



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Ταυτοποίηση – Χαρακτηρισμός – Κλινικές εφαρμογές
Μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων**

POST GRADUATE THESIS

**Identification – Characterization – Clinical applications
Of Mesenchymal stem cells**

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Ξένου Ευθαλία

Xenou Euthalia

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Αναστάσιος Κριεμπάρδης

Anastasios Kriebardis

ΑΙΓΑΛΕΩ/ΑΙΓΑΛΕΟ 2023



Faculty of Health and Caring Professions

Department of Biomedical Sciences

Postgraduate program:

Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

**Identification – Characterization – Clinical applications
Of Mesenchymal stem cells**

Xenou Euthalia

Dml 180012

euthaliaxenou@gmail.com

FIRST SUPERVISOR

Anastasios Kriebardis

SECOND SUPERVISOR

Petros Karkalousos

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 02-10-2023

Ονόματα εξεταστών

Υπογραφή

1^{ος} Εξεταστής Αναστάσιος Κριεμπάρδης

2^{ος} Εξεταστής Πέτρος Καρκαλούσος

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Ξένου Ευθαλία του Αντωνίου, με αριθμό μητρώου 18012 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι: *«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».*

Η Δηλούσα

Ευθαλία Ξένου

Ευθαλία Ξένου

Ευχαριστίες

Εξαιρετικά Θερμές Ευχαριστίες, στον κ. Αναστάσιο Κριεμπάρδη, Καθηγητή, του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, για την κατανόηση, στην πορεία των μεταπτυχιακών σπουδών μου, καθώς και για την αμέριστη βοήθεια και χρήσιμη καθοδήγησή του, στα πλαίσια της εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας μου.

Αφιερώσεις

Στους αυτόφωτους ανθρώπους που οραματίζονται μονοπάτια ζωής

Περίληψη

Αρχές δεκαετίας του 1960 ο McCulloch και ο Till στο Ινστιτούτο καρκίνου του Οντάριο στο Τορόντο παρατήρησαν ανάπτυξη αποικιών στον σπλήνα ακτινοβολημένων ποντικών ανακαλύπτοντας την ύπαρξη πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων. Αργότερα το 1963 με την βοήθεια του Andy Becker εδραιώνεται η θεωρία των Βλαστοκυττάρων και η αναγνώριση της αυτοανανέωσης τους. Αν και αρχικά πιστεύεται ότι τα Βλαστοκύτταρα απομονώνονται μόνο από το μυελό των οστών, αργότερα αναγνωρίζεται η ύπαρξή τους και σε άλλους ιστούς όπως το λίπος, το ήπαρ, ο ομφάλιος λώρος, ο οδοντικός πολφός κ.α. Τα επόμενα χρόνια καθιερώθηκε ο όρος Μεσεγχυματικά Βλαστοκύτταρα, ως τα πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα με ικανότητες, γένεσης και διαφοροποίησης σε ένα τουλάχιστο εξειδικευμένο τύπο κυττάρων, απουσία όμως ικανότητας ανασύστασης όλου του οργάνου. Λόγω της εύκολης απομόνωσης από τους ιστούς και την ευκολία καλλιέργειας τα Μεσεγχυματικά Βλαστοκύτταρα, καθίστανται ελκυστικά στην χρήση. Κάποιες εφαρμογές τους είναι οι καρδιακές παθήσεις, η αναγέννηση του χόνδρου, η επιδιόρθωση περιφερικών νεύρων, η νόσος του Crohn, η μυϊκή δυστροφία, η σκλήρυνση κατά πλάκας κ.α. Οι έως τώρα κλινικές μελέτες υπό την χρήση των MSCs, επιδεικνύουν θετικά αποτελέσματα, ως προς το εύρος δυνατοτήτων τους καθώς και των εφαρμογών τους, εξαιτίας των πολυδύναμων ιδιοτήτων τους. Ωστόσο οι μηχανισμοί διαφοροποίησης, κινητοποίησης και φιλοξενίας των MSCs οι οποίοι είναι εξαιρετικά δύσκολοι, απαιτούν αποσαφηνίσεις και επιπλέον μελέτες κρίνονται αναγκαίες προκειμένου να πιστοποιηθεί ο ρόλος τους στη μεταμόσχευση και την ανοσολογική απόκριση τους στις διάφορες ασθένειες. Έτσι η συνεχιζόμενη έρευνα καθορίζεται ως επιτακτική ανάγκη, προκειμένου να προσδιορισθούν καλύτερα οι μηχανισμοί και οι βιολογικές ιδιότητες των MSC. Η γνώση της ποικιλομορφίας του πληθυσμού των MSC, η τυποποίηση πρωτοκόλλων παραγωγής, οι συνθήκες κυτταροκαλλιέργειας μπορεί να επηρεάζουν τον φαινότυπο των MSC καθώς και τις λειτουργίες αυτών, είναι ρόλοι καθοριστικής σημασίας. Τα Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα καθίστανται ελκυστικά ως εργαλείο επιλογής στην διαχείριση και ανάπτυξη κλινικών εφαρμογών στην αναγεννητική ιατρική.

Λέξεις κλειδιά: Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα, τυποποιημένα πρωτόκολλα, κλινικές μελέτες, θεραπευτικές εφαρμογές, εξωσώματα, Αναγεννητική Ιατρική.

Abstract

Since ancient times, concepts such as experiment, observation and study have been pillars of knowledge and resources in the understanding and development of health data. Diseases such as cancer, neurological diseases, autoimmune diseases, diabetes, make it necessary to find new treatments and in order to develop them, man will be led to read the "archetype". In the early 1960s we find McCulloch and Till at the Ontario Cancer Institute in Toronto observing the development of colonies in the spleens of irradiated mice after they had first received infusions of bone marrow cells, indicating the existence of pluripotent stem cells and in the same year, to result in the clonality of these cells. Later in 1963, with the help of Andy Becker, they established the theory of stem cells and published it in the journal Nature and their self-renewal capacity was also recognized. Although at first you think that mesenchymal stem cells are isolated only from the bone marrow, later their existence is also recognized in other tissues of the human body: such as this adipose tissue, in the liver, in the umbilical cord, dental pulp and In the coming years, we will talk about Mesenchymal stem cells, as the pluripotent stem cells with the ability of genesis and differentiation into at least one specialized cell type, as well as that of self-renewal, but in the absence of their ability to reconstitute the entire organ. Due to the simplicity of their isolation from the tissues and the ease of their cultivation in plastic trays, Mesenchymal stem cells become attractive in their daily use and attract the attention of the scientific world, which is looking for new perspectives of clinical applications in Regenerative Medicine. Some of which are about: Heart diseases. Regeneration of cartilage, bone, peripheral nerve repair, Crohn's disease, Muscular dystrophy, Multiple Sclerosis Tissue restoration but also treatments of Autoimmune Diseases, etc. The clinical studies so far using MSCs demonstrate positive results, in terms of the range of possibilities of MSCs as well as their applications, due to their versatile properties. However, the mechanisms of differentiation, mobilization and hosting of MSCs, which are extremely difficult, require clarification and additional studies are deemed necessary in order to certify their role in transplantation and their immune response to various diseases. Thus, continued research is determined as an imperative, in order to better define the mechanisms and biological properties of MSCs. Knowledge of MSC population diversity, standardization of production protocols, cell culture conditions of passage sources and cell density, which may affect MSC

phenotype as well as their functions, are crucial roles. Mesenchymal stem cells are becoming attractive as a tool of choice in the management and development of clinical applications in Regenerative Medicine.

Key words: Mesenchymal stem cells, standardized protocols, clinical studies, therapeutic applications.

Πίνακας περιεχομένων

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....	v
Ευχαριστίες	vii
Αφιερώσεις	viii
Περίληψη	ix
Abstract	x
Συνοτομογραφίες	xvi
Πρόλογος.....	1
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή	3
Γενικά – Μεσεγχυματικά Βλαστικά κύτταρα	3
Ιστορική Αναδρομή	3
Ελάχιστα κριτήρια Μεσεγχυματικών Βλαστικών Κυττάρων.....	4
Αρχέγονα κύτταρα.....	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Αιμοποιητικά – Μεσεγχυματικά Βλαστικά κύτταρα.....	7
Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα.....	7
Αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα.....	7
Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα.....	8
Πλεονεκτήματα συλλογής αρχέγονων κυττάρων κατά την γέννηση	9
Τράπεζες Μεσεγχυματικών Κυττάρων.....	9
Κεφάλαιο 3. Κανονισμοί – Πρωτόκολλα.....	11
Φαρμακευτικά προϊόντα σωματικών κυττάρων (ATMP).....	11
Τρέχουσα ορθή παραγωγική πρακτική cGMP	11
Θεωρήσεις cGMP για την ανάπτυξη θεραπευτικών MSC	12
Κεφάλαιο 4. Ιδιότητες των Μεσεγχυματικών Βλαστικών κυττάρων	13
Ιδιότητα αυτοανανέωσης και πολλαπλασιασμού τους:.....	13
Διαφοροποίηση <i>in vitro</i>	13
Οστεογονική διαφοροποίηση.....	14
Χονδρογονική διαφοροποίηση	14
Λιπογενής διαφοροποίηση	15
Μυογονική διαφοροποίηση	15
Διαφοροποίηση Καρδιομυοκυττάρων	16
Διαφοροποίηση κυττάρων λείων μυών.....	17
Διαφοροποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων (EC).....	17

Χημικοί παράγοντες που ρυθμίζουν την μετανάστευση των MSC.....	18
Άξονας SDF-1/CXCR4: Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair	18
Οστεοποντίνη (OPN).....	19
Αυξητικοί παράγοντες.....	21
B-FGF βασικός αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών.....	21
Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας VEGF	22
Αυξητικός παράγοντας ηπατοκυττάρων HGF	22
Ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας IGF-1.....	23
Αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια PDGF.....	23
Ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας βήτα-1 (TGF-1).....	25
Μηχανικοί παράγοντες ρύθμισης μετανάστευσης MSCs	25
Μηχανική καταπόνηση	26
Διατμητική καταπόνηση.....	26
Ακαμψία μήτρας (ECM).....	27
Μικροβαρύτητα.....	28
Μηχανισμοί BMSC στην επούλωση Ιστών	28
Παρακρινικοί παράγοντες Μεταμόσχευσης BMSC	29
Προϋποθέσεις – ερέθισμα – αντανακλαστικά από BMSCs για επιδιόρθωση ιστών..	29
Κατευθυνόμενη διαφοροποίηση BMSC στην επιδιόρθωση ιστών	30
Ανοσοκατασταλτικές και Ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες.....	31
Προσκόλληση σε πλαστικές επιφάνειες: Σχηματισμός αποικίας	32
Κεφάλαιο 5. Χαρακτηριστικά των MSCs.	33
Κεφάλαιο 6. Καλλιέργεια MSCs.....	35
Διαδικασία απομόνωσης MSC.....	35
Μέθοδος καλλιέργειας μοσχευμάτων	35
Ενζυματικό πρωτόκολλο	35
Σύγκριση των πρωτοκόλλων απομόνωσης.....	36
Κεφάλαιο 7. Ταξινόμηση MSCs.....	37
Εμβρυϊκές και Ενήλικες πηγές MSCs	37
MSC προερχόμενα από αίμα ομφάλιου λώρου (UC-MSCs).....	38
MSC προερχόμενα από αμνιακό υγρό (AF amniotic fluid).....	39
MSC προερχόμενα από πλακούντα (PD-MSCs)	39
MSC προερχόμενα από ζελέ Wharton (WJ-MSCs).....	40

Εκκριτικά προϊόντα ASC	40
Κλινικές εφαρμογές ASC και προϊόντων που παράγονται από ASC	41
MSCs προερχόμενα από οδοντικό πολφό	41
MSC προερχόμενα από περιφερικό αίμα PB-MSC.....	42
Κεφάλαιο 8. Κλινικές εφαρμογές των MSCs.....	44
Κάκωση Νωτιαίου μυελού - SCI (Spinal Cord Injury)	44
Μηχανισμοί δράσης	45
Αποκατάσταση του μυοκαρδίου (AMI) Acute myocardial infarction	47
Εξωσώματα προερχόμενα από BMMSC.....	48
Εξωσώματα προερχόμενα από Λιπώδη ιστό (ADSC).....	48
Εξωσώματα προερχόμενα από Ανθρώπινου Ομφάλιου Λώρου (HUCMSCs).....	49
Εξωσώματα από ανθρώπινα καρδιακά προγονικά κύτταρα (CPC).....	50
Θεραπεία Πνευμονικών Παθήσεων με MSC.....	51
COVID-19	52
Παθοφυσιολογία του COVID – 19.....	53
Σύνδρομο Οξείας αναπνευστικής δυσφορίας (ARDS).....	54
Ανοσοτροποποίηση και θεραπευτικές αρχές των MSCs	54
Πνευμονική βλάβη προκληθείσα από ακτινοβολία (RILI)	56
Αλλαγές στο πνευμονικό ιστό RILI	56
Θεραπεία RILI με χρήση των MSC.....	57
Οι δύο γενιές θεραπείας MSC για RILI.....	57
Στόχευση μορίων σηματοδότησης με MSC	58
Γενετικά τροποποιημένα MSC για RILI	60
Νόσος του Crohn (CD).....	62
Περιπρωκτικά συρίγγια.....	62
Εγκεκριμένες Κλινικές δοκιμές στην εφαρμογή των MSC λοιπών νοσημάτων	63
Κεφάλαιο 9. Κλινικές προκλήσεις, που προκύπτουν από την κατασκευή των MSC..	65
Επιδράσεις στην κατασκευή – αποθήκευση στην λειτουργία των MSC	66
Ετερογένεια στο προϊόν MSC.....	66
Προμήθεια και κατασκευή MSC	66
Ομοιογένεια MSC	67
Ετερογένεια MSC	67
Κρυοσυντήρηση και διάσωση καλλιέργειας MSCs.....	68

Μηχανική MSC για ενίσχυση των λειτουργιών των MSC.....	68
Γενετική κατασκευή MSC	70
Μηχανική ενίσχυση, επέκτασης λειτουργιών των MSC.....	70
Ογκολυτικοί ιοί (OVs)	70
Κεφάλαιο 10. Συμπεράσματα.....	72
Αναφορές.....	74

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
MSCs	Mesenchymal stem cells	Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα
ESCs	Embryonic stem cells	Εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα
HMSC	Human Mesenchymal stem cell	Ανθρώπινα Μεσεγχυματικά κύτταρα
HPCs	Hematopoietic stem cells	Αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα
BM	Bone marrow	Μυελός των Οστών
WG	Wharton gel	Γέλη του Wharton
AT	Adipose Tissue	Λιπώδης Ιστός
AL	Amniotic liquid	Αμνιακό Υγρό
DP	Dental pulp	Οδοντικός Πολφός
FBS	Fetal Bovin Serum	Εμβρυϊκός βόειος ορός
ISCT	International Society for Cellular Therapy	Διεθνής Εταιρεία Κυτταρικής Θεραπείας
ATMP	Advanced therapy medicinal products	Φαρμακευτικά προϊόντα προηγμένης θεραπείας
GMP	Good Manufacturing Practice	Ορθή κατευναστική πρακτική
CGMP	Current Good Manufacturing Practice	Τρέχουσα ορθή παραγωγική πρακτική
VHP	Voluntary Harmonisation Procedure	Εθελοντική Διαδικασία Εναρμόνισης
CTFG	Clinical trials facilitation and Group	Ομάδα διευκόλυνσης & συντονισμού κλινικών δοκιμών
HPL	Human Platelet Lysate	Προϊόν λύσης ανθρώπινων αιμοπεταλίων
FMSCs	Fetal mesenchymal stromal cell	Εμβρυϊκά Μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα
EMSCs	Embryonic stem cells	Εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα
VSELS	Very small embryonic like stem cells	Πολύ μικρά εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα
BVScs	Placental chorionic blood vessels	Χοριακά αιμοφόρα αγγεία του πλακούντα
FBS	Fetal Bovin Serum	Εμβρυϊκός βόειος ορός
ISCT	International Society for Cellular Therapy	Διεθνής Εταιρεία Κυτταρικής Θεραπείας
ATMP	Advanced therapy medicinal products	Φαρμακευτικά προϊόντα προηγμένης θεραπείας
GMP	Good Manufacturing Practice	Ορθή κατασκευαστική πρακτική
CGMP	Current Good Manufacturing Practice	Τρέχουσα ορθή παραγωγική πρακτική
HPL	Human Platelet Lysate	Προϊόν λύσης ανθρώπινων αιμοπεταλίων
FMSCs	Fetal mesenchymal stromal cell	Εμβρυϊκά Μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα
EMSCs ή ESCs	Embryonic stem cells	Εμβρυϊκά Βλαστοκύτταρα
VSELS	Very small embryonic like stem cells	Πολύ μικρά εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα
BVScs	Placental chorionic blood vessels	Χοριακά αιμοφόρα αγγεία του πλακούντα
VCAM	Vascular cell adhesion molecule -1	Αγγειακό μόριο προσκόλλησης

		κυττάρων – 1
MCAM	Melanoma cell adhesion molecule	Μόριο προσκόλλησης κυττάρων μελανώματος
D _C reg	Regulatory Dendritic T – cell	Ρυθμιστικά δενδριτικά Τ-κύτταρα
OECs	olfactory ensheathing cells	Οσφρητικά κύτταρα
Sch cells	Schwann cells	Schwann κύτταρα
UCP-1	Uncoupling Protein 1	Πρωτεΐνη αποσύνδεσης - 1
VEGF	Vascular endothelial growth factor	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός
PDGF	Platelet-derived growth factor	Αυξητικός παράγοντας προερχόμενος
ECM	Extracellular matrix	Εξωκυτταρική μήτρα
FDA	Food and Drug Administration	Οργανισμός Τροφίμων & Φαρμάκων ΗΠ.
B FGF	Basic-fibroblast growth factor	Βασικός αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών
CFU F	Colony- forming unit-fibroblast	Μονάδα σχηματισμού αποικίας ινοβλάστη
IPSC	induced pluripotent stem cells	Επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα

Πρόλογος

Φαρμακευτικά προϊόντα, χειρουργικές επεμβάσεις, ακτινοθεραπείες χημειοθεραπείες, ανοσοθεραπείες, αποτελούν τις τρέχουσες θεραπείες ανίατων ή εξαιρετικά σοβαρών χρόνιων ασθενειών. Κάποτε είναι αποτελεσματικές, αλλά εξαιρετικά επώδυνες και επιβλαβείς για τον ασθενή και άλλοτε φαντάζουν ανεπαρκείς, αναποτελεσματικές ή ελάχιστα υποστηρικτικές, αφήνοντας κατάλοιπα, σωρεία παρενεργειών στην πορεία και εξέλιξη της νόσου και δυσλειτουργίες στην ποιότητα ζωής του ασθενή.

Στην σύγχρονη αναγεννητική ιατρική, η ανάγκη κλινικών εφαρμογών θεραπείας με χρήση Μεσεγχυματικών Βλαστοκυττάρων (MSCs) που θα μπορούν να λειτουργήσουν αυτόνομα ή και συνεπικουρικά, έχοντας καλύτερη αντιμετώπιση συμπτωμάτων, πρόληψη παρενεργειών, απαλοιφή εξάρσεων νόσου, ανοσοκαταστολή για μείωση της φλεγμονής και αποκατάσταση βλαβών κυττάρων ή ιστών, φαντάζει σπουδαία αν όχι ιδανική.

Η αρχή γίνεται το 1960 από τους McCulloch και Till οι οποίοι υποδεικνύουν την ύπαρξη πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων, το 1963 αναγνωρίζεται η ικανότητα αυτοανανέωσης αυτών και τελικά το 1970 από τον Frienenstein παρατηρείται σε καλλιέργημα, πολλαπλασιασμός κυττάρων και σχηματισμός οστού, καταλήγοντας στην ύπαρξη ενός δεύτερου πληθυσμού κυττάρων, που παρουσιάζει ικανότητα διαφοροποίησης σε οστεοκύτταρα, χονδροκύτταρα και λιποκύτταρα. Ορίζονται ως Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSC) από τον Caplan το 1991.

Στα MSC αρχικά αναγνωρίζονται ικανότητες, πολλαπλασιασμού, διαφοροποίησης, εύκολης καλλιέργειας τους, (κριτήρια του ISCT) ενώ αργότερα προστίθενται και δυνατότητες ανοσορύθμισης, έκκρισης αντιφλεγμονωδών παραγόντων, μετανάστευσης, αντιαποπτωτικές ιδιότητες, και εξωκυτταρικά κυστίδια. Ιδιότητες που ενισχύονται από θεραπείες που βασίζονται σε γονιδιακή τροποποίηση των MSCs. Βρίσκουν κλινικές εφαρμογές σε φλεγμονώδη νοσήματα, αποκατάσταση ιστών, παθήσεις πνεύμονα, καρδιολογικά νοσήματα, αλλογενών μεταμοσχεύσεων, κακοηθειών και πολλά άλλα νοσήματα.

Αν και δεν υπάρχει συγκεκριμένος δείκτης που να διακρίνει τα MSC, εκφράζουν θετικά τα επιφανειακά αντιγόνα CD44, CD73, CD90, CD105 και είναι αρνητικά τους αιμοποιητικούς CD34, CD45 και HLA-DR.

Στην Ευρώπη αντιμετωπίζονται ως φαρμακευτικά προϊόντα ATMP, θέτοντας σαφείς κανονισμούς εναρμόνισης, αξιολόγησης και χρήση τους στο VHP. Η δημιουργία πρωτοκόλλων απαιτεί πιο συγκεκριμένα δεδομένα εναρμόνισης. Το cGMP σύστημα ελέγχου, θέτει στόχο την διασφάλιση ποιοτικών προτύπων παραγωγής MSCs για αυτόλογες και αλλογενείς μεταμοσχεύσεις και λοιπών εφαρμογών τους. Παραλλαγές στο πρωτόκολλο απομόνωσης και καλλιέργειας επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση, την ποιότητα και τη σύνθεση των MSC.

Πάνω από δύομιση χιλιάδες μελέτες έως σήμερα, έχουν καταγραφεί σε μοντέλα ζωικής προέλευσης, σε προκλινικές και κλινικές δοκιμές φάσης I με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Ωστόσο, οι κλινικές δοκιμές φάσης 2 και φάσης 3 σε ανθρώπινα μοντέλα, σημειώνουν περιορισμένα θεραπευτικά αποτελέσματα. Οι δυσκολίες του τελικού χαρακτηρισμού των MSCs, των ποικίλων ιδιοτήτων, των διαφορετικών πηγών τους, η σύνθεση των μέσων, ο τρόπος έγχυσης, είναι μερικές από τις δυσκολίες που επηρεάζουν σημαντικά την απόδοση αλλά ακόμα και η εφαρμογή τους.

Με αυτή την διπλωματική εργασία, γίνεται μία προσπάθεια αναφοράς και παρουσίασης των Μεσεγχυματικών Βλαστικών Κυττάρων και εφαρμογών τους.

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

Γενικά – Μεσεγχυματικά Βλαστικά κύτταρα

Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs) ονομάζονται τα αρχέγονα πολυδύναμα κύτταρα, τα οποία αποτελούν πρόδρομες μορφές ανθρώπινων κυττάρων και που μπορούν υπό κατάλληλες συνθήκες, να μετατραπούν σε όλους τους τύπους κυττάρων του οργανισμού. Περιγράφονται δύο κύριοι τύποι Βλαστοκυττάρων, τα εμβρυϊκά Βλαστοκύτταρα (ESC) η χρήση των οποίων εκφράζει κάποια ηθικά και νομικά ερωτήματα. (Green, 2007) και τα ενήλικα Βλαστοκύτταρα (ASC) η χρήση των οποίων, εμφανίζεται απαλλαγμένα ηθικών διλημάτων. Χαρακτηρίζονται κυρίως από την ικανότητα διαφοροποίησης τους σε ποικίλους κυτταρικούς τύπους και την δυνατότητα αυτοανανέωσης τους, απουσιάζει όμως η ικανότητα τους προς ανασύσταση όλου του οργάνου. Η ευκολία χρήσης τους προάγει κλινικές και προκλινικές μελέτες σε Βιοϊατρικούς κλάδους στον χώρο της Αναγεννητικής Ιατρικής (*regenerative medicine and tissue engineering*).

Έως σήμερα απαντώνται πάνω από 2.5 χιλιάδες κλινικές μελέτες προκειμένου την εφαρμογή των MSCs στην Αναγεννητική Ιατρική και αφορούν εύρος σημαντικών νοσημάτων όπως νευρολογικά, αυτοάνοσα, καρδιακά, ορθοπεδικά νοσήματα, παθήσεις του εντέρου και ήπατος και άλλα. Τα Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα μπορούν να απομονωθούν από τον μυελό των οστών, λιπώδη ιστό, ομφάλιο λώρο, το αμνιακό υγρό, από τον πλακούντα, τον οδοντικό πολφό, κ.ά.

Ιστορική Αναδρομή

Αρχές δεκαετίας του 1960 στο Ινστιτούτο καρκίνου του Οντάριο στο Τορόντο, οι McCulloch και Till παρατηρούν ανάπτυξη αποικιών στον σπλήνα ακτινοβολημένων ποντικών, αφού πρώτα έχουν δεχθεί εγχύσεις κυττάρων μυελού των οστών, υποδεικνύοντας την ύπαρξη πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων. (McCulloch & Till, 1960, pp. 115-125; Till & McCulloch, 1961) και την ίδια χρονιά, καταλήγουν στην κλωνικότητα αυτών των κυττάρων.

Αργότερα το 1963 με την βοήθεια του Andy Becker εδραιώνουν την θεωρία των βλαστοκυττάρων και αναγνωρίζεται η ικανότητα αυτοανανέωσης τους. Θεωρία που δημοσιεύεται στο περιοδικό Nature (Becker, McCulloch, & Till, 1963).

Ο Friedenstein, από την άλλη παρατηρεί στις αρχές του 1970 το πολλαπλασιασμό κυττάρων αλλά και τον σχηματισμό οστών, σε έκτοπη μεταμόσχευση μυελού στην κάψουλα του νεφρού, αποδεικνύοντας την ύπαρξη ενός δεύτερου πληθυσμού βλαστοκυττάρων, εκτός εκείνων των αιμοποιητικών, στον μυελό των οστών που δημιουργούν πρόδρομες ουσίες οστών (A. Friedenstein, Petrakova, & Kurolesova, 1968). Και είναι ο πρώτος που απομονώνει κύτταρα που μοιάζουν με ινοβλάστες μυελού των οστών με ικανότητα γρήγορης ανάπτυξης *in vitro* με τη μορφή αποικιών (Colony forming unit – fibroblast CFU-F) (Friedenstein, Chailakhjan, & Lalykina, 1970). Τα κύτταρα αυτά που προέρχονται από αποικίες CFU-F χαρακτηρίζονται από την ικανότητα διαφοροποίησης *in vitro* όχι μόνο σε οστεοκύτταρα, αλλά και σε χονδροκύτταρα και λιποκύτταρα. Και κατόπιν μεταμόσχευσης αποικιών CFU-F στον λήπτη, είναι σε θέση να συνδιαμορφώσουν το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών (A. Friedenstein, Chailakhjan, & Lalykina, 1974). Το 1991 ο Carlan θα προτείνει τον πιο χρησιμοποιούμενο όρο έως σήμερα «Μεσεγχυματικά Βλαστοκύτταρα» εξαιτίας της ικανότητας διαφοροποίησης τους σε παραπάνω από έναν τύπο κυττάρων που σχηματίζει συνδετικό ιστό (Carlan, 1991).

Σήμερα όροι όπως πολυδύναμα στρωματικά κύτταρα, στρωματικά κύτταρα του μυελού, βλαστοκύτταρα του μεσοδερμίου, μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα τείνουν να υπάρχουν ως συντομογραφίες απόδοσης του όρου MSC. Ωστόσο ο Carlan στην τελευταία εργασία το 2017 προτείνει τον όρο «Ιατρικά Σηματοδοτικά Κύτταρα» λόγω έμφασης του μηχανισμού των θεραπευτικών τους επιδράσεων κατόπιν μεταμόσχευσης, ο οποίος πιστεύεται ότι βασίζεται κυρίως στην έκκριση παραγόντων που διευκολύνουν τις αναγεννητικές διαδικασίες (Carlan, 2017).

Ελάχιστα κριτήρια Μεσεγχυματικών Βλαστικών Κυττάρων

Οι διαφορετικές μέθοδοι απομόνωσης και η διαφωνία προσέγγισης στον χαρακτηρισμό των MSC κυττάρων, καθιστά δύσκολη την σύγκριση και αντιπαραβολή αποτελεσμάτων στις αρχικές μελέτες όπως αυτές παρουσιάζονται από τους ερευνητές. Το 2006 η Επιτροπή Μεσεγχυματικών και Ιστικών Βλαστοκυττάρων της Διεθνούς Εταιρείας

Κυτταρικής Θεραπείας (ISCT) ενθαρρύνοντας ένα πιο ομοιόμορφο χαρακτηρισμό MSC, συνιστά την χρήση του ονόματος πολυδύναμα μεσεγγυματικά στρωματικά κύτταρα και θέτει ως ελάχιστα κριτήρια ταυτοποίησης των MSCs: (i) την ικανότητα αυτοανανέωσης (ii) την ικανότητα διαφοροποίησης σε οστεοβλάστες, λιποκύτταρα και χονδροβλάστες *in vitro* (Dominici, Blanc, & Mueller, 2006), (iii) την έκφραση ενός συνόλου επιφανειακών δεικτών, όπως το σύμπλεγμα διαφοροποίησης CD73, CD90 και CD105, ενώ στερείται έκφρασης των CD14, CD34, CD45 ή CD11b, CD79a ή CD19 ή αντιγόνα συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας κατηγορίας II (HLA-DR II). Επιπλέον, τα MSC εμφανίζουν ανάπτυξη που προσκολλάται στο πλαστικό *in vitro* με γρήγορο πολλαπλασιασμό (Prendleton, Li, Chesler, & Yuan, 2013; Thirumala, Goebel, & Woods, 2009).

Εκτός των ελάχιστων κριτηρίων της ISCT που εξακολουθούν να είναι ευρέως αποδεκτά έως σήμερα τα ακόλουθα αντιγόνα θα αποδειχθούν χρήσιμα στην απομόνωση των HMSCs από τον μυελό των οστών:

- (i) STRO-1 (αντιγόνο κυτταρικής επιφάνειας που εκφράζεται από στρωματικά στοιχεία στον ανθρώπινο μυελό των οστών-1) (Simmons & Torok - Storb, 1991)
- (ii) VCAM / CD106 (αγγειακό μόριο προσκόλλησης κυττάρων 1 (Gronthos, Zanettino, & Hay, 2003) και
- (iii) MCAM/CD146 (μόριο προσκόλλησης κυττάρων μελανώματος), που χαρακτηρίζει κύτταρα που αναπτύσσονται *in vitro* σε προσκολλώμενη μορφή και ικανότητα πολλαπλής διαφοροποίησης (Sacchetti, Funari, & Michienzi, 2007)

Αρχέγονα κύτταρα.

Ως αρχέγονα κύτταρα, ονομάζονται τα κύτταρα τα οποία αποτελούν πρόδρομες μορφές όλων των κυττάρων του ανθρώπινου σώματος και υπό κατάλληλες συνθήκες, μετατρέπονται σε όλους τους τύπους των κυττάρων του οργανισμού.

Έχοντας δύο κύρια χαρακτηριστικά αυτό της αυτοανανέωσης και αυτό της διαφοροποίησης, αποτελούν τα δομικά στοιχεία της ζωής αφού χτίζουν, επισκευάζουν, αναγεννούν τους ιστούς του ανθρώπινου σώματος

Δεν βρέθηκαν καταχωρήσεις πίνακα εικόνων. (Zakrzewski, Dobrzyński, & Szymonowicz, 2019).

Διαχωρίζονται δε, σε τρεις κύριες κατηγορίες, ανάλογα της δυναμικής τους:

1. Στα πρώιμα εμβρυικά βλαστοκύτταρα (Ολοδύναμα με ικανότητα διαφοροποίησης όλων των ιστών).
2. Στα εμβρυικά βλαστοκύτταρα (Πολυδύναμα, με ικανότητα διαφοροποίησης σε κύτταρα όλων σχεδόν των ιστών).
3. Στα νεογνικά – ενήλικα βλαστοκύτταρα (μερικώς πολυδύναμα με ικανότητα διαφοροποίησης σε κύτταρα συγκεκριμένων ιστών).
4. Τα νεογνικά βλαστοκύτταρα στα οποία ανήκουν τόσο τα αιμοποιητικά όσο και τα μεσεγχυματικά του ομφάλιου λώρου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Αιμοποιητικά – Μεσεγγυματικά Βλαστικά κύτταρα

Αρχέγονα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα (HSCs) αποτελούν τους δομικούς λίθους τόσο του κυκλοφορικού όσο και του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς μετατρέπονται σε:

- I. Λευκά αιμοσφαίρια: Άμυνα του οργανισμού, Φαγοκυττάρωση
- II. Ερυθρά αιμοσφαίρια: Μεταφορά οξυγόνου και θρεπτικών στοιχείων στα κύτταρα
- III. Αιμοπετάλια: Συμμετοχή στην αιμόσταση, επούλωση πληγών.

Μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα

Χαρακτηρίζονται ως αρχέγονα πολυδύναμα κύτταρα με δυνατότητα περισσότερων κυτταρικών διαιρέσεων και ικανότητα διαφοροποίησης στα περισσότερα είδη κυττάρων του σώματος, απουσία όμως της ικανότητας διαφοροποίησης σε αιμοποιητικά κύτταρα. Μεταξύ των δύο παραπάνω πληθυσμών αναγνωρίζουμε μία σημαντική διαφορά μεταξύ τους: Τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα βρίσκονται κυρίως στο μυελό των οστών της λεκάνης, του μηρού και του στέρνου, διαφοροποιούνται αποκλειστικά σε κύτταρα του αίματος των λευκών, των ερυθρών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων, ενώ τα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα που βρίσκονται στο μυελό των οστών, στον λιπώδη ιστό και στο αμνιακό υγρό, διαφοροποιούνται σε νευρώνες, οστά, χόνδρους, μύες και λιπώδη ιστό.

Αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα

Αρχικά τα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα, εμπεριέχονται στο αίμα του ομφάλιου λώρου, καθώς και στον πλακούντα και αποτελούν βλαστοκύτταρα που δεν διαφοροποιήθηκαν κατά την διάρκεια της εμβρυογένεσης (δεν σχημάτισαν ιστούς) και παρέμειναν στο αίμα του πλακούντα και του ομφάλιου λώρου. Η δυνατότητα συλλογής τους, πραγματοποιείται για μία και μόνη φορά στην ζωή του παιδιού, αυτήν κατά την γέννησή του. Η διαδικασία είναι ανώδυνη ακίνδυνη, αρχίζει μετά το τέλος του τοκετού και την αποκοπή του ομφάλιου λώρου. Προηγείται τοπική αντισηψία, κατόπιν ακολουθεί η παρακέντηση του ομφάλιου λώρου. Από το αίμα διαχωρίζεται ο πληθυσμός των εμπύρηνων κυττάρων μέσα στο οποίο βρίσκονται τα βλαστικά κύτταρα, καταψύχεται και διατηρείται σε συνθήκες υγρού αζώτου στους -196°C για πολύ μεγάλα χρονικά διαστήματα.

Το 2015 σε αναδημοσιευόμενες οδηγίες, σχετικά με την συλλογή ομφαλοπλακουντιακού αίματος της Εταιρείας Μαιευτικής – Γυναικολογικής του Καναδά, κατά τον τοκετό, επισημαίνεται ότι η καθυστερημένη αποκοπή του ομφάλιου λώρου δείχνει να παρέχει περισσότερο σίδηρο στο πρώτο εξάμηνο της ζωής των πρόωρων ή υποσιτιζόμενων νεογνών στους σιδηροπενικούς πληθυσμούς. Όμως, σε νεογνά προερχόμενα από μητέρες όπου διατρέφονται φυσιολογικά, η καθυστερημένη αποκοπή του ομφάλιου λώρου, φαίνεται να μην παρουσιάζει κάποιο πλεονέκτημα. Αργότερα στην εμβρυϊκή και ενήλικη ζωή, τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, βρίσκονται στο μυελό των οστών (BM). Στην κλινική πράξη οι ασθένειες που αντιμετωπίζονται με την μεταμόσχευση των αρχέγονων αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων είναι λευχαιμίες, μεταβολικά Νοσήματα, ανοσοανεπάρκειες, αυτοάνοσα νοσήματα κ.α.

Τα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα, προερχόμενα από το αίμα του ομφάλιου λώρου του νεογνού είναι γενετικά μοναδικά για το ίδιο. Επίσης, παρουσιάζουν μεγαλύτερη πιθανότητα επιτυχίας στο συγγενικό περιβάλλον, λόγω του γεγονότος ότι μειώνεται ο κίνδυνος παρουσίασης αντίδρασης του μοσχεύματος έναντι του ξενιστή (GVHD) από τα κύτταρα του μυελού των οστών. Αυτό οφείλεται στο ότι διαθέτουν λιγότερα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας στην επιφάνεια τους. (D.Cheuk, 2013)

Παραδοσιακά, ο μυελός των οστών θεωρείται η κυρίαρχη πηγή MSC στους ανθρώπους (Pittenger, Mackay, & Beeck, 1999). Ωστόσο, ενώ ο Μυελός των Οστών (BM) αφορά μία πλούσια πηγή αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, αποτελεί μόνο έναν σπάνιο πληθυσμό MSC (Li, Ghazanfari, Zacharaki, & Lim, 2016). Επιπλέον, η παροχή MSC που προέρχεται από BM (bmMSC) και η εφαρμογή τους στην έρευνα και στο κλινικό περιβάλλον είναι περιορισμένη, λόγω της επώδυνης διαδικασίας απομόνωσης τους, η οποία απαιτεί γενική αναισθησία.

Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα

Η δεύτερη από τις δύο βασικές κατηγορίες βλαστικών κυττάρων που απομονώνονται από τον ομφάλιο λώρο και τον πλακούντα, είναι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα. Αφορούν πολυδύναμα κύτταρα με ικανότητα διαφοροποίησης σε ποικίλους κυτταρικούς τύπους και χρησιμοποιούνται σε ιστούς και όργανα προς αποκατάσταση, επανόρθωση ή αναγέννηση τους. Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα βρίσκονται:

- I. Στο περιαγγειακό ιστό του ομφάλιου λώρου
- II. Στη ζελατινώδη ουσία Wharton (Wharton jelly= ζελατινώδης γέλη εντός του ομφάλιου λώρου, που προστατεύει τα αγγεία)

Καλλιεργούνται και διαφοροποιούνται προς οστεοβλάστες, χονδροκύτταρα, νευρικά κύτταρα, παγκρεατικά κύτταρα, ηπατοκύτταρα, λιποκύτταρα.

Έχει δειχτεί ότι η χρήση τους:

- I. Στην αναγεννητική θεραπεία ιστών.
- II. Στην θεραπεία εκφυλιστικών ή φλεγμονωδών νοσημάτων.
- III. Ως ανοσορυθμιστικά κύτταρα στην θεραπεία της νόσου του μοσχεύματος κατά του ξενιστή, που παρατηρείται στις αλλογενείς αιμοποιητικές μεταμοσχεύσεις.
- IV. Στην ταχύτερη αποκατάσταση του μυελού των οστών στις αυτόλογες και αλλογενείς μεταμοσχεύσεις.

Πλεονεκτήματα συλλογής αρχέγονων κυττάρων κατά την γέννηση

Η συλλογή τόσο των HSCs όσο και των MSCs που πραγματοποιείται κατά την γέννηση του παιδιού από τον ομφάλιο λώρο, πλεονεκτεί έναντι αυτών που συλλέγονται από ενήλικες δότες, επειδή:

- Είναι νεαρά κύτταρα απουσία αυτοσωμικών μεταλλάξεων
- Δεν έχουν υποστεί περιβαλλοντικές επιδράσεις και φαινόμενα γήρανσης
- Απομονώνονται και συλλέγονται ανώδυνα
- Παρουσιάζουν υψηλό δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού και δυνατότητες διαφοροποίησης σε σχέση με τα MSCs προερχόμενα από το μυελό των οστών ή το λιπώδη ιστό των ενηλίκων

Τράπεζες Μεσεγχυματικών Κυττάρων

Τα μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα (MSCs) έχουν κερδίσει την προσοχή της ιατρικής και επιστημονικής κοινότητας, λόγω των ανοσοκατασταλτικών και αναγεννητικών τους ιδιοτήτων (Wu X., 2020) με πάνω από δύομιση χιλιάδες μελέτες, έως σήμερα να καταγράφουν τις κλινικές εφαρμογές των MSCs στην αναγεννητική ιατρική. Ωστόσο για την παραγωγή ανθρώπινων MSC, σε κλινική χρήση, αρχικά απαιτείται η χρήση «καθάρων δωματίων» (Clean rooms) με συμμόρφωση στα πρότυπα καλής παρασκευαστικής

πρακτικής (Good Manufacturing Practice cGMP) (EudraLex Volume 4, Part IV) όπως αυτές ορίζονται στον ευρωπαϊκό κανονισμό προηγμένων θεραπειών (Sanz - Nogues & O'Brien, 2021) αλλά και μέσω επικυρωμένων πρωτοκόλλων χειρισμού των κυττάρων. Έτσι, αίρονται τα εμπόδια που σχετίζονται με την ετερογενή φύση των καλλιεργειών MSC και διασφαλίζεται η ποιότητα και η ασφάλεια των προϊόντων αυτών.

Κεφάλαιο 3. Κανονισμοί – Πρωτόκολλα

Φαρμακευτικά προϊόντα σωματικών κυττάρων (ATMP)

Στην Ευρώπη τα MSC θεωρούνται φαρμακευτικά προϊόντα σωματικών κυττάρων προηγμένης θεραπείας ATMP (Advanced therapy medicinal products). Είναι φάρμακα, κατασκευασμένα από τροποποιημένους ιστούς ή κύτταρα που έχουν υποστεί αλλαγή των βιολογικών χαρακτηριστικών τους, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν στην επισκευή, την αναγέννηση ή την αντικατάσταση του ανθρώπινου ιστού.

Καθορίζονται από συγκεκριμένο ρυθμιστικό πλαίσιο ATMP κανονισμού 1394/2007/EK και την οδηγία 2009/120/EK. Ο κανονισμός αυτός προβλέπει συγκεκριμένες αρχές για την αξιολόγηση και την αδειοδότηση των ATMP στην ΕΕ. Οι κανονισμοί (ΕΕ) 2017/745 και (ΕΕ) 2017/746 αφορούν κατευθυντήριες γραμμές των ιατροτεχνολογικών προϊόντων όταν χρησιμοποιούνται με συνδυαστικό τρόπο τα MSC. Με την νομοθεσία της Ε.Ε. για τα ATMP να εξελίσσεται σε ένα πολύπλοκο ρυθμιστικό περιβάλλον προκύπτει η ανάγκη αξιολόγησης εφαρμογών πολυεθνικών κλινικών δοκιμών για την εναρμόνιση, τον σχεδιασμό, την ανάπτυξη, τη κατασκευή και την έγκριση των ATMPs σε όλα τα κράτη της Ε.Ε. Περιλαμβάνονται οδηγίες για εθελοντική διαδικασία εναρμόνισης VHP προς αξιολόγηση εφαρμογών πολυεθνικών κλινικών δοκιμών στα κράτη της Ε.Ε. (CTFG/VHP/Rev7 Οκτωβρίου 2020), έχοντας ως στόχο, θέσπιση κριτηρίων σύμπτωσης για τον σχεδιασμό, την ανάπτυξη, την κατασκευή και την έγκριση των ATMP στην Ε.Ε για την επιτάχυνση των διαδικασιών των πολυεθνικών εφαρμογών κλινικών δοκιμών στα κράτη της Ε.Ε.

Τρέχουσα ορθή παραγωγική πρακτική cGMP

Με τελικό στόχο την άρτια παραγωγή MSCs κλινικού βαθμού, απαιτείται συμμόρφωση σύμφωνα με τα πρότυπα της cGMP (Current Good Manufacturing Practice). Το cGMP αναφέρεται σε ένα επίσημο σύστημα ελέγχου που χρειάζεται να ακολουθείται από κάθε εργαστήριο παραγωγής MSCs ώστε να εξαλείφεται ή να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα μόλυνσης, λάθους, αποκλίσεων, αστοχιών και σφαλμάτων διασφαλίζοντας έτσι ποιοτικά πρότυπα στα παραγόμενα φαρμακευτικά προϊόντα σωματικών κυττάρων. Έχοντας ως βασικές αρχές την διαχείριση ποιότητας, την συνεχιζόμενη εκπαίδευση του προσωπικού, τον εξοπλισμό, τις πρώτες ύλες και την τεκμηρίωση.

Θεωρήσεις cGMP για την ανάπτυξη θεραπευτικών MSC

- Αυτόλογη: λήψη MSCs από τον ίδιο τον ασθενή, με κύριο πλεονέκτημα τις μηδενικές ανοσολογικές αντιδράσεις. Σημαντικό πλεονέκτημα σε οξείες ή ταχέως εξελισσόμενες ασθένειες όπως σήψη, εγκεφαλικό επεισόδιο, έμφραγμα του μυοκαρδίου, ή σε ισχαιμία των κάτω άκρων (CLI).
- Αλλογενής: λήψη MSCs από άλλον δότη. Τα MSCs προκαλούν μία ανοσοαπόκριση *in vivo* και θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε αλλογενείς θεραπείες (Mohamed , L., V, A, & J, 2020). Άλλοι παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο και το κλινικό υπόβαθρο του δότη, αξίζουν προσοχής, μιας και υπάρχουν ενδείξεις για επιδράσεις των MSCs στην θεραπευτική αποτελεσματικότητα τους (Eva, R, F, C, & F, 2020) ενώ φαίνεται να επηρεάζει τις ιδιότητες των MSCs (Jin et al., 2017) και ίσως να σχετίζεται με την εμφάνιση καρυοτυπικών ανωμαλιών (Mohamed et al., 2020).

Χαρακτηριστικά επέκτασης: προκειμένου να υπάρχει επαρκής αριθμός κυττάρων για την επίτευξη κλινικών δόσεων, τα MSC υποβάλλονται σε εκτεταμένες *in vitro* καλλιέργειες. Παράγοντες όπως η διαδικασία απομόνωσης, η πυκνότητα των κυττάρων, ο χρόνος διπλασιασμού και ο αριθμός ανακαλλιεργειών, παίζουν ουσιαστικό ρόλο με σημαντική επίπτωση στην κινητική και την απόδοση της ανάπτυξης των MSCs. Ως θρεπτικό συμπλήρωμα ζωικής προέλευσης για την καλλιέργεια και πολλαπλασιασμού των MSCs επιλέγεται ο εμβρυϊκός βόειος ορός (FBS).

Κεφάλαιο 4. Ιδιότητες των Μεσεγχυματικών Βλαστικών κυττάρων

Τα MSC έχουν χαρακτηριστικά ευρείας πηγής απομόνωσης, εύκολου διαχωρισμού, της καλλιέργειας τους *in vitro* και διατήρησης των ιδιοτήτων τους, ενώ παρουσιάζουν ισχυρή δυνατότητα αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης. Έχουν ρόλο στην ανοσολογική ρύθμιση, αλληλοεπιδρούν με κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και επιδεικνύουν παρακρινή δράση. Έχουν χαμηλή ανοσογονικότητα, καθιστώντας τα πολύτιμα σε αλλογενείς μεταμοσχεύεις αφού η απόρριψη του ανοσοποιητικού δεν πυροδοτείται εύκολα. Διαθέτουν ικανότητα μετανάστευσης σε φλεγμονώδη σημεία και τραυματισμένους ιστούς, καθιστώντας ιδανικά ως προς την αποκατάσταση βλαβών ιστών και οργάνων (Songyue Lou, 2021).

Ιδιότητα αυτοανανέωσης και πολλαπλασιασμού τους:

Η ικανότητα τους να πολλαπλασιάζονται χωρίς απώλεια διαφοροποίησης και χωρίς να υφίστανται βιολογική γήρανση.

Διαφοροποίηση *in vitro*

Τα MSC παρουσιάζουν ικανότητα διαφοροποίησης σε οστεοκύτταρα, χονδροκύτταρα, λιποκύτταρα, μυοκύτταρα, κύτταρα ήπατος, νευρικά κύτταρα κ.α. με τη χρήση κατάλληλων μέσων. Έχοντας ως κύριο στόχο την αναγέννηση των τραυματισμένων ιστών του ανθρώπινου οργανισμού, η αποτελεσματικότητα των διαφοροποιημένων MSCs στην αναγέννηση τους, εξαρτάται από την ικανότητα διατήρησης της διαφοροποίησης προς την επιθυμητή μοίρα των κυττάρων. Έτσι εφόσον τα MSC αποτελούν μία ελκυστική πηγή αυτόλογων μεταμοσχεύσεων, μελέτες στοχεύουν στην κατανόηση των ρόλων των κυτταροκινών και του προσδιορισμού παραγόντων μεταγραφής μέσω παρατήρησης των κυτταρικών και μοριακών οδών σηματοδότησης.

Η διαφοροποίηση των MSCs σε συγκεκριμένο τύπο ώριμων κυττάρων ελέγχεται από κυτταροκίνες, αυξητικούς παράγοντες, παράγοντες μεταγραφής και εξωσώματα. Οι παράγοντες μεταγραφής προωθούν μία γενετική επεξεργασία που υφίστανται τα MSC για την διαφοροποίησή τους. Έτσι η υπερέκφραση ενός μεμονωμένου παράγοντα μεταγραφής (Runx2, Sox9, PPARγ, MyoD, GATA4 και GATA6) στα MSCs μπορεί να προάγει την διαφοροποίηση σε συγκεκριμένη κυτταρική γενεαλογία (Sami G. Almalki, 2016b).

Οστεογονική διαφοροποίηση

Ο μεταγραφικός παράγοντας Runx2, ως ουσιαστικός ρυθμιστής στον σχηματισμό των οστών, κατευθύνει τα MSCs να διαφοροποιηθούν σε προ-οστεοβλάστες αναστέλλοντας την λιπογενή και χονδρογονική διαφοροποίηση (T., 2006) ενώ MSCs παρουσία Runx2 σχηματίζουν περισσότερα οστεοκύτταρα, συγκριτικά με αυτά της ομάδας ελέγχου (Zhao Z, 2005). Το Runx2 υποστηρίζει την διατήρηση της οστεογονικής γενεαλογίας και του φαινοτύπου των οστεοβλαστών (Varela N, 2015) υποδεικνύοντας την σπουδαιότητα του γονιδίου Runx2 στην ενίσχυση της διαφοροποίησης της οστεογονικής διαφοροποίησης.

Χονδρογονική διαφοροποίηση

Για την *in vitro* χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs χρησιμοποιείται μέσο με φωσφορικό ασκορβικό οξύ, δεξαμεθαζόνη, αλβουμίνη ορού βοοειδών, πυροσταφιλικό νάτριο, τρανσφερίνη, σεληνικό οξύ, προλίνη, L-γλουταμίνη και TGF-β1 (Okamoto T, 2002) με την μορφολογία των MSCs να αλλάζει σε στρογγυλό σχήμα από μορφή τύπου ινοβλαστών.

Εδώ στην χονδρογονική διαφοροποίηση, οι μεταγραφικοί παράγοντες παίζουν ρόλο στην γονιδιακή έκφραση των δεικτών για χονδροκύτταρα (κολλαγόνου τύπου 2, 9, 10, 11, της αγρεκάνης και της πρωτεΐνης συνδέσμου χόνδρου) (Bridgewater LC, 1998b; Kou I, 2004; Sekiya I, 2000; Zhang P, 2003). Πρώιμος μεταγραφικός παράγοντας που ελέγχει την έκφραση των βασικών γονιδίων στην χονδρογένεση. Ελέγχει την έκφραση του κολλαγόνου τύπου 9, όπου συνδεόμενο με τον υποστηρικτή αυτού του γονιδίου σχηματίζει σύμπλοκα *tran*-ενεργοποίησης με άλλες πρωτεΐνες. (Bridgewater LC, 1998a; Wang ZH, 2014) Ενώ αναστολή του Sox9 και της χονδρογονικής διαφοροποίησης παρατηρείται σε αυξημένη λειτουργία του miR-574-3p (Guerit D, 2013)

Αντίθετα αυξημένη χονδρογονική διαφοροποίηση παρατηρείται κατόπιν μετα-εμβολιασμού των MSCs από ένα συνδυασμό γονιδίων Sox5, Sox6, Sox9 (Park JS, 2011) Ένας άλλος μεταγραφικός παράγοντας, η πρωτεΐνη ψευδαργύρου – δακτύλου 145 (ZNF-145) παίζει ρόλο στη διαφοροποίηση των MSCs σε χονδροκύτταρα (M. M. Liu TM, Hutmacher DW, Hui JH, Lee EH, Lim B., 2007) και η αναστολή του οποίου μειώνει τη

χονδρογονική διαφοροποίηση ενώ η υπερέκφραση του οποίου ενισχύει την έκφραση του Sox9 και την χονδογένεση (G. X. Liu TM, Tan HS, Hui JH, Lim B, Lee EH., 2011).

Λιπογενής διαφοροποίηση

Η λιπογενής διαφοροποίηση ενεργοποιείται κατόπιν επώασης των MSCs σε μέσο που περιέχει 3-ισοβουτυλ-1-μεθυλ-ξανθίνη, ινσουλίνη, ινδομεθακίνη, τριωδοθειονίνη, Asc-2-P, βασικό FGF και το γλυκοκορτικοειδές δεξαμεθαζόνη (Zhang HH, 2009) (Suva, al. 2004· Zhang et al., 2009). (Suva D, 2004)

Ένας από τους βασικούς μεταγραφικούς παράγοντες για την λιπογονική διαφοροποίηση των MSCs είναι ο υποδοχέας γ (PPAR γ) (Zhuang H, 2015) (Nuttall ME, 2004) η αναστολή του οποίου καταστέλλει την λιπογένεση των MSCs (Bionaz M, 2015; Morganstein DL, 2010; Yu WH, 2012) Επίσης ως μεταγραφικοί παράγοντες με κύριους ρυθμιστικούς ρόλους στη λιπογενετική διαφοροποίηση των MSC αναφέρονται οι PPAR γ 1, PPAR γ 2, EBF-1. Μεταγραφικοί παράγοντες με λειτουργικό ρόλο στην λιπογένεση συμπεριλαμβάνονται οι CEBPB, PRDM16, Twist-1, Dermo-1, COUP-11, Sox2 και Oct4.

Ενώ οι μεταγραφικοί παράγοντες GATA-2 Foxa1 και HOXC 8 λειτουργούν ανασταλτικά στην λιπογονική διαφοροποίηση των MSC. (Sami G. Almalki, 2016a) Ο παράγοντας GATA-2 ο οποίος αν και ελέγχει τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων λειτουργεί κατασταλτικά στην λιπογόνο διαφοροποίηση των MSCs όταν ενεργοποιηθεί. (Okitsu Y, 2007) Ομοίως σε καταστροφή του μεταγραφικού παράγοντα forkhead (Foxa1) υπάρχει αύξηση έκφρασης των βασικών μεταγραφικών παραγόντων στην έκφραση της λιπογένεσης PPAR γ , C/EBPA (Fujimori K, 2011).

Μυογονική διαφοροποίηση

Κύτταρα σκελετικών μυών: Η διαφοροποίηση των MSC σε κυτταρική γενεολογία σκελετικών μυών γίνεται όταν υποβάλλονται σε επεξεργασία με τον παράγοντα απομεθυλίωση 5 αζακυτιδίνη (Rowlands AS, 2008) (Jackson L, 2007) και η μυογονική διαφοροποίηση προωθείται με καλλιέργεια MSCs σκελετικών μυοκυττάρων, νεογνικών ινοβλαστών και νεογνικών καρδιομυοκυττάρων. (P. D. Ramkisoensing AA, Askar SF,

Passier R, Swildens J, Goumans MJ, Schutte CI, de Vries AA, Scherjon S, Mummery CL, Schalij MJ, Atsma DE., 2011)

Οι Pax 3, Pax 7, MyoD, Myf-5 μυογονικοί παράγοντες μεταγραφής έχουν ρυθμιστικούς ρόλους στην διαφοροποίηση των κυττάρων των σκελετικών μυών MSC. Οι Pax 3, Pax 7, συμβάλλουν στην πρώιμη ανάπτυξη των γραμμωτών μυών κατά την ανάπτυξη και αναγέννηση των σκελετικών μυών, ενώ η υπερέκφραση Pax 3 στα MSC προάγει την μυογονική διαφοροποίηση των MSC και εμποδίζει την λιπογενή, οστεογονική και χονδρογονική διαφοροποίηση (Gang EJ, 2008) Οι παράγοντες μεταγραφής Myogenin, TAZ, IGF-II επίσης παίζουν λειτουργικό ρόλο στην μυογονική διαφοροποίηση. Έκπληξη αποτελεί ότι η έκφραση των MyoD, Myf-5 καθορίζουν διαφορετικές σειρές μυικών κυττάρων προερχόμενα από διαφορετικά δεσμευμένα MSCs (Braun T, 1996) Αντίθετα ο παράγοντας μεταγραφής TNF- α μέσω ενεργοποίησης της οδού σηματοδότησης NK-Κ β αναστέλλει την μυογονική διαφοροποίηση και μειώνει την οδό σηματοδότησης IGF-1 (Zhao Q, 2015) ενώ το ενεργοποιημένο TGF - β Smad3 επεμβάνει και καταστέλλει άμεσα την μεταγραφική δραστηριότητα του MyoD και της Μυογενίνης. (B. B. Liu D, Derynck R., 2001; K. J. Liu D, Derynck R., 2004)

Διαφοροποίηση Καρδιομυοκυττάρων

Με καλλιέργεια MSC σκελετικών μυοκυττάρων, νεογνικούς ινοβλάστες και νεογνικά καρδιομυοκύτταρα προωθείται η μυογονική διαφοροποίηση (P. D. Ramkisoensing AA, Askar SF, Passier R, Swildens J, Goumans MJ, Schutte CI, de Vries AA, Scherjon S, Mummery CL, Schalij MJ, 2011) (Lee JH, 2005) Τα MSCs διαφοροποιούνται σε καρδιομυοκύτταρα μετά από δύο με τρεις εβδομάδες θεραπείας με 5-αζακυτιδίνη σε ένα μέσο που αποτελείται από DMEM χαμηλής γλυκόζης συμπληρωμένο με 10% FBS (Wei F, 2011) Η υπερέκφραση των Nkx2.5 και GATA4 προάγει τη διαφοροποίηση των MSC σε καρδιομυοκύτταρα και απαιτούνται για καρδιομυογονική διαφοροποίηση (Arminan A, 2010) (Yamada Y, 2007) (Li H, 2010). Τα γενετικά τροποποιημένα MSCs με αδενοφορέα έκφρασης Trx1 σε σύγκριση με MSCs ελέγχου απουσίας αδενοφορέα έκφρασης Trx1 δίνουν σημαντική αύξηση πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης των MSCs σε καρδιομυοκύτταρα in vitro και in vivo μετά από μεταμόσχευση ιστού καρδιάς ποντικίου. (Suresh SC, 2015) Ενώ αυξημένη ικανότητα διαφοροποίησης των MSCs σε

καρδιομυοκύτταρα, ευνοούν γενετικά τροποποιημένα MSCs με αδενοφορέα επερέκφρασης της ενδοκυτταρικής περιοχής Notch1 (NICD) (Ding R, 2015)

Διαφοροποίηση κυττάρων λείων μυών

Οι κύριοι μεταγραφικοί παράγοντες που διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη διαφοροποίηση των MSC σε λεία μυϊκά κύτταρα είναι οι GATA6 και SRF. Η έκφραση γονιδίων του λείου μυϊκού ιστού α -SMA, SM22- α , SMMHC και καλποπίνη στα MSC ενισχύεται από την ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων GATA6 και SRF, από τον TGF- β (Deaton RA, 2005) ενώ η έκφραση PPAR γ έχει ανασταλτική επίδραση στη διαφοροποίηση των MSC σε κύτταρα λείου μυός.

Διαφοροποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων (EC)

Μεταγραφικοί παράγοντες με λειτουργικές επιδράσεις στη διαφοροποίηση των MSC σε ενδοθηλιακά κύτταρα, αναγνωρίζονται οι Sox18, HOXA7, HOXB3, HOXB5 και Notch1, ενώ τα HOXA3 και HOXB13 βρέθηκαν να ρυθμίζονται προς τα κάτω κατά τη διαφοροποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων των MSCs. Επιπλέον, η θεραπεία των MSCs με VEGF-A και ATII έχει αναφερθεί ότι διεγείρει την έκφραση δεικτών ενδοθηλιακών κυττάρων κατά τη διαφοροποίηση των MSCs. (Ikharoh IA, 2015b) Απουσία του Sox18 τα MSC διατηρούν το αδιαφοροποίητο φαινότυπο τους ενώ σε υπερέκφραση του Sox18 στα MSC διεγείρεται η διαφοροποίηση των MSC σε EC (Ikharoh IA, 2015a)

Μεταναστευτική ικανότητα των MSCs

Η ικανότητα μετανάστευσης των MSC στα φλεγμονώδη σημεία, αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση, προκειμένου την κυτταρική θεραπεία και της μηχανικής ιστών, κατά την διαδικασία επούλωσης τους. Μία διαδικασία η οποία ρυθμίζεται από χημικούς και μηχανικούς παράγοντες. (Xiaorong Fu, 2019a) Μετακινούνται μέσω της περιφερικής κυκλοφορίας (Funari A., 2019) (Sacchetti B., 2007) σε τραυματισμένους ιστούς και μέσω έκκρισης χημειοκινών, κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων, βοηθούν στην αναγέννηση των ιστών (Folestad E., 2018a) (Zhang S.J., 2016a) (Gnecchi M., 2016) (Q. J. Huang B., Ma J., Huang Z., Shen Y., Chen X., Sun A., Ge J., Chen H, 2014). Ενώ η ικανότητα εγκατάστασης

και παραμονής τους για μεγάλο χρονικό διάστημα στον ιστό στόχο, ορίζουν την αποτελεσματικότητά τους. (Lin W., 2017)

Μέθοδοι μετανάστευσης MSC: In vitro οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την μελέτη μετανάστευσης των βλαστοκυττάρων είναι κυρίως οι δοκιμές:

α. Transwell ή προσδιορισμός Boyden: μετρά τη χημειοτακτική ικανότητα των κυττάρων προς ένα χημειο-ελκυστικό, αλλά και την εισβολή των κυττάρων μέσω της εξωκυτταρικής μήτρας, σε αγγειογενείς επαγωγείς ή αναστολείς.

β. Scratch δοκιμασία: Κατάλληλη για μελέτες σχετικά με αλληλεπιδράσεις κυττάρου-μήτρας και κυττάρου-κυττάρου. Στην ουσία δημιουργείται μία σχισμή «γρατζουνιά» σε μία μονοστρωματική κυψέλη και ακολουθεί ο ποσοτικός προσδιορισμός του ρυθμού μετανάστευσης των κελιών (Liu C., 2017), (Lin W., 2017)

Ιχνηλάτηση μετανάστευσης MSC: Σημασμένα με φθορισμό ή με χρήση λουσιφεράσης, μεταμοσχευμένων MSC και εν συνεχεία παρακολούθησης τους με συστήματα βιοαπεικόνισης in vivo. (Oh E.J., 2018a) (Zhang S.J., 2016a) (Nakamura Y., 2013)

Η μετανάστευση των MSCs προς τους ιστούς στόχους, είναι μία περίπλοκη διαδικασία, η οποία ρυθμίζεται από χημικούς και μηχανικούς παράγοντες.

Χημικοί παράγοντες που ρυθμίζουν την μετανάστευση των MSC

Όπως ήδη αναφέρθηκε οι χημειοκίνες, κυτοκίνες και αυξητικοί παράγοντες αφορούν παράγοντες που επηρεάζουν την διαδικασία μετανάστευσης των Βλαστοκυττάρων σε φλεγμονώδη περιοχή.

Άξονας SDF-1/CXCR4: Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair

Ο παράγοντας -1 που προέρχεται από το στρωματικό κύτταρο-1 (SDF-1) αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα CXCR4 διαδραματίζοντας ρόλο κινητοποίησης των BMSCs από τον μυελό των οστών στο περιφερικό αίμα και από εκεί σε τραυματισμένους ιστούς. In vitro μελέτη, συγκέντρωση του SDF-1 μικρότερη από 100 ng/mL, ο αριθμός των μεταναστευτικών κυττάρων αυξήθηκε. Αντίθετα, ο αριθμός των μεταναστευτικών κυττάρων μειώθηκε σε συγκέντρωση πάνω από 100 ng/mL SDF-1. (Liu X., 2011)

Σε *in vitro* και *in vivo* έρευνα του άξονα SDF-1/CXCR4 αποδίδει σημαντικό ρόλο σηματοδότησης προς τραυματισμένο ήπαρ ποντικών. Προκειμένου να αποδειχθεί ότι η μετανάστευση ήταν αποτέλεσμα σηματοδότησης SDF-1/CXCR4. χρησιμοποιήθηκαν οι ανταγωνιστές CXCR4, AMD3100 και το αντίσωμα αντι-CXCR4 όπου η συγκέντρωση του SDF-1 στα 100 ng/mL, μετά της προσθήκης του AMD3100 στα 24 µg/mL, 48 µg/mL και 96 µg/mL, σημείωσε σημαντική πτώση των μεταναστευτικών κυττάρων. Ομοίως σημαντική μείωση των μεταναστευτικών κυττάρων παρατηρήθηκε μετά την προσθήκη αντισώματος αντι-CXCR4 στα 20 µg/mL, 40 µg/mL 80 µg/mL και 96 µg/ Η κυτταρική μετανάστευση στο ήπαρ, μετρήθηκε με ένταση φθορισμού, με σύστημα απεικόνισης *in vivo*. (Kuai Xiao Ling, 2016)

Σταδιακή αύξηση παρατηρείται σε έκφραση του mRNA και της πρωτεΐνης του CXCR4 καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του SDF-1 και η μεταμόσχευση BMSC με έκφραση CXCR4 που προκαλείται από SDF-1 μπορεί να προάγει την αποκατάσταση της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης (Deng Q.J., 2017).

Ενώ μελέτες επιβεβαιώνουν την σημαντική αύξηση στο επίπεδο έκφρασης του SDF-1 και η στρατολόγηση BMSC που εκφράζουν CXCR4 προς τη βαθμίδα SDF-1 παίζει κρίσιμο ρόλο στην καρδιακή αποκατάσταση κατόπιν τραυματισμού. (Kuai X.L., 2016) (Pillariseti K., 2001) (Askari A.T., 2003 doi: 10.1016/S0140-6736 (03)14232-8.)

Υπερέκφραση του CXCR4 σε BMSC μετά από ενδοκαρδιακή ένεση σε μοντέλο μη παχύσαρκου διαβητικού/σοβαρής συνδυασμένης ανοσοανεπάρκειας (NOD/SCID) βελτίωσε την επιστροφή των BMSC στον μυελό των οστών. Στα MSC ενίσχυσε τη χημειοταξία προς το SDF-1 και η επιστροφή προς τον BM βρέθηκε επίσης μετά τη μεταμόσχευση των MSC που υπερέκφραζαν το CXCR4 με ενδομυελικές ενέσεις και ενέσεις στη φλέβα της ουράς, αντίστοιχα. Οι Cheng et al. έδειξε επίσης ότι η υπερέκφραση του επιφανειακού CXCR4 αύξησε τη μεταμόσχευση BMSC στο έμφραγμα μυοκάρδιο βελτιώνοντας την καρδιακή απόδοση.

Οστεοποντίνη (OPN)

Είναι μία φωσφορυλιωμένη γλυκοπρωτεΐνη που κυρίως εκφράζεται στα οστά αλλά συντίθεται και σε άλλους ιστούς. Αποκρίνεται ως κυτοκίνη, σε τραυματισμούς και φλεγμονές καρδιάς, νεφρών, πνευμόνων και άλλων ιστών. Μελέτες δείχνουν την αύξηση

της OPN να σχετίζεται με την αύξηση της κυτταρικής μετανάστευσης (Hirano Y., 2015) (Xu S.T., 2015) και ακολούθως ότι η μετανάστευση των BMSCs εξαρτάται από την συγκέντρωση των OPN (Leah F.R., 2008; S. G. Zou C., Luo Q., Yuan L., Yang L., 2011). Σε περαιτέρω εξέταση των μοριακών μηχανισμών στην επαγόμενη μετανάστευση από το OPN, οι υποδοχείς του, ιντεργκίνη β1 και CD44v6, ανιχνεύονται με χρήση RT-PCR και ανοσοαποτύπωμα κατά Western, όπου το OPN προωθεί την έκφραση m RNA της ιντεργκίνης β1, ενώ η έκφραση του m RNA του CD44v6 δε μεταβάλλεται. Ο αποκλεισμός της ιντεγκρίνης β1 ανέστειλε την επαγόμενη από το OPN μετανάστευση των rMSCs, υποδεικνύοντας την πιθανή εμπλοκή της, στη μετανάστευση που προκαλείται από OPN σε rMSCs. Τα δεδομένα μας έδειξαν για πρώτη φορά ότι το OPN αυξάνει την έκφραση της ιντεγκρίνης β1 σε rMSCs και προάγει τη μετανάστευση των rMSCs μέσω της προώθησης στην ιντεγκρίνη β1. (Chengyu Zou, 2011)

Σε άλλο μηχανισμό, ο OPN μέσω της προώθησης στην ιντεγκρίνη-β1, προωθεί την μετανάστευση των BMSCs αυξάνοντας την έκφραση της ιντεγκρίνης – β1 σε BMSC

Η ικανότητα αναδιαμόρφωσης ενός κυτταρικού σώματος, έχει ρόλο στην μεταναστευτική του συμπεριφορά και σχετίζεται με την ακαμψία του κυττάρου, η οποία καθορίζεται από την δομή του κυτταροσκελετού. (Bear J.E., 2014) και τον πυρήνα του. Ο κυτταρικός πυρήνας παρουσιάζεται πιο άκαμπτος σε σχέση με το κυτταρόπλασμα του κυττάρου. Έτσι η ακαμψία και το μέγεθος του κυτταρικού πυρήνα αποτελούν σημαντικό εμπόδιο στην μετανάστευση των κυττάρων μέσω στενών ανοιγμάτων. (L. D. Li Y., Zhang Q., Neelam S., Kuchibhotla R.A., Zhu R., Gundersen G.G., Lele T.P., Dickinson R.B., 2015) Έτσι, σε in vitro θεραπεία με OPN, όπου μειώθηκε ο αριθμός των κυτταροσκελετών ακτίνης, μέσω των μονοπατιών FAK-ERK1/2, παρατηρήθηκε ενισχυμένη μετανάστευση BSMSC, αφού μειώθηκε η ακαμψία των κυττάρων. (L. Q. Zou C., Qin J., Shi Y., Yang L., Ju B., Song G, 2013) Περαιτέρω έρευνα οδηγεί στο συμπέρασμα, ότι το OPN θα μπορούσε να μειώσει την πυρινική ακαμψία των BMSCs μειώνοντας την έκφραση του κύριου παράγοντα πυρινικής ακαμψίας του lamin A/C μέσω των παραγόντων FAK-ERK1/2 (L. Q. Liu L., Sun J., Wang A., Shi Y., Ju Y., Morita Y., Song G, 2017). Σημαντικό ρόλο επίσης στην αυξημένη μετανάστευση των κυττάρων με OPN, παίζει ο κυτταροσκελετός, ο οποίος ελέγχει μέσω της πρωτεΐνης SUN1 (βασικού συστατικού του κυτταροσκελετού και του

κυτταροσκελετικού συνδέτη) την μορφολογία και την ακαμψία του πυρήνα. (L. Q. Liu L., Sun J., Song G, 2019).

Αυξητικοί παράγοντες

Οι αυξητικοί παράγοντες είναι μια κατηγορία πολυπεπτιδίων που ρυθμίζουν την κυτταρική μετανάστευση, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τη σύνθεση της εξωκυτταρικής μήτρας. Μελέτες υποστηρίζουν ότι τα MSC εμφανίζουν αυξημένη μεταναστευτική ικανότητα, όταν καλλιεργηθούν με αυξητικούς παράγοντες. Επί του παρόντος, ο βασικός αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (bFGF), ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), ο αυξητικός παράγοντας ηπατοκυττάρων (HGF), ο αυξητικός παράγοντας που μοιάζει με ινσουλίνη (IGF-1), ο αυξητικός παράγοντας που προέρχεται από αιμοπετάλια (PDGF) και ο αυξητικός παράγοντας β1 (TGF-β1) χρησιμοποιούνται συνήθως στην επισκευή των ιστών. Αριθμός μελετών καταδεικνύει ότι αυτοί οι αυξητικοί παράγοντες είναι κρίσιμοι για την επαγωγή των MSC στο σημείο του τραυματισμού και για τη συμμετοχή των MSC στην αναγέννηση των ιστών. (Xiaorong Fu, 2019b)

B-FGF βασικός αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών

Αποτελεί ένα ισχυρό μιτογόνο που διεγείρει την μετανάστευση, τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση σε διάφορους τύπους κυττάρων (Beenken A, 2009) έχοντας ως κύρια έμφαση την αύξηση της μετανάστευσης των BMSCs σε τραυματισμένες θέσεις, μέσω ενεργοποίησης της οδού Akt/πρωτεϊνικής κινάσης B (PKB). (Schmidt A, 2006). Ενώ σε άλλες μελέτες ο b-FGF αυξάνει την μετανάστευση BMSC, μέσω έκφρασης της ιντεργκίνης αVβ3 και ενεργοποίηση μονοπατιών MEK/ERK και μονοπατιών εξαρτώμενα από τη φωσφατιδυλινοσιτόλη 3 - κινάση (PI3K) Akt (PI3K/AKT). (Schmidt A., 2010).

Τα επιμολυσμένα με bFGFMSCs επιδεικνύουν ενισχυμένη βιωσιμότητα και αντι-αποπτωτικές ιδιότητες υπό υποξικές συνθήκες. (Song H, 2005)

Επίσης το b-FGF θα μπορούσε να αυξήσει την ανάκτηση καταστραμμένων ιστών, όπως για παράδειγμα ο b-FGF των αιμοπεταλίων, κινητοποιεί ανθρώπινα BMSC και διεγείρει τα BMSCs να συμμετέχουν στην αποκατάσταση της αγγειακής ακεραιότητας μετά από τραυματισμό ενδοθηλίου (Tang J.M., 2011).

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας VEGF

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας VEGF περιγράφεται ως ειδικό μιτογόνο ενδοθηλιακών κυττάρων. Παράγεται από πολλούς τύπους κυττάρων μερικοί εκ των οποίων είναι τα μακροφάγα, τα αιμοπετάλια, κá. Οι δραστηριότητες του δεν περιορίζονται μόνο στο αγγειακό σύστημα αλλά παίζει ρόλο σε φυσιολογικές λειτουργίες όπως ο σχηματισμός οστών, αιμοποίησης, επούλωσης πληγών.

Ο VEGF-A αποτελεί το κύριο μέλος της οικογένειας των ενδοθηλιακών αυξητικών παραγόντων (Holmes D.I., 2005) (Yamazaki Y., 2006) και φαίνεται να μπορεί να διεγείρει τους υποδοχείς του αυξητικού παράγοντα προερχόμενο από τα αιμοπετάλια (PDGFRs) ρυθμίζοντας την μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων BMSC (Ball S.G., 2007).

Ο VEGF και ο υποδοχέας VEGFR, είναι βασικοί ρυθμιστές της ανάπτυξης και μετανάστευσης αρκετών βλαστοκυττάρων. Σε έμφραγμα του μυοκαρδίου η υπερέκφραση του VEGF σε ανθρώπινα BMSCs διεγείρει την έκφραση του SDF-1α έχοντας ως αποτέλεσμα την μαζική κινητοποίηση των BMSC και καρδιακών βλαστοκυττάρων, τα οποία μειώνουν το μέγεθος του εμφράγματος. (Langer H.F., 2009)

Αυξητικός παράγοντας ηπατοκυττάρων HGF

Ο HGF είναι ένας πολύτροπος παρακρινής κυτταρικός παράγοντας. Εκκρίνεται από τα μεσεγχυματικά κύτταρα και δρα ως πολυλειτουργική κυτοκίνη σε επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά επίσης σε αιμοποιητικά και T κύτταρα. Προάγει την ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό, την μετανάστευση και την επιβίωση ευρέως φάσματος κυττάρων, (Forte G., 2006c) (Trusolino L., 2018) ενεργοποιώντας έναν καταρράκτη σηματοδότησης κίνησης – τυροσίνης.

Η βραχυπρόθεσμη έκθεση Μεσεγχυματικών κυττάρων στο HGF, προκαλεί την ενεργοποίηση του συγγενούς υποδοχέα Met και των τελεστών ERK1/2, p38MARK και P13K/Akt, ενώ η μακροχρόνια έκθεση σε HGF έχει ως αποτέλεσμα την κυτταροσκελετική αναδιάταξη και κυτταρική μετανάστευση *in vitro* (Forte G., 2006a).

Η αύξηση έκφρασης micro RNA – 221 και micro RNA-26b, μορίων σηματοδότησης που προκλήθηκαν από HGF, μέσω ενεργοποίησης των οδών Akt και FAK, αύξησε την μεταναστευτικότητα BMSC αρουαίων (Zhu A., 2016).

Ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας IGF-1

Ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας ή αλλιώς η σωματομεδίνη C παρουσιάζει μοριακή δομή παρόμοια με αυτήν της ινσουλίνης. Είναι μία πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο IGF-1. Παράγεται κυρίως στο ήπαρ, η παραγωγή της οποίας διεγείρεται από την αυξητική ορμόνη (GH) ως ενδοκρινής ορμόνη, καθώς και στους ιστούς στόχους με παρακρινικό /αυτοκρινή τρόπο. Παράγεται σε όλη την διάρκεια της ζωής, με υψηλότερα ποσοστά παραγωγής IGF-1 κατά την εφηβική ανάπτυξη και χαμηλότερα στην βρεφική και μεγάλη ηλικία.

Η IGF-1 μπορεί να προκαλεί την μετανάστευση και πολλαπλασιασμό πολλαπλών τύπων κυττάρων (Mytilinaίου M., 2017) (Y. X. Li Y., Lin S., Li X., Zhang S., Song Y.H., 2007a) και αυτήν των BMSC παίζοντας σημαντικό ρόλο στις θεραπευτικές στρατηγικές με βλαστοκύτταρα στην Αναγεννησιακή ιατρική. (Q. J. Huang B., Ma J., Huang Z., Shen Y., Chen X., Sun A., Ge J., Chen H., 2014) (Xinaris C., 2013)

Υπερέκφραση IGF-1 σε BMSCs ποντικίου, βελτίωσε στην επιβίωση μεταμόσχευσης καρδιάς μετά από έμφραγμα, ενώ προώθησε την ενεργοποίηση βλαστοκυττάρων μέσω παρακρινής απελευθέρωσης του SDF-1 (Q. J. Huang B., Ma J., Huang Z., Shen Y., Chen X., Sun A., Ge J., Chen H., 2014).

Αποκατάσταση της νεφρικής λειτουργίας κατόπιν οξείας νεφρικής βλάβης, σημειώθηκε, σε προετοιμασία BMSC ποντικίων με IGF-1 πριν την έγχυση, αυξάνοντας την ικανότητα μετανάστευσης των κυττάρων. (Xinaris C., 2013) Σε διερεύνηση του υποκείμενου μηχανισμού, φαίνεται ότι ο IGF-1 αύξησε τα επίπεδα έκφρασης του υποδοχέα SDF-1 CXCR4 σε BMSCs ποντικίου και μέσω της οδού P13K αυξήθηκε η μεταναστευτική απόκριση των BMSCs. (Y. X. Li Y., Lin S., Li X., Zhang S., Song Y.H., 2007b)

Αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια PDGF

Ένα πολυπεπτιδικό διμερές που απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια κατά την αποκοκκίωση τους (Folestad E., 2018b) ρυθμίζοντας την ανάπτυξη και διαίρεση κυττάρων.

Κυρίως στον σχηματισμό αιμοφόρων αγγείων και στην ανάπτυξη τους από ήδη υπάρχοντα ιστό. Συμβάλει στην μιτογένεση των Μεσεγχυματικών Βλαστοκυττάρων, ινοβλαστών, οστεοβλαστών, αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και στην χημειοταξία, την κατευθυνόμενη μετανάστευση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων. Συντίθεται, αποθηκεύεται στα άλφα κοκκία των αιμοπεταλίων και απελευθερώνεται από αυτά κατά την ενεργοποίησή τους. Παράγεται και από κύτταρα λείων μυϊκών κυττάρων, ενεργοποιημένων μακροφάγων και ενδοθηλιακών κυττάρων.

Το δίκτυο σηματοδότησης των ανθρώπινων αιμοπεταλίων περιέχουν συνδέτες PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC (Hart C.E., 1988) (Fang L., 2016) τα οποία συνδέονται στους δύο υποδοχείς PDGFR α και PDGFR β . Με την ενεργοποίηση από τον PDGF αυτοί οι υποδοχείς, ενεργοποιούνται και μέσω της οδού P13K ενεργοποιούν την μεταγωγή σήματος.

Τα ανθρώπινα BMSC εμφανίζουν αποκρίσεις χημειοταξίας, σε παράγοντες όπως του εμβρυϊκού βόειου ορού, του PDGF, του VEGF, του IGF-1, με τον PDGF να εμφανίζεται ως ο ισχυρότερος αυξητικός παράγοντας στη μετανάστευση των BMSC (Mishima Y., 2008) και την επιδιόρθωση ιστών. Σε δοκιμασία επούλωσης τραύματος, ενεργοποιημένοι με PDGF-BB ινοβλάστες, προκάλεσαν αύξηση στην μετανάστευση BMSC ποντικών. (Nedeau A.E., 2008).

Ενισχυμένη επιτάχυνση επούλωση του τραύματος, παρατηρήθηκε σε τραύμα εκτομής σε ποντίκια, όταν εφαρμόστηκαν τοπικά, MSCs ανθρώπινου πλακούντα με έκφραση GFP, (PDGF, PDGFR- β +) σε σύγκριση με το PDGFR (Wang S., 2018). Ενώ ο αποκλεισμός της σηματοδότησης PDGF ανέστειλε την μετανάστευση και επιβίωση των MSC στο μικροπεριβάλλον του όγκου, αναστέλλοντας την ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου. (Kei S., 2012). Η ελαττωματική σηματοδότηση PDGFR επηρεάζει την μετανάστευση των MSC όπως αποδείχθηκε σε βρέφη με βρογχοπνευμονική δυσπλασία. Τα νεογνικά MSC πνεύμονα, εμφάνισαν χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης mRNA και πρωτεΐνης PDGFR α , PDGFR- β και μειωμένη μετανάστευση στην θεραπεία με PDGF (Porona A.P., 2014).

Ο μετασηματιστικός αυξητικός παράγοντας βήτα-1 (TGF-1)

Εκκρινόμενη πρωτεΐνης που εκτελεί πολλές κυτταρικές λειτουργίες, όπως ο έλεγχος της κυτταρικής ανάπτυξης, ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κυττάρων και της απόπτωσης. Αναγνωρίζεται για πρώτη φορά στα ανθρώπινα αιμοπετάλια ως πρωτεΐνη μοριακής μάζας 25 kilodaltons με πιθανότητα ρόλου, αυτή της επούλωσης πληγών. (Assoian R K, 1983).

Εμπλέκεται στην αποκατάσταση καταστραμμένων σημείων, ενώ αύξηση έκκρισης του TGF-β1 παρατηρείται σε τραυματισμένα μέρη. (Petrova V.V., 2008) (Zhang S.J., 2016b)

Μελέτη έδειξε την αύξηση έκφρασης του TGF-1 σε ισχαιμικό μυοκάρδιο ιστού ποντικού *In vivo*, προκαλώντας την επιστροφή των BMSC για την αποκατάσταση της μυοκαρδιακής βλάβης, μέσω ρύθμισης έκφρασης του CXCR4. (Zhang S.J., 2016b). Υψηλότερα επίπεδα ενεργού TGF-β1, υπήρχαν σε πνεύμονες ποντικών με άσθμα (που προκλήθηκε από εκχύλισμα αλλεργιογόνου κατσαρίδας (CRE)) αυξάνοντας την στρατολόγηση BMSC μετά από συστηματική ένεση GFP+ BMSCs (Gao P., 2014)

Προεπεξεργασμένα BMSC ποντικών με TGF-β1, βελτίωσαν την επούλωση τραύματος σε ένα μοντέλο συγγενούς τραύματος ποντικού (Ghosh D., 2017). Η ίδια μελέτη έδειξε ότι τα μονοπάτια σήματος N-cadherin, PI3K/Akt, ERK1/2, FAK και p38 εμπλέκονται στη μετανάστευση των ανθρώπινων BMSC σε απόκριση στον TGF-β1 (Dubon M.J., 2018). Από τα παραπάνω καταλήγουμε ότι για τις θέσεις τραυματισμού, η έκκριση TGF-β1 είναι ένας κρίσιμος τρόπος στρατολόγησης BMSCs και ότι η προετοιμασία με TGF-β1 μπορεί να είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος για να αυξηθεί η κατοικία και η μετανάστευση BMSC. (MesenchymalStemCellMigrationandTissueRepair, 2019)

Λοιποί χημικοί παράγοντες που εμπλέκονται στην μεσολάβηση της μετανάστευσης των BMSC είναι ο συνδέτης χημειοκίνης (μοτίβο C-X-C) ο συνδέτης 7 (CXCL7) (Almeida C.R., 2016), Leu-Leu 37 (LL-37) (Yang Y., 2016), κινάση τυροσίνης παρόμοια με *fms* 3 (Flt3) (Oubari F., 2015), και παράγοντας βλαστοκυττάρων (SCF) (Enciso N., 2018).

Μηχανικοί παράγοντες ρύθμισης μετανάστευσης MSCs

Η μηχανική καταπόνηση, η διατμητική τάση, η ακαμψία της μήτρας και η μικροβαρύτητα είναι κάποιοι από τους μηχανικούς παράγοντες που επηρεάζουν το μικροπεριβάλλον στο οποίο ζουν τα BMSC.

Μηχανική καταπόνηση

Κατά την διαδικασία μετανάστευσης σε τραυματισμένα σημεία, τα BMSCs προσκολλώνται στα τοιχώματα των αγγείων, όπου επιδέχονται αιμοδυναμικές δυνάμεις που ασκούνται σε αυτά τα τοιχώματα, με τη μορφή κυκλικής μηχανικής καταπόνησης και διατμητικής τάσης αίματος. Μέσω μελετών αποδεικνύεται ότι η μηχανική αυτή καταπόνηση, επηρεάζει την μεταναστευτική ιδιότητα των BMSC. Σε *in vitro* μελέτη, η μηχανική καταπόνηση (5%, 6 ώρες) αύξησε την μεταναστευτική ικανότητα των ανθρώπινων BMSC, δίνοντας ενισχυμένη οικοδόμηση και διαφοροποίηση των BMSC υπό μηχανικό τέντωμα στο διογκωμένο δέρμα και τα BMSC στρατολογήθηκαν σε σημεία όπου το SDF-1a εκφραζόταν περισσότερο. (Liang X., 2016 doi: 10.5966/sctm.2015-0274.)

Η κυκλική μηχανική διάταση (10%, 8 ώρες) προωθεί την μετανάστευση των BMSC μέσω σημάτων FAK και ERK1/2 (Zhang B., 2015). Τελικά τα αποτελέσματα *in vivo* και *in vitro* έδειξαν ότι το μηχανικό τέντωμα ρυθμίζει προς τα επάνω το SDF-1a, στο δέρμα και να στρατολογήσει κυκλοφορούντα BMSC μέσω της οδού SDF-1a/CXCR4 (W. J. Zhou S.B., Chiang C.A., Sheng L.L., Li Q.F., 2013)

Διατμητική καταπόνηση

Ένα άλλο είδος αιμοδυναμικής δύναμης που ασκείται στα τοιχώματα των αγγείων είναι η διατμητική τάση. Οι έως σήμερα μελέτες διατμητικής τάσης, στη μετανάστευση των MSC, εμφανίζονται αριθμητικά περιορισμένες.

Σε μελέτη λύσης συνέχειας δέρματος, που προκλήθηκε από γρατζουνιά, ο ρυθμός επούλωσης από ανθρώπινα MSCs ήταν ταχύτερος συγκριτικά με εκείνον των στατικών καλλιεργημένων MSCs, υπό διατμητική τάση 0,2Pa, ενεργοποιώντας τις οδούς JNK και p38MAPK. Αντίθετα, διατμητική τάση >2 Pa, ανέστειλε σημαντικά την μετανάστευση των ανθρώπινων MSC μέσω αναστολής των οδών JNK και p38MAPK. Παιρετέρω διαπιστώνεται ότι το διατμητικό στρες 0,2Pa, ρυθμίζει προς τα επάνω την έκκριση SDF-1, ο οποίος με την σειρά του διεγείρει την έκφραση του υποδοχέα CXCR4 στην μετανάστευση των MSC μέσω των οδών JNK και p38MAPK. (Yuan L., 2012). Τέλος χαμηλή διάτμηση (0,2Pa) προκαλεί την μεσολάβηση του άξονα SDF-1a/CXCR4 στην μετανάστευση των ανθρώπινων BMSC μέσω των μονοπατιών JNK και p38MAPK. (Yuan L., 2013)

Ακαμψία μήτρας (ECM)

Η εξωκυττάρια μήτρα ή αλλιώς η διακυτταρική μήτρα, αφορά σε ένα δίκτυο από εξωκυττάρια μακρομόρια και μέταλλα. Αποτελεί το δομικό στήριγμα των κυττάρων, τα χαρακτηριστικά των οποίων, καθορίζουν και τα χαρακτηριστικά του ιστού συμβάλλοντας στις μηχανικές ιδιότητες αυτών. (Theocharis AD, 2016) (Bonnans C, 2014) (Michel G, 2010) Λειτουργίες της ECM είναι η προσκόλληση κυττάρων, η μεταξύ τους επικοινωνία και η διαφοροποίηση τους. (Abedin M, 2010)

Τα MSC περιβάλλονται από εξωκυτταρική μήτρα ECM, μεταδίδοντας βιοχημικά – βιοφυσικά σήματα (S. J. Raab M., Dingal P.C.D., Shah P., Shin J.W., Discher D.E., 2012; Vincent L.G., 2013)

Ως παράδειγμα βιοφυσικής ένδειξης, ο συντελεστής ελαστικότητας, όταν γίνει αντιληπτός από τα MSC, αυτά, μέσω των δυνάμεων που παράγουν, παραμορφώνουν το περιβάλλον τους, προκαλώντας «ακαμψία» η οποία μετράτε σε Pascals ή Pa. (Vincent L.G., 2013)

Μέσω πόλωσης της λειτουργίας του κυτταροσκελετού και της φωσφορυλιωμένης βαριάς αλυσίδας μυοσίνης II, τα ανθρώπινα BMSC μετανάστευσαν από μία μαλακή μήτρα (1KPa 2,3 ώρες) στην άκαμπτη μήτρα (34KPa, 6,3 ώρες) (S. J. Raab M., Dingal P.C.D., Shah P., Shin J.W., Discher D.E., 2012)

Η ακαμψία της εξωκυτταρικής μήτρας, επηρέασε την θέση του κέντρου οργάνωσης μικροσωληνίσκων (MTOC) στα MSC πολώνοντας τα μπροστά από τον πυρήνα, μόνο όταν η μήτρα ήταν αρκετά άκαμπτη (>/- 5-6 KPa, 2 ώρες) αυξάνοντας την μετανάστευση των MSC (D. D. E. Raab M., 2017)

Σε πείραμα, με *in vitro* κατασκευή βαθμίδων ακαμψίας διαφορετικών υποστρωμάτων, έδειξε ότι τα ανθρώπινα MSC μετανάστευσαν σε πιο άκαμπτα τμήματα (1KPa - 12KPa, 3 ημέρες) αυξάνοντας το συναρμολογημένο δίκτυο μικροσωληνίσκων, με αποτέλεσμα την αύξηση της μετανάστευσης των MSC (Vincent L.G., 2013)

Βλαστοκύτταρα προερχόμενα από αμνιακό υγρό (AFSCs) που καλλιεργήθηκαν σε μαλακότερο υπόστρωμα (2KPa) εκκρίνουν περισσότερες αυτοκρινείς κυτοκίνες, οι οποίες αυξάνουν την μετανάστευση των AFSC, συγκριτικά με κύτταρα που καλλιεργήθηκαν σε πλαστικά (~100.000KPa) με ανάλυση transwell. (Skardal A., 2013)

Ενώ σε μελέτη που περιελάμβανε χημειοταξία, προκαλούμενη από επιδερμικό αυξητικό παράγοντα ανθρώπινων MSCs και ποικίλη ακαμψία υποστρώματος, έδειξε ότι κάτω από μία βαθμίδα χημειοκίνης, τα ανθρώπινα MSC μετανάστευσαν γρηγορότερα σε μαλακό υπόστρωμα (Saxena N., 2018)

Μικροβαρύτητα

Προς το παρόν η έρευνα για την μετανάστευση και τους μηχανισμούς των MSC που επηρεάζονται από την μικροβαρύτητα, παρουσιάζεται ελλιπής, λόγω περιορισμένων πειραματικών συνθηκών. Ωστόσο λαμβάνοντας υπόψη τον σημαντικό ρόλο των MSC στην επισκευή ιστών, αποτελεί ένα διακριτό πεδίο αξιολόγησης επηρεασμού, στην μετανάστευση των Βλαστοκυττάρων. Η μετανάστευση των MSC στη μικροβαρύτητα και στην κανονική βαρύτητα διαφέρει σημαντικά.

Μικροβαρύτητα (περιστρεφόμενη στις 10 rpm, περίπου 1×10^{-3} g) ανέστειλε τη μετανάστευση των BMSCs αρουραίου μέσω της αναδιοργάνωσης της F-ακτίνης και της αύξησης της ακαμψίας των κυττάρων (Mao X., 2016)

Ενώ σε καλλιέργεια BM-HSCs, σε περιβάλλον μικροβαρύτητας (που περιστρέφεται σε 10 έως 12 rpm, περίπου 1×10^{-3} g έως $1,2 \times 10^{-3}$ g) για 2 έως 3 ημέρες, σημειώθηκε σημαντική μείωση του SDF-1a, πιθανά λόγω μειωμένης έκφρασης της F-ακτίνης και αναστολή μετανάστευσης των HSCs (Plett P.A., 2004).

Μηχανισμοί BMSC στην επούλωση Ιστών

Ύστερα από κινητοποίηση και μετανάστευσης άλλη μία λειτουργία των MSC είναι να προάγουν την επούλωση κατεστραμμένων ιστών. Στην διάρκεια της οποίας διαδικασίας τα στρατολογημένα MSCs εκκρίνουν χημικούς και παρακρινείς παράγοντες απαραίτητους στην προώθηση της επιδιόρθωσης και αναγέννησης ιστών. (Oh E.J., 2018a) (M. M. Francois S., Allenet L.B., Voswinkel J., Douay L., Benderitter M., Chapel, 2013) αλλά και της διαφοροποίησης στο τραυματισμένο ιστό. (L. Q. Liu L., Sun J., Ju Y., Morita Y., Song G., 2018) (M. M. Francois S., Allenet L.B., Voswinkel J., Douay L., Benderitter M., Chapel A., 2013a). Οι δύο κρίσιμοι ρόλοι των BMSCs στην επιδιόρθωση των ιστών.

Παρακρινικοί παράγοντες Μεταμόσχευσης BMSC

Έχει αποδειχθεί ότι η in vivo μεταμόσχευση MSC, αυξάνει την επούλωση τραυματισμένων θέσεων, υπό την έκκριση ωφέλιμων για την επούλωση παρακρινών παραγόντων. Μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου, τα MSC ποντικών εκκρίνουν TGF-β, FGF-2, VEGF-1 και αγγειοποιητίνη-2, πυροδοτώντας επιδράσεις αγγειογενετικές και μεταναστευτικές, στο σημείο του εμφράγματος, προωθώντας την επούλωση και βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας. (Selvasandran K., 2018). Έκκριση νευρικών αυξητικών παραγόντων NGF, HGF και αντιφλεγμονωδών μορίων IL-10 και IL-1-RA σε μοντέλο ποντικού NOD/SCIO βοήθησε στην πρόληψη της απόπτωσης, αυξάνοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στο καταστραμμένο ήπαρ. (M. M. Francois S., Allenet L.B., Voswinkel J., Douay L., Benderitter M., Chapel A., 2013c) Έκκριση TGF-β1, VEGF βοήθησε στην επούλωση εγκαυμάτων, σε μοντέλο ποντικού τραυματισμένου από έγκαυμα. (Oh E.J., 2018b). Έκκριση IGF-1, βοήθησε στην επισκευή των σωληναριακών κυττάρων σε οξεία νεφρική βλάβη ποντικού. (Barbara I., 2007) Η έκκριση των παραγόντων αγγειογενίνη, IL-8, MCP-1 και VEGF από τα WJ-MSCs, λειτούργησαν ως βιοδείκτες στην πρόληψη της αγγειακής αναγεννητικής αποτελεσματικότητας των MSC, σε ένα μοντέλο οπίσθιου άκρου ποντικού. (Kim H.K., 2018). Σε μοντέλο ισχαιμίας απόφραξης μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας ποντικού, τα μεταμοσχευμένα BMSC απέδωσαν λειτουργική βελτίωση, μειωμένο όγκο εμφράγματος και νευροπροστασία σε ισχαιμικά ποντίκια. πιθανών παρέχοντας IGF-1 και επάγοντας νευροφυτικούς παράγοντες VEGF, EGF και bFGF στον εγκέφαλο του ξενιστή. (Wakabayashi K., 2010; Yang W.K., 2013b). Η έκκριση TGF-β από ανθρώπινα BMSC σε μοντέλο εγκεφαλικού επεισοδίου ποντικού, καταστέλλει τον ανοσοποιητικό πολλαπλασιασμό, μειώνοντας την έκφραση του MCP-1 που προκαλείται από την ισχαιμική βλάβη. (Yoo S.W., 2013).

Προϋποθέσεις – ερέθισμα – αντανακλαστικά από BMSCs για επιδιόρθωση ιστών

Αν και τα MSC χρησιμοποιούνται ευρέως στην ανάπτυξη στρατηγικών αναγεννητικής ιατρικής και επιδιόρθωσης ιστών, τα MSC μπορούν να οδηγήσουν σε σχηματισμό τερατωμάτων. Προκειμένου την αποφυγή αυτής της πιθανότητας, η προσοχή εστιάζει στην χρήση θρεπτικού μέσου BMSC (BMSC-CM) που περιέχει εσωτερικές κυτοκίνες/μεσολαβητές που εκκρίνονται από τα BMSCs. Ρυθμισμένα μέσα από

Μεσεγχυματικά Βλαστοκύτταρα προερχόμενα από αίμα ομφάλιου λώρου (US-MSC-CM) περιέχουν πολλούς παρακρινείς παράγοντες σχετικοί με την αναζωογόνηση του δέρματος όπως EGF (αυξητικός παράγοντας επιθηλίου) bFGF, PDGF, HGF κολλαγόνο τύπου 1 και ο παράγοντας διαφοροποίησης ανάπτυξης -11 (GDF-11) ο οποίος προκαλεί επούλωση δερματικών τραυμάτων αυξάνοντας την ανάπτυξη και παραγωγή ECM των ανθρώπινων δερματικών ινοβλαστών. (Kim Y.J., 2018). Ο Kawai ορίζει ότι την χρήση των BMSC-CM, ως εναλλακτική θεραπεία στην αναγέννηση περιοδοντικού ιστού, επειδή αρκετές κυτοκίνες IGF-1, VEGF, TGF-β1 και HGF, περιλαμβάνονται στα BMSC-CM που συμβάλλουν στην επούλωση τραυμάτων και την αναγέννηση. (Kawai T., 2015). Ενδομυϊκή ένεση ρυθμισμένου μέσου προερχόμενα από ανθρώπινα BMSCs που περιλαμβάνει IL-6 IL-8 και έχει υποστεί αγωγή με TNFα σε μοντέλο ισχαιμίας οπίσθιου άκρου ποντικίου, διεγείρει την αγγειογένεση και την επιδιόρθωση ιστών. (Yang W.K., 2013a)

Κατευθυνόμενη διαφοροποίηση BMSC στην επιδιόρθωση ιστών

Ένας εξίσου σημαντικός μηχανισμός των MSC στην επούλωση τραυμάτων, αποτελεί η κατευθυνόμενη διαφοροποίηση τους στον κατεστραμμένο ιστό, κάτι το οποίο επιβεβαιώνεται από πολλές μελέτες. Θεραπεία με HGF σε BMSC ποντικού προκάλεσε την έκφραση καρδιοειδικών δεικτών και παράλληλα απώλεια δεικτών βλαστικών κυττάρων, c-kit, CD105 και νουκλεοσταμίνης. (Forte G., 2006b). Εκτεταμένη αναγέννηση δέρματος σε μοντέλο επέκτασης ιστού ποντικού, μέσω διαφοροποίησης σε CD31+ ενδοθηλιακών κυττάρων, υπό μηχανικής διάτασης, παρατηρείται κατόπιν ενδοφλέβιας μεταμόσχευσης BMSC (C. C. A. Zhou S.B., Liu K., Li Q.F., 2014). Ένεση hMSC σε μοντέλο ποντικίου NOD/SCIP, μείωσε τα επίπεδα τρανσαμινασών και οξειδωτικού stress, εξάλειψε τα αποπτωτικά κύτταρα, ενώ αυξήθηκε η έκφραση του γονιδίου Nrf2, SOP (στην μείωση της παραγωγής ROS του τραυματισμένου ήπατος) Παράλληλα τα μεταμοσχευμένα hMSC εξέφρασαν κυτταροκερατίνη CK18, CK19 και AFP, υποδηλώνοντας διαφοροποιημένα ηπατοκύτταρα. (M. M. Francois S., Allenet L.B., Voswinkel J., Douay L., Benderitter M., Chapel A., 2013b). Τα BMSC ποντικίου σε διάφορες καταστάσεις νευρικής διαφοροποίησης, παρουσιάζουν διαφορετικές χημειοτακτικές αποκρίσεις στο HGF, βοηθώντας στην βελτισποίηση του θεραπευτικού δυναμικού των MSCs, που θα χρησιμοποιηθούν για νευρική αναγέννηση κατόπιν τραυματισμού. (Zheng B., 2013)

Συνοπτικά, τα MSC αποτελούν πρωταγωνιστικό ρόλο στην επούλωση ιστών, στην αναγεννητική ιατρική, λόγω αυτοανανέωσης και της μετανάστευσης.

Ένα προτεινόμενο διάγραμμα της σχέσης μετανάστευσης MSCs, επιδιόρθωσης ιστών και εμπλεκόμενων μηχανισμών αποτυπώνεται στην εικόνα 1. (Fu X, 2019)

Ανοσοκατασταλτικές και Ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες

Οι ανοσορυθμιστικές ικανότητες των MSC εξαρτώνται από τον μεταβολισμό τους, με στόχο όχι μόνο την ανοσοτροποποίηση με την παροχή ενέργειας και δομικών στοιχείων στην σύνθεση των μακρομορίων, αλλά και την εμπλοκή τους στην ρύθμιση της οδού σηματοδότησης. Ο κυτταρικός μεταβολισμός (γλυκόζη, τριφωσφορική αδενοσίνη, μεταβολισμός λιπιδίων και αμινοξέων) δείχνει να επηρεάζει την ανοσολογική ρύθμιση των MSC, με περαιτέρω αποτελεσματικότητα της θεραπείας με MSC σε φλεγμονώδεις και ανοσολογικές ασθένειες. Με την ενίσχυση της γλυκόλυσης των MSCs, όπως η ενεργοποίηση του μορίου σηματοδότησης, η εκκίνηση των φλεγμονωδών κυτοκινών ή ο περιβαλλοντικός έλεγχος, προάγει τις ανοσοποιητικές λειτουργίες και το θεραπευτικό δυναμικό των MSC. Τα φλεγμονώδη ερεθίσματα μεταβάλλουν επίσης το λιπιδικό μοριακό προφίλ των MSCs, αλλά η άμεση σύνδεση με τις ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες μένει να διερευνηθεί περαιτέρω. Ο μεταβολισμός της αργινίνης, ο μεταβολισμός γλουταμίνης-γλουταμινικού και η τρυπτοφάνη-κινουρενίνη μέσω του μεταβολισμού της ινδολεαμίνης 2,3-διοξυγενάσης (IDO) συμβάλλουν στην ανοσολογική ρύθμιση των MSCs. Εκτός από τον μεταβολισμό που υπαγορεύει τις ανοσολογικές λειτουργίες των MSC, τα MSC επηρεάζουν επίσης τον μεταβολισμό των ανοσοκυττάρων και έτσι καθορίζουν τη συμπεριφορά τους. Ωστόσο, πιο άμεσες ενδείξεις του μεταβολισμού στις ανοσοποιητικές ικανότητες των MSC καθώς και του υποκείμενου μηχανισμού απαιτούν την περαιτέρω διερεύνηση. (Hanyue Li, 2023)

Οι ασθενείς με αταίριαστο απλότυπο HLA προκειμένου μίας αλλογενούς μεταμόσχευσης κυττάρων ιστού ή οργάνου, υποβάλλονται σε ανοσοκατασταλτικές θεραπείες με επικίνδυνες παρενέργειες. (Νόσος του ξενιστή GVHD). Οι νέες έρευνες στοχεύουν σε μελέτες των MSCs να προάγουν τον κυτταρικό παλλαπλασιασμό των T-κυττάρων εκκρίνοντας HLA – G, με αποτέλεσμα την καταστολή της οξείας φάσης GVHD (Jang , Choi , Park , Kang, & Kim, 2019) Η ανάπτυξη ομόζυγων ή PSCs που εκφράζουν ένα

μόνο μόριο HLA τάξης I, με τεχνολογία επεξεργασίας γονιδίων (μέσω εξάλειψης ή εισαγωγής γονιδίων σχετικών με την ανοσία) δίνει εξαιρετικά αποτελέσματα καταστολής ενεργοποίησης των T-κυττάρων, των NK και μακροφάγων, της νόσου του ξενιστή (GVHD). Σε άλλη χρήση, μία σειρά hPSCs από δότη με ομάδα αίματος O, θα ελαχιστοποιούσε την ανοσοαπόκριση έναντι των ABO αντιγόνων. (Ye, Sung, & Yang, 2020).

Το 2014, έρευνα του Cho et al ύστερα από συγκαλλιέργεια BM-DM με MSCs φαίνεται ότι τα BM-DM μπορούν να μετατρέψουν τον φαινότυπο M1 των μακροφάγων BM-MSCs σε φαινότυπο M2. Με επιδράσεις στην πολλαπλασιαστική ικανότητα των δεικτών M2 και ανασταλτικές αποκρίσεις στους δείκτες M1 (Cho, Kim, & Jeong, 2014; Vasandan, Jahnavi, & Shashank, 2016)

Καταστολή ανοσολογικής απόκρισης μέσω παρακρινών παραγόντων: Η έκκριση αντιφλεγμονώδων κυτοκινών (IDO, PGE2, NO, TGF- β και εξωσώματα) κατά την ενεργοποίηση των παρακρινικού μηχανισμού των MSCs επηρεάζουν τον αριθμό των κυττάρων του ανοσοποιητικού. Από την άλλη, *in vivo* κατάστασεις, οι κυτοκίνες έχουν την ιδιότητα με την ενεργοποίηση του πληθυσμού Treg, DCreg και M2 να συνεχίζουν την καταστολή της ανοσοποίησης του σώματος, για μεγάλο χρονικό διάστημα, ακόμα και αν τα MSCs εκλείψουν. (Phinney & Pittenger 2017)

Συνοψίζοντας οι ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες των MSCs επηρεάζουν όλα τα εμπλεκόμενα κύτταρα στην ανοσοαπόκριση. Αναστέλλουν τη δραστηριότητα των T κυττάρων, προκαλούν την απόπτωση των κυττάρων και διακόπτουν τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G0/G1. (Glennie, Soeiro, & Dyson, 2005)

Προσκόλληση σε πλαστικές επιφάνειες: Σχηματισμός αποικίας

In vitro, προσκολλημένα κύτταρα σε πλαστικό, που δηλώνονται ως CFU-Fs, λαμβάνονται από το μυελό των οστών και δημιουργούν αποικίες κατά την αρχική τους ανάπτυξη. (Shi S, 2003) (Friedenstein AJ, 1974). Αρχικά τα CFU-Fs αποτελούνται κυρίως από πρωτογενή MSC και μετά την πολλαπλασιαστική επέκτασή τους στην καλλιέργεια, αποτελούν μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα. Οι αποικίες εμφανίζουν ετερογενή μορφολογικά χαρακτηριστικά, φέρονται από ινοβλαστοειδή έως ατρακτοειδή, ή από μεγάλα πεπλατυσμένα έως μικρά στρογγυλά κύτταρα. Καλλιεργούνται σε 100 με 150 κύτταρα ανά τρυβλίο 10cm και αφήνονται να προσκολληθούν και να σχηματίσουν αποικίες εντός 14

ημερών (Rebekah M. Samsonraj, 2017) όπου φαίνονται με χρώση κρυσταλλικού ιώδες ή μπλε τολουιδίνης (R., 2008).

Κεφάλαιο 5. Χαρακτηριστικά των MSCs.

Χαρακτηρίζονται από την ατρακτοειδή μορφολογία τους και την ικανότητά τους να διαφοροποιούνται *in vitro* σε λιποκύτταρα, χονδροκύτταρα και οστεοκύτταρα κ.α. (Mazini, Rochette, & Amine, 2019)

- **Δείκτες έκφρασης:** Προηγούμενες αναφορές υποδηλώνουν ότι δεν υπάρχει ένας συγκεκριμένος δείκτης που να διακρίνει τα MSC από άλλα κύτταρα που παρουσιάζουν παρόμοια ινοβλαστικά χαρακτηριστικά. Ως εκ τούτου, αυτά τα κύτταρα ανοσοφαινοτυπικά χαρακτηρίζονται από θετική και αρνητική έκφραση πολλαπλών επιφανειακών αντιγόνων. Τα ανθρώπινα MSC γενικώς εκφράζουν τους δείκτες CD90, CD73, CD105. (Lv FJ, p. 2014) (Haynesworth et al., 1992; Lodie et al., 2002; Suna., 2004). και στερούνται αιμοποιητικούς και ενδοθηλιακούς δείκτες όπως CD11, CD14, CD31, CD34 και CD45. (Mazini et al., 2019). Ωστόσο, τα προφίλ των επιφανειακών δεικτών των MSC, προερχόμενα από διαφορετικές πηγές, παρουσιάζουν μικρές διαφορές. (Lan, Luo, & Wei, 2021)
- **Δείκτες έκφρασης BM-MSCs:** Τα MSC που προέρχονται από τον μυελό των οστών, εκφράζουν επιπλέον τους δείκτες CD13, CD44, CD166 και STRO-1, αλλά είναι αρνητικοί έκφρασης στους δείκτες CD14, CD34, CD45 και HLA-DR και ικανότητα διαφοροποίησης σε ηπατοκύτταρα. (De Ugarte DA, 2003; Pittenger MF, 1999).
- **Δείκτες έκφρασης AP-MSCs:** Τα MSC προερχόμενα από τον λιπώδη ιστό, βρίσκονται σε αφθονία στον λιπώδη ιστό, με ασθενέστερη όμως δυνατότητα διαφοροποίησης σε οστεοκύτταρα και χονδροκύτταρα. Εκφράζουν επιπλέον τους δείκτες CD71, CD9, CD13, CD 29, CD 44, CD 54, CD 106, CD 146, CD166, HLA1 και STRO-1 αλλά βρίσκονται αρνητικοί για CD 14, CD 19, CD 31, CD 34, CD 45, CD 133 και HLA-DR. (De Ugarte DA, 2003) (Baglioni S, 2009; Zuk PA, 2002).
- **Δείκτες έκφρασης PB-MSCs:** Τα MSC στο περιφερικό αίμα, εκδηλώνουν παρόμοιους ανασοφαινότυπους και δυνατότητα διαφοροποίησης με αυτών των MB-MSC, εκφράζοντας θετικά τους δείκτες CD44, CD54, CD166 και HLA-BC, αλλά

δεν εκφράζουν CD14, CD34, CD45, CD31, CD 133. (Ab Kadir R, 2012) (Tondreau T, 2005)

- **Δείκτες έκφρασης DPSCs:** Τα MSC του οδοντικού πολφού, εντοπίζονται εντός της οδοντικής στεφάνης και παρουσιάζουν εξαιρετικές οδοντοοστεογονικές ιδιότητες. Εκφράζουν θετικά τους δείκτες CD29, CD44, CD90, CD105 και αρνητικά τους CD14, CD34, CD45. (Huang GT, 2009; Seifrtová M, 2012).
- **Δείκτες έκφρασης MSC προερχόμενα από το ενδομήτριο:** Βασικό χαρακτηριστικό τους, η παραγωγή υψηλού επιπέδου ανασταλτικών παραγόντων λευχαιμίας και δυνατότητα διαφοροποίησης στην μεσοδερμική γενεολογία, βρίσκονται θετικά στους δείκτες CD73, CD90, CD90, CD105, CD146 και αρνητικοί στους CD34 και CD45. (Bozorgmehr M, 2020), (Ab Kadir R, 2012), (Schüring AN, 2011)
- **Δείκτες έκφρασης MSC προερχόμενα από το δέρμα:** Συγκριτικά με τα AP-MSCs, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα δέρματος έχουν υψηλότερο ρυθμό πολλαπλασιασμού, με θετικούς δείκτες CD44, CD73, CD90, CD105, CD166 και CD29 και αρνητικούς τους CD34, CD 45 και HLA-DR. (Halfon S, 2011; Saulite L, 2018).
- **Δείκτες έκφρασης PnD MSCs:** Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα προερχόμενα από εμβρυϊκές πηγές, παράγουν περισσότερη ινσουλίνη έναντι της ποσότητας που παράγουν τα BM-MSC και έχουν υψηλό ποσοστό πολλαπλασιασμού. Βρίσκονται θετικά στους δείκτες CD29, CD44, CD73, CD90, CD105 και CD146 και αρνητικοί στους CD14, CD34, CD45. (In 't Anker PS, 2003; Wagner W, 2005)

In vitro, τα MSC συνήθως αναπτύσσονται ως μονοστιβαδική καλλιέργεια σε ένα μέσο που περιέχει 10% εμβρυϊκό βόειο ορό και L-γλουταμίνη.

Κεφάλαιο 6. Καλλιέργεια MSCs

Στο σύνολο τους τα MSC παρουσιάζουν εξαιρετικά χαρακτηριστικά (ικανότητα αυτοανανέωσης, διαφοροποίησης πολλαπλών γενεών και ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες), ωστόσο απέχουν από το να είναι ένας ομοιόμορφος κυτταρικός τύπος, έχοντας ως αποτέλεσμα την δυσκολία της τυποποίησης τους. Η πηγή ιστού, η μέθοδος απομόνωσης και η σύνθεση του μέσου, επηρεάζουν τις ιδιότητες των ανθρώπινων βλαστοκυττάρων. **(Dominik Egger, 2018)**

Διαδικασία απομόνωσης MSC

Πρωτεύοντα ρόλο, στην κλινική εφαρμογή των MSC, έχει η ποιότητα αυτών, ενώ η διαδικασία συγκομιδής τους, αποτελεί την βασική αρχή στην προσπάθεια τυποποίησης τους. Το αρχικό βήμα ανάκτησης των MSC από τον ιστό δότη, θα ορίζει τον κυτταρικό πληθυσμό που θα πολλαπλασιαστεί *in vitro*. Απομονώνονται κυρίως από τις πλαστικές επιφάνειες όπου αναπτύσσονται και προσκολλώνται, με απλές διαδικασίες, όπως κοπή ιστού και προαιρετική ενζυμική πέψη.

Η καλλιέργεια μοσχευμάτων, αποτελεί μία από τις αρχαιότερες τεχνικές απομόνωσης και καλλιέργειας κυττάρων *in vitro*. (Dominik Egger, 2018)

Μέθοδος καλλιέργειας μοσχευμάτων

Αρχικά ο ιστός πηγής ξεπλένεται, προκειμένου την απομάκρυνση των αιμοσφαιρίων, εν συνεχεία τεμαχίζεται με μηχανική κοπή, σε μικρά κομμάτια μήκους μερικών χιλιοστών, βελτιώνοντας έτσι την διάχυση αερίων και θρεπτικών ουσιών προς τα κύτταρα. (Atala A., 2002) Ακολούθως τα τεμάχια ιστού, τοποθετούνται σε πλαστικά δοχεία καλλιέργειας με μέσο ανάπτυξης. Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα αναπτύσσονται από κομμάτια ιστού στην επιφάνεια του δίσκου καλλιέργειας, τα οποία κομμάτια ιστού, αφαιρούνται μετά από κάποιες ημέρες.

Ενζυματικό πρωτόκολλο

Περιλαμβάνει πρόσθετα στάδια όπου ο χοντροκομμένος ιστός επωάζεται με ένα ενζυμικό διάλυμα που αποικοδομεί την εξωκυτταρική μήτρα (ECM). Έτσι μεμονωμένα

κύτταρα ή μικρά κυτταρικά συσσωματώματα, απελευθερώνονται από τον ιστό και μεταφέρονται σε δίσκους καλλιέργειας που περιέχουν μέσο. (Mushahary D, 2018a)

Σύγκριση των πρωτοκόλλων απομόνωσης

Απουσία ολοκληρωμένης μελέτης για την σύγκριση των διαφορετικών πρωτοκόλλων απομόνωσης και έχοντας συγκριθεί συγκεκριμένες πτυχές των διαδικασιών παρουσιάζονται τα εξής: Η μέθοδος του μοσχεύματος, συλλέγει λιγότερο ετερογενείς πληθυσμούς κυττάρων, που παρουσιάζουν υψηλότερους ρυθμούς πολλαπλασιασμού και βιωσιμότητα των κυττάρων συγκριτικά με την ενζυμική μέθοδο. Πιθανόν, λόγω άθικτων τεμαχίων ιστού και αδιάσπαστης ECM κατά την διάρκεια της καλλιέργειας μοσχευμάτων, τα οποία διατηρούν τα κύτταρα προστατευμένα από πρωτεολυτική και μηχανική καταπόνηση παρέχοντας ευνοϊκότερο περιβάλλον για τα μεταναστευτικά κύτταρα. (Zhou, 2017) (RICHARD., 2009).

Ένα επιπλέον πλεονέκτημα της μεθόδου μοσχεύματος, αποτελεί η απελευθέρωση κυτοκίνων και αυξητικών παραγόντων στο μέσο. (RICHARD., 2009) Παρουσιάζεται υψηλότερη απόδοση στρωματικών κυττάρων, μικρότερο χρόνο πολλαπλασιασμού (Wei Jing, 2010) (Shah FS, 2013) και ταυτόχρονη έκφραση επιφανειακών δεικτών CD73, CD90, CD105 απουσίας CD14, CD31, CD34, CD45 σε όλους τους πληθυσμούς MSC (S. S. Priya N, Majumdar AS, SundarRaj S., 2014)

Από την άλλη, όσο αφορά την απόδοση, την αποτελεσματικότητα και την βιωσιμότητα της ενζυματικής πέψης, εξαρτάται από τον τύπο και την συγκέντρωση του ενζύμου που χρησιμοποιείται για την διάσταση. (Can A, 2007; Mitchell KE, 2008; Wang HS, 2004)

Η ενζυματική πέψη οδηγεί σε διάσταση της ECM με αποτέλεσμα την χαμηλή απόδοση (Karahuseyinoglu S, 2009; Seshareddy K, 2008) και διπλασιασμό του χρόνου προσκόλλησης των κυττάρων (Han YF, 2013) Ενώ σε συνδυασμό των δύο μεθόδων παρατηρείται αύξηση απόδοσης κατά 70% (Tong CK, 2013)

Κεφάλαιο 7. Ταξινόμηση MSCs

Με τον όρος μεσεγγυμα ορίζεται ο χαλαρός συνδετικός ιστός του εμβρύου με δυνατότητα γένεσης στα κύτταρα του συνδετικού ιστού του ενηλίκου. Τα MSCs αφορούν μία υποόμαδα προγονικών κυττάρων με τον Friedenstein και τους συνεργάτες του, να είναι οι πρώτοι που ορίζουν τα μεσεγγυματικά στελεχιαία κύτταρα (A. Friedenstein et al., 1968) Με τον όρο Μεσεγγυματικά στελεχιαία κύτταρα (MSCs) εκφράζεται η ετερογενής συλλογή πληθυσμού πολυδύναμων κυττάρων του μυελού των οστών. Δυνητικά μπορούν να απομονωθούν από όλους τους ιστούς ενηλίκων και εμβρύων, μεταξύ άλλων, μυελού των οστών (BM), λιπώδους ιστού (AD), ομφάλιου λώρου (UC), ζελέ Wharton (WJ), πλακούντα (PD), αμνιακό μεμβράνη, αμνιακό υγρό (AF),

Δεν βρέθηκαν καταχωρήσεις πίνακα εικόνων.εμμηνορροϊκό αίμα, ενδομήτριο, περιφερικό αίμα (PB), οδοντικός πολφός, ούρα, ήπαρ, πνεύμονες, σπλήνα, έντερο, μύες και αρθρικό υμένα (Samsonraj RM, 2017) (Hass R, 2011)

Εμβρυϊκές και Ενήλικες πηγές MSCs

Δημιουργούν κύτταρα πολλαπλών σειρών, διακρίνονται για την λειτουργική τους ικανότητα να αυτοανανεώνονται, να προσκολλώνται στο πλαστικό, να διαφοροποιούνται σε διάφορα κύτταρα ανάλογα της πρόελευσης τους και κατόπιν ειδικών ερεθισμάτων. (Sollazzo, Lucchese, Palmieri, Carnevali, & Iaccarino, 2011) Απαντούν σε ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών διαφόρων θεραπειών όπως αυτοάνοσα νοσήματα, επισκευή και αναγέννηση ιστών κá (S. Huang et al., 2011) Ανάλογα την πηγή προέλευσης τους, τα MSCs ταξινομούνται ως εξής:

- Εμβρυϊκές πηγές MSCs περιγεννητικών παραγώγων (PnD)

Η απομόνωση εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων, είτε στα πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του εμβρύου (fetal MSCs) είτε κατά την γέννηση του (EMSCs) εκφράζουν δείκτες πολυδυναμίας. Τα εμβρυϊκά MSCs συλλέγονται άπαξ, κατά τον τοκετό του μωρού (φυσιολογικό ή καισαρική) Παρουσιάζουν ικανότητα διαφοροποίησης *in vitro*, ανάλογα της πηγής προέλευσης τους, ικανότητα αναγέννησης κατεστραμμένων ιστών, εκκρίνουν παράγοντες ανάπτυξης κυτοκινών και μόρια ρύθμισης κυτταρικών λειτουργιών. (Pappa & Anagnostou, 2009)

Με τα εμβρυϊκά MSCs να παρουσιάζουν χαμηλή ανοσογονικότητα και πρόοδο στη βιολογία τους, ο ιατρικός κόσμος εστιάζει σε μελλοντικές προγεννητικές θεραπείες συγγενών νοσημάτων. (Rachel Sagar, Walther-Jallow, David, Cecilia Götherström, & Westgren, 2018)

Απομονώνονται από το αμνιακό υγρό, τον ιστό ομφάλιου λώρου, το αίμα του ομφάλιου λώρου, τον πλακούντα, και την βαρτόνεια γέλλη (Wharton Jelly). Οι ιστοί αυτοί θεωρούνται απόβλητα προϊόντα, που καθιστά την συλλογή τους ελεύθερη ηθικών διλημάτων.

MSC προερχόμενα από αίμα ομφάλιου λώρου (UC-MSCs)

Τα UCMSCs, εκφράζουν δείκτες ενήλικων βλαστοκυττάρων CD73, CD9 και CD105, αλλά εκφράζουν και δείκτες εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων (ESC), όπως Tra-1-60, Tra-1-81, ειδικό για το στάδιο εμβρυϊκό αντιγόνο SSEA-1, SSEA-4 και αλκαλική φωσφατάση. (Carlin R, 2006).

Η συλλογή των UC-MSCs πραγματοποιείται για μία και μόνη φορά στη ζωή του μωρού κατά την γέννηση του. Τα MSCs που απομονώνονται αφορούν διάφορα μέρη του UC, όπως αίμα, υποενδοθήλιο ομφαλικής φλέβας και WJ (S. S. Priya N, Majumdar AS, SundarRaj S., 2014) (Baksh D, 2007).

Ο Ομφάλιος Λώρος αποκόπτεται στο τέλος του τοκετού με παρακέντηση του κατόπιν τοπικής αντισηψίας, ανώδυνα και ακίνδυνα. Από το αίμα διαχωρίζεται ο πληθυσμός των εμπύρηνων κυττάρων μέσα στον οποίο βρίσκονται τα βλαστικά κύτταρα, καταψύχεται και διατηρείται σε συνθήκες υγρού αζώτου στους 196°C υπό το 0 επ' αόριστο. Τα UC-MSCs του νεογνού είναι γενετικά μοναδικά για το ίδιο και την οικογένεια του. (Google Biohellenika Dr. Koliakos)

Το αίμα του ομφάλιου λώρου, περιέχει μεγάλες ποσότητες MSCs. (Kern, Eichler, Stoeve, Klüter, & Bieback, 2006) Δεν εγείρει ηθικά διλήματα στην συλλογή του, εφόσον θεωρείται απόβλητο προϊόν. Απομονώνονται με διαχωρισμό διαβάθμισης Ficoll (Biochrom) και επωάζονται στους 37°C σε 5% CO₂ υγρή ατμόσφαιρα. (Gesine Kögler et al., 2004) Σε επίπεδο διαφοροποίησης στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα HSCs τα UC-MSCs φαίνεται να έχουν παρόμοια συμπεριφορά με αυτήν των BM – MSCs αλλά υψηλότερη ικανότητα πολλαπλασιασμού και χαμηλότερη έκφραση ανθρώπινου αντιγόνου HLA – ABC.

(Thaweesarphithak et al., 2019) Μειώνουν τις επιπτώσεις της νόσου του μοσχεύματος έναντι του ξενιστή (GVHD) (Zhao, Chen, Yang, Cao, & Li, 2019)

Φαίνεται ότι με την ενζυμική απομόνωση τα UCMSC, αποδίδουν μειωμένους χρόνους διπλασιασμού κατά μέσω όρο, έναντι αυτών που απομονώνονται με την καλλιέργεια μοσχευμάτων. (Mushahary D, 2018b)

Προτείνονται ως κυτταρική θεραπεία στη στόχευση όγκων και την in situ παροχή αντικαρκινικών μορίων λόγω της μεταναστευτικής τους ικανότητας προς τα καρκινικά κύτταρα, (A. et al., 2017)

MSC προερχόμενα από αμνιακό υγρό (AF amniotic fluid)

Για πρώτη φορά η παρουσία βλαστικών κυττάρων στο ανθρώπινο αμνιακό υγρό (hAFSCs) περιγράφεται το 2002 από τον Prusa (Prusa & Hengstschlager, 2002) Εκπροσωπεί μία εμπλουτισμένη πηγή MSCs. Λαμβάνονται κατά την αμνιοπαρακέντηση 2^{ου} τριμήνου κύησης (Trohatou, Anagnostou, & Roubelakis, 2013) στα πλαίσια του προγεννητικού ελέγχου, ελεύθερο ηθικού διλλήματος. Απομονώνονται με την μέθοδο ενζυματικής πέψης και καλλιεργούνται σε α -Minimal Essential Medium (α -MEM)/DMEM-F12 με 10% FBS. (Salehinejad et al., 2012) Έχοντας ικανότητα επέκτασης, μεγαλύτερη από αυτή των MSCs ενηλίκων, καθίστανται χρήσιμα σε περιπτώσεις αυξημένων αναγκών σε ποσότητες κυττάρων. (Sessarego et al., 2008)

Παρέχουν υψηλή ικανότητα διαφοροποίησης και πολλαπλασιασμού, φυσιολογικό καρυότυπο in vitro, απουσία ογκογονικής επίδρασης in vivo, χαμηλό κίνδυνο μόλυνσης. (Beeravolu et al., 2017) (Margossian, Reppel, Makdissy, Stoltz, & Bensoussan, 2012) (Sessarego et al., 2008)

MSC προερχόμενα από πλακούντα (PD-MSCs)

Ο πλακούντας μετά τον τοκετό θεωρείται απόβλητο προϊόν και άρα η συλλογή του δεν φέρει ηθικά διλήμματα. Ως όργανο είναι υπεύθυνο για την ανάπτυξη του εμβρύου και την ορθή αλληλεπίδραση με την μήτρα της μητέρας, προκειμένου την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών στοιχείων. Άφθονη πηγή εμβρυϊκού αίματος (EC) περιέχει επιθήλια αιμοποιητικά και MSC με προφίλ έκφρασης (CD 34+ CD133+VEGFR-2+CD45-) που υποδηλώνει έναν ενδοθηλιακό προγονικό φαινότυπο (Solder, 2012) Η λήψη των MSCs του

πλακούνται γίνεται από τις χοριακές λάχνες. Η απομόνωση των MSCs από πλακούνται γίνεται με την μέθοδο εκχύλισης και καλλιεργούνται σε μέσο EGM-2. Ενώ η οστεογονική ή λιπογονική διαφοροποίηση των bn-MSCs γίνεται μέσω καλλιέργειας σε DMEM/F12 με 10% FBC (König, Weiss, Wankhammer, Kinzer, & Huppertz, 2015)

Για την σύγκριση των bn-MSCs που απομονώθηκαν από διαφορετικές θέσεις πλακούνται, οι μέθοδοι ποικίλουν. Αναφέρονται μέθοδοι εκχύλισης (König et al., 2015) (Ma et al.; Mingjun Wu et al., 2018; Xiao Yi, Chen, Liu, Peng, & Li, 2020) και ενζυματικές μέθοδοι (Araújo et al., 2018; Chen, Merkhan, F, & Wu, 2019; Ferreira, Biener, Müller, Rath, & Goecke, 2018; Kim et al., 2011; Soncini et al., 2007; Yi et al., 2020) ή ο συνδυασμός των δύο μεθόδων (Q. Huang, Yang, & Luo, 2019) Οι μέθοδοι απομόνωσης με χρήση τροποποιημένης τεχνικής καλλιέργειας μοσχευμάτων σε συνδυασμό με ενζυμική επεξεργασία απέδωσαν καλύτερη πολλαπλασιαστική ικανότητα από αυτή της συμβατικής καλλιέργειας (Q. Huang et al., 2019)

Στα PD-MSCs αποδίδονται δυνατότητες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, επιβίωσης, διαφοροποίησης, ανώτερες εκείνων των BM-MSCs, ενώ η αναγεννητική τους ικανότητα σε αντίθεση με αυτή των BM-MSCs δεν εξαρτάται από την ηλικία του δότη. Υπό κατάλληλων μέσων πρόκλησης αυξάνεται η ικανότητα διαφοροποίησης τους πέρα από το μεσόδερμα, μυογένεση ή νευρογένεση. Ενώ παρουσιάζουν ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες, αφού αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των PBMC που προκαλείται από τα CD3.

MSC προερχόμενα από ζελέ Wharton (WJ-MSCs)

Τα WJ-MSC αποτελούν άφθονη και οικονομική πηγή MSCs. Δεν είναι εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (ESCs) ή ενήλικα βλαστοκύτταρα (ASCs). Ωστόσο, διαθέτουν και παρέχουν τις θεραπευτικές ιδιότητες και των εμβρυϊκών και των ενήλικων βλαστοκυττάρων, κάτι που τα καθιστά από τις πολυτιμότερες πηγές εφαρμογών, στην αναγεννητική ιατρική. (Ranjbaran H, 2018)

Εκκριτικά προϊόντα ASC

Όπως όλα τα MSCs έτσι και τα ASCs παράγουν διαλυτούς μεσολαβητές και εξωαγγειακά κυστίδια (μικροκύστες) επηρεάζοντας την βιολογία των κυττάρων - στόχων μέσω

παραγωγής εξωκυττάρων κυστιδίων ή προϊόντων έκκρισης μακρομορίων, μεσολαβώντας σε θεραπευτικά αποτελέσματα in vivo.

Κλινικές εφαρμογές ASC και προϊόντων που παράγονται από ASC

Τα ASCs ερευνώνται για θεραπείες όπως εγκεφαλικό, ισχαιμία μυοκαρδίου, σκλήρυνση κατά πλάκας, οστεοαρθρίτιδα, πνευμονικές παθήσεις, οξεία νεφρική βλάβη. Προκειμένου κλινικών εφαρμογών εξετάζονται δύο στρατηγικές. Η έγχυση είτε αυτόλογων είτε αλλογενών ASCs, με την αυτόλογη μεταμόσχευση, να θεωρείται ασφαλέστερη. Η χρήση αλλογενών κυττάρων από την άλλη, έχει ως πλεονέκτημα των άμεσα διαθέσιμων, πλήρως χαρακτηρισμένων και βελτιστοποιημένων ASCs, ενισχύοντας το αναπαραγωγίσιμο αποτέλεσμα σε ασθενείς με μακροχρόνιες θεραπείες. Έχοντας ενθαρρυντικά αποτελέσματα, από προκλινικές μελέτες in vitro και in vivo σε ζωικά μοντέλα, για τις θεραπευτικές δυνατότητες των ASCs διεξάγονται κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους. Οι πληροφορίες που συλλέχτηκαν από το clinicaltrials.gov το Νοέμβριο του 2021 (28 Νοεμβρίου 2021) επιδεικνύουν 440 κλινικές δοκιμές όπου αξιολογούν την ικανότητα των ASC σε θεραπείες ασθενειών, 216 εκ των οποίων, κατηγοριοποιήθηκαν ως μη ενεργές. Από την άλλη, ποσοστό 90% των κλινικών μελετών που χρησιμοποιούν προϊόντα προερχόμενα από SVF, ASC, ή προϊόντα προερχόμενα από ASC, βρίσκονται σε αρχικά στάδια και κατηγοριοποιούνται ως Πρώτη φάση / Φάση 1, Φάση 1 προς 2 ή Φάση 2, ενώ το 10% και λιγότερο κατηγοριοποιούνται ως Φάση 3 ή Φάση 4. Οι πέντε κορυφαίες ιατρικές παθήσεις που ερευνώνται, αφορούν παθήσεις του πεπτικού, μυοσκελετικού, του συνδετικού ιστού και δέρματος, καρδιαγγειακού και κεντρικού νευρικού συστήματος. (Bunnell, 2021)

MSCs προερχόμενα από οδοντικό πολφό

Ο οδοντικός πολφός περιγράφεται σαν ένας αγγειοβριθής και νευροβριθής συνδετικός ιστός και βρίσκεται στην εσωτερική κοιλότητα του κάθε δοντιού. Έχοντας 4 βασικές λειτουργίες: Την πλάση κυττάρων, την θρέψη του δοντιού, την αίσθηση (επί απουσίας του, δεν υπάρχει καμία αίσθηση πόνου) και την άμυνα. Συλλέγεται κατόπιν ελαχίστων επεμβατικών διαδικασιών και συνήθως απορρίπτεται ως ιατρικό απόβλητο, θέτοντας χαμηλά ηθικά ζητήματα, για την επαναχρησιμοποίησή του (Keiji Masuda, 2021) Ο οδοντικός πολφός είναι ένα μεσεγχυματικό παράγωγο πολυδύναμων κυττάρων κρανιακής νευρικής ακρολοφίας, που μεταναστεύουν στο

1^ο και 2^ο κλασικό τόξο κατά την πρώιμη εμβρυϊκή ανάπτυξη, αποδεικνύοντας ότι τα MSCs στον οδοντικό πολφό προέρχονται από νευρική ακρολοφία (Dupin E., 2018) (B.K., 2018; Chai Y., 2000; Mayor R., 2013; Motohashi T., 2015) ενώ έχουν βρεθεί και MSCs στην κορυφαία θηλή που σχετίζεται με τις αναπτυσσόμενες ρίζες των μόνιμων άωρων δοντιών που ονομάζονται βλαστοκύτταρα από την κορυφαία θηλή SCAP (L. Y. Sonoyama W., Fang D., Yamaza T., Seo B.M., Zhang C., Liu H., Gronthos S., Wang C.Y., Wang S., et al., 2006) (L. Y. Sonoyama W., Yamaza T., Tuan R.S., Wang S., Shi S., Huang G.T., 2008)

Έχοντας ως λειτουργία την συμβολή στην ανάπτυξη της ρίζας. Επιβιώνουν σε δόντια με νεκρωμένους πολφούς και ενεργοποιούν την αποκατάσταση, την ανάπτυξη και την αναγέννηση της ρίζας μέσω αναγεννητικής ενδοδοντικής θεραπείας, παρουσιάζουν μία εξαιρετική ανθεκτικότητα σε κυτταρική βλάβη και μπορεί να αποτελούν γενετικά και λειτουργικά, πλυθησμό MSC πρώιμου σταδίου, συγκριτικά με τα MSC του ώριμου οδοντικού πολφού. (M. J. Palma P.J., Diogo P., Sequeira D., Ramos J.C., Diogenes A., Santos M.J., 2019; R. J. C. Palma P.J., Martins J.B., Diogenes A., Figueiredo M.H., Ferreira P., Viegas C., Santos J.M., 2017; Sequeira D.B., 2018) (Huang G.T., 2008) Επιπλέον φέρουν νευρογενές δυναμικό (προερχόμενο από την νευρική ακρολοφία) επιδεικνύοντας μοναδικές ιδιότητες που διαφέρουν από τα BM-MSCs (Kumar A., 2017) (Stanko P., 2014) (Dominici M., 2006)

Υπάρχουν τρεις τύποι δοντιών στον άνθρωπο: Τα γαλακτοκομικά (αυτά που θα πέσουν), τα μόνιμα και τα υπεράριθμα δόντια, με βασικές μορφολογικές δομές και αναπτυξιακούς οδούς, αλλά με διαφορά σε μοριακά επίπεδα (Thesleff, 2014) (Fleming P.S., 2010) Τα MSC που απομονώνονται από το οδοντικό πολφό είναι πολυδύναμα με αυξημένες πολλαπλασιαστικές ιδιότητες αλλά διαφέρουν σε μοριακό και κυτταρικό επίπεδο (Liu H., 2006; N, 2012).

MSC προερχόμενα από περιφερικό αίμα PB-MSC

Αναγνωρίζεται ως μία σημαντική εναλλακτική πηγή μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων για μηχανική ιστών και κυτταρική θεραπεία, και για χρήση αυτόλογων μεταμοσχεύσεων. Διακρίνεται για την ευκολία ανάκτησης κυττάρων, όπου απαιτείται ελάχιστη επεμβατική διαδικασία, με μηδενικές επιπλοκές συγκριτικά με την επώδυνη διαδικασία της λήψης των MSC από το μυελό των οστών. Εκφράζουν στο 90% επιφανειακά αντιγόνα ίδια με αυτά των MSC

συμπεριλαμβανομένων των CD29, CD90, CD105, CD73, CD 44, και με απουσία έκφρασης (λιγότερο από 2%) των αιμοποιητικών δεικτών CD 34, CD 45.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η έκφραση σε υψηλό επίπεδο, κυρίως στο κυτταρόπλασμα τους, της Lrg-5 μίας πρωτεΐνης της κυτταρικής επιφάνειας. Γεγονός που πιθανολογεί, το Lrg-5 να αποτελεί έναν πιθανό βιοδείκτη προς αναγνώριση των PB-MSCs. (Weiping Lin, 2019)

Παρουσιάζουν ισχυρή ικανότητα προσκόλλησης και σχηματισμού αποικιών, ικανότητα διαφοροποίησης γενεών οστεογονική, λιπογενετική, χονδρογονική και νευρογονική υπό κατάλληλων μέσων *ex vivo*. Εμφανίζουν μορφολογία παρόμοια με ινοβλάστες. Η μέθοδος διαχωρισμού των PB-MSCs είναι μέσω διαχωρισμού πυκνότητας – διαβάθμισης Ficoll- Paque (Pösel Claudia, 2012) με χρήση του περιφερικού αίματος και καλλιεργούνται σε α-MEM εμπλουτισμένο με 10% ορό νεογέννητου μόσχου (NBCS). Ωστόσο προτείνεται βελτίωση στο πρωτόκολλο καλλιέργειας των PB-MSC, προκειμένου την αύξηση του ποσοστού απομόνωσης και διατήρησης του στελέχους PB-MSC μέσω συμπλήρωσης ορισμένων αυξητικών παραγόντων, όπως ο αυξητικός παράγοντας 2, ινοβλάστες ή ο βασικός παράγοντας ινοβλαστών (P. K. Solchaga L.A., Porter J.D., Goldberg V.M., Caplan A.I., Welter J.F., 2005) (P. K. Solchaga L.A., Goldberg V.M., Caplan A.I., Welter J.F., 2010) (Quirici N., 2002)

Κεφάλαιο 8. Κλινικές εφαρμογές των MSCs

Από τα τέλη του 1970 όπου πρώτος ο Friedenstein et al (Friedenstein, A J , Gorskaja, & Kulagina, 1976) περιγράφει τα MSCs προερχόμενα από τον μυελό των οστών (BM-MSCs) Τα MSCs αφορούν συχνά μία πηγή για προκλινικές και κλινικές μελέτες.

Οι θεραπείες με MSC βασίζονται κυρίως στην ικανότητα αυτο-ανανέωσης τους, στην πολυδύναμη διαφοροποίηση, στη χαμηλή ανοσογονικότητα, στην αντιφλεγμονώδη λειτουργία και στην ικανότητα μετανάστευσης σε κατεστραμμένους ιστούς (Fan XL, 2020; P., 2014) Και ενώ αρχικά οι θεραπευτικές εφαρμογές τους βασίζονταν στην πολυδυναμία των MSCs, οι ανοσοτροποποιητικές τους ιδιότητες δίνουν νέα κατεύθυνση θεραπειών, για Νευροεκφυλιστικές και Φλεγμονώδης ασθένειες. Όπως: νόσο του μοσχεύματος (GvHD), σκλήρυνση κατά πλάκας (MS), νόσο του Crohn (CD), αμνοτροφική πλευρική σκλήρυνση (ALS), έμφραγμα του μυοκαρδίου (MI), οξύ αναπνευστικό σύνδρομο δυσφορίας (ARDS), (COVID – 19).

Το θεραπευτικό αποτέλεσμα ορίζεται κυρίως από την επαφή κυττάρου με κύτταρο, αλλά περιλαμβάνει και έναν μηχανισμό hit and run και αφορά το παρακρινικό έκκριμα των MSCs, τα εξωκυττάρια κυστίδια EVs. (Levy, Kuai, Siren, Bhere, & Milton, 2020) Με μελέτες να δείχνουν ότι τα MSC EVs που περιέχουν βιολογικά ενεργά μόρια (πρωτεΐνες, λιπίδια και νουκλεϊνικά οξέα) διατηρούν την βιολογική δραστηριότητα των γονικών MSCs και δίνουν παρόμοιο θεραπευτικό αποτέλεσμα με αυτό των MSCs (Gomzikova , James, & Rizvanov, 2019)

Κάκωση Νωτιαίου μυελού - SCI (Spinal Cord Injury)

Η κάκωση του Νωτιαίου μυελού αφορά, σε μία βλάβη ή τραυματισμό της σπονδυλικής στήλης σε κάποιο σημείο, εξαιτίας ενός τραύματος, ενός όγκου ή κάποιας λοίμωξης. Προκαλώντας μειωμένη ή ολική κινητική δυσλειτουργία (παράλυση) και άλλες σωματικές δυσλειτουργίες συστημάτων όπως αυτό του αναπνευστικού και του ουροποιητικού, κάτω από το συγκεκριμένο επίπεδο τραυματισμού. (Hagen 2015)

Μηχανισμοί της SCI: Πρωταρχική βλάβη SCI. Συμπίεση του νωτιαίου μυελού, επιφέρει βλάβη στα νευρωνικά και νευρογλοιακά κύτταρα μεμβρανών και την διαταραχή του μικροαγγειακού συστήματος την στιγμή του τραυματισμού (Choo, Liu, & Lam, 2007), (LaPlaca, Simon, Prado, & Cullen, 2007). Δευτερογενής μηχανισμός: Χαρακτηρίζεται από

οίδημα ιστού, αιμορραγία, φλεγμονή, και δημιουργία κυτταροτοξικών ελεύθερων ριζών από υπερβολική γλοίωση. (Ahuja S Christopher, 2016) Οι πρώιμες χειρουργικές επεμβάσεις αποσυμπίεσης του Νωτιαίου μυελού και στερέωσης της σπονδυλικής στήλης δεν καταφέρνουν την πλήρη αποκατάσταση της SCI, γιατί η πρωτογενής βλάβη έχει ήδη επέλθει κατά τον τραυματισμό (Jefferson R Wilson, 2013; Julio C Furlan, 2011) τίθεται ως κύριος στόχος της θεραπείας SCI, η μείωση ή η διακοπή της δευτερογενούς βλάβης, η οποία χωρίζεται σε οξεία φάση (εντός λίγων ημερών) η υποξεία (από λίγες ημέρες έως 6 μήνες) και η χρόνια φάση (>6 μηνών). (Kazuyoshi Yamazaki, 2020).

Κατά την διάρκεια της οξείας φάσης μπορεί να προκληθεί αιμορραγία ή διαταραχή του φραγμού του νωτιαίου μυελού του αίματος (BSCB). Η κυτταρική μεμβρανική και αγγειακή βλάβη, προάγει την ταχεία διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων και απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτοκίνων TNF-α ή IL-1b (Pineau & Lacroix, 2007) ενεργοποίηση της μικρογλοίας και απελευθέρωση πρόσθετων προφλεγμονώδη κυτοκινών. Στην υποξεία φάση, μπορεί να υπάρξει επιδεινώση της ισχαιμικής βλάβης στα επιζώντα νευρωτικά κύτταρα, εξαιτίας της βλάβης των αρτηριακών αγγείων. Ενώ στην χρόνια φάση, η απώλεια του κυτταρικού όγκου, οδηγεί στη συριγγομυελία, εμποδίζοντας την μετανάστευση των κυττάρων και την αναγέννηση του άξονα. (Kazuyoshi Yamazaki, 2020)

Εξαιτίας των πολλαπλών τύπων κυτταρικής βλάβης που περιλαμβάνονται στη SCI και που μεταβάλλονται με την πάροδο του χρόνου, οι εφαρμογές φαρμακευτικών θεραπειών σε ανθρώπινα μοντέλα SCI, παρουσιάζουν μερική αποτυχία, έναντι αυτών σε ζωικά μοντέλα SCI. Υπό αυτές τις συνθήκες, η θεραπεία με MSCs προκαλεί ενδιαφέρον δεδομένου ότι προσφέρει πολλαπλούς μηχανισμούς αποκατάστασης.

Μηχανισμοί δράσης

Τα μεταμοσχευμένα κύτταρα ασκούν μία ποικιλία νεύρο- και αγγείο- προστατευτικών επιδράσεων στις διάφορες φάσεις της SCI . Οι μηχανισμοί δράσης περιλαμβάνουν τη νευροπροστασία, την ανοσορύθμιση, υποστηρίζουν την αναγέννηση των νευραξόνων, την μείωση της τοπικής και της συστηματικής φλεγμονής, το σχηματισμό νευρωνικού αναμεταδότη, συνεχής βλάστηση και μείωση των γλοιακών ουλών. (Peggy Assinck, 2017) ενώ εν εξελίξη κλινικές δοκιμές όπως RISCIS (ριλουζόνη) το INSPIRE (Νευρο-νωτιαίο ικρίωμα), το MASC (μινोकουκλίνη) και το SPRING (VX-210) με την βοήθεια των MRI και σε

συνδυασμό με ανάλυση ορού και εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY)υπόσχεται την παροχή μίας ποσοτικής ανάγνωσης βιοδεικτών της βλάβης του Νευρικού ιστού της νόσου SCI βελτιώνοντας την πρόγνωση της νόσου SCI (Badhiwala H Jetan, 2018)

Οι μηχανισμοί μπορούν να υποκατηγοριοποιηθούν σε τρεις διακριτικούς μηχανισμούς:

- Διαφοροποίηση κυττάρων, ου επιτυγχάνεται με την διαφοροποίηση των μεταμοσχευμένων κυττάρων σε Νευρωνικά ή Αγγειακά κύτταρα (Gao S, 2019; Novikova L.N., 2011), (Lee J., 2003)
- Με την έκκριση τροφικών παραγόντων από τα μεταμοσχευμένα κύτταρα που βοηθούν στην βελτίωση της νευρωτικής βλάβης ή στην αναγέννηση νέων νευρωνικών κυκλωμάτων (Neirinckx V., 2014), (Y, 2011), (Hofstetter C.P., 2002).
- Η αναγέννηση βλαστικών κυττάρων γίνεται και στην σπονδυλική στήλη, όπου τα μεταμοσχευμένα κύτταρα ενεργοποιούν την αναγέννηση των νευρωνικών βλαστοκυττάρων του ξενιστή (Ceci M., 2018).
- Τα αυτόλογα BM-MSCs είναι τα κύτταρα επιλογής, ως πηγή δότη, έναντι αυτών των αλλογενή. Οι οδοί χορήγησης ενδορραχιαία και η ενδοσπονδυλική χορήγηση προτείνεται έναντι της ενδοφλέβιας ή της ενδοαρτηριακής οδού.

Σημαντικά κριτήρια έναρξης: Πλήρες κινητικό και αισθητηριακό έλλειμα κάτω από το επίπεδο τραυματισμού.

Οι Sharma et. Al (Sharma A., 2012) αναφέρουν σε παιδιατρικούς ασθενείς η ενδορραχιαία μεταμόσχευση μονοπύρηνων κυττάρων προερχόμενα από τον μυελό των οστών (BM-MNCs) παρουσιάζει 25% βελτίωση, μαζί μυϊκής δύναμης ισορροπίας στο κάθισμα και των έλεγχο των ούρων. Δοσολογία να ποικίλλει ευρέως μεταξύ των δοκιμών κυμαινόμενη σε τάξεις μεγέθους 106 έως 1010. Μέθοδοι εφαρμόζονται για την αξιολόγηση λειτουργικών αποτελεσμάτων καθώς και αυτών στην ταξινόμηση της κλίμακας βλάβης ASIA, βαθμού Frankel, βαθμολογίας Bartel, κλίμακας As hworth, αξιολόγησης μέτρησης λειτουργικής ανεξαρτησίας (FIM) ηλεκτροφυσιολογικής βελτίωσης (σωματοαισθητικό προκλητικό δυναμικό MEP (Motor –evoked potential). EMG (electromyography) ηλεκτρομυογραφία, FIM (functional independence measure assessment) αξιολόγηση μέτρου λειτουργικής ανεξαρτησίας, SEP (somatosensory evoked potential) σωματοαισθητικό προκλητικό δυναμικό

Οξεία φάση: αναφέρουν στην χρήση αλλογενών MSCs προερχόμενα από τον ομφάλιο λώρο και μεταμοσχευμένα τα κύτταρα με χρήση ενός ικρίωματος κολλαγόνου στο νωτιαίο μυελό περίπου 24 ώρες μετά τον τραυματισμό (Xiao Z., 2018)

Υποξεία φάση: κυρίως χορηγούνται αυτόλογα MSCs έναντι αλλογενών νευρωτικών βλαστοκυττάρων που λαμβάνονται από το έμβρυο (Shin J.C., 2015) τα αποτελέσματα των θεραπειών παρουσιάζουν διαφορές, ωστόσο η θεραπεία με ενδορραχιαία ένεση BMSC φαίνεται να αποδίδει σε ποσοστό 46% των ασθενών με ASIA A σε ανάρρωση ASIA C σε σχέση 15% της ομάδας ελέγχου (Karamouzian S., 2012)

Συγκεκριμένα οι (S. Y. S. Yoon S.H., Park Y.H., Chung J.K., Nam J.H., Kim M.O., Park H.C., Park S.R., Min B.H., Kim E.Y., et al., 2007) διαπίστωσε ότι η ενδοσπονδυλική ένεση BMMNC ήταν αποτελεσματική όταν οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε θεραπεία εντός 8 εβδομάδων από το τραυματισμό (κατά ASIA 30%) και αναποτελεσματική όταν η μεταμόσχευση έγινε >8 εβδομάδες μετά τον τραυματισμό (0%) Η οδός χορήγησης επίσης έδωσε καλύτερη λειτουργική αποκατάσταση η ενδοαρτηριακή ένεση, έναντι αυτής της ενδοφλέβιας ένεσης όπου το 33% των ασθενών με θεραπεία ενδοσπονδυλική ένεση BMMNC ανέφεραν ανάπτυξη νέου πόνου (S. Y. S. Yoon S.H., Park Y.H., Chung J.K., Nam J.H., Kim M.O., Park H.C., Park S.R., Min B.H., Kim E.Y., et al, 2007)

Χρόνια φάση: SCI απαντώνται η πλειονότητα των κλινικών δοκιμών, με τα αποτελέσματα να ποικίλλουν από εντελώς μη αποδοτικές της κλίμακας ASIA (Pal R., 2009), (Mackay-Sim A., 2008) ενώ άλλες αναφέρουν ποσοστά ανάκτησης έως 100% (Deda H., 2008). Ενώ μελέτες που δεν ανέφεραν ανάκαμψη μετρημένης κλίμακας ASIA βλάβης, έδειξαν κάποιο βαθμό βελτίωσης σε άλλα test όπως το SEP ή το MEP. Αλλά σημαντική κινητική αισθητηριακή και ουρική ανάκτηση διαπιστώθηκε σε ομάδα κυττάρων (Cheng H., 2014) ενώ το 34% σε 70 ασθενείς, που έλαβαν ενδορραχιαία μεταμόσχευση BMSC εμφάνισαν βελτίωση της κλίμακας βλάβης ASIA (El-Kheir W.A., 2014)

Αποκατάσταση του μυοκαρδίου (AMI) Acute myocardial infarction

Το έμφραγμα του μυοκαρδίου, χαρακτηρίζεται από στένωση αρτηρίας της καρδιάς (απόφραξη) εξαιτίας ύπαρξης αθηροσκληρυντικών αλλοιώσεων, κάποιου θρόμβου ή σπασμού. Λόγω μειωμένης ροής αίματος, η καρδιά βρίσκεται με μειωμένη παροχή οξυγόνου, με αποτέλεσμα της νέκρωσης ενός τμήματος της. Προκειμένου την αποφυγή

της επιδείνωσης της καρδιακής λειτουργίας και ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας μετά από AMI, σημαντικό ρόλο θα παίξει η αποκατάσταση του μυοκαρδίου, η οποία επηρεάζεται τόσο από την υπερβολική απόκριση φλεγμονής όσο και από τυχόν ακατάλληλη καταστολή της φλεγμονής. (Yu-Yan Xiong, 2021)

Τα εξωσώματα που εκκρίνονται από τα βλαστοκύτταρα είναι δραστικές ουσίες και παρουσιάζουν παρόμοιες θεραπευτικές λειτουργίες ανοσορύθμισης, αντιαπόπτωσης, αντινωτικής και αγγειογένεσης με εκείνες των ίδιων των βλαστοκυττάρων. (Yu-Yan Xiong, 2021) Βοηθούν στην επιδιόρθωση του μυοκαρδίου μέσω ανοσολογικής ρύθμισης μετά από AMI (Robbins PD, 2014)

Εξωσώματα προερχόμενα από BMMSC

Με έγχυση BMMSC - Exos καταστέλλονται οι τοπικές φλεγμονώδεις κυτκίνες του AMI μαζί και αυτών IL1B, IL6, και TNFA. Ενώ παράλληλα στοχεύουν στις προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες FASL, PTEN προς ανακούφιση του MI (Peng Y, 2020) In vivo και in vitro τα BMMSC - Exos προάγουν την πόλωση μακροφάγων M1 στα μακροφάγα M2 με σκοπό την ανακούφιση της φλεγμονής με πιθανό μεσολαβητή τροποποίησης της πόλωσης των μακροφάγων μέσω στόχευσης Tlr4 (Zhao J, 2019) Σε προεπεξεργασμένα BMMSC με λιποσαχαρίτη χαμηλής δόσης (LPS) τα συλλεγμένα L-Exos δείχνουν ανώτερες θεραπευτικές επιδράσεις στην μεσολάβηση της πόλωσης των μακροφάγων και περαιτέρω ανακούφιση της φλεγμονής (Xu R, 2019) ενώ σε προεργασία με ατορβαστίνη δίνουν αυξημένο επίπεδο lncRNAH19, μείωση των φλεγμονώδων κυτοκινών και ελαχιστοποίηση της αγγειογένεσης (Huang P, 2020) Από την άλλη τα BMMSC – Exos εξασθενούν την λειτουργία των T-κυττάρων, βελτιώνοντας την καρδιακή λειτουργία αναστέλλοντας την φλεγμονή. (Teng X, 2015)

Εξωσώματα προερχόμενα από Λιπώδη ιστό (ADSC)

Τα MSCs προερχόμενα από τον λιπώδη ιστό (ADSCs) απαντούν σε παρόμοιες ιδιότητες με εκείνες των BMMSC. Διαφοροποιούνται σε εξω, ένδο και μεσοδερματική γενεολογία και έχουν ανοσοτροποποιητικά χαρακτηριστικά.

Στη διάρκεια της φλεγμονώδους φάσης στο έμφραγμα του μυοκαρδίου, τα μακροφάγα M1 και οι προφλεγμονώδεις κυτκίνες IL6, IL1B, ιντερφερόνης γ (IFNG) και

TNFA είναι αυξημένα. Θεραπεία με εξωσώματα προερχόμενα από ADSC που υπερεκφράζουν το miR-126, αποδίδει σημαντική μείωση των φλεγμονωδών κυτοκινών, καρδιακής απόπτωσης in vitro και in vivo. (Luo Q, 2017) Επιπλέον, θεραπεία με ADSC-εξωσώματα προώθει την πόλωση M2 των μακροφάγων, η οποία εξασθενεί την ίνωση του μυοκαρδίου καταστέλλοντας την έκφραση Nfkb Tgfb1. (Deng S, 2019) Επιπλέον, εξωσώματα που απελευθερώθηκαν από ADSCs υπό διέγερση με IFNG και TNFA επιδεικνύουν ενισχυμένα ανοσοκατασταλτικά και αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα. (Domenis R, 2018).

Εξωσώματα προερχόμενα από Ανθρώπινου Ομφάλιου Λώρου (HUCMSCs)

Τα εξωσώματα που εκκρίνονται από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ανθρώπινου ομφάλιου λώρου (hucMSCs) προστατεύουν τα καρδιομυοκύτταρα από τραυματισμό ανοξίας-επαναοξυγόνωσης. (Huang L, 2020) Το MiR-19a καταστέλλει την απόπτωση των κυττάρων του μυοκαρδίου σε MI αναστέλλοντας την έκφραση PTEN. (Ma Z, 2020) και ανιχνεύεται χαμηλότερο στους μυοκαρδιακούς ιστούς του AMI σε σχέση με τους φυσιολογικούς ιστούς. In vivo πειράματα σε αρουραίους, έδειξαν αύξηση του MiR-19a μετά από θεραπεία με hucMSC-exo, οδηγώντας σε εξασθενημένη ισχαιμική βλάβη με μειωμένη έκφραση φλεγμονωδών κυτοκινών. (Huang L, 2020) Οι Shi et al. διαπίστωσαν μείωση προφλεγμονωδών παραγόντων και ρύθμιση προς τα επάνω στους αντιφλεγμονώδεις παράγοντες την 2^η ημέρα μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ιστού αρουραίων, όταν υποβλήθηκαν σε θεραπεία με hucMSC-Exos (Shi Y, 2019) επιβεβαιώνοντας ότι τα hucMSC-Exos συμμετέχουν στη ρύθμιση του τοπικού ανοσοποιητικού μικροπεριβάλλοντος μετά την AMI.

Με χρήση εξωσωμάτων προερχόμενα από miR – 181a που υπερέκφραζε hucMSC, φάνηκε να ανακουφίζεται ο καρδιακός τραυματισμός μετά το I/R. Η θεραπεία εξωσωματος αύξησε την πόλωση Tregs (Wei Z, 2019) προάγοντας ένα αντιφλεγμονώδες περιβάλλον και συμμετοχή στην επούλωση πληγών μέσω της ρύθμισης της διαφοροποίησης των μακροφάγων (Kino T, 2020)

Τέλος αυξημένη παραμονή εντός του μυοκαρδίου, με θετικότερα ανοσοτροποποιητικά και καρδιοπροστατευτικά αποτελέσματα παρουσιάζουν τα hucMSCs – Exos, όταν ιδιοποιούνται λειτουργικά πεπτιδικά υδρογέλη (Han C, 2019)

Εξωσώματα από ανθρώπινα καρδιακά προγονικά κύτταρα (CPC)

Σε καρδιαγγειακές διαταραχές, όπως έμφραγμα μυοκαρδίου, ισχαιμία, καρδιακή ανεπάρκεια, έχουμε απώλεια καρδιομυοκυττάρων. Και πιθανόν η μεταμόσχευση καρδιομυοκυττάρων, προερχόμενα από πολυδύναμα βλαστοκύτταρα iPSC να αποτελούσε μία θεραπευτική γραμμή για την αποκατάσταση της καρδιακής λειτουργίας, οι περιορισμένες μεταφραστικές εφαρμογές των iPSC, η απώλεια κυττάρων στο περιβάλλον του ξενιστή (Zhang Y., 2016) (BurrIDGE P.W., 2012) εξαιτίας της μειωμένης πολλαπλασιαστικής ικανότητας (Lam J.T., 2009) (Bergmann O., 2009) μας απομακρύνει από την επιλογή τους ως θεραπείας καρδιακής λειτουργίας. (Sara Barreto, 2019) Έτσι δίνεται έμφαση σε ένα πρόδρομο κύτταρο μόνιμων καρδιακών βλαστοκυττάρων CSCs στην καρδιά που ονομάζονται Cardiac Progenitor cells CPCs

Τα CPC ανιχνεύθηκαν και απομονώθηκαν για πρώτη φορά από θηλυκά ποντίκια (Beltrami A.P., 2003) και εκφράζουν ικανότητα διαφοροποίησης σε όλους τους τύπους καρδιακών κυττάρων, για την αποτελεσματική ανασύσταση του κατεστρεμένου καρδιακού ιστού και την προώθηση της νεοαγγείωσης. (Zhang Y., 2016) (B., 2018; Bearzi C., 2007; Lalit P.A., 2016) Με την χρήση CPC σε μεταμοσχευμένων in vitro διευρημένων πλυθησμών CPC (Boyle A.J., 2006) παρουσιάζεται βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας, με κακή όμως πρόγνωση μακροχρόνιων τέτοιων θεραπειών λόγω μειωμένης βιωσιμότητας των κυττάρων (γήρανση, μειωμένη δραστηριότητα τελομεράσης, αυξημένη απόπτωσης (Urbanek K., 2005) κάτι που επιδεινώνεται και από τις αλλοιώσεις του MI (Deddens J.C., 2017) (Dobaczewski M., 2010; Vanhoutte D., 2006) Ενώ η χορήγηση CPC δείχνει τάση κινδύνου καρδιακών αρρυθμιών και σχηματισμό τερατώματος. (Le T.Y.L., 2017)

Η πρώτη κλινική δοκιμή με χρήση CPC, γίνεται με έγχυση βλαστοκυττάρων σε ασθενείς με ισχαιμική καρδιομυοπάθεια (SCIPIO) προς βελτίωση της δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας, ανακαλείται λόγω μειωμένης ακεραιότητας ορισμένων δεδομένων.

(TheLancetEditorsExpressionofconcern:TheSCIPIOtrial., 2014; TheLancetEditorsRetraction—Cardiacstemcellsinpatientswithischaemiccardiomyopathy (SCIPIO):Initialresultsofarandomisedphasetrial., 2019)

Σε δοκιμή φάσης I (CADUCEUS) Το 2012 μεταμοσχεύονται σε ασθενείς αυτόλογα βλαστοκύτταρα, προερχόμενα από την καρδιοσφαιρία, 1,5-3 μήνες μετά το έμφραγμα του

μυοκαρδίου, με ενδοστεφανιαία έγχυση, προκειμένου την αναστροφή της κοιλιακής δυσλειτουργίας. Τα αποτελέσματα της δοκιμής φάσης I (CADUCEUS) δείχνουν, ότι τα κύτταρα μείωσαν τις ουλές και βελτίωσαν τον βιώσιμο καρδιακό ιστό, οφέλη που πιθανά ήταν αποτέλεσμα παρακρινών παραγόντων. (Makkar R.R., 2012)

Γίνονται αναφορές σε κλινικές δοκιμές φάσης I και II που αξιολογούν τη χρήση αυτόλογων κυττάρων που προέρχονται από καρδιόσφαιρα σε παιδιατρικούς ασθενείς με σύνδρομο υποπλαστικής αριστερής καρδιάς (O. S. Ishigami S., Tarui S., Ousaka D., Eitoku T., Kondo M., Okuyama M., Kobayashi J., Baba K., Arai S., et al, 2015) (O. S. Ishigami S., Eitoku T., Ousaka D., Kondo M., Kurita Y., Hirai K., Fukushima Y., Baba K., Goto T., et al., 2017b) Σε ασθενείς με φυσιολογία της μονής κοιλίας η φάση I TICAP (Transcoronary Infusion of Cardiac Progenitor Cells) φέρει ασφαλή προοπτικές στην βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας μετά από 18 μήνες (O. S. Ishigami S., Tarui S., Ousaka D., Eitoku T., Kondo M., Okuyama M., Kobayashi J., Baba K., Arai S., et al, 2015) Η θεραπεία αναλύεται για 36 μήνες μετά τη μεταμόσχευση (Tarui S., 2015) και καταγράφονται αποτελέσματα εξασθένησης της κοιλιακής ακαμψίας, βελτιωμένης κοιλιακής σύζευξης, απουσία σχηματισμού όγκου, αποτελέσματα που επιβεβαιώθηκαν αργότερα από τη φάση II PERSEUS (Έγχυση καρδιακών προγονικών κυττάρων για τη θεραπεία της μονοκοιλιακής καρδιακής νόσου) (O. S. Ishigami S., Eitoku T., Ousaka D., Kondo M., Kurita Y., Hirai K., Fukushima Y., Baba K., Goto T., et al., 2017a)

Ενώ μία δοκιμή φάσης III (APOLLON) (CardiacStem/ProgenitorCellInfusioninUniventricularPhysiology (APOLLONTrial), 2019) φαρμόζεται διαστεφανιαία έγχυση καρδιακών προγονικών κυττάρων, σε παιδιατρικούς ασθενείς με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια (δοκιμή φάσης I TICAP-DCM (Yang L., 2008), με τα αποτελέσματα να βρίσκονται εν αναμονή.

Θεραπεία Πνευμονικών Παθήσεων με MSC

Ανοσοτροποποιητικές θεραπευτικές στρατηγικές κατά των πνευμονικών παθήσεων, όπως η χρήση γλυκοκορτικοειδών, η θεραπεία με πλάσμα αναρρόφησης και θεραπεία με αντισώματα με υποδοχείς κατά της ιντερλευκίνης IL6, παρουσιάζουν παρενέργειες και μεταβλητή αποτελεσματικότητα. (Horby P, 2021; Richardson S, 2020) (Salama C, 2021) Από την άλλη, η ταχεία ανάπτυξη εμβολίων από παγκόσμιους οργανισμούς στην

προσπάθεια ελέγχου των ποσοστών μόλυνσης από COVID 19, αν και δείχνουν να είναι ασφαλή και χωρίς ιδιαίτερες παρενέργειες (Castells MC, 2021) (Lazarus JV, 2021.) απαιτείται η συνεχής παρακολούθηση για μακροπρόθεσμη ασφάλεια. Λοιπά φάρμακα, στην θεραπεία του COVID 19, όπως η ρεμδεσιβίρη, η φαβιπιραβίρη και η δεξαμεθαζόνη επιδεικνύουν θετικά αποτελέσματα, σε προκαταρκτικές όμως τυχαιοποιημένες, ελεγχόμενες, κλινικές δοκιμές (Group RC. Horby P, 2021) (Cai Q, 2020) έτσι επί του παρόντος δεν υπάρχουν συγκεκριμένα φάρμακα στην θεραπεία του COVID 19, κατά συνέπεια απαιτείται η έρευνα νέων μεθόδων στη θεραπεία του COVID 19 και λοιπόν πνευμονικών παθήσεων. (Lijun Chen, 2022)

Σε προκλινικές μελέτες, η θεραπεία με βλαστοκύτταρα επιδεικνύει θετικά αποτελέσματα και μπορεί να αποτελέσει μία υποσχόμενη δίοδο στην θεραπεία ανθεκτικών και δύσκολα αντιμετωπίσιμων πνευμονικών παθήσεων. Τα MSC έχοντας την ικανότητα να διαφεύγουν της αναγνώρισης από τα ανοσοκύτταρα (εξαιτίας της ελάχιστης έκφρασης μορίων τάξης II, του συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας) καθώς επίσης η απουσία έκφρασης τους στο ενζύμο ASE2 (ένζυμο που δρα ως θύρα εισόδου του κορωνοϊού, στα κύτταρα μας) συμβάλλουν στην καταστολή της υπερενεργοποιημένης απόκρισης.

Οι πηγές λήψης MSC είναι κυρίως από τον ομφάλιο λώρο (US) τον μυελό των οστών (BM) και τον λιπώδη ιστό (AP) αν και χρησιμοποιούνται και κύτταρα από αίμα περιόδου (MB).

COVID-19

Ανιχνεύεται για πρώτη φορά, τον Δεκέμβριο του 2019, στην περιοχή του Γιουχάν στην Κίνα. Αφορά λοίμωξη του αναπνευστικού και προκαλείται από ένα νέο στέλεχος του Κορωνοϊού (SARS – Con – 2) και προκαλεί οξύ αναπνευστικό σύνδρομο. Μεταδίδεται μέσω σταγονιδίων, βήχα ή την ομιλία, αλλά και μέσω μολυσμένων επιφανειών, εάν δεν τηρούνται τα μέτρα υγιεινής. Ήπια συμπτώματα είναι ο ξηρός βήχας, πυρετός και καταβολή, μυαλγίες, κεφαλαλγίες όμως μπορεί να εκδηλώσει και δύσπνοια ή πιθανή πνευμονία. Ηλικιωμένοι, άτομα με σακχαρώδη διαβήτη, άτομα με ηπατοπάθειες, πνευμονοπάθειες, καρδιοπαθείς, πρόσφατα μεταμοσχευμένοι και άτομα με χαμηλό

ανοσολογικό προφίλ ανήκουν στις ομάδες ατόμων υψηλού κινδύνου, και πιθανόν να εμφανίσουν σοβαρή νόσο.

Παθοφυσιολογία του COVID – 19

Η πυκνότητα του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE2) σε κάθε ιστό σχετίζεται με την σοβαρότητα της νόσου (Verdecchia Paolo, 2020). Ενώ η υπερκυτοκιναιμία ως κύρια αιτία της βλάβης των οργάνων, χαρακτηρίζει την σοβαρότητα της φλεγμονής και οδηγεί την εξέλιξη της θεραπείας.

Αναπνευστικό σύστημα. Τα όργανα του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος, επηρεάζονται περισσότερο από τον SARS-Cov-2 στο πλαίσιο της οποίας, μπορεί να παρατηρηθούν διαφορετικά παθολογικά σχήματα οξείας πνευμονικής βλάβης, όπως η διάχυτη κυψελιδική βλάβη (DAD) η οποία σχετίζεται με το σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS), την οξεία ινώδη πνευμονία (AFOP) και την λεμφοκυτταρική πνευμονία (Lebeau Grégoire, 2020/2021)

Ήπαρ. Αναφέρονται αυξημένα επίπεδα χολερυθρίνης, της ασπαρτικής τρανσαμινάσης (AST), της αλανίνης τρανσανινάσης (ALT), που μαρτυρούν μια ήπια και παροδική ηπατική βλάβη. (Lebeau Grégoire, 2020/2021)

Γαστρεντερικό σύστημα. Επηρεάζονται τα αδενικά κύτταρα του δωδεκαδακτύλου και του ορθικού επιθηλίου, τα κύτταρα του λεπτού εντέρου και ενδοθηλιακά κύτταρα (Gu Jinyang, 2020) ενώ ανιχνεύθηκε Ιικό RNA στα κόπρανα ασθενών έως και ένα μήνα μετά την έναρξη των συμπτωμάτων του COVID 19 με συμπτώματα γαστρεντερίτιδας (Lebeau Grégoire, 2020/2021).

Καρδιαγγειακό σύστημα. Ο SARS-Cov-2 προκαλεί έμφραγμα του μυοκαρδίου και χρόνια βλάβη στο καρδιαγγειακό σύστημα (Zheng Ying-Ying, 2020) Η λοίμωξη προκαλεί δυσλειτουργία των αιμοφόρων αγγείων και σχηματισμό θρόμβων που οδηγούν σε πνευμονικές εμβολές και ισχαιμικά επεισόδια στον εγκέφαλο. Τα καρδιαγγειακά συμπτώματα εκφράζονται με υψηλά ποσοστά, λόγω της συστηματικής φλεγμονής και του αριθμού των υποδοχέων ACE2.

Λιπώδης ιστός. Σημαντικός παράγοντας στην εξέλιξη της νόσου COVID-19 με βαριά μορφή δείχνει να αποτελεί η παχυσαρκία και το υπερβολικό βάρος, καθώς το ένζυμο ACE2 υπάρχει στα λιποκύτταρα του λιπώδους ιστού. (Lebeau Grégoire, 2020/2021).

Σύνδρομο Οξείας αναπνευστικής δυσφορίας (ARDS)

Αφορά έναν επικίνδυνο για την ζωή τύπο αναπνευστικής ανεπάρκειας. Συμβαίνει όταν οι μικροσκοπικοί θύλακες των πνευμόνων (κυψελίδες) γεμίζουν με υγρό. Η υπερβολική συσσώρευση του υγρού στους πνεύμονες μειώνει τα επίπεδα του οξυγόνου, αυξάνοντας την ποσότητα διοξειδίου του άνθρακα στην κυκλοφορία. Εκδηλώνεται με συμπτώματα όπως δύσπνοιας και γρήγορης αναπνοής, ξηρός βήχας, κόπωση και γενική αδυναμία, πτώση της αρτηριακής πίεσης και δυσχρωμία δέρματος. Το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσφορίας χρήζει άμεσης ιατρικής αντιμετώπισης, προκειμένου την αποφυγή οργανικής ανεπάρκειας.

Ανοσοτροποποίηση και θεραπευτικές αρχές των MSCs

Τα MSC έχουν την ικανότητα μετανάστευσης σε θέσεις φλεγμονής, ελκόμενα από διαφορετικές χημειοκίνες και μπορούν να ρυθμίζουν λειτουργίες ανοσοκυττάρων, όπως NK κύτταρα, δενδρικά κύτταρα, Β κύτταρα, Τ κύτταρα, ουδετερόφιλα και μακροφάγα, μέσω άμεσης επαφής και παρακρινών επιδράσεων. Το ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρου HLA-G, η 2,3-διοξυγενάση της ινδολεαμίνης, ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας β, και η προσταγλανδίνη E2 αναγνωρίζονται ως οι κύριοι τελεστές. (Zhou Y, 2019) Έτσι τα MSC, αναστέλλουν τη φλεγμονώδη απόκριση μειώνοντας τις πνευμονικές βλάβες που προκλήθηκαν από την νόσο (Chan MCW, 2016) (e. a. Chen J, 2020)

Κλινικές δοκιμές. Έως σήμερα, πάνω από 74 κλινικές μελέτες πνευμονικών παθήσεων, όπως οξεία πνευμονική βλάβη, ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας, καρκίνος του πνεύμονα, άσθμα και χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, έχουν καταγραφεί στο ClinicalTrials.gov. και οι οποίες διερευνούν και αξιολογούνται ως προς την αξιοπιστία της αποτελεσματικότητας και ασφάλειας της θεραπείας με χρήση MSC (Chen Lijun, 2022)

Κλινικές δοκιμές φάσης 1. Η ενδοφλέβια χορήγηση MSC σε μέτρια ή σοβαρής μορφής νόσου ήταν ασφαλείς και καλά ανεκτές. Ενώ πιθανή βελτίωση της κλινικής έκβασης σημειώνει η ενδοφλέβια χορήγηση σε βαριά ασθενείς (Leng Z, 2020).

Η χρήση MSC προερχόμενα από αίμα περιόδου (MB-MSC), σε κρίσιμα πάσχοντες ασθενείς, θα μπορούσε να λειτουργήσει ως εναλλακτική θεραπεία (Tang L, 2020) Ενώ η εμφύτευση MB-MSCs μείωσε σημαντικά τη θνησιμότητα των ασθενών με ARDS που προκλήθηκε από την πανδημία της γρίπης Α (H. C. Chen J, Chen L, Tang L, Zhu Y, Xu X, Chen L, Gao H, Lu X, Yu L, et al., 2020).

Μία υψηλή δόση MSCs (200 x 10⁶ κύτταρα) (Hashemian S-MR, 2021) και εξωσώματα προερχόμενα από αλλογενή μεταμόσχευση (Sengurta V, 2020) έδωσε ανεκτή θεραπεία και βελτίωση σε ορισμένες κλινικές παραμέτρους. (Chen X, 2020) (Sanchez-Guijo F, 2020). Ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία MSC, έναντι ασθενών ελέγχου, παρουσίασαν χαμηλότερη πνευμονική εμβολή (βαθμολογία Murray), υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης και καλύτερη ανάκτηση πνευμονικών εμβολών (Xu Z, 2020) (Häberle H, 2021; Shu L, 2020) Οι Wu et al έδειξαν ότι οι πνευμονικές ινωτικές βλάβες μειώθηκαν με τη μετάγγιση hESC-IMRC σε ασθενείς με πνευμονική ίνωση (Wu J, 2020).

Σε κλινική δοκιμή με χρήση αλλογενών MSCs σε ασθενείς με σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) δεν βρέθηκαν ανεπιθύμητες αντιδράσεις, όπως υποξαιμία, αρρυθμία και κοιλιακή ταχυκαρδία, ενώ φάνηκαν καλά θεραπευτικά αποτελέσματα (Wilson JG, 2015)

Τέλος ανοίγεται ασφαλής δρόμος για φάση 2 και φάση 3 σε μέτρια ή σοβαρά πάσχοντες ασθενείς, που υποβλήθηκαν σε έγχυση US-MSCs με υποχρέωση παρακολούθησης για 96 εβδομάδες (Meng F, 2020)

Κλινικές δοκιμές φάσης 2. Τυχαιοποιημένη διπλή – τυφλή, με εικονικό φάρμακο δοκιμής φάσης 2, προς αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και ασφάλειας της ενδοφλέβιας θεραπείας με MSC. Επιλέχθηκαν ασθενείς σοβαρά πάσχοντες με COVID 19 και μοιράστηκαν τυχαία σε αναλογία 2:1 για να πάρουν UC-MSCs. Συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο η μετάγγιση με UC-MSCs, βελτίωσε τον όγκο και την αναλογία του όγκου της πνευμονικής βλάβης, από την έναρξη και έως την 28η ημέρα, έδωσε αυξημένη απόσταση βάρδισης των 6min (6MWD), έναντι της ομάδας με το εικονικό φάρμακο. Ενώ η εμφάνιση και συχνότητα ανεπιθύμητων παρενεργειών στη θεραπεία, βρέθηκαν παρόμοιες και στις δύο ομάδες (Shi L, 2021)

Σε μία άλλη διπλά τυφλή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη δοκιμή, που πραγματοποιήσαν οι Lanzoni et al. 24 άτομα τυχαιοποιήθηκαν και έλαβαν 1:1 είτε UC-MSCs είτε εικονικό

φάρμακο. Και διαπιστώνουν ότι εγχύσεις με UC-MSC μείωσαν σημαντικά τα επίπεδα κυτοκίνης την 6^η ημέρα και βελτίωσαν την επιβίωση σε ασθενείς με COVID-19 και με ARDS. Η φαρμακευτική αγωγή με MSC συσχετίστηκε με σημαντική βελτίωση του ποσοστού επιβίωσης, χωρίς σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. (Lanzoni G, 2021).

Πνευμονική βλάβη προκληθείσα από ακτινοβολία (RILI)

Σε κακοήθεις παθήσεις των πνευμόνων, θώρακος, τραχείας, όγκων και θύμου αδένου η ακτινοθεραπεία (RT) αποτελεί επιλογή θεραπείας. Παράγοντες όπως η μεγάλη ηλικία, υψηλή δόση ακτινοβολίας και το μέγεθος του όγκου, αποτελούν κίνδυνο πρόκλησης πνευμονικής βλάβης (RILI), η οποία χαρακτηρίζεται ως μία σοβαρή επιπλοκή της ακτινοθεραπείας (RT) λόγω υψηλής συχνότητας και σοβαρών συνεπειών της. Εκδηλώνεται με ξηρό βήχα, σοβαρή δύσπνοια και αναπνευστική ανεπάρκεια, με τελική κατάληξη τον θάνατο. Η RILI αποτελείται από το στάδιο της οξείας φάσης που εκδηλώνεται ως πνευμονίτιδα από ακτινοβολία (RP) και το στάδιο της χρόνιας φάσης, με εκδήλωση πνευμονικής ίνωσης ακτινοβολίας (RPF) (Rajan Radha R., 2017). Γενετικές αλλοιώσεις, οξειδωτικό στρες και φλεγμονώδεις αποκρίσεις αφορούν παράγοντες που συμβάλλουν στην εξέλιξη της πνευμονικής βλάβης, με τα ανοσοκύτταρα και τα μόρια σηματοδότησης να έχουν ρόλο σε όλη την διαδικασία. (Hou G, 2022).

Η χρήση των MSC ως μέσο θεραπείας της πνευμονικής βλάβης, βασίζεται στην μεταναστευτική ικανότητα τους στους τραυματισμένους ιστούς ρυθμίζοντας τα μόρια σηματοδότησης, αναστέλλοντας την έκκριση προφλεγμονοδών κυτοκινών και προάγοντας την επιβίωση καταστρεμμένων κυττάρων. (Hou G, 2022).

Αλλαγές στο πνευμονικό ιστό RILI

Όταν οι ιστοί και τα κύτταρα του πνεύμονα εκτεθούν στην ιονίζουσα ακτινοβολία, υφίστανται διαταραχή στις βιολογικές λειτουργίες και βλάβη των φυσιολογικών αλληλουχιών DNA ή RNA. (Liu Z., 2021). Η διέγερση και ιονισμός του νερού (ραδιόλυση) οδηγεί στην δημιουργία αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και δραστικών ειδών αζώτου (RNS). Δύο παράγοντες βλάβης που επηρεάζουν τις κατά φύση συνθήκες των κυττάρων και των ιστών. (Azzam E. I., 2012) Υπό των παραπάνω βλαπτικών παραγόντων, τα ενδοθηλιακά κύτταρα οδηγούνται σε θάνατο κυρίως με την ενεργοποίηση της p53. Εν

συνεχία τα αποπτωτικά μόρια ενεργοποιούν την συστημική φλεγμονώδη απόκριση. (Wijerathne H., 2021)

Η διακοπή ανάπτυξης και αναπαραγωγής κατεστρεμένων από DNA γηρασμένων κυττάρων, αποτελεί έναν άλλον σημαντικό μηχανισμό, στην θεραπεία του καρκίνου RT, διεγείροντας το ανοσοποιητικό σύστημα, να εξαλείψει τα γενετικά ασταθή κύτταρα. Ωστόσο, επίσης τα υγιή κύτταρα του ιστού του πνεύμονα, επηρεάζονται από την γήρανση των κυττάρων, που μέσω υπερβολικής έκκρισης φαινοτύπου έκκρισης, επιδέχονται βλάβη. (He Y., 2019) Πρόσφατα βρέθηκε ότι η ακτινοβολία προκαλεί φερρόπτωση, προάγοντας την υπεροξειδωση των λιπιδίων. (Lei G., 2020). Τα φλεγμονώδη κύτταρα, απελευθερώνουν ποσότητες μορίων με επακόλουθη σοβαρή φλεγμονή και διαταραχές του ανοσοποιητικού. Η ίνωση του πνευμονικού ιστού, εξελίσσεται με αύξηση κυτοκινών και έκφραση γονιδίων του κολλαγόνου, οδηγώντας σε πνευμονική ίνωση. (A, 1987).

Θεραπεία RILI με χρήση των MSC

Οι τρέχουσες θεραπείες για πνευμονική βλάβη δεν αποδεικνύονται αποτελεσματικές. Είναι κυρίως υποστηρικτικές, όπως το συμπληρωματικό οξυγόνο στην θεραπεία RPF, έχοντας όμως μεγάλη πιθανότητα επανεμφάνισης των συμπτωμάτων. (Hanania A. N., 2019) ή σοβαρών επιπλοκών, λόγω υψηλών δόσεων κορτικοστεροειδών, στην θεραπεία της RP. (Bledsoe T. J., 2017) (Grennan D., 2019; Sekine I., 2006)

Στην περίπτωση της πνευμονικής βλάβης, οι φλεγμονώδεις αλλαγές του ανοσοποιητικού συστήματος, συμβαίνουν τόσο στα αρχικά στάδια όσο και κατά την διάρκεια της ολοκλήρωσης της διαδικασίας της βλάβης. Τα MSC ως άμεσοι αισθητήρες βλάβης και αναστολείς της έμφυτης φλεγμονής, αντιδρούν σε αλλαγές στον μεταβολισμό και στο μικροπεριβάλλον, με έκκριση κυτοκίνης, σηματοδότησης απελευθέρωσης μορίων και ρύθμισης των ανοσοκυττάρων. (Harrell C. R., 2019)

Οι δύο γενιές θεραπείας MSC για RILI

Πρώτη γενιά: τα MSCs χορηγούνται άμεσα έχοντας ως αποτέλεσμα την προστασία των πνευμονικών κυττάρων, μέσω ρύθμισης πολλαπλών μορίων σηματοδότησης. Αναστολή διήθησης των λευκοκυττάρων και ρύθμιση της λειτουργίας αυτών.

Η προς τα κάτω ρύθμιση της ATM/P53/P21 οδού κατά miR-214-3p μειώνει τον τραυματισμό των ενδοθηλιακών κυττάρων του πνεύμονα. (H. N. Lei X., Zhu L., Zhou M., Zhang K., Wang C., et al., 2020)

Η αναστολή των TGF- β και α -SMA μειώνουν την πνευμονική ίνωση υπό αναμνηστικών δόσεων 7 ημερών. (Zhang C., 2019b)

Η αναστολή της TGF- β /smad οδού μειώνουν το οξειδωτικό στρες και τον τραυματισμό των πνευμόνων. (Hao Y., 2018) .

Η καταστολή της AKT/GSK3 β οδού μέσω του miRNA-466f-3p αποτρέπουν το EMT που προκαλείται από την ακτινοβολία. (S. Z. Li Y., Jiang X., Wang Y., Yang Z., Mao Y., et al., 2022)

Δεύτερη γενιά: χορηγούνται τροποποιημένα MSCs, ώστε να λειτουργούν ως φορείς γονιδιακής θεραπείας, ενισχύοντας την έκφραση γονιδίου στόχου.

Στόχευση μορίων σηματοδότησης με MSC

Σε ένα φλεγμονώδες περιβάλλον η άμεση έκκριση των IL-10 και IL-2 κυτοκινών (Jiang W., 2020) καθοδηγούν το ανοσοποιητικό σύστημα, μειώνοντας τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. (Zhang C., 2019b). Σημαντική μείωση του μεσολαβητή της φλεγμονής IL-1 (Garlanda C., 2013) και της γονιδιακής έκφρασης των IL-6 και της TNF - α σημειώνεται μετά από θεραπεία με MSC.

Τα MSC εκκρίνοντας Dickkopf-1 αποτρέπουν την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης 6, σχετικής με έναν τύπο υποδοχέα Wnt3a στην κυτταρική μεμβράνη, εμποδίζοντας την μεταγωγή σήματος Wnt (αναστολή οδού Wnt/ β -κατενίνης) (Shao L., 2021). Με ικανότητα να ρυθμίζουν την μετανάστευση των ανοσοκυττάρων και ομαλοποιώντας την έκφραση της μονοκυτταρικής χημειοελκυστικής πρωτεΐνης 1-MCP-1 (CCL2) μειώνουν την ικανότητα της μεταναστευτικής κατεύθυνσης των φλεγμονωδών κυττάρων. (S. A. Klein D., Imsak R., Wirsdorfer F., Unger K., Jastrow H., et al, 2016) Επιπλέον αντιστρέφεται η υψηλή αναλογία μονοκυττάρων και κοκκιοκυττάρων που παρατηρείται κατά την διάρκεια της πνευμονικής βλάβης.

Άλλα στοιχεία δείχνουν την καταστολή βλάβης επιθηλιακών κυττάρων ενισχύοντας και τις ραδιοπροστατευτικές λειτουργίες τους μέσω έκκρισης των miRNAs-214-3p των EVs που εκκρίνονται από τα MSC. (Lei X., 2021) αναστέλλοντας την πνευμονική ίνωση (S. Z. Li Y., Jiang X., Wang Y., Yang Z., Mao Y., et al, 2022)

Τα MSCs στην φλεγμονώδη απόκριση ουδετεροφίλων, λεμφοκυττάρων, μακροφάγων Ουδετερόφιλα. Η φλεγμονή, που προκαλείται από ενεργοποίηση και διήθηση των ουδετεροφίλων στον πνεύμονα, καταστέλλεται με την χρήση των MSC, μέσω φαγοκυτταρικής δραστηριότητας, όπου τα ουδετερόφιλα κατευθύνονται σε αυτοαπόπτωση. Τα αποπτωτικά αυτά κύτταρα προσλαμβάνονται από τα μακροφάγα, μειώνοντας την φλεγμονή απόκριση. (Hong G. H., p. 2017) (Fang S. B., 2018; Su X., 2018; van Dalen S. C. M., 2019). Επιπλέον τα MSC βοηθούν στην απομάκρυνση των πολυμορφοπύρηνων από την θέση φλεγμονής (αναστροφή της φλεγμονώδους διήθησης) (Shang Q., 2020)

Τα ουδετερόφιλα, προκειμένου να αντισταθούν σε εισβολή επιβλαβών ουσιών, εκκρίνουν εξωκυτταρικές παγίδες (πρωτεΐνες, μιτοχονδριακό DNA, χρωματίνη). Ωστόσο η υπερέκφραση αυτών των δομών, επιφέρει παθολογία των ιστών, στο πλαίσιο φλεγμονής. Τα MSCs αναστέλλοντας αυτήν την ικανότητα των ουδετεροφίλων να απελευθερώνουν αυτές τις παγίδες ανακουφίζουν την φλεγμονή. (Navas A., 2018)

EVs Ρύθμιση πόλωσης μακροφάγων. Τα εξωκυττάρια κυστίδια των MSC επικεντρώνουν το επιστημονικό ενδιαφέρον (H. N. Lei X., Zhu L., Zhou M., Zhang K., Wang C., et al, 2020), μιας και μπορούν να μειώσουν την κατακράτηση μακροφάγων και ουδετεροφίλων από τους ιστούς των πνευμόνων, αλλά και την έκφραση γονιδίων, σχετικές με την μετανάστευση των φλεγμονωδών κυττάρων. MSCs που καλλιεργούνται τόσο σε φυσιολογικές όσο και υπόξινες συνθήκες, απελευθερώνουν EVs με χαρακτηριστικά αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα. Σε συγκαλλιέργεια με αποκρινόμενα μακροφάγα, τα EVs απορροφήθηκαν αποτελεσματικά από τα κύτταρα, προκαλώντας αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού τους, μετατοπίζοντας την ισορροπία από τον φαινότυπο M1 προς το φαινότυπο M2 (πόλωση μακροφάγων) μειώνοντας την έκκριση της IL-12 και του TNF-9 (Lo Sicco C., 2017)

Λεμφοκύτταρα. Τα λεμφοκύτταρα βοηθούν στην εξέλιξη της πνευμονικής βλάβης κυρίως στα αρχικά στάδια της νόσου. Τα MSC εκκρίνοντας χημειοκίνες (CCL5, CXC-chemokine-ligand 9) που συνδέονται με το CCR5 και τον υποδοχέα επιφανείας CXC-chemo (CXCR) 3, των T-κυττάρων, υποχρεώνουν τα T- κύτταρα να μεταναστεύσουν στο χώρο των MSC. Τα MSC εκφράζοντας ανοσοτροποποιητικές ουσίες (μονοξειδίο του αζώτου, 2,3-διοξυγενάση

ινδολεαμίνης (IDO) στην ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των T- κυττάρων, οδηγούν τα T-κύτταρα σε χαμηλή προσαρμοστική ανοσία, αναστέλλοντας τόσο τον πολλαπλασιασμό των T-κυττάρων κεντρικής μνήμης, όσο και των T-κυττάρων τελεστικής μνήμης, μειώνοντας τα φλεγμονώδη συμπτώματα. (Luque-Campos N.) Επιπλέον, αναστολή της φλεγμονής επιτυγχάνεται με προσθήκη MSC στα αρχικά στάδια της νόσου, όπου τα MSC καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό, την ενεργοποίηση και διαφοροποίηση των Th-1 και Th-17 (Luz-Crawford P., 2013) καθώς και των υποσυνόλων τους IFN- γ , IL-2, IL-10, TNF- α/β (J, 1998) (Bettelli E., 2007) που προάγουν την φλεγμονή. Ενώ αναβαθμίζουν την διαφοροποίηση των Treg μέσω παρακρινής επίδρασης (Selmani Z., p. 2008) (Ghannam S., 2010)

Γενετικά τροποποιημένα MSC για RILI

Διαθέτοντας την ικανότητα της οικοδόμησης, προτείνονται από ερευνητές ως εργαλεία για γονιδιακή θεραπεία. Τα MSCs μπορούν να ενεργοποιήσουν ενδογενείς οδούς επιδιόρθωσης και να καταλάβουν την κατεστραμμένη περιοχή, όταν υπάρξει τραυματισμός. Οι εκκρινόμενες κυτοκίνες στην τραυματισμένη θέση, διεγείρουν την μετανάστευση των MSC in vitro και επάγουν τον παθοτροπισμό τους in vivo μέσω ενεργοποίησης μονοπατιών σηματοδότησης. Αυτά τα μονοπάτια σηματοδότησης περιλαμβάνουν κυρίως την φωσφοινοσιτιδική – κινάση/AKT, τον παράγοντα -1 των στρωματικών κυττάρων και την χημειοκίνη CXCR4 του υποδοχέα του. (He L., 2019). Εμφανής αύξηση αριθμού MSC παρατηρήθηκε κατόπιν ακτινοβόλησης του πνεύμονα (Perez J. R., 2017). Σε in vivo μελέτη με μοντέλο θηλυκών ποντικών, τροποποιημένα με Ad-HGF (MSC-HGF) βελτίωσαν τους βιοχημικούς και ιστοπαθολογικούς δείκτες της πνευμονικής βλάβης, μειώνοντας την έκκριση και έκφραση των προφλεγμονωδών κυτοκινών, μαζί και του παράγοντα νέκρωσης όγκου- α , ιντερφερόνης- γ , της IL-6 αυξάνοντας την έκφραση της αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-10.

Παράλληλα η γονιδιακή θεραπεία με βάση τον αυξητικό παράγοντα HGF, μπορεί μετασχηματίζοντας τον αυξητικό παράγοντα- β , Col1a1 (κολλαγόνο τύπου 1, α 1) και Col3a1, να αναστείλει την πρόοδο της ίνωσης. (Wang H., 2013).

UC-MSCs, τροποποιήθηκαν με ντεκορίνη (DCN) για να δημιουργήσουν MSCs-DCN και εμβολιάστηκαν ενδοφλεβίως, σε μοντέλο ποντικίου RILI, 6 ώρες και 28 ημέρες μετά

την ακτινοβολία. Τα θεραπευτικά αποτελέσματα αξιολογήθηκαν με ιστοπαθολογική ανάλυση καταδεικνύοντας μείωση της διήθησης των λεμφοκυττάρων, της απόπτωσης και αναστολή της ίνωσης στην τελευταία φάση. Ωστόσο το σημαντικότερο εύρημα, ήταν ότι η θεραπεία κατά την οξεία φάση (6 ώρες) μετά την ακτινοβολία, προκάλεσε ισχυρές αποκρίσεις τόσο στην άμβλυνση της φλεγμονής όσο και στην αναστολή της ίνωσης, συγκριτικά με την τελευταία φάση (28 ημέρες) Συμπερασματικά, γενετικά τροποποιημένα MSCs-DCN κατόπιν ακτινοβολίας, εξασθενούν την οξεία φλεγμονή και αναστέλλουν την μετέπειτα ίνωση. (Liu D., 2018).

MSC που υπερεκφράζουν τον υποδοχέα χημειοκίνης CXCR4, αυξάνουν την ποσότητα των μεταμοσχευμένων κυττάρων σε τοπικούς ιστούς. Η υπερέκφραση CXCR4 με ανθρώπινα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ομφάλιου λώρου (HCMSC), επιβεβαίωσε την αύξηση της ποσότητας των μεταμοσχευμένων HCMSC και ενισχύσε τις ικανότητες καταγωγής και μετανάστευσης των MSCs in vivo. Από την άλλη, τα HUMSC που υπερέκφραζαν το CXCR4, βελτίωσαν τις ιστοπαθολογικές αλλαγές, μείωσαν την έκφραση των SDF-1, TGF-β1, α-SMA και κολλαγόνου I και ανέστειλλαν την μειωμένη έκφραση της E-καντερίνης. Ευρήματα που υποδηλώνουν ότι τα HUMSC που υπερεκφράζουν το CXCR4 ενισχύουν την προστασία έναντι του RILI. (Zhang C., 2019a). Γενετικά τροποποιημένα MSC με έκφραση υποδοχέων TGF-β τύπου II, μέσω ενός αδενοϊού (Ad-sTβR) (Ad-sTβR -MSCs) μετανάστευσαν ειδικά σε πνεύμονα που τραυματίστηκε από ακτινοβολία ανακουφίζοντας τον, όπως φάνηκε από τα ιστοπαθολογικά αποτελέσματα, τις δοκιμασίες της μηλονοδιαλδεΐδης (MDA), της έκφρασης του αυξητικού παράγοντα συνδετικού ιστού (CTGF) και του λείου μυός ακτίνη α-SMA. In vivo το ρυθμιζόμενο με MSCs μέσο (MSCs-CM) εξασθένησε το RILI. In vitro προστάτεψε τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II από την απόπτωση και την βλάβη του DNA, ενώ ρύθμισαν την φλεγμονώδη απόκριση. (Xue J., 2013).

Η γήρανση των ενδοθηλιακών κυττάρων και των μικροαγγείων, σχετίζονται με την RP και RPF. Η αποκατάσταση του επιπέδου έκφρασης της υπεροξειδικής δισμουτάσης SOD1 αυξάνει την βιωσιμότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων για την ανακούφιση της RILI. (Epperly M. W., 1999; Holley A. K., 2011; S. J. Klein D., Wiesemann A., Schulz F., Kaschani F., Rock K., et al., 2017)

Σε άλλη μελέτη, μεταγγίσθηκαν ενδοφλεβίως σε ποντίκια, τροποποιημένα MSCs, με γονίδιο υπεροξειδίου του μαγγανίου (MnSOD), για την αξιολόγηση της προστατευτικής δράσης των MSCs στην RILI, διαπιστώνοντας ότι τα MnSOD-MSCs θα μπορούσαν να μετριάσουν την ρήξη των τριχοειδών, να αποτρέψουν την τελεγγειεκτασία και να διατηρήσουν την ακεραιότητα των μικροαγγείων, συμβάλλοντας στην ρύθμιση του οξειδωτικού στρες, αυξάνοντας την βιωσιμότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων, και βελτιώνοντας την βλάβη των πνευμόνων. (Chen H. X., 2017). **(Oren Levy, 2020)**

Νόσος του Crohn (CD)

Χρόνια ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, που εκδηλώνεται συχνότερα στις ηλικίες 17-30 χωρίς όμως να αποκλείεται η εμφάνιση της νόσου και σε πολύ μεγάλες ηλικίες <65 ετών. Η φλεγμονή μπορεί να επηρεάσει οποιαδήποτε μέρος του πεπτικού συστήματος, από το στόμα έως τον πρωκτό, με συχνότερη εμφάνιση στο τελευταίο τμήμα του λεπτού ή του παχέος εντέρου. Παράγοντες όπως η κληρονομικότητα, διαταραχές ανοσοποιητικού συστήματος, κάπνισμα κ.α. πιθανόν να είναι υπεύθυνοι για την νόσο. Εκδηλώνεται με συμπτώματα διάρροιας, κοιλιακό άλγος, αιμορραγία ορθού, αργότερα εκδηλώνεται αρθρίτιδα, πτώση ερυθρών αιμοσφαιρίων και τιμές αιματοκρίτη και απώλεια βάρους. Με την πάροδο του χρόνου, επέρχονται επιπλοκές όπως στένωση του εντέρου ή δημιουργία συριγγίων.

Περιπρωκτικά συρίγγια

Σχηματίζονται κατόπιν απόφραξης ενός πρωκτικού αδένου. Προκαλούνται από λοίμωξη ή φλεγμονή του εντέρου, νόσο του Crohn, φυματίωση, σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα, καρκίνο ή εκκολπώματα κ.α. Σε εξαιρετικά σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσει σε σηψαιμία. (Oren Levy, 2020)

Έως σήμερα έχουν καταχωρηθεί πάνω από 1000 κλινικές δοκιμές στο FDA.gov για την κλινική εφαρμογή των MSC σε νευροεκφυλιστικών, καρδιακών διαταραχών, περιπρωκτικών συριγγίων, καρκίνου κ.α. σοβαρών παθήσεων, ενώ παράλληλα, αρκετές εταιρείες είναι σε διαδικασία εμπορευματοποίησης θεραπειών που βασίζονται στη χρήση των MSC. Και ενώ σε προκλινικές μελέτες, οι έμφυτες θεραπευτικές λειτουργίες των MSC

παρουσιάζονται ισχυρές, στην κλινική εφαρμογή, οι θεραπείες αυτές παρουσιάζουν μειωμένη αποτελεσματικότητα.

Η κλινική δοκιμή φάσης 3 TiGenix/Takeda που αφορά την μελέτη χρήσης MSC προερχόμενα από Λιπώδη ιστό για προσκόλληση ύφεσης στην νόσο Crohn με περιπρωκτικά συρίγγια, αποτελεί την πιο επιτυχημένη δοκιμή MSC όψιμου σταδίου έως σήμερα. Σε αυτήν την τυχαιοποιημένη διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο δοκιμή φάσης 3, ενήλικοι ασθενείς με CD και ανθεκτικά στην θεραπεία περιπρωκτικά συρίγγια, έλαβαν θεραπεία είτε με μία μόνο ενδοτραυματική ένεση 120 εκατομμυρίων αλλογενών AT-MSCs (Alofisel) ή φυσιολογικό ορό. (Panés J., 2016). Κατόπιν 24 εβδομάδων το 50% περίπου των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με Alofisel παρουσίασαν υψηλή ύφεση, έναντι του 34% περίπου των ασθενών με το εικονικό φάρμακο. Παρατεινόμενη ύφεση επέδειξε το 56% περίπου της ομάδας που έλαβε θεραπεία, 52 εβδομάδες μετά, έναντι των 38% στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Αποδίδοντας την δυνατότητα των MSC στην βελτίωση του πρότυπου φροντίδας για χρόνιες παθήσεις και παράλληλα επικυρώνοντας το Alofisel, που έλαβε την έγκριση κεντρικής άδειας κυκλοφορίας για CD από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΟΦ) καθιερώνοντας την ως θεραπεία πολύπλοκων περιπρωκτικών σιριγγίων ανθεκτικών σε CD το 2018. Ενώ έως σήμερα ο ΕΟΦ, έχει εγκρίνει την χρήση του σε <10.000 ασθενείς με την ονομασία ορφανού προϊόντος (Detela G., 2019) . Αν και ακόμα δεν είναι σαφής ο μηχανισμός δράσης του, οι προκλινικές μελέτες υποδεικνύουν το βασικό ρόλο της ινδολεαμίνης 2,3 – διοξυγενάσης (IDO) παρουσία φλεγμονοδών παραγόντων. Η ενζυματική δραστηριότητα του IDO, αναστέλλει τη λειτουργία και τον πολλαπλασιασμό των T-κυττάρων, αυξάνοντας τον αριθμό των ρυθμιστικών T- κυττάρων, οδηγώντας σε αύξηση των αντιφλεγμονωδών κυτοκινών (π.χ IL-10) και μείωση των προ-φλεγμονώδων κυτοκινών (π.χ IFN-γ και TNF-α) (Levy , Kuai , & Siren 2020).

Εγκεκριμένες Κλινικές δοκιμές στην εφαρμογή των MSC λοιπών νοσημάτων

Έως σήμερα έχουν καταχωρηθεί πάνω από 1000 κλινικές δοκιμές στο FDA.gov για την κλινική εφαρμογή των MSC σε νευροεκφυλιστικών, καρδιακών διαταραχών, περιπρωκτικών σιριγγίων, καρκίνου κά σοβαρών παθήσεων, ενώ παράλληλα, αρκετές εταιρείες είναι σε διαδικασία εμπορευματοποίησης θεραπειών που βασίζονται στη χρήση

των MSC. Σε παγκόσμια κλίμακα, εκτός της Alofisel θεραπείας, δέκα ακόμη θεραπείες MSC για GnHD, CD, ALS και MI είναι εγκεκριμένες, όπως αυτές απεικονίζονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1. Προϊόντα MSC που έχουν λάβει ρυθμιστική έγκριση.

Όνομα	Τύπος MSC	Ενδειξη	Χώρα έγκρισης (έτος)	Εταιρία
Alofisel	Ανθρώπινο AT-MSC	Σύνθετα περιπρωκτικά συρίγγια σε CD	Ευρώπη (2018)	TiGenix NV/Takeda
Προχυμικό (remestemcel-L)	Ανθρώπινο BM-MSC	GnHD	Καναδάς (2012) Νέα Ζηλανδία (2012)	Osiris Therapeutics Inc./ Mesoblast Ltd.
Temcell HS Inj	Ανθρώπινο BM-MSC	GnHD	Ιαπωνία (2015)	JCR Pharmaceuticals
Queencell	Ανθρώπινο AT-MSC	Ελαττώματα υποδόριου ιστού	Νότια Κορέα (2010)	Anterogen Co. Ltd.
Cupistem	Ανθρώπινο AT-MSC	Συρίγγιο του Crohn	Νότια Κορέα (2012)	Anterogen Co. Ltd
Neuronata-R	Ανθρώπινο BM-MSC	Αμυτροφική πλάγια σκλήρυνση	Νότια Κορέα (2014)	Corestem Inc.
Cartistem	Ανθρώπινο UC-MSC	Ελαττώματα αρθρικού χόνδρου γόνατος	Νότια Κορέα (2012)	Medipost Co. Ltd.
Stemirac	Ανθρώπινο BM-MSC	Τραυματισμός σπονδυλικής στήλης	Ιαπωνία (2018)	Nipro Corp.
Stempeucel	Ανθρώπινο BM-MSC	Κρίσιμη ισχαιμία άκρων	Ινδία (2016)	Stempeutics Research PVT
Cellgram-AMI	Ανθρώπινο BM-MSC	Οξύ MI	Νότια Κορέα (2011)	Pharmicell Co. Ltd.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7439491/table/T2/?report=objectonly>

(Levy et al., 2020)

Κεφάλαιο 9. Κλινικές προκλήσεις, που προκύπτουν από την κατασκευή των MSC

Οι προκλινικές μελέτες, βασίστηκαν αρχικά στην πολυδυναμία των εξαιρετικών ιδιοτήτων των MSC, ενώ η ανακάλυψη των ανοσοτροποποιητικών ιδιοτήτων αυτών, προέτρεψε την MSCs ως θεραπεία νευροεκφυλιστικών και φλεγμονωδών ασθενειών, με το θεραπευτικό αποτέλεσμα, να βασίζεται στην επαφή κύτταρο- κύτταρο, αλλά και τον μηχανισμό hit and run, όπου παρακρινικοί τελεστές, μεταφέρονται σε κύτταρα στόχους.

Και ενώ οι έμφυτες θεραπευτικές λειτουργίες αυτών παρουσιάζονται ισχυρές, με επιτυχία στις θεραπευτικές μεθόδους, οι κλινικές εφαρμογές τελευταίου σταδίου, αποδίδουν μειωμένη αποτελεσματικότητα, ή δεν προχωρούν πέρα από τις προκλινικές μελέτες.

Οι 300 ολοκληρωμένες κλινικές δοκιμές με χρήση MSC σε ανθρώπινα μοντέλα, από το 2020 έως σήμερα, απέδωσαν πληροφορίες κατανόησης επιτυχίας ή αποτυχίας, εφαρμοσμένης θεραπείας MSC σε ανθρώπινα μοντέλα.

Η ετερογένεια στην ισχύ του προϊόντος MSC, η μεταβλητή βιοκατανομή, η φαρμακοκινητική με διαφορετικής οδού χορήγησης και η περιορισμένη κατανόηση του αντίκτυπου που έχει η απόκριση του ξενιστή στην θεραπευτική αποτελεσματικότητα μετά την χορήγηση, φαίνεται να είναι οι πιθανοί παράγοντες που συμβάλλουν σε μειωμένη απόδοση των κλινικών θεραπειών. (Galipeau J., 2018) (Shi Y., 2018a). Αυτοί οι παράγοντες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: Στην κατασκευή των MSC, την χορήγηση των MSCs και στον παραλήπτη MSCs.

Οι αποτυχίες στις τρέχουσες κλινικές θεραπείες MSC στον άνθρωπο, προσδιορίζονται από την δυσκολία πρόβλεψης ανοσοτροποποιητικών επιδράσεων στον άνθρωπο. Αυτό μπορεί να βασίζεται εν μέρει στον καθορισμό χαρακτηριστικών ποιότητας (CGA) του MSC προϊόντος. Η ISCT αρχικά φωτογράφησε το «στέλεχος» του MSC θέτοντας τρία ελάχιστα φαινοτυπικά κριτήρια με βάση την μορφολογία, τους επιφανειακούς δείκτες και την διαφοροποίηση τριών γενεών, όχι όμως και τις ανοσοτροποποιητικές επιδράσεις που υπαγορεύουν τις θεραπευτικές τους ιδιότητες. (Levy et al., 2020) Το 2019 η ISCT, εμπλουτίζει τα κριτήρια της, για τον ορισμό των MSCs, να περιλαμβάνονται i) η προέλευση του ιστού πηγής ii) σχετικές λειτουργικές δοκιμασίες για να καθοριστεί το σχετικό θεραπευτικό τρόπο δράσης τους. (Viswanathan S., 2019). Επίσης θέτει «αναβολή»

αναφοράς για τα MSC ως μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, στη βιβλιογραφία, εκτός αν παρουσιαστούν αυστηρά στοιχεία βλαστικότητας τόσο in vitro όσο και in vivo. Καθώς τα MSC αποτελούν «ζωντανές» θεραπείες, επιβάλλονται νέες ελάχιστες CQA για MSC, σχετικά με την in vitro ισχύ (π.χ καταστολή του πολλαπλασιασμού των T-κυττάρων ή έκφραση IDO) εκτός από την αξιολόγηση της αναγνώρισης, της βιωσιμότητας, καθαρότητας ιστού, πολλαπλασιαστική ικανότητα, γονιδιωματική σταθερότητα και μικροβιολογικές δοκιμές. (De Wolf C., 2017) (Guadix J. A., 2019)

Επιδράσεις στην κατασκευή – αποθήκευση στην λειτουργία των MSC

Ετερογένεια στο προϊόν MSC

Το προφίλ έκφρασης θεραπευτικού γονιδίου και πρωτεΐνης ποικίλλουν ανάλογα των χαρακτηριστικών του δότη, τον ιστό προέλευσης (Hass R., 2011) (Shi Y., 2018b) την μέθοδο απομόνωσης και την in vitro παρασκευής τους (De Wolf C., 2017; Yin J. Q., 2019) με αποτέλεσμα την ετερογένεια του προϊόντος MSC. Η τυποποίηση της θεραπευτικής ισχύος του προϊόντος MSC καθίσταται σημαντικής σημασίας, ωθώντας στην ανάπτυξη βέλτιστων in vitro δοκιμασιών ισχύος, αποδίδοντας CQA του προϊόντος MSC για την θεραπευτική τους λειτουργία. Συγκριτικά με τους υποκαταστάτες δείκτες (έκφραση IDO ή έκφραση TNF-α) ο προσδιορισμός ισχύος που βασίζεται, στην in vitro αναστολή του πολλαπλασιασμού T- κυττάρων με χρήση ενεργοποιημένων CD4⁺ T- κυττάρων, είναι ο πιο αντιπροσωπευτικός. (Bloom D. D., 2015; De Wolf C., 2017; Salem B., 2015).

Προμήθεια και κατασκευή MSC

Κατά την διάρκεια της ανάπτυξης προϊόντος MSC, τα ήδη διαθέσιμα δεδομένα μας δεν επαρκούν στο να καθορίσουν πως η πηγή ιστού, η μέθοδος απομόνωσης και η καλλιέργεια, μπορούν να επηρεάσουν την θεραπευτική αποτελεσματικότητα των MSC. Σε κλινική δοκιμή φάσης 3, (NCT00366145) με χρήση remestemcel-L σε 240 ασθενείς GvHD μεικτής ηλικίας, απαιτήθηκε η επέκταση των κυττάρων που προήλθαν από έναν μόνο δότη, στις διόδους 3 και 4, κατά την διάρκεια της κατασκευής, για απόδοση ικανού αριθμού MSCs, προκειμένου να καλυφθεί η θεραπεία όλων των συμμετοχόντων ασθενών, χωρίς όμως να ανταποκριθούν στα τελικά κύρια σημεία, παρότι σε προηγούμενα στάδια της μελέτης, επέδωσαν θετική επίδραση στο ήπαρ και έντερο. (Martin P. J., 2010).

Αντίθετα σε δοκιμή φάσης 2 που διεξήχθη στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Φρανκφούρτης, χρησιμοποιήθηκαν ομαδοποιημένα MSCs, μεταβιβάσεων 1 και 2, από 8 δότες, που έδωσαν ποσότητες MSCs ικανές για την κάλυψη της θεραπείας και των 26 ασθενών με GnHD, στο πρωτεύον τελικό σημείο (28η ημέρα), σε ποσοστό 77% (Κιζι Ζ., 2016). Οι παραπάνω δύο δοκιμές συγκριτικά, αποδίδουν την σημαντικότητα της προμήθειας και της κατασκευής MSC σε εμπορική κλίμακα. (J., 2013; Yin J. Q., 2019)

Ομοιογένεια MSC

Αρκετές στρατηγικές βιοϋλικών έχουν ελεγχθεί, προς διατήρηση ομοιογενών MSC στην φάση επέκτασης, δημιουργία MSC υψηλής ποιότητας, σε επαρκείς ποσότητες, για μεγάλες κλινικές δοκιμές και αποκλεισμό MSC χαμηλής θεραπευτικής αποτελεσματικότητας, προκειμένου την βελτιστοποίηση της ποιότητας του προϊόντος. Επεκτεινόμενα hMSC, σε μήτρες υδρογέλης, απέφυγαν μειώσεις έκφρασης κυτταρικής επιφάνειας και έκφραση κυτοκίνης, όταν περνούσαν σε πολυστυρόλιο. (Rao V. V., 2019). Ενώ ωφέλιμη φάνηκε η ανάπτυξη MSC σε 3D συστήματα καλλιέργειας, για την διατήρηση του φαινότυπου MSC, πρώιμης διέλευσης, στην διάρκεια επέκτασης. (Bunpetch V., 2019; Ho S. S., 2016)

Ετερογένεια MSC

Η Cynata Therapeutics, χρησιμοποιώντας επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs) κατάφερε ανάπτυξη ομοιογενών MSCs, προκειμένου να ξεπεραστεί η ετερογένεια των προϊόντων MSC. Συγκριτικά με τα MSC έχοντας υψηλότερη ικανότητα πολλαπλασιασμού, επεκτείνονται για να δημιουργήσουν, μεγάλες ποσότητες iPSC και εν συνεχεία να διαφοροποιηθούν σε MSC φέροντας εμπορικές ποσότητες iPSC – MSCs. Για παράδειγμα 1×10^{22} ανακαλλιέργειας 1 MSCs, παράγονται από μεμονωμένο πληθυσμό iPSC από δότες με καταστολή των T- κυττάρων. (Ozay E. I., 2019) (Vodyanik M. A., 2010) χωρίς απώλεια της θεραπευτικής ισχύς των MSCs. (Cox G., 2012).

Αν και η εγγενής αυτο-ανανέωση και πολυδυναμία των iPSC πιθανά να ευθύνεται για το ογκογονικό δυναμικό, αυτό φαίνεται να απομακρύνεται κατόπιν κλινικών μελετών που δείχνουν τα iPSC – MSCs είναι ασφαλή.

Σε κλινική μελέτη φάσης 1 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/nct02923375>) (NCT02923375), προϊόν της Cynata, CYP-001, αποδείχθηκε αποτελεσματικό για την θεραπεία της ανθεκτικής στα στεροειδή GvHD, απουσία ογκογένεσης.

Κρυσυντήρηση και διάσωση καλλιέργειας MSCs

Μία ακόμη πρόκληση στην ανάπτυξη προϊόντων MSC υψηλής ποιότητας, αποτελεί ο χειρισμός των MSC μετά από κρυσυντήρηση.

Η επεξεργασία των MSC, μεταξύ της απόψυξης και της χορήγησης στον ασθενή, ποικίλλει μεταξύ των κλινικών δοκιμών, επιφέροντας απώλεια της ισχύος των MSC και επιπτώσεις στην θεραπευτική επίδραση τους. Μελέτη φάσης 2 που αξιολογούσε τα MSCs ως θεραπεία κατά της χρόνιας φλεγμονώδους διαταραχής ARDS, απέτυχε να σημειώσει κλινική βελτίωση, συγκριτικά με τις ομάδες ελέγχου, παρά τα θετικά αποτελέσματα που είχαν σημειωθεί στη φάση 1. Σε εκ των υστέρων ανάλυση, διαπιστώθηκε βιωσιμότητα του 36% έως 85% των αποψυγμένων MSC και μόνο το 70% με 85% μπόρεσε να βελτιώσει την οξυγόνωση των ασθενών, συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο. (Wilson J. G., 2015).

Τα αποψυγμένα MSCs παρουσιάζουν περιορισμένες ανοσοκατασταλτικές ικανότητες, μειωμένη ικανότητα καταστολής του πολλαπλασιασμού των T-κυττάρων (Francois M., 2012) και μειωμένη δομική ακεραιότητα εξαιτίας διατάραξης του κυτταροσκελετού της ακτίνης, κατά την επαναθέρμανση (Chinnadurai R., 2014) καθιστώντας τα αποψυγμένα κύτταρα «στόχο» για τα ενεργοποιημένα T- κύτταρα, επιταχύνοντας την έναρξη της ανοσολογικής κάθαρσης, μειώνοντας την διάρκεια ζωής των ανέπαφων MSC μετά την έγχυση. (Moll G., 2014). Από την άλλη μεριά, ερευνητές οι οποίοι επέλεξαν ως τρόπο χειρισμού, την «ανάκτηση» αποψυγμένων MSCs, υπό κυτταρική καλλιέργεια 24 ωρών τουλάχιστον, μεταξύ της απόψυξης και της έγχυσης. (. Rapés J., 2016)διέφυγαν των επιπτώσεων της κρυσυντήρησης. Χειρισμός ο οποίος χρησιμοποιήθηκε σε κλινική δοκιμή φάσης 3 στο Alofisel για περιπρωκτικά συρίγγια. (Oren, 2020)

Μηχανική MSC για ενίσχυση των λειτουργιών των MSC

Οι υψηλές δόσεις έγχυσης MSC σε θεραπευτικές εφαρμογές, αποδεικνύονται ασφαλείς και με πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα. Τα πρωτόκολλα ποιοτικού ελέγχου βοηθούν στην μείωση του κινδύνου κλινικής αποτυχίας, ωστόσο δεν μπορούν να επιλύσουν το

πρόβλημα πλήρως. Προκειμένου την ενίσχυση της έμφυτης λειτουργίας MSCs, ανεξάρτητα της κρυσυντήρησης, του αριθμού διοδίων και την πηγή δότη, χρειάζονται βιομηχανικές εναλλακτικές στρατηγικές.

Εκκίνηση MSC: Μία απλή στρατηγική, εξωγενούς ενίσχυσης της θεραπευτικής λειτουργίας των MSC, είναι η «εκκίνηση» των MSC, με μικρά μόρια, εμποτισμένα με νευροαναγεννητικά προϊόντα MSC. Όπως το προϊόν Brainstorm Cell Therapeutics MSC. Το NurOwn, ως αρχικό προϊόν MSC, χρησιμοποιώντας ιδιόκτητο μέσο καλλιέργειας, ενισχύει την την έμφυτη αναγεννητική ικανότητα των MSCs, εκφράζοντας πολλαπλούς νευροφυτικούς παράγοντες NTFs, τον νευροφυτικό παράγοντα GDNF, τον παράγοντα της αγγειακής ενδοθηλιακής ανάπτυξης VEGF και τον αυξητικό παράγοντα HGF. (A. N. Gothelf Y., Harel A., Offen D., 2014; Wang Y., 2014).

Μαζί με τα ανοσοτροποποιητικά συστατικά που εκκρίνουν τα MSC, το NurOwn παρέχει πολλαπλούς NTF (K. H. Gothelf Y., Abramov N., Aricha R., 2017) επιδεικνύοντας θετικά θεραπευτικά αποτελέσματα. Σε κλινική δοκιμή φάσης 2, ασθενείς με ALS εμφάνισαν μειωμένη εξέλιξη της νόσου, 24 μήνες μετά την έγχυση, σε σύγκριση με τους μάρτυρες. (NCT02117912) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/nct02017912> . Ενώ βρίσκεται σε διαδικασία επέκτασης του NurOwn από την Brainstorm Cell Therapeutics, για κλινική δοκιμή φάσης 2 για ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας (NCT02117912) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/nct03799718>.

Φόρτωση μικρομορίων: Μία δεύτερη στρατηγική, αφορά τις τεχνικές βελτίωσης της επιβίωσης των μεταμοσχευμένων κυττάρων και της επέκτασης της έκθεσης μικρομορίων σε μεταμοσχευμένα κύτταρα. Για παράδειγμα, η «φόρτωση» MSC με μικροσωματίδια που περιέχουν μικρομόρια (MPs) χρησιμοποιούνται για την ενίσχυση της διάρκειας του προϊόντος MSC. (M. O. R. Ankrum J. A., Ng K. S., Sarkar D., Xu C., Karp J. M., 2014; Levy O., 2016). Τα «φορτωμένα» με MPs, MSC εμφάνισαν τετραπλάσια ενισχυμένη δραστηριότητα IDO in vitro, συγκριτικά με τα ελεύθερα MSCs και τα εγγενή MSC, καταστέλλοντας τα διεγερμένα μονοκύτταρα PBMSCs μετά από διέγερση με IFN-γ (D. R. G. Ankrum J. A., Ong J. F., Levy O., Karp J. M., 2014).

Γενετική κατασκευή MSC

Μέσω μεταγωγής κικού DNA και επιμόλυνση m RNA/DNA, τα MSC μπορούν να κατασκευαστούν και να χρησιμοποιηθούν ως παραγωγός και φορέας βιολογικών. Γενετικά κατασκευασμένα MSCs, σε μοντέλο ποντικίου, με έκφραση του αντιοξειδωτικού παράγοντα θειορεδοξίνης-1 (Trx1), βελτίωσαν την καρδιακή λειτουργία μετά από MI. (Suresh S. C., 2015).

Μηχανική ενίσχυση, επέκτασης λειτουργιών των MSC

Δημιουργία μηχανικών MSCs, που θα χρησιμοποιούνται ως «δούρειοι ίπποι» παρέχοντας με ασφάλεια υψηλές δόσεις βιολογικών συστατικών, στοχεύοντας σε καρκινικά κύτταρα, με μονοδοσική χρήση MSC. Σε μοντέλο ποντικίου, με γλοιβλάστωμα υψηλής κακοήθειας, κατασκευασμένοι «δούρειοι ίπποι» MSC, προκάλεσαν απόπτωση TRAIL, σχετιζόμενη με τον TNF σε καρκινικά κύτταρα, καταστέλλοντας την ανάπτυξη όγκου. (Z. S. X. Liu L., Liao W., Farhoodi H. P., Wong C. W., Chen C. C., Segaliny A. I., Chacko J. V., Nguyen L. P., Lu M., Polovin G., Pone E. J., Downing T. L., Lawson D. A., Digman M. A., Zhao W.,, 2017).

Με την χρήση ενός προαγωγέα YAP/TAZ σε MSC, ο οποίος ενεργοποιείται όταν τα κύτταρα αντιληφθούν το άκαμπτο περιβάλλον μήτρας συμπαγών όγκων, τα MSC απελευθερώνουν τα βιολογικά τους εκκρίματα, μόνο ως απόκριση σε ερεθίσματα, φυσικών χαρακτηριστικών του όγκου και όχι σε όλο το σώμα. Έτσι υπό τον έλεγχο του προαγωγέα YAP/TAZ τα MSCs μπόρεσαν να ενεργοποιήσουν τοπικά το προ-φάρμακο, 5-φθοροκυτοσίνη, μειώνοντας το φορτίο όγκου σε περιοχές πλούσιες σε κολλαγόνο ποντικών χωρίς να προκαλέσουν συστηματική τοξικότητα. (Z. S. X. Liu L., Liao W., Farhoodi H. P., Wong C. W., Chen C. C., Segaliny A. I., Chacko J. V., Nguyen L. P., Lu M., Polovin G., Pone E. J., Downing T. L., Lawson D. A., Digman M. A., Zhao W.,, 2017).

Ογκολυτικοί ιοί (OVs)

Η χρήση ογκολυτικών ιών, αφορά μία νέα σχετικά θεραπεία του καρκίνου. Κατασκευάζονται ιοί, που προκαλούν κυταρόλυση ή ενεργοποίηση της αντικαρκινικής ανοσίας, έναντι των καρκινικών κυττάρων. (Gujar S., 2018). Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα των εγχυόμενων OV, εξουδετερώνεται άμεσα, εξαιτίας των χημικών αποκρίσεων, αδρανοποίησης από πρωτεϊνών συμπληρώματος και της φαγοκυττάρωσης.

(Ikeda K., 1999; Wakimoto H., 2002). Για να ξεπεραστεί η αδρανοποίηση, χορηγούνται ιοί σε κύτταρα φορείς, που κρύβουν το ιικό αντιγόνο και κατά την παράδοση, απελευθερώνουν το ιό μολύνοντας κακοήθη κύτταρα και διασφαλίζοντας τους φυσιολογικούς ιστούς. Η συστηματική χορήγηση αυτών των κυττάρων, συγκριτικά με την έγχυση γυμνού ιού, βελτιώνει την θεραπευτική αποτελεσματικότητα. (Power A. T., 2007).

Η χρήση MSCs ως OV φορείς, έχει μόνο ένα περιορισμό, ότι τα MSC επιδεικνύουν μέτρια μολυσματικότητα. (Conget P. A., 2000) κάτι που ξεπερνιέται με χρήση μηχανικών ογκολυτικών αδενοϊών (OAds) όπως π.χ. ο ογκολυτικός αδενοϊός Ad5/3 (Hammer K., 2015).

Σε άλλη εφαρμογή, για την θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη, χορηγούμενα κατασκευασμένα MSCs με ειδικό φαινότυπο που εκκρίνει ινσουλίνη, παρέχουν ασφάλεια και μακροπρόθεσμο έλεγχο της υπεργλυκαιμίας, θέτοντας μείωση της ανάγκης για εξωγενή λήψη ινσουλίνης. (Thakkar U. G., 2015)

Κεφάλαιο 10. Συμπεράσματα

Η χρήση των βλαστοκυττάρων φαίνεται να μπορεί να παρέχει δυνατότητες πολλαπλών εφαρμογών στην Αναγεννητική Ιατρική. Η ανάπτυξη θεραπειών με τη χρήση τους, θα ευνοήσει χρόνια ή ανίατα νοσήματα, στο μέλλον.

Παρά τον σημαντικό αριθμό μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί, η κλινική διαχείριση ασθενειών με χρήση των MSC απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση.

Γενετικές αλλοιώσεις, οξειδωτικό στρες και φλεγμονώδεις αποκρίσεις είναι κάποιοι από τους παράγοντες που συμβάλλουν στην πρόοδο των θεραπειών. Τα MSC παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτικά και σηματοδοτικά αποτελέσματα, ωστόσο προκειμένου την βελτίωση της φλεγμονής, σε θεραπείες είναι σημαντική η τεκμηρίωση των φυσιολογικών αλλοιώσεων που προκαλούνται και η αποσαφήνιση των μηχανισμών που ρυθμίζουν και καθορίζουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των θεραπευτικών MSCs και του φλεγμονώδους περιβάλλον.

Η δυνατότητα διαφοροποίησης των MSC σε πολλούς ιστούς και η ικανότητά τους να επεκτείνονται για παρατεταμένες χρονικές περιόδους χωρίς την απώλεια των αρχικών τους χαρακτηριστικών, τα αναδεικνύει για χρήση σε θεραπείες και μεταφραστική έρευνα. Ωστόσο μικρές αλλαγές στο πρωτόκολλο απομόνωσης και καλλιέργειας, όπως, η σύνθεση των μέσων και η συγκέντρωση στον ορό μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση, την ποιότητα και τη σύνθεση των απομονωμένων Βλαστοκυττάρων, επηρεάζοντας το θεραπευτικό δυναμικό τους. Θα πρέπει να δημιουργηθούν καταλληλότερες λειτουργικές δοκιμασίες και να αποσαφηνιστεί ο τρόπος δράσης τους, ώστε να κατανοηθούν καλύτερα οι ιδιότητες αυτοανανέωσης τους οι μέθοδοι απομόνωσης και αποθήκευσης τους, τον χειρισμό τους, τον μοριακό χαρακτηρισμό. Η εμβάθυνση των γενετικών, βιολογικών εκκριτικών παραγόντων και των μηχανισμών τους, θα ενισχύσουν σημαντικά τις μελλοντικές θεραπευτικές εφαρμογές τους. Οι τρόποι χειρισμού φρέσκων αλλά και αποψυγμένων Βλαστοκυττάρων, η βιωσιμότητα τους πριν την έγχυση, το σχήμα χορήγησης συμπεριλαμβανομένης της δόσης, του διαστήματος και του αριθμού των κύκλων, την οδό χορήγησης και την παράδοση των MSC εντός συγκεκριμένης φάσης της νόσου.

Μακροχρόνια παρακολούθηση ελεγχόμενων κλινικών δοκιμών θα βοηθήσει στην αξιολόγηση αποτελεσματικότητας και ασφάλειας.

Περιορισμοί, όπως οριστικό χαρακτηρισμό των MSCs και των ποικίλων ιδιοτήτων των διαφορετικών πηγών MSCs, απαιτούν την τυποποίηση των προϊόντων MSC και τα πρωτόκολλα κλινικής εφαρμογής τους. Αυστηρότερη τυποποίηση των προϊόντων MSC και τα πρωτόκολλα κλινικής εφαρμογής τους, θα επηρεάσει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας.

Αναφορές

- Bianconi Eva, Casadei R, Frabetti F, Ventura C, & Facchin F. (2020). Sex-specific transcriptome differences in human adipose mesenchymal stem cells. . *Genes*.
- Dominici, M., Blanc,, K. L., Mueller, I., I Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Ds Krause, . . . Horwitz, E. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 301-2. doi:10.1080/14653240701218540
- Levy , O., Kuai , R., & Siren , E. M. (2020). Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies. *Sciense Advances*.
- The Lancet Editors Expression of concern: The SCIPIO trial. (2014). *Lancet*. .
- . Luo E., L. H. (2019). Dental-craniofacial manifestation and treatment of rare diseases. *Int. J. Oral Sci*, 1-15.
- . Panés J., G.-O. D.-S. (2016, Sep). Collaborators A. C. S. G., Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn’s disease: A phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *Lancet*, 1281–1290. doi:doi: 10.1016/S0140-6736 (16)31203-X.
- A B Araújo , J M Furlan , G D Salton, T Schmalfluss , L M Röhsig , & L M R Silla . (2018). Isolation of human mesenchymal stem cells from amnion, chorion, placental decidua and umbilical cord: comparison of four enzymatic protocols. *Comparative Study*, 989-998.
- A, P. (1987). Role of superoxide dismutase in modification of radiation injury. *Br J Cancer Suppl*, σσ. 87-95.
- A, P. (1987, Jun;). Role of superoxide dismutase in modification of radiation injury. *Br. J. Cancer. Suppl.*, σσ. 87–95.
- Ab Kadir R, Z. A. (2012, May 2). Characterization of mononucleated human peripheral blood cells. *Scientific World Journal*. doi:doi: 10.1100/2012/843843.
- Abedin M, K. N. (2010, December). "Diverse evolutionary paths to cell adhesion". *Trends in Cell Biology*, pp. 734–42. doi:https://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.08.002
- Ahuja S Christopher, A. R. (2016). Recent advances in managing a spinal cord injury secondary to trauma. *F1000Res*.
- Almeida C.R., C. H. (2016). NAP-2 secreted by human NK cells can stimulate mesenchymal stem/stromal cell recruitment. *Stem Cell Rep.*, pp. 466–473. doi:doi: 10.1016/j.stemcr.2016.02.012.
- Ankrum J. A., D. R. (2014, Apr 10). Performance-enhanced mesenchymal stem cells via intracellular delivery of steroids. *Sci. Rep*. doi: doi: 10.1038/srep04645.

- Ankrum J. A., M. O. (2014, Feb 9). Engineering cells with intracellular agent-loaded microparticles to control cell phenotype. *Nat. Protoc*, 233–245. doi:doi: 10.1038/nprot.2014.002. Epub 2014 Jan 9.
- Annette Schmidt, D. L. (2006). Basic fibroblast growth factor controls migration in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. doi:doi: 10.1634/stemcells.2005-0191.
- Anzalone R., I. M. (2010). New emerging potentials for human wharton's jelly mesenchymal stem cells: immunological features and hepatocyte-like differentiative capacity. *Stem Cells and Development*, 423–438. doi:doi: 10.1089/scd.2009.0299
- Arminan A, G. C.-V. (2010). Cardiac transcription factors driven lineage-specification of adult stem cells. *Journal of cardiovascular translational research*. , 61-65.
- Askari A.T., S. U. (2003 doi: 10.1016/S0140-6736 (03)14232-8.). Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet.*, 697–703. doi:doi: 10.1016/S0140-6736 (03)14232-8.
- Assoian R K, K. A. (1983, June 10). Transforming growth factor-beta in human platelets. Identification of a major storage site, purification, and characterization. pp. 7155-7160. doi:https://doi.org/10.1016/S0021-9258 (18)32345-7
- Assoian RK, K. A. (n.d.). Transforming growth factor-beta in human platelets. Identification of a major storage site, purification, and characterization". *J. Biol. Chem*, pp. 7155–60. doi:doi : 10.1016/S0021-9258 (18)32345-7 .
- Atala A., L. R. (2002). *Methods of Tissue Engineering*. Χιούστον, Τέξας, ΗΠΑ: Gulf Professional Publishing; .
- Augello A, D. B. (2010). The regulation of differentiation in mesenchymal stem cells. . *Human gene therapy*. , 1226–1238.
- Azzam E. I., J.-G. J. (2012 , Dec 31). Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury. *Cancer Lett.*, σσ. 48–60. doi:doi: 10.1016/j.canlet.2011.12.012.
- B., E. (2018). Cardiac progenitor reprogramming for heart regeneration. *Cell Regen*.
- B.K., H. (2018). Germ layers, the neural crest and emergent organization in development and evolution. *Genesis*.
- Badhiwala H Jetan, A. S. (2018). Time is spine: a review of translational advances in spinal cord injury. *J Neurosurg Spine*.
- Baer PC, G. H. (2012, Apr 12). Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: tissue localization, characterization, and heterogeneity. *Stem Cells Int*. doi:doi: 10.1155/2012/812693.

- Baglioni S, F. M. (2009, Oct 23). Characterization of human adult stem-cell populations isolated from visceral and subcutaneous adipose tissue. *FASEB J*, pp. 3494–3505. doi:doi: 10.1096/fj.08-126946.
- Baglioni S, F. M. (2009, Oct 23). Characterization of human adult stem-cell populations isolated from visceral and subcutaneous adipose tissue. *Faseb j.*, σσ. 3494–3505. doi:doi: 10.1096/fj.08-126946.
- Baglioni S, F. M. (2009, Oct). Characterization of human adult stem-cell populations isolated from visceral and subcutaneous adipose tissue. *FASEB J*, pp. 3494–3505. doi:doi: 10.1096/fj.08-126946
- Bajetto A., Pattarozzi, A, Corsaro A., Barbieri A, Daga, A., & Bosio, A. (2017). Different effects of human umbilical cord Mesenchymal stem cells on glioblastoma stem cells by direct cell interaction or via released soluble factors. *Cell Neurosci*.
- Baksh D, Y. R. (2007, Jun 25). Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells*, pp. 1384–1392. doi:doi: 10.1634/stemcells.2006-0709.
- Ball S.G., S. C. (2007). Vascular endothelial growth factor can signal through platelet-derived growth factor receptors. *J. Cell Biol.*, 489–500. doi:doi: 10.1083/jcb.200608093.
- Barbara I., M. M. (2007). Insulin-like growth factor-1 sustains stem cell mediated renal repair. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN.*, pp. 2921–2928.
- Barbara I., M. M. (2007). Insulin-like growth factor-1 sustains stem cell mediated renal repair. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN.*, 2921–2928.
- Barile L, M. T. (2017). Roles of exosomes in cardioprotection . *Eur Heart J*, 1372-1379.
- Bear J.E., H. J. (2014). Directed migration of mesenchymal cells: Where signaling and the cytoskeleton meet. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 74–82. doi:doi: 10.1016/j.ceb.2014.06.005
- Bearzi C., R. M.-A. (2007). Human cardiac stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 14068–14073.
- Becker, J. A., McCulloch, A. E., & Till, E. J. (1963, February). Nature. *Cytological Demonstration of the Clonal Nature of Spleen Colonies Derived from Transplanted Mouse Marrow Cells* , 197 (4866), 452 - 454. doi:doi:10.1038/197452a0
- Beenken A, M. M. (2009). The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nat Rev Drug Discov.*, 235–253. doi:doi:10.1038/nrd2792
- Beeravolu , N., McKee , C., Alamri , A., Brown , C., Mikhael , S., Perez-Cruet , M., & Chaudhry, G. (2017). Isolation and Characterization of Mesenchymal Stromal Cells from Human Umbilical Cord and Fetal Placenta.

- Behzad, O. N., & Guillaume, L. (2012). Stem cells Translational Medicine. *Increased Potency of Cardiac Stem Cells Compared with Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Cardiac Repair, 1*, 116-124. doi:https://doi.org/10.5966/sctm.2011-0015
- Beltrami A.P., B. L. (2003). Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *CELL*, 763–776.
- Bergmann O., B. R.-H. (2009). Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. . *Science*, 98-102.
- Bettelli E., O. M. (2007, Apr 8). T (H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. *Nat. Immunol.*, σσ. 345-350. doi:doi: 10.1038/ni0407-345.
- Biernacka A, D. M. (2011). TGF-beta signaling in fibrosis. . *Growth Factors*, 196–202.
- Bionaz M, M. E. (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*.
- Bledsoe T. J., N. S. (2017, Jun 2). Radiation pneumonitis. *Clin. Chest Med.*, σσ. 201–208. doi:doi: 10.1016/j.ccm.2016.12.004.
- Bloom D. D., C. J. (2015, Feb 17). A reproducible immunopotency assay to measure mesenchymal stromal cell–mediated T-cell suppression. *Cytotherapy 17*, 140–151. doi:doi: 10.1016/j.jcyt.2014.10.002. Epub 2014 Nov 21.
- Bonnans C, C. J. (2014, December 14). Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology.*, p. Nature Reviews. Molecular Cell Biology. doi:doi: 10.1038/nrm3904
- Bourin P., B. B. (2013). Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: A joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International So. *Cytotherapy*, 641-648.
- Bourin P., B. B. (2013). Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: A joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International So. *Cytotherapy*, 641-648.
- Boyle A.J., S. S. (2006). Stem cell therapy for cardiac repair: Ready for the next step. *Circulation*, 339–352.
- Bozorgmehr M, G. S. (2020, 9 Jul). Endometrial and menstrual blood mesenchymal stem/stromal cells: biological properties and clinical application. *Front Cell Dev Biol*. doi: doi: 10.3389/fcell.2020.00497. eCollection 2020.
- Braun T, A. H. (1996). Myf-5 and myoD genes are activated in distinct mesenchymal stem cells and determine different skeletal muscle cell lineages. . *EMBO J*, 310–318.

- Bridgewater LC, L. V. (1998). Chondrocyte-specific enhancer elements in the Col11a2 gene resemble the Col2a1 tissue-specific enhancer. *J Biol Chem*, 14998–15006.
- Bridgewater LC, L. V. (1998). Chondrocyte-specific enhancer elements in the Col11a2 gene resemble the Col2a1 tissue-specific enhancer. *J Biol Chem.*, 14998–15006.
- Bunnell, B. A. (2021, Desember 6). Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Cells*. doi:10.3390/cells10123433.
- Bunnell, B. A. (2021). Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells. doi:10.3390/cells10123433
- Bunpetch V., Z. Z.-W. (2019, Mar). Strategies for MSC expansion and MSC-based microtissue for bone regeneration. *Biomaterials* 196, 67–79. doi: doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.11.023. Epub 2017 Nov 21.
- Burrige P.W., K. G. (2012). Production of de novo cardiomyocytes: Human pluripotent stem cell differentiation and direct reprogramming. *Cell Stem Cell.*, 16–28.
- Caër C., C. R.-W.-C.-M. (2017). Immune Cell-Derived Cytokines Contribute to Obesity-Related Inflammation, Fibrogenesis and Metabolic Deregulation in Human Adipose Tissue. *Sci. Rep.*
- Cai Q, Y. M. (2020). Experimental treatment with favipiravir for COVID-19: an open-label control study. *Engineering (Beijing)*, 1192–1198.
- Cambier L, d. C. (2017). Y RNA fragment in extracellular vesicles confers cardioprotection via modulation of IL-10 expression and secretion. *EMBO Mol Med.*, 337–352.
- Can A, K. S. (2007, November 25). Concise review: Human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cells. *Stem Cells*, pp. 2886–2895. doi:doi: 10.1634/stemcells.2007-0417.
- Caplan, A. (1991). Mesenchymal stem cells. *Orthop Res*, 641-650.
- Caplan, A. (2017). Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! *Stem Cells Transl Med*, σσ. 1445-1451.
- Cardiac Stem/Progenitor Cell Infusion in Univentricular Physiology (APOLLON Trial)*. (2019). Ανάκτηση από <https://clinicaltrials.gov>.
- Carlin R, D. D. (2006, Feb 6). Expression of early transcription factors Oct 4, Sox-2 and Nanog by porcine umbilical cord (PUC) matrix cells. *Reprod Biol Endocrinol*, pp. 4-8. doi:doi: 10.1186/1477-7827-4-8.
- Carrasco , R. M., Abarca, L., & Gómez, C. (2019). Subconjunctival injection of mesenchymal stromal cells protects the cornea in an experimental model of GVHD. *Ocul Surf*, 285-294.
- Castells MC, P. E. (2021). Maintaining safety with SARS-CoV-2 vaccines. *N Engl J Med*, 643–649. doi:doi: 10.1056/NEJMr2035343.

- Cathy, O. (2017). *Weapons of Math Destruction: How Big Data Increases Inequality and Threatens Democracy*. Chicago: Crown Random House.
- Cawthorn W.P., S. E. (2012). Adipose Tissue Stem Cells Meet Preadipocyte Commitment: Going Back to the Future. *J. Lipid Res*, 227–246.
- Ceci M., M. V. (2018). Zebrafish as a translational regeneration model to study the activation of neural stem cells and role of their environment. *Rev. Neurosci*.
- Chai Y., J. X. (2000). Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. *Development* , 1671-1679.
- Chan MCW, e. a. (2016). Human mesenchymal stromal cells reduce influenza A H5N1-associated acute lung injury in vitro and in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 3621–3626. . doi:doi: 10.1073/pnas.1601911113.
- Chang C.C., C. K. (2014). Neurogenic differentiation of dental pulp stem cells to neuron-like cells in dopaminergic and motor neuronal inductive media. *J. Formos. Med. Assoc.*, 956-965.
- Chen H. X., X. H. (2017, Jun 28). Manganese Superoxide Dismutase Gene-Modified Mesenchymal Stem Cells Attenuate Acute Radiation-Induced Lung Injury. *Hum. Gene Ther.*, σσ. 523–532. doi:doi: 10.1089/hum.2016.106.
- Chen J, e. a. (2020). Clinical Study of Mesenchymal Stem Cell Treatment for Acute Respiratory Distress Syndrome Induced by Epidemic Influenza A (H7N9) Infection: a Hint for COVID-19 Treatment. *Eng. (Beijing, China)*, 1153–1161.
- Chen J, H. C. (2020). Clinical study of mesenchymal stem cell treating acute respiratory distress syndrome induced by epidemic Influenza A (H7N9) infection, a hint for COVID-19 treatment. . *Engineering (Beijing)* , 1153-1161.
- Chen Lijun, Q. J. (2022). Mesenchymal stem cell-based treatments for COVID-19: status and future perspectives for clinical applications. *Cell Mol Life Sci*. doi:10.1007/s00018-021-04096-y
- Chen W, F. N. (2013). Fibroblasts in post-infarction inflammation and cardiac repair. *Biochim Biophys Acta* . , 945–53.
- Chen X, e. a. (2020). Mesenchymal stem cell therapy in severe COVID-19: a retrospective study of short-term treatment efficacy and side effects. *J. Infect.*, 647–679. doi:doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.020.
- Cheng H., L. X. (2014). Clinical observation of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in treatment for sequelae of thoracolumbar spinal cord injury. *J. Transl. Med*.
- Chengyu Zou, G. S. (2011). Mesenchymal stem cells require integrin β 1 for directed migration induced by osteopontin in vitro. *n Vitro Cell Dev Biol Anim*, 241-250. doi: doi: 10.1007/s11626-010-9377-0.

- Chinnadurai R., G. M. (2014). Actin cytoskeletal disruption following cryopreservation alters the biodistribution of human mesenchymal stromal cells in vivo. *Stem Cell Rep.*, 60–72. doi:doi: 10.1016/j.stemcr.2014.05.003. eCollection 2014 Jul 8.
- Chistiakov, D. A., Orekhov,, A. N., & Bobryshev, Y. V. (2016). Cardiac Extracellular Vesicles in Normal and Infarcted Heart. *Int J Mol Sci.*
- Cho, D.-I., Kim, M. R., & Jeong, H.-y. (2014). Mesenchymal stem cells reciprocally regulate the M1/M2 balance in mouse bone marrow-derived macrophages. *Exp Mol Med.*
- Cho, D.-I., Kim, M., Jeong, H.-y., Jeong, H., & Jeong, M. (2014). Mesenchymal stem cells reciprocally regulate the M1/M2 balance in mouse bone marrow-derived macrophages. *Exp Mol Med.*
- Choo, A. M., Liu, J., & Lam, C. K. (2007). Contusion, dislocation, and distraction: primary hemorrhage and membrane permeability in distinct mechanisms of spinal cord injury. *Neurosurg Spine.*
- Chun S.Y., S. S. (2016). Differentiation of human dental pulp stem cells into dopaminergic neuron-like cells in vitro. *J. Korean Med. Sci.*, 171–177.
- Colter , D., Class , R., DiGirolamo, C., & Prockop, D. (2000). Rapid expansion of recycling stemm cells in cultures of plastic - adherent cells from human bone marrow. *σσ.* 3213 - 3218.
- Conconi M. T., L. R. (2011). Phenotype and differentiation potential of stromal populations obtained from various zones of human umbilical cord: an overview. *The Open Tissue Engineering and Regenerative Medicine Journal.*, 6-20. doi:doi: 10.2174/1875043501104010006
- Conget P. A., M. J. (2000, Apr; 28). Adenoviral-mediated gene transfer into ex vivo expanded human bone marrow mesenchymal progenitor cells. *Exp. Hematol.*, 382–390. doi: doi: 10.1016/s0301-472x (00)00134-x.
- Cox G., B. S. (2012, Feb;). High abundance of CD271+ multipotential stromal cells (MSCs) in intramedullary cavities of long bones. *Bone 50,*, 510–517. doi:doi: 10.1016/j.bone.2011.07.016. Epub 2011 Jul 23.
- D.Cheuk. (2013). Optmal stem cell - source for allogenic stem cell transplantationfor hematological malignancies. In *World journal of transplantation.* 24 Desember 2013.
- de Couto G, G. R. (2017). Exosomal MicroRNA Transfer Into Macrophages Mediates Cellular Postconditioning. . *Circulation*, 200–214.
- De Ugarte DA, A. Z. (2003, Oct 31). Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol Lett.*, *σσ.* 267–270. doi:doi: 10.1016/s0165-2478 (03)00108-1.

- De Ugarte DA, A. Z. (2003, Oct 31). Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol Lett.*, σσ. 267–270. doi:doi: 10.1016/s0165-2478 (03)00108-1.
- De Wolf C., V. D. (2017, Jul; 19). Regulatory perspective on in vitro potency assays for human mesenchymal stromal cells used in immunotherapy. *Cytotherapy* 19, 784–797. doi:doi: 10.1016/j.jcyt.2017.03.076.
- De Wolf C., V. D. (2017, Jul; 19). Regulatory perspective on in vitro potency assays for human mesenchymal stromal cells used in immunotherapy. *Cytotherapy* 19, 784–797. doi: doi: 10.1016/j.jcyt.2017.03.076
- De Wolf C., V. D. (2017). Regulatory perspective on in vitro potency assays for human mesenchymal stromal cells used in immunotherapy. *Cytotherapy* 19, 784–797.
- Deaton RA, S. C. (2005). Transforming growth factor-beta1-induced expression of smooth muscle marker genes involves activation of PKN and p38 MAPK. *J Biol Chem.*, 31172–31181.
- Deda H., I. M. (2008). Treatment of chronic spinal cord injured patients with autologous bone marrow-derived hematopoietic stem cell transplantation: 1-year follow-up. *Cytotherapy*, 565–574.
- Deddens J.C., S. A. (2017). Modeling the human scarred heart in vitro: Toward new tissue engineered models. *Adv. Healthc. Mater.*
- Deng Q.J., X. X. (2017). Effects of SDF-1/CXCR4 on the repair of traumatic brain injury in rats by mediating bone marrow derived mesenchymal stem cells. *Cell. Mol. Neurobiol*, 1–11. doi:doi: 10.1007/s10571-017-0490-4.
- Deng S, Z. X. (2019). Exosomes from adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate cardiac damage after myocardial infarction by activating S1P/SK1/S1PR1 signaling and promoting macrophage M2 polarization. *Int J Biochem Cell Biol*.
- Detela G., L. A. (2019, Jan 29). EU regulatory pathways for ATMPs: Standard, accelerated and adaptive pathways to marketing authorisation. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.*, σσ. 205–232. doi:doi: 10.1016/j.omtm.2019.01.010. eCollection 2019 Jun 14.
- Ding R, J. X. (2015). Activation of Notch1 signalling promotes multi-lineage differentiation of c-Kit (POS)/NKX2.5 (POS) bone marrow stem cells: implication in stem cell translational medicine. *Stem cell research & therapy*.
- Dobaczewski M., G.-Q. C. (2010). The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 504–511.
- Dobrzyński. (χ.χ.).

- Dolly Mushahary, A. S. (2017). Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *CYTOMETRY JOURNAL OF QUANTITATIVE CELL SCIENCE*, 19-31.
- Domenis R, C. A. (2018). Pro inflammatory stimuli enhance the immunosuppressive functions of adipose mesenchymal stem cells-derived exosomes. *Sci Rep*.
- Dominici M., L. B.-C. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 315-317.
- Dominici, M., Blanc, K. L., & Mueller, I. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement . 315-317.
- Dominik Egger, C. T. (2018). Dynamic Cultivation of Mesenchymal Stem Cell Aggregates. *Bioengineering* .
- Dragoo JL, C. J. (2003, Jul 21). Bone induction by BMP-2 transduced stem cells derived from human fat. *J Orthop Res*, pp. 622–629. doi: doi: 10.1016/S0736-0266(02)00238-3.
- Dubon M.J., Y. J. (2018). Transforming growth factor β induces bone marrow mesenchymal stem cell migration via noncanonical signals and N-cadherin. *J. Cell. Physiol.*, pp. 201–213. doi:doi: 10.1002/jcp.25863.
- Dupin E., C. G.-A. (2018). The issue of the multipotency of the neural crest cells. *Dev. Biol.*, 47-59.
- Durandt C., D. C. (2019). The effect of early rounds of ex vivo expansion and cryopreservation on the adipogenic differentiation capacity of adipose-derived stromal/stem cells. *Sci. Rep*, 52086-52089.
- Dutton LC, D. J.-G. (2018). Cardiosphere-derived cells suppress allogeneic lymphocytes by production of PGE2 acting via the EP4 receptor. *Sci Rep*.
- El-Kheir W.A., G. H. (2014). Autologous bone marrow-derived cell therapy combined with physical therapy induces functional improvement in chronic spinal cord injury patients. *Cell Transpl*, 729–745.
- Enciso N., O. L. (2018). Stem cell factor supports migration in canine mesenchymal stem cells. *Vet. Res. Commun.*, pp. 29-38. doi:doi: 10.1007/s11259-017-9705-x.
- Epperly M. W., B. J. (1999, Jan 1). Intratracheal injection of adenovirus containing the human MnSOD transgene protects athymic nude mice from irradiation-induced organizing alveolitis. *nt. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, $\sigma\sigma$. 169–181. doi:doi: 10.1016/s0360-3016(98)00355-1.

- Fan XL, Z. Y. (2020). Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy. *Cell Mol Life Sci.*, 2771–2794. doi:10.1007/s00018-020-03454-6.
- Fang L., Y. Y. (2016). The PDGF system and its antagonists in liver fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev.*, pp. 53–61.
- Fang S. B., Z. H. (2018, May 24). Human iPSC-MSCs prevent steroid-resistant neutrophilic airway inflammation via modulating Th17 phenotypes. *Stem Cell. Res. Ther.* doi: doi: 10.1186/s13287-018-0897-y.
- Fleming P.S., X. G. (2010). . Revisiting the supernumerary: The epidemiological and molecular basis of extra teeth. . *Br. Dent. J.*, 25-30.
- Folestad E., K. A. (2018). PDGF-C and PDGF-D signaling in vascular diseases and animal models. *Mol. Asp. Med.*, 1-11. doi: doi: 10.1016/j.mam.2018.01.005.
- Folestad E., K. A. (2018). PDGF-C and PDGF-D signaling in vascular diseases and animal models. *Mol. Asp. Med.*, pp. 1–11. doi:doi: 10.1016/j.mam.2018.01.005
- Fong CY, R. M. (2007, Dec 15). Comparative growth behaviour and characterization of stem cells from human Wharton's jelly. *Reprod Biomed Online*, 708-718. doi:doi: 10.1016/s1472-6483 (10)60539-1.
- Forte G., M. M. (2006). Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells: Proliferation, migration, and differentiation. *Stem Cells.* , 23-33. doi: doi: 10.1634/stemcells.2004-0176.
- Forte G., M. M. (2006). Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells: Proliferation, migration, and differentiation. *Stem Cells.*, 23–33. doi:doi: 10.1634/stemcells.2004-0176.
- Forte G., M. M. (2006). Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells: Proliferation, migration, and differentiation. *Stem Cells.*, pp. 23–33. doi:doi: 10.1634/stemcells.2004-0176.
- Fox, J. M., Giselle Chamberlain,, Ashton, B. A., & Middleton, J. (2007). Recent advances into the understanding of mesenchymal stem cell trafficking. σσ. 491 - 502.
- Francois M., C. I.-M. (2012, Feb 14). Cryopreserved mesenchymal stromal cells display impaired immunosuppressive properties as a result of heat-shock response and impaired interferon-gamma licensing. *Cytotherapy*, 147–152. doi: doi: 10.3109/14653249.2011.623691.
- Francois S., M. M. (2013). A. Human mesenchymal stem cells provide protection against radiation-induced liver injury by antioxidative process, vasculature protection, hepatocyte differentiation and trophic effects. *Biomed. Res. Int.* doi:doi: 10.1155/2013/151679

- Francois S., M. M. (2013). Human mesenchymal stem cells provide protection against radiation-induced liver injury by antioxidative process, vasculature protection, hepatocyte differentiation and trophic effects. *Biomed. Res. Int.* doi:doi: 10.1155/2013/151679.
- Francois S., M. M. (2013). Human mesenchymal stem cells provide protection against radiation-induced liver injury by antioxidative process, vasculature protection, hepatocyte differentiation and trophic effects. *Biomed. Res. Int.* doi:doi: 10.1155/2013/151679.
- Francois S., M. M. (2013). Human mesenchymal stem cells provide protection against radiation-induced liver injury by antioxidative process, vasculature protection, hepatocyte differentiation and trophic effects. *Biomed. Res. Int.* doi:doi: 10.1155/2013/151679.
- Frank M., K. M. (2019). Dental caries risk varies among subgroups of children with special health care needs. *Pediatr. Dent.*, 378-384.
- Fraser JK, Z. M. (2008). Adipose-derived stem cells. *Methods Mol Biol*, pp. 59-67. doi:doi: 10.1007/978-1-60327-169-1_4.
- Friedenstein , A., Chailakhjan, R., & Lalykina, K. (1970). The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. . *Cell Tissue Kinet*, 393-403.
- Friedenstein AJ, D. U. (1974). Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol*, σσ. 83–92.
- Friedenstein, , A. J., Gorskaja,, J. F., & Kulagina, N. N. (1976). Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol*.
- Friedenstein, A., Chailakhjan, R., & Lalykina, K. (1974). Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation in vivo. . *Transplantation*, 331-340.
- Friedenstein, A., Petrakova, K., & Kurolesova, A. (1968). Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. . 230-247.
- Fu X, L. G. (2019, July 28). Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells*. doi:doi: 10.3390/cells8080784.
- Fujii H., M. K. (2015). Dopaminergic differentiation of stem cells from human deciduous teeth and their therapeutic benefits for Parkinsonian rats. *Brain Res*, 59–72.
- Fujimori K, A. F. (2011). Forkhead transcription factor Foxa1 is a novel target gene of C/EBPβ and suppresses the early phase of adipogenesis. *Gene*, 150–156.

- Funari A., A. M. (2019). Human sinusoidal subendothelial cells regulate homing and invasion of circulating metastatic prostate cancer cells to bone marrow. *Cancers*. doi:doi: 10.3390/cancers11060763
- Galipeau J. (2013, Jan 15). The mesenchymal stromal cells dilemma—Does a negative phase III trial of random donor mesenchymal stromal cells in steroid-resistant graft-versus-host disease represent a death knell or a bump in the road? *Cytotherapy* 15,, 2-8. doi: doi: 10.1016/j.jcyt.2012.10.002.
- Galipeau J., S. L. (2018, Jun 1). Mesenchymal stromal cells: Clinical challenges and therapeutic opportunities. *Cell Stem Cell*, 824–833. doi: doi: 10.1016/j.stem.2018.05.004.
- Gang EJ, B. D. (2008). Pax3 activation promotes the differentiation of mesenchymal stem cells toward the myogenic lineage. . *Exp Cell Res*, 1721-1733.
- Gao P., Z. Y. (2014). Functional effects of TGF- β 1 on mesenchymal stem cell mobilization in cockroach allergen-induced asthma. *J. Immunol.*, pp. 4560–4570. doi:doi: 10.4049/jimmunol.1303461.
- Gao S, G. X. (2019). Differentiation of human adipose-derived stem cells into neuron/motoneuron-like cells for cell replacement therapy of spinal cord injury. . *Cell Death Dis*.
- Garlanda C., D. C. (2013, Dec 12). The interleukin-1 family: Back to the future. *Immunity*. doi:doi: 10.1016/j.immuni.2013.11.010.
- Gesine Kögler, , Sandra Sensken, , Judith A. Airey, , Thorsten Trapp,, Markus Müschen, , Niklas Feldhahn,, & Stefanie Liedtke. (2004). A New Human Somatic Stem Cell from Placental Cord Blood with Intrinsic Pluripotent Differentiation Potential. *Journal of experliemental Medicine*, 123–135.
- Ghannam S., P. J.-T.-M. (2010, Jul 1). Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype. *J. Immunol.*, $\sigma\sigma$. 302–312. doi:doi: 10.4049/jimmunol.0902007.
- Ghosh D., M. D. (2017). TGF- β 1 pretreatment improves the function of mesenchymal stem cells in the wound bed. *Front. Cell Dev. Biol.* doi:doi: 10.3389/fcell.2017.00028.
- Giselle Chamberlain , James Fox,, Brian Ashton, & Middleton, J. (2007). Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem cells*.
- Glennie, S., Soeiro, I., & Dyson, P. J. (2005). Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood*, 2821-2827.
- Gnecchi M., D. P. (2016). Paracrine Mechanisms of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Repair. . *Methods Mol. Biol.* , 123–146.

- Gomzikova , M. O., James, V., & Rizvanov, A. A. (2019). Therapeutic Application of Mesenchymal Stem Cells Derived Extracellular Vesicles for Immunomodulation. *Front Immunol*.
- Gothelf Y., A. N. (2014, Jul 10). Safety of repeated transplantations of neurotrophic factors-secreting human mesenchymal stromal stem cells. *Clin. Transl. Med.* doi:doi: 10.1186/2001-1326-3-21. eCollection 2014.
- Gothelf Y., K. H. (2017, Nov). miRNA profiling of NurOwn (R): Mesenchymal stem cells secreting neurotrophic factors. *Stem Cell. Res. Ther.* doi: doi: 10.1186/s13287-017-0692-1.
- Green, R. M. (2007, Jun 8). Can we develop ethically universal embryonic stem-cell lines? *Nature Reviews Genetics*, σσ. 480-485. doi:10.1038/nrg2066
- Grennan D., W. S. (2019, Jul 16). Steroid side effects. *Jama*. doi:doi: 10.1001/jama.2019.8506.
- Gronthos S, B. J. (2002). Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J Dent Res*. 531–5.
- Gronthos S, F. D. (2001, Oct;). Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J Cell Physiol*, pp. 54–63. doi: doi: 10.1002/jcp.1138.
- Gronthos, S., Zanettino, A., & Hay, S. (2003). Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *Cell Scien*, 1827-1835.
- Group RC. Horby P, L. W. (2021). Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19. *N Engl J Med*, 693–704. doi:doi: 10.1056/NEJMoa2021436
- Gu Jinyang, H. B. (2020). «COVID-19: Gastrointestinal Manifestations and Potential Fecal–Oral Transmission». *Gastroenterology*, 1518 –1519. doi:10.1053/j.gastro.2020.02.054
- Guadix J. A., L.-B. J.-R.-M. (2019, Oct 24). Principal criteria for evaluating the quality, safety and efficacy of hMSC-based products in clinical practice: Current approaches and challenges. *Pharmaceutics*. doi:doi: 10.3390/pharmaceutics11110552.
- Guanglun, M. M., Yang, H., & Yan, W. (2017, October). Building resilience of students with disabilities in China: The role of inclusive education teachers. *Teacher and Teaching Education*, σσ. 125-134.
- Guerit D, P. D. (2013). Sox9-regulated miRNA-574-3p inhibits chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *PLoS one* .
- Gujar S., P. J. (2018, Mar). Antitumor benefits of antiviral immunity: An underappreciated aspect of oncolytic virotherapies. *Trends Immunol*, 209–221. doi:doi: 10.1016/j.it.2017.11.006.

- Häberle H, e. a. (2021). Mesenchymal Stem Cell Therapy for Severe COVID-19 ARDS. *J. Inten. Care Med.*, 681–688. doi:doi: 10.1177/0885066621997365
- Hagen , E. M. (2015). Acute complications of spinal cord injuries. *World J Orthop.*
- Halfon S, A. N. (2011, Jan;). Markers distinguishing mesenchymal stem cells from fibroblasts are downregulated with passaging. *Stem Cells Dev*, σσ. 53–66. doi:doi: 10.1089/scd.2010.0040.
- Hammer K., K. A. (2015, Aug 15). Engineered adenoviruses combine enhanced oncolysis with improved virus production by mesenchymal stromal carrier cells. *Int. J. Cancer*, 978–990. doi: doi: 10.1002/ijc.29442. Epub 2015 Feb 20.
- Han C, Z. J. (2019). Human umbilical cord mesenchymal stem cell derived exosomes encapsulated in functional peptide hydrogels promote cardiac repair. *Biomater Sci.*, 2920–2933.
- Han YF, T. R. (2013, January 11). Optimization of human umbilical cord mesenchymal stem cell isolation and culture methods. *Cytotechnology*, pp. 819–827.
- Hanania A. N., M. W. (2019, Jul). Radiation-induced lung injury: Assessment and management. *Chest*, σσ. 150–162. doi: doi: 10.1016/j.chest.2019.03.033.
- Hanyue Li, H. D. (2023). Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal/stem cells: The link with metabolism. *Journal of Advanced Research*, 15-29.
- Hao Y., R. Y. (2018, Oct 1). Therapeutic effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on canine radiation-induced lung injury. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*, σσ. 407–416. doi:doi: 10.1016/j.ijrobp.2018.05.068
- Harrell C. R., S. R. (2019, May 2). Mesenchymal stem cell-based therapy of inflammatory lung diseases: Current understanding and future perspectives. *Stem Cells Int.* doi:doi: 10.1155/2019/4236973.
- Hart C.E., F. J. (1988). Bowen-Pope D.F. Two classes of PDGF receptor recognize different isoforms of PDGF. *Science.*, pp. 1529–1531. doi:doi: 10.1126/science.2836952
- Hashemian S-MR, e. a. (2021). Mesenchymal stem cells derived from perinatal tissues for treatment of critically ill COVID-19-induced ARDS patients: a case series. *Stem cell Res. Ther.* doi:doi: 10.1186/s13287-021-02165-4
- Hass R, K. C. (2011). Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): a comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal.* doi: 10.1186/1478-811X-9-12.
- Hass R., K. C. (2011, May 14). Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun. Signal* 9. doi: doi: 10.1186/1478-811X-9-12.

- Hassan, N., Tchao, J., & Tobita, K. (2013). Stem Cells. *Concise Review: Skeletal Muscle Stem Cells and Cardiac Lineage: Potential for Heart Repair*, 3 (2), 183-193. doi: <https://doi.org/10.5966/sctm.2013-0122>
- He L., Z. H. (2019, Feb; 15). MicroRNAs in the migration of mesenchymal stem cells. *Stem Cell. Rev. Rep.*, σσ. 3–12. doi:doi: 10.1007/s12015-018-9852-7.
- He Y., T. D. (2019, Jul). Cellular senescence and radiation-induced pulmonary fibrosis. *Transl. Res*, σσ. 14–21. doi:10.1016/j.trsl.2019.03.006
- Hirano Y., A. M. (2015). Neutralization of osteopontin attenuates neutrophil migration in sepsis-induced acute lung injury. *Crit. Care*. doi:doi: 10.1186/s13054-015-0782-3
- Ho S. S., M. K. (2016, Jun 5). Increased survival and function of mesenchymal stem cell spheroids entrapped in instructive alginate hydrogels. *Stem Cells Transl. Med.* 5, 773–781. doi:doi: 10.5966/sctm.2015-0211. Epub 2016 Apr 7.
- Hofstetter C.P., S. E. (2002). Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.
- Holley A. K., B. V.-R. (2011). Manganese superoxide dismutase: Guardian of the powerhouse. *Int. J. Mol. Sci.*, σσ. 7114-7162. doi:doi: 10.3390/ijms12107114.
- Holmes D.I., Z. I. (2005). The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: Angiogenic factors in health and disease. *Genome Biol*. doi:doi: 10.1186/gb-2005-6-2-209.
- Hong G. H., K. H. (χ.χ.). hMSCs suppress neutrophil-dominant airway inflammation in a murine model of asthma. . *Exp. Mol. Med*. doi:doi: 10.1038/emm.2016.135.
- Horby P, e. a. (2021). Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N. Engl. J. Med*, 693–704. doi:doi: 10.1056/NEJMoa2021436
- Hou G, L. J. (2022, December 12). Mesenchymal stem cells in radiation-induced lung injury: From mechanisms to therapeutic potential. *Front Cell Dev Biol*. doi:doi: 10.3389/fcell.2022.1100305. eCollection 2022.
- Hou G, L. J. (2022). Mesenchymal stem cells in radiation-induced lung injury: From mechanisms to therapeutic potential. *Front Cell Dev Biol*.
- Huajiang Dong,, Gang Li,, Huipeng Meng, Ling Lin, Chongzhi Shang, Xiaohong Li,, . . . Mingliang Zhao. (2018). Umbilical cord mesenchymal stem cell (UC-MSC) transplantations for cerebral palsy. *e-Century Publishing American Journal of Tranlational Research*, σσ. 901 - 906.
- Huang B., Q. J. (2014). Myocardial transfection of hypoxia-inducible factor-1α and co-transplantation of mesenchymal stem cells enhance cardiac repair in rats with experimental myocardial infarction. *Stem Cell Res. Ther*. doi:doi: 10.1186/scrt410.

- Huang B., Q. J. (2014). Myocardial transfection of hypoxia-inducible factor-1 α and co-transplantation of mesenchymal stem cells enhance cardiac repair in rats with experimental myocardial infarction. *Stem Cell Res. Ther.* doi:doi: 10.1186/scrt410
- Huang B., Q. J. (2014). Myocardial transfection of hypoxia-inducible factor-1 α and co-transplantation of mesenchymal stem cells enhance cardiac repair in rats with experimental myocardial infarction. *Stem Cell Res. Ther.* doi:doi: 10.1186/scrt410.
- Huang G.T., S. W. (2008). The hidden treasure in apical papilla: The potential role in pulp/dentin regeneration and bioroot engineering. . *J. Endod.* , 645-651.
- Huang GT, G. S. (2009, Sep 9). Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res*, $\sigma\sigma$. 792–806. doi:doi: 10.1177/0022034509340867.
- Huang GT-J, G. S. (2009). Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res*. 792–806.
- Huang L, Y. L. (2020). Human umbilical cord mesenchymal stem cells-derived exosomes transfers microRNA-19a to protect cardiomyocytes from acute myocardial infarction by targeting SOX6. *Cell Cycle.*, 339–353.
- Huang P, W. L. (2020). Atorvastatin enhances the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells-derived exosomes in acute myocardial infarction via up-regulating long non-coding RNA H19. *Cardiovasc Res.* , 353–367.
- I., T. (2014). Current understanding of the process of tooth formation: Transfer from the laboratory to the clinic. . *Aust. Dent. J*, 48–54.
- Ikeda K., I. T. (1999, Aug). Oncolytic virus therapy of multiple tumors in the brain requires suppression of innate and elicited antiviral responses. *Nat. Med*, 881–887. doi: doi: 10.1038/11320.
- Ikhapoh IA, P. C. (2015). Sry-type HMG box 18 contributes to the differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to endothelial cells. . *Differentiation; research in biological diversity*, 87-96.
- Ikhapoh IA, P. C. (2015a). Sry-type HMG box 18 contributes to the differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to endothelial cells. *Differentiation; research in biological diversity.*, 87–96.
- Ikhapoh IA, P. C. (2015a). Sry-type HMG box 18 contributes to the differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to endothelial cells. *Differentiation; research in biological diversity*, 87–96.
- Ikhapoh IA, P. C. (2015b). Synergistic effect of angiotensin II on vascular endothelial growth factor-A-mediated differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into endothelial cells. *Stem cell research & therapy.* .

- In 't Anker PS, S. S.-v. (2003, Aug 15). Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. *Blood*, 1548-1549. doi:doi: 10.1182/blood-2003-04-1291
- In 't Anker PS, S. S.-v. (2003, Aug 15). Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. σσ. 1548–1549. doi:doi: 10.1182/blood-2003-04-1291.
- Ishigami S., O. S. (2015). Intracoronary autologous cardiac progenitor cell transfer in patients with hypoplastic left heart syndrome: The TICAP prospective phase 1 controlled trial. *Circ. Res.*, 653–664.
- Ishigami S., O. S. (2017). Intracoronary cardiac progenitor cells in single ventricle physiology: The PERSEUS (cardiac progenitor cell infusion to treat univentricular heart disease) randomized phase 2 trial. *Circ. Res.* , 1162–1173. .
- Ishigami S., O. S. (2017). Intracoronary cardiac progenitor cells in single ventricle physiology: The PERSEUS (cardiac progenitor cell infusion to treat univentricular heart disease) randomized phase 2 trial. . *Circ. Res.* , 1162-1173.
- J, L. J. (1998, Jun 9). The role of helper T cell subsets in autoimmune diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.*, σσ. 139–151. doi:doi: 10.1016/s1359-6101 (98)00009-4.
- Jackson L, J. D. (2007). Adult mesenchymal stem cells: differentiation potential and therapeutic applications. *Journal of postgraduate medicine*, 121-127.
- Jang , Y., Choi , J., Park , N., Kang, J., & Kim, M. (2019). Development of immunocompatible pluripotent stem cells via CRISPR-based human leukocyte antigen engineering. *Experimental & Molecular Medicine* .
- Jefferson R Wilson, N. F. (2013). Emerging therapies for acute traumatic spinal cord injury . *CMAJ*.
- JG., A. (2011). Recent studies assessing the proliferative capability of a novel adult stem cell identified in menstrual blood. *Open Stem Cell* .
- Jiang W., X. J. (2020, Jan). Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Cell. Prolif.* doi:DOI: 10.1111/cpr.12712
- Jiao Ma , Jun Wu, Lei Han , Xiangxiang Jiang , Long Yan, & Jie Hao. (χ.χ.). Comparative analysis of mesenchymal stem cells derived from amniotic membrane, umbilical cord, and chorionic plate under serum-free condition. *Stem Cell Research & Therapy*, 2019.
- Jin, Y., Yang, L., Yanyan Zhang, W. G., Zhi Yao, Yang Song, & Yuliang Wang. (χ.χ.).
- Jin, Y., Yang, L., Zhang, Y., Gao, W., Yao, Z., & Song, Y. (2017). Molecular Medicine Reports. *Effects of age on biological and functional characterization of adipose-derived stem cells from patients with end-stage liver disease*, 3510 3518.

- Julio C Furlan, V. N. (2011). Timing of decompressive surgery of spinal cord after traumatic spinal cord injury: an evidence-based examination of pre-clinical and clinical studies . *J Neurotrauma*.
- Kadir RA, A. S. (2012). Characterization of mononucleated human peripheral blood cells. .
- Kalaszczynska I, F. K. (2015, Mar 15). *Wharton's Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells: Future of Regenerative Medicine? Recent Findings and Clinical Significance*. doi:doi: 10.1155/2015/430847
- Karahuseyinoglu S, C. O. (2009, January 02). Biology of stem cells in human umbilical cord stroma: in situ and in vitro surveys. *Stem Cells*, pp. 319–331. doi: <https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0286>
- Karahuseyinoglu Sercin. (2007, Feb 25). Biology of stem cells in human umbilical cord stroma: in situ and in vitro surveys. *Stem Cells*, 319-331. doi: DOI: 10.1634/stemcells.2006-0286
- Karamouzian S., N.-M. S. (2012). Clinical safety and primary efficacy of bone marrow mesenchymal cell transplantation in subacute spinal cord injured patients. . *Clin. Neurol. Neurosurg.*, 935–939.
- Kawai T., K. W. (2015). Secretomes from bone marrow–derived mesenchymal stromal cells enhance periodontal tissue regeneration. *Cytotherapy*, 369–381. doi:doi: 10.1016/j.jcyt.2014.11.009.
- Kazuyoshi Yamazaki, M. K. (2020). Clinical Trials of Stem Cell Treatment for Spinal Cord Injury. *Int J Mol Sci*.
- Kei S., Y. K. (2012). Stroma-directed imatinib therapy impairs the tumor-promoting effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an orthotopic transplantation model of colon cancer. . *Int. J. Cancer.*, pp. 813–823.
- Keiji Masuda, I. X. (2021). Dental Pulp-Derived Mesenchymal Stem Cells for Modeling Genetic Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. doi: 10.3390/ijms22052269
- Keiji Masuda, X. H. (2021). Dental Pulp-Derived Mesenchymal Stem Cells for Modeling Genetic Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Kerkis I., K. A.-P. (2006). Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. . *Cells Tissues Organs*, 105-116.
- Kern, S, Eichler, H, Stoeve, J, Klüter, H, & Bieback, K. (2006). Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 24, σσ. 1294–1301.

- Kim H.K., L. S. (2018). A Subset of paracrine factors as efficient biomarkers for predicting vascular regenerative efficacy of mesenchymal stromal/stem cells. *Stem Cells.*, 77-88. doi:doi: 10.1002/stem.2920
- Kim WS, P. B. (2009, Jun). Protective role of adipose-derived stem cells and their soluble factors in photoaging. *Arch Dermatol Res*, σσ. 329–336. doi:doi: 10.1007/s00403-009-0951-9.
- Kim WS, P. B.-K. (2009, Feb). Antiwrinkle effect of adipose-derived stem cell: Activation of dermal fibroblast by secretory factors. *J Dermatol Sci*, pp. 96–102. doi:doi: 10.1016/j.jdermsci.2008.08.007
- Kim Y.J., S. D. (2018). Conditioned media from human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells stimulate rejuvenation function in human skin. *Biochem. Biophys.*, 96–102. doi:doi: 10.1016/j.bbrep.2018.10.007
- Kino T, K. M. (2020). The Regulatory Role of T Cell Responses in Cardiac Remodeling Following Myocardial Infarction. *Int J Mol Sci*.
- Klein D., S. A. (2016, Jan 10). Therapy with multipotent mesenchymal stromal cells protects lungs from radiation-induced injury and reduces the risk of lung metastasis. *Antioxid. Redox Signal.*, σσ. 53–69. doi:doi: 10.1089/ars.2014.6183.
- Klein D., S. J. (2017, Apr 10). Mesenchymal stem cell therapy protects lungs from radiation-induced endothelial cell loss by restoring superoxide dismutase 1 expression. *Antioxid. Redox Signal.*, σσ. 563–582. doi:doi: 10.1089/ars.2016.6748.
- Klein M.O., B. D. (2019). Dopamine: Functions, signaling, and association with neurological diseases. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 31-59.
- Kong P, C. P. (2014). The pathogenesis of cardiac fibrosis. *Cell Mol Life Sci*, 549–574.
- König, J., Weiss, G., Wankhammer, K., Kinzer, M., & Huppertz,, B. (2015). Placental Mesenchymal Stromal Cells Derived from Blood Vessels or Avascular Tissues: What Is the Better Choice to Support Endothelial Cell Function? *Stem Cells*, 115 - 131.
- Kou I, I. S. (2004). SOX9-dependent and -independent transcriptional regulation of human cartilage link protein. . *J Biol Chem*, 50942–50948.
- Kowalski K., K. A. (2016). Stem cells migration during skeletal muscle regeneration - the role of SDF-1/Cxcr4 and Sdf-1/Cxcr7 axis. *Cell Adhes. Migr.*, 1–15. doi: doi: 10.1080/19336918.2016.1227911
- Kuai X.L., L. P. (2016). . Stromal derived factor-1/CXCR4 sxis involved in bone marrow mesenchymal stem cells recruitment to injured liver. . *Stem Cells Int*, 1-10.
- Kuai Xiao Ling, L. P. (2016). Stromal Derived Factor-1/CXCR4 Axis Involved in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Recruitment to Injured Liver. *Stem Cells Int*. doi:doi: 10.1155/2016/8906945

- Kuçi Z., B. H.-W.-M. (2016, Aug;). Mesenchymal stromal cells from pooled mononuclear cells of multiple bone marrow donors as rescue therapy in pediatric severe steroid-refractory graft-versus-host disease: A multicenter survey. *Haematologica* 101, 985–994. doi:doi: 10.3324/haematol.2015.140368. Epub 2016 May 12.
- Kumar A., K. V. (2017). Secretome cues modulate the neurogenic potential of bone marrow and dental stem cells. *Mol. Neurobiol.*, 4672-4682.
- Lalit P.A., S. M. (2016). Lineage reprogramming of fibroblasts into proliferative induced cardiac progenitor cells by defined factors. *Cell Stem Cell.*, 354–367.
- Lam J.T., M. A.-L. (2009). Multipotent progenitor cells in regenerative cardiovascular medicine. . *Pediatric Cardiol*, 690–698.
- Lang JK, Y. R. (2016). Inhibiting Extracellular Vesicle Release from Human Cardiosphere Derived Cells with Lentiviral Knockdown of nSMase2 Differentially Effects Proliferation and Apoptosis in Cardiomyocytes, Fibroblasts and Endothelial Cells In Vitro. *PLoS One*.
- Langer H.F., S. K. (2009). Platelet derived bFGF mediates vascular integrative mechanisms of mesenchymal stem cells in vitro. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 315–325. doi:doi: 10.1016/j.yjmcc.2009.03.011
- Lanzoni G, e. a. (2021). Umbilical cord mesenchymal stem cells for COVID-19 acute respiratory distress syndrome: A double-blind, phase 1/2a, randomized controlled trial. *Stem cells Transl. Med*, 660–673. doi:doi: 10.1002/sctm.20-0472
- Lazarus JV, R. S.-M. (2021.). A global survey of potential acceptance of a COVID-19 vaccine. *Nat Med.*, 225–228. doi:doi: 10.1038/s41591-020-1124-9.
- Le T.Y.L., T. S. (2017). New developments in cardiac regeneration. *Heart Lung Circ*, 316–322.
- Leah F.R., G. D. (2008). Hypoxic osteocytes recruit human MSCs through an OPN/CD44-mediated pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1061–1066.
- Lebeau Grégoire, V. D.-P. (2020/2021). Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features. *International Journal of Molecular Sciences*. doi:10.3390/ijms21165932
- Lee J., K. S. (2003). Migration and differentiation of nuclear fluorescence-labeled bone marrow stromal cells after transplantation into cerebral infarct and spinal cord injury in mice. *Neuropathology*. *Neuropathology*.
- Lee JH, K. P. (2005). Contribution of human bone marrow stem cells to individual skeletal myotubes followed by myogenic gene activation. . *Exp Cell Res*, 174-182.
- Lei G., Z. Y. (2020, Feb). The role of ferroptosis in ionizing radiation-induced cell death and tumor suppression. *Cell. Res.*, σσ. 146–162. doi:10.1038/s41422-019-0263-3

- Lei X., H. N. (2020, Oct 10). Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate radiation-induced lung injury via miRNA-214-3p. *Antioxid. Redox Signal.*, σσ. 849–862. doi:doi: 10.1089/ars.2019.7965.
- Lei X., H. N. (2020). Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate radiation-induced lung injury via miRNA-214-3p. . *Antioxid. Redox Signal*, σσ. 849–862.
- Lei X., H. N. (2021, Oct 10). Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate radiation-induced lung injury via miRNA-214-3p. *Antioxid. Redox Signal.*, σσ. 849–862. doi:doi: 10.1089/ars.2019.7965.
- Leng Z, e. a. (2020). Transplantation of ACE2 Mesenchymal Stem Cells Improves the Outcome of Patients with COVID-19 Pneumonia. *Aging Dis.*, 216–228. doi:doi: 10.14336/AD.2020.0228
- Levy O., B. W. (2016, Jun). ., A prodrug-doped cellular Trojan Horse for the potential treatment of prostate cancer. *Biomaterials*, 140-150. doi: doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.03.023. Epub 2016 Mar 17.
- Levy, O., Kuai, R., Siren, E. M., Bhere, D., & Milton, Y. (2020). Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies. *Science Advances*.
- Li , M., Yamada, S., & Shi, A. (2020). Stem Cells. *Brachyury engineers cardiac repair competent stem cells*.
- Li H, Z. S. (2010). Paracrine factors released by GATA-4 overexpressed mesenchymal stem cells increase angiogenesis and cell survival. *American journal of physiology. . Heart and circulatory physiology*, 1772-1781.
- Li Y., L. D. (2015). Moving cell boundaries drive nuclear shaping during cell spreading. *Biophys. J*, 670-686. doi:doi: 10.1016/j.bpj.2015.07.006.
- Li Y., S. Z. (2022, Apr 7). Mouse mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-466f-3p reverses EMT process through inhibiting AKT/GSK3β pathway via c-MET in radiation-induced lung injury. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. doi: doi: 10.1186/s13046-022-02351-z.
- Li Y., S. Z. (2022, Apr 7). Mouse mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-466f-3p reverses EMT process through inhibiting AKT/GSK3β pathway via c-MET in radiation-induced lung injury. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. doi:doi: 10.1186/s13046-022-02351-z.
- Li Y., Y. X. (2007). Insulin-like growth factor 1 enhances the migratory capacity of mesenchymal stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 780–784. doi:doi: 10.1016/j.bbrc.2007.03.049.

- Li Y., Y. X. (2007). Insulin-like growth factor 1 enhances the migratory capacity of mesenchymal stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 780–784. doi:doi: 10.1016/j.bbrc.2007.03.049.
- Li, H., Ghazanfori, R., Zacharaki, D., & Lim, H. (2016). Isolation and characterization of primary bone marrow mesenchymal stromal cells. 109-118.
- Liang X., H. X. (2016 doi: 10.5966/sctm.2015-0274.). Mechanical stretching promotes skin tissue regeneration via enhancing mesenchymal stem cell homing and transdifferentiation. *Stem Cells Transl. Med*, pp. 960–969. doi:doi: 10.5966/sctm.2015-0274.
- Lijun Chen, J. Q. (2022). Mesenchymal stem cell-based treatments for COVID-19: status and future perspectives for clinical applications. *Cell Mol Life Sci*. doi:doi: 10.1007/s00018-021-04096-y
- Lin W., X. L. (2017). Mesenchymal stem cells homing to improve bone healing. *J. Orthop. Transl.*, 19-27. doi:doi: 10.1016/j.jot.2017.03.002
- Liu C., T. A. (2017). Endothelial differentiation of bone marrow mesenchyme stem cells applicable to hypoxia and increased migration through Akt and NFκB signals. *Stem Cell Res. Ther*. doi:doi: 10.1186/s13287-017-0470-0
- Liu D, B. B. (2001). TGF-beta inhibits muscle differentiation through functional repression of myogenic transcription factors by Smad3. *Genes & development.*, 2950-2966.
- Liu D, K. J. (2004). TGF-beta-activated Smad3 represses MEF2-dependent transcription in myogenic differentiation. . *EMBO J.*, 1557-1566.
- Liu D., K. F. (2018, Jul 16). Decorin-modified umbilical cord mesenchymal stem cells (MSCs) attenuate radiation-induced lung injuries via regulating inflammation, fibrotic factors, and immune responses. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, σσ. 945-956. doi:doi: 10.1016/j.ijrobp.2018.04.007.
- Liu H., G. S. (2006). Dental pulp stem cells. . *Methods Enzymol*, 99-113.
- Liu L., L. Q. (2017). Decreased nuclear stiffness via FAK-ERK1/2 signaling is necessary for osteopontin-promoted migration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Exp. Cell Res.*, 172-181. doi:doi: 10.1016/j.yexcr.2017.04.004
- Liu L., L. Q. (2018). Chromatin organization regulated by EZH2-mediated H3K27me3 is required for OPN-induced migration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 29–39. doi:doi: 10.1016/j.biocel.2018.01.006.
- Liu L., L. Q. (2019). Cytoskeletal control of nuclear morphology and stiffness are required for OPN-induced bone marrow-derived mesenchymal stem cell migration. *Biochem. Cell Biol*. doi:doi: 10.1139/bcb-2018-0263

- Liu L., Z. S. (2017, Jul). Mechanoresponsive stem cells to target cancer metastases through biophysical cues. *Sci. Transl. Med.* doi:doi: 10.1126/scitranslmed.aan2966.
- Liu L., Z. S. (2017, Jul 26). Mechanoresponsive stem cells to target cancer metastases through biophysical cues. *Sci. Transl. Med.* doi: doi: 10.1126/scitranslmed.aan2966.
- Liu TM, G. X. (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*, 2711–2720.
- Liu TM, G. X. (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*, 2711–2720.
- Liu TM, M. M. (2007). Identification of common pathways mediating differentiation of bone marrow- and adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells into three mesenchymal lineages. . *Stem Cells.* , 750–760.
- Liu X., D. B. (2011). SDF-1/CXCR4 axis modulates bone marrow mesenchymal stem cell apoptosis, migration and cytokine secretion. *Protein Cell.*, 845–854. doi:doi: 10.1007/s13238-011-1097-z
- Liu Y., W. L. (2011). Mesenchymal stem cell-based tissue regeneration is governed by recipient T lymphocytes via IFN- γ and TNF- α . *Nat. Med.* , 1594–1601.
- Liu Z., D. L. (2021, Oct 22). Mechanism, prevention, and treatment of radiation-induced salivary gland injury related to oxidative stress. *Antioxidants (Basel)* 35,, σσ. 849-862. doi:DOI: 10.3390/antiox10111666
- Liyun Chen , Marwan M Merkhan , Nicholas R F, & Pensee Wu . (2019). Chorionic and amniotic membrane-derived stem cells have distinct, and gestational diabetes mellitus independent, proliferative, differentiation, and immunomodulatory capacities. *Stem Cell Res.*
- Lo Sicco C., R. D. (2017, Mar 6). Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles as Mediators of Anti-Inflammatory Effects: Endorsement of Macrophage Polarization. *Stem Cells Transl Med*, σσ. 1018-1028. doi:doi: 10.1002/sctm.16-0363.
- Luo Q, G. D. (2017). Exosomes from MiR-126-Overexpressing Adscs Are Therapeutic in Relieving Acute Myocardial Ischaemic Injury. *Cell Physiol Biochem.*, 2105–2116.
- Luque-Campos N., C.-L. R.-M. (χ.χ.). Mesenchymal stem cells improve rheumatoid arthritis progression by controlling memory T cell response. *Front. Immunol.* doi:doi: 10.3389/fimmu.2019.00798. eCollection 2019.

- Luz-Crawford P., K. M.-A.-L. (2013, Jun 4). Mesenchymal stem cells generate a CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cell population during the differentiation process of Th1 and Th17 cells. *Stem Cell. Res. Ther.* doi:doi: 10.1186/scrt216.
- Lv FJ, T. R. (χ.χ.). Concise review: the surface markers and identity of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells.*, σσ. 1408–1419. doi:doi: 10.1002/stem.1681.
- M C LaPlaca , C M Simon, G R Prado, & D K Cullen. (2007). CNS injury biomechanics and experimental models. *Prog Brain Res.*
- Ma Z, L. Y. (2020). MiR-19a suppress apoptosis of myocardial cells in rats with myocardial ischemia/reperfusion through PTEN/Akt/P-Akt signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* , 3322–3330.
- Mackay-Sim A., F. F. (2008). Autologous olfactory ensheathing cell transplantation in human paraplegia: A 3-year clinical trial. . *Brain.* , 2376–2386.
- Maddalena Soncini, Elsa Vertua, , Lucia Gibelli,, Fausto Zorzi, , Marco Denegri,, Alberto Albertini,, & Georg S Wengler. (2007). Isolation and characterization of mesenchymal cells from human fetal membranes. *Tissue Eng Regen Med*, 296-305.
- Makkar R.R., S. R. (2012). Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): A prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet.* :895–904.
- Mao X., C. Z. (2016). Simulated microgravity inhibits the migration of mesenchymal stem cells by remodeling actin cytoskeleton and increasing cell stiffness. *Cytotechnology.*, pp. 2235–2243. doi:doi: 10.1007/s10616-016-0007-x
- Marcin Wysoczynki, A. K. (2018). New Paradigms in Cell Therapy: Repeated Dosing, Intravenous Delivery, Immunomodulatory Actions, and New Cell Types. *Circ Res*, 138-158.
- Margossian, T., Reppel, L., Makdissy, N., Stoltz, J.-F., & Bensoussan,, D. (2012). Mesenchymal stem cells derived from Wharton's jelly: comparative phenotype analysis between tissue and in vitro expansion. *Bio-Medical Materials and Engineering.*, 243-254. doi:10.3233/BME-2012-0714
- Martin P. J., U. J. (2010). improves response rates in patients with steroid-refractory acute graft versus host disease (SR-GVHD) involving the liver and gut: Results of a randomized, placebo-controlled, multicenter phase III trial in GVHD. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, S169–S170.
- Matas, J., Orrego, M., & Amenabar, D. (2019). Stem cells. *Derived Mesenchymal Stromal Cells (MSCs) for Knee Osteoarthritis*, 8 (3), 215 - 224. doi: <https://doi.org/10.1002/sctm.18-0053>
- Mayor R., T. E. (2013). The neural crest. *Development.* , 2247-2251.

- Mazini, L., Rochette, L., & Amine, M. (2019). Regenerative Capacity of Adipose Derived Stem Cells (ADSCs), Comparison with Mesenchymal Stem Cells (MSCs). *International Journal of Molecular Sciences*.
- McCulloch, A. E., & Till, E. J. (1960, July). "The Radiation Sensitivity of Normal Mouse Bone Marrow Cells, Determined by Quantitative Marrow Transplantation into Irradiated Mice". *Radiation Research*. doi:doi:10.2307/3570877
- McIntosh K., Z. S. (2006). The immunogenicity of human adipose-derived cells: Temporal changes in vitro. *Stem Cells*, 1246–1253.
- Meng F, e. a. (2020). Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell therapy in patients with COVID-19: a phase 1 clinical trial. *Signal Transduct. Target. Ther.* doi:doi: 10.1038/s41392-020-00286-5
- Meng X, I. T. (2007). Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J Transl Med*.
- Mentkowski KI, L. J. (2019). Exosomes Engineered to Express a Cardiomyocyte Binding Peptide Demonstrate Improved Cardiac Retention in Vivo. *Sci Rep*.
- Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. (2019, Jul 28). *Cells*. doi:doi: 10.3390/cells8080784
- Mi Jeong Kim , Kyung Seon Shin, , Jin Hee Jeon, , Dong Ryul Lee, , Sung Han Shim, , & Jin Kyeoung Kim, . (2011). Human chorionic-plate-derived mesenchymal stem cells and Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: a comparative analysis of their potential as placenta-derived stem cells. *Clinical Trial*, 53-64.
- Michel G, T. T. (2010, October). "The cell wall polysaccharide metabolism of the brown alga *Ectocarpus siliculosus*. Insights into the evolution of extracellular matrix polysaccharides in Eukaryotes". *The New Phytologist*. doi:doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03374.x
- Midha, S., Jain, K. G., & Bhaskar, N. (2021). Tissue-specific mesenchymal stem cell-dependent osteogenesis in highly porous chitosan-based bone analogs. *Stem Cells Transl Med*, 303-319.
- Milos Pawlowski, Yavor Mendel, & John Kaisermann. (χ.χ.). *Τεχνικές Μοριακής Βιολογίας*. Cambridge Stanford Books.
- Milos Pawlowski, Yavor Mendel,, & John Kaisermann . (χ.χ.). *Τεχνικές Μοριακής Βιολογίας*. Ανάκτηση από <https://books.google.gr.>books>.
- Mingjun Wu,, Ruifan Zhang,, Qing Zou, Yaoyao Chen, Min Zhou,, Xingjie Li,, & Ran Ran,. (2018). Comparison of the Biological Characteristics of Mesenchymal Stem Cells Derived from the Human Placenta and Umbilical Cord.

- Minguell, J., P. Conget , & A. Erices. (2000). Biology and clinical utilization of mesenchymal progenitor cells. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. doi:<https://doi.org/10.1590/S0100-879X2000000800003>
- Mishima Y., L. M. (2008). A14 chemotaxis of human articular chondrocytes and mesenchymal stem cells. *Osteoarthr. Cartil.* doi:doi: 10.1016/S1063-4584 (08)60060-6
- Mitchell KE, W. M.-E. (2008, December 23). Matrix cells from Wharton's jelly form neurons and glia. *Stem Cells*, pp. 50–60. doi: <https://doi.org/10.1634/stemcells.21-1-50>
- Miura M., G. S. (2003). SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 5807-5812.
- Miura M., G. S. (2003). SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. . *Proc. Natl. Acad. Sci. ,* 5807-5812.
- Miyazaki M, Z. P. (2008, Apr 15). Comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose tissue and bone marrow for ex vivo gene therapy in rat spinal fusion model. *Spine*, pp. 863–869. doi:doi: 10.1097/BRS.0b013e31816b45c3.
- Mohamed , A. S., Howard L., McInerney V, Hayat A, & Krawczyk J. (2020). Autologous bone marrow mesenchymal stromal cell therapy for "no-option" critical limb ischemia is limited by karyotype abnormalities. 313–321.
- Moll G., A. J.-F.-E. (2014, Sep). Do cryopreserved mesenchymal stromal cells display impaired immunomodulatory and therapeutic properties? *Stem Cells*, 2430–2442. doi: doi: 10.1002/stem.1729.
- Mónica S Ventura Ferreira , Michaela Biener, Katrin Müller , Björn Rath, & Tamme Goecke . (2018). Comprehensive characterization of chorionic villi-derived mesenchymal stromal cells from human placenta. *Stem Cell Res Ther.*
- Morganstein DL, W. P. (2010). . Human fetal mesenchymal stem cells differentiate into brown and white adipocytes: a role for ERRalpha in human UCP1 expression. *Cell research.*, 434–444.
- Morrissey, J. (2018, August 2). *The New York Times*. Ανάκτηση από How to Write a Good College Application Essay: <https://www.nytimes.com/2018/08/02/education/learning/writing-college-application-essay.html?rref=collection%2Fsectioncollection%2Feducation&action=click&contentCollection=education®ion=rank&module=package&version=highlights&contentPlacement=2&pgtype=s>
- Motohashi T., K. T. (2015). Extended multipotency of neural crest cells and neural crest-derived cells. . *Curr. Top. Dev. Biol*, 69-95.

- Mushahary D, S. A. (2018, January). Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry A*, pp. 19-31. doi: doi: 10.1002/cyto.a.23242.
- Mushahary D, S. A. (2018, Jan 1). Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. pp. 19-31. doi:doi: 10.1002/cyto.a.23242.
- Mytilinaiou M., N. D. (2017). G.N. IGF-I regulates HT1080 fibrosarcoma cell migration through a syndecan-2/Erk/ezrin signaling axis. *Exp. Cell Res*, 9-18. doi:doi: 10.1016/j.yexcr.2017.09.035.
- N, K. (2012). Characterization of dental pulp stem cells: A new horizon for tissue regeneration? . *Arch. Oral Biol.* , 1439-1458.
- Naimisha Beeravolu,, Christina McKee, , Ali Alamri,, Christina Brown, G. Rasul Chaudhry , Mick Perez-Cruet, & Sasha Mikhael. (2017). Isolation and Characterization of Mesenchymal Stromal Cells from Human Umbilical Cord and Fetal Placenta. *Journal of Visualized Experiments*.
- Nakamura Y., I. H. (2013). Enhanced wound healing by topical administration of mesenchymal stem cells transfected with stromal cell-derived factor-1. *Biomaterials*, 9393–9400. doi:doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.08.053
- Namazi H, N. I.-S. (2018). Exosomes Secreted by Normoxic and Hypoxic Cardiosphere-derived Cells Have Anti-apoptotic Effect. *Iran J Pharm Res*.
- Navas A., M.-G. F.-L.-G.-H. (2018, Dec; 7). Anti-inflammatory and anti-fibrotic effects of human amniotic membrane mesenchymal stem cells and their potential in corneal repair. *Stem Cells Transl. Med.*, σσ. 906-917. doi:doi: 10.1002/sctm.18-0042
- Nedeau A.E., B. R. (2008). A CXCL5- and bFGF-dependent effect of PDGF-B-activated fibroblasts in promoting trafficking and differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Exp. Cell Res.*, pp. 2176–2186. doi:doi: 10.1016/j.yexcr.2008.04.007.
- Neirinckx V., C. D.-G. (2014). Concise review: Spinal cord injuries: How could adult mesenchymal and neural crest stem cells take up the challenge? *Stem Cells.* , 829–843.
- Nekanti U., M. L. (2010). Optimization and scale-up of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells for clinical applications. *Stem Cell Research*, 244–254. doi:doi: 10.1016/j.scr.2010.08.005
- Nekoei SM, e. a. (2015, July). In vitro differentiation of human umbilical cord Wharton's jelly mesenchymal stromal cells to insulin producing clusters . *World J Clin Cases*, 640-9. doi: DOI: 10.12998/wjcc.v3.i7.640
- NG, F. (2006). The mechanistic basis of infarct healing. *Antioxid Redox Signal*, 1907–39.
- Novikova L.N., B. M. (2011). Neuroprotective and growth-promoting effects of bone marrow stromal cells after cervical spinal cord injury in adult rats. *Cytotherapy*.

- Nuttall ME, G. J. (2004). Controlling the balance between osteoblastogenesis and adipogenesis and the consequent therapeutic implications. . *Current opinion in pharmacology.*, 290-294.
- Oh E.J., L. H. (2018). In vivo migration of mesenchymal stem cells to burn injury sites and their therapeutic effects in a living mouse model. *J. Control. Release.*, 79-88. doi: doi: 10.1016/j.jconrel.2018.04.020
- Oh E.J., L. H. (2018). In vivo migration of mesenchymal stem cells to burn injury sites and their therapeutic effects in a living mouse model. *J. Control. Release.*, 79-88. doi: doi: 10.1016/j.jconrel.2018.04.020
- Oh E.J., L. H. (2018). In vivo migration of mesenchymal stem cells to burn injury sites and their therapeutic effects in a living mouse model. *J. Control. Release.*, 79-88. doi:doi: 10.1016/j.jconrel.2018.04.020
- Oh E.J., L. H. (2018). In vivo migration of mesenchymal stem cells to burn injury sites and their therapeutic effects in a living mouse model. *J. Control. Release.*, 79-88. doi: doi: 10.1016/j.jconrel.2018.04.020
- Oh E.J., L. H. (χ.χ.). In vivo migration of mesenchymal stem cells to burn injury sites and their therapeutic effects in a living mouse model. *J. Control. Release.*, 79-88. doi:doi: 10.1016/j.jconrel.2018.04.020
- Okamoto T, A. T. (2002). Clonal heterogeneity in differentiation potential of immortalized human mesenchymal stem cells. *Biochemical and biophysical research communications.*, 354-361.
- Okitsu Y, T. S. (2007). Regulation of adipocyte differentiation of bone marrow stromal cells by transcription factor GATA-2. *Biochemical and biophysical research communications.*, 383-387.
- Oren Levy, R. K. (2020, Jul 22). Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies. doi:doi: 10.1126/sciadv.aba6884. eCollection 2020 Jul.
- Oren, L. (2020, Jul). Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies. doi: doi: 10.1126/sciadv.aba6884. eCollection 2020 Jul.
- Osathanon T, S. C. (2014, May). Neurogenic differentiation of human dental pulp stem cells using different induction protocols. *Oral Disease*, 352-358. doi:doi: 10.1111/odi.12119.
- Oubari F., A. N. (2015). The important role of FLT3-L in ex vivo expansion of hematopoietic stem cells following co-culture with mesenchymal stem cells. *Cell J.*, pp. 201-210.
- Ouyang W, R. S. (2011). Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annu Rev Immunol*, 71-109.

- Ozay E. I., V. J.-P. (2019). Cymerus™ iPSC-MSCs significantly prolong survival in a pre-clinical, humanized mouse model of Graft-vs-host disease. *Stem Cell Res.* doi:doi:10.1016/j.scr.2019.101401. Epub 2019 Feb 1.
- P J Simmons, & B Torok-Storb. (1991). Identification of stromal cell precursors in human bone marrow by a novel monoclonal antibody, STRO-1 . σσ. 55 - 62.
- P., B. (2014). “Mesenchymal” stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 677–704. doi:10.1146/annurev-cellbio-100913-013132
- P., S. (2010). Transcriptional Control of Brown Adipocyte Development and Thermogenesis. . *Int. J. Obes.*
- Pagano F, P. V. (2018). The Biological Mechanisms of Action of Cardiac Progenitor Cell Therapy. *Curr Cardiol Rep.*
- Pal R., V. N. (2009). Ex vivo-expanded autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in human spinal cord injury/paraplegia: A pilot clinical study. *Cytotherapy.* , 897–911.
- Palma P.J., M. J. (2019). Does apical papilla survive and develop in apical periodontitis presence after regenerative endodontic procedures? . *Appl. Sci.* .
- Palma P.J., R. J. (2017). Histologic evaluation of regenerative endodontic procedures with the use of chitosan scaffolds in immature dog teeth with apical periodontitis. *J. Endod*, 1279–1287.
- Panés J., G.-O. D.-S. (2016, Sep 26). Expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells (Cx601) for complex perianal fistulas in Crohn’s disease: A phase 3 randomised, double-blind controlled trial. *Lancet* 388,, σσ. 1281–1290. doi:doi:10.1016/S0140-6736 (16)31203-X.
- Pappa K. I., A. N. (2009). Novel sources of fetal stem cells: where do they fit on the developmental continuum? *Regenerative Medicine*, 423–433. doi:doi:10.2217/rme.09.12
- Pappa, K. I., & Anagnou, N. P. (2009). Novel sources of fetal stem cells: where do they fit on the developmental continuum? 423 -433.
- Park JS, Y. H. (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*, 3679–3688.
- Peggy Assinck, G. J. (2017). Cell transplantation therapy for spinal cord injury. *Nat Neurosci*, 637-647.
- Peng Jiang, Y. W. (2011, February 28). Human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells differentiate into a Schwann-cell phenotype and promote neurite outgrowth in vitro. *Brain Research Bulletin, Volume 84 (Issue 3)*, 235-243. doi:doi.org/10.1016/j.brainresbull.2010.12.013

- Peng Y, Z. J. (2020). Exosomal miR-25-3p from mesenchymal stem cells alleviates myocardial infarction by targeting pro-apoptotic proteins and EZH2. *Cell Death Dis.*
- Perez J. R., Y. N. (2017, Jan 19). Tracking of mesenchymal stem cells with fluorescence endomicroscopy imaging in radiotherapy-induced lung injury. *Sci. Rep.* doi:doi: 10.1038/srep40748.
- Petrou , P., Gothelf , Y., Argov , Z., Gotkine , M., & Levy, Y. S. (2016). Safety and Clinical Effects of Mesenchymal Stem Cells Secreting Neurotrophic Factor Transplantation in Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis: Results of Phase 1/2 and 2a Clinical Trials. *Clinical Trial.*
- Petrova V.V., V. J. (2008). TGF- β -induced cardiac myofibroblasts are nonproliferating functional cells carrying DNA damages. *Exp. Cell Res*, pp. 1480–1494. doi:doi: 10.1016/j.yexcr.2008.01.014
- Phinney , D. G., & Pittenger , M. F. (2017). Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy. *Stem Cells*, 851-858.
- Pieterella S in 't Anker, Willy A Noort,, Sicco A Scherjon, Carin Kleijburg-van der Keur,, Alwine B Kruisselbrink, Rutger L van Bezooijen, & Willem Beekhuizen. (2003). Mesenchymal stem cells in human second-trimester bone marrow, liver, lung, and spleen exhibit a similar immunophenotype but a heterogeneous multilineage differentiation potential. *Haematologica*, 845 - 852.
- Pillarsetti K., G. S. (2001). Cloning and relative expression analysis of rat stromal cell derived factor-1 (SDF-1): SDF-1 alpha mRNA is selectively induced in rat model of myocardial infarction. *Inflammation*, 293-300. doi:doi: 10.1023/A:1012808525370
- Pineau, I., & Lacroix, S. (2007). Proinflammatory cytokine synthesis in the injured mouse spinal cord: multiphasic expression pattern and identification of the cell types involved. *J Comp Neurol.*
- Pittenger MF, M. A. (1999, Apr 2). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.*, $\sigma\sigma$. 143–147. doi:doi: 10.1126/science.284.5411.143.
- Pittenger, M., Mackay, A., & Beeck, S. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. 143-147.
- PJ, S. B.-S. (1991). Identification of stromal cell precursors in human bone marrow by a novel monoclonal antibody, STRO-1. $\sigma\sigma$. 55 -62.
- Plett P.A., A. R. (2004). Impact of modeled microgravity on migration, differentiation, and cell cycle control of primitive human hematopoietic progenitor cells. *Exp. Hematol.*, pp. 773–781. doi:doi: 10.1016/j.exphem.2004.03.014

- Popova A.P., K. J. (2014). Reduced platelet-derived growth factor receptor expression is a primary feature of human bronchopulmonary dysplasia. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, pp. 231–239. doi:doi: 10.1152/ajplung.00342.2013
- Pösel Claudia, M. K. (2012). Density Gradient Centrifugation Compromises Bone Marrow Mononuclear Cell Yield. *PLoS One*. doi:10.1371/journal.pone.0050293
- Power A. T., W. J. (2007, Jan). Carrier cell-based delivery of an oncolytic virus circumvents antiviral immunity. *Mol. Ther*, 123–130. doi: doi: 10.1038/sj.mt.6300039.
- Prendleton, C., Li, Q., Chesler, D., & Yuan, K. (2013). Mesenchymal stem cells derived from adipose tissue vs bone marrow: in vitro comparison of their tropism towards gliomas .
- Priya N, S. S. (2014, September 9). Explant culture: a simple, reproducible, efficient and economic technique for isolation of mesenchymal stromal cells from human adipose tissue and lipoaspirate. *J Tissue Eng Regen Med*, pp. 706–716. doi:https://doi.org/10.1002/term.1569
- Priya N, S. S. (2014, Sep 8). Explant culture: a simple, reproducible, efficient and economic technique for isolation of mesenchymal stromal cells from human adipose tissue and lipoaspirate. *J Tissue Eng Regen Med*, pp. 706-716. doi:doi: 10.1002/term.1569.
- Prusa , A.-R., & Hengstschlager, M. (2002). Amniotic fluid cells and human stem cell research: a new connection. *Medical Science Monitor*, 253 - 257.
- Pu LL, C. X. (2006, May; 6). Adipose aspirates as a source for human processed lipoaspirate cells after optimal cryopreservation. *Plast Reconstr Surg*, pp. 1845–1850. doi: doi: 10.1097/01.prs.0000209931.24781.9c.
- Qilin Huang , Yi Yang , & Chen Luo . (2019). An efficient protocol to generate placental chorionic plate-derived mesenchymal stem cells with superior proliferative and immunomodulatory properties. *Stem Cell Res Ther*, 1405-8.
- Qilin Huang , Yi Yang , & Chen Luo. (2019). An efficient protocol to generate placental chorionic plate-derived mesenchymal stem cells with superior proliferative and immunomodulatory properties. *Stem Cell Res Ther*, 1405-8.
- Qingsong Ye, Tzu-Cheng Sung, & Jen-Ming Yang. (2020). Generation of universal and hypoimmunogenic human pluripotent stem cells. *Cell Proliferation* .
- Quirici N., S. D. (2002). Isolation of bone marrow mesenchymal stem cells by anti-nerve growth factor receptor antibodies. *Exp Hematol*, 783–791. doi:10.1016/s0301-472x(02)00812-3
- R., P. (2008). Colony Forming Unit Assays for MSCs, In: Prockop DJ, Bunnell BA, Phinney DG, eds. *Mesenchymal Stem Cells: Methods and Protocols.*, σσ. 83–91. Ανάκτηση από Totowa, NJ: Humana Press; 2008:

- Raab M., D. D. (2017, March 3). Matrix rigidity regulates microtubule network polarization in migration. *Cytoskeleton*, pp. 114–124. doi:doi: 10.1002/cm.21349
- Raab M., S. J. (2012, November 12). Crawling from soft to stiff matrix polarizes the cytoskeleton and phosphoregulates myosin-II heavy chain. *J. Cell Biol.*, pp. 669–683. doi:doi: 10.1083/jcb.201205056.
- Raab M., S. J. (2012, November 12). Crawling from soft to stiff matrix polarizes the cytoskeleton and phosphoregulates myosin-II heavy chain. *J. Cell Biol.*, pp. 669–683. doi:doi: 10.1083/jcb.201205056.
- Rachel Sagar,, Lilian Walther-Jallow, Anna L. David, Cecilia Götherström,, & Magnus Westgren. (2018). Fetal Mesenchymal Stromal Cells: an Opportunity for Prenatal Cellular Therapy. *Current Stem Cell Reports*, 61 - 68.
- Rajan Radha R., C. G. (2017, May). Pulmonary injury associated with radiation therapy - assessment, complications and therapeutic targets. *Biomed. Pharmacother*, pp. 1092–1104. doi:doi: 10.1016/j.biopha.2017.02.106
- Ramkisoensing AA, P. D. (2011). Human embryonic and fetal mesenchymal stem cells differentiate toward three different cardiac lineages in contrast to their adult counterparts. *PloS one*.
- Ramkisoensing AA, P. D. (2011). Human embryonic and fetal mesenchymal stem cells differentiate toward three different cardiac lineages in contrast to their adult counterparts. . *PloS one*.
- Ranjbaran H, A. S. (2018 , Jan). Wharton's Jelly Derived-Mesenchymal Stem Cells: Isolation and Characterization. *Acta Med Iran* (Vol 56, No 1), 28-33. Retrieved from PMID: 29436792
- Ranjbaran Hossein, A. S. (2018 Jan;56, Jan;56). Wharton's Jelly Derived-Mesenchymal Stem Cells: Isolation and Characterization. *Acta Med Iran* (Vol 56, No 1), 28-33.
- Rao V. V., V. M. (2019, Sep 20). Rescuing mesenchymal stem cell regenerative properties on hydrogel substrates post serial expansion. *Bioeng. Transl. Med.*, 51–60. doi: doi: 10.1002/btm2.10104. eCollection 2019 Jan
- Rebekah M. Samsonraj, M. R. (2017). Concise Review: Multifaceted Characterization of Human Mesenchymal Stem Cells for Use in Regenerative Medicine. *Stem Cells Transl Med*, 2173–2185.
- Rezaie J, R. R. (2019). Cardioprotective role of extracellular vesicles: A highlight on exosome beneficial effects in cardiovascular diseases. *J Cell Physiol*.
- RICHARD., H. O. (2009, November 27). The Extracellular Matrix: Not Just Pretty Fibrils. *Science*, pp. 1216-1219. doi:DOI: 10.1126/science.1176009

- Richardson S, e. a. (2020). Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*, 2052–2059. doi:doi: 10.1001/jama.2020.6775
- Robbins PD, M. A. (2014). Regulation of immune responses by extracellular vesicles. *Nat Rev Immunol.* , 195-208.
- Roubelakis , M. G., Trohatou, O., & Anagnou, N. P. (2012). Amniotic fluid and amniotic membrane stem cells: marker discovery. *Stem cells*.
- Rowlands AS, G. P.-W. (2008). Directing osteogenic and myogenic differentiation of MSCs: interplay of stiffness and adhesive ligand presentation. *American journal of physiology. Cell physiology.* , 1037–1044.
- Ryan, A. E. (2014). Chondrogenic differentiation increases antidonor immune response to allogeneic mesenchymal stem cell transplantation. *Mol Ther*.
- Sacchetti B., F. A. (2007). Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell.*, 324–336. doi:doi: 10.1016/j.cell.2007.08.025
- Sacchetti, B., Funari, A., & Michienzi, S. (2007). Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell*, 324-336.
- Salama C, e. a. (2021). Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia. *N. Engl. J. Med*, 20–30. doi:doi: 10.1056/NEJMoa2030340
- Salehinejad, P., Alitheen, N. B., Nematollahi-Mahani, S., Ali, A. M., Omar,, A. R., Janzamin,, E., & Hajghani, M. (2012). Effect of culture media on expansion properties of human umbilical cord matrix-derived mesenchymal cells. *Cytotherapy*, 948-953.
- Salem B., M. S. (2015, Dec; 17). Quantitative activation suppression assay to evaluate human bone marrow–derived mesenchymal stromal cell potency. *Cytotherapy*, 1675–1686. doi: doi: 10.1016/j.jcyt.2015.08.008. Epub 2015 Sep 28.
- Salles P.S., T. P. (2012). Dental needs and management of children with special health care needs according to type of disability. *J. Dent. Child.* , 165–169.
- Sami G Almalki, D. K. (2016). Key transcription factors in the differentiation of mesenchymal stem cells .
- Sami G. Almalki, D. K. (2016). Key Transcription Factors in the Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Author manuscript*, 41-51`.
- Sami G. Almalki, D. K. (2016). Key Transcription Factors in the Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Author manuscript*.
- Samsonraj RM, R. M. (2017, 12 6). Concise review: multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine. *Stem Cells Transl Med.*, 2173–2185. doi:10.1002/sctm.17-0129

- Sanchez-Guijo F, e. a. (2020). Adipose-derived mesenchymal stromal cells for the treatment of patients with severe SARS-CoV-2 pneumonia requiring mechanical ventilation. A proof of concept study. *EClinicalMedicine*. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100454
- Sanz - Nogues, C., & O'Brien, T. (2021, June 5). *Biomater Biosyst*. 5 May 2021.
- Sara Barreto, L. H. (2019). Cardiac Progenitor Cells from Stem Cells: Learning from Genetics and Biomaterials. *CELLS*.
- Saulite L, V. E. (2018, Apr 28). The differentiation of skin mesenchymal stem cells towards a schwann cell phenotype: impact of sigma-1 receptor activation. *Mol Neurobiol*, 50(12), 2840–2850. doi: 10.1007/s12035-017-0511-9
- Saward L, Z. P. (1997, Nov;). Coronary artery smooth muscle in culture: Migration of heterogeneous cell populations from vessel wall. *Mol Cell Biochem*, pp. 53–59.
- Saxena N., M. P. (2018, April 6). Matrix elasticity regulates mesenchymal stem cell chemotaxis. *J. Cell Sci*. doi: 10.1242/jcs.211391.
- Schäffler A, B. C. (2007, April 25). Concise review: Adipose tissue-derived stromal cells—basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells*, pp. 818–827. doi: 10.1634/stemcells.2006-0589.
- Schmidt A, L. D. (2006). Basic fibroblast growth factor controls migration in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 24(12), 1750–1758. doi: 10.1634/stemcells.2005-0191.
- Schmidt A., L. D. (2010). Basic fibroblast growth factor controls migration in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 28(12), 1750–1758. doi: 10.1634/stemcells.2005-0191
- Schmidt A., L. D. (2010). Basic fibroblast growth factor controls migration in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 28(12), 1750–1758. doi: 10.1634/stemcells.2005-0191
- Schüring AN, S. N. (2011, Jan 1). Characterization of endometrial mesenchymal stem-like cells obtained by endometrial biopsy during routine diagnostics. *Fertil Steril*, 95(4), 423–426. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.08.035.
- Schüring AN, S. N. (2011). Characterization of endometrial mesenchymal stem-like cells obtained by endometrial biopsy during routine diagnostics. *Fertil Steril*, 95(4), 423–6. .
- Seale P., B. B. (2008). PRDM16 Controls a Brown Fat/Skeletal Muscle Switch. *Nature*, 454(7206), 961–967.
- Seale P., C. H. (2011). Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J. Clin. Investig*, 121(1), 96–105.

- Seifrtová M, H. R. (2012, May 5). The response of human ectomesenchymal dental pulp stem cells to cisplatin treatment. *Int Endod J.*, σσ. 401–412. doi: doi: 10.1111/j.1365-2591.2011.01990.x.
- Sekine I., S. M. (2006, Jul). Retrospective analysis of steroid therapy for radiation-induced lung injury in lung cancer patients. *Radiother. Oncol.*, σσ. 93–97. doi: doi: 10.1016/j.radonc.2006.06.007
- Sekiya I, T. K. (2000). SOX9 enhances aggrecan gene promoter/enhancer activity and is up-regulated by retinoic acid in a cartilage-derived cell line, TC6. *J Biol Chem.* , 10738–10744.
- Selmani Z., N. A. (χ.χ.). Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4+CD25highFOXP3+ regulatory T cells. *Stem Cells*, σσ. 212-222. doi:doi: 10.1634/stemcells.2007-0554.
- Selvasandran K., M. G. (2017). Tumor necrosis factor-α and hypoxia-induced secretome therapy for myocardial repair. *Ann. Thorac. Surg*, 715–723. doi:doi: 10.1016/j.athoracsur.2017.09.005
- Selvasandran K., M. G. (2017). Tumor necrosis factor-α and hypoxia-induced secretome therapy for myocardial repair. *Ann. Thorac. Surg*, 715–723. doi:doi: 10.1016/j.athoracsur.2017.09.005
- Selvasandran K., M. G. (2018). A Tumor Necrosis Factor-α and Hypoxia-Induced Secretome Therapy for Myocardial Repair. *Ann Thorac Surg*, 715-723. doi:doi: 10.1016/j.athoracsur.2017.09.005.
- Sengupta V, e. a. (2020). Exosomes Derived from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells as Treatment for Severe COVID-19. *Stem Cells Dev*, :747–754. doi: doi: 10.1089/scd.2020.0080.
- Sequeira D.B., S. C. (2018). Effects of a new bioceramic material on human apical papilla cells. *J. Funct. Biomater.*
- Seshareddy K, T. D. (2008). Method to isolate mesenchymal-like cells from Wharton's Jelly of umbilical cord. *Methods Cell Biol* , pp. 101-119. doi:https://doi.org/10.1016/S0091-679X (08)00006-X
- Sessarego, N., Parodi, A., Podestà, M., Benvenuto, F., Moggi, M., Raviolo, V., & Lituania, M. (2008). Multipotent mesenchymal stromal cells from amniotic fluid: solid perspectives for clinical application. *HEMATOLOGICAL*. doi:https://doi.org/10.3324/haematol.11869
- Shah FS, W. X. (2013). A non-enzymatic method for isolating human adipose tissue-derived stromal stem cells. *Cytotherapy*, pp. 979–985. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.04.001

- Shane Gao, X. G. (2018). Differentiation of human adipose-derived stem cells into neuron/motoneuron-like cells for cell replacement therapy of spinal cord injury . *Cell Death Dis.*
- Shang Q., C. Y. (2020, Aug 26). Adipose-derived mesenchymal stromal cells promote corneal wound healing by accelerating the clearance of neutrophils in cornea. *Cell. Death Dis.* doi:doi: 10.1038/s41419-020-02914-y.
- Shao L., Z. Y. (2021, Apr;). Mesenchymal stromal cells can repair radiation-induced pulmonary fibrosis via a DKK-1-mediated Wnt/ β -catenin pathway. *Cell. Tissue Res.* , σσ. 87-97. doi:doi: 10.1007/s00441-020-03325-3.
- Shao L., Z. Y. (χ.χ.). Mesenchymal stromal cells can repair radiation-induced pulmonary fibrosis via a DKK-1-mediated Wnt/ β -catenin pathway. *Cell. Tissue Res*, σσ. 87–97. doi:doi: 10.1007/s00441-020-03325-3.
- Sharma A., G. N. (2012). Administration of autologous bone marrow-derived mononuclear cells in children with incurable neurological disorders and injury is safe and improves their quality of life. . *Cell Transpl.*
- Shi L, e. a. (2021). Effect of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells on lung damage in severe COVID-19 patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 trial. *Signal Transduct. Target. Ther.* doi:doi: 10.1038/s41392-021-00488-5
- Shi S, G. S. (2003, Apr 18). Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *Bone Miner Res*, σσ. 696–704. doi:doi: 10.1359/jbmr.2003.18.4.696.
- Shi Y, Y. Y. (2019). Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Promote Fibroblast-to-Myofibroblast Differentiation in Inflammatory Environments and Benefit Cardioprotective Effects. *Stem Cells Dev*, 799–811.
- Shi Y., W. Y. (2018, Aug; 14). Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. *Nat. Rev. Nephrol.*, 493–507. doi:doi: 10.1038/s41581-018-0023-5.
- Shi Y., W. Y. (2018, Aug; 14). Immunoregulatory mechanisms of mesenchymal stem and stromal cells in inflammatory diseases. . *Nat. Rev. Nephrol*, 493–507. doi:493–507
- Shin J.C., K. K. (2015). Clinical Trial of Human Fetal Brain-Derived Neural Stem/Progenitor Cell Transplantation in Patients with Traumatic Cervical Spinal Cord Injury. *Neural Plast.*
- Shishu Huang, Leung, V., Peng, S., Li, L., Lu, F. J., Wang, T., . . . Cheung, K. M. (2011). Developmental Definition of MSCs: New Insights Into Pending Questions. *Cell Reprogram.*, 465–472.

- Shu L, et al. (2020). Treatment of severe COVID-19 with human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res. Ther.* doi: 10.1186/s13287-020-01875-5
- Simmons, P., & Torok - Storb, B. (1991). Identification of stromal cell precursors in human bone marrow by a novel monoclonal antibody, STRO-1. *Blood*, 77, 55-62.
- Skardal A., M. D. (2013, January 17). Substrate elasticity controls cell proliferation, surface marker expression and motile phenotype in amniotic fluid-derived stem cells. *J. Mech. Behav. Biome.*, pp. 307–316. doi: 10.1016/j.jmbbm.2012.10.001
- Solchaga L.A., P. K. (2005). FGF-2 enhances the mitotic and chondrogenic potentials of human adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol*, 398–409. doi:10.1002/jcp.20238.
- Solchaga L.A., P. K. (2010). Fibroblast growth factor-2 enhances proliferation and delays loss of chondrogenic potential in human adult bone-marrow-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Eng.*, 16, 1009–1019. doi:10.1089/ten.TEA.2009.0100.
- Solder, E. (2012). Isolation and characterization of CD133+CD34+VEGFR-2+CD45- fetal endothelial cells from human term placenta. *Microvascular Research*, 84, 65–73.
- Sollazzo, V., Lucchese, A., Palmieri, A., Carnevali, G., & Iaccarino, C. (2011). Calcium sulfate stimulates pulp stem cells towards osteoblasts differentiation.
- Song H, K. K. (2005). Transfection of mesenchymal stem cells with the FGF-2 gene improves their survival under hypoxic conditions. *Mol Cells*, 20, 402–407.
- Songye Lou, Y. D. (2021, June). Mesenchymal stem cells: Biological characteristics and application in disease therapy. *Biochimie*, pp. 9-21. doi: 10.1016/j.biochi.2021.03.003
- Sonoyama W., L. Y. (2006). Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS ONE*.
- Sonoyama W., L. Y. (2008). Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: A pilot study. *J. Endod.*, 34, 166-171.
- Sousonis V, N. J. (2014). Cardiosphere-derived progenitor cells for myocardial repair following myocardial infarction. *Curr Pharm Des.*
- Stanko P., K. K. (2014). Comparison of human mesenchymal stem cells derived from dental pulp, bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord tissue by gene expression. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.*, 108, 373-377.
- Su X., Y. L. (2018, Sep 26). Bone marrow mesenchymal stem cells tune the differentiation of myeloid-derived suppressor cells in bleomycin-induced lung injury. *Stem Cell Res. Ther.* doi: 10.1186/s13287-018-0983-1.

- Suga H., M. D. (2009). Functional implications of CD34 expression in human adipose-derived stem/progenitor cells. (ORIGINAL RESEARCH REPORT) (cluster of differentiation) (Report). *Stem Cells*, 1201–1210. doi:doi: 10.1089/scd.2009.0003
- Suresh S. C., S. V. (2015, Dec 15). Thioredoxin-1 (Trx1) engineered mesenchymal stem cell therapy increased pro-angiogenic factors, reduced fibrosis and improved heart function in the infarcted rat myocardium. *Int. J. Cardiol.*, 517–528. doi: doi: 10.1016/j.ijcard.2015.08.117. Epub 2015 Aug 15.
- Suresh SC, S. V. (2015). Thioredoxin-1 (Trx1) engineered mesenchymal stem cell therapy increased pro-angiogenic factors, reduced fibrosis and improved heart function in the infarcted rat myocardium. . *International journal of cardiology.* , 517–528.
- Susanne Vandervelde, M. J. (2006). Increased inflammatory response and neovascularization in reperfused vs. non-reperfused murine myocardial infarction . *Cardiovasc Pathol*, 83-90.
- Suva D, G. G. (2004). Non-hematopoietic human bone marrow contains long-lasting, pluripotential mesenchymal stem cells. . *Journal of cellular physiology.* , 110-118.
- T., K. (2006). Regulation of osteoblast differentiation by transcription factors. *Journal of cellular biochemistry.* , 1233–1239.
- Tang J.M., W. J. (2011). VEGF/SDF-1 promotes cardiac stem cell mobilization and myocardial repair in the infarcted heart. *Cardiovasc. Res.*, 402–411. doi:doi: 10.1093/cvr/cvr053.
- Tang L, e. a. (2020). Clinical study using mesenchymal stem cells for the treatment of patients with severe COVID-19. *Front. Med*, 664–673. doi:doi: 10.1007/s11684-020-0810-9
- Tarui S., I. S. (2015). Transcoronary infusion of cardiac progenitor cells in hypoplastic left heart syndrome: Three-year follow-up of the transcoronary infusion of cardiac progenitor cells in patients with single-ventricle physiology (TICAP) trial. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1198–1208.
- Teng X, C. L. (2015). Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Improve the Microenvironment of Infarcted Myocardium Contributing to Angiogenesis and Anti-Inflammation. . *Cell Physiol Biochem.*, 2415-2424.
- Thakkar U. G., T. H. (2015, Jul; 17). Insulin-secreting adipose-derived mesenchymal stromal cells with bone marrow-derived hematopoietic stem cells from autologous and allogenic sources for type 1 diabetes mellitus. *Cytotherapy*, 940–947. doi: doi: 10.1016/j.jcyt.2015.03.608.
- Thaweesapphithak, S, Tantrawatpan, C, Kheolamai, P., , Tantikanlayaporn, D., , Roytrakul, S, & Manochantr,S. (2019). Human serum enhances the proliferative capacity and immunomodulatory property of MSCs derived from human placenta and umbilical cord. *Stem Cell Res. Ther.* .

- The Lancet Editors Retraction—Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): Initial results of a randomised phase 1 trial. (2019). *Lancet*.
- Theocharis AD, S. S. (2016, February 1). "Extracellular matrix structure". *Advanced Drug Delivery Reviews*, pp. 4-27. doi:doi.org/10.1016/j.addr.2015.11.00
- Thesleff, I. (2014). Current understanding of the process of tooth formation: Transfer from the laboratory to the clinic. . *Aust. Dent. J*, 48–54.
- Thirumala, S., Goebel, W., & Woods, E. (2009). Clinical grade adult stem cell banking.
- Tianxia Lan, Min Luo, & Xiawei Wei. (2021). Mesenchymal stem/stromal cells in cancer therapy. *Journal of Hematology & Oncology*.
- Till, E. J., & McCulloch, A. E. (1961, February). Radiation Research. *A Direct Measurement of the Radiation Sensitivity of Normal Mouse Bone Marrow Cells*, 14, 213-222. doi:https://www.jstor.org/stable/3570892
- Tondreau T, M. N. (2005, Sep 23). Mesenchymal stem cells derived from CD133-positive cells in mobilized peripheral blood and cord blood: proliferation, Oct4 expression, and plasticity. *Stem Cells*, σσ. 1105–1112. doi: doi: 10.1634/stemcells.2004-0330.
- Tong C. K., V. S. (2011). Generation of mesenchymal stem cell from human umbilical cord tissue using a combination enzymatic and mechanical disassociation method. *Cell Biology International*. , 221–226. doi:doi: 10.1042/CBI20100326
- Tong CK, V. S. (2013, January 02). Generation of mesenchymal stem cell from human umbilical cord tissue using a combination enzymatic and mechanical disassociation method. *Cell Biol Int*, pp. 221–226. doi:https://doi.org/10.1042/CBI20100326
- Traktuev D.O., M.-C. S. (2008). A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ. Res.* , 77-85.
- Trayhurn P., W. I. (2005). Signalling Role of Adipose Tissue: Adipokines and Inflammation in Obesity. *Biochem. Soc. Trans*, 1078–1081.
- Trohatou , O., Anagnou, N. P., & Roubelakis, M. G. (2013). Human Amniotic Fluid Stem Cells as an Attractive Tool for Clinical Applications. *Current Stem Cell Research & Therapy*.
- Trusolino L., C. P. (2018). Boswellia frereana suppresses HGF-mediated breast cancer cell invasion and migration through inhibition of c-Met signalling. *J. Transl. Med*.
- Ullah,, I., Subbarao,, R. B., & Rho, G. J. (2015). Human mesenchymal stem cells - current trends and future prospective. *BIOSCIENCE REPORTS*.
- Urbanek K., T. D. (2005). Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 8692–8697.

- van Dalen S. C. M., B. A. (2019, May 27). IL-1 β -Mediated activation of adipose-derived mesenchymal stromal cells results in pmn reallocation and enhanced phagocytosis: A possible mechanism for the reduction of osteoarthritis pathology. *Front. Immunol.* doi:doi: 10.3389/fimmu.2019.01075. eCollection 2019
- van den Akker F, V. K. (2018). Suppression of T cells by mesenchymal and cardiac progenitor cells is partly mediated via extracellular vesicles. *Heliyon*.
- Vanhoutte D., S. M. (2006). Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: A temporal and spatial window. . *Cardiovasc. Res*, 604–613.
- Varela N, A. A. (2015). Mitotic Inheritance of mRNA Facilitates Translational Activation of the Osteogenic-Lineage Commitment Factor Runx2 in Progeny of Osteoblastic Cells. *Journal of cellular physiology* .
- Vasandan, A., Jahnavi, S., & Shashank, C. (2016). Human Mesenchymal stem cells program macrophage plasticity by altering their metabolic status via a PGE2-dependent mechanism. *SCIENT REPORTS*.
- Verdecchia Paolo, C. C. (2020). The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. *European Journal of Internal Medicine*, 14-20. doi:10.1016/j.ejim.2020.04.037
- Vincent L.G., C. Y.-L. (2013, April 8). Mesenchymal stem cell durotaxis depends on substrate stiffness gradient strength. *Biotech. J.*, pp. 472–484. doi:doi: 10.1002/biot.201200205.
- Vincent L.G., C. Y.-L. (2013). Mesenchymal stem cell durotaxis depends on substrate stiffness gradient strength. *Biotech. J.*, pp. 472–484. doi:doi: 10.1002/biot.201200205.
- Viswanathan S., S. Y. (2019, Oct; 21). Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT (R)) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature. *Cytotherapy*, 1019–1024. doi:doi: 10.1016/j.jcyt.2019.08.002.
- Vodyanik M. A., Y. J. (2010, Dec 3). A mesoderm-derived precursor for mesenchymal stem and endothelial cells. *Cell Stem Cell* 7, 718–729. doi:doi: 10.1016/j.stem.2010.11.011.
- Wagner W, W. F. (2005, Nov). Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Exp Hematol.*, σσ. 1402–1416. doi:doi: 10.1016/j.exphem.2005.07.003.
- Wagner W, W. F. (2005, Nov). Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Exp Hematol.*, 1402–1416. doi:doi: 10.1016/j.exphem

- Wagner W, W. F. (2005, Nov;). Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Exp Hematol*, pp. 1402–1416. doi: doi: 10.1016/j.exphem.2005.07.003.
- Wakabayashi K., N. A. (2010). Transplantation of human mesenchymal stem cells promotes functional improvement and increased expression of neurotrophic factors in a rat focal cerebral ischemia model. *J. Neurosci. Res.*, 1017–1025. doi:doi: 10.1002/jnr.22279
- Wakimoto H., I. K. (2002, Mar). ., The complement response against an oncolytic virus is species-specific in its activation pathways. *Mol. Ther*, 275–282. doi: doi: 10.1006/mthe.2002.0547.
- Wang H. S., H. S. (2004). Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells*, 1330–1337. doi:doi: 10.1634/stemcells.2004-0013.
- Wang H., Y. Y. (2013, Mar 24). Hepatocyte growth factor gene-modified mesenchymal stem cells reduce radiation-induced lung injury. *Hum. Gene Ther.*, σσ. 343-353. doi:doi: 10.1089/hum.2012.177.
- Wang HS, H. S. (2004). Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells*, pp. 1330–1337. doi:doi: 10.1634/stemcells.2004-0013.
- Wang J., W. X. (2010). Stem cells from human-exfoliated deciduous teeth can differentiate into dopaminergic neuron-like cells. *Stem Cells Dev.*, 1375-1383.
- Wang S., M. M. (2018). Platelet-derived growth factor receptor beta identifies mesenchymal stem cells with enhanced engraftment to tissue injury and pro-angiogenic property. *Cell. Mol. Life Sci.*, pp. 547–561. doi:doi: 10.1007/s00018-017-2641-7
- Wang X., Z. L. (2015). Concomitant Retrograde Coronary Venous Infusion of Basic Fibroblast Growth Factor Enhances Engraftment and Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells for Cardiac Repair after Myocardial Infarction. *Theranostics*, 995-1006.
- Wang Y., C. X. (2014, Nov 15). Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: Pathological and therapeutic implications. *Nat. Immunol*, 1009-1016. doi: doi: 10.1038/ni.3002.
- Wang ZH, L. X. (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 = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica* , 279–286.
- Wei F, W. T. (2011). The subpopulation of mesenchymal stem cells that differentiate toward cardiomyocytes is cardiac progenitor cells. *Exp Cell Res*, 2661–2670.

- Wei Jing, J. X. (2010, October 14). Explant Culture: An Efficient Method to Isolate Adipose-Derived Stromal Cells for Tissue Engineering. *Artificial Organs*, pp. 1525-1594. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2010.01054.x>
- Wei Z, Q. S. (2019). miRNA-181a over-expression in mesenchymal stem cell-derived exosomes influenced inflammatory response after myocardial ischemia-reperfusion injury. *Life Sci*.
- Weinzierl K, H. A. (2006, Dec; 8). Bone engineering with adipose tissue derived stromal cells. *J Craniomaxillofac Surg*, pp. 466–471. doi:doi: 10.1016/j.jcms.2006.07.860.
- Weiping Lin, L. X. (2019). Characterisation of multipotent stem cells from human peripheral blood using an improved protocol. *Journal of Orthopaedic Translation*, 18-28. doi:10.1016/j.jot.2019.02.003
- Wijerathne H., L. J. (2021, May;). Mechanisms of radiation-induced endothelium damage: Emerging models and technologies. *Radiother. Oncol*, σσ. 21-32. doi: doi: 10.1016/j.radonc.2021.02.007.
- Wilson J. G., L. K.-K. (2015). Mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of ARDS: A phase 1 clinical trial. *Lancet Respir. Med*, 24–32 . doi:doi: 10.1016/S2213-2600 (14)70291-7. Epub 2014 Dec 17.
- Wilson JG, L. K.-W. (2015). Mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of ARDS: a phase 1 clinical trial. *Lancet Respir Med.*, 24-32. doi:2015;3 (1):24–32. doi: 10.1016/S2213-2600 (14)70291-7
- Wu J, e. a. (2020). Phase 1 trial for treatment of COVID-19 patients with pulmonary fibrosis using hESC-IMRCs. *Cell Prolif*.
- Wu J., B. P. (2012). Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *CELL*, 366–376.
- Wu X., J. J. (2020). Mesenchymal stromal cell therapies: immunomodulatory properties and clinical progress. *Stem Cell Res Ther*.
- Xiao Yi , Feng Chen , Fenghua Liu , Qing Peng , Yang Li , & Shao Li . (2020). Comparative separation methods and biological characteristics of human placental and umbilical cord mesenchymal stem cells in serum-free culture conditions. *Stem Cell Res Ther*.
- Xiao Yi,, Feng Chen, Fenghua Liu, Qing Peng, & Yang Li. (2020). Comparative separation methods and biological characteristics of human placental and umbilical cord mesenchymal stem cells in serum-free culture conditions. *Stem Cell Research & Theapy*. .
- Xiao Z., T. F. (2018). Significant Improvement of Acute Complete Spinal Cord Injury Patients Diagnosed by a Combined Criteria Implanted with NeuroRegen Scaffolds and Mesenchymal Stem Cells. *Cell Transpl*, 907–915.

- Xiaorong Fu 1, G. L. (χ.χ.). Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells*, 2019. doi: doi: 10.3390/cells8080784.
- Xiaorong Fu, G. L. (2019). Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells Review*. doi: DOI: 10.3390/cells8080784
- Xiaorong Fu, G. L. (2019). Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells*. doi: DOI: 10.3390/cells8080784
- Xinaris C., M. M. (2013). A novel strategy to enhance mesenchymal stem cell migration capacity and promote tissue repair in an injury specific fashion. *Cell Transplant*, 423–436. doi: doi: 10.3727/096368912X653246
- Xinaris C., M. M. (2013). A novel strategy to enhance mesenchymal stem cell migration capacity and promote tissue repair in an injury specific fashion. *Cell Transplant*, 423–436. doi:doi: 10.3727/096368912X653246.
- Xu R, Z. F. (2019). Exosomes derived from pro-inflammatory bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduce inflammation and myocardial injury via mediating macrophage polarization. . *J Cell Mol Med*. .
- Xu S.T., Z. F. (2015). The downregulation of OPN inhibits proliferation and migration and regulate activation of Erk1/2 in ECA-109 cells. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 5361–5369.
- Xu Z, e. a. (2020). Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir. Med.*, 420–422. doi:doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
- Xue J., L. X. (2013, Feb; 21). Gene-modified mesenchymal stem cells protect against radiation-induced lung injury. *Mol. Ther.*, σσ. 456–465. doi:doi: 10.1038/mt.2012.183.
- Y, S. (2011). Neuronal signaling in central nervous system. *Sheng Li Xue Bao*.
- Yamada Y, S. K. (2007). Single-cell-derived mesenchymal stem cells overexpressing Csx/Nkx2.5 and GATA4 undergo the stochastic cardiomyogenic fate and behave like transient amplifying cells. . *Exp Cell Res*, 698-706.
- Yamazaki Y., M. T. (2006). Molecular and functional diversity of vascular endothelial growth factors. *Mol. Divers.*, 515–527. . doi:doi: 10.1007/s11030-006-9027-3
- Yang L., S. M. (2008). Human cardiovascular progenitor cells develop from a KDR+ embryonic-stem-cell-derived population. . *Nature.*, 524–528.
- Yang W.K., H. S. (2013). Tumor necrosis factor- α -activated mesenchymal stem cells promote endothelial progenitor cell homing and angiogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.*, :2136–2144.

- Yang W.K., H. S. (2013). Tumor necrosis factor- α -activated mesenchymal stem cells promote endothelial progenitor cell homing and angiogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.*, 2136–2144.
- Yang Y., C. H. (2016). LL-37 stimulates the functions of adipose-derived stromal/stem cells via early growth response 1 and the MAPK pathway. *Stem Cell Res. Ther.* doi:doi: 10.1186/s13287-016-0313-4.
- Yin J. Q., Z. J. (2019, Feb; 3). Manufacturing of primed mesenchymal stromal cells for therapy. *Nat. Biomed. Eng.*, 90–104. doi:doi: 10.1038/s41551-018-0325-8.
- Yin J. Q., Z. J. (2019, Feb 3). Manufacturing of primed mesenchymal stromal cells for therapy. *Nat. Biomed. Eng.*, 90–104. doi:doi: 10.1038/s41551-018-0325-8. Epub 2019 Jan 28.
- Yoo S.W., C. D. (2013). Immune following suppression mesenchymal stem cell transplantation in the ischemic brain is mediated by TGF- β . *Neurobiol. Dis.*, 249–257. doi:doi: 10.1016/j.nbd.2013.06.001
- Yoo S.W., C. D. (2013). Immune following suppression mesenchymal stem cell transplantation in the ischemic brain is mediated by TGF- β . *Neurobiol. Dis.*, 249–257. doi:doi: 10.1016/j.nbd.2013.06.001
- Yoon J. H., R. E. (2013). Comparison of explant-derived and enzymatic digestion-derived MSCs and the growth factors from Wharton's jelly. *BioMed Research International*. doi: doi: 10.1155/2013/428726.428726
- Yoon S.H., S. Y. (2007). Complete spinal cord injury treatment using autologous bone marrow cell transplantation and bone marrow stimulation with granulocyte macrophage-colony stimulating factor: Phase I/II clinical trial. *Stem Cells*. .
- Yoon S.H., S. Y. (2007). Complete spinal cord injury treatment using autologous bone marrow cell transplantation and bone marrow stimulation with granulocyte macrophage-colony stimulating factor: Phase I/II clinical trial. *Stem Cells.*, 2066–2073.
- Yu WH, L. F. (2012). PPAR γ suppression inhibits adipogenesis but does not promote osteogenesis of human mesenchymal stem cells. *The international journal of biochemistry & cell biology.* , 377–384.
- Yuan L., S. N. (2012). Migration of human mesenchymal stem cells under low shear stress mediated by mitogen-activated protein kinase signaling. *Stem Cells Dev.*, pp. 2520–2530. doi:doi: 10.1089/scd.2012.0010.
- Yuan L., S. N. (2013). Low-level shear stress induces human mesenchymal stem cell migration through the SDF-1/CXCR4 axis via MAPK signaling pathways. *Stem Cells Dev.*, pp. 2384–2393. doi:doi: 10.1089/scd.2012.0717

- Yu-Yan Xiong, Z.-T. G.-J.-J. (2021). The pivotal roles of exosomes derived from endogenous immune cells and exogenous stem cells in myocardial repair after acute myocardial infarction. *Theranostics*, 1046–1058.
- Yu-Yan Xiong, Z.-T. G.-J.-J. (2021). The pivotal roles of exosomes derived from endogenous immune cells and exogenous stem cells in myocardial repair after acute myocardial infarction. *Theranostics*.
- Zakrzewski, W. D. (2019, February). *Stem Cell Research & Therapy. Stem cells: past, present, and future.*
- Zakrzewski, W., Dobrzyński, M, & Szymonowicz, M. (2019). Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Research & Therapy.*
- Zhang B., L. Q. (2015). Cyclic mechanical stretching promotes migration but inhibits invasion of rat bone marrow stromal cells. *Stem Cell Res.*, pp. 155–164. doi:doi: 10.1016/j.scr.2015.01.001
- Zhang C., Z. Y. (2019, Feb 5). CXCR4-Overexpressing Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Enhance Protection against Radiation-Induced Lung Injury. *Stem Cells Int.* doi:doi: 10.1155/2019/2457082
- Zhang C., Z. Y. (2019). CXCR4-Overexpressing umbilical cord mesenchymal stem cells enhance protection against radiation-induced lung injury. *Stem Cells Int.* doi:10.1155/2019/2457082
- Zhang C., Z. Y. (2019, Feb 5). CXCR4-Overexpressing umbilical cord mesenchymal stem cells enhance protection against radiation-induced lung injury. *Stem Cells Int.* doi:doi: 10.1155/2019/2457082
- Zhang HH, H. J. (2009). Insulin stimulates adipogenesis through the Akt-TSC2-mTORC1 pathway. *PloS one.*
- Zhang P, J. S. (2003). Regulation of human COL9A1 gene expression. Activation of the proximal promoter region by SOX9. *J Biol Chem*, 117–123.
- Zhang S.J., S. X. (2016). Effect of TGF- β 1/SDF-1/CXCR4 signal on BM-MSCs homing in rat heart of ischemia/perfusion injury. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*, 899–905.
- Zhang S.J., S. X. (2016). Effect of TGF- β 1/SDF-1/CXCR4 signal on BM-MSCs homing in rat heart of ischemia/perfusion injury. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*, 899–905.
- Zhang S.J., S. X. (2016). Effect of TGF- β 1/SDF-1/CXCR4 signal on BM-MSCs homing in rat heart of ischemia/perfusion injury. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, pp. 899–905. .
- Zhang S-J, S. X.-Y.-B. (2017). Effect of TGF- β 1/SDF-1/CXCR4 signal on BM-MSCs homing in rat heart of ischemia/perfusion injury. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, σσ. 899-905.
- Zhang Y., C. N. (2016). Expandable cardiovascular progenitor cells reprogrammed from fibroblasts. *Cell Stem Cell*, 368–381.

- Zhang Y., P. R. (1994). Positional Cloning of the Mouse Obese Gene and its Human Homologue. . *Nature*, 425-432.
- Zhao , K., & Liu, Q. (2016). The clinical application of mesenchymal stromal cells in hematopoietic stem cell transplantation. *Hematol Oncol*.
- Zhao , Q., Zhang, L., & Wei , Y. (2019). Systematic comparison of hUC-MSCs at various passages reveals the variations of signatures and therapeutic effect on acute graft-versus-host disease. *Stem Cell Res Ther*.
- Zhao J, L. X. (2019). Mesenchymal stromal cell-derived exosomes attenuate myocardial ischaemia-reperfusion injury through miR-182-regulated macrophage polarization. *Cardiovasc Res* , 205–216.
- Zhao Q, Y. S. (2015). TNF alpha inhibits myogenic differentiation of C2C12 cells through NF-kappaB activation and impairment of IGF-1 signaling pathway. *Biochemical and biophysical research communications*., 790-795.
- Zhao Z, Z. M. (2005). Gene transfer of the Runx2 transcription factor enhances osteogenic activity of bone marrow stromal cells in vitro and in vivo. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* . , 247–253.
- Zhao, L., , Chen, S., Yang, P., Cao, H., , & Li, L. (2019). The role of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation: prevention and treatment of graft-versus-host disease. *Stem Cells Res*. doi:doi: 10.1186/s13287-019-1287-9
- Zheng B., W. C. (2013). Neural differentiation of mesenchymal stem cells influences chemotactic responses to HGF. *J. Cell. Physiol.*, pp. 149–162. doi:doi: 10.1002/jcp.24114
- Zheng Ying-Ying, M. Y.-T.-Y. (2020). «COVID-19 and the cardiovascular system». *Nature Reviews. Cardiology: 1–2*. doi:10.1038/s41569-020-0360-5
- Zhou S.B., C. C. (2014). Intravenous transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells could effectively promote vascularization and skin regeneration in mechanically stretched skin. *Br. J. Dermatol.*, pp. 1278–1285. doi:doi: 10.1111/bjd.13251.
- Zhou S.B., W. J. (2013). Mechanical stretch upregulates SDF-1 α in skin tissue and induces migration of circulating bone marrow-derived stem cells into the expanded skin. *Stem Cells*., pp. 2703–2713. doi:doi: 10.1002/stem.1479
- Zhou Y, Y. Y. (2019). The Immunomodulatory Functions of Mesenchymal Stromal/Stem Cells Mediated via Paracrine Activity. *J. Clin. Med*. doi:doi: 10.3390/jcm8071025.
- Zhou, Q. (2017, April 2). Explant culture: An advantageous method for isolation of mesenchymal stem cells from human tissues. pp. 1365-2184. doi: <https://doi.org/10.1111/cpr.12334>

- Zhou, T., Yuan, Z., & Weng, J. (2021). Challenges and advances in clinical applications of mesenchymal stromal cells. *Journal of Hematology & Oncology*.
- Zhu A., K. N. (2016). MiR-221 and miR-26b regulate chemotactic migration of MSCs toward HGF through activation of Akt and FAK. *J. Cell. Biochem*, 1370–1383. doi:doi: 10.1002/jcb.25428
- Zhu Y, L. T. (2008, Aug 26). Adipose-derived stem cell: A better stem cell than BMSC. *Cell Biochem Funct*, pp. 664–675. doi:doi: 10.1002/cbf.1488.
- Zhuang H, Z. X. (2015). Molecular Mechanisms of PPAR-gamma Governing MSC Osteogenic and Adipogenic Differentiation. . *Current stem cell research & therapy* .
- Ziaei M, Z. J. (2017, Nov-Dec;62). Umbilical cord stem cells in the treatment of corneal disease. *Surv Ophthalmol*, 803-815. doi:doi: 10.1016/j.survophthal.2017.02.002.
- Zou C., L. Q. (2013). Osteopontin promotes mesenchymal stem cell migration and lessens cell stiffness via integrin beta 1, FAK, and ERK pathways. *Cell Biochem. Biophys.*, 455-462. doi:doi: 10.1007/s12013-012-9449-8.
- Zou C., S. G. (2011). Mesenchymal stem cells require integrin β 1 for directed migration induced by osteopontin in vitro. *Vitr. Cell. Dev. Biol. Anim*, 241–250. doi:doi: 10.1007/s11626-010-9377-0.
- Zuk PA, Z. M. (2001). Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*.
- Zuk PA, Z. M. (2001). *Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies*.
- Zuk PA, Z. M. (2001, Apr 7). Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*, pp. 211-228. doi:doi: 10.1089/107632701300062859.
- Zuk PA, Z. M. (2002, Dec 13). Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell*, $\sigma\sigma$. 4279–4295. doi:doi: 10.1091/mbc.e02-02-0105.
- Zvaifler NJ, M.-M. L. (2000). Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res Ther*.

Πίνακας Περιεχομένων Πινάκων

Πίνακας 1. Προϊόντα MSC που έχουν λάβει ρυθμιστική έγκριση.....	64
---	----