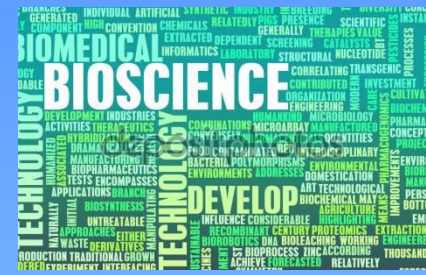




# ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤ' ΕΞΑΜΗΝΟΥ

Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων  
Τ.Ε.Ι. Αθήνας



*Μάθημα 3<sup>ο</sup>*

Γονιδιακή θεραπεία- βλαστοκύτταρα

**Διδάσκων**

**Δρ. Ιωάννης Δρίκος**

Απόφοιτος Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων (ΠΙ)

Απόφοιτος Βιολογίας, ΑΠΘ

Διδάκτωρ Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ)

Ειδ. Παιδιατρικής

email: johndrikos@yahoo.com



# ΟΡΙΣΜΟΣ Ι

**ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ:** Η θεραπεία μιας ασθένειας είτε αντικαθιστώντας τα εκάστοτε υπεύθυνα μεταλλαγμένα γονίδια με τα φυσιολογικά, είτε παρέχοντας νέες γενετικές πληροφορίες οι οποίες υποβοηθούν στην καταπολέμηση της ασθένειας. Τα θεραπευτικά γονίδια (διαγονίδια) μεταφέρονται στα κύτταρα του ασθενούς είτε μέσω αδρανοποιημένων ιών, είτε μέσω μη ιικών φορέων, είτε με μεταφορά «γυμνού» DNA.

(source: [www.asgt.org/press\\_releases/terminology.html](http://www.asgt.org/press_releases/terminology.html))

Ο αριθμός κλινικών μελετών που βασίζονται στην γονιδιακή θεραπεία είναι συνεχώς αυξανόμενος και περιλαμβάνει πάνω από **636** ολοκληρωμένες, ή τρέχουσες κλινικές μελέτες.

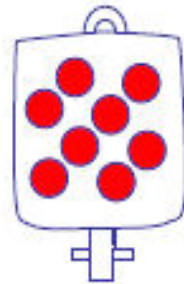
(source: [www.wiley.co.uk/genmed/clinical/](http://www.wiley.co.uk/genmed/clinical/))

# ΓΕΝΙΚΟ ΣΧΗΜΑ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

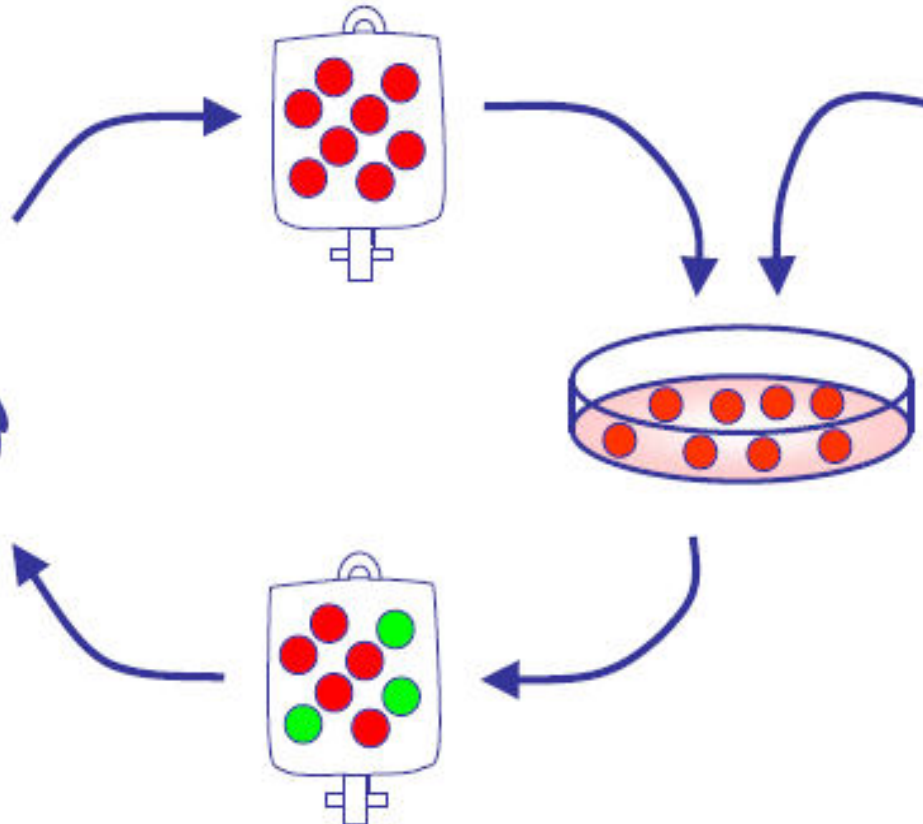
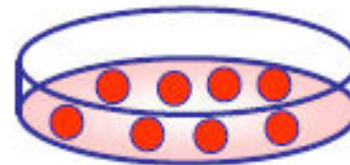
ΑΣΘΕΝΗΣ

ΑΡΧΕΓΟΝΑ  
ΚΥΤΤΑΡΑ

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΣ  
ΓΟΝΙΔΙΑΚΟΣ  
ΦΟΡΕΑΣ



Φορέας



**Η γονιδιακή θεραπεία έχει ως στόχο να διορθώσει τα ελαττωματικά γονίδια** που είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση μιας γενετικής διαταραχής ακολουθώντας μία από τις ακόλουθες προσεγγίσεις:

- Ένα φυσιολογικό γονίδιο μπορεί εισαχθεί σε μια μη ειδική περιοχή εντός του γονιδιώματος για να αντικαταστήσει ένα μη δραστικό γονίδιο.
- Ένα παθολογικό γονίδιο μπορεί να αντικατασταθεί με ένα κανονικό γονίδιο μέσω της διαδικασίας του ομόλογου ανασυνδυασμού.
- Ένα παθολογικό γονίδιο μπορεί να επισκευαστεί μέσω επιλεκτικής ανάστροφης μετάλλαξης.
- Ο βαθμός στον οποίο ένα γονίδιο ενεργοποιείται ή απενεργοποιείται μπορεί να τροποποιηθεί.

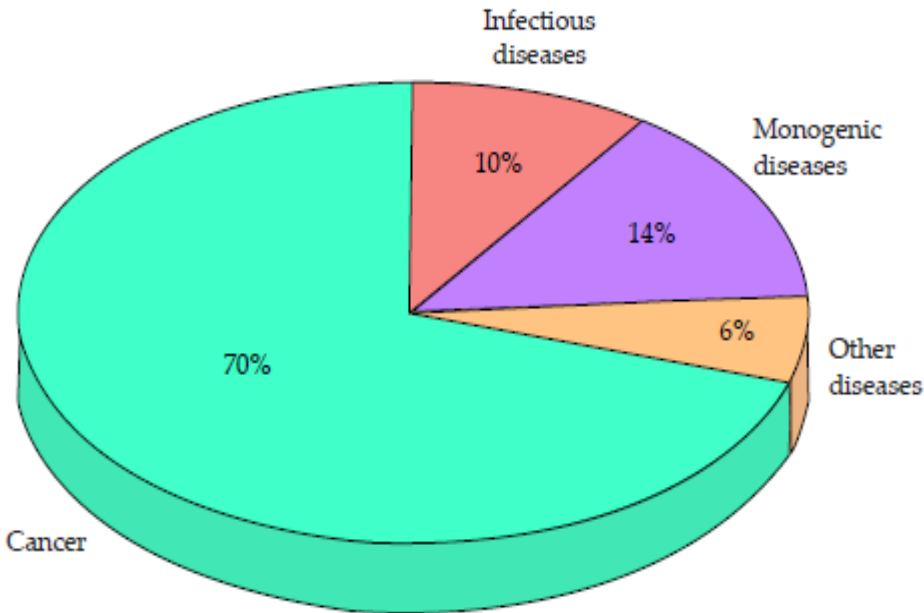


Fig. 1 : Proportion of protocol for human gene therapy trials relating to various types of diseases<sup>52</sup>

✓ Η πλειονότητα των διαδικασιών γονιδιακής θεραπείας διεξάγονται στις Ηνωμένες Πολιτείες και την Ευρώπη, με μόνο ένα μικρό αριθμό να πραγματοποιείται σε άλλες χώρες, συμπεριλαμβανομένης της Αυστραλίας.

✓ Αντικείμενο αυτής της προσέγγισης είναι η ευρεία σε δυνατότητες θεραπεία ασθενειών που προκαλούνται από ένα απλό γονίδιο και κληρονομούνται με υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας (όπως η κυστική ίνωση, η αιμοφιλία, η μυϊκή δυστροφία, η δρεπανοκυτταρική αναιμία κλπ), γενετικές ασθένειες όπως ο καρκίνος και ορισμένες ιικές μολύνσεις όπως το AIDS.

# Ιστορική αναδρομή

- ✓ Πριν απο χιλιάδες χρόνια όπου ο άνθρωπος ξεκίνησε να ασχολείται με την φυτική και ζωική παραγωγή, **οι άνθρωποι έχουν καταλάβει ότι τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα των γονέων θα μπορούσαν να μεταδοθούν στους απόγονος.**
- ✓ Ένας βασικό επίτευγμα ήρθε **στις αρχές της δεκαετίας του 1970, όταν οι ερευνητές ανακάλυψαν μια σειρά ενζύμων, τα ένζυμα περιορισμού που κόβουν τα γονίδια σε προκαθορισμένη θέση και μπορούν να ενσωματώνονται σε καθορισμένες θέσεις.**
- ✓ **Λίγα χρόνια μετά την απομόνωση των γονιδίων από το DNA, ανακαλύφθηκε η γονιδιακή θεραπεία το 1980.**

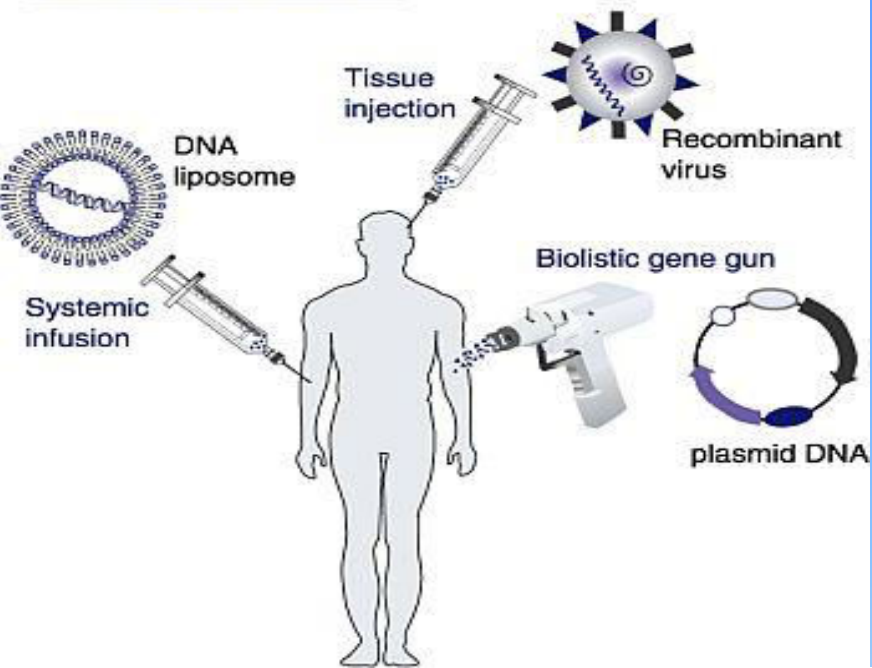
# Τύποι γονιδιακής θεραπείας

## Γονιδιακή Θεραπεία

Στην περίπτωση που τα θεραπευτικά γονίδια μεταφέρονται μέσα στα σωματικά κύτταρα του ασθενή η γονιδιακή θεραπεία διακρίνεται σε In vivo gene therapy (αν τα κύτταρα τροποποιούνται εντός του οργανισμού ή Ex-vivo gene therapy (αν τροποποιούνται εκτός του οργανισμού και εισάγονται πάλι σε αυτόν).

Γονιδιακή θεραπεία που αφορά τα γαμετικά κύτταρα - τα γεννητικά κύτταρα (σπέρμα ή αυγό) τροποποιούνται από την εισαγωγή λειτουργικών γονιδίων, τα οποία είναι ενσωματωμένα στο γονιδίωμά τους.

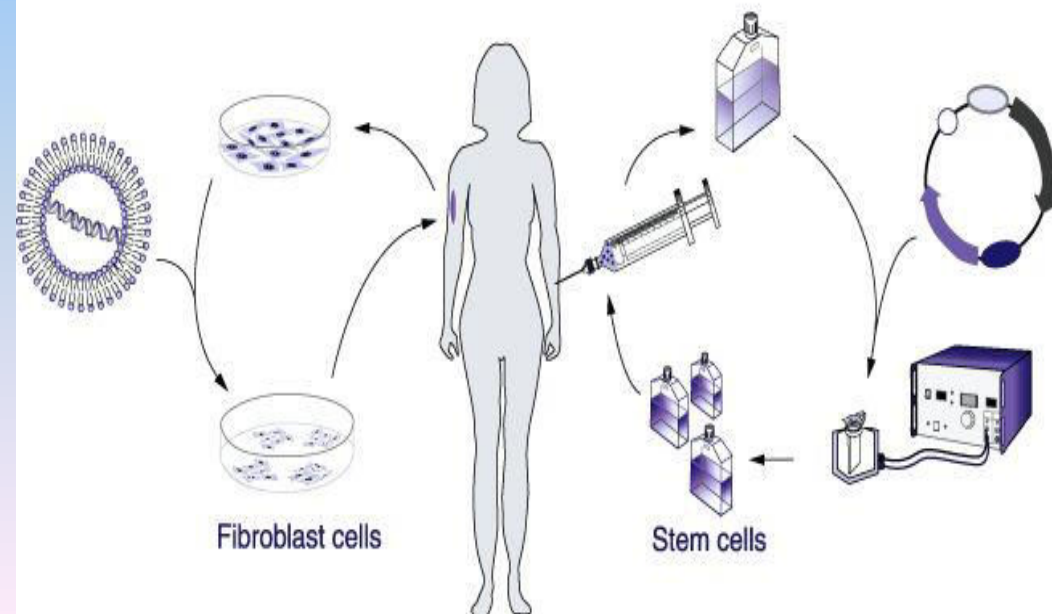
## In Vivo Gene Therapy



- ✓ Τα φυσιολογικά γονίδια κλωνοποιημένα στον ειδικό φορέα.
- ✓ Τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια εισάγονται στα κυτταρα στόχους.
- ✓ Τα γενετικά τροποποιημένα κύτταρα επανεγχύονται στον ασθενή (η τροποποιούνται in vivo) για την παραγωγή πρωτεϊνών που απαιτούνται για την καταπολέμηση της νόσου.

**Οι διαδικασίες χρησιμοποιούνται για ασθένειες που κληρονομούνται με υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.**

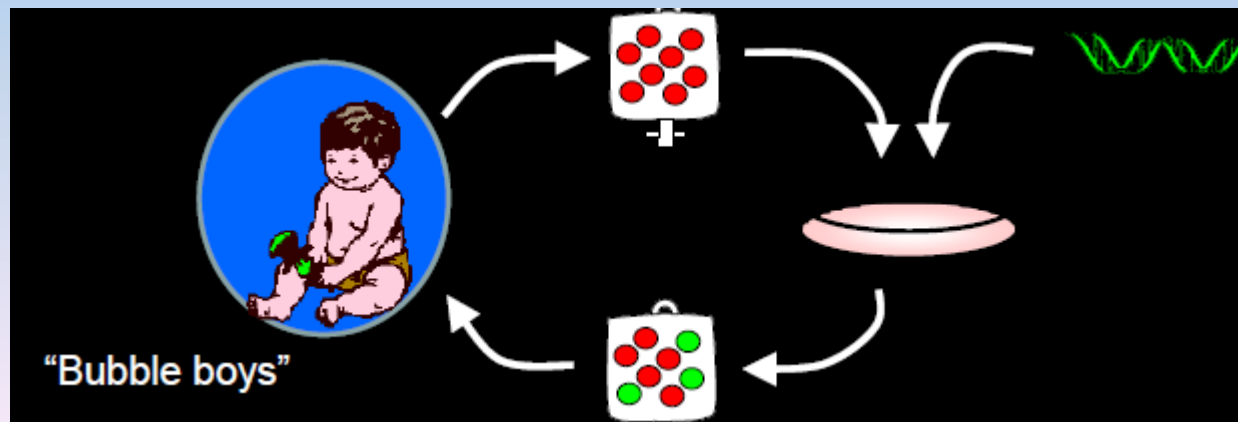
## Ex Vivo Gene Therapy



# Σύγκριση in vivo και ex vivo γονδιακής θεραπείας

Στην ex vivo θεραπεία τα κύτταρα είναι εύκολα προσβάσιμα (hematopoietic stem cells, λεμφοκύτταρα, κερατινοκύτταρα)

- ελεγχόμενη έκθεση στον ιικό φορέα
- λιγότερο πιθανή η φλεγμονώδης ή αυτόανοση αντίδραση



# Στοιχεία του φορέα μεταφοράς DNA

- ✓ Εύκολη παραγωγή σε υψηλούς τίτλους
- ✓ Μακροπρόθεσμη ή/και ρυθμιζόμενη έκφραση
- ✓ Ανοσολογική αδράνεια
- ✓ Ιστική στόχευση
- ✓ Χωρίς περιορισμούς στο μέγεθος του γονιδίου που φιλοξενεί
- ✓ Ενσωμάτωση σε συγκεκριμένη θέση στο γονιδίωμα
- ✓ Διαμόλυνση διαιρούμενων και μη κυττάρων
- ✓ Ασφαλής

## ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΟΡΕΩΝ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

- **Ανασυνδυασμένοι ιοί:**

- ➔ - Retrovirus (ex. MuLV, HIV), Ρετροϊοί
- ➔ - Adenovirus, Αδενοϊοί
  - Adeno-Associated virus, Σχετιζόμενοι με Αδενοϊούς Ιοί
  - Herpes virus, Ερπητοϊοί
  - Vaccinia virus, Ιοί Vaccinia
  - άλλοι

- **Μη ιικοί φορείς:**

- ➔ - Λιποσώματα (DNA + λιπίδια)
- “γυμνό” DNA

# Μη ιϊκοί φορείς γονιδιακής θεραπείας (1)

- ✓ Η απλούστερη μέθοδος μη-ιϊκής μεταφοράς γενετικού υλικού είναι η άμεση μεταφορά DNA.
- ✓ Μεταξύ των διαφόρων μη ιϊών διαδικασιών, οι διαδικασίες με την μεσολάβηση υποδοχέων κατέχουν ελπιδοφόρα θέση. Οι εφαρμογές αυτές περιλαμβάνουν τη χρήση DNA συζευγμένου με ειδικές πρωτεΐνες (ιϊκή δομική πρωτεΐνη) ή με λιποσώματα ή και τα δύο.
- ✓ Διάφορες άλλες χημικές μέθοδοι στηρίζονται στην χρήση συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων (για την απενεργοποίηση ελαττωματικών γονιδίων με τη χρήση siRNAs ειδικών για στην τόχευση γονιδίων), λιποσυμπλόκων (που αποτελούνται από φορτισμένα και ουδέτερα λιπίδια) και πολυσυμπλόκων (συμπλέγματα πολυμερών με DNA).

## Μη ιϊκοί φορείς γονιδιακής θεραπείας (2)

Το πλεονέκτημα της άμεσης μεταφοράς γενετικού υλικού στην μορφή ιϊκών φορέων ή συζευγμένων πρωτεϊνικών μορίων με DNA με χημικές, μηχανικές, ηλεκτρικές, μεθόδους περιλαμβάνει τη δυνατότητα μεταφοράς σχετικά μεγάλων θραυσμάτων DNA. Ωστόσο, αυτές οι διαδικασίες εξακολουθούν να έχουν σχετικά περιορισμένη αποτελεσματικότητα, περιορίζονται σε μεταφορά γονιδίου κυρίως με την μέθοδο ex-vivo και έχουν απροσδιόριστα μέχρι σήμερα κυτταροτοξικά αποτελέσματα.

# Νοσήματα στόχοι της γονιδιακής θεραπείας

## ΓΕΝΕΤΙΚΑ

- ανοσοανεπάρκειες
  - αιμοφιλία
  - κυστική ίνωση
- αιμοσφαιρινοπάθειες (μεσογειακή/δρεπανοκυτταρική αναιμία)
  - ν. Gaucher
- μεταβολικά νοσήματα
  - μυικές δυστροφίες

## ΕΠΙΚΤΗΤΑ

- καρκίνος
  - νευρολογικά ν. (Parkinson, Alzheimer)
- καρδιαγγειακά ν. (επαναστένωση, αρτηριοσκλήρυνση)
  - λοιμώδη ν. (AIDS)
- χρόνια ν. (ρευματοειδής αρθρίτις, οστεοαρθρίτις)

## ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΣΤΟΧΟΙ-ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

- ➔ Έλλειψη τρανσκαρβαμυλάσης της ορνιθίνης, Ornithine transcarbamylase (OTC) deficiency
- ➔ Φυλοσύνδετη σοβαρά συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια, X-linked severe combined immunodeficiency
- ➔ Αιμοροφιλία Β (έλλειψη παράγοντα ΙΧ), Hemophilia B (factor IX deficiency)
  - Κυστική Ίνωση, Cystic fibrosis
  - Χρόνια Κοκκιοματώδης νόσος, Chronic granulomatous disease
  - Αναιμία Fanconi, Fanconi anemia
- ➔ β-θαλασσαιμία και δρεπανοκυτταρική αναιμία, β-thalassemia and sickle cell disease

## ΑΙΜΟΦΙΛΙΑ Β (ΕΛΛΕΙΨΗ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΙΧ)

- Σπάνια (1/40,000), Φυλοσύνδετη υπολειπόμενη ασθένεια.
- Αδυναμία πήξης του αίματος.
- Έλλειψη/μετάλλαξη του γονιδίου του παράγοντα ΙΧ
- Τρέχουσες θεραπείες περιλαμβάνουν χορήγηση παράγοντα ΙΧ οι οποίες δεν είναι πολύ αποτελεσματικές εξαιτίας ανάπτυξης αντισωμάτων εναντίον του παράγοντα ΙΧ.

## ΕΛΛΕΙΨΗ ΟΤΣ

- Σπάνια, Φυλοσύνδετη υπολειπόμενη ασθένεια
- Προκαλεί μεταβολικές ανωμαλίες στον κύκλο της ουρίας (ήπαρ)
- Οφείλεται σε έλλειψη ή σε πολλαπλές μεταλλάξεις στο γονίδιο ΟΤΣ
- Έλλειψη του γονιδίου οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα ουρίας. Επιφέρει εγκεφαλικό οίδημα, κώμα, θάνατο
- Τρέχουσες θεραπείες περιλαμβάνουν σχετική δίαιτα, φάρμακα και αιμοκάθαρση η οποία είναι αποτελεσματική μόνο σε ήπια περιστατικά.

## ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΠΑΘΕΙΕΣ

- Πιο κοινή κατηγορία μονογονιδιακής ασθένειας στον κόσμο.
- Κληρονομικές αναιμίες που οφείλονται σε μεταλλάξεις οι οποίες επηρεάζουν είτε την παραγωγή (β-θαλασσαιμία) ή την δομή (δρεπανοκυτταρική αναιμία) της β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης.
- Τρέχουσες θεραπείες δεν είναι ριζικές και περιλαμβάνουν:
  - μεταγγίσεις αίματος
  - επαγωγείς της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης
  - αλλογενή ΜΜΟ

## X-SCID

- Πολύ σπάνια, φυλοσύνδετη υπολειπόμενη ασθένεια
- Πρωτογενής ανοσοανεπάρκεια με σοβαρή έλλειψη στα Τ και Β λεμφοκύτταρα και στα ΝΚ κύτταρα.
- Έλλειψη γονιδίου  $\gamma c$  που κωδικοποιεί μια κοινή  $\gamma$  αλυσίδα στους υποδοχείς των κυτοκινών IL-2, -4, -7, -9, -15
- Ελαττωματική ανάπτυξη, επιβίωση και διαφοροποίηση στα πρώιμα προγονικά λεμφοκύτταρα.
- Ισχυρότατο πλεονέκτημα επιλογής στα διορθωμένα κύτταρα
- Τρέχουσες θεραπείες περιλαμβάνουν αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών/περιορισμένος αριθμός κυττάρων δότη, υψηλή κακουχία και θνησιμότητα

## Summary of approved and published current clinical gene therapy protocols

Disorder	Objective	Target cells	Mode of delivery	Countries with protocols
ADA deficiency	ADA replacement	Blood	Retrovirus	Italy, the Netherlands, United States
Alpha-1-antitrypsin deficiency	Alpha-1-antitrypsin replacement	Respiratory epithelium	Liposome	United States
AIDS	Antigen presentation HIV inactivation	Blood, marrow Blood, marrow	Retrovirus	United States
Cancer	Immune function enhancement	Blood, marrow, tumour	Retrovirus, liposome, electroporation, cell-mediated transfer	Austria, China, France, Germany, Italy, the Netherlands, United States
	Tumour ablation	Tumour	Retrovirus, non-complexed DNA, cell-mediated transfer	United States
	Chemoprotection	Blood, marrow	Retrovirus	United States
	Stem-cell marking	Blood, marrow, tumour	Retrovirus	Canada, France, Sweden, United States
Cystic fibrosis	Cystic fibrosis transmembrane regulatory enzyme replacement	Respiratory epithelium	Adenovirus, liposome	United Kingdom, United States
Familial hypercholesterolemia	Replacement of low-density-lipoprotein receptors	Liver	Retrovirus	United States
Fanconi's anemia	Complement group C gene delivery	Blood, marrow	Retrovirus	United States
Gaucher's disease	Glucocerebrosidase replacement	Blood, marrow	Retrovirus	United States
Hemophilia B	Factor IX replacement	Skin fibroblasts	Retrovirus	China
Rheumatoid arthritis	Cytokine delivery	Synovium	Retrovirus	United States

# Ανασταλτικοί παράγοντες για την ευρεία χρήση της γονιδιακής θεραπείας

- ΜΙΚΡΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΧΕΙ ΕΝΣΩΜΑΤΩΘΕΙ ΤΟ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟ ΜΟΡΙΟ DNA
- ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΙΩΝ ΩΣ ΦΟΡΕΙΣ ΤΟΥ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΥ DNA
- ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΤΟΥ ΑΣΘΕΝΗ
  - 1999, ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ: 18-ΕΤΗΣ ΠΕΘΑΝΕ ΑΠΌ ΠΟΛΥΟΡΓΑΝΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ 4 ΗΜΈΡΕΣ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΓΙΑ ΕΛΛΕΙΨΗ ΟΤCD
  - 2002 & 2003, ΓΑΛΛΙΑ: ΠΑΙΔΙΑ ΠΟΥ ΣΥΜΜΕΤΕΙΧΑΝ ΣΕ ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΕΠΤΥΞΑΝ ΛΕΥΚΑΙΜΙΑ

Gene therapy for treating children with X-SCID (sever combined immunodeficiency) or the "bubble boy" disease is stopped in France when the treatment causes leukemia in one of the patients. See 'Miracle' gene therapy trial halted at [NewScientist.com](http://NewScientist.com) (October 3, 2002).

# Γενικά μειονεκτήματα γονιδιακής θεραπείας

- ✓ Η «φύση» της γονιδιακής θεραπείας είναι μικρής διάρκειας
- ✓ Ανοσοαπόκριση
- ✓ Προβλήματα με ιϊκούς φορείς
- ✓ Πολυγονιδιακές ανωμαλίες
- ✓ Πιθανότητα πρόκλησης καρκινικού όγκου

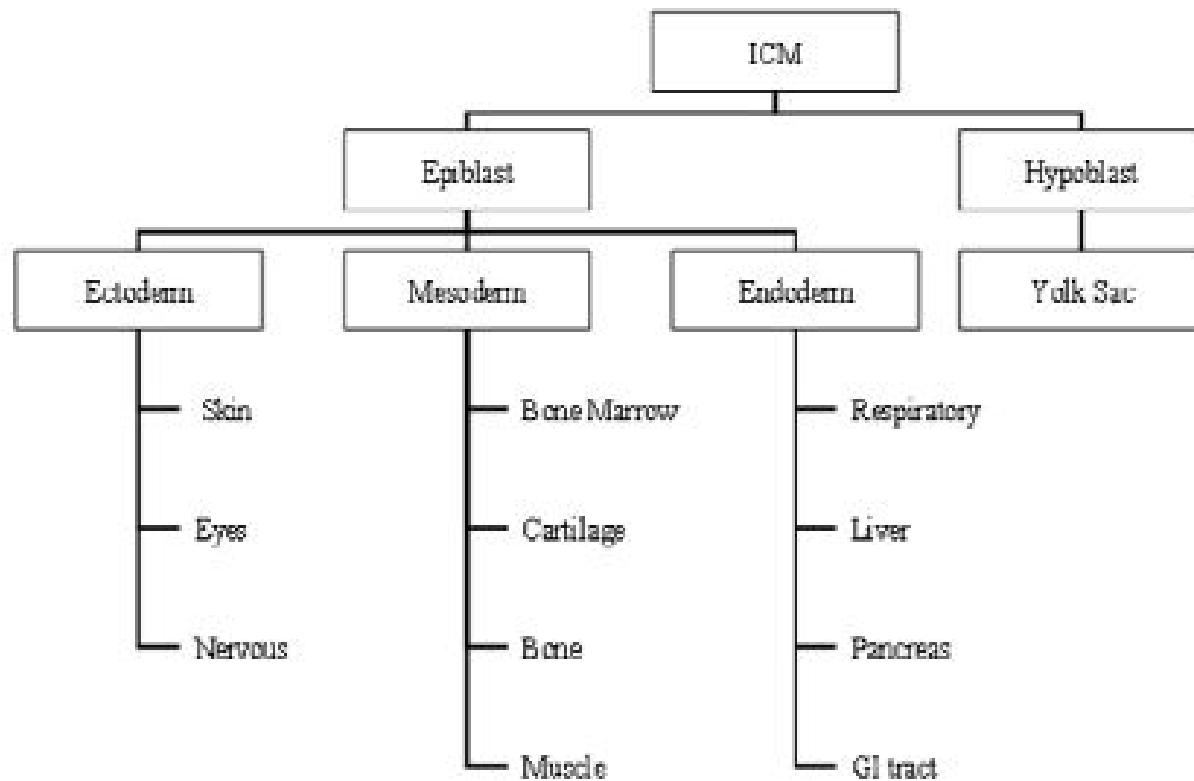
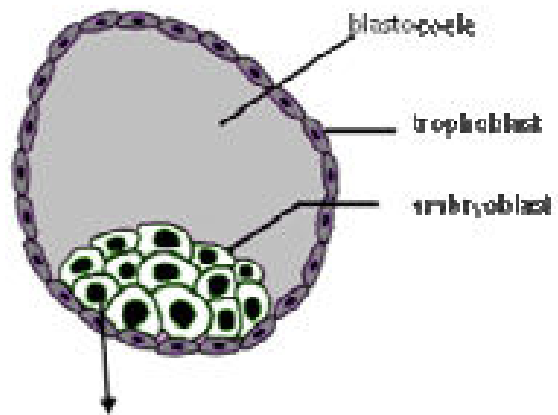
# Βλαστοκύτταρα

# Απώλεια κυττάρων και ιστού οργάνων

- Γήρανση
- Χημοθεραπεία
- Σωματικό ή ισχαιμικό τραύμα
  - Έμφραγμα του μυοκαρδίου
  - Εγκεφαλικό
  - Κάταγμα σπονδυλικής στήλης
- Εκφυλιστικές ασθένειες
  - Alzheimer
  - Parkinson
  - Διαβήτης
  - Αρθρίτιδα
  - Οστεοπόρωση
  - Νεφρική ανεπάρκεια

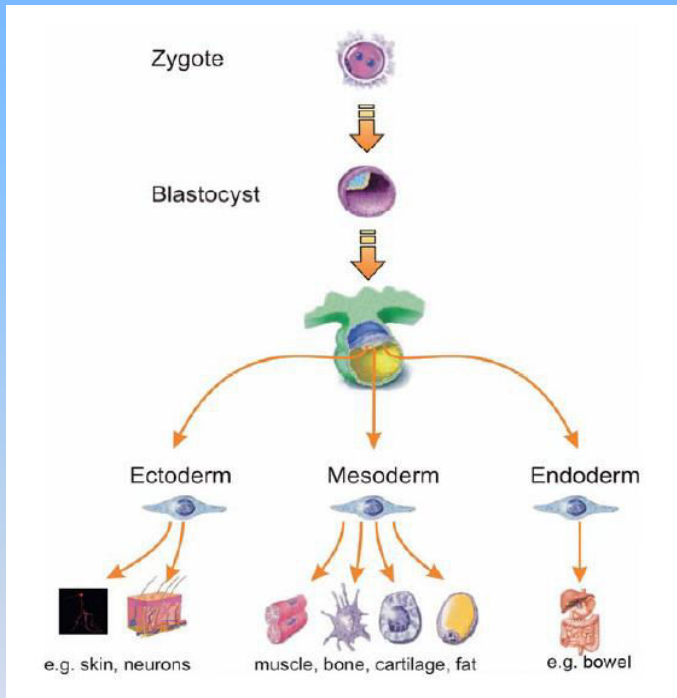
# Ανακατασκευή ιστών – Βλαστοκύτταρα (1)

- ✓ Τα βλαστοκύτταρα έχουν το ρόλο να επισκευάζουν τραυματισμένους ιστούς και να αντικαθιστούν άλλα κύτταρα όταν αυτά πεθαίνουν.
- ✓ Έτσι, τα βλαστοκύτταρα μας διατηρούν υγιείς και παρεμποδίζουν την πρόωρη γήρανση.
- ✓ Τα βλαστοκύτταρα είναι αρχέγονα κύτταρα τα οποία συμβάλλουν στη δημιουργία όλων των άλλων κυττάρων του ανθρώπινου σώματος.
- ✓ Ο όρος «βλαστικά» περιγράφει το γεγονός ότι τα κύτταρα αυτά λειτουργούν ως παρακαταθήκη από την οποία δημιουργούνται (βλαστάνουν) άλλα κύτταρα.
- ✓ Είναι κύτταρα που μπορούν να διαιρούνται μέσω μίτωσης αλλά και να διαφοροποιούνται για να δώσουν άλλες κατηγορίες κυττάρων.



# Βλαστοκύτταρα (2)

Το βλαστοκύτταρο ορίζεται με 3 κριτήρια:



1. Αυτο-ανανέωση.
2. Δυνατότητα διαφοροποίησης σε πολλαπλούς κυτταρικούς τύπους.
3. Ικανότητα να επαναφέρει στην αρχική του μορφή ένα δεδομένο ιστό.

# Βλαστοκύτταρα (3)

- ✓ Το πλέον πρωτόγονο βλαστοκύτταρο στον οργανισμό είναι το γονιμοποιημένο ωάριο (fertilized oocyte or zygote).
- ✓ Όταν το ωάριο διαιρείται, οι απόγονοί του ύστερα από δύο κυτταρικές διαιρέσεις αντιπροσωπεύουν τα **ολοδυναμικά κύτταρα (totipotent cells)** που δημιουργούν μια κοίλη κυτταρική μπάλλα την βλαστοκύστη (blastocyst) η οποία περιέχει μία συστάδα από κύτταρα που ονομάζεται εσωτερική κυτταρική μάζα (inner cell mass). **Από αυτήν αναπτύσσεται το έμβρυο και εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα.**
- ✓ Οι περισσότεροι ιστοί έχουν **πολυδυναμικά κύτταρα (multipotent stem cells)** που μπορούν να παράξουν περιορισμένες κυτταρικές σειρές (μέση).
- ✓ Τα **μονοδυναμικά βλαστοκύτταρα (unipotent stem cells)** παράγουν ένα συγκεκριμένο τύπο κυττάρων (κάτω).

# Προέλευση των βλαστοκυττάρων

- **Εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (*embryonic stem cells*)**
  - Παίρνονται από την βλαστοκύστη του εμβρύου.
  - Σε αργότερο στάδιο μπορούν να παρθούν πιο εξειδικευμένες κυτταρικές σειρές όπως π.χ. τα εμβρυϊκά ενδοθηλιακά πρόδρομα κύτταρα (*embryonic Endothelial Progenitor Cells*, eEPC).
- **Στο νωτιαίο μυελό βρίσκουμε διάφορα είδη εφήβων βλαστοκυττάρων (*adult stem cells*)**
  - Τα κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά πρόδρομα κύτταρα (*circulating endothelial progenitor cells*).
  - Τα αιματοποιητικά βλαστοκύτταρα (*hematopoietic stem cells*, HSC).
  - Τα μεσεγχυμικά βλαστοκύτταρα (*mesenchymal stem cells*, MSC).
  - Τα πολυδυναμικά έφηβα πρόδρομα κύτταρα (*multipotential adult progenitor cells*, MAPC) είναι υποκατηγορία των μεσεγχυμικών βλαστοκυττάρων.

# Βλαστοκύτταρα του πλακούντα

- ✓ Βλαστοκύτταρα που απομονώνονται από τον πλακούντα και τον ομφάλιο λώρο ενός βρέφους ή από το αίμα των περιοχών αυτών.
- ✓ Είναι αιμοποιητικά (ομφαλοπλακουντιακό αίμα) και ανήκουν στην κατηγορία των Πολυδύναμων (Multipotent) κυττάρων και μοιάζουν πολύ με αυτά των ενηλίκων.
- ✓ Έχουν τη δυνατότητα να διαφοροποιηθούν σε όλα τα κύτταρα του αίματος, δηλαδή σε ερυθρά αιμοσφαίρια και αιμοπετάλια, καθώς και σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (λεμφοκύτταρα).
- ✓ Αφού γίνει λήψη των δειγμάτων, απομονώνονται τα βλαστοκύτταρα και αφού γίνει επίδραση με παράγοντες που κάνουν τα κύτταρα πολυδύναμα (reprogramming factors), γίνεται επίδραση με παράγοντες που τα οδηγούν στην διαφοροποίηση ώστε να εξειδικευτούν σε ιστούς.

# Βλαστοκυττάρια στην ενήλικη ζωή (1)

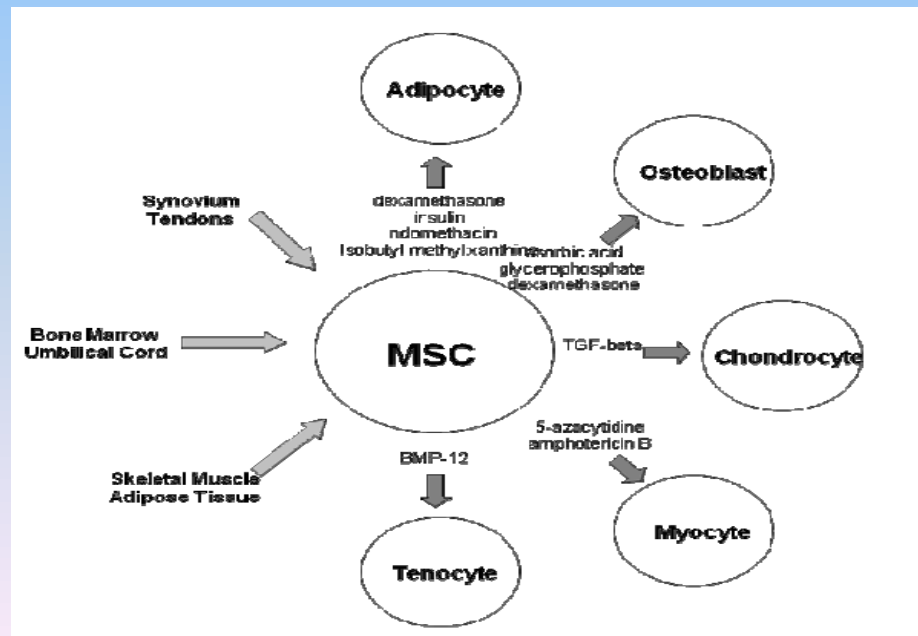
1. Τα βλαστοκύτταρα των ενηλίκων (adult stem cells), βρίσκονται στους περισσότερους ιστούς και όργανα του σώματος, όπως τον εγκέφαλο, τον μυελό των οστών, το ήπαρ (συκώτι), το αίμα και τα αιμοφόρα αγγεία, το δέρμα και τους σκελετικούς μύες.
2. Μπορούν να ωριμάσουν μόνο σε κύτταρα του ιστού ή του οργάνου από το οποίο προέρχονται και ο κύριος ρόλος τους είναι να τα συντηρούν τα ήδη υπάρχοντα κύτταρα και να τα αντικαθιστούν σε περίπτωση βλάβης μέσω της διαφοροποίησης τους σε κύτταρα του ιστού στον οποίο ανήκουν.
3. Τα κύτταρα αυτά μαζί με τα κύτταρα του πλακούντα και του ομφάλιου λώρου **ανήκουν στην κατηγορία των Πολυδύναμων (Multipotent) κυττάρων.**

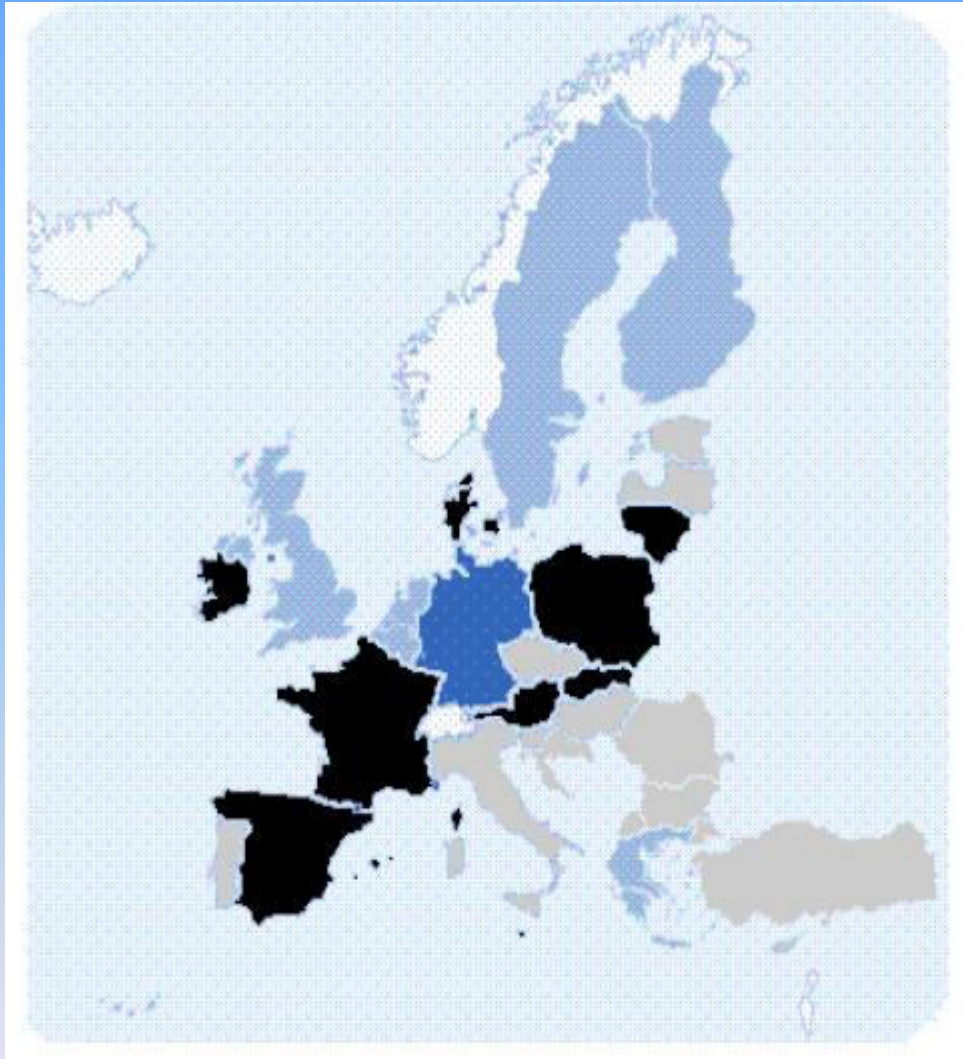
## Βλαστοκυττάρα στην ενήλικο ζωή (2)

- ✓ **Πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (Multipotent):** Βρίσκονται στους περισσότερους ιστούς και όργανα του σώματος, όπως στον εγκέφαλο, στον μυελό των οστών, στο ήπαρ, το αίμα και τα αιμοφόρα αγγεία, το δέρμα και τους σκελετικούς μύες. Αυτά τα βλαστοκύτταρα συμβάλλουν στην αναγέννηση των ιστών. Η ικανότητα διαφοροποίησης τους είναι περιορισμένη
- ✓ **Ολιγοδύναμα βλαστοκύτταρα (Oligopotent)**
- ✓ **Μονοδύναμα βλαστοκύτταρα (Unipotent)**

# Βλαστοκυττάρια στην ενήλικη ζωή (3)

- ✓ Ο μυελός των οστών, όπου απαιτείται η διάτρηση ενός οστού συνήθως το μηριαίο οστό.
- ✓ Ο λιπώδης ιστός απαιτεί εκχύλιση με λιποαναρρόφηση
- ✓ Αίμα το οποίο λαμβάνεται από το δότη και διέρχεται μέσω μιας μηχανής η οποία εξάγει τα βλαστικά κύτταρα και επιστρέφει τα άλλα τμήματα του αίματος του δότη.





**Ο χάρτης της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ) σχετικά με την νομοθεσία χρήσης εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων.**

**Γαλάζιο** – χώρες που επιτρέπουν την χρήση εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων υπό ορισμένες προϋποθέσεις.

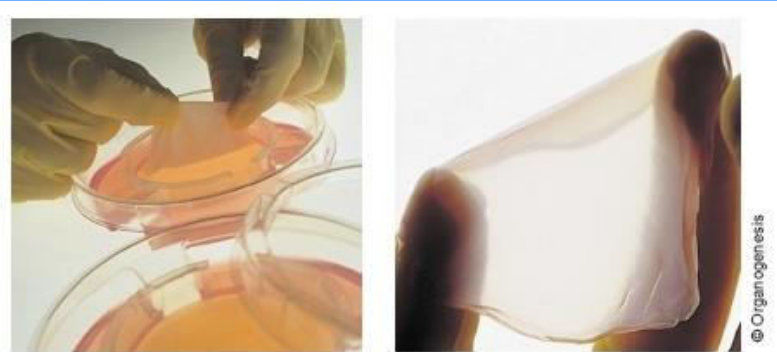
**Σκούρο κυανό** – χώρες που απαγορεύουν την χρήση εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων, αλλά επιτρέπουν την εισαγωγή τους.

**Μαύρο** - χώρες που απαγορεύουν την χρήση εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων.

**Γκρι** - καμία νομοθεσία ή ασαφείς κανόνες.

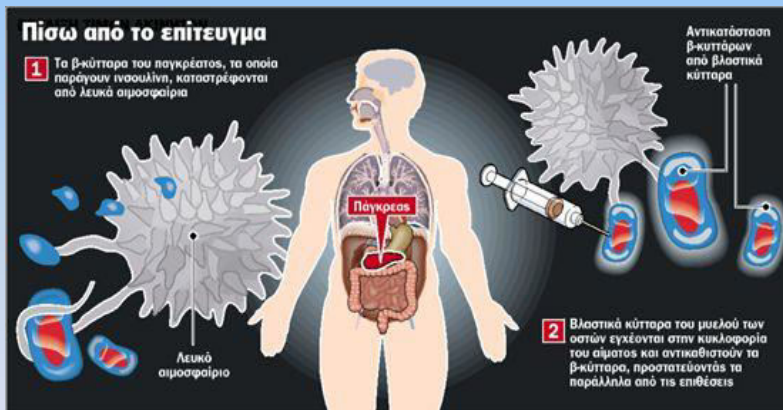
# Βιοϊατρική Μηχανική Βλαστοκυττάρων

✓ Στο άμεσο μέλλον οι θεραπείες με βλαστοκύτταρα θα αποτελούν όλο και περισσότερο κλινική πρακτική και ερευνητικό αντικείμενο.



Among the first products of regenerative medicine are living skin substitutes such as Organogenesis' Apligraf (left) and Vitrix (right).

✓ Η Αναπαραγωγική Ιατρική (Regenerative Medicine) και η Ιστομηχανική (Tissue Engineering) συνδυάζουν τους κλάδους της Βιολογίας και της Βιοϊατρικής Μηχανικής για την ανάπτυξη βιολογικών υποκατάστατων, που σκοπός τους είναι η επαναφορά και η αναπαραγωγή ιστών και οργάνων του σώματος ύστερα από βλάβες.

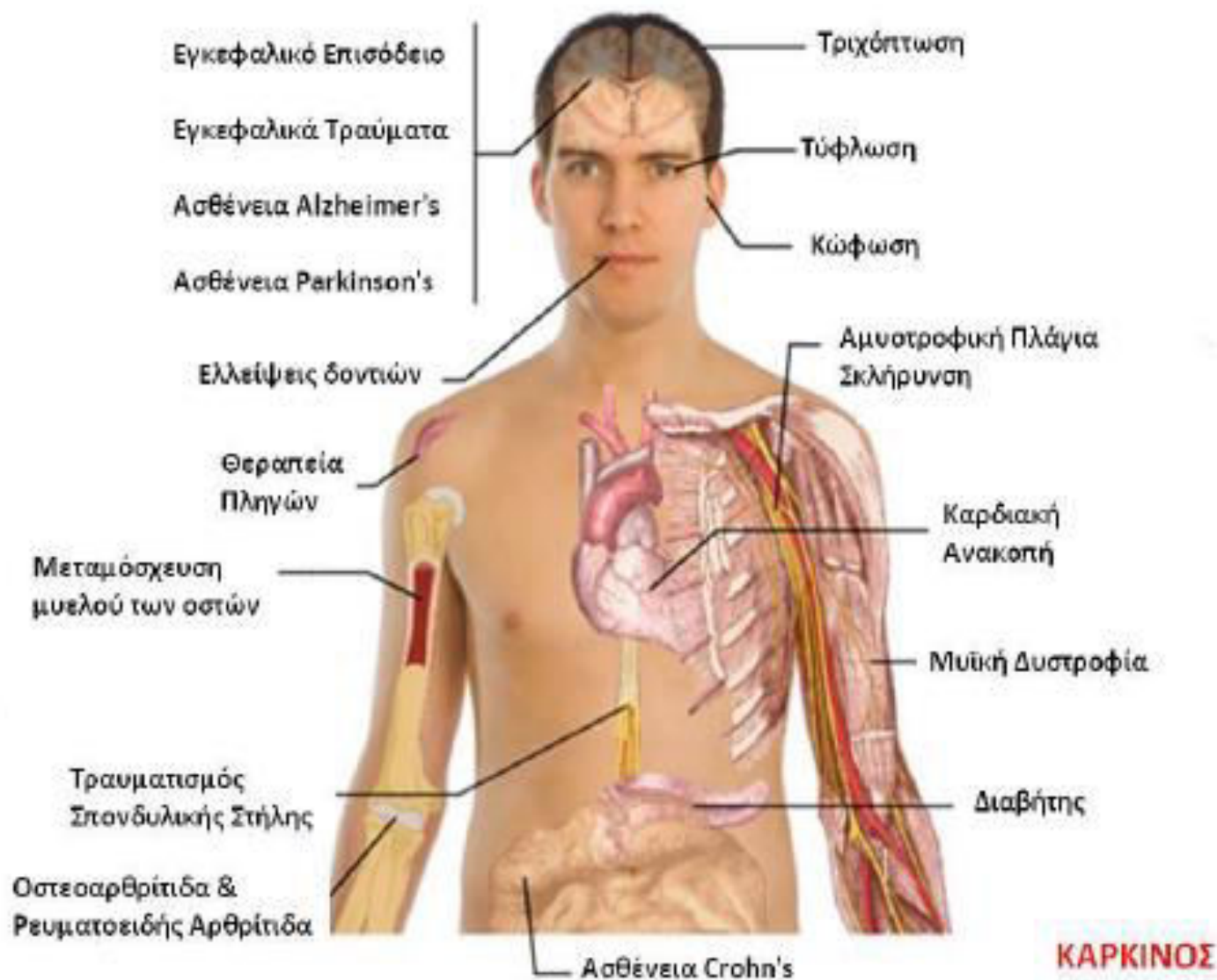


✓ Επειδή στην Αναπαραγωγική Ιατρική τα πρόδρομα και βλαστικά κύτταρα (progenitor and stem cells) καλλιεργούνται σε τρισδιάστατα ικρίσματα (scaffolds) όπου τα κύτταρα προσκολλούνται και διαφοροποιούνται, τα βιοϋλικά που χρησιμοποιούνται παίζουν κρίσιμο ρόλο.

✓ Ανάπτυξη δυνατότητας εφαρμογών Γενετικής Μηχανικής για γονιδιακή θεραπεία.

✓ Αντιμετώπιση του προβλήματος έλλειψης δοτών οργάνων και παράνομου εμπορίου οργάνων κυρίως στον τρίτο κόσμο.

## ΠΙΘΑΝΟΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ ΤΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ



# Προοπτικές χρήσης των βλαστοκυττάρων (1)

- Η έρευνα στα ανθρώπινα βλαστοκύτταρα συναντά βιοηθικά εμπόδια, γι' αυτό και έχει αναπτυχθεί πολύ η έρευνα στα βλαστοκύτταρα ποντικού που είναι γενετικά κοντά στον άνθρωπο.
- Επίσης χρησιμοποιούνται συχνά ανθρώπινα έφηβα βλαστοκύτταρα τα οποία αν και λίγα σε αριθμό, είναι αυτόλογα, μπορούν να παρθούν από το αίμα και το νωτιαίο μυελό και βοηθούν να ξεπεραστούν τα βιοηθικά διλήματα που υπάρχουν με την χρήση εμβρύων.
- Πρόσφατες ανακαλύψεις που μετατρέπουν π.χ. τα δερματικά κύτταρα σε άλλους τύπους κυττάρων, προβλέπεται να χρησιμοποιούνται ευρύτατα στο μέλλον για την Αναπαραγωγική Ιατρική.

## Προοπτικές χρήσης των βλαστοκυττάρων (2)

- ✓ Η εφαρμογή των βλαστοκυττάρων στην αντιμετώπιση ασθενειών είναι από τα μεγαλύτερα επιτεύγματα των τελευταίων ετών.
- ✓ Η απομόνωση των βλαστοκυττάρων του εμβρύου και του ενήλικα είναι δύσκολη, όμως των βλαστοκυττάρων του ομφαλοπλακουντιακού αίματος είναι πολύ ευκολότερη.
- ✓ Η χρήση των εμβρυικών βλαστικών κυττάρων είναι αμφιλεγόμενη γιατί απαιτεί την καταστροφή ενός εμβρύου.
- ✓ Για αυτό για την θεραπεία ασθενειών προτιμούνται τα βλαστοκύτταρα των ενηλίκων.

# Προοπτικές χρήσης των βλαστοκυττάρων (3)

- ✓ Όταν τα βλαστικά κύτταρα προέρχονται από τον ίδιο τον δέκτη (αυτομόσχευμα) τότε δεν υπάρχει κίνδυνος απόρριψης.
- ✓ Οι δυνατότητες των βλαστοκυττάρων είναι πολύ μεγάλες και τα βλαστοκύτταρα ενός ιστού μπορούν, υπό κατάλληλες συνθήκες, να ωριμάσουν σε κύτταρα άλλου, διαφορετικού ιστού και να λειτουργήσουν ως ολοδύναμα και όχι απλά ως πολυδύναμα.
- ✓ Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται πλαστικότητα (plasticity) και αποτελεί τη βάση των κυτταρικών θεραπειών.
- ✓ Οι θεραπείες με ενήλικα βλαστικά κύτταρα έχουν χρησιμοποιηθεί για πολλά χρόνια για τη θεραπεία της λευχαιμίας και άλλων καρκίνων μέσω μεταμοσχεύσεων μυελού των οστών

## Προοπτικές χρήσης των βλαστοκυττάρων (4)

- ✓ Μέχρι σήμερα στην Ευρώπη έχουν πραγματοποιηθεί πάνω από 25.000 μεταμοσχεύσεις με τη χρήση βλαστικών κυττάρων του ομφαλίου λώρου, του μυελού των οστών και του περιφερικού αίματος.
- ✓ Από αυτές το 70% ήταν αυτόλογες, τα βλαστικά κύτταρα δηλαδή προέρχονταν από τον ίδιο τον ασθενή και το 30% ήταν αλλογενείς (συμβατό δότη) εκ των οποίων το 70% προέρχονταν μέσα από την οικογένεια.

# Αναγεννητική ιατρική (Tissue regeneration) (1)

- ✓ Δυνατότητα μιας ανανεώσιμης πηγής κυττάρων (βλαστοκυττάρων) και ιστών που θα χρησιμοποιούνται ως μοσχεύματα και θα ανακουφίσουν πολλές ασθένειες και αναπηρίες.
- ✓ Υπάρχουν σήμερα αρκετοί ανθρώπινοι ιστοί που έχουν επιτυχώς ή εν μέρει αναγεννηθεί.
- ✓ Οι κύριες στρατηγικές της αναγεννητικής ιατρικής περιλαμβάνουν την διαφοροποίηση κυττάρων στο σημείο του τραυματισμού (dedifferentiating), τη μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων, την εμφύτευση καλλιεργούμενων ιστών και οργάνων και την αναδόμηση ιστών.

# Αναγεννητική ιατρική (Tissue regeneration) (2)

*Όργανα και τμήματα του σώματος που αναγεννώνται φυσικά:*

- ✓ ενδομήτριο
- ✓ δάχτυλα
- ✓ νεφροί
- ✓ ήπαρ
- ✓ δάχτυλα

*Ανθρώπινοι ιστοί που έχει επαχθεί αναγέννηση:*

- ✓ ουροδόχος κύστης
- ✓ καρδιά
- ✓ πνεύμονας
- ✓ πέος
- ✓ σπονδυλικά νεύρα
- ✓ θύμος
- ✓ κόλπος

# Ηθικοί περιορισμοί στην χρήση βλαστοκυττάρων

- ✓ Η ικανότητα χρήσης βλαστικών κυττάρων από τα έμβρυα.
- ✓ Η εφαρμογή των πειραμάτων που γίνονται σε ζωικούς οργανισμούς στους ανθρώπους.
- ✓ Δεν πρέπει να είμαστε υποχρεωμένοι να απέχουμε από τη χρήση εμβρυικών βλαστικών κυττάρων αλλά να προωθούμε την χρήση και την έρευνα με βάση την προώθηση της θεραπευτικής προοπτικής.