όπως αζευγάρωτες αδενοσίνες στην αλληλουχία του mRNA, οι οποίες αντιστοιχούν στο νουκλεοτίδιο 1 του miRNA. Είναι επομένως φανερό, ότι αυτές οι 8 θέσεις είναι απαραίτητες για την ρύθμιση της έκφρασης μέσω των miRNAs (Saliminejad et al. 2019).

Από την άλλη πλευρά ας μη λησμονηθεί, ότι πρόσφατα ανακαλύφθηκαν διάφορες εναλλακτικές οδοί για τη βιογένεση του miRNA. Βρέθηκε, ότι αρκετές διαφορετικές κατηγορίες RNA δομικά και λειτουργικά είναι παρόμοιες με τα miRNA. Ωστόσο, παρακάμπτουν ένα ή περισσότερα βήματα στην κανονική οδό βιογένεσης των miRNAs. Η Drosha και το DGCR8 παρόλο που είναι απαραίτητα για την βιογένεση miRNAs, σε περίπτωση απουσίας τους είναι δυνατόν να παραχθούν λειτουργικά miRNA μέσω ενός άλλου μονοπατιού (Abdelfattah, Park, and Choi 2014).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207



Εικόνα 4. Επισκόπηση της βιογένεσης των miRNAs (Saliminejad et al. 2019).

Όσον αφορά τη δράση των miRNAs, σπουδαίο ρόλο κατέχει η συμπληρωματικότητα του μορίου miRNA με το mRNA – στόχο. Στα φυτά και πιο σπάνια στα ζώα, η σύνδεση miRNA-mRNA είναι ακριβής, με αποτέλεσμα την αποικοδόμηση του mRNA (Kalla et al. 2015). Αντίθετα, στον άνθρωπο το ζευγάρωμα του miRNA με τον στόχο του είναι ατελές προκαλώντας καταστολή της μετάφρασης (Zealy et al. 2017). Η καταστολή της μετάφρασης μπορεί να γίνει με μια πληθώρα μηχανισμών. Σε αυτούς περιλαμβάνονται τόσο η παρεμπόδιση σύνδεσης των παραγόντων έναρξης της μετάφρασης και του ριβοσώματος λόγω του συμπλόκου miRNA-mRNA, όσο και η αλληλεπίδραση του miRNA με τους παράγοντες επιμήκυνσης της μετάφρασης, η οποία οδηγεί σε διάσπαση του ριβοσώματος στις υπομονάδες του και επομένως σε πρόωρο τερματισμό της πρωτεϊνοσύνθεσης (B. Liu, Li, and Cairns 2014). Επιπλέον, μια πρωτείνη προσαρμογής, η TNRC6, που στρατολογείται από την AGO αλληλεπιδρά με την πρωτείνη πρόσδεσης στην poly-A ουρά (PABPC) στο 3΄άκρο του mRNA, με αποτέλεσμα την προσέλκυση

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

αποακετυλασών. Ως επακόλουθο, η δράση των αποακετυλασών βραχύνει την poly-A ουρά του mRNA, προκαλώντας την αποσταθεροποίηση του και επομένως την αποδόμηση του. Επίσης, η TRNC6 μπορεί να προσελκύει την ελικάση DEAD-box 6 (DDX6), η οποία δεσμεύει το σύμπλοκο αφαίρεσης της καλύπτρας στο 5΄άκρο, με συνέπεια την καταστολή της μετάφρασης (Bartel 2018). Βέβαια, αν και η μεταφραστική καταστολή επιτυγχάνεται γρηγορότερα, η επίδραση της είναι σχετικά ασθενής, με αποτέλεσμα η αποσταθεροποίηση του mRNA να είναι ο πιο κοινός τρόπος ρύθμισης της έκφρασης μέσω των μορίων miRNAs (Saliminejad et al. 2019).

2.2 Επιγενετική ρύθμιση των miRNAs στη χονδρογένεση

Τις τελευταίες δυο δεκαετίες μεγάλος αριθμός λειτουργικών μελετών και μελετών μεγάλης κλίμακας έχει αναδείξει ένα κρίσιμο αριθμό miRNAs που συμμετέχουν στη διαδικασία της χονδρογένεσης από MSCs προερχόμενα από διάφορους ιστούς (Nakamichi et al. 2020). Η σημασία των miRNAs στην χονδρογένεση και την ανάπτυξη του σκελετού αποσαφηνίστηκε ήδη από το 2008 σε knock out ποντίκια για το γονίδιο της ενδονουκλεάσης Dicer (Kobayashi et al. 2008). Έκτοτε, έχουν ανακαλυφθεί πολλά διαφορετικά προφίλ έκφρασης miRNAs μεταξύ MSCs και χονδροκυττάρων σε διάφορα στάδια της διαφοροποίησης τους, αλλά και μεταξύ χονδροκυττάρων που προέρχονται από φυσιολογικό και παθολογικό χόνδρο (Iaquinta et al. 2021; Yang et al. 2021). Βάσει των ανωτέρω, η παρούσα εργασία αφορά μια βιβλιογραφική ανασκόπηση πλήθους επιστημονικών εργασιών που αναδεικνύουν τα κύρια miRNAs, τα οποία συμμετέχουν στην επαγόμενη από MSCs χονδρογένεση.

Είναι γεγονός, ότι το miR-140 είναι το πιο μελετημένο απ’ όλα τα miRNAs και έχει αναγνωριστεί ως ειδικό για τον χόνδρο miRNA (Iaquinta et al. 2021). Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει, ότι η έκφραση του miR-140 επάγεται άμεσα από τον καίριο για τη διαδικασία της χονδρογένεσης μεταγραφικό παράγοντα Sox9 (Li et al. 2015). Απαλοιφή του miR-140 σε ζωικό μοντέλο, οδηγεί σε παθολογικό χόνδρο παρόμοιο με αυτό της OA και σε βραχύτερο σκελετό σε σχέση με τα άτομα αγρίου τύπου. Αντίθετα, υπερέκφραση του miR-140 σε διαγονιδιακά ζώα αναστέλλει την εμφάνιση OA, που προκαλούνταν από αντιγόνο. Αυτό εξηγείται εν μέρει, καθώς μια πρωτεάση της ECM, η ADAMTS5, αποτελεί στόχο του miR-140 (Miyaki et al. 2010). Συγκεκριμένα, το miR-140 προάγει τη χονδρογένεση αναστέλλοντας τον μεταγραφικό παράγοντα Sp1, δράση του οποίου είναι η καταστολή του κυτταρικού κύκλου, προκειμένου να διατηρήσει τον πολλαπλασιασμό των χονδροκυττάρων (Yang, Qin, et

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

al. 2011). Επιπλέον, έχει θετική επίδραση στο μονοπάτι σηματοδότησης Wnt, το οποίο διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στη χονδρογένεση (Barter et al. 2015).

Αξίζει να επισημανθεί, ότι τα miR-140-3p και miR-140-5p υπερεκφράζονται στα ανθρώπινα MSCs (hMSCs) κατά τη χονδρογένεση, με τα γονίδια-στόχους τους να εντοπίζονται στο τελικό στάδιο της υπερτροφικής διαφοροποίησης. Ειδικότερα, το miR-140-5p στοχεύει την 3'UTC της πρωτεΐνης Ral-A (RALA) που σχετίζεται με το Ras, ενεργοποιώντας την έκφραση του SOX9 και τελικά του γονιδίου ACAN (Budd, Waddell, de Andrés, et al. 2017). Παράλληλα, αναστολή του HDAC4 μέσω του miR-140 οδηγεί σε ταυτόχρονη αναστολή του μεταγραφικού παράγοντα Runx2, αποτρέποντας με αυτό τον τρόπο την υπερτροφία των χονδροκυττάρων (W. Zhao et al. 2016a). Ας μην παραλειφθεί, ότι στόχοι του miR-140 αποτελούν επίσης τα γονίδια BMP2 και SMAD3, η απουσία των οποίων εμποδίζει την ενδοχονδρική οστεοποίηση (Hwang et al. 2014) και καταστέλλει το σηματοδοτικό μονοπάτι του TGF-b αντίστοιχα (Pais et al. 2010).

Είναι αξιοσημείωτο, ότι το miR-1247 στοχεύει τον SOX9, ενώ μέσω ενός βρόχου αρνητικής ανάδρασης, το SOX9 αναστέλλει την έκφραση του miR-1247 στα ανθρώπινα χονδροκύτταρα (Martinez-Sanchez and Murphy 2013). Αποτελέσματα μελέτης αποκάλυψαν επίσης, ότι υπερέκφραση του miR-1247 οδηγεί σε σημαντική μείωση τόσο των επιπέδων του COL2A1 όσο και του miR 140, η οποία οφείλεται στην απουσία του Sox9 (Iaquinta et al. 2021). Ακόμη, το miR-483 καταστέλλει επίσης την έκφραση του SOX9 και τη διαδικασία χονδρογένεσης εν μέρει στοχεύοντας το SMAD4, που συμμετέχει στο σηματοδοτικό μονοπάτι TGF-b (Anderson and McAlinden 2017). Ομοίως, έχει βρεθεί ότι τα miR-145, miR-495, miR-101 και miR-194 στοχεύουν ομοίως το SOX9, με αποτέλεσμα την αναστολή της χονδρογονικής διαφοροποίησης των MSCs (Allas, Boumédiene, and Baugé 2019; Dai et al. 2012; Yang, Guo, et al. 2011b). Επίσης, το miR-124 δρα ως αναστολέας της χονδρογένεσης. Συγκεκριμένα, προσδένεται στο γονίδιο του πυρηνικού παράγοντα των ενεργοποιημένων Τ κυττάρων (NFATC1) εμποδίζοντας τον να προσδεθεί στον προαγωγέα του Sox9 και να επάγει την έκφραση του (Gong et al. 2017).

Σύμφωνα με τους Xue et al. (2017) επιμόλυνση MSCs με miR-127-5p είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των δεικτών πρώιμης χονδρογένεσης SOX9, COL2A1 και ACAN και ταυτόχρονη μείωση των δεικτών όψιμης χονδρογένεσης COL10A1 και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

RUNX2. Επομένως, το miR-127-5p φαίνεται ότι προάγει τη χονδρογένεση αποτρέποντας παράλληλα την υπερτροφική διαφοροποίηση των MSCs. Στην ίδια κατεύθυνση η υπερέκφραση του miR-218 ενισχύει την έκφραση των χονδρογονικών δεικτών SOX9, COL2A1, ACAN σε πρώιμο στάδιο, αλλά αναστέλλει την ωρίμανση μέσω καταστολής της έκφρασης όψιμων δεικτών CMP, COL10A1, MMP13, και VEGF μέσω στόχευσης της αφυδρογονάσης HPGD, ενός ενζύμου απαραίτητου για τον καταβολισμό των προσταγλανδινών (Chen et al. 2019). Επιπλέον, καταστολή του miR-221 οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα του μεταγραφικού παράγοντα Forkhead Box Protein (Foxo3a), ο οποίος είναι γνωστό ότι προάγει την χονδρογένεση επάγωντας την έκφραση των SOX9, ACAN και COL2A1 (Penolazzi et al. 2018). Στον αντίποδα, βρέθηκε ότι το miR-29a είναι ικανό να παρεμποδίσει την έκφραση του FOXO3A μέσω στόχευσης της 3΄UTR του, με αποτέλεσμα την καταστολή της χονδρογένεσης (Budd, Waddell, Andrés, et al. 2017).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι TGFβ είναι γνωστοί τυπικοί επαγωγείς της χονδρογένεσης των MSCs. Το miR-337 συμμετέχει στη χονδρογένεση ρυθμίζοντας αρνητικά την έκφραση του υποδοχέα του TGFβ2 (TGFB2R), ο οποίος είναι απαραίτητος για τον σχηματισμό του χόνδρου. Έχει πράγματι αποδειχθεί, ότι κατά την ωρίμανση των χονδροκυττάρων τα επίπεδα του miR-337 μειώνονται σημαντικά (C. Wu et al. 2014b). Ομοίως το miR-193b στοχεύει τον TGFB2R ρυθμίζοντας με αυτό τον τρόπο την πρώιμη χονδρογένεση (Hou, Yang, et al. 2015). Από την άλλη πλευρά, η απουσία του miR-17-92 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των προγονικών μεσεγχυματικών κυττάρων, με επακόλουθο την αναστολή του μονοπατιού TGFβ (Papaioannou, Kozlova, and Kobayashi 2018).

Οι BMPs είναι μέλη της οικογένειας των TGFβ και εμπλέκονται επίσης στη χονδρογονική διαφοροποίηση. Έχει βρεθεί, ότι τόσο το miR-199a όσο και το miR-155 αναστέλλουν την πρώιμη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων έχοντας ως άμεσο στόχο το SMAD1, που συμμετέχει στο μονοπάτι σηματοδότησης των BMPs (Iaquinta et al. 2021). Το miR-92a έχει επίσης εντοπιστεί στη ρύθμιση της μεταγωγικής οδού των BMPs στοχεύοντας το Noggin3, έναν ανταγωνιστή της BMP (Iaquinta et al. 2021). Ακόμη, οι υποδοχείς BMP είναι διαμεμβρανικές κινάσες σερίνης/θρεονίνης, με το BMPR2 να παίζει ζωτικό ρόλο σε μια σειρά βιολογικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της χονδρογένεσης (Kovermann et al. 2019). Μέσω της άμεσης στόχευσης του BMPR2 τόσο το miR-143-3p (Tian et al. 2018), όσο και το miR-125b

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

(Xiao et al. 2019) μπορεί να καταστείλει την εναπόθεση πρωτεογλυκανών και την έκφραση χονδρογονικών δεικτών, αναστέλλοντας έτσι τη χονδρογένεση.

Τα μέλη της οικογένειας miR-30 είναι ικανά να στοχεύουν τόσο το RUNX2 όσο και το SMAD1, παρεμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο την οστεογένεση των ώριμων χονδροκυττάρων (Wu et al. 2012). Ειδικότερα το miR-30a προάγει αξιοσημείωτα την χονδρογένεση των μεσεγχυματικών κυττάρων, στοχεύοντας τον DLL4, ο οποίος θεωρείται αναστολέας της χονδρογένεσης μέσω του μονοπατιού Notch, με αποτέλεσμα την ανοδική ρύθμιση των COL2A1 και ACAN (Tian et al. 2016).

Το miR-455-3p στοχεύει επίσης το RUNX2 με αποτέλεσμα την πρώιμη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, αλλά και την αναστολή ωρίμανσης τους. Συγκεκριμένα, υποστηρίζεται ότι αναστέλλει την έκφραση των αποακετυλασών των ιστονών HDAC2/8 και προωθεί την ακετυλίωση της ιστόνης H3 στον προαγωγέα κολλαγόνου 2 (COL2A1) προάγοντας έτσι την γονιδιακή έκφραση του συγκεκριμένου τύπου κολλαγόνου (Papaioannou, Kozlova, and Kobayashi 2018). Ομοίως, το miR-320 στοχεύει RUNX2, ενώ παράλληλα έχει αποδειχθεί, ότι εμπλέκεται στη μείωση της υπερτροφίας και του εκφυλισμού του χόνδρου μέσω της στόχευσης του MMP13 (W. Zhao et al. 2016b). Στην ίδια κατεύθυνση δρα και το miR-1, έχοντας ως στόχο το HDAC4, το οποίο αναστέλλει την έκφραση του Runx2 ελέγχοντας με αυτό τον τρόπο την υπερτροφία των χονδροκυττάρων (Li et al. 2015).

Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί, ότι η έκφραση της MMP13 ρυθμίζεται από πληθώρα miRNAs όπως τα miR-381, miR-27b και miR-9. Αναλυτικά, τα επίπεδα του miR-381 παρατηρούνται αυξημένα στα τελευταία στάδια της διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων, ενώ το αποτέλεσμα της δράσης του είναι η αύξηση της έκφρασης του MMP13 και RUNX2 με ταυτόχρονη μείωση της έκφρασης του COL2A1 (Hou, Meng, et al. 2015). Από την άλλη πλευρά, το miR-27b και το miR-9 ρυθμίζουν αρνητικά την έκφραση της MMP13 παρεμποδίζοντας έτσι την ωρίμανση των χονδροκυττάρων (Li et al. 2015, 2016).

Θα ήταν παράλειψη να μην αναφερθεί, ότι ορισμένα miRNAs προάγουν τη χονδρογένεση καταστέλλοντας την έκφραση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF), του υποδοχέα 2 του (VEGFR2) και τον υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών 1 (FGFR1) κατά την πρώιμη χονδρογένεση. Το miR-424, συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί, ότι συμμετέχει στην παραπάνω διαδικασία (Stelcer et

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

al. 2019). Παρόμοια δράση παρουσιάζει επίσης και το miR-107, το οποίο αναστέλλει την έκφραση του VEGF με παράλληλη επαγωγή των γονιδίων ACAN και COL2A1, μειώνοντας με αυτό τον τρόπο την έκφραση της MMP13 και MMP9. Έτσι, είναι ικανό να ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των χονδροκυττάρων και τη σύνθεση της ECM μέσω στόχευσης του ομολόγου φωσφατάσης και τενσίνης (PTEN) (Tian et al. 2019). Επιπρόσθετα, το miR-210 επάγει την έκφραση του COL2A1 μέσω ανοδικής ρύθμισης του VEGF και FGF2, στοχεύοντας διαφορετικά γονίδια του Homeobox A 1/9 (HOXA-1/9) (Li et al. 2015). Ομοίως, το miR-320 ρυθμίζει αρνητικά την έκφραση του VEGF μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού ERK1/2, καθώς και των ADAMTS5 και HOXA10, με το τελευταίο να ελέγχει την έκφραση της MMP13 μέσω του Runx2. Από τα παραπάνω, είναι φανερό, ότι το miR-320 συμμετέχει στη ρύθμιση του μεταβολισμού των χονδροκυττάρων, ελέγχοντας την παραγωγή αγγρεκανασών και μεταλλοπρωτεϊνασών (Ukai et al. 2012).

Είναι κοινός τόπος, ότι ένας από τους πιο ευρέως χρησιμοποιούμενους αυξητικούς παράγοντες στη διαφοροποίηση των MSCs είναι ο αυξητικός παράγοντας 2 των ινοβλαστών (FGF2), ο οποίος ενισχύει τον πολλαπλασιασμό και καταστέλλει τη γήρανση των MSCs στη χονδρογένεση (Correa et al. 2015). Αποτελέσματα μελέτης αποδεικνύουν, ότι το miR-23c υποεκφράζεται κατά τη διάρκεια της χονδρογένεσης, ενώ η υπερέκφραση του μπορεί να καταστείλει τη διαφοροποίηση προς τα χονδροκύτταρα μέσω της στόχευσης του FGF2 (Bigoni et al. 2019).

Από την άλλη πλευρά, το miR-29a ρυθμίζει αρνητικά τη διαδικασία της χονδρογένεσης, καθώς δεσμεύεται στην 3΄UTR του VEGF (Ko et al. 2017). Αρνητικοί ρυθμιστές της χονδρογονικής διαφοροποίησης έχουν χαρακτηριστεί επίσης τα miR-20a, miR-20b και miR-193b (Iaquinta et al. 2021). Συγκεκριμένα, το miR-20a αναστέλλει την αυτοφαγία στοχεύοντας τον παράγοντα Atg7, ενώ παράλληλα επάγει τον μεταγραφικό παράγοντα c-Myc μέσω της μιτογόνου πρωτεϊνικής κινάσης MAP3K2 (Xu et al. 2020). Επιπλέον, το miR-20b στοχεύει στο πρώιμο σχετιζόμενο με τη χονδρογένεση γονίδιο EPAS1, το οποίο εμπλέκεται στην ανάπτυξη των εμβρυικών οργάνων, καταστέλλοντας έτσι τη διαδικασία της διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων (Stelcer et al. 2019). Ακόμη, το miR-193b ρυθμίζει καθοδικά τα COL2A1, ACAN και SOX9 έχοντας ως στόχο την διμεθυλαργινάση DDAH1, η οποία με τη σειρά της προκαλεί μειωμένη έκκριση του VEGF (Li et al. 2015).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Άξια αναφοράς είναι η μελέτη των Lin et al. (2014), όπου ανακαλύφθηκαν τα υψηλά επίπεδα έκφρασης του miR-334-5p και του host γονιδίου του MEST κατά τη διαδικασία της χονδρογένεσης. Πιο αναλυτικά, το miR-335-5p στοχεύει δυο αρνητικούς ρυθμιστές του SOX9, τον ενεργοποιητή της μορφογένεσης Daam1 και την Rho σχετιζόμενη πρωτεινική κινάση ROCK1, με στόχο την αρνητική ρύθμιση των miR-29a και miR-29b, τα οποία εμπλέκονται στην καθοδική ρύθμιση του MEST. Επιπλέον, το miR-335-5p στοχεύει και έναν αναστολέα του μονοπατιού Wnt, και συγκεκριμένα τον DKK1, με επακόλουθο την ανοδική ρύθμιση του MEST μέσω της οδού β-κατενίνης/TCF (Lin et al. 2014). Από τα παραπάνω, είναι φανερό, ότι το miR-335-5p μαζί με το host gene του δημιουργούν δύο βρόγχους θετικής ανάδρασης για την προώθηση της χονδρογονικής διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών κυττάρων (Yang et al. 2021).

Το miR-520d-5p προάγει επίσης τη χονδρογένεση των μεσεγχυματικών κυττάρων και ρυθμίζει το μεταβολισμό τους στοχεύοντας την ακετυλάση των ιστονών HDAC1, η οποία αναστέλλει την έκφραση γονιδίων ειδικά για το χόνδρο (Lu et al. 2020). Ομοίως, το miR-132-3p στοχεύει την μεταλλοπρωτεϊνάση ADAMTS-5 ενισχύοντας με αυτό τον τρόπο τη χονδρογονική διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων (Zhou et al. 2018a). Αντίθετα, το miR-29b καταστέλλει την έκφραση της HDAC4, η οποία έχει αποδειχθεί ότι έχει ανασταλτική επίδραση στην υπερτροφία των χονδροκυττάρων καταστέλλοντας τη δραστηριότητα του Runx2 (Yang et al. 2021).

Σύμφωνα, με μια πρόσφατη μελέτη, η μελατονίνη προάγει τη χονδρογονική διαδικασία μέσω της ανοδικής ρύθμισης των miR-526b-3p και miR-590-5p, τα οποία ενισχύουν τη φωσφορυλίωση του SMAD1, με αποτέλεσμα την μειωμένη παραγωγή μεταλλοπρωτεινασών (Z. Wu et al. 2018a). Επιπλέον, το miR-149-5p έχει ως στόχο την φουκοσυλοτρανσφεράση FUT-1, η οποία οδηγεί σε καταστολή της έκφρασης του XIST. Το XIST, το οποίο δρα ανασταλτικά στη διαδικασία της χονδρογονικής διαφοροποίησης, καταστέλλεται και με αυτό τον τρόπο προωθείται η χονδρογένεση (He et al. 2022).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει, ότι το miR-574-3p ρυθμίζεται πρώιμα προς τα πάνω κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων. Ο υποδοχέας ρετινοειδούς Χ (RXRα), ένας αναστολέας της χονδρογένεσης, έχει αναγνωριστεί ως άμεσος στόχος για το miR-574-3p. Επομένως, φαίνεται ότι μπορεί να υπάρχει μια δυναμική ισορροπία

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

μεταξύ των επιπέδων έκφρασης του miR-574-3p και του στόχου του, όσο και ένα επίπεδο κατωφλίου RXRα απαραίτητο για τη χονδρογένεση των MSCs (Guérit et al. 2013). Αυτό σημαίνει ότι η διαταραχή της ομοιόστασης της έκφρασης συγκεκριμένων miRNAs μπορεί να έχει αρνητική επίδραση στη χονδρογένεση και στο σχηματισμό χόνδρου (Yang et al. 2021).

Από την άλλη πλευρά, το miR-221 έχει αναφερθεί ότι έχει αντιχονδρογονικό ρόλο εμποδίζοντας τη σύνθεση χόνδρου μέσω στόχευσης του ομολόγου Mdm2 και του μεταγραφικού καταστολέα TRPS1 (Lolli et al. 2016). Απουσία του TRPS1 επάγεται η υπερτροφία του χόνδρου και η αποικοδόμηση της εξωκυττάριας μήτρας (ECM) μέσω της σηματοδότησης Runx2, ενώ η αναστολή της έκφρασης του Mdm2 καταστέλλει τη σύνθεση ECM του αρθρικού χόνδρου λόγω αποικοδόμησης του Slug, μιας πρωτεΐνης που ρυθμίζεται ανοδικά κατά τον εκφυλισμό του χόνδρου (Lolli et al. 2016; Piva et al. 2015). Συνεπώς, η καταστολή της έκφρασης του miR-221 φαίνεται να είναι απαραίτητη για την αποκατάσταση του αρθρικού χόνδρου όπως και η ισορροπία του σηματοδοτικού μονοπατιού Runx2 για τη μοίρα της διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων (Yang et al. 2021).

Επιπρόσθετα, μια πρόσφατη μελέτη αποκάλυψε, ότι το miR-26b μπορεί να εμποδίσει την ενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης Wnt/β-κατενίνης μέσω της άμεσης στόχευσης του Wnt και έτσι να καταστείλει τη χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs (Huang et al. 2019). Παρόμοια δράση βρέθηκε να έχει και το miR-449a. Σύμφωνα με τους Paik et al. (2012) το συγκεκριμένο miRNA στοχεύει την 3΄UTR του μεταγραφικού παράγοντα LEF-1, ο οποίος συμμετέχει στο μονοπάτι σηματοδότησης του Wnt3a μέσω της β-κατενίνης και ρυθμίζει προς τα πάνω την έκφραση του SOX9. Έτσι, με τη δράση του miR-449a στο στόχο του καταστέλλεται η έκφραση του SOX9 και κατά συνέπεια η ίδια η χονδρογένεση (Yang et al. 2021).

Είναι γνωστό, ότι η υπερτροφία των χονδροκυττάρων είναι το τελικό στάδιο της διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων και είναι υπεύθυνη για το σχηματισμό του ενδοχόνδριου οστού (C. Zhao et al. 2019). Ο παράγοντας KLF10 έχει αναφερθεί ότι είναι ένας κρίσιμος και θετικός ρυθμιστής για την ανοργανοποίηση των οστών στους οστεοβλάστες και μπορεί να εμπλέκεται στην υπερτροφία των χονδροκυττάρων. Αποτελέσματα μελέτης, λοιπόν, έχουν δείξει, ότι το miR-892b μπορεί να αναστείλει την υπερτροφία παρεμβαίνοντας στα μονοπάτια σηματοδότησης TGF-b/Smad και Ihh

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

στοχεύοντας το KLF10 (Lee et al. 2019). Ακόμη, ας μην παραληφθεί, ότι το miR-182-5p έχει χαρακτηριστεί αναστολέας της χονδρογένεσης, καθώς στοχεύει την ορμόνη τύπου παραθυροειδούς PTHLH, της οποίας η απουσία έχει συσχετιστεί με αύξηση των χονδρογονικών δεικτών SOX9 και COL2A1 (Bai et al. 2019).

Εν κατακλείδι, με βάση τα παραπάνω τα miRNAs διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs, συμπεριλαμβανομένης τόσο της θετικής όσο και της αρνητικής ρύθμισης. Συνεπώς, η αναγνώριση αυτών των miRNAs και των στόχων τους, σε συνδυασμό με την αποσαφήνιση αυτής της θετικής ή αρνητικής ρύθμισης κρίνεται απαραίτητη και αναγκαία για την εφαρμογή διαφορετικών θεραπευτικών στρατηγικών στην κυτταρική θεραπεία ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης και της οστεοαρθρίτιδας, η οποία αποτελεί πρόκληση για τη μεταφορά των miRNAs στην κλινική πράξη (Yang et al. 2021).

Πίνακας 1. Συγκεντρωτικός πίνακας των βασικών miRNAs και των στόχων τους, που συμμετέχουν στην επαγωγή ή αναστολή της χονδρογένεσης.

Επαγωγή Χονδρογένεσης			Αναστολή Χονδρογένεσης	
Στόχος	**miRNAs**		**Στόχος**	**miRNAs**
RUNX2	miR-127-5p miR-455-3p miR-320		**SOX9**	miR-1247 miR-483 miR-145 miR-495 miR-101 miR-194
MMP13	miR-218 miR-27b miR-9		**BMPR2**	miR-143-3p miR-125b
COL10A1	miR-127-5p miR-218		**TGF2R**	miR-337 miR-193b
VEGF	miR-218 miR-424 miR-107		**FOXO3A**	miR-29a miR-221
HDAC1	miR-520d-5p		**SMAD1**	miR-199a miR-155
HDAC4	miR-1, miR-29b, miR-140		**FGF2**	miR-23c
ADAMTS5	miR-132-3p, miR-140		**WNT**	miR-26b
NOGGIN3	miR-92a			

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

DLL4	miR-30a			
HOXA1/9	miR-210			
BMP2	miR-140			
SMAD3	miR-140			

2.3 Νέα δεδομένα για τα miRNAs και τη χονδρογένεση μέσω μελετών μεγάλης κλίμακας

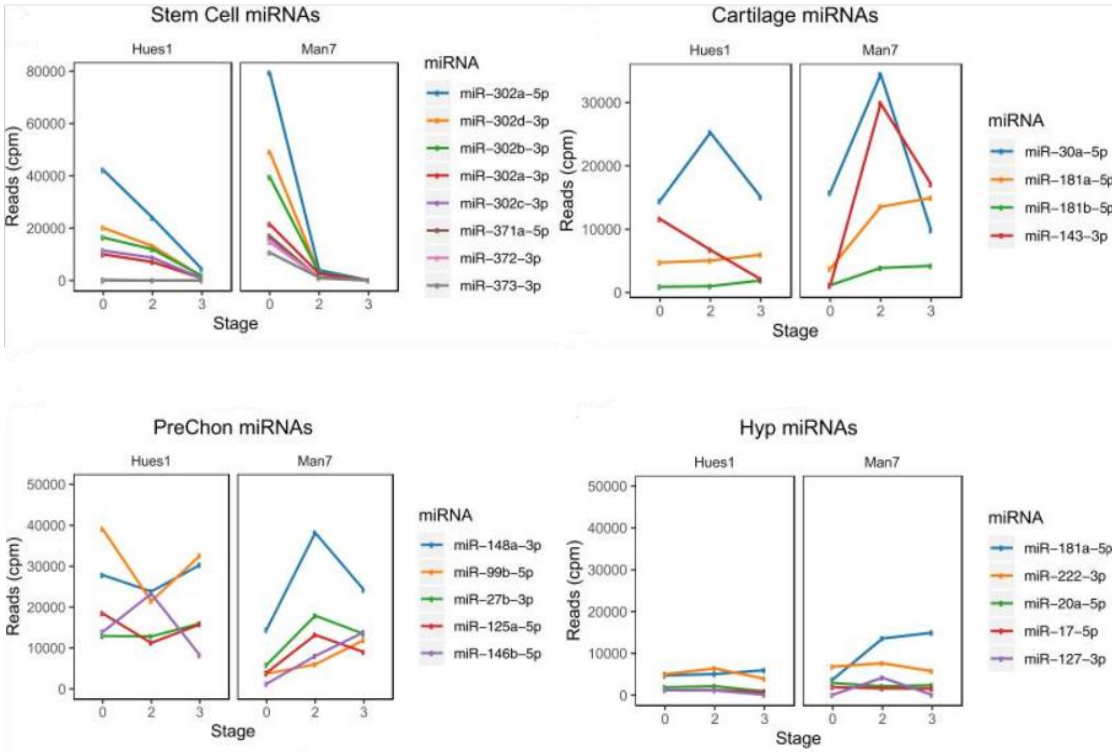
Μέσω μελετών μεγάλης κλίμακας, είναι δυνατή η διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων γονιδίων και miRNAs, η ανακάλυψη των προφίλ έκφρασης των miRNAs σε διάφορα στάδια της χονδρογένεσης, καθώς και cluster miRNAs που ρυθμίζουν τη χονδρογονική διαφοροποίηση.

Στη μελέτη των Griffiths et al. (2020) πραγματοποιήθηκε ανάλυση μικρής RNAseq και ολόκληρου του μεταγραφώματος των mRNAs και miRNAs σε διαφορετικά στάδια της κατευθυνόμενης χονδρογονικής διαφοροποίησης. Αποκαλύφθηκαν έτσι σημαντικές αλλαγές στην έκφραση αρκετών miRNAs, και συγκεκριμένα η ανοδική ρύθμιση γνωστών miRNAs που σχετίζονται με τον χόνδρο και η καθοδική ρύθμιση των miRNAs που σχετίζονται με την πολυδυναμία. Ακόμη, εντοπίστηκαν βασικές λειτουργικά συστάδες συνεκφραζόμενων miRNAs που σχετίζονται με πολυδυναμία, την ανάπτυξη των άκρων και της εξωκυτταρικής μήτρας.

Συγκεκριμένα, η ανάλυση διαφορικής έκφρασης εντόπισε 208 miRNAs που εμφάνισαν σημαντικές αλλαγές στην έκφραση μεταξύ βλαστοκυττάρων και χονδροπρογονικών κυττάρων. Αποκαλύφθηκε μια αρνητική ρύθμιση των miRNAs ενός συμπλέγματος του χρωμοσώματος 19, που σχετίζονται με την πολυδυναμία, καθώς και της οικογένειας miR-320. Αντίθετα, αυξημένα επίπεδα έκφρασης παρατηρήθηκαν στα miRs που μεταγράφηκαν από το σύμπλεγμα γονιδίων Hox και στα miR -99a-5p, miR-143-5p και miR-181a-3p, τα οποία σχετίζονται με την χονδρογένεση και τη συντήρηση του χόνδρου (Griffiths et al. 2020). Επιπλέον, εντοπίστηκαν, έξι ομάδες συνεκφραζόμενων γονιδίων και miRNAs, που ρυθμίζουν μια συγκεκριμένη διαδικασία κατά τη διάρκεια της χονδρογονικής διαφοροποίησης. Το μεγαλύτερο cluster ήταν αυτό της οργάνωσης της ECM, πράγμα που συμφωνεί με το βασικό ρόλο της στην ανάπτυξη του χόνδρου. Τα περισσότερα από τα miRNAs των cluster είχαν παρόμοια λειτουργία με τα mRNAs γονιδίων με τα οποία συνεκφράζονταν, όπως τα μέλη miR-302 και Nanog – ρυθμιστές της πολυδυναμίας – (Griffiths et al. 2020). Ας μην παραληφθεί, ότι πολλά miRNAs είχαν πολλαπλούς στόχους στο cluster οργάνωσης

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

της ECM, συμπεριλαμβανομένων των miR-140-3p και των μελών miR-29. Εννέα από τους δέκα στόχους του miR-29c-3p αφορούσαν μια ομάδα γονιδίων που κωδικοποιεί πρωτεΐνες ECM, υποδεικνύοντας με αυτό τον τρόπο το ρόλο του (Griffiths et al. 2020). Τα cluster των διαφόρων σταδίων της χονδρογένεσης με τα miRNAs φαίνονται στην Εικόνα 5.



Εικόνα 5. Έκφραση βασικών ρυθμιζόμενων miRNAs στα διάφορα στάδια της χονδρογένεσης. miRNAs σχετιζόμενα Α) με SCs Β) με την ανάπτυξη του χόνδρου Γ) με προχονδρογονικά κύτταρα Δ) με υπερτροφικά χονδροκύτταρα (Griffiths et al. 2020).

Αξίζει να αναφερθεί, ότι ο ρόλος των miRNAs στην υπερτροφία δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένος. Στην προσπάθεια αυτή, οι Melnik et al. (2020) στη μελέτη τους πραγματοποίησαν μια συγκριτική ανάλυση των προφίλ έκφρασης 1349 miRNAs μεταξύ υπερτροφικών προερχόμενων από MSCs και αρθρικών χονδροκυττάρων, με στόχο τον εντοπισμό εκείνων που καθορίζουν αυτούς τους 2 χαρακτηριστικούς φαινοτύπους. Στα αποτελέσματα τους, βρέθηκαν 15 διαφορετικά miRNAs με χαρακτηριστικά υψηλά επίπεδα έκφρασης στα υπερτροφικά χονδροκύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των miR-181, miR-224, miR-4327, miR-145, miR-449 και miR-218. Ενδιαφέρον παρουσίασε το miR-218, το οποίο βρέθηκε να στοχεύει καλά χαρακτηρισμένους δείκτες υπερτροφίας, όπως το RUNX2, MEF2C και COL10A1. Αυτό, αν και μείωσε τα επίπεδα των υπερτροφικών μεταγραφημάτων, βρέθηκε ότι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

στους στόχους του περιλαμβάνονται και γονίδια που εμπλέκονται σε προϋπερτροφικές οδούς, όπως το μονοπάτι Wnt/β-κατενίνης, αποκαλύπτοντας μια τάση στη διατήρηση του χονδρογονικού φαινοτύπου (Melnik et al. 2020).

Ας μην παραληφθεί, ότι η εργασία των Jia et al. (2021) μελετώντας την ανάπτυξη του ελαφοκέρατου μας δίνει πολλές πληροφορίες για την διαδικασία της χονδρογένεσης και το ρόλο διαφόρων miRNAs στη ρύθμιση της. Συγκεκριμένα, με ανάλυση RNAseq παρατηρήθηκε, ότι από τα miRNAs που σχετίζονται με τη χονδρογένεση, τα επίπεδα των miR-145 και miR-30c στην αρχή εμφανίζονται μειωμένα και στη συνέχεια αυξάνονται, ενώ το αντίθετο συνέβη με την έκφραση των miR-133a, miR-134 και miR-140. Αυτή η διαφορική έκφραση των miRNAs είναι πιθανό να σχετίζεται με τα διάφορα στάδια χονδρογένεσης κατά την ανάπτυξη του κεράτου (Jia et al. 2021). Παράλληλα, μελέτη της αλληλεπίδρασης miRNAs-mRNAs κατά την ταχεία ανάπτυξη του ελαφοκέρατου αποκάλυψε ότι τα miR-133a, miR-134 και miR-140 ανέστειλαν την έκφραση τόσο των COL1A1, COL1A2 και κατ’ επέκταση την αποδιαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, όσο και των MMP13, FGFR1 εμποδίζοντας έτσι την υπερτροφία των χονδροκυττάρων. Από την άλλη πλευρά, τα miR-145, miR-199a-3p, miR-30c και miR486 ρυθμίστηκαν καθοδικά, οι στόχοι των οποίων περιλαμβάνουν τα COL2A1, SOX9, WWP2 και PTN. Έτσι, τα miR-145 και miR-199a-3p φαίνεται, ότι επάγουν τη χονδρογένεση επηρεάζοντας την έκφραση των COL2A1, SOX9 και WWP2. Ακόμη, η προς τα κάτω ρύθμιση του miR-199a-3p βρέθηκε, ότι προώθησε την έκφραση του PTN, ενός αυξητικού παράγοντα που εκφράζεται στον εμβρυικό και όχι στον ώριμο χόνδρο, προάγοντας με αυτό τον τρόπο τη χονδρογένεση και αναστέλλοντας την αποικοδόμηση του χόνδρου (Jia et al. 2021).

Τέλος, τα παραπάνω αποτελέσματα μπορεί να αποδειχθούν εξαιρετικά χρήσιμα στην περαιτέρω έρευνα, που αφορά τη βελτιστοποίηση των πρωτοκόλλων διαφοροποίησης στην παραγωγή χονδροκυττάρων κατά την επιδιόρθωση χόνδρου και τη θεραπεία της OA (Griffiths et al. 2020). Ταυτόχρονα, δίνουν νέες γνώσεις για τους μηχανισμούς υπερτροφικής διαφοροποίησης και χονδρογένεσης των MSCs και προσφέρουν προοπτικές για ανάπτυξη θεραπειών που σχετίζονται με διαταραχές του χόνδρου (Melnik et al. 2020).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

3. miRNAs και MSCs ως συνδυαστική κυτταρική θεραπεία στην εκφυλιτική αρθρίτιδα

3.1 Οστεοαρθρίτιδα

Η οστεοαρθρίτιδα (ΟΑ) ή αλλιώς εκφυλιστική νόσος των αρθρώσεων είναι η πιο κοινή χρόνια αρθρική νόσος παγκοσμίως, προσβάλλοντας κυρίως τις αρθρώσεις των χεριών, του γόνατος και του ισχίου (Jang, Lee, and Ju 2021). Κύρια χαρακτηριστικά μιας ΟΑ άρθρωσης είναι η προοδευτική εκφύλιση του αρθρικού χόνδρου και η απώλεια του αρθρικού υγρού. Τα χονδροκύτταρα σχηματίζουν έναν φαύλο κύκλο που οδηγεί στην εξέλιξη της ΟΑ παράγοντας φλεγμονώδεις μεσολαβητές που μπορεί να οδηγήσουν σε βλάβη του χόνδρου και αλλαγές στον παρακείμενο ιστό της άρθρωσης. Πρωταρχικός παράγοντας κινδύνου της νόσου είναι η αυξημένη ηλικία σε συνδυασμό με τη γενετική προδιάθεση του ατόμου, την παχυσαρκία και τον τραυματισμό των αρθρώσεων στον αρθρικό χόνδρο. (Abramoff and Caldera 2020).

Οι περισσότερες θεραπευτικές προσεγγίσεις της νόσου αποσκοπούν στη μείωση ή και εξάλειψη του πόνου, καθώς και στη βελτίωση και αποκατάσταση της λειτουργίας των αρθρώσεων, με στόχο την βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών. Οι συμβατικές θεραπείες, που χρησιμοποιούνται ευρέως, έχουν μέτρια κλινικά οφέλη, χωρίς να έχει αποδειχθεί ότι καθυστερούν την εξέλιξη της νόσου, ενώ η προσθετική αρθρική αντικατάσταση συνίσταται μόνο ως τελευταία θεραπευτική επιλογή (Jang, Lee, and Ju 2021). Ωστόσο, αξίζει να επισημανθεί, ότι οι παραπάνω θεραπευτικές προσεγγίσεις δεν αποσκοπούν στην αναγέννηση του αρθρικού χόνδρου. Τα τελευταία χρόνια γίνεται πολύ συχνά λόγος για την εύρεση εναλλακτικών θεραπειών της ΟΑ, όπως είναι η κυτταρική θεραπεία με τη χρήση MSCs προερχόμενων από διάφορους ιστούς.

3.1.1 Παθοφυσιολογία

Πληθώρα αλλαγών στην ομοιόσταση του χόνδρου μαρτυρούν την εμφάνιση ΟΑ, συμπεριλαμβανομένης της αλλοίωσης και της ύπαρξης παθολογικών μεταβολών στον αρθρικό χόνδρο. Μία από τις πρώτες αλλαγές είναι η αύξηση της περιεκτικότητας σε νερό στην επιφανειακή ζώνη του αρθρικού χόνδρου, με απώλεια γλυκοζαμινογλυκανών και αποικοδόμηση πρωτεογλυκανών (Ruhlen and Marberry 2014).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Στο αρχικό στάδιο της ΟΑ, όταν οι μακροσκοπικές αλλαγές της άρθρωσης δεν φαίνονται ακόμη, η μήτρα του χόνδρου υφίσταται αλλαγές με τη βοήθεια αποικοδομητικών ενζύμων. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου, οι αγγρεκανάσες ADAMTS διασπούν την αγγρεκάνη (Rose et al. 2021), ωστόσο, η εξάντληση της αγγρεκάνης, από μόνη της, δεν οδηγεί στην εξέλιξη της ΟΑ (Jang, Lee, and Ju 2021). Όταν το δίκτυο κολλαγόνου αρχίζει να διασπάται, προχωρά η μη αναστρέψιμη διάσπαση του χόνδρου και η διατάραξη της φυσιολογικής λειτουργίας της ECM, η οποία πραγματοποιείται από μια άλλη οικογένεια ενζύμων, τις μεταλλοπρωτεινάσες MMPs, ιδιαίτερα την MMP-13, η οποία στοχεύει το κολλαγόνο τύπου ΙΙ (Almalki and Agrawal 2016a). Γενικά, η διατάραξη της ισορροπίας μεταξύ αναβολικών και καταβολικών διεργασιών οδηγεί στην εξέλιξη της ΟΑ και σε περαιτέρω δομικές αλλαγές, με τις κυτοκίνες να αποτελούν τους κύριους μεσολαβητές του μεταβολισμού του αρθρικού χόνδρου (Primorac et al. 2020).

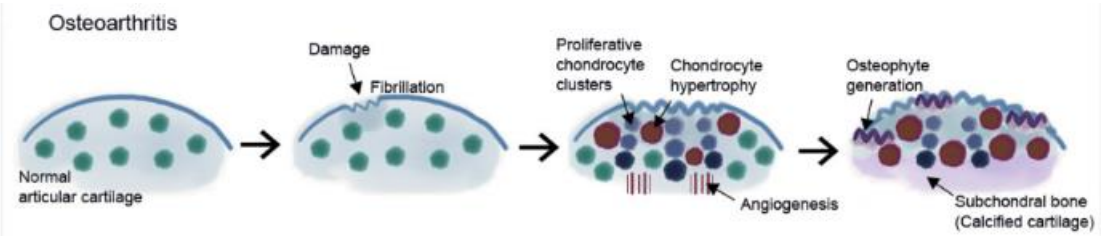
Μετά τις αλλαγές στην ECM, τα χονδροκύτταρα στην προσπάθεια τους για αποκατάσταση της βλάβης συγκεντρώνονται σε ομάδες για να αυξήσουν περαιτέρω τη συνθετική τους δραστηριότητα. Προκειμένου να διατηρηθεί η υψηλή μεταβολική δραστηριότητα, τα χονδροκύτταρα παρουσιάζουν έναν υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού και υποβάλλονται σε υπερτροφική διαφοροποίηση (Hallett, Ono, and Ono 2021a). Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα υφίστανται 10 έως 20 φορές μεγέθυνση λόγω γρήγορων ογκομετρικών αυξήσεων και διακριτών μεταβολικών και μοριακών αλλαγών (Dreier 2010). Κατά τη διάρκεια της προϋπερτροφίας, έχει βρεθεί, ότι εκφράζεται ο μεταγραφικός παράγοντας Ihh, ενώ περαιτέρω διαφοροποίηση σε υπερτροφικά χονδροκύτταρα προκαλεί την παραγωγή κολλαγόνου Χ. Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα επίσης μειώνουν, ή και τερματίζουν, την παραγωγή κολλαγόνων ΙΙ, ΙΧ και XI και εκφράζουν MMP-13, VEGF και τον παράγοντα μεταγραφής Runx2. Το κολλαγόνο Χ και η MMP-13 είναι χαρακτηριστικοί δείκτες για το υπερτροφικό στάδιο της όψιμης διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων (Li and Dong 2016). Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα τελικά υφίστανται απόπτωση, αφήνοντας πίσω τους μια ανοργανοποιημένη μήτρα που επιτρέπει την έναρξη της ενδοχόνδριας οστεοποίησης (Singh et al. 2019).

Επιπλέον, πέρα από την τροποποίηση του φαινότυπου τα χονδροκύτταρα σε απόκριση σε πολλαπλές διεγέρσεις εκφράζουν ένα υποσύνολο παραγόντων, όπως κυτοκίνες, χημειοκίνες, και αδιποκίνες. Όλοι αυτοί οι μεσολαβητές δρουν ως

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

παρακρινικοί παράγοντες, ξεκινούν έναν φαύλο κύκλο διάσπασης του χόνδρου, φτάνουν στο αρθρικό υγρό και πυροδοτούν μια φλεγμονώδη διαδικασία (Jang, Lee, and Ju 2021). Η παραγωγή προϊόντων από την αποικοδόμηση του χόνδρου, μαζί με την έκκριση ενδογενών σημάτων κινδύνου που σχετίζονται με βλάβη (DAMPs), αυξάνει περαιτέρω την απελευθέρωση προφλεγμονωδών μεσολαβητών, οι οποίοι επηρεάζουν όλο και περισσότερο τον παρακείμενο αρθρικό υμένα ώστε να πολλαπλασιάζεται και να προκαλεί εκ νέου φλεγμονώδεις αποκρίσεις, οδηγώντας τελικά σε μεγαλύτερη αποσύνθεση του χόνδρου (Blanco et al. 2021). Είναι πιθανό, ότι ο αποικοδομημένος χόνδρος προκαλεί μια αντίδραση ξένου σώματος μέσα στα χονδροκύτταρα. Αυτό οδηγεί με τη σειρά του σε παραγωγή μεταλλοπρωτεασών, αρθρική αγγειογένεση και παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών, που οδηγεί σε περαιτέρω καταστροφή του χόνδρου (Abramoff and Caldera 2020). Με βάση μια άλλη θεωρία, κεντρικό ρόλο στην εξέλιξη της OA κατέχουν τα ενεργοποιημένα μακροφάγα και η δράση της έμφυτης ανοσίας στην περιοχή του αρθρικού χόνδρου (Blanco et al. 2021).

Είναι, λοιπόν, φανερό, ότι αποτέλεσμα των παραπάνω είναι η απώλεια της λειτουργικότητας των χονδροκυττάρων και η αδυναμία διατήρησης της ομοιόστασης του ιστού και της εξωκυττάριας μήτρας, με απόρροια την εξέλιξη της νόσου. Τέλος, πληθώρα μελετών πρόσφατα έχουν αποδείξει τη συμμετοχή των miRNAs στη ρύθμιση των μηχανισμών που συμβάλλουν στην αποδόμηση του χόνδρου, αναδεικνύοντας τον καίριο ρόλο τους στην παθοφυσιολογία της OA (Abramoff and Caldera 2020).



Εικόνα 6. Σχηματική αναπαράσταση της εξέλιξης της OA στον αρθρικό χόνδρο (Rim, Nam, and Ju 2020).

3.1.2 miRNAs στην επιγενετική ρύθμιση της OA

Ένας μεγάλος αριθμός miRNAs έχει πρόσφατα εντοπιστεί σε ιστούς που έχουν προσβληθεί από OA. Μια πρόσφατη μελέτη συνέκρινε την έκφραση του miRNA και του mRNA σε υγιή και OA χόνδρο στον ίδιο ασθενή, προσδιορίζοντας την αλληλεπίδραση του miRNA με 142 miRNA και 2387 mRNA, που εκφράζονται

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

διαφορικά (Coutinho De Almeida et al. 2019). Έτσι, τα miRNA καθίστανται ένα καίριο ερευνητικό θέμα για την παθογένεση της OA (Abramoff and Caldera 2020).

Μεταξύ όλων των miRNAs που εμπλέκονται στην επιγενετική της OA το πιο μελετημένο στον OA χόνδρο είναι το miR-140, η έκφραση του οποίου μειώνεται σε σύγκριση με τον υγιή χόνδρο. Συγκεκριμένα, η IL-1, η οποία αποτελεί βασικό παράγοντα στην παθογένεση της OA, αναστέλλει την έκφραση του miR-140 από τα χονδροκύτταρα με επακόλουθο την επαγωγή της έκφρασης των ADAMTS-5 και MMP-13, μεσολαβώντας με αυτό τον τρόπο στον εκφυλισμό του χόνδρου (Panagopoulos and Lambrou 2018). Παρόμοιο αποτέλεσμα είχε επίσης και η δράση του miR-27b (Boehme and Rolauffs 2018).

Επιπρόσθετα, το miR-455-3p, που όπως αναφέρθηκε στοχεύει το μονοπάτι σηματοδότησης του Runx2, ρυθμίζει την κινάση PAK2, τα επίπεδα της οποίας παρουσιάζονται αυξημένα στον OA χόνδρο, εμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο την εξέλιξη της νόσου (Hu et al. 2019). Πέραν αυτού και το miR-145 στοχεύει την κινάση MKK4, η οποία επάγει μέσω της οδού TNF-a την ενεργοποίηση καταβολικών γονιδίων, όπως τα MMP-13 και ADAMTS-5, εμποδίζοντας την αποικοδόμηση της μήτρας και προλαμβάνοντας τον εκφυλισμό του χόνδρου στην OA (Hu et al. 2017). Τέλος, έχει παρατηρηθεί ότι συγκεκριμένα miRNAs ρυθμίζουν τη φλεγμονώδη απόκριση στην OA και τροποποιούν τον μεταβολισμό του χόνδρου συμπεριλαμβανομένων των miR-127-3p, miR-155-5p και miR124-3p (Ragni et al. 2019).

Γενικότερα, τα miRNAs έχει αποκαλυφθεί ότι όχι μόνο ρυθμίζουν αλλά και ρυθμίζονται με κοινές επιγενετικές τροποποιήσεις δημιουργώντας μια σύνθετη ομάδα ανατροφοδότησης με σημαντική επίδραση στην τελική γενετική έκφραση (Primorac et al. 2020). Μελέτες υποδεικνύουν ότι η απορρύθμιση αυτού του φαινομένου μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση διαφόρων ασθενειών, με την OA να μην αποτελεί εξαίρεση (Bianchi et al. 2017). Η διερεύνηση αυτού του πολύπλοκου μηχανισμού επιγενετικής ρύθμισης δημιουργεί προοπτικές και δίνει έναυσμα για τη συμμετοχή των miRNAs στους τομείς της διάγνωσης άλλα και της κυτταρικής θεραπείας της νόσου (Primorac et al. 2020).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

3.2 Κυτταρική θεραπεία ΟΑ

Νέα δεδομένα στην αποκατάσταση της ΟΑ μαρτυρούν, ότι οι τρέχουσες κλινικές θεραπευτικές μέθοδοι συμπεριλαμβανομένης της χειρουργικής και της φαρμακολογικής θεραπείας δεν μπορούν να αναγεννήσουν πλήρως τον χόνδρο. Βέβαια, έχουν γίνει αρκετές κυτταρικές θεραπευτικές προσπάθειες για την αναγέννηση του κατεστραμμένου χόνδρου της άρθρωσης (Nam et al. 2018).

Η αυτόλογη εμφύτευση χονδροκυττάρων (ACI) είναι η πιο παραδοσιακή θεραπεία με υψηλό ποσοστό επιτυχίας για αποκατάσταση μερικών βλαβών του χόνδρου. Ωστόσο, δεδομένου ότι περιορίζεται στην κατεστραμμένη περιοχή του χόνδρου, είναι δύσκολο να χρησιμοποιηθεί στη γενική θεραπεία της ΟΑ (Nam et al. 2018), ενώ παράλληλα ο περιορισμένος αριθμός πρωτογενών χονδροκυττάρων έχει δείξει θεραπευτικούς περιορισμούς (Jang, Lee, and Ju 2021). Κατά συνέπεια, αναπτύχθηκαν θεραπείες που βασίζονται σε βλαστοκύτταρα για να αρθεί ο εν λόγω περιορισμός. Τρεις τύποι βλαστοκυττάρων, τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (ESC), τα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs) και τα MSCs είναι πιθανοί υποψήφιοι για αναγέννηση χόνδρου στη θεραπεία της ΟΑ, καθώς είναι ικανά να διαφοροποιηθούν σε χονδροκύτταρα (Zhang et al. 2019).

Τα MSCs αν και δεν είναι τόσο πολυδύναμα όσο τα ESCs και iPSCs, ωστόσο θεωρούνται τα ιδανικότερα μεταξύ των διαφόρων τύπων των βλαστοκυττάρων για θεραπεία ΟΑ, καθώς μπορούν να ληφθούν εύκολα από διάφορες πηγές (Kim et al. 2019). Επιπλέον, πληθώρα μελετών αποκάλυψε την αρωγή τους στη θεραπεία της ΟΑ, διότι όχι μόνο είναι ικανά να εκφράζουν και να εκκρίνουν διάφορους αυξητικούς παράγοντες και κυτοκίνες, αλλά έχουν και αντιφλεγμονώδη δράση (Iijima et al. 2018; Shariatzadeh, Song, and Wilson 2019; Wang et al. 2019). Αναλυτικότερα, η χρήση των MSCs για την επιδιόρθωση του χόνδρινου ιστού βασίζεται στην ικανότητά τους να δρουν ως χονδροπρογονικά για να αντικαταστήσουν τον τραυματισμένο χόνδρο ή ως αναγεννητικά κύτταρα για να διεγείρουν την επισκευή του χόνδρου από ενδογενή κύτταρα (Zhang et al. 2019). Αποτελέσματα μελετών αποκάλυψαν, ότι τα MSCs ρυθμίζουν το περιβάλλον του τραυματισμένου ιστού για να ενορχηστρώσουν επακόλουθες αναγεννητικές διαδικασίες συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής μετανάστευσης, του πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της σύνθεσης μήτρας, μέσω της ρύθμισης των TGF-β, VEGF, ADAMTSs και MMPs (Wang et al. 2019).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Ωστόσο, είναι γεγονός, ότι η μεταμόσχευση μη διαφοροποιημένων MSCs σχετίζεται με προβλήματα όπως ετερογενείς πληθυσμούς κυττάρων. Γι' αυτό το λόγο μία από τις στρατηγικές για την επίλυση αυτών των προβλημάτων είναι η χρήση χονδρογονικού διαφοροποιημένου MSC (Ham et al. 2015). Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες η μεταμόσχευση με MSCs την κατάλληλη περίοδο προχονδρογονικής διαφοροποίησης (X. Wu et al. 2020) δίνει ενθαρρυντικά αποτελέσματα, υποδεικνύοντας ότι η χονδρογονική διαφοροποίηση των MSC μέσω διαμόλυνσης με miRNAs μπορεί να παράγει καλύτερα MSCs για τη θεραπεία της OA (Yang et al. 2021). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ορισμένοι τύποι miRNA εμφανίζουν συγκεκριμένα πρότυπα έκφρασης κατά τη διαφοροποίηση των MSCs. Για παράδειγμα τα miR-140, miR-23b, miR-455 και miR-335 προάγουν τη χονδρογένεση, ενώ αντίθετα τα miR-29a, miR-193b και miR-574 έχουν χαρακτηριστεί αρνητικοί ρυθμιστές της χονδρογένεσης (Iaquinta et al. 2021).

Επιπρόσθετα, οι Zhou et al. (2018b) αποκάλυψαν ότι η υπερέκφραση του miR-132-3p μπορεί να ενισχύσει τη χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs στοχεύοντας το ADAMTS-5, υποδεικνύοντας ότι το miR-132-3p μπορεί να αποτελεί ένα νέο θεραπευτικό παράγοντα για ασθενείς με OA. Ακόμη, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η μελατονίνη προάγει τη χονδρογονική διαδικασία μέσω της ανοδικής ρύθμισης των miR-526b-3p και miR-590-5p, η οποία ενισχύει τη φωσφορυλίωση SMAD1 μέσω της στόχευσης του SMAD7. Έτσι, εικάζεται ότι η θεραπεία με μελατονίνη ή η επιμόλυνση με miR-526b-3p και miR-590-5p μπορεί να είναι μια αποτελεσματική θεραπεία της OA (Z. Wu et al. 2018b).

Ας μην παραλειφθεί, ότι σύμφωνα με αποτελέσματα μελέτης η παρακρινής έκκριση εξωσωμάτων που προέρχονται από MSCs μπορεί να διαδραματίσει ρόλο στην επισκευή του ιστού της άρθρωσης, καθώς και να συμβάλλει στον θεραπευτικό μηχανισμό της OA (Ha et al. 2020). Ουσιαστικά, πρόκειται για εξωκυτταρικά κυστίδια, τα οποία εντοπίζονται στα περισσότερα σωματικά υγρά και μεταφέρουν ένα σύνθετο φορτίο πρωτεϊνών, λιπιδίων και νουκλεϊκών οξέων, συμπεριλαμβανομένων και miRNAs (Zhang et al. 2019). Ενδιαφέρον είναι, ότι περαιτέρω μελέτη έδειξε ότι τα εξωσώματα είναι ικανά να αλλάξουν την έκφραση ορισμένων mRNA και miRNA και να επηρεάσουν τη θεραπεία της OA (Zhang et al. 2019).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Πολλά από τα miRNAs που συσκευάζονται σε εξωσώματα MSCs είναι ισχυροί ρυθμιστές ορισμένων βασικών γονιδίων και οδών μεταγωγής σήματος στην OA (Y. Liu, Lin, et al. 2018; Y. Liu, Zou, et al. 2018). Εξωσώματα που εκφράζουν έντονα miR-140-5p έχει βρεθεί, ότι μπλοκάρουν την εναλλακτική σηματοδότηση Wnt μέσω καταστολής του RalA, ενεργοποιώντας το SOX9, και κατά συνέπεια τα COL2A1, COL1 και ACAN για την ενίσχυση της αναγέννησης του χόνδρου (Tao et al. 2017). Παρόμοια δράση εμφανίζει και το εκκρινόμενο από εξωσώματα miR-92a-3p, το οποίο προκαλεί αύξηση των επιπέδων έκφρασης των COL2A1, COL9A1, COMP και SOX9 και παράλληλη μείωση των COL10A1, RUNX2, MMP13 μέσω στόχευσης του Wnt5a, με αποτέλεσμα την καταστολή αποικοδόμησης του χόνδρου (Mao et al. 2018). Γενικότερα, τα εξωσώματα των MSCs ουσιαστικά παρέχουν νέες προοπτικές για την ανάπτυξη θεραπειών OA έτοιμων για κλινική εφαρμογή χωρίς να απαιτείται η έγχυση κυττάρων (Jang, Lee, and Ju 2021).

Με βάση τα παραπάνω, τα miRNAs αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστικούς παράγοντες διάφορων βιολογικών διαδικασιών, που εμπλέκονται στη θεραπεία της OA, αν και ο συνδυασμός MSCs και miRNAs αποδεικνύεται ότι μπορεί να επιτύχει καλύτερα κλινικά αποτελέσματα (Ham et al. 2015). Ωστόσο, μία από τις πιο σημαντικές προκλήσεις στη αναγέννηση του αρθρικού χόνδρου είναι η διατήρηση του φαινοτύπου των χονδροκυττάρων, καθώς τα MSCs αδυνατούν να τον διατηρήσουν και συνεχίζουν την διαφοροποίηση τους προς υπερτροφικά χονδροκύτταρα, με επακόλουθο την ανοργανοποίηση της ECM (Lolli et al. 2019).

4. Συμπεράσματα

Με βάση τα παραπάνω, είναι πλέον γνωστό, ότι τα MSCs έχουν εντοπιστεί σε πολλούς ενήλικους ιστούς, ενώ είναι ικανά να αναγεννηθούν μέσω της κυτταρικής διαίρεσης ή να διαφοροποιηθούν σε ένα σύνολο συγκεκριμένων κυτταρικών τύπων – λιποκύτταρα, οστεοβλάστες και χονδροκύτταρα –(Iaquinta et al. 2021). Ως αποτέλεσμα, τα MSCs έχουν γίνει μια σημαντική πηγή κυττάρων στη μηχανική ιστών και στην αναγεννητική ιατρική του αρθρικού χόνδρου (Iaquinta et al. 2019). Πολλοί επιγενετικοί παράγοντες είναι γεγονός, ότι διαδραματίζουν ρόλο στη διαφοροποίηση των MSCs. Μεταξύ αυτών, η ρύθμιση των miRNAs αποδείχτηκε σπουδαία και φαίνεται να εμπλέκεται στη λεπτή τροποποίηση της γονιδιακής έκφρασης κατά τη διάρκεια της χονδρογονικής διαφοροποίησης (Yang et al. 2021).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Πληθώρα ερευνητικών πειραμάτων και μελετών αποκάλυψε την επίδραση διαφόρων miRNAs στην θετική ή αρνητική ρύθμιση της χονδρογένεσης των MSCs. Το miR-140 είναι ο πιο γνωστός θετικός ρυθμιστής της χονδρογένεσης, επάγοντας τον μεταγραφικό παράγοντα Sox9 και αναστέλλοντας ταυτόχρονα το Runx2 (Li et al. 2015). Ομοίως, το miR-127-5p οδηγεί σε έκφραση των δεικτών πρώιμης χονδρογένεσης SOX9, COL2A1 και ACAN και ταυτόχρονη μείωση των δεικτών όψιμης χονδρογένεσης COL10A1 και RUNX2 (Xue, Meng, and Ge 2017). Αντίθετα, τα miR-1247, miR-483miR-145, miR-495, miR-101, miR-194 και miR-124 στοχεύουν το SOX9, με αποτέλεσμα την αναστολή της χονδρογονικής διαφοροποίησης των MSCs (Iaquinta et al. 2021).

Στην ανοδική ρύθμιση της χονδρογένεσης άμεσος στόχος έχει χαρακτηριστεί επίσης το RUNX2 με τα μέλη miR-30, miR-455-3p, miR-320 και το miR-1 να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σ' αυτό (Papaioannou, Kozlova, and Kobayashi 2018; Tian et al. 2016; W. Zhao et al. 2016b). Ακόμη, η έκφραση των MMPs και κατ' επέκταση η απόφαση για ωρίμανση των χονδροκυττάρων οφείλεται στη δράση των miR-381, miR-27b και miR-9 (Hou, Yang, et al. 2015; Li et al. 2016). Παράλληλα, τα miR-424, miR-107 και miR-320 προωθούν τη χονδρογένεση καταστέλλοντας την έκφραση του VEGF, VEGFR2 και FGFR1 (Stelcer et al. 2019; Tian et al. 2019; Ukai et al. 2012).

Επιπρόσθετα, τα miRNAs ρυθμίζουν τη διαδικασία της χονδρογένεσης επεμβαίνοντας σε κρίσιμα σηματοδοτικά μονοπάτια της, όπως του TGF-b, του Wnt/β-κατενίνης και των BMPs. Συγκεκριμένα, τα miR-337 και miR-193b στοχεύουν τον υποδοχέα του TGF-b αναστέλλοντας τη χονδρογένεση (Hou, Meng, et al. 2015; C. Wu et al. 2014b). Παρόμοια δράση εμφανίζουν και τα miR-92a, miR-143-3p και miR-125b στοχεύουν των υποδοχέα των BMPs ρυθμίζοντας καθοδικά τη χονδρογονική διαφοροποίηση (Kovermann et al. 2019; Tian et al. 2018). Ομοίως, τα miR 26b και miR-449a παρεμβαίνοντας στην οδό Wnt/β-κατενίνης εμποδίζουν τη χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs (Huang et al. 2019).

Άξιο αναφοράς είναι, ότι από μελέτη μεγάλης κλίμακας δεδομένων, έξι ομάδες συνεκφραζόμενων γονιδίων και miRNAs, με μεγαλύτερη αυτή της οργάνωσης ECM, πράγμα που συμφωνεί με το βασικό ρόλο της στην ανάπτυξη του χόνδρου (Griffiths et al. 2020). Ακόμη, από παρόμοια μελέτη το miR-218 στοχεύει έναν αριθμό σημαντικών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

γονιδίων που ρυθμίζουν την υπερτροφική οδό, καταστέλλοντας τα MEF2C, RUNX2 και COL10A1 που ορίζουν την υπερτροφική διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων (Melnik et al. 2020).

Από τα παραπάνω, είναι φανερό, ότι η χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs που ρυθμίζονται από τα miRNAs είναι μια σύνθετη, αλληλεξαρτώμενη και δυναμική διαδικασία. Ωστόσο, πέρα από την στόχευση miRNA – γονιδίου κατά τη ρύθμιση της χονδρογένεσης, αποτελέσματα πρόσφατης μελέτης υποδεικνύουν ότι και η αλληλεπίδραση των miRNA-miRNA μπορεί πιθανόν να ρυθμίζει την επαγόμενη χονδρογένεση. Συγκεκριμένα, ο ρόλος των miRNA στον έλεγχο της έκφρασης άλλων miRNA, σε έναν μηχανισμό γνωστό ως αλληλεπίδραση miRNA-miRNA, χρήζει διερεύνησης προκειμένου να κατανοηθούν πολύπλοκα κρυμμένα ρυθμιστικά δίκτυα (Hill and Tran 2021).

Ένας άλλος μηχανισμός λειτουργίας των miRNAs, ο οποίος αξίζει να εξεταστεί με μελλοντική έρευνα, είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ των miRNAs και άλλων μορίων RNA, όπως τα μακρά μη κωδικοποιητικά RNA (lncRNA). Έχει ήδη αναφερθεί ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ των lncRNA και των miRNAs εμπλέκεται στην οστεογονική διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων. Κατά συνέπεια, νέες μελέτες σχετικά με τη αλληλεπίδραση μεταξύ των lncRNAs-miRNAs κατά την επαγόμενη χονδρογένεση θα ήταν εξαιρετικά ενδιαφέρουσα (Lanzillotti et al. 2021).

Εν κατακλείδι, παρόλο που χρειάζεται ακόμη πολλή έρευνα, η αποσαφήνιση των μηχανισμών που διέπουν την χονδρογένεση θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπειών OA που βασίζονται στα miRNAs, μιας και οι επιλογές θεραπείας για παθήσεις του χόνδρου έχουν δραματικές διαφορές ως προς την αποτελεσματικότητα τους (Nam et al. 2018). Κατά συνέπεια, η μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων, τα οποία διαθέτουν χρόνια ικανότητα διαφοροποίησης, μπορεί να είναι μια αποτελεσματική στρατηγική θεραπείας για τον παθολογικό αρθρικό χόνδρο (Griffiths et al. 2020).

Τέλος, οι μιμητές/αναστολείς miRNA και τα κατευθυνόμενα διαφοροποιημένα MSCs μπορεί να γίνουν αποτελεσματικοί θεραπευτικοί παράγοντες για την OA και τον παθολογικό χόνδρο και ισχυρά υλικά για τη μηχανική ιστών (Zhang et al. 2019). Επομένως, είναι απαραίτητη η πλήρης κατανόηση των ρόλων των miRNA, με σκοπό την παροχή γνώσης για την κατάλληλη ανοδική ή καθοδική ρύθμιση των αντίστοιχων

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

miRNA, τα οποία φαίνεται να προσφέρουν σημαντικές υποσχέσεις, στη βελτίωση των κλινικών αποτελεσμάτων και στην εξατομικευμένη ιατρική (Iaquinta et al. 2021).

5. Βιβλιογραφία

Abdelfattah, Ahmed Maher, Chanhyun Park, and Michael Y. Choi. 2014. "Update on Non-Canonical MicroRNAs." *Biomolecular concepts* 5(4): 275–87. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25372759/ (April 1, 2022).

Abramoff, Benjamin, and Franklin E. Caldera. 2020. "Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options." *The Medical clinics of North America* 104(2): 293–311. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32035570/ (August 18, 2022).

Allas, Lyess, Karim Boumédiene, and Catherine Baugé. 2019. "Epigenetic Dynamic during Endochondral Ossification and Articular Cartilage Development." *Bone* 120: 523–32. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30296494/ (August 13, 2022).

Almalki, Sami G., and Devendra K. Agrawal. 2016a. "Effects of Matrix Metalloproteinases on the Fate of Mesenchymal Stem Cells." *Stem Cell Research and Therapy* 7(1): 1–12. https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-016-0393-1 (August 18, 2022).

———. 2016b. "Key Transcription Factors in the Differentiation of Mesenchymal Stem Cells." *Differentiation; research in biological diversity* 92(1–2): 41–51. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27012163/ (April 2, 2022).

Anderson, Britta A., and Audrey McAlinden. 2017. "MiR-483 Targets SMAD4 to Suppress Chondrogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells." *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* 35(11): 2369. /pmc/articles/PMC5573664/ (August 17, 2022).

Bai, Ming et al. 2019. "MiR-182-5p Overexpression Inhibits Chondrogenesis by down-Regulating PTHLH." *Cell biology international* 43(3): 222–32. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30095215/ (August 18, 2022).

Bartel, David P. 2004. "MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function." *Cell* 116(2): 281–97. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14744438/ (April 1, 2022).

———. 2009. "MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions." *Cell* 136(2): 215–33. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19167326/ (April 1, 2022).

———. 2018. "Metazoan MicroRNAs." *Cell* 173(1): 20–51. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29570994/ (April 1, 2022).

Barter, Matt J. et al. 2015. "Genome-Wide MicroRNA and Gene Analysis of Mesenchymal Stem Cell Chondrogenesis Identifies an Essential Role and Multiple Targets for MiR-140-5p." *Stem Cells (Dayton, Ohio)* 33(11): 3266. /pmc/articles/PMC4737122/ (August 13, 2022).

Baugé et al. 2014. "Regulation and Role of TGFβ Signaling Pathway in Aging and Osteoarthritis Joints." *Aging and Disease* 5(6): 394. /pmc/articles/PMC4249809/ (April 4, 2022).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Baugé, Catherine et al. 2011. “Modulation of Transforming Growth Factor Beta Signalling Pathway Genes by Transforming Growth Factor Beta in Human Osteoarthritic Chondrocytes: Involvement of Sp1 in Both Early and Late Response Cells to Transforming Growth Factor Beta.” *Arthritis Research and Therapy* 13(1): 1–13. https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar3247 (April 4, 2022).

Bharadwaz, Angshuman, and Ambalangodage C. Jayasuriya. 2021. “Osteogenic Differentiation Cues of the Bone Morphogenetic Protein-9 (BMP-9) and Its Recent Advances in Bone Tissue Regeneration.” *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications* 120. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33545890/ (April 2, 2022).

Bhosale, and Richardson. 2008. “Articular Cartilage: Structure, Injuries and Review of Management.” *British medical bulletin* 87(1): 77–95. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18676397/ (April 4, 2022).

Bianchi, Marzia, Alessandra Renzini, Sergio Adamo, and Viviana Moresi. 2017. “Coordinated Actions of MicroRNAs with Other Epigenetic Factors Regulate Skeletal Muscle Development and Adaptation.” *International Journal of Molecular Sciences* 18(4). /pmc/articles/PMC5412424/ (August 19, 2022).

Bigoni, M. et al. 2019. “MicroRNA-23c Inhibits Articular Cartilage Damage Recovery by Regulating MSCs Differentiation to Chondrocytes via Reducing FGF2.” *European review for medical and pharmacological sciences* 23(3): 932–40. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30779059/ (August 17, 2022).

Bionaz, Massimo, Elisa Monaco, and Matthew B. Wheeler. 2015. “Transcription Adaptation during In Vitro Adipogenesis and Osteogenesis of Porcine Mesenchymal Stem Cells: Dynamics of Pathways, Biological Processes, Up-Stream Regulators, and Gene Networks.” *PLOS ONE* 10(9): e0137644. https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0137644 (April 2, 2022).

Blanco, Mauricio N. et al. 2021. “Effect of Inflammatory Signaling on Human Articular Chondrocyte Hypertrophy: Potential Involvement of Tissue Repair Macrophages.” *Cartilage* 13(2): 168S-174S. https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/19476035211021907 (August 18, 2022).

Boehme, Karen A., and Bernd Rolauffs. 2018. “Onset and Progression of Human Osteoarthritis—Can Growth Factors, Inflammatory Cytokines, or Differential MiRNA Expression Concomitantly Induce Proliferation, ECM Degradation, and Inflammation in Articular Cartilage?” *International Journal of Molecular Sciences* 19(8). /pmc/articles/PMC6121276/ (August 19, 2022).

Bruscella, Patrice et al. 2017. “Viruses and MiRNAs: More Friends than Foes.” *Frontiers in Microbiology* 8(MAY). /pmc/articles/PMC5430039/ (September 6, 2022).

Budd, Emma, Shona Waddell, María C. de Andrés, and Richard O. C. Oreffo. 2017. “The Potential of MicroRNAs for Stem Cell-Based Therapy for Degenerative Skeletal Diseases.” *Current molecular biology reports* 3(4): 263–75. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29214143/ (August 13, 2022).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Budd, Emma, Shona Waddell, María C. de Andrés, and Richard O. C. Oreffo. 2017. "The Potential of MicroRNAs for Stem Cell-Based Therapy for Degenerative Skeletal Diseases." *Current Molecular Biology Reports* 3(4): 263. /pmc/articles/PMC5700219/ (August 13, 2022).

Carballo, Nakagawa, Sekiya, and Rodeo. 2017. "Basic Science of Articular Cartilage." *Clinics in sports medicine* 36(3): 413–25. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28577703/ (April 4, 2022).

Chen et al. 2019. "MicroRNA-218 Promotes Early Chondrogenesis of Mesenchymal Stem Cells and Inhibits Later Chondrocyte Maturation." *BMC Biotechnology* 19(1). /pmc/articles/PMC6334453/ (August 18, 2022).

Chen, Q. et al. 2016. "Fate Decision of Mesenchymal Stem Cells: Adipocytes or Osteoblasts?" *Cell death and differentiation* 23(7): 1128–39. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26868907/ (April 2, 2022).

Correa, D. et al. 2015. "SEQUENTIAL EXPOSURE TO FIBROBLAST GROWTH FACTORS (FGF) 2, 9 AND 18 ENHANCES HMSC CHONDROGENIC DIFFERENTIATION." *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 23(3): 443. /pmc/articles/PMC4692467/ (August 17, 2022).

Coutinho De Almeida, Rodrigo et al. 2019. "RNA Sequencing Data Integration Reveals an MiRNA Interactome of Osteoarthritis Cartilage." *Annals of the Rheumatic Diseases* 78(2): 270. /pmc/articles/PMC6352405/ (August 19, 2022).

Dai, Linghui et al. 2012. "Silencing of MicroRNA-101 Prevents IL-1β-Induced Extracellular Matrix Degradation in Chondrocytes." *Arthritis Research & Therapy* 14(6): R268. /pmc/articles/PMC3674628/ (August 14, 2022).

Daniel, Matej. 2014. "Boundary Cartilage Lubrication: Review of Current Concepts." *Wiener Medizinische Wochenschrift* 164(5–6): 88–94. https://link.springer.com/article/10.1007/s10354-013-0240-2 (April 4, 2022).

Dominici, M. et al. 2006. "Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement." *Cytotherapy* 8(4): 315–17. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16923606/ (April 2, 2022).

Dreier, Rita. 2010. "Hypertrophic Differentiation of Chondrocytes in Osteoarthritis: The Developmental Aspect of Degenerative Joint Disorders." *Arthritis Research and Therapy* 12(5): 1–11. https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar3117 (August 18, 2022).

Fowler, Donald A., and Hans C.E. Larsson. 2020. "The Tissues and Regulatory Pattern of Limb Chondrogenesis." *Developmental biology* 463(2): 124–34. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32417169/ (April 3, 2022).

Fox, Sophia, Bedi, and Rodeo. 2009. "The Basic Science of Articular Cartilage: Structure, Composition, and Function." *Sports health* 1(6): 461–68. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23015907/ (April 5, 2022).

Furumatsu et al. 2005. "Sox9 and P300 Cooperatively Regulate Chromatin-Mediated Transcription." *Journal of Biological Chemistry* 280(42): 35203–8.

Gao, Liang, Patrick Orth, Magali Cucchiarini, and Henning Madry. 2017. "Effects of

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Solid Acellular Type-I/III Collagen Biomaterials on in Vitro and in Vivo Chondrogenesis of Mesenchymal Stem Cells." *Expert review of medical devices* 14(9): 717–32. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28817971/ (April 3, 2022).

García-López, Jesús, Miguel A. Brieño-Enríquez, and Jesús Del Mazo. 2013. "MicroRNA Biogenesis and Variability." *Biomolecular concepts* 4(4): 367–80. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25436586/ (April 1, 2022).

Goldring, Mary B., and Miguel Otero. 2011. "Inflammation in Osteoarthritis." *Current Opinion in Rheumatology* 23(5): 471–78.

Gong, Ming et al. 2017. "Methylation-Mediated Silencing of MiR-124 Facilitates Chondrogenesis by Targeting NFATc1 under Hypoxic Conditions." *American Journal of Translational Research* 9(9): 4111. /pmc/articles/PMC5622255/ (August 13, 2022).

Griffiths, Rosie et al. 2020. "The Transcription Factor-MicroRNA Regulatory Network during HESC-Chondrogenesis." *Scientific Reports* 10(1). /pmc/articles/PMC7075910/ (August 20, 2022).

Guérit, David et al. 2013. "Sox9-Regulated MiRNA-574-3p Inhibits Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells." *PLoS ONE* 8(4). /pmc/articles/PMC3633883/ (August 18, 2022).

Guo, Li, and Feng Chen. 2014. "A Challenge for MiRNA: Multiple IsomiRs in MiRNAomics." *Gene* 544(1): 1–7. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24768184/ (April 1, 2022).

Guo, Peng et al. 2014. "Effects of Cartilage Oligomeric Matrix Protein on Bone Morphogenetic Protein-2-Induced Differentiation of Mesenchymal Stem Cells." *Orthopaedic Surgery* 6(4): 280–87. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/os.12135 (April 3, 2022).

Ha et al. 2020. "Mesenchymal Stem/Stromal Cell-Derived Exosomes for Immunomodulatory Therapeutics and Skin Regeneration." *Cells* 9(5). /pmc/articles/PMC7290908/ (August 19, 2022).

Ha, Minju, and V. Narry Kim. 2014. "Regulation of MicroRNA Biogenesis." *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 15(8): 509–24.

Hallett, Ono, and Ono. 2021a. "The Hypertrophic Chondrocyte: To Be or Not to Be." *Histology and histopathology* 36(10): 1021. /pmc/articles/PMC8678381/ (August 18, 2022).

———. 2021b. "The Hypertrophic Chondrocyte: To Be or Not to Be." *Histology and histopathology* 36(10): 1021–36. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34137454/ (April 4, 2022).

Ham, Onju et al. 2015. "Therapeutic Potential of Differentiated Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Osteoarthritis." *International Journal of Molecular Sciences* 16(7): 14961. /pmc/articles/PMC4519882/ (August 19, 2022).

Hammond, Scott M. 2015. "An Overview of MicroRNAs." *Advanced drug delivery reviews* 87: 3–14. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25979468/ (April 1, 2022).

Han, Sei Myoung et al. 2014. "Enhanced Proliferation and Differentiation of Oct4- and

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Sox2-Overexpressing Human Adipose Tissue Mesenchymal Stem Cells." *Experimental & Molecular Medicine 2014 46:6* 46(6): e101–e101. https://www.nature.com/articles/emm201428 (April 2, 2022).

Harper, Rebecca L., Ann M. Reynolds, Claudine S. Bonder, and Paul N. Reynolds. 2016. "BMPR2 Gene Therapy for PAH Acts via Smad and Non-Smad Signalling." *Respirology* 21(4): 727–33. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/resp.12729 (April 4, 2022).

Hasin, Yehudit, Marcus Seldin, and Aldons Lusis. 2017. "Multi-Omics Approaches to Disease." *Genome Biology 2017 18:1* 18(1): 1–15. https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-017-1215-1 (April 2, 2022).

He, Jian Ying et al. 2022. "YY1-Induced LncRNA XIST Inhibits Cartilage Differentiation of BMSCs by Binding with TAF15 to Stabilizing FUT1 Expression." *Regenerative therapy* 20: 41–50. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35402663/ (August 17, 2022).

Hill, Meredith, and Nham Tran. 2021. "Global MiRNA to MiRNA Interactions: Impacts for MiR-21." *Trends in Cell Biology* 31(1): 3–5. http://www.cell.com/article/S0962892420302117/fulltext (August 25, 2021).

Hou, Changhe, Zibo Yang, et al. 2015. "MiR-193b Regulates Early Chondrogenesis by Inhibiting the TGF-Beta2 Signaling Pathway." *FEBS letters* 589(9): 1040–47. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25728278/ (August 13, 2022).

Hou, Changhe, Fangang Meng, et al. 2015. "The Role of MicroRNA-381 in Chondrogenesis and Interleukin-1-β Induced Chondrocyte Responses." *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* 36(5): 1753–66. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26184031/ (August 14, 2022).

Hu et al. 2017. "MicroRNA-145 Attenuates TNF-α-Driven Cartilage Matrix Degradation in Osteoarthritis via Direct Suppression of MKK4." *Cell Death & Disease* 8(10): e3140. /pmc/articles/PMC5682684/ (August 19, 2022).

Hu, Shu et al. 2019. "MicroRNA-455-3p Promotes TGF-β Signaling and Inhibits Osteoarthritis Development by Directly Targeting PAK2." *Experimental & Molecular Medicine* 51(10). /pmc/articles/PMC6802609/ (August 19, 2022).

Huang et al. 2019. "MiR-26b Regulates Cartilage Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Rats through the Wnt/β-Catenin Signaling Pathway." *European review for medical and pharmacological sciences* 23(12): 5084–92. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31298408/ (August 18, 2022).

Huang, G. T.J., S. Gronthos, and S. Shi. 2009. "Critical Reviews in Oral Biology & Medicine: Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Tissues vs. Those from Other Sources: Their Biology and Role in Regenerative Medicine." *Journal of Dental Research* 88(9): 792–806. https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0022034509340867 (April 2, 2022).

Hwang, Supyong et al. 2014. "MiR-140-5p Suppresses BMP2-Mediated Osteogenesis in Undifferentiated Human Mesenchymal Stem Cells." *FEBS letters* 588(17):

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

2957–63. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24928442/ (August 13, 2022).

Iaquinta, Maria Rosa et al. 2019. “Adult Stem Cells for Bone Regeneration and Repair.” *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 7. /pmc/articles/PMC6863062/ (August 19, 2022).

———. 2021. “The Role of MicroRNAs in the Osteogenic and Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells and Bone Pathologies.” *Theranostics* 11(13): 6573–91. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33995677/ (April 6, 2022).

Iijima et al. 2018. “Effectiveness of Mesenchymal Stem Cells for Treating Patients with Knee Osteoarthritis: A Meta-Analysis toward the Establishment of Effective Regenerative Rehabilitation.” *NPJ Regenerative Medicine* 3(1): 15. /pmc/articles/PMC6141619/ (August 19, 2022).

Jagielski, Michal et al. 2014. “The Influence of IL-10 and TNFα on Chondrogenesis of Human Mesenchymal Stromal Cells in Three-Dimensional Cultures.” *International Journal of Molecular Sciences 2014, Vol. 15, Pages 15821-15844* 15(9): 15821–44. https://www.mdpi.com/1422-0067/15/9/15821/htm (April 3, 2022).

James, Aaron W. 2013. “Review of Signaling Pathways Governing MSC Osteogenic and Adipogenic Differentiation.” *Scientifica* 2013: 1–17. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24416618/ (April 2, 2022).

Jang, Sunhee, Kijun Lee, and Ji Hyeon Ju. 2021. “Recent Updates of Diagnosis, Pathophysiology, and Treatment on Osteoarthritis of the Knee.” *International journal of molecular sciences* 22(5): 1–15. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33807695/ (August 18, 2022).

Javed, Amjad et al. 2008. “Structural Coupling of Smad and Runx2 for Execution of the BMP2 Osteogenic Signal.” *The Journal of biological chemistry* 283(13): 8412–22. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18204048/ (April 4, 2022).

Jia, Boyin et al. 2021. “Integrated Analysis of MiRNA and MRNA Transcriptomic Reveals Antler Growth Regulatory Network.” *Molecular genetics and genomics : MGG* 296(3): 689–703. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33770271/ (August 20, 2022).

Jiang, Xianfang et al. 2018. “The Role of: Sox9 in Collagen Hydrogel-Mediated Chondrogenic Differentiation of Adult Mesenchymal Stem Cells (MSCs).” *Biomaterials Science* 6(6): 1556–68.

Jo, Alice et al. 2014. “The Versatile Functions of Sox9 in Development, Stem Cells, and Human Diseases.” *Genes & diseases* 1(2): 149–61. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25685828/ (April 3, 2022).

Johnstone et al. 2013. “Tissue Engineering for Articular Cartilage Repair--the State of the Art.” *European cells & materials* 25: 248–67. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23636950/ (April 4, 2022).

Kalla, R. et al. 2015. “MicroRNAs: New Players in IBD.” *Gut* 64(3): 504–17. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25475103/ (April 1, 2022).

Karystinou, Alexandra et al. 2015. “Yes-Associated Protein (YAP) Is a Negative Regulator of Chondrogenesis in Mesenchymal Stem Cells.” *Arthritis Research*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

and Therapy 17(1): 1–14. https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-015-0639-9 (April 4, 2022).

Kim, Seong Hwan et al. 2019. "Intra-Articular Injection of Mesenchymal Stem Cells for Clinical Outcomes and Cartilage Repair in Osteoarthritis of the Knee: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials." *Archives of orthopaedic and trauma surgery* 139(7): 971–80. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30756165/ (August 19, 2022).

Ko et al. 2017. "MicroRNA-29a Counteracts Synovitis in Knee Osteoarthritis Pathogenesis by Targeting VEGF." *Scientific reports* 7(1). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28620193/ (August 14, 2022).

Kobayashi, Tatsuya et al. 2008. "Dicer-Dependent Pathways Regulate Chondrocyte Proliferation and Differentiation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(6): 1949–54.

Kovermann, Nikolas J. et al. 2019. "BMP2 and TGF-β Cooperate Differently during Synovial-Derived Stem-Cell Chondrogenesis in a Dexamethasone-Dependent Manner." *Cells* 8(6). /pmc/articles/PMC6628125/ (August 17, 2022).

Kozhemyakina, Elena, Andrew B. Lassar, and Elazar Zelzer. 2015. "A Pathway to Bone: Signaling Molecules and Transcription Factors Involved in Chondrocyte Development and Maturation." *Development* 142(5): 817–31. https://journals.biologists.com/dev/article/142/5/817/47199/A-pathway-to-bone-signaling-molecules-and (April 5, 2022).

Kwon, Ahlm et al. 2016. "Tissue-Specific Differentiation Potency of Mesenchymal Stromal Cells from Perinatal Tissues." *Scientific reports* 6. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27045658/ (April 2, 2022).

Lanzillotti, Carmen et al. 2021. "Long Non-Coding RNAs and MicroRNAs Interplay in Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells." *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 0: 742.

Lee et al. 2019. "MiR-892b Inhibits Hypertrophy by Targeting KLF10 in the Chondrogenesis of Mesenchymal Stem Cells." *Molecular Therapy. Nucleic Acids* 17: 310. /pmc/articles/PMC6612925/ (August 18, 2022).

Lefebvre, Véronique, Marco Angelozzi, and Abdul Haseeb. 2019. "SOX9 in Cartilage Development and Disease." *Current opinion in cell biology* 61: 39–47. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31382142/ (April 3, 2022).

Lefebvre, Véronique, and Mona Dvir-Ginzberg. 2017. "SOX9 and the Many Facets of Its Regulation in the Chondrocyte Lineage." *Connective tissue research* 58(1): 2–14. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27128146/ (April 3, 2022).

Leung, Victor Y.L. et al. 2011. "SOX9 Governs Differentiation Stage-Specific Gene Expression in Growth Plate Chondrocytes via Direct Concomitant Transactivation and Repression." *PLoS genetics* 7(11). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22072985/ (April 3, 2022).

Li et al. 2010. "Aberrant Hypertrophy in Smad3-Deficient Chondrocytes Is Rescued by Restoring TAK1-ATF-2 Signaling: A Potential Clinical Implication for Osteoarthritis." *Arthritis and rheumatism* 62(8): 2359.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

/pmc/articles/PMC2921996/ (April 4, 2022).

———. 2015. “The Role of MiRNAs in Cartilage Homeostasis.” *Current Genomics* 16(6): 393. /pmc/articles/PMC4765526/ (August 13, 2022).

———. 2016. “Downregulation of MiR-27b Is Involved in Loss of Type II Collagen by Directly Targeting Matrix Metalloproteinase 13 (MMP13) in Human Intervertebral Disc Degeneration.” *Spine* 41(3): E116–23. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26583473/ (August 14, 2022).

Li, and Dong. 2016. “The Signaling Pathways Involved in Chondrocyte Differentiation and Hypertrophic Differentiation.” *Stem Cells International* 2016.

Li, Hongzhe et al. 2016. “Isolation and Characterization of Primary Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells.” *Annals of the New York Academy of Sciences* 1370(1): 109–18. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27270495/ (April 2, 2022).

Li, Jianmei, and Shiwu Dong. 2016. “The Signaling Pathways Involved in Chondrocyte Differentiation and Hypertrophic Differentiation.” *Stem cells international* 2016. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28074096/ (April 3, 2022).

Li, Regis J. O’Keefe, and D. Chen. 2005. “TGF-Beta Signaling in Chondrocytes.” *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* 10: 681–88. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15569609/ (April 4, 2022).

Liau, L. L., B. H.I. Ruszymah, M. H. Ng, and J. X. Law. 2020. “Characteristics and Clinical Applications of Wharton’s Jelly-Derived Mesenchymal Stromal Cells.” *Current research in translational medicine* 68(1): 5–16. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31543433/ (April 2, 2022).

Lin, Xiao et al. 2014. “MiR-335-5p Promotes Chondrogenesis in Mouse Mesenchymal Stem Cells and Is Regulated through Two Positive Feedback Loops.” *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 29(7): 1575–85. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24347469/ (August 17, 2022).

Liu et al. 2007. “Identification of Common Pathways Mediating Differentiation of Bone Marrow- and Adipose Tissue-Derived Human Mesenchymal Stem Cells into Three Mesenchymal Lineages.” *Stem Cells* 25(3): 750–60. https://academic.oup.com/stmcls/article/25/3/750/6415684 (April 4, 2022).

———. 2011. “Zinc-Finger Protein 145, Acting as an Upstream Regulator of SOX9, Improves the Differentiation Potential of Human Mesenchymal Stem Cells for Cartilage Regeneration and Repair.” *Arthritis and Rheumatism* 63(9): 2711–20.

Liu, Bing, Jiuyong Li, and Murray J. Cairns. 2014. “Identifying MiRNAs, Targets and Functions.” *Briefings in bioinformatics* 15(1): 1–19. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23175680/ (April 1, 2022).

Liu, Shuang, Enjiao Zhang, Mingliang Yang, and Li Lu. 2014. “Overexpression of Wnt11 Promotes Chondrogenic Differentiation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Synergism with TGF-β.” *Molecular and Cellular Biochemistry* 390(1–2): 123–31.

Liu, Yubao, Rui Zou, et al. 2018. “Exosomal KLF3-AS1 from HMSCs Promoted Cartilage Repair and Chondrocyte Proliferation in Osteoarthritis.” *The*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Biochemical journal 475(22): 3629–38. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30341166/ (August 19, 2022).

Liu, Yubao, Lupan Lin, et al. 2018. "MSC-Derived Exosomes Promote Proliferation and Inhibit Apoptosis of Chondrocytes via LncRNA-KLF3-AS1/MiR-206/GIT1 Axis in Osteoarthritis." *Cell Cycle* 17(21–22): 2411. /pmc/articles/PMC6342066/ (August 19, 2022).

Lolli, Andrea et al. 2016. "Silencing of Antichondrogenic MicroRNA-221 in Human Mesenchymal Stem Cells Promotes Cartilage Repair In Vivo." *Stem cells (Dayton, Ohio)* 34(7): 1801–11. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26930142/ (August 18, 2022).

Lolli, Andrea, Fabio Colella, Cosimo De Bari, and Gerjo J.V.M. van Osch. 2019. "Targeting Anti-Chondrogenic Factors for the Stimulation of Chondrogenesis: A New Paradigm in Cartilage Repair." *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* 37(1): 12–22. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30175861/ (August 19, 2022).

Lu et al. 2020. "MiR-520d-5p Modulates Chondrogenesis and Chondrocyte Metabolism through Targeting HDAC1." *Aging (Albany NY)* 12(18): 18545. /pmc/articles/PMC7585120/ (August 17, 2022).

Lund, Elsebet et al. 2004. "Nuclear Export of MicroRNA Precursors." *Science (New York, N.Y.)* 303(5654): 95–98. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14631048/ (April 1, 2022).

Lv, Feng Juan, Rocky S. Tuan, Kenneth M.C. Cheung, and Victor Y.L. Leung. 2014. "Concise Review: The Surface Markers and Identity of Human Mesenchymal Stem Cells." *Stem cells (Dayton, Ohio)* 32(6): 1408–19. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24578244/ (April 2, 2022).

Mao, Guping et al. 2018. "Exosomes Derived from MiR-92a-3p-Overexpressing Human Mesenchymal Stem Cells Enhance Chondrogenesis and Suppress Cartilage Degradation via Targeting WNT5A." *Stem Cell Research & Therapy* 9(1). /pmc/articles/PMC6158854/ (August 19, 2022).

Martinez-Sanchez, Aida, and Chris L. Murphy. 2013. "MiR-1247 Functions by Targeting Cartilage Transcription Factor SOX9." *The Journal of Biological Chemistry* 288(43): 30802. /pmc/articles/PMC3829396/ (August 13, 2022).

Martinez, Natalia J., and Albertha J.M. Walhout. 2009. "The Interplay between Transcription Factors and MicroRNAs in Genome-Scale Regulatory Networks." *BioEssays* 31(4): 435–45.

Mazzoni, Elisa et al. 2020. "Hydroxylapatite-collagen Hybrid Scaffold Induces Human Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells to Osteogenic Differentiation in Vitro and Bone Regrowth in Patients." *Stem Cells Translational Medicine* 9(3): 377. /pmc/articles/PMC7031637/ (August 19, 2022).

Melnik, Svitlana et al. 2020. "MiR-218 Affects Hypertrophic Differentiation of Human Mesenchymal Stromal Cells during Chondrogenesis via Targeting RUNX2, MEF2C, and COL10A1." *Stem Cell Research and Therapy* 11(1): 1–18. https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-020-02026-6 (August 20, 2022).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Mens, Michelle M.J., and Mohsen Ghanbari. 2018. “Cell Cycle Regulation of Stem Cells by MicroRNAs.” *Stem cell reviews and reports* 14(3): 309–22. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29541978/ (April 1, 2022).

Misiewicz-Krzeminska, Irena et al. 2019. “Factors Regulating MicroRNA Expression and Function in Multiple Myeloma.” *Non-Coding RNA 2019, Vol. 5, Page 9* 5(1): 9. https://www.mdpi.com/2311-553X/5/1/9/htm (April 1, 2022).

Miyaki, Shigeru et al. 2010. “MicroRNA-140 Plays Dual Roles in Both Cartilage Development and Homeostasis.” *Genes & development* 24(11): 1173–85. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20466812/ (August 13, 2022).

Mizuno, Mitsuru et al. 2018. “Specific Markers and Properties of Synovial Mesenchymal Stem Cells in the Surface, Stromal, and Perivascular Regions.” *Stem cell research & therapy* 9(1). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29720268/ (April 2, 2022).

Moulharat, N. et al. 2004. “Effects of Transforming Growth Factor-Beta on Aggrecanase Production and Proteoglycan Degradation by Human Chondrocytes in Vitro.” *Osteoarthritis and cartilage* 12(4): 296–305. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15023381/ (April 4, 2022).

Mushahary, Dolly et al. 2018. “Isolation, Cultivation, and Characterization of Human Mesenchymal Stem Cells.” *Cytometry. Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology* 93(1): 19–31. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29072818/ (April 2, 2022).

Musumeci et al. 2014. “Advantages of Exercise in Rehabilitation, Treatment and Prevention of Altered Morphological Features in Knee Osteoarthritis. A Narrative Review.” *Histology and histopathology* 29(6): 707–19. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24452819/ (April 4, 2022).

Nakagawa et al. 2016. “Cartilage Derived from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Expresses Lubricin In Vitro and In Vivo.” *PLOS ONE* 11(2): e0148777. https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0148777 (April 4, 2022).

Nakamichi, Ryo, Ryota Kurimoto, Yusuke Tabata, and Hirosi Asahara. 2020. “Transcriptional, Epigenetic and MicroRNA Regulation of Growth Plate.” *Bone* 137. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32422296/ (April 6, 2022).

Nam, Yoojun, Yeri Alice Rim, Jennifer Lee, and Ji Hyeon Ju. 2018. “Current Therapeutic Strategies for Stem Cell-Based Cartilage Regeneration.” *Stem Cells International* 2018. /pmc/articles/PMC5889878/ (August 19, 2022).

Nazempour, A., and B. J. Van Wie. 2016. “Chondrocytes, Mesenchymal Stem Cells, and Their Combination in Articular Cartilage Regenerative Medicine.” *Annals of Biomedical Engineering 2016 44:5* 44(5): 1325–54. https://link.springer.com/article/10.1007/s10439-016-1575-9 (April 5, 2022).

Nguyen, Tuan Anh et al. 2018. “Microprocessor Depends on Hemin to Recognize the Apical Loop of Primary MicroRNA.” *Nucleic acids research* 46(11): 5726–36. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29750274/ (April 1, 2022).

Nordin, Kara, and Carole LaBonne. 2014. “Sox5 Is a DNA-Binding Cofactor for BMP

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

r-Smads That Directs Target Specificity during Patterning of the Early Ectoderm." *Developmental Cell* 31(3): 374. https://www.scholars.northwestern.edu/en/publications/sox5-is-a-dna-binding-cofactor-for-bmp-r-smads-that-directs-targe-2 (April 3, 2022).

Ozsolak, Fatih et al. 2008. "Chromatin Structure Analyses Identify MiRNA Promoters." *Genes & development* 22(22): 3172–83. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19056895/ (April 1, 2022).

Paik et al. 2012. "MiR-449a Regulates the Chondrogenesis of Human Mesenchymal Stem Cells Through Direct Targeting of Lymphoid Enhancer-Binding Factor-1." *Stem Cells and Development* 21(18): 3298. /pmc/articles/PMC3516419/ (August 18, 2022).

Pais, Helio et al. 2010. "Analyzing MRNA Expression Identifies Smad3 as a MicroRNA-140 Target Regulated Only at Protein Level." *RNA (New York, N.Y.)* 16(3): 489–94. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20071455/ (August 13, 2022).

Panagopoulos, Panagiotis K., and George I. Lambrou. 2018. "The Involvement of MicroRNAs in Osteoarthritis and Recent Developments: A Narrative Review." *Mediterranean Journal of Rheumatology* 29(2): 67. /pmc/articles/PMC7046075/ (September 6, 2022).

Papaioannou, Garyfallia, Anastasia Kozlova, and Tatsuya Kobayashi. 2018. "MiRNA Regulation of Chondrogenesis." *Current Molecular Biology Reports* 4(4): 208–17. https://www.researchgate.net/publication/327800288_miRNA_Regulation_of_Chondrogenesis (August 13, 2022).

Park, In Kyu, and Chong Su Cho. 2010. "Stem Cell-Assisted Approaches for Cartilage Tissue Engineering." *International Journal of Stem Cells* 3(2): 96–102.

Park, Ji Sun et al. 2011. "Chondrogenesis of Human Mesenchymal Stem Cells Mediated by the Combination of SOX Trio SOX5, 6, and 9 Genes Complexed with PEI-Modified PLGA Nanoparticles." *Biomaterials* 32(14): 3679–88.

Penolazzi, Letizia et al. 2018. "MicroRNA-221 Silencing Attenuates the Degenerated Phenotype of Intervertebral Disc Cells." *Aging (Albany NY)* 10(8): 2001. /pmc/articles/PMC6128426/ (August 13, 2022).

Petrovic, Nina, and Sercan Ergun. 2018. "MiRNAs as Potential Treatment Targets and Treatment Options in Cancer." *Molecular diagnosis & therapy* 22(2): 157–68. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29335927/ (April 1, 2022).

Piva, R. et al. 2015. "Slug Transcription Factor and Nuclear Lamin B1 Are Upregulated in Osteoarthritic Chondrocytes." *Osteoarthritis and cartilage* 23(7): 1226–30. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25797039/ (August 18, 2022).

Primorac, Dragan et al. 2020. "Knee Osteoarthritis: A Review of Pathogenesis and State-Of-The-Art Non-Operative Therapeutic Considerations." *Genes* 11(8): 1–35. /pmc/articles/PMC7464436/ (August 18, 2022).

Ragni, Enrico et al. 2019. "MiR-22-5p and MiR-29a-5p Are Reliable Reference Genes for Analyzing Extracellular Vesicle-Associated MiRNAs in Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells and Are Stable under Inflammatory Priming Mimicking

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Osteoarthritis Condition." *Stem cell reviews and reports* 15(5): 743–54. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31161551/ (August 19, 2022).

Raynaud, C. M. et al. 2012. "Comprehensive Characterization of Mesenchymal Stem Cells from Human Placenta and Fetal Membrane and Their Response to Osteoactivin Stimulation." *Stem cells international* 2012. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22701494/ (April 2, 2022).

Reinhold, Martina I., Ravi M. Kapadia, Zhixiang Liao, and Michael C. Naski. 2006. "The Wnt-Inducible Transcription Factor Twist1 Inhibits Chondrogenesis." *The Journal of biological chemistry* 281(3): 1381–88. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16293629/ (April 3, 2022).

Rim, Yeri Alice, Yoojun Nam, and Ji Hyeon Ju. 2020. "The Role of Chondrocyte Hypertrophy and Senescence in Osteoarthritis Initiation and Progression." *International Journal of Molecular Sciences 2020, Vol. 21, Page 2358* 21(7): 2358. https://www.mdpi.com/1422-0067/21/7/2358/htm (August 19, 2022).

Rose, Keron W.J., Nandaraj Taye, Stylianos Z. Karoulias, and Dirk Hubmacher. 2021. "Regulation of ADAMTS Proteases." *Frontiers in Molecular Biosciences* 8: 621.

Roush, Sarah, and Frank J. Slack. 2008. "The Let-7 Family of MicroRNAs." *Trends in cell biology* 18(10): 505–16. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18774294/ (April 1, 2022).

Ruhlen, and Marberry. 2014. "The Chondrocyte Primary Cilium." *Osteoarthritis and cartilage* 22(8): 1071–76. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24879961/ (August 18, 2022).

Ryu, Je Hwang, and Jang Soo Chun. 2006. "Opposing Roles of WNT-5A and WNT-11 in Interleukin-1beta Regulation of Type II Collagen Expression in Articular Chondrocytes." *The Journal of biological chemistry* 281(31): 22039–47. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16754689/ (April 3, 2022).

Saliminejad, Kioomars, Hamid Reza Khorram Khorshid, Shahrzad Soleymani Fard, and Seyed Hamidollah Ghaffari. 2019. "An Overview of MicroRNAs: Biology, Functions, Therapeutics, and Analysis Methods." *Journal of cellular physiology* 234(5): 5451–65. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30471116/ (April 1, 2022).

Schizas, Nikitas P. et al. 2021. "Inhibition versus Activation of Canonical Wnt-Signaling, to Promote Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. A Review." *Orthopedic reviews* 13(2). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34745485/ (April 3, 2022).

Schmidt, Tannin A. et al. 2007. "Boundary Lubrication of Articular Cartilage: Role of Synovial Fluid Constituents." *Arthritis and Rheumatism* 56(3): 882–91.

Seifert, Anne, David F Werheid, Silvana M Knapp, and Edda Tobiasch. 2015. "Role of Hox Genes in Stem Cell Differentiation." *World Journal of Stem Cells* 7(3): 583. /pmc/articles/PMC4404393/ (April 2, 2022).

Shariatzadeh, Jianing Song, and Samantha Louise Wilson. 2019. "The Efficacy of Different Sources of Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Knee Osteoarthritis." *Cell and tissue research* 378(3). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31309317/ (August 19, 2022).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Shetty, Asode Ananthram, Seok Jung Kim, Norimasa Nakamura, and Mats Brittberg. 2014. “Techniques in Cartilage Repair Surgery.” *Techniques in Cartilage Repair Surgery*: 1–385.

Singh, Purva, Kenneth B. Marcu, Mary B. Goldring, and Miguel Otero. 2019. “Phenotypic Instability of Chondrocytes in Osteoarthritis: On a Path to Hypertrophy.” *Annals of the New York Academy of Sciences* 1442(1): 17–34. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nyas.13930 (August 18, 2022).

Stelcer, Ewelina et al. 2019. “The Role of MicroRNAs in Early Chondrogenesis of Human Induced Pluripotent Stem Cells (HiPSCs).” *International Journal of Molecular Sciences* 20(18). /pmc/articles/PMC6770352/ (August 14, 2022).

Sun, Chao et al. 2019. “Glucose Regulates Tissue-Specific Chondro-Osteogenic Differentiation of Human Cartilage Endplate Stem Cells via O-GlcNAcylation of Sox9 and Runx2.” *Stem cell research & therapy* 10(1). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31779679/ (April 3, 2022).

Tao, Shi Cong et al. 2017. “Exosomes Derived from MiR-140-5p-Overexpressing Human Synovial Mesenchymal Stem Cells Enhance Cartilage Tissue Regeneration and Prevent Osteoarthritis of the Knee in a Rat Model.” *Theranostics* 7(1): 180. /pmc/articles/PMC5196895/ (August 19, 2022).

Tian et al. 2016. “MicroRNA-30a Promotes Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells through Inhibiting Delta-like 4 Expression.” *Life sciences* 148: 220–28. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26872979/ (August 17, 2022).

Tian, Feng, Junhu Wang, Zhanhua Zhang, and Jie Yang. 2019. “MiR-107 Modulates Chondrocyte Proliferation, Apoptosis, and Extracellular Matrix Synthesis by Targeting PTEN.” *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 12(2): 488. /pmc/articles/PMC6945102/ (August 14, 2022).

Tian, Y. J. Rui, Y. J. Xu, and S. A. Zhang. 2018. “MiR-143-3p Regulates Early Cartilage Differentiation of BMSCs and Promotes Cartilage Damage Repair through Targeting BMPR2.” *European review for medical and pharmacological sciences* 22(24): 8814–21. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30575923/ (August 17, 2022).

Topol, Lilia et al. 2009. “Sox9 Inhibits Wnt Signaling by Promoting Beta-Catenin Phosphorylation in the Nucleus.” *The Journal of biological chemistry* 284(5): 3323–33. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19047045/ (April 3, 2022).

Ukai, Taku et al. 2012. “MicroRNA-199a-3p, MicroRNA-193b, and MicroRNA-320c Are Correlated to Aging and Regulate Human Cartilage Metabolism.” *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* 30(12): 1915–22. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22674437/ (August 14, 2022).

Ullah, Imran, Raghavendra Baregundi Subbarao, and Gyu Jin Rho. 2015. “Human Mesenchymal Stem Cells - Current Trends and Future Prospective.” *Bioscience reports* 35(2). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25797907/ (April 2, 2022).

Urata, Mariko et al. 2018. “A Peptide That Blocks the Interaction of NF-KB P65 Subunit with Smad4 Enhances BMP2-Induced Osteogenesis.” *Journal of Cellular Physiology* 233(9): 7356–66.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Varela, Nelson et al. 2016. “Mitotic Inheritance of MRNA Facilitates Translational Activation of the Osteogenic-Lineage Commitment Factor Runx2 in Progeny of Osteoblastic Cells.” *Journal of Cellular Physiology* 231(5): 1001–14. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcp.25188 (April 2, 2022).

Vishnoi, Anchal, and Sweta Rani. 2017. “MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview.” *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 1509: 1–10. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27826912/ (April 1, 2022).

Wang et al. 2016. “Smad2 and Smad3 Regulate Chondrocyte Proliferation and Differentiation in the Growth Plate.” *PLoS Genetics* 12(10). /pmc/articles/PMC5065210/ (April 4, 2022).

———. 2019. “Application of Mesenchymal Stem Cell Therapy for the Treatment of Osteoarthritis of the Knee: A Concise Review.” *World Journal of Stem Cells* 11(4): 222. /pmc/articles/PMC6503460/ (August 19, 2022).

Wang, Wei jun et al. 2014. “Transcription Factor Runx2 in the Low Bone Mineral Density of Girls with Adolescent Idiopathic Scoliosis.” *Orthopaedic Surgery* 6(1): 8. /pmc/articles/PMC6583529/ (April 4, 2022).

Wang, Z. H. et al. 2014. “Delivery of the Sox9 Gene Promotes Chondrogenic Differentiation of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells in an *in Vitro* Model.” *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 47(4): 279–86. http://www.scielo.br/j/bjmbr/a/dYKQ9gMjCccvLTDr8CTdvJx/?lang=en (April 3, 2022).

Wu et al. 2012. “MiR-30 Family Members Negatively Regulate Osteoblast Differentiation.” *The Journal of Biological Chemistry* 287(10): 7503. /pmc/articles/PMC3293535/ (August 14, 2022).

Wu, Chuanlong et al. 2014a. “MicroRNAs Play a Role in Chondrogenesis and Osteoarthritis (Review).” *International Journal of Molecular Medicine* 34(1): 13–23.

———. 2014b. “MicroRNAs Play a Role in Chondrogenesis and Osteoarthritis (Review).” *International journal of molecular medicine* 34(1): 13–23. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24736803/ (August 13, 2022).

Wu, Xiaoxin et al. 2020. “Extracellular Vesicles: Potential Role in Osteoarthritis Regenerative Medicine.” *Journal of Orthopaedic Translation* 21: 73–80.

Wu, Zizhao et al. 2018a. “Melatonin-Mediated MiR-526b-3p and MiR-590-5p Upregulation Promotes Chondrogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells.” *Journal of pineal research* 65(1). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29498095/ (August 17, 2022).

———. 2018b. “Melatonin-Mediated MiR-526b-3p and MiR-590-5p Upregulation Promotes Chondrogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells.” *Journal of pineal research* 65(1). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29498095/ (August 19, 2022).

Wuelling, Manuela, and Andrea Vortkamp. 2011. “Chondrocyte Proliferation and Differentiation.” *Endocrine development* 21: 1–11.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21865749/ (April 3, 2022).

Xiao, Xu Yan, Yang Yang, and Xinlong Ma. 2019. "Downregulation of Long Noncoding RNA HOTAIRM1 Variant 1 Contributes to Osteoarthritis via Regulating MiR-125b/BMPR2 Axis and Activating JNK/MAPK/ERK Pathway." *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 109: 1569–77. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30551410/ (August 17, 2022).

Xu et al. 2020. "Author Correction: MiR-20a Suppresses Chondrogenic Differentiation of ATDC5 Cells by Regulating Atg7." *Scientific Reports* 10(1). /pmc/articles/PMC6971023/ (August 14, 2022).

Xue, Zhaolong, Yanli Meng, and Jianhua Ge. 2017. "MiR-127-5p Promotes Chondrogenic Differentiation in Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells." *Experimental and Therapeutic Medicine* 14(2): 1481. /pmc/articles/PMC5526155/ (August 13, 2022).

Yang, Shengying Qin, et al. 2011. "MiR-140 Is Co-Expressed with Wwp2-C Transcript and Activated by Sox9 to Target Sp1 in Maintaining the Chondrocyte Proliferation." *FEBS letters* 585(19): 2992–97. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21872590/ (August 13, 2022).

Yang et al. 2021. "MicroRNAs as Important Regulators Mediate the Multiple Differentiation of Mesenchymal Stromal Cells." *Frontiers in cell and developmental biology* 9. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34164391/ (April 6, 2022).

Yang, Bo, Hongfeng Guo, et al. 2011a. "MicroRNA-145 Regulates Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells by Targeting Sox9." *PloS one* 6(7). https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21799743/ (April 3, 2022).

———. 2011b. "MicroRNA-145 Regulates Chondrogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells by Targeting Sox9." *PLoS ONE* 6(7): 31070864. /pmc/articles/PMC3140487/ (August 13, 2022).

Yoshida, Carolina A. et al. 2004. "Runx2 and Runx3 Are Essential for Chondrocyte Maturation, and Runx2 Regulates Limb Growth through Induction of Indian Hedgehog." *Genes & development* 18(8): 952–63. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15107406/ (April 4, 2022).

Yuan, Xiaoliang et al. 2015. "The Key Role of Canonical Wnt/β-Catenin Signaling in Cartilage Chondrocytes." *Current Drug Targets* 17(4): 475–84.

Zealy, Richard W. et al. 2017. "MicroRNA-Binding Proteins: Specificity and Function." *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA* 8(5): e1414. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/wrna.1414 (April 1, 2022).

Zhang et al. 2019. "Mesenchymal Stem Cell Related Therapies for Cartilage Lesions and Osteoarthritis." *American journal of translational research* 11(10): 6275–89. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31737182/ (August 19, 2022).

Zhang, Chen, Zhang, and Ouyang. 2012. "Inhibitory Function of Parathyroid Hormone-Related Protein on Chondrocyte Hypertrophy: The Implication for Articular Cartilage Repair." *Arthritis Research and Therapy* 14(4): 1–10. https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar4025 (April 4, 2022).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207

Zhang, X. et al. 2006. “Runx2 Overexpression Enhances Osteoblastic Differentiation and Mineralization in Adipose--Derived Stem Cells in Vitro and in Vivo.” *Calcified tissue international* 79(3): 169–78. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16969589/ (April 2, 2022).

Zhao, Chunrong et al. 2019. “MicroRNA-29b Regulates Hypertrophy of Murine Mesenchymal Stem Cells Induced toward Chondrogenesis.” *Journal of cellular biochemistry* 120(5): 8742–53. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30652339/ (August 18, 2022).

Zhao, Weiwei et al. 2016a. “Runx2 and MicroRNA Regulation in Bone and Cartilage Diseases.” *Annals of the New York Academy of Sciences* 1383(1): 80–87. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27526290/ (August 13, 2022).

———. 2016b. “Runx2 and MicroRNA Regulation in Bone and Cartilage Diseases.” *Annals of the New York Academy of Sciences* 1383(1): 80. /pmc/articles/PMC5118124/ (August 14, 2022).

Zhou et al. 2014. “Disrupting the Indian Hedgehog Signaling Pathway in Vivo Attenuates Surgically Induced Osteoarthritis Progression in Col2a1-CreERT2; Ihhfl/Fl Mice.” *Arthritis Research and Therapy* 16(1): 1–10. https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar4437 (April 4, 2022).

———. 2018a. “MiR-132-3p Regulates ADAMTS-5 Expression and Promotes Chondrogenic Differentiation of Rat Mesenchymal Stem Cells.” *Journal of cellular biochemistry* 119(3): 2579–87. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28980719/ (August 17, 2022).

Zhou, Xiaozhong et al. 2018b. “MiR-132-3p Regulates ADAMTS-5 Expression and Promotes Chondrogenic Differentiation of Rat Mesenchymal Stem Cells.” *Journal of Cellular Biochemistry* 119(3): 2579–87. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcb.26421 (August 19, 2022).

Zhu, Yanhui et al. 2015. “Transforming Growth Factor-B1 Induces Type II Collagen and Aggrecan Expression via Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 and Smad2/3 Signaling Pathways.” *Molecular Medicine Reports* 12(4): 5573–79. http://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2015.4068/abstract (April 4, 2022).

Zhuang, Haoliang et al. 2016. “Molecular Mechanisms of PPAR-γ; Governing MSC Osteogenic and Adipogenic Differentiation.” *Current Stem Cell Research & Therapy* 11(3): 255–64.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
18/06/2024 16:13:34 EEST - 18.191.150.207