



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Programa de Magister en Bioquímica y Bioinformática

**ANÁLISIS DEL PERFIL METABOLÓMICO Y DE LOS MICRO ARN DE  
NANOVESÍCULAS EXTRACELULARES PEQUEÑAS DERIVADAS DE  
CÉLULAS MADRE/ESTROMALES MESENQUIMALES TRATADAS  
CON OLIGOMICINA**

Tesis para optar al grado de Magister en Bioquímica y Bioinformática

RAUL ALEJANDRO LAGOS AILLON  
CONCEPCIÓN-CHILE  
2024

Profesor Guía: Dr. Roberto Elizondo Vega  
Departamento de Biología celular,  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

Profesor Co-Guía: Dr. Andy Pérez de Armas  
Departamento de Análisis Instrumental,  
Facultad de Química y Farmacia  
Universidad de Concepción

## RESUMEN

La osteoartritis (OA), es un trastorno articular caracterizado por la pérdida de cartílago hialino, alteraciones óseas e inflamación sinovial (IS), lo que conduce a dolor crónico y discapacidad progresiva. Las terapias celulares basadas en células madre/estromales mesenquimales (MSC) destacan por su capacidad para promover la regeneración del cartílago y reducir la IS. Antecedentes de nuestro equipo de investigación han explorado el impacto de la inducción de un metabolismo glucolítico mediante oligomicina (OLG) en las MSC, y sobre las vesículas extracelulares pequeñas derivadas (sEV) de MSC, en sus propiedades inmunomoduladoras y regenerativas. Datos no publicados indican que sEV de MSC pre-tratadas con OLG promueven el desarrollo de nuevo cartílago y reducen la inflamación en modelos de OA murinos. Para profundizar en los posibles mecanismos asociados a los efectos funcionales de las sEV, hemos decidido determinar el contenido del metaboloma, lipidoma y miRNA de las sEV derivadas de MSC de cordón umbilical (MSC-UC), y analizar su asociación con propiedades condroprotectoras y anti-inflamatorias. Mediante un análisis de secuenciación dirigida, identificamos un aumento significativo en la expresión de 178 miRNA bajo el tratamiento con OLG en sEV derivadas de MSC-UC. Diversos genes blanco de estos miRNA se encuentran asociados a la vía de señalización de TGF- $\beta$ , la vía de señalización de p53, así como a genes que potenciarían cambios metabólicos. Los análisis metabolómicos a través de espectrometría de masa revelaron la presencia de metabolitos polares como estreptomina y apolares como prostaglandina D, ácidos grasos y ácido palmítico. Finalmente, un análisis detallado del contenido de estos miRNA, nos permiten establecer una asociación entre el uso de sEV derivados de MSC-UC glucolíticas con sus efectos regenerativos y anti-inflamatorios. Este estudio contribuye a la profundización de los mecanismos asociados a la funcionalidad de las terapias basadas en sEV en el tratamiento de la OA.

## ABSTRACT

Osteoarthritis (OA) is a joint disorder characterized by loss of hyaline cartilage, bone changes, and synovial inflammation (SI), resulting in chronic pain and progressive disability. The cell-based therapies based on mesenchymal stem/stromal cells (MSC) are remarkable for their ability to stimulate cartilage regeneration and decrease SI. Previous studies conducted by our research team have examined the effects of oligomycin (OLG)-induced glucose metabolism on MSC as well as the small extracellular vesicles (sEV) derived from MSC in their immunomodulatory and regenerative properties. Unpublished data show that MSC sEV pre-treated with OLG promotes the development of new cartilage and decreases inflammation in murine OA models. To dig deeper into the potential mechanisms linked to the functional effects of sEV, we have decided to determine the metabolome, lipidome and miRNA content sEV derived from MSC derived from umbilical cord (MSC-UC) and examine their relationship with chondroprotective and anti-inflammatory properties. Through directed sequencing analysis, we found a significant increase expression in 178 miRNA after OLG treatment in sEV derived from MSC-UC. Some target genes of these miRNAs are linked to the TGF- $\beta$  and p53 signaling pathways, as well as genes that could potentially promote metabolic changes. Mass spectrometry-based metabolomic analyses identified the existence of nonpolar metabolites such prostaglandin D, fatty acids, and palmitic acid, as well as polar metabolites like streptomycin. Finally, an extensive examination of these miRNA's content allows us to establish a connection between the use of sEV derived from MSC-UC glycolytic and their anti-inflammatory and regenerative effects. This study advances our understanding of the mechanisms behind the efficacy of sEV-based therapies for the treatment of OA.