



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



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Τράπεζες Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος και
Αναγεννητική Ιατρική για την Εξατομικευμένη Θεραπεία**

POST GRADUATE THESIS

**Umbilical Cord Blood Banks and
Regenerative Medicine for Personalized Therapy**

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ(ΤΩΝ)/NAME OF STUDENTS

Δημοπούλου Βαρβάρα
Dimopoulou Varvara

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Μιχαλόπουλος Στάθης
Michalopoulos Stathis

ΑΙΓΑΛΕΩ/ΑΙΓΑΛΕΟ 2021



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS
postgraduate student

ΔΗΜΟΠΟΥΛΟΥ ΒΑΡΒΑΡΑ
17003
dimopoulou.barbara@yahoo.gr

FIRST SUPERVISOR
ΜΙΧΑΛΟΠΟΥΛΟΣ ΣΤΑΘΗΣ

SECOND SUPERVISOR
ΚΑΡΚΑΛΟΥΣΟΣ ΠΕΤΡΟΣ

THIRD SUPERVISOR
ΚΡΙΕΜΠΑΡΔΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ

AIGALEO 2021

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Ο/η κάτωθι υπογεγραμμένος/η Δημοπούλου Βαρβάρα του Γρηγορίου, με αριθμό μητρώου 17003 φοιτητής/τρια 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».

Ο/Η Δηλών/ούσα

Δημοπούλου Βαρβάρα

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ πολύ τον καθηγητή μου Μιχαλόπουλο Στάθη για τη βοήθεια, τη συμπαράστασή και την υπομονή του.

Αφιερώσεις

Με αγάπη στο γιό μου Φίλιππο και την οικογένειά μου που είναι πάντα δίπλα μου.

Περίληψη

Η χρησιμοποίηση δείγματος αίματος από τον ομφάλιο λώρο και η χορήγηση βλαστικών κυττάρων είναι μία νέα πολλά υποσχόμενη διαδικασία των τελευταίων δεκαετιών, η οποία χρησιμοποιείται με αυξανόμενη συχνότητα σε επίπεδο κλινικών εφαρμογών. Ο εντοπισμός αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων στο ομφάλιο αίμα και η ιδέα ότι αυτά τα κύτταρα θα μπορούσαν να καταψυχθούν και να αποθηκευτούν έδωσε το έναυσμα για τη χρήση τους σε θεραπευτικό επίπεδο. Το πεδίο των μεταμοσχεύσεων αποτελεί την περισσότερο χαρακτηριστική περίπτωση, καθώς ομφαλοπλακουντιακά δείγματα αίματος αποτελούν αξιόπιστη εναλλακτική λύση έναντι κυττάρων του μυελού των οστών ή περιφερικών αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων. Τα εν λόγω ευρήματα δημιουργούν τις προϋποθέσεις εφαρμογής ενός νέου ιατρικού πεδίου στην αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών, με αποτέλεσμα η λήψη αίματος από τον ομφάλιο λώρο να συγκαταλέγεται μεταξύ των διαθέσιμων θεραπευτικών επιλογών για περιπτώσεις παιδιατρικών και ενήλικων ασθενών με ένα ευρύ φάσμα υποκείμενων παθήσεων.

Οι θεραπείες με βλαστικά κύτταρα μπορεί να μειώσουν τα συμπτώματα της νόσου ή της κατάστασης που αντιμετωπίζεται. Η μείωση των συμπτωμάτων μπορεί να επιτρέψει στους ασθενείς να μειώσουν την πρόσληψη φαρμάκου της νόσου ή της κατάστασης. Η θεραπεία με βλαστοκύτταρα μπορεί επίσης να παρέχει γνώση στην κοινωνία για περαιτέρω κατανόηση βλαστικών κυττάρων και μελλοντικές θεραπείες. Σκοπός αυτής της εργασίας λοιπόν, είναι να αναδειχτούν οι νέες εφαρμογές των βλαστοκυττάρων, όσον αφορά την αναγεννητική ιατρική και την εξατομικευμένη θεραπεία.

Η συγκεκριμένη εργασία αναφέρει συνοπτικά τα θεσπιζόμενα κριτήρια και τους βασικούς κανόνες που διέπουν την λειτουργία των ομφαλοπλακουντιακών τραπεζών δειγμάτων. Παρουσιάζει τα υπάρχοντα διαφορετικά μοντέλα τραπεζών, με έμφαση στο σκοπό που εξυπηρετούν και τα πεδία στα οποία βρίσκουν πρόσθετη απήχηση. Επιπρόσθετα, παρουσιάζονται βιβλιογραφικά ευρήματα μελετών που έχουν διερευνήσει περιστατικά ανά τον κόσμο και τα οποία αναδεικνύουν την αποτελεσματικότητα της χρήσεως ομφαλοπλακουντιακών κυττάρων και σε άλλους τομείς εκτός από τη μεταμόσχευση, όπως η αναγεννητική ιατρική και η εξατομικευμένη θεραπεία. Τα επόμενα χρόνια αναμένονται να αναδείξουν τον ρόλο των ομφαλοπλακουντιακών μοσχευμάτων στην αντιμετώπιση ευρέος φάσματος νοσημάτων.

Η τελευταία δεκαετία έχει χαρακτηριστεί από την αυξημένη τάση χρησιμοποίησης ενός κατά τα άλλα παραμελημένου αρχέγονου κυττάρου, του ομφαλοπλακουντιακού αίματος. Το εν λόγω κλινικό υλικό έχει κερδίσει σημαντικό έδαφος και θεωρείται ως μία αξιόπιστη εναλλακτική επιλογή για ασθενείς, για τους οποίους δεν δύνανται να χρησιμοποιηθούν άλλοι τύποι θεραπείας. Υπό αυτή την έννοια, παρουσιάζεται μία νέα προοπτικής αναζήτησης νέων θεραπειών, αξιοποιώντας τα ομφαλοπλακουντιακά κύτταρα, σε τομείς που μέχρι σήμερα δεν υπήρχαν θεραπευτικές επιλογές.

Λέξεις κλειδιά: αίμα ομφάλιου λώρου, βλαστικά κύτταρα, τράπεζες ομφαλοπλακουντιακού αίματος, μεταμόσχευση, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, κυτταρική θεραπεία, αναγεννητική ιατρική, ιστομηχανική

Abstract

The use of umbilical cord blood sample and stem cell donation is a promising new procedure of recent decades, which is being used with increasing frequency in clinical applications. The location of hematopoietic stem cells in the umbilical cord blood and the idea that these cells could be frozen and stored gave rise to their therapeutic use. The field of transplants is the most typical case, as umbilical cord blood samples are a reliable alternative to bone marrow cells or peripheral hematopoietic progenitor cells. These findings create the conditions for the application of a new medical field in the treatment of various diseases, as a result of which umbilical cord blood sampling is among the available treatment options for pediatric and adult patients with a wide range of underlying diseases.

Stem cell treatments may lower symptoms of the disease or condition that is being treated. The lowering of symptoms may allow patients to reduce the drug intake of the disease or condition. Stem cell treatment may also provide knowledge for society to further stem cell understanding and future treatments. The aim of this work is to highlight the new applications of stem cells in regenerative medicine and personalized therapy. This work summarizes the established criteria and the basic rules that govern the operation of the umbilical cord sample banks. It presents the existing different banking models, with emphasis on the purpose they serve and the fields in which they find additional impact. In addition, there are literature findings from case studies around the world that highlight the effectiveness of umbilical cord cell use in areas other than transplantation, such as regenerative medicine and individual therapy. The coming years are expected to highlight the role of umbilical cord plaques in the treatment of a wide range of diseases. The last decade has been marked by the growing tendency to use an otherwise neglected stem cell, the umbilical cord blood. This clinical material has gained significant ground and is considered a reliable alternative for patients for whom no other types of treatment can be used. In this sense, a new perspective of new therapies is presented, utilizing umbilical cord cells, in areas where until now there were no treatment options.

Key words: umbilical cord blood, stem cells, umbilical cord blood banks, transplantation, neurodegenerative diseases, cell therapy, regenerative medicine, histomechanics

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....	iv
Ευχαριστίες	vi
Αφιερώσεις	viii
Περίληψη	x
Abstract	xiii
Συνομογραφίες	xix
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή	2
Τι είναι στελεχιαία κύτταρα.....	2
Ταξινόμηση στελεχιαίων κυττάρων με βάση τη δυνατότητα διαφοροποίησης.....	4
Ολοδύναμα κύτταρα (Totipotent or omnipotent Cells)	4
Ποικιλοδύναμα κύτταρα (Pluripotent Cells)	5
Πολυδύναμα κύτταρα (Multipotent Cells)	5
Ολιγοδύναμα κύτταρα (Oligopotent Cells)	5
Μονοδύναμα κύτταρα (Unipotent Cells)	6
Ταξινόμηση στελεχιαίων κυττάρων με βάση την προέλευση	7
Εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα (Embryonic Stem Cells).....	7
Στελεχιαία κύτταρα του ενήλικα (Adult Stem Cells).....	8
Στελεχιαία κύτταρα ιστών	8
Επαγόμενα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα (iPSCs)	10
Ιστορική αναδρομή στην έρευνα των στελεχιαίων κυττάρων.....	12
Στελεχιαία κύτταρα που προέρχονται από αίμα ομφάλιου λώρου	14
Μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα (MSCs).....	16
Μεταμόσχευση ομφαλοπλακουντιακού αίματος	17
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Τράπεζες Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος.....	20
Ιστορική αναδρομή στη δημιουργία των τραπεζών.....	20
Φάσεις και στάδια συλλογής και επεξεργασίας των μονάδων ομφαλοπλακουντιακού αίματος	24
Επιλογή δότη, συγκατάθεση και ιατρική του αξιολόγηση.....	24
Συλλογή ομφαλοπλακουντιακού αίματος, βραχυπρόθεσμη αποθήκευση και μεταφορά.....	27

Επεξεργασία, έλεγχος, κρυσυντήρηση και αποθήκευση αίματος ομφάλιου λώρου για μεταμόσχευση	29
Αποδέσμευση μονάδας ομφαλοπλακουντιακού αίματος προς το μεταμοσχευτικό κέντρο.....	30
Διασφάλιση ποιότητας και πρότυπα NETCORD/FACT των τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος	32
Μοντέλα τραπεζών Ομφαλοπλακουντιακού αίματος.....	34
Θεσμικό πλαίσιο στην Ελλάδα.....	37
Πιστοποίηση τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος	37
Ενημέρωση γονέων	37
Λειτουργία τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος (ΟΠΑ)	38
Οργάνωση και διαχείριση δημόσιων και ιδιωτικών τραπεζών ΟΠΑ	38
Προσωπικό δημόσιων και ιδιωτικών τραπεζών ΟΠΑ.....	38
Εξοπλισμός και υλικά	39
Μέσα και εγκαταστάσεις	40
Παρασκευή ιστών και κυττάρων	41
Εξετάσεις δειγμάτων δοτών.....	45
Τράπεζες Μεσεγχυματικών Κυττάρων και δυνητικές κλινικές εφαρμογές τους.....	47
Ταξινόμηση μεσεγχυματικών στελεχιαίων κύτταρων.....	54
MSCs προερχόμενα από μυελό των οστών (BM-MSCs)	54
MSCs προερχόμενα από λιπώδη ιστό (AT-MSCs)	54
MSC προερχόμενα από αίμα ομφάλιου λώρου (UC-MSCs).....	55
Wharton’s Jelly MSCs.....	55
MSCs προερχόμενα από πλακούντα (PD-MSCs).....	55
MSC προερχόμενα από αμνιακό υγρό	56
MSC αρθρικού υγρού	56
MSCs οδοντικού πολτού (DPSCs)	56
MSCs προερχόμενα από περιφερικό αίμα (PB-MSCs)	56
MSCs προερχόμενα από άλλες πηγές	57
Βιολογικά πλεονεκτήματα των Wharton’s Jelly MSCs (WJ-MSCs).....	58
Πηγή	58
Μορφολογικά χαρακτηριστικά	58
Δείκτες κυτταρικής επιφάνειας	59
Ανοσογονικότητα.....	59

Χαρακτηριστικά έκκρισης	59
Πλεονεκτήματα στην εφαρμογή των WJ - MSCs	61
Διαθεσιμότητα	61
Χαρακτηριστικά καλλιέργειας	61
Χαμηλή ανοσογονικότητα	61
Δυναμικό διαφοροποίησης	62
Κεφάλαιο 3. Αναγεννητική Ιατρική για την Εξατομικευμένη Θεραπεία.....	63
Νευροεκφυλιστικές ασθένειες	63
Η νόσος του Πάρκινσον	65
Εγκεφαλικό επεισόδιο	69
Επιληψία	72
Διαταραχές μάθησης και μνήμης / Άνοια (Νόσος του Άλτσχάιμερ)	74
Πολλαπλή σκλήρυνση	76
Κάκωση νωτιαίου μυελού	77
Νευροπαθητικός πόνος.....	81
Αναγέννηση ιστών	83
Αναγέννηση οστών	84
Επιδιόρθωση χόνδρων	86
Αναγέννηση άλλων μυοσκελετικών ιστών	88
Αναδόμηση κεντρικού νευρικού συστήματος	90
Αναδόμηση Περιφερικού Νευρικού Συστήματος.....	92
Αποκατάσταση μυοκαρδίου	93
Αναγέννηση ήπατος	95
Αναδόμηση κερατοειδούς	97
Ανακατασκευή τραχείας	99
Αναγέννηση δέρματος.....	101
Κλινική χρήση στελεχειαίων κυττάρων στη θεραπεία της πνευμονίας COVID-19.....	104
Κίνδυνοι και προκλήσεις στη μεταμόσχευση στελεχειαίων κυττάρων	106
Πολυδυναμία και καρκίνος.....	106
Μέθοδοι για την πρόληψη του σχηματισμού όγκων	108
Ογκογονικοί κίνδυνοι που σχετίζονται με τον επαναπρογραμματισμό	110
Το επιγενετικό τοπίο των επαγόμενων πολυδύναμων στελεχειαίων κυττάρων ...	111
Ανοσολογική απόρριψη	112

Πιθανός κίνδυνος εμφύτευσης MSCs	117
Συμπεράσματα και προοπτικές	119
Αναφορές	122
Πηγές Εικόνων	176

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
UBC	Umbilical cord blood	Αίμα ομφάλιου λώρου
HLA	Human leucocyte antigen	Ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων
GVHD	Graft versus host disease	Νόσος μοσχεύματος έναντι ξενιστή
ESCs	Embryonic stem cells	Εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα
iPSCs	Induced pluripotent stem cells	Επαγόμενα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα
MSCs	Mesenchymal stem cells	Μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα
MEFCs	Feeder layer of embryonic fibroblast cells	Τροφοδοτικό στρώμα εμβρυϊκών ινοβλαστών
LIF	Leukemia inhibitory factor	Ανασταλτικός παράγοντας λευχαιμίας
OCT3/4	Octamer binding transcription factor 3/4	Συνδεδεμένος παράγοντας μεταγραφής στα οκταμερή 3 και 4
SOX2	SRY-Box Transcription Factor 2	Πρωτεΐνη πλαισίου που σχετίζεται με τον SRY-2
KLF4	Kruppel Like Factor 4	Ομοιάζον με τον παράγοντα 4
PSCs	Pluripotent stem cells	Ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα
SCNT	Somatic cell nuclear transfer	Μεταφορά πυρηνικών σωματικών κυττάρων
HSCs	Hematopoietic stem cells	Αιμοποιητικά στελεχιαία κύτταρα
VSELs	Very Small Embryonic Like Stem Cells	Πολύ μικρά εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα
NTSCs	Nuclear transfer stem cells	Στελεχιαία κύτταρα πυρηνικής μεταφοράς
RSCs	Reprogramming Stem Cells	Επαναπρογραμματισμένα στελεχιαία κύτταρα
ASCs	Adult stem cells	Ενήλικα στελεχιαία κύτταρα
UCB	Umbilical cord blood	Αίμα ομφάλιου λώρου

HLA	Human leucocyte antigen	Ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων
CBB	Cord blood bank	Τράπεζα αίματος ομφάλιου λώρου
CBUs	Cord blood units	Μονάδες αίματος ομφάλιου λώρου
FACT	Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy	Ίδρυμα για τη Διαπίστευση Κυτταρικών Θεραπειών
EBMT	European Group for Blood and Marrow Transplantation	Ευρωπαϊκή Ομάδα Μεταμόσχευσης Αίματος και Μυελού
CBT	Cord blood transplantation	Μεταμόσχευση αίματος ομφάλιου λώρου
HES	Hydroxyethyl starch	Υδροξυαιθυλικό άμυλο
DMSO	Dimethylsulfoxide	Διμεθυλοσουλφοξειδίο
NC	Nuclear cell	Εμπύρηνο κύτταρο
WMDA	World Marrow Donor Association	Παγκόσμιος Σύνδεσμος Δοτών Μυελού
NMDP	National Marrow Donor Program	Εθνικό Πρόγραμμα Δωρητών Μυελού
EBMT	European Society for Blood and Marrow Transplantation	Ευρωπαϊκή Ομάδα για την Μεταμόσχευση Αίματος και Μυελού
BM	Bone marrow	Μυελός των οστών
cGMP	Current Good Manufacturing Practice	Τρέχουσα σωστή πρακτική παρασκευής
cGTP	Current Good Tissue Practice	Τρέχουσα σωστή διαχείριση ιστών
FDA	Food and Drug Administration	Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ
ASBMT	American Society for Blood and Marrow Transplant	Αμερικανική Εταιρεία για Μεταμόσχευση Αίματος και Μυελού
ISHAGE	International Society of Hematotherapy and Graft Engineering	Διεθνής Εταιρεία Αιματοθεραπείας και Μηχανικής Χλοστάτητας
JACIE	The Joint Accreditation Committee ISCT-Europe & EBMT	Η Κοινή Επιτροπή Διαπίστευσης ISCT-Ευρώπης & EBMT
ISCT	International Society for Cell & Gene Therapy	Διεθνής Εταιρεία Κυτταρικής & Γονιδιακής Θεραπείας
IOM	Institute of Medicine	Ινστιτούτο Ιατρικής

HRSA	Health Resources and Services Administration	Διαχείριση Πόρων και Υπηρεσιών Υγείας
HCT	Haematopoietic cell transplantation	Μεταμόσχευση Αιμοποιητικών Κυττάρων
RPE	Retinal pigment epithelium	Μελάγχρουν επιθήλιο του Αμφιβληστροειδούς
AMD	Age-related macular degeneration	Εκφύλιση της ωχράς κηλίδας
PD	Parkinson's disease	Νόσος του Πάρκινσον
MS	Multiple sclerosis	Πολλαπλή σκλήρυνση
SCI	Spinal cord injury	Κάκωση νωτιαίου μυελού
DANs	Dopaminergic neurons	Ντοπαμινεργικοί νευρώνες
DA	Dopamine	Ντοπαμίνη
L-DOPA	Levodopa	Λέβοντοπα
NSCs	Neural stem cells	Νευρικά βλαστικά κύτταρα
NPCs	Neural progenitor cells	Νευρικά προγονικά κύτταρα
TH	Tyrosine hydroxylase	Υδροξυλάση της τυροσίνης
EB	Embryoid Body	Εμβρυοειδές σώμα
VM	Ventral mesencephalic	Κοιλιακή μεσοεγκεφαλική
GDNF	Glial cell line-derived neurotrophic Factor	Νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από γλοιακά κύτταρα
VLMC	Vascular leptomeningeal cells	Αγγειακά λεπτομηνιγγικά κύτταρα
NHP	Non-human primates	Πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου
Lt-NES	Long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells	Μακροπρόθεσμα αυτοανανεώσιμα νευροεπιθηλιακά στελεχιαία κύτταρα
MCAo	Middle cerebral artery occlusion	Απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας
VEGF	Vascular endothelial growth factor	Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός Παράγοντας
mNSS	Modified neurological severity score	Τροποποιημένη βαθμολογία νευρολογικής Σοβαρότητας
MGE	Medial ganglionic eminence	Μέση γαγγλιακή προεξοχή

GINs	GABAergic Interneurons	GABAεργικοί ενδονευρώνες
TLE	Temporal lobe epilepsy	Επιληψία κροταφικού λοβού
AD	Alzheimer's disease	Νόσος του Αλτσχάιμερ
NFTs	Neurofibrillary tangles	Νευροϊνιδιακά συμπλέγματα
PDGF	Platelet derived growth factor	Αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας
PDAPP	PDGF promoter driven amyloid precursor protein	PDGF καθοδηγητής πρόδρομης πρωτεΐνη β-αμυλοειδούς
BFCN	Basic forebrain cholinergic neurons	Βασικού πρόσθιου εγκεφάλου χολινεργικοί νευρώνες
HD	Huntington's disease	Νόσος του Χάντινγκτον
ML	Macrophage-like cells	Κύτταρα τύπου μακροφάγων
OPCs	Oligodendrocyte precursor cells	Πρόδρομα ολιγοδενδροκύτταρα
SMSCs	Synovium-derived MSCs	Αρθρικής προέλευσης MSCs
BMSCs	Bone marrow MSCs	MSCs μυελού των οστών
ADSCs	Adipose-derived Stem Cells	Βλαστοκύτταρα από τον λιπώδη ιστό
UCB-MSCs	Umbilical cord blood-derived MSCs	MSCs ομφάλιου λώρου
hDPSCs	Human dental pulp stem cells	Βλαστοκύτταρα ανθρώπινου οδοντικού Πολφού
BMP-2	Bone morphogenetic protein 2	Μορφογενετική πρωτεΐνη των οστών 2
TGF-β	Transforming growth factor beta	Μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας βήτα
ECM	Extracellular matrix	Εξωκυττάρια Μήτρα
IGF-1	Insulin-like growth factor 1	Ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας 1
IVD	Intervertebral disc	Μεσοσπονδύλιος δίσκος
NP	Nucleus pulposus	Πηκτοειδής πυρήνας
SLC	Secondary lymphoid chemokine	Δευτερογενής λεμφική χημειοκίνη
PDSCs	Placenta-derived stem cells	Στελεχειαία κύτταρα πλακούντα

LESCs	Limbal epithelial stem cells	Σκληροκεράτια επιθηλιακά βλαστοκύτταρα
TNFIP6	Tumor necrosis factor-inducible protein 6 gene	Παράγοντας νέκρωσης όγκων-επαγωγή πρωτεΐνη 6
TSG-6	TNF-stimulated gene 6	TNF-διεγερμένο γονίδιο 6
EGF	Epidermal growth factor	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας
FACS	Fluorescence-activated cell sorting	Ταξινόμηση ενεργοποιημένων με φθορισμό κυττάρων
SMCs	Smooth muscle cells	Λεία μυϊκά κύτταρα
FBS	Fetal bovine serum	Ορός εμβρύου βοοειδών
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium	Τροποποιημένο κατά Dulbecco θρεπτικό μέσο του Eagle

Πρόλογος

Τα βλαστικά κύτταρα είναι ένας πληθυσμός αδιαφοροποίητων κυττάρων που χαρακτηρίζεται από την ικανότητα να πολλαπλασιάζεται εκτενώς (αυτοανανέωση), συνήθως προκύπτουν από ένα μόνο κύτταρο και διαφοροποιούνται σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων και ιστών. Υπάρχουν πολλά πηγές βλαστικών κυττάρων με διάφορες δυνατότητες. Τα ποικιλοδύναμα (pluripotent) κύτταρα είναι εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα (embryonic stem cells, ES cells) που προέρχονται από την εσωτερική κυτταρική μάζα της βλαστοκύστης (blastocyst-stage embryo) εσωτερικό κύτταρο σχηματίζεται μάζα του εμβρύου και επαγόμενα ποικιλοδύναμα βλαστικά κύτταρα (induced pluripotent stem cells, iPSCs) σχηματίζονται μετά τον επαναπρογραμματισμό σωματικών κυττάρων. Τα ποικιλοδύναμα κύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ιστούς και από τις τρεις βλαστικές στοιβάδες κυττάρων (ενδόδερμα, μεσόδερμα και εξώδερμα). Τα πολυδύναμα (multipotent) βλαστικά κύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ιστό που προέρχεται από ένα μόνο τύπο κυτταρικής σειράς, όπως τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που σχηματίζουν λιπώδη ιστό, οστά και χόνδρους. Τα βλαστικά κύτταρα ενός ιστού είναι ολιγοδύναμα (oligopotent) δεδομένου ότι μπορούν να σχηματίσουν τελικά διαφοροποιημένα κύτταρα ενός συγκεκριμένου ιστού.

Τα βλαστικά κύτταρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην κυτταρική θεραπεία για την αντικατάσταση κατεστραμμένων κυττάρων ή την αναγέννηση ιστών. Επιπλέον, τα βλαστικά κύτταρα έχουν επεκτείνει την κατανόησή μας για την εξέλιξη, καθώς και την παθογένεση της νόσου. Ειδικά για τις ασθένειες, κυτταρικές σειρές μπορούν να πολλαπλασιαστούν και να χρησιμοποιηθούν στην ανάπτυξη φαρμάκων. Παρά τις σημαντικές εξελίξεις στη βιολογία των βλαστικών κυττάρων, ζητήματα όπως ηθικές αντιπαραθέσεις για τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα, ο σχηματισμός όγκων και η απόρριψη περιορίζουν τη χρησιμότητά τους. Ωστόσο, πολλοί από αυτούς τους περιορισμούς παρακάμπτονται και αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε σημαντικές προόδους στη διαχείριση των ασθενειών. Αυτή η διπλωματική είναι μια εισαγωγή στον κόσμο των βλαστικών κυττάρων και συζητά τον ορισμό, την προέλευση και την ταξινόμησή τους, καθώς και τις εφαρμογές αυτών των κυττάρων στην αναγεννητική ιατρική.

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

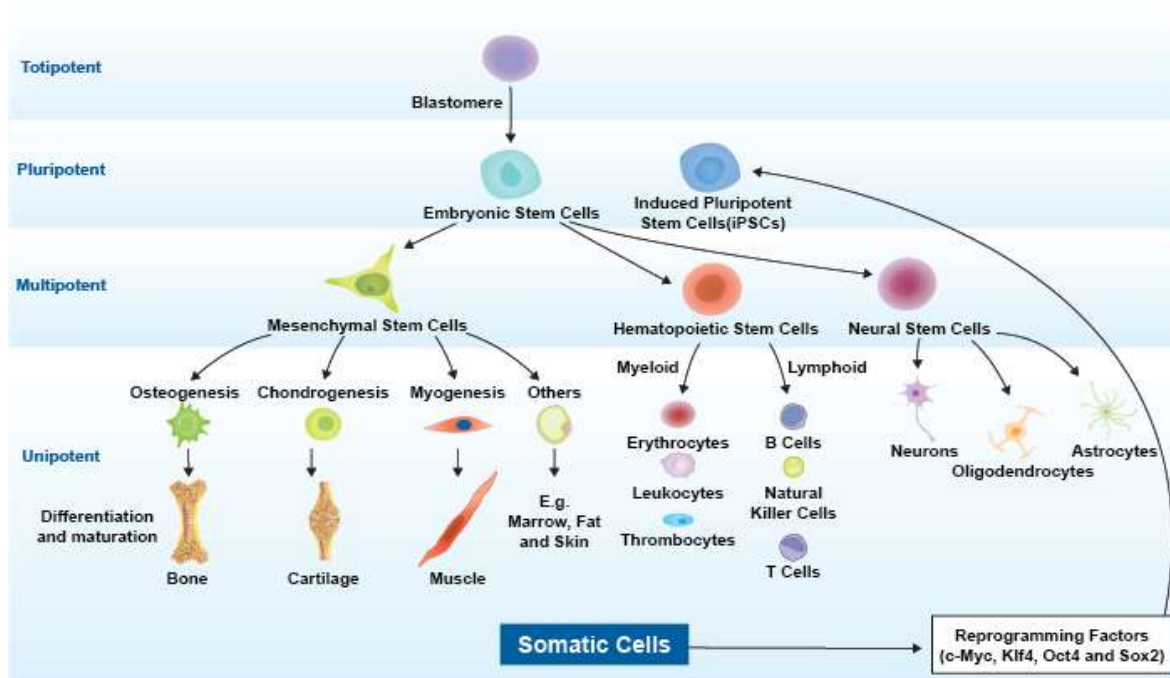
Τι είναι στελεχειαία κύτταρα

Τα στελεχειαία κύτταρα είναι αδιαφοροποίητα κύτταρα που υπάρχουν στα εμβρυϊκά, βρεφικά και ενήλικα στάδια της ζωής από τα οποία προκύπτουν διαφοροποιημένα κύτταρα που αποτελούν δομικά στοιχεία ιστών και οργάνων. Στα μεταγεννητικά και ενήλικα στάδια της ζωής, στελεχειαία κύτταρα διαφοροποιημένα ειδικά για κάθε ιστό βρίσκονται στα διάφορα όργανα και βοηθούν στην επισκευή μετά από τραυματισμό του. Τα κύρια χαρακτηριστικά των στελεχειαίων κυττάρων είναι: (α) αυτοανανέωση (η ικανότητα πολλαπλασιασμού σε μεγάλο βαθμό), (β) κλωνικότητα (συνήθως προκύπτει από ένα μόνο κύτταρο) και (γ) «δυνατότητα» (η ικανότητα διαφοροποίησης σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων). Αυτές οι ιδιότητες μπορεί να διαφέρουν μεταξύ διαφόρων στελεχειαίων κυττάρων. Για παράδειγμα, τα εμβρυονικά στελεχειαία κύτταρα (ESCs) προερχόμενα από βλαστοκύστη έχουν μεγαλύτερη ικανότητα για αυτοανανέωση και διαφοροποίηση, ενώ τα στελεχειαία κύτταρα που βρίσκονται σε ενήλικες ιστούς έχουν περιορισμένη αυτοανανέωση, καθώς δεν πολλαπλασιάζονται εκτενώς και μπορούν μόνο να διαφοροποιηθούν σε ειδικά κύτταρα του συγκεκριμένου ιστού.

Το ανθρώπινο σώμα αναπτύσσεται από το ζυγωτό και τη βλαστοκύστη, από τα οποία προέρχονται τα ESCs που διαφοροποιούνται στις τρεις βλαστικές στοιβάδες κυττάρων, το ενδόδερμα, το μεσόδερμα και το εξώδερμα. Συγκεκριμένα όργανα προκύπτουν από τα κάθε βλαστική στοιβάδα. Μερικά από τα προγονικά κύτταρα που έχουν συμβάλει στον σχηματισμό οργάνων διαφοροποιούνται τελικά αλλά διατηρούνται ως στελεχειαία κύτταρα του ιστού και μπορεί να βρεθούν στο μυελό των οστών, τα οστά, το αίμα, τους μύς, το συκώτι, τον εγκέφαλο, το λιπώδη ιστό, το δέρμα και τη γαστρεντερική οδό (Denham, 2005) (Vats, 2005). Τα στελεχειαία κύτταρα των ιστών μπορούν να ονομαστούν προγονικά κύτταρα δεδομένου ότι δημιουργούν τελικώς διαφοροποιημένα και εξειδικευμένα κύτταρα του ιστού ή του οργάνου. Αυτά τα κύτταρα μπορεί να είναι αδρανή μέσα στον ιστό αλλά θα πολλαπλασιαστούν σε περιστάσεις τραυματισμού και επισκευής (He, 2009) (Falanga, 2012). Η δυναμική των στελεχειαίων κυττάρων των ιστών ή των προγονικών κυττάρων ποικίλλει από ιστό σε ιστό, για παράδειγμα, στο μυελό των οστών, το συκώτι, τους πνεύμονες και το έντερο, τα στελεχειαία κύτταρα πολλαπλασιάζονται τακτικά για να

συμπληρώνουν τα κύτταρα κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου εργασιών ή σε περίπτωση τραυματισμού (Lane, 2007) (Fausto, 2004) (Shaker, 2012) (Han, 2006), ενώ στο πάγκρεας, την καρδιά ή το νευρικό σύστημα πολλαπλασιάζονται για να αντικαταστήσουν κατεστραμμένα κύτταρα μετά από τραυματισμό (Angelini, 2004) (Mirotsoy, 2011) (Mansergh, 2000) (Bouwens, 1998) (Lodi, 2011).

Η ιδέα της επιδιόρθωσης τραυμάτων και της αναγέννησης οργάνων είναι τόσο παλιά όσο η ανθρωπότητα και αντανakλάται στον αρχαίο ελληνικό μύθο του Προμηθέα, του Έλληνα τιτάνα που τιμωρείται από τον Δία για την ανυπακοή του και την προσφορά της φωτιάς και της γνώσης στον άνθρωπο. Σε αυτό τον μύθο, ο Προμηθέας είναι δεμένος σε ένα βράχο και καθημερινά ένας αετός τρώει μέρος του συκωτιού του που κάθε βράδυ αυτό αναγεννάται. Στη σύγχρονη ιατρική, εργασίες που περιλαμβάνουν στελεχειαία κύτταρα και αναγέννηση οργάνων ξεκίνησαν με τις πρώτες προσπάθειες μεταμόσχευσης μυελού των οστών σε ζωικά μοντέλα κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1950. Αυτές οι πρωτοποριακές μελέτες άνοιξαν τον δρόμο για τη μεταμόσχευσης μυελού των οστών στον άνθρωπο (Dameshek, 1957), μία θεραπεία που χρησιμοποιείται ευρέως σε διάφορες διαταραχές του αίματος (de la Morena, 2010). Αυτή η νέα θεραπευτική στρατηγική αποκάλυψε την ύπαρξη βλαστικών κύτταρων που αναγέννησαν ενήλικο ιστό (Le, 2006). Επί του παρόντος, η αναγεννητική ιατρική αποτελεί σημαντικό επίκεντρο της έρευνας, όχι μόνο για να βρεθούν θεραπείες αλλά και να κατανοήσουμε τη βασική βιολογία και την παθογένεια της νόσου (Chien, 2008) (Inoue, 2011) (Fahey, 2011). Αν και ένας αριθμός ηθικών ζητημάτων έχουν προκύψει στην έρευνα βλαστικών κυττάρων (McCormick, 2010), πρόσφατες εξελίξεις στην απομόνωση και ανάπτυξη τους έχουν βοηθήσει τους επιστήμονες να εντοπίσουν και να καλλιεργήσουν συγκεκριμένους τύπους κυττάρων αναγέννησης ιστού σε διάφορες διαταραχές όπως Parkinson (Xi, 2008), Alzheimer (Magga, 2012) ή ασθένειες της καρδιάς (Perin, 2012), μυών (Cerletti, 2008), πνευμόνων (Tzouvelekis, 2011) (Weiss, 2011), ήπατος (Rashid, 2010) και άλλων οργάνων (Lodi, 2011).



Εικόνα 1. Η ιεραρχία των βλαστικών κυττάρων. Τα ολοδύναμα (totipotent) τα κύτταρα σχηματίζουν εμβρυονικά και εξω-εμβρυονικό ιστό. Τα ποικιλοδύναμα (pluripotent) κύτταρα σχηματίζουν και τις τρεις κυτταρικές στοιβάδες ενώ δημιουργούνται πολυδύναμα (multipotent) κύτταρα που περιορίζονται σε μία κυτταρική στοιβάδα. (<https://www.novusbio.com>, 2021)

Ταξινόμηση στελεχειαίων κυττάρων με βάση τη δυνατότητα διαφοροποίησης
 Η ικανότητα διαφοροποίησης, ένα από τα δύο κύρια χαρακτηριστικά των στελεχειαίων κυττάρων, ποικίλλει ανάλογα με την προέλευση και την παραγωγή τους (βλ. Εικ. 1). Όλα Τα στελεχειαία κύτταρα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με τη διαφοροποιητική τους δυνατότητα σε 5 ομάδες: ολοδύναμα (totipotent ή omnipotent), ποικιλοδύναμα (pluripotent), πολυδύναμα (multipotent), ολιγοδύναμα (oligopotent) και μονοδύναμα (unipotent) (Πίν. 1) (Smith, 2006).

Ολοδύναμα κύτταρα (Totipotent or omnipotent Cells)

Τα ολοδύναμα κύτταρα είναι τα πιο αδιαφοροποίητα κύτταρα και βρίσκονται στην πρώτη ανάπτυξη. Ένα γονιμοποιημένο ωκύτταρο και τα κύτταρα των δύο πρώτων διαιρέσεων είναι ολοδύναμα κύτταρα, καθώς διαφοροποιούνται σε εμβρυονικό και εξωεμβρυονικό ιστό, σχηματίζοντας έτσι το έμβρυο και τον πλακούντα (Rossant J. , 2001).

Ποικιλοδύναμα κύτταρα (Pluripotent Cells)

Τα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα είναι σε θέση να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα των τριών κυτταρικών στοιβάδων - ενδόδερμα, μεσόδερμα και εξώδερμα - από το οποίο αναπτύσσονται όλοι οι ιστοί και τα όργανα (De Miguel, 2010). Τα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα που ονομάστηκαν ESCs ήταν τα πρώτα που προήρθαν από την εσωτερική κυτταρική μάζα της βλαστοκύστης (Evans, 1981). Το 2006, οι Takahashi και Yamanaka (Takahashi, 2006) δημιούργησαν ποικιλοδύναμα κύτταρα με επαναπρογραμματισμό σωματικών κυττάρων. Αυτά τα κύτταρα ονομάζονται επαγόμενα πολυδύναμα στελεχιαία κύτταρα (iPSCs) και μοιράζονται παρόμοια χαρακτηριστικά με τα ESCs. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι δεν έχει απομονωθεί ποικιλοδύναμος κυτταρικός πληθυσμός από τον πνεύμονα.

Πολυδύναμα κύτταρα (Multipotent Cells)

Πολυδύναμα στελεχιαία κύτταρα βρίσκονται στους περισσότερους ιστούς και διαφοροποιούνται σε κύτταρα μίας μόνο κυτταρικής στοιβάδας (Ratajczak, 2012). Τα μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα (MSCs) είναι τα πιο γνωστά πολυδύναμα κύτταρα. Μπορεί να προέρχονται από μια ποικιλία ιστών συμπεριλαμβανομένου του μυελού των οστών, του λιπώδους ιστού, των οστών, της γέλης του Wharton, αίματος ομφάλιου λώρου και περιφερικού αίματος (Augello, 2010). Τα MSCs είναι προσκολλημένα στα τρυβλία κυτταρικής καλλιέργειας και χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένους δείκτες κυτταρικών επιφανειών. Τα κύτταρα αυτά μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ιστό που προέρχεται από μεσόδερμα όπως λιπώδης ιστός, οστά, χόνδρος και μυς (Augello, 2010) (Bruder, 1997) (Prockop, 1997) (Friedenstein, 1970). MSCs διαφοροποιήθηκαν σε νευρικό ιστό προερχόμενο από το εξώδερμα. Αυτό είναι ένα παράδειγμα της διαφοροποίησης, δηλαδή όταν ένα κύτταρο από ένα κυτταρικό στρώμα (μεσόδερμα) διαφοροποιείται σε νευρικό ιστό (εξώδερμα) (Barzilay, 2009). Ενώ MSCs έχουν απομονωθεί από τον ιστό του πνεύμονα, κανένα άλλο πολυδύναμο κύτταρο δεν έχει απομονωθεί μέχρι σήμερα (Jarvinen, 2008).

Ολιγοδύναμα κύτταρα (Oligopotent Cells)

Τα ολιγοδύναμα στελεχιαία κύτταρα είναι σε θέση να ανανεώνονται και να σχηματίζουν δύο ή περισσότερες κυτταρικές σειρές εντός ενός συγκεκριμένου ιστού, για παράδειγμα

η οφθαλμική επιφάνεια του χοίρου, συμπεριλαμβανομένου του κερατοειδούς, έχει αναφερθεί ότι περιέχει ολιγοδύναμα βλαστικά κύτταρα που παράγουν μεμονωμένες αποικίες κυττάρων κερατοειδούς και επιπεφυκότα (Majo, 2008). Τα αιμοποιητικά στελεχιαία κύτταρα είναι ένα τυπικό παράδειγμα ολιγοδύναμων στελεχιαίων κυττάρων, καθώς μπορούν να διαφοροποιηθούν και στις δύο σειρές κυττάρων, μυελοειδείς και λεμφοειδείς (Marone, 2002). Στον πνεύμονα, σύμφωνα με μελέτες, τα κύτταρα σύνδεσης των βρογχοκυψελιδικών αγωγών μπορούν να δώσουν γέννηση στο βρογχικό αλλά και το κυψελιδικό επιθήλιο (Kim, 2005).

Μονοδύναμα κύτταρα (Unipotent Cells)

Τα μονοδύναμα στελεχιαία κύτταρα μπορούν να ανανεωθούν και να διαφοροποιηθούν σε έναν μόνο τύπο κυττάρων σχηματίζοντας μία κυτταρική σειρά, όπως τα μυϊκά στελεχιαία κύτταρα δημιουργούν ώριμα μυϊκά κύτταρα και κανέναν άλλο τύπο κυττάρων (Overturf, 1997) (de Rooij, 1998) (Bentzinger, 2013) (Beck, 2012). Στον πνεύμονα, πνευμονοκύτταρα τύπου II των κυψελίδων γενούν πνευμονοκύτταρα τύπου I.

Πίνακας 1. Ταξινόμηση στελεχιαίων κυττάρων σύμφωνα με την ικανότητα διαφοροποίησης και προέλευσής τους (Kolios, 2013).

Δυνατότητα διαφοροποίησης	Προέλευση
Ολοδύναμα-Totipotent or omnipotent	
Ποικιλοδύναμα-Pluripotent	ESCs, iPSCs
Πολυδύναμα-Multipotent	Εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα-Fetal stem cells
Ολιγοδύναμα-Oligopotent	Ενήλικα ή σωματικά στελεχιαία κύτταρα -
Μονοδύναμα-Unipotent	Adult or somatic stem cells

Ταξινόμηση στελεχειαίων κυττάρων με βάση την προέλευση

Τα στελεχειαία κύτταρα μπορούν να ομαδοποιηθούν σε 4 ευρείες κατηγορίες με βάση την προέλευσή τους: ESCs, εμβρυϊκά και ενήλικα στελεχειαία κύτταρα και iPSCs (Πίν. 1) (Ilic, 2011) (Bongso A. R., 2004). Σε γενικές γραμμές, τα ESCs και τα iPSCs είναι ποικιλοδύναμα, ενώ τα ενήλικα στελεχειαία κύτταρα είναι ολιγοδύναμα ή μονοδύναμα.

Εμβρυονικά στελεχειαία κύτταρα (Embryonic Stem Cells)

Τα ESCs είναι ποικιλοδύναμα, προέρχονται από την εσωτερική μάζα των κυττάρων της βλαστοκύστης, ένα στάδιο του εμβρύου πριν από την εμφύτευση, 5-6 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση (Evans, 1981). Τα κύτταρα αυτά μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ιστό των 3 πρωτογενών κυτταρικών στρωμάτων, όπως επίσης να διατηρηθούν σε αδιαφοροποίητη κατάσταση για παρατεταμένη χρονική περίοδο σε καλλιέργεια (Yao, 2006). Η βλαστοκύστη έχει 2 στρώματα κυττάρων, δηλαδή την εσωτερική μάζα κυττάρων, η οποία θα σχηματίσει το έμβρυο, και την εξωτερική μάζα κυττάρων, η οποία ονομάζεται τροφοβλάστη, και θα σχηματίσει τον πλακούντα. Κύτταρα από το εσωτερικό στρώμα των κυττάρων διαχωρίστηκαν από τους τροφοβλάστες και μεταφέρθηκαν σε ένα τρυβλίο καλλιέργειας κάτω από πολύ ειδικές συνθήκες για την ανάπτυξη σειρών ESCs (Bongso A. , 2006). Τα ESCs χαρακτηρίζονται από την παρουσία παραγόντων μεταγραφής όπως Nanog και Oct4 (Hambiliki, 2012) (Wang, 2012). Αυτοί οι παράγοντες διατηρούν τα στελεχειαία κύτταρα σε αδιαφοροποίητη κατάσταση, ικανή για αυτοανανέωση (Wang, 2012) (Liang, 2008). ESCs που έχουν καλλιεργηθεί σε μια αδιαφοροποίητη κατάσταση χωρίς γενετικές ανωμαλίες πολλαπλασιάζονται ως μια γραμμή ESCs. Αυτά τα κύτταρα θα μπορούσαν να καταψυχθούν και να αποψυχθούν για περαιτέρω καλλιέργειες και πειραματισμούς (Baharvand, 2004). Οι καλλιεργητικές συνθήκες είναι κρίσιμες για τη διατήρηση των ESCs σε αδιαφοροποίητη κατάσταση, γι' αυτό χρησιμοποιείται ένα τροφοδοτικό στρώμα κυττάρων εμβρυϊκών ινοβλαστών (MEFCs) ή μέσο που περιέχει την αντι-διαφοροποιητική κυτοκίνη ανασταλτικό παράγοντα λευχαιμίας (LIF). Απόσυρση του LIF από το μέσο ή αφαίρεση των ESCs από το στρώμα τροφοδοσίας οδηγεί στο σχηματισμό «εμβρυοειδών σωμάτων», στα οποία και τα 3 στρώματα κυττάρων (ενδόδερμα, μεσόδερμα, και το εξώδερμα) είναι παρόντα (Doetschman, 1985) (Hamazaki, 2001) (Thoma, 2012) (Shiroi, 2005) (Heydarkhan-Hagvall, 2012).

Στελεχιαία κύτταρα του ενήλικα (Adult Stem Cells)

Τα στελεχιαία κύτταρα των ενηλίκων προέρχονται από ιστό ενηλίκων. Παραδείγματα αποτελούν τα MSCs καθώς και τα στελεχιαία κύτταρα που προέρχονται από τον πλακούντα, όπως τα ανθρώπινα επιθηλιακά αμνιακά κύτταρα. Αυτά τα κύτταρα έχουν αποδειχθεί ότι είναι αντιφλεγμονώδη και αυξάνουν την επούλωση τραυματισμών σε ζωικά μοντέλα. Έχουν περιορισμένη ικανότητα διαφοροποίησης, παρόλο που *in vitro* έχουν διαφοροποιηθεί σε ιστό από διαφορετικές βλαστικές στοιβάδες κύτταρων (Moodley, 2010) (Plancheran, 2009).

Τα στελεχιαία κύτταρα των ενηλίκων έχουν το πλεονέκτημα ότι ως αυτόλογα κύτταρα δεν εγείρουν θέματα απόρριψης μοσχεύματος ή ηθικές αντιπαραθέσεις (McCormick, 2010) (Korbling, 2003). Τα στελεχιαία κύτταρα των ενηλίκων θα μπορούσαν να ληφθούν από όλους τους ιστούς και των τριών βλαστικών στοιβάδων, καθώς και τον πλακούντα. Πολλές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων ενηλίκων αποκαθιστά κατεστραμμένα όργανα *in vivo*, όπως η επισκευή των οστών και η επαναγγείωση του ισχαιμικού καρδιακού ιστού μέσω διαφοροποίησης στελεχιαίων κυττάρων και δημιουργίας νέων εξειδικευμένων κύτταρων (Chimutengwende-Gordon, 2012) (Obradovic, 2004) (Menasche, 2008). Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι τα στελεχιαία κύτταρα ενηλίκων προερχόμενα από καλλιέργεια εκκρίνουν διάφορους μοριακούς μεσολαβητές με αντιαποπτωτικές, ανοσορρυθμιστικές, αγγειογόνες και χημειοτακτικές ιδιότητες που προωθούν την επισκευή (Yeung, 2012).

Στελεχιαία κύτταρα ιστών

Η ικανότητα ορισμένων ιστών και οργάνων στον ενήλικα για ανανέωση και αυτοεπισκευή μετά από τραυματισμό εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα στελεχιαία κύτταρα που κατοικούν στους ίδιους τους ιστούς, τα οποία παράγουν ειδικά διαφοροποιημένα κύτταρα για τους συγκεκριμένους ιστούς (Passier, 2003). Μελέτες υποδεικνύουν ότι αυτά τα κύτταρα προέρχονται από την οντογένεση και παραμένουν σε αδράνεια μέχρι τοπικά ερεθίσματα να ενεργοποιήσουν τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση ή τη μετανάστευσή τους (Smart, 2008) (Voog, 2010).

Τα στελεχιαία κύτταρα των ιστών βρίσκονται στις «νησίδες των στελεχιαίων κυττάρων» (Kiefer, 2011). Η θέση αυτές είναι ένα μικροπεριβάλλον που ελέγχει την αυτοανανέωση και διαφοροποίηση των στελεχιαίων κυττάρων (Yeung T. C., 2011). Ένα αυξανόμενο σύνολο στοιχείων δείχνει ότι η λειτουργία των στελεχιαίων κυττάρων επηρεάζεται ιδιαιτέρως από εξωγενή σήματα του μικροπεριβάλλοντος, ως εκ τούτου, η θέση τους παίζει κρίσιμο ρόλο στην ομοίωση των στελεχιαίων κυττάρων και την επισκευή ιστών (Wagers, 2012) (He X. Z., 2004) (Kulkarni, 2011). Η πλειονότητα των στελεχιαίων κυττάρων ενός ιστού βρίσκονται σε αδρανή κατάσταση αλλά ενεργοποιούνται από συγκεκριμένα σήματα κατά τη διάρκεια τραυματισμού έτσι ώστε να γίνει η επισκευή του (Yeung T. C., 2011). Η αδράνεια των στελεχιαίων κυττάρων που κατοικούν στους ιστούς δεν είναι απόλυτα κατανοητή αλλά πιθανότατα επηρεάζεται από το εξειδικευμένο μικροπεριβάλλον. Αυτή η ιδιότητα είναι ζωτικής σημασίας για τη συντήρηση ενός πληθυσμού κυττάρων που δεν εκτελούν άλλες λειτουργίες εκτός από τη δημιουργία ιστοειδικών κυττάρων κατά τη διάρκεια της επισκευής του (Snirpirt, 2011). Το εξειδικευμένο περιβάλλον των νησίδων αποτελείται από διάφορα σηματοδοτικά μόρια προερχόμενα από το εξωκυττάριο υλικό (extracellular matrix) και διαλυτούς μεσολαβητές που εμπλέκονται στην κυτταρική σηματοδότηση και τη γονιδιακή έκφραση (Daniela, 2007) (Tsai, 2000) (Young, 2005), ρυθμίζοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό των στελεχιαίων κυττάρων, τη μετανάστευση, τη διαφοροποίηση ή την απόπτωση (Ruoslahti, 1997) (Streuli, 1999). Πρέπει ακόμη να διευκρινίσουμε ποια είναι τα ερεθίσματα για να μετακινηθούν τα στελεχιαία κύτταρα από μία κατάσταση αυτοανανέωσης και πολλαπλασιασμού σε διαφοροποίηση και εάν αυτά τα σήματα είναι ειδικά για τον συγκεκριμένο ιστό.

Επιπλέον, ο τύπος της κυτταρικής διαίρεσης στην οποία υποβάλλονται τα στελεχιαία κύτταρα καθορίζει τον τύπο των κυττάρων που παράγεται. Η συμμετρική κυτταρική διαίρεση ενός στελεχιαίου κυττάρου έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία πανομοιότυπων θυγατρικών κύτταρων, το οποία χρησιμοποιούνται για την αντικατάσταση των κατεστραμμένων κύτταρων μετά από τραυματισμό (Knoblich J. , 2001) (Morrison, 2006). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι μια ανεξέλεγκτη αύξηση του πολλαπλασιασμού των στελεχιαίων κυττάρων θα μπορούσε να οδηγήσει σε υπερπλασία στελεχιαίων κυττάρων ή/και καρκι-

νογένεση ενώ η μείωση των στελεχιαίων κυττάρων μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την επιδιόρθωση των οργάνων. Συνεπώς, η ισορροπία στην ομοιόσταση των στελεχιαίων κυττάρων είναι πολύ σημαντική (Yamashita, 2010).

Η ασύμμετρη διαίρεση συμβαίνει όταν ένα στελεχιαίο κύτταρο παράγει ένα ίδιο θυγατρικό κύτταρο και ένα δεύτερο διαφοροποιημένο θυγατρικό κύτταρο. Αυτή η διαδικασία επιτρέπει την επισκευή των οργάνων και την αναγέννηση, διατηρώντας παράλληλα έναν ικανό πληθυσμό στελεχιαίων κυττάρων (Neumuller, 2009) (Horvitz, 1992) (Knoblich, 2008).

Επαγόμενα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα (iPSCs)

Τα iPSCs παράγονται από σωματικά κύτταρα ενηλίκων που έχουν γενετικά επαναπρογραμματιστεί προς μία κατάσταση που ομοιάζει με τα εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα (ESCs) (Rossant, 2008). Τα iPSCs ποντικού αναφέρθηκαν για πρώτη φορά από τον Takahashi και Yamanaka (Takahashi, 2006) το 2006 με τη μετατροπή ινοβλαστών ποντικού με 4 γονίδια που κωδικοποιούν τους ακόλουθους παράγοντες μεταγραφής: τον συνδεδεμένο παράγοντα μεταγραφής στα οκταμερή 3 και 4 (OCT3/4), την πρωτεΐνη πλαισίου υψηλής κινητικότητας που σχετίζεται με το SRY 2 (SOX2), την ογκοπρωτεΐνη c-MYC και τον ομοιάζοντα με τον παράγοντα 4 (KLF4). Ένα χρόνο αργότερα, το 2007, ο Yamanaka και οι συνάδελφοί του (Takahashi K. T., 2007) περιέγραψαν τη δημιουργία ανθρώπινων iPSCs από δερματικούς ινοβλάστες ενηλίκων με τους ίδιους παράγοντες: Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc. Απέδειξαν ότι αυτά τα κύτταρα ήταν παρόμοια με τα ανθρώπινα ESCs από άποψη μορφολογίας, πολλαπλασιασμού, επιφανειακών αντιγόνων, γονιδιακής έκφρασης, επιγενετικής κατάστασης ειδικών γονιδίων για τα ποικιλοδύναμα κύτταρα και δραστηριότητας της τελομεράσης. Επιπλέον, θα μπορούσαν να διαφοροποιηθούν *in vitro* σε τύπους κυττάρων και των τριών βλαστικών στοιβάδων (Takahashi K. T., 2007). Τα iPSCs θεωρούνται χρήσιμα εργαλεία για την ανάπτυξη φαρμάκων, τη μοντελοποίηση ασθενειών και την αναγεννητική ιατρική. Αν και αυτά τα κύτταρα εκφράζουν παρόμοια χαρακτηριστικά με τα ποικιλοδύναμα βλαστικά κύτταρα (Wernig, 2007), δεν είναι ακόμη γνωστό εάν τα iPSCs και τα ESCs θα διαφέρουν σημαντικά στην κλινική πρακτική.

Ρετροϊικοί φορείς, που χρησιμοποιούνται για την εισαγωγή των παραγόντων επαναπρογραμματισμού σε ενήλικα κύτταρα, και ογκογονίδια όπως το c-Myc περιορίζουν

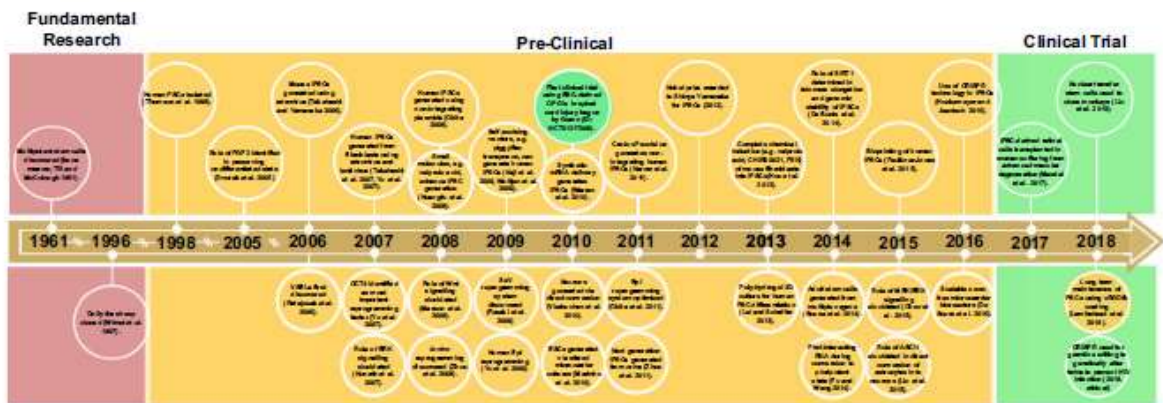
τη χρήση των iPSCs σε κλινικές μελέτες, καθώς οι φορείς που χρησιμοποιούνται για την εισαγωγή παραγόντων μεταγραφής στα ενήλικα κύτταρα είναι πιθανό να προκαλέσουν καρκίνο (Ebben, 2011). Οι ερευνητές επί του παρόντος αναζητούν νέες μεθόδους δημιουργίας ασφαλών iPSCs χωρίς γονιδιακή παρέμβαση (Pietronave S, 2012). Νέες τεχνικές έχουν περιγραφεί, χρησιμοποιώντας διάφορους τύπους ενήλικων σωματικών κυττάρων ποντικού και ανθρώπου, όπου για να αποφευχθεί η χρήση των ογκοπρωτεϊνών c-MYC και KLF4, έχουν χρησιμοποιήσει έναν παράγοντα (OCT3/4 ή KLF4) ή τους έχουν αντικαταστήσει με συνδυασμούς άλλων παραγόντων (Kim J. Z., 2008) (Kim J. S.-B., 2009), συμπεριλαμβανομένης της χρήσης μη ρετροϊκών φορέων, όπως χημικές ενώσεις, πλασμίδια, αδενοϊό και μεταθετά στοιχεία (Stadtfeld, 2008) (Okita, 2008) (Kaji, 2009) (Woltjen, 2009).

Παρά τα θέματα ασφάλειας, αυτή η καινοτόμος ανακάλυψη δημιούργησε ένα ισχυρό εργαλείο για τον επαναπρογραμματισμό σωματικών κυττάρων ενηλίκων, οδηγώντας τα σε προηγούμενα αδιαφοροποίητα στάδια και δημιουργώντας iPSCs τα οποία είναι αντίστοιχα με του δότη των κυττάρων και αποφεύγοντας έτσι ζητήματα απόρριψης του μοσχεύματος.

Ιστορική αναδρομή στην έρευνα των στελεχειαίων κυττάρων

Ιστορικά, πολλά βασικά ορόσημα έχουν οδηγήσει την πρόοδο στο πεδίο έρευνας των στελεχειαίων κυττάρων (βλ. Εικ. 2). Πάνω από μισό αιώνα πριν, το 1961, τα πρώτα στελεχειαία κύτταρα περιεγράφηκαν από τον Drs. James A. Till και Ernest A. McCulloch στο Πανεπιστήμιο του Τορόντο στον Καναδά (Till, 1961). Βρήκαν ότι τα στελεχειαία κύτταρα προερχόμενα από μυελό των οστών ποντικών είχαν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε ποικιλία κυτταρικών τύπων, και επομένως ονομάστηκαν ποικιλοδύναμα στελεχειαία κύτταρα (PSCs). Αρκετές δεκαετίες αργότερα, το 1996, η Ντόλυ το πρόβατο κλωνοποιήθηκε από τον Keith Campbell, τον Ian Wilmut και τους συναδέλφους τους στο Roslin Institute του Πανεπιστημίου του Εδιμβούργου στη Σκωτία, αποδεικνύοντας την εγκυρότητα της μεταφοράς πυρηνικών σωματικών κυττάρων (SCNT) (Wilmut, 1997). Στη συνέχεια, το 1998, τα πρώτα ανθρώπινα εμβρυονικά στελεχειαία κύτταρα (hESCs) απομονώθηκαν από τον James Thomson στις ΗΠΑ (Thomson, 1998). Το 2006, επαγόμενα PSCs (iPSCs) προήλθαν από επαναπρογραμματισμό σωματικών κυττάρων ενηλίκων με μόνο τέσσερις βασικούς μεταγραφικούς παράγοντες, λιγότερους από τους 24 παράγοντες (Takahashi, 2006) (Takahashi K. T., 2007). Το 2012, ο Shinya Yamanaka (Πανεπιστήμιο του Κιότο, Ιαπωνία και Gladstone Ινστιτούτο, ΗΠΑ) και ο John Gurdon (Ινστιτούτο Gurdon, Cambridge, UK) ήταν συν-παραλήπτες του βραβείου Νόμπελ για Φυσιολογία ή Ιατρική για την ανακάλυψή τους ότι ώριμα κύτταρα θα μπορούσαν να επαναπρογραμματιστούν σε ποικιλοδύναμη κατάσταση (<https://www.nobelprize.org>, 2012). Έκτοτε, οι ερευνητές εντόπισαν έμφυτα ενήλικα στελεχειαία κύτταρα σε διάφορα όργανα (Sousa, 2014) (Codega, 2014) (Bond, 2015). Μέχρι σήμερα, πέντε βασικές κατηγορίες στελεχειαίων κυττάρων έχουν προταθεί μετά τη συστηματική αναθεώρησή των ερευνών στελεχειαίων κυττάρων: εμβρυονικά στελεχειαία κύτταρα (ESCs), πολύ μικρά εμβρυονικά στελεχειαία κύτταρα (VSELs), πυρηνικά στελεχειαία κύτταρα μεταφοράς (NTSCs), επαναπρογραμματισμένα στελεχειαία κύτταρα (RSCs) και στελεχειαία κύτταρα ενηλίκων (ASCs). Μόνο NTSCs έχουν χρησιμοποιηθεί για να δημιουργηθεί ένας πλήρης οργανισμός: πίθηκοι δημιουργήθηκαν από NTSCs στην Κίνα το 2018 (Liu, 2018). Από την άλλη πλευρά, τα ESCs, τα iPSCs και τα ASCs έχουν χρησιμοποιηθεί μόνο για τη δημιουργία ιστών και οργάνων. Τα τελευταία χρόνια, και ειδικά την τελευταία δεκαετία, η έρευνα των στελεχειαίων κυττάρων έχει εξελιχθεί σε ένα συναρπαστικό και πολλά υπο-

σχόμενο πεδίο. Τα στελεχιαία κύτταρα, ειδικά τα ESCs και τα iPSCs είναι εξαιρετικά υποσχόμενα για εφαρμογή σε τέσσερα κύρια πεδία: τη μεταμόσχευση και αναγεννητική ιατρική (Dakhore, 2018) (Kwon, 2018), τη μοντελοποίηση ασθενειών (Pizzicannella, 2018) (Spitalieri, 2018), τον έλεγχο νέων φαρμάκων (Savoji, 2019) (Cota-Coronado, 2019) και τη βιολογία της ανθρώπινης ανάπτυξης (Fantuzzo, 2019) (Nikolić, 2018). Έτσι, η εξέλιξη της αναγεννητικής ιατρικής συνεχίζεται, από τις πρώτες περιγραφές των στελεχιαίων κυττάρων έως τις επεκτεινόμενες κλινικές εφαρμογές τους στο παρόν. Καθώς η τεχνολογία επαναπρογραμματισμού iPSCs είναι ακόμα σχετικά νέα, παραμένουν προκλήσεις, ειδικά όσον αφορά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση.



Εικόνα 2. Το χρονοδιάγραμμα των σημαντικών επιστημονικών εξελίξεων κατά την ιστορία της έρευνας των στελεχιαίων κυττάρων. Πολυδύναμα στελεχιαία κύτταρα ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά το 1961, που αντιπροσωπεύει την αρχική ανακάλυψη των στελεχιαίων κυττάρων και την αναγεννητική ιατρική Η Ντόλυ το πρόβατο κλωνοποιήθηκε το 1997. Η μετάβαση από τη βασική έρευνα, στην προ-κλινική έρευνα και τέλος στην κλινική έρευνα καθοδηγήθηκε από πολλές ανακαλύψεις και ορόσημα. Πολλές εξελίξεις στο συνδυασμό των παραγόντων επαναπρογραμματισμού, στις πειραματικές μεθόδους και στη διευκρίνιση των οδών σηματοδότησης συνέβαλαν πρόσφατα στις πρώτες κλινικές δοκιμές για μεταμοσχεύσεις κυττάρων αμφιβληστροειδούς και μοσχεύματα νωτιαίου μυελού. Η λιλά σκίαση αντιπροσωπεύει τη θεμελιώδη έρευνα, η κίτρινη σκίαση αντιπροσωπεύει τις προκλινικές δοκιμές και η πράσινη σκίαση αντιπροσωπεύει τις κλινικές δοκιμές. (Liu G. D., 2020)

Στελεχιαία κύτταρα που προέρχονται από αίμα ομφάλιου λώρου

Τις τελευταίες εβδομάδες της εγκυμοσύνης, το έμβρυο επεκτείνει σημαντικά την αιμοποίηση στην προετοιμασία του για τη φυσιολογική μετάβασή του στη γέννηση. Κατά τη γέννηση, η κυκλοφορία του νεογέννητου, ο πλακούντας και ο ομφάλιος λώρος είναι πλούσιοι σε αιμοποιητικά στελεχιαία κύτταρα, έναν τύπο πολυδύναμων στελεχιαίων κυττάρων με ικανότητα διαφοροποίησης στις τρεις κατηγορίες κυττάρων του αίματος: ερυθρά, λευκή και λεμφική σειρά. Ωστόσο, σε αντίθεση με τα εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα, τα στελεχιαία κύτταρα του αίματος του ομφάλιου λώρου δεν είναι ποικιλοδύναμα και είναι βιολογικά παρόμοια με των ενηλίκων. Το αίμα του ομφάλιου λώρου διαφέρει με δύο κρίσιμους τρόπους, καθιστώντας το ιδιαίτερα κατάλληλο ως πηγή αιμοποιητικών στελεχιαίων κυττάρων για μεταμόσχευση.

Πρώτον, τα λεμφοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου είναι ανοσολογικά ουδέτερα: είναι μη τροποποιημένα T-κύτταρα, παράγουν λιγότερες ενεργές κυτοκίνες και έχουν λιγότερα φυσικά κύτταρα δολοφόνους (NK) (Garderet, 1998). Σε αλλογενή μεταμόσχευση, αιμοποιητικά στελεχιαία κύτταρα προερχόμενα από αίμα ομφάλιου λώρου παράγουν εξασθενημένη ανοσοαπόκριση προς τους δότες, και σε σύγκριση με στελεχιαία κύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών, προκαλούν σημαντικά λιγότερο οξεία και χρόνια GVHD (Rocha, 2001) (Rocha V. W., 2000) (Rocha V. G., 2006). Μειωμένης σοβαρότητας GVHD επιτρέπει μικρότερη αυστηρότητα στην ιστοσυμβατότητα HLA και μεγαλύτερο βαθμό αναντιστοιχίας του ιστού του ομφάλιου λώρου συγκριτικά με τα αιμοποιητικά στελεχιαία κύτταρα που προέρχονται από το μυελό των οστών (Barker, 2003) (Rubinstein, 2006).

Δεύτερον, τα στελεχιαία κύτταρα του ομφάλιου λώρου έχουν υψηλότερη πολλαπλασιαστική δυναμικότητα από του μυελού των οστών, γεγονός που σημαίνει ότι απαιτούνται σημαντικά λιγότερα κύτταρα για την επαναφορά της αιμοποίησης (Barker, 2003) (Gluckman, 2005) (Rubinstein, 2006) (Rocha V. G., 2006). Περίπου 50-100 ml αίματος ομφάλιου λώρου που συλλέγεται κατά τη γέννηση περιέχει αρκετά αιμοποιητικά στελεχιαία κύτταρα για μεταμόσχευση σε ένα παιδί ή έναν μικρό ενήλικο και, με τη βελτίωση των μεθόδων συλλογής και αποθήκευσης, οι μονάδες αίματος ομφάλιου λώρου χρησιμοποιούνται κατά κόρον στις μεταμοσχεύσεις ενήλικων στελεχιαίων κυττάρων (Schoemans, 2006).

Το αίμα του ανθρώπινου ομφάλιου λώρου περιέχει επίσης μη αιμοποιητικά στελεχιαία κύτταρα, κυρίως μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα, μια άλλη κατηγορία πολυδύναμων στελεχιαίων κυττάρων που είναι ικανά να διαφοροποιηθούν σε πολλαπλές κυτταρικές σειρές δομικών και υποστηρικτικών ιστών, όπως ένας μυς, οστό και άλλοι μαλακοί ιστοί (Broxmeyer H. , 2005). Ωστόσο, αυτή η κατηγορία κυττάρων δεν είναι μοναδική, είναι βιολογικά παρόμοια με τα ενήλικα πολυδύναμα στελεχιαία κύτταρα αλλά, σε αντίθεση με τον μυελό των οστών ενηλίκων, εμπεριέχονται μόνο σε χαμηλούς αριθμούς στον ομφάλιο λώρο και δεν έχουν την ποικιλοδυναμία των εμβρυονικών στελεχιαίων κυττάρων (Wexler, 2003) (He Q. W., 2007).

Αναμφίβολα, τα αιμοποιητικά και μη αιμοποιητικά στελεχιαία κύτταρα που προέρχονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου διαφέρουν από τα αντίστοιχα των ενηλίκων, καθώς έχουν υποστεί λιγότερες συνολικά κυτταρικές διαιρέσεις και, ως «βιολογικά νεότερα», έχουν υποστεί μικρότερη γονιδιοτοξική βλάβη και επιγενετική τροποποίηση.

Μεσεγχυματικά στελεχειαία κύτταρα (MSCs)

Τα μεσεγχυματικά στελεχειαία κύτταρα (MSCs) είναι πολυδύναμα στελεχειαία κύτταρα που προέρχονται από το μεσόδερμα στις αρχές της ανάπτυξης. Τα MSCs ανακαλύφθηκαν αρχικά στο μυελό των οστών και αργότερα επιβεβαιώθηκε ότι απομονώθηκαν από μια ποικιλία ανθρώπινων ιστών, όπως λιπώδης ιστός, νευρικός ιστός, ομφάλιος λώρος και αμνιακό υγρό (Kobolak, 2016) (Zhan, 2019). Τα MSCs μυελού των οστών (BM-MSCs) είναι εξαιρετικά λίγα ενώ υπάρχει μεγάλη πιθανότητα μόλυνσης από ιούς. Επιπλέον, ο αριθμός των στελεχειαίων κύτταρων και η ικανότητα επέκτασης και διαφοροποίησης μειώνονται σημαντικά με την ηλικία, γεγονός που περιορίζει τη δική τους κλινική εφαρμογή (Kern, 2006). Μεταγενέστερες μελέτες έχουν δείξει ότι ο ανθρώπινος ομφάλιος λώρος περιέχει μεγάλες ποσότητες MSCs (Kern, 2006). Παραδοσιακά, ο ιστός του ομφάλιου λώρου θεωρείται ως απόβλητο μετά τη γέννηση, οπότε δεν υπάρχει ηθική διαμάχη για την απομόνωση MSCs από τον ιστό του ομφάλιου λώρου σε σύγκριση με τη λήψη MSCs από το μυελό των οστών. Η μορφολογία, ο ανοσοφαινότυπος, ο πολλαπλασιασμός, η πολυκατευθυντική διαφοροποίηση και η ικανότητα προώθησης της διαφοροποίησης αιμοποιητικών στελεχειαίων κυττάρων (HSCs) στα UC-MSCs είναι παρόμοια κυρίως με αυτή των BM-MSCs (Thaweesarphithak, 2019), αλλά τα UC-MSCs έχουν υψηλότερη πολλαπλασιαστική ικανότητα και χαμηλότερη έκφραση του ανθρώπινου αντιγόνου λευκοκυττάρων HLA-ABC και HLA-DR από τα BM-MSCs. Επιπλέον, τα UC-MSCs με μια μεγάλη ποικιλία στελεχειαίων κυττάρων είναι καλής προέλευσης και είναι εύκολο να συλλεχθούν και να διατηρηθούν. Τα UC-MSCs αναμένεται να αποτελέσουν μια ιδανική εναλλακτική πηγή για BM-MSCs (Zhao L. C., 2019).

Μεταμόσχευση ομφαλοπλακουντιακού αίματος

Η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων είναι μια θεραπευτική διαδικασία για πολλούς ασθενείς με λευχαιμία, λέμφωμα, μυελοδυσπλασία, μυελοϋπερπλαστικά νεοπλασμάτα και γενετικές διαταραχές. Η μεταμόσχευση αίματος ομφάλιου λώρου είναι μία πηγή μοσχεύματος για ασθενείς που δεν έχουν συμβατό δότη στην οικογένειά τους ή στο μητρικό δωτών. Είναι ιδιαίτερα δύσκολο για τους Μαύρους, τους Ισπανόφωνους και τους Λευκούς ασθενείς με μη δυτικοευρωπαϊκό υπόβαθρο να βρουν εντελώς ταυτόσημους ενήλικες εθελοντές δότες. Υπολογίζεται ότι 700.000 μονάδες ομφαλοπλακουντιακού αίματος λώρου δωρίστηκαν για δημόσια χρήση και έχουν εκτελεστεί πάνω από 40.000 μεταμοσχεύσεις αίματος ομφάλιου λώρου. Πάνω από 25.000 ασθενείς έχουν θεραπευτεί με αυτή την προσέγγιση.

Παραδοσιακά, η αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (HCT) έχει περιοριστεί σε πλήρως συμβατούς συγγενείς ή μη δότες. Κάθε αδελφός ή αδελφή έχει 25% πιθανότητα να ταιριάξει με τον ασθενή, μα δεδομένου του μεγέθους των περισσότερων οικογενειών στις ΗΠΑ και τη Δυτική Ευρώπη, μόνο το 30% των ασθενών θα έχει έναν πλήρως συμβατό δότη στην οικογένειά του (Gragert, 2014). Επειδή τα κύτταρα από το νεογέννητο μωρό είναι ανοσολογικά περισσότερο ουδέτερα, υπάρχει μικρότερος κίνδυνος για την ανοσολογική επιπλοκή της νόσου μοσχεύματος έναντι ξενιστή μετά τη μεταμόσχευση αίματος ομφάλιου λώρου και ως εκ τούτου ο ασθενής και η μονάδα ομφαλοπλακουντιακού αίματος δε χρειάζεται να ταυτίζεται απόλυτα. Έτσι, ασθενείς διαφορετικών φυλών και εθνικοτήτων είναι πιο πιθανό να βρουν κατάλληλο δότη ΟΠΑ όταν δεν μπορούν να βρουν συγγενή δότη ή δότη από το μητρικό δωρητών (Barker J. B., 2010).

Οι πρώτες επιτυχημένες συγγενείς και μη συγγενείς μεταμοσχεύσεις ομφαλοπλακουντιακού αίματος έγιναν σε παιδιά (Kurtzberg, 1996) (Gluckman E. B., 1989). Τα αποτελέσματα για παιδιατρικούς ασθενείς με οξεία λευχαιμία που έλαβαν μη συγγενή μονάδα ΟΠΑ συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα παιδιών μετά από μεταμόσχευση με ταυτόσημο μη συγγενή δότη (HCT) (Eapen, 2007) (Wagner J. E., 2014) και τα καλύτερα αποτελέσματα αφορούσαν τα παιδιά που έλαβαν πλήρως ταυτόσημο ομφαλοπλακουντιακό αίμα. Τα αποτελέσματα ήταν συγκρίσιμα μεταξύ της παραδοσιακής μη συγγενούς μεταμόσχευσης μυελού των οστών και του ομφαλοπλακουντιακού αίματος. Ο έλεγχος της χορήγησης μο-

νής έναντι διπλής μονάδας ομφαλοπλακουντιακού αίματος σε μια προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη δεν έδειξε πλεονέκτημα στην πιο δαπανηρή διπλή CBT (Wagner J. E., 2014). Παιδιά με μεταβολικές διαταραχές όπως το σύνδρομο Hurler, η νόσος Krabbe και το σύνδρομο Sanfilippo έχουν εξαιρετικά αποτελέσματα εάν μεταμοσχευθούν νωρίς στην πορεία της νόσου (75% στα 5 έτη) (Prasad, 2008).

Μετά τα αρχικά ενθαρρυντικά αποτελέσματα στα παιδιά, η μεταμόσχευση ΟΠΑ επεκτάθηκε σε ενήλικες με αιματολογικές κακοήθειες που δεν έβρισκαν συμβατό δότη, συγγενή ή εθελοντή. Τα αρχικά αποτελέσματα υπέδειξαν υψηλή θνησιμότητα σχετιζόμενη με τη μεταμόσχευση, η οποία βελτιώθηκε με την καλύτερη επιλογή μονάδων ΟΠΑ, τη σύγχρονη υποστηρικτική φροντίδα, ειδικά όσον αφορά την πρόληψη και θεραπεία λοιμώξεων, και τη χρήση του μονάδων ΟΠΑ με υψηλότερες δόσεις κυττάρων (Laughlin, 2001). Η διπλή μεταμόσχευση ομφαλοπλακουντιακού αίματος (χρησιμοποιώντας δύο μερικώς ταυτόσημες μονάδες ΟΠΑ) και η χρήση μειωμένης έντασης θεραπείας ήταν μία πρωτοπορία της ομάδα του Πανεπιστημίου της Μινεσότα, η οποία ενσωματώθηκε σε διάφορα κέντρα μεταμόσχευσης, με ελεύθερη ασθένειας επιβίωση από 35–45% (Ballen K. S., 2007) (Barker J. W., 2005) (Cutler, 2011). Η χρήση μίας έναντι διπλής ΟΠΑ δεν έχει δοκιμαστεί σε μελέτη φάσης III σε ενήλικες και παραμένει αμφιλεγόμενη.

Η οξεία μυελογενής λευχαιμία 3-κινάσης τυροσίνης τύπου FMS (FLT3) έχει υψηλό κίνδυνο υποτροπής και αποτελεί ένδειξη για HCT. Η χωρίς λευχαιμία επιβίωση ήταν παρόμοια μεταξύ ασθενών που έλαβαν ομφαλοπλακουντιακό αίμα, αιμοποιητικά κύτταρα από συγγενή ή βρήκαν συμβατό μη συγγενή δότη, αν και η νόσος του μοσχεύματος έναντι του ξενιστή ήταν χαμηλότερη στο ΟΠΑ (Ustun, 2017). Βέβαια, η επιλογή της βέλτιστης μονάδας ΟΠΑ είναι πιο περίπλοκη από ότι στην τυπική συγγενή ή μη συγγενή μεταμόσχευση. Εκτός από την ταυτοποίηση HLA, πρέπει να ληφθούν αποφάσεις σχετικά με τη δόση των κυττάρων, τα HLA αντισώματα και τη βιωσιμότητα των κυττάρων. Ασθενείς που έχουν ειδικά για το δότη HLA αντισώματα κατά της επιλεγμένης μονάδας ΟΠΑ έχει αποδειχθεί ότι έχουν μικρότερη πιθανότητα αποδοχής του μοσχεύματος και επιβίωσης, οπότε αυτές οι μονάδες πρέπει να αποφεύγονται (Cutler C. K., 2011).

Μία απλοϊδική μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων είναι μία μεταμόσχευση από έναν ημισυμβατό δότη. Με βάση τη γενετική, τα παιδιά, οι γονείς και το 50% των

αδελφών θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως απλοϊδικοί δότες. Παράλληλες μελέτες φάσης II έδειξαν παρόμοια συνολική ετήσια και χωρίς εξέλιξη επιβίωση (Brunstein, 2011). Μία μεγάλη εθνική τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης III των ΗΠΑ που συγκρίνει αυτές τις δύο πηγές μοσχεύματος είναι σε εξέλιξη και αποτελεί μελέτη υψηλής προτεραιότητας για την κοινότητα των μεταμοσχεύσεων.

Ένας από τους περιοριστικούς παράγοντες της μεταμόσχευσης ΟΠΑ είναι η καθυστερημένη αποδοχή του μοσχεύματος και ανάκτηση του ανοσοποιητικού που μπορεί να οδηγήσει σε μόλυνση, ιδιαίτερα μη συχνές ιογενείς λοιμώξεις (Ballen K. W.-A., 2016). Σε ασθενείς με λευχαιμία με χαμηλή γενικότερη κατάσταση έχει μειωθεί η επιβίωση μετά από μεταμόσχευση με ΟΠΑ σε σύγκριση με άλλες πηγές μοσχεύματος, πιθανώς λόγω των υψηλών ποσοστών μόλυνσης και επιπλοκών που σχετίζονται με τη μεταμόσχευση. Διάφορες στρατηγικές έχουν ακολουθηθεί για να βελτιωθεί αυτή η καθυστερημένη ανοσολογική ανάκαμψη, όπως ένεση στο μυελό των οστών, ex vivo επέκταση και προφύλαξη από τη λοίμωξη με τη χρήση φαρμάκων (Kiernan, 2017). Όλες οι μελέτες ως τώρα είναι μικρές και καμία δεν έχει τεκμηριώσει βελτιωμένη επιβίωση σε μια τυχαιοποιημένη μελέτη. Σε γενικές γραμμές, οι ex vivo μελέτες επέκτασης απαιτούν πιο εξειδικευμένες τεχνικές διαθέσιμες σε λίγα μόνο κέντρα. Άλλες στρατηγικές περιλαμβάνουν τη μεταμόσχευση ΟΠΑ εντός του μυελού των οστών, στις οποίες η μονάδα του ΟΠΑ εγχέεται κατευθείαν στη λαγόνια κορυφή. Ιαπωνική μελέτη έδειξε ταχύτερη ανάκτηση αιμοπεταλίων και βελτιωμένο χημειορισμό δότη (το μέτρο του δότη έναντι του DNA του δέκτη) με αυτή την προσέγγιση (Kurita, 2017). Απαιτούνται σελεκτίνες για να ξεκινήσουν τα βλαστοκύτταρα να τροποποιούνται μέσω της διαδικασίας της φουκοσυλίωσης. Μια μικρή μελέτη που χρησιμοποιεί τη φουκοσυλίωση των κυττάρων του ΟΠΑ έχει δείξει ανταπόκριση σε 14 ημέρες (Porat, 2015). Ο συνδυασμός απλοϊδικής μεταμόσχευσης με μία ή δύο μονάδες ΟΠΑ έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει την ανταπόκριση (Bautista, 2009) (Liu H. R., 2011). Μια νέα προσέγγιση για τη μείωση των ιογενών λοιμώξεων είναι η χρήση τριπλών ιικών (αδενοϊός, ιός Epstein-Barr και κυτταρομεγαλοϊός) διευρυμένων T κύτταρων. Αυτά τα T κύτταρα έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη θεραπεία οξειών ιογενών λοιμώξεων μετά από μεταμόσχευση ΟΠΑ (Hanley, 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Τράπεζες Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος

Ιστορική αναδρομή στη δημιουργία των τραπεζών

Οι αρχικές παρατηρήσεις ότι το αίμα του ομφάλιου λώρου (UCB) περιείχε κύτταρα ικανά να αναπαράγουν in vitro την αιμοποίηση και ότι αυτά τα κύτταρα θα μπορούσαν να κρυοσυντηρηθούν (Knudtson, 1974) (Fauser, 1978) (Prindull, 1978) (Broxmeyer H. D., 1989) (Broxmeyer H. H., 1992), άνοιξε το δρόμο για τη χρήση αυτών των κυττάρων σε κλινικό περιβάλλον. Η πρώτη προσπάθεια μεταμόσχευσης ΟΠΑ αναφέρθηκε το 1972 (Ende, 1972), αλλά η πρώτη επιτυχημένη μεταμόσχευση ΟΠΑ πραγματοποιήθηκε το 1988 από την Elianne Gluckman και την ομάδα της στο Παρίσι, σε έναν ασθενή με αναιμία Fanconi, χρησιμοποιώντας αίμα ομφάλιου λώρου με ταυτόσημο ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων (HLA) (Gluckman E. B., 1989), και ο ασθενής είναι ακόμα ζωντανός και υγιής. Αυτή η επιτυχία οδήγησε στην ίδρυση από τον Rubinstein στη Νέα Υόρκη της πρώτης τράπεζας ομφαλοπλακουντιακού αίματος (CBB) μη σχετιζόμενων δοτών από εθελοντές δωρητές το 1991 (Rubinstein P. T., 1994). Οι δύο πρώτες μεταμοσχεύσεις ομφαλοπλακουντιακού αίματος μη σχετιζόμενων δοτών, χρησιμοποιώντας μονάδες από αυτή την τράπεζα, πραγματοποιήθηκαν το 1993 και η πρώτη αναφορά σημαντικών κλινικών αποτελεσμάτων μη συγγενών μεταμοσχεύσεων αίματος ομφάλιου λώρου δημοσιεύθηκε το 1996 (Kurtzberg, 1996).

Αυτά τα αποτελέσματα οδήγησαν στη συνειδητοποίηση ότι, προκειμένου να διευκολυνθεί η μεταμόσχευση αίματος ομφάλιου λώρου, απαιτείται μεγάλος αριθμός και υψηλής ποιότητας μονάδες (CBUs), οι οποίες θα μπορούσαν να είναι άμεσα διαθέσιμες παγκοσμίως. Διάφοροι ερευνητές άρχισαν να αναπτύσσουν διαδικασίες συλλογής, αποθήκευσης και απελευθέρωσης CBUs για μεταμόσχευση για πιθανούς συγγενείς και μη παραλήπτες. Σήμερα, υπάρχουν παγκοσμίως περίπου 55 Δημόσιες Τράπεζες ΟΠΑ σε 36 χώρες, διαθέτουν περισσότερες από 750.000 μονάδες ΟΠΑ και έχουν ήδη πραγματοποιηθεί περισσότερες από 35.000 αλλογενείς μεταμοσχεύσεις για κακοήθη αιματολογικά και μη-κακοήθη αιματολογικά και γενετικά. Ο αριθμός των Ιδιωτικών Τραπεζών ΟΠΑ είναι πάνω από 400, διαθέτουν εκατομμύρια μονάδων ΟΠΑ αλλά έχουν πραγματοποιήσει ελάχιστες μεταμοσχεύσεις (<https://www.eom.gr/>, 2021). Οι κακοήθεις και μη ασθένειες συμπεριλαμβάνουν την οξεία και χρόνια λευχαιμία, την ανεπάρκεια του μυελού των οστών,

ανοσοανεπάρκειες και κληρονομικές μεταβολικές διαταραχές (Rocha V. W., 2000) (Laughlin, 2001) (Laughlin M. E., 2004) (Wagner J. B., 2002) (Rocha V. L., 2004) (Prasad, 2008) (Brunstein C. B., 2007) (Eapen, 2007) (Barker J. W., 2001).

Μετά την ίδρυση πολλών CBBs, έγινε σύντομα συνειδητό ότι τα δίκτυα σε εθνικό και διεθνές επίπεδο απαιτούνταν να μοιράζονται τις πληροφορίες που διατηρούνται σε κάθε CBB, αυτό οδήγησε στην ίδρυση του NETCORD το 1998 (<https://www.netcord.org>). Η κύρια αρμοδιότητα της NETCORD ήταν να δημιουργηθεί ένα διεθνές μητρώο CBUs και η ανάπτυξη διαδικασιών και προτύπων ποιότητας για την ασφαλή ανταλλαγή και κλινική χρήση των αποθηκευμένων μονάδων. Αυτές οι προσπάθειες κορυφώθηκαν το 2000 με την ίδρυση του NetCord-Ίδρυμα για τη Διαπίστευση Κυτταρικών Θεραπειών (FACT) με Διεθνή Πρότυπα Διαπίστευσης Συλλογής Αίματος Ομφάλιου Λώρου, Επεξεργασίας, Ελέγχου, Αποθήκευσης, Επιλογής και Απελευθέρωσης με τη δημοσίευση της τελευταίας έκδοσης το 2019 (<http://www.factwebsite.org>).

Εκτός από τη δημιουργία του Μητρώου, την ανάπτυξη προτύπων και την προώθηση της κλινικής χρήσης του ομφαλοπλακουντιακού αίματος, το NETCORD συνέβαλε επίσης στη δημιουργία μητρώου για την επικύρωση και αξιολόγηση των μεταμοσχευμένων CBUs. Αυτό το μητρώο, Eurocord, ιδρύθηκε το 1999 και είναι υπεύθυνο για τη συλλογή και ανάλυση όλων των κλινικών δεδομένων σχετικά με τις μεταμοσχεύσεις αίματος ομφάλιου λώρου εξ ονόματος της Ευρωπαϊκής Ομάδας Μεταμόσχευση Αίματος και Μυελού (EBMT) (Gluckman E. R.-C., 1997). Το Eurocord και το αμερικανικό μητρώο CIBMTR συμφώνησαν να μοιράζονται πληροφορίες και αναλύσεις, προκειμένου να αποφεύγετε η πολλαπλή δημοσίευση των αναφερόμενων δεδομένων.

Στην Ελλάδα, η πρώτη δημόσια τράπεζα ομφαλοπλακουντιακού αίματος ξεκίνησε το 1994 στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Γ.Γεννηματάς» από την κυρία Σταυροπούλου-Γκιόκα Αικατερίνη, διευθύντρια του Ανοσολογικού Εργαστηρίου. Δόθηκε λύση σε πολλά ζητήματα συλλογής και επεξεργασίας του ομφαλοπλακουντιακού αίματος αλλά όταν τέθηκε το θέμα της κρυσυντήρησης, λόγω έλλειψης του απαραίτητου εξοπλισμού, η τράπεζα έκλεισε. Το 2003, η ίδια, ίδρυσε και ανέπτυξε την Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος (ΕΛΤΟΠΑ) στο Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ) για τις Μεταμοσχεύσεις αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, τη πρώτη Τράπεζα της χώρας με δημόσιο χαρακτήρα στην οποία είναι και διευθύντρια. Από τον Ιανουάριο

του 2006, η Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος έγινε “Associate Member” του Διεθνούς Ιδρύματος NetCord, ενώ τον Οκτώβριο του 2013 έγινε “Full Member. Τον Ιανουάριο του 2006 η Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος χορήγησε στη διεθνή δεξαμενή του NetCord τις πρώτες 100 μονάδες και από το Μάρτιο του 2007 άρχισε να χορηγεί μονάδες ομφαλοπλακουντιακού αίματος στο Νοσοκομείο Παίδων «Αγία Σοφία» για μεταμόσχευση σε ασθενείς με αιματολογικά νοσήματα. Το 2011 η Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος χορήγησε την πρώτη μονάδα ομφαλοπλακουντιακού αίματος σε ασθενή με λευχαιμία στο εξωτερικό. Στο διάστημα 2007-2019 χορήγησε στο Νοσοκομείο Παίδων «Αγ. Σοφία» 10 μονάδες ΟΠΑ για κατευθυνόμενη (directed) αλλογενή μεταμόσχευση σε ανήλικους ασθενείς ενώ, στο διάστημα 2011-2019 χορήγησε σε ασθενείς των μεταμοσχευτικών κέντρων της Ελλάδος (Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός») αλλά και του εξωτερικού (Η.Π.Α και Ηνωμένο Βασίλειο) 11 μονάδες ΟΠΑ για μη συγγενική αλλογενή μεταμόσχευση. Από τον Απρίλιο του 2013, η Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος είναι η 45η τράπεζα παγκοσμίως και η μοναδική στην Ελλάδα που στηρίζει τη μη συγγενική αλλογενή μεταμόσχευση, διαπιστευμένη από τον παγκόσμιο οργανισμό κυτταρικών θεραπειών NETCORD/FACT. Μέχρι τον Μάρτιο του 2019 η Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος χορήγησε στο NetCord και στην Παγκόσμια Δεξαμενή Δοτών Μυελού (BMDW) 2.900 μονάδες έτοιμες για κλινική χρήση (<https://hcbb.bioacademy.gr/>, 2021). Επίσης, Η Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος (ΕΛΤΟΠΑ) του ΙΙΒΕΑΑ, είναι η μόνη τράπεζα ομφαλοπλακουντιακού αίματος στην Ελλάδα που συμμορφώνεται με την Υπουργική Απόφαση Αριθμ. Α3γ/οικ 18092 « Όροι και Προϋποθέσεις Λειτουργίας Τραπεζών Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος» (<https://hcbb.bioacademy.gr/>, 2021).

Στην Ελλάδα λειτουργούν άλλες δύο δημόσιες τράπεζες ομφαλοπλακουντιακού αίματος. Η μία στο Ηράκλειο Κρήτης και η άλλη στη Θεσσαλονίκη. Η Δημόσια Τράπεζα Ομφαλικών Βλαστοκυττάρων Κρήτης (ΔηΤΟΒ Κρήτης) λειτουργεί με άδεια λειτουργίας από το Υπουργείο Υγείας (ΦΕΚ 3014, τ. Β, 21/09/2016) υπό την ευθύνη της Αιματολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου (ΠΑΓΝΗ) σε σύγχρονες εγκαταστάσεις της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Δημιουργήθηκε με χρηματοδότηση από ανταγωνιστικά προγράμματα της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Transpot-FP7-2011-REGPOT-1) και της Γενικής Γραμματείας Έρευνας και Τεχνολογίας (UMBISTEM,

11ΣΥΝ-10-668). Αρχικά λειτούργησε ως Κέντρο Ενημέρωσης και Συλλογής Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος σε συνεργασία με την Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος του Ιδρύματος Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (Κ.Ε.Σ.ΟΠ.Α.) Η ουσιαστική έναρξη λειτουργίας της Τράπεζας έγινε τον Απρίλιο 2016 μετά από έγκριση της 7ης Υγειονομικής Περιφέρειας Κρήτης και κατάθεση του σχετικού φακέλου στο Υπουργείο Υγείας. Η λειτουργία της ΔηΤΟΒ Κρήτης βασίζεται στις προδιαγραφές που επιβάλλονται από την Ελληνική Νομοθεσία και τους Διεθνείς Οργανισμούς Πιστοποιήσεων για τη συλλογή, έλεγχο, επεξεργασία, συντήρηση και διάθεση των Μονάδων Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος (<https://www.cordbloodbankcrete.gr/>, 2021). Η Δημόσια Τράπεζα Βλαστοκυττάρων του Νοσοκομείου Παπανικολάου στη Θεσσαλονίκη είναι η πρώτη και μοναδική Δημόσια Τράπεζα Βλαστοκυττάρων που λειτουργεί στην Βόρεια Ελλάδα. Η συλλογή, ψύξη και αποθήκευση ομφαλοπλακουντιακού αίματος στην κλινική του νοσοκομείου ξεκίνησε το 1998, και τον Ιούλιο του 2009 η ουσιαστική λειτουργία της Δημόσιας Τράπεζας Βλαστοκυττάρων. Σήμερα, φυλάσσονται εκεί συνολικά 4.807 μονάδες (<https://www.typosthes.gr/>, 2016).

Όσον αφορά τις ιδιωτικές τράπεζες ομφαλοπλακουντιακού αίματος στην Ελλάδα, υπάρχουν έντεκα ιδιωτικές CBBS που συνεργάζονται με διάφορα μαιευτήρια και είναι οι εξής: Omnigen Βιοτεχνολογικές Εφαρμογές ΕΠΕ, Cellgenea Κρήτης ΟΕ, Future Health Biobank, Biohellenika ΑΕ, Biogenea Pharmaceuticals ΕΠΕ, Mycells - Πρότυπα Εργαστήρια Βιοτεχνολογίας ΕΠΕ, Cryotech, Salveo, Διεθνής Βιοτράπεζα ΕΠΕ, Procell - Προσέλ ΕΠΕ, Biophylaxis Hellas ΑΕ (<https://www.vrisko.gr/>, 2021).

Φάσεις και στάδια συλλογής και επεξεργασίας των μονάδων ομφαλοπλακουντιακού αίματος

Η διαδικασία συλλογής και επεξεργασίας στις τράπεζες αίματος ομφάλιου λώρου περιλαμβάνει τις ακόλουθες φάσεις: (1) την επιλογή του δότη, τη συγκατάθεση και την ιατρική του αξιολόγηση, (2) τη συλλογή ομφαλοπλακουντιακού αίματος, τη βραχυπρόθεσμη αποθήκευση και μεταφορά του, (3) την επεξεργασία, τον έλεγχο, την κρυσταλλοποίηση και αποθήκευσή του (4) την αποδέσμευση της μονάδας αίματος ομφάλιου λώρου (CBU) προς το μεταμοσχευτικό κέντρο και (5) τη διασφάλιση ποιότητας και ακολουθίας με τα πρότυπα NETCORD/FACT των τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος.

Επιλογή δότη, συγκατάθεση και ιατρική του αξιολόγηση

Η στρατολόγηση των δωρητών ξεκινά την προγεννητική περίοδο και συνήθως η δωρεά γίνεται σε νοσοκομείο που συνεργάζεται με κάποια τράπεζα ομφαλοπλακουντιακού αίματος (CBB) και έτσι είναι εξασφαλισμένη η εκπαίδευση του προσωπικού στις διαδικασίες συλλογής. Μερικές CBB στέλνουν κιτ συλλογής σε άλλα νοσοκομεία για συλλογή από γιατρούς ως μέρος ενός προγράμματος δωρεάς. Η CBB συνήθως παρέχει ένα γενικό φυλλάδιο σε μορφή ερωτοαπαντήσεων, το οποίο εξετάζει ερωτήματα σχετικά με τον τρόπο συλλογής του ομφαλοπλακουντιακού αίματος, τους κινδύνους για τη μητέρα και το βρέφος, το πιθανό όφελος για τους άλλους και ποια βήματα απαιτούνται για τη δωρεά του ΟΠΑ του βρέφους. Πολλές γυναίκες ενημερώνονται για τη δωρεά ΟΠΑ μετά τη λήψη πληροφοριών από τους γιατρούς τους, τις ιδιωτικές CBBs ή τα μέσα ενημέρωσης. Οι CBBs συχνά λαμβάνουν κλήσεις και e-mails από γυναίκες που ενδιαφέρονται να γίνουν δωρητές και απογοητεύονται όταν ανακαλύπτουν ότι στο νοσοκομείο το οποίο σκοπεύουν να γεννήσουν δεν μπορούν να κάνουν δωρεά γιατί δεν συμμετέχει σε κάποιο πρόγραμμα συλλογής ομφαλοπλακουντιακού αίματος (Broxmeyer H. , 2004).

Η δωρεά αίματος ομφάλιου λώρου διαφέρει σημαντικά από τη δωρεά αίματος (Vawter, 2002). Για παράδειγμα: (1) οι δότες είναι βρέφη και δεν μπορούν να συναινέσουν για λογαριασμό τους στη συλλογή, έλεγχο, δωρεά και μακροχρόνια αποθήκευση του CB τους, (2) το ιατρικό ιστορικό των βρεφών είναι σχετικά σύντομο και άγνωστο, (3) υπάρχει μόνο μία ευκαιρία για δωρεά, η ευκαιρία συλλογής περιορίζεται εντός λίγων λεπτών μετά τη γέννηση και (4) η διαδικασία συγκατάθεσης και οι διεργασίες για την εκτίμηση της ποιότητας του δωρηθέντος CB απαιτεί τη συμμετοχή των μελών της οικογένειας του δότη.

Αυτά τα ειδικά χαρακτηριστικά της δωρεάς ΟΠΑ αντικατοπτρίζονται σε πολλά ζητήματα δεοντολογίας και ηθικής σχετικά με την πολιτική συγκατάθεσης.

Το ζήτημα της απόκτησης συναίνεσης για τη συλλογή ΟΠΑ υπήρξε αμφιλεγόμενο (Vawter, 2002) (Sugarman, 2002) στον τομέα της μεταμόσχευσης ομφαλοπλακουντιακού αίματος (CBTx). Ιστορικά, το ομφαλοπλακουντιακό αίμα θεωρήθηκε ιδιοκτησία του νοσοκομείου στο οποίο γεννήθηκε το μωρό, για χρήση, εάν είναι επιθυμητό, χωρίς τη ρητή συγκατάθεση των δοτών. Αυτή η πρακτική, ωστόσο, αγνόησε το γεγονός ότι για ορισμένες γυναίκες ο πλακούντας δεν θεωρείται απαραίτητα ιατρικό απόβλητο, ίσως για κάποιους πολύ σημαντικούς πολιτιστικούς λόγους (Jenkins, 2005). Πλέον είναι ευρέως αποδεκτό ότι το ομφαλοπλακουντιακό αίμα που συλλέγεται για μεταμόσχευση δεν είναι ιατρικό απόβλητο και η συγκατάθεση για τη συλλογή και την αποθήκευσή του είναι υπέρ του σεβασμού των γυναικών και των βρεφών από τους οποίους συλλέγονται ευαίσθητα ιατρικά δεδομένα και επισημαίνονται δείγματα προς το συμφέρον των δυνητικών παραληπτών CB (Lazazari, 1996) (Silberstein, 1996). Σαφώς απαιτείται συγκατάθεση πριν από τις εξετάσεις (π.χ. για ηπατίτιδα Β και C, HIV, HTLV και σύφιλη), όμως δεν είναι νομικά απαραίτητο να δοθεί και από τους δύο γονείς (Annas, 1999) (Askari, 2002). Το ομφαλοπλακουντιακό αίμα ανήκει στην πραγματικότητα στο βρέφος που δεν είναι σε θέση να δώσει συγκατάθεση για δωρεά ή ιατρικό ιστορικό. Παρόλο που είτε η μητέρα, είτε ο πατέρας θα μπορούσε να δώσει τη συγκατάθεσή του, κεντρικό πρόσωπο αποτέλεσε η μητέρα λόγω της διαθεσιμότητας της. Έτσι, οι μητέρες πρέπει να υπογράψουν ένα έντυπο συγκατάθεσης που δηλώνει ότι: (α) η δωρεά του ομφαλοπλακουντιακού αίματος του μωρού της είναι εθελοντική, (β) δίνει άδεια να ελεγχθεί το αίμα της και το ΟΠΑ για παθογόνα που μεταδίδονται αιματογενώς και συμφωνεί να παρέχει ένα λεπτομερές οικογενειακό ιατρικό ιστορικό στην τράπεζα ομφαλοπλακουντιακού αίματος, (γ) το ομφαλοπλακουντιακό αίμα δεν αποθηκεύεται για προσωπική χρήση από το βρέφος ή άλλους συγγενείς, αντίθετα θα καταγραφεί στο μητρώο ανεξάρτητων δωρητών, έτσι ώστε να είναι ευκολότερα διαθέσιμο σε ασθενείς που χρειάζονται μεταμόσχευση από μη συγγενείς δότες, (δ) μπορεί στο μέλλον η CBV να έρθει σε επικοινωνία για τη λήψη πληροφοριών σχετικά με την πορεία της υγείας του μωρού και (ε) κατανοεί ποια μέτρα θα ληφθούν για την προστασία του απορρήτου των προσωπικών πληροφοριών αυτής και του βρέφους. Αντίθετα από τα μητρώα

των ενήλικων δοτών, η ταυτότητα του δότη ομφαλοπλακουντιακού αίματος δεν αποκαλύπτεται στον παραλήπτη και εκείνος δεν μπορεί να επικοινωνήσει με το δωρητή στο μέλλον.

Οι ομφαλοπλακουντιακές τράπεζες αίματος διαφέρουν ως προς τον τρόπο και το χρόνο που λαμβάνεται συγκατάθεση (Vawter, 2002). Οι λόγοι αυτής της διακύμανσης είναι πολυάριθμοι και αντικατοπτρίζουν τις διαφορετικές συνθήκες συλλογής του ομφαλοπλακουντιακού αίματος. Για παράδειγμα, εάν το ΟΠΑ συλλέγεται στη μήτρα (in utero) ή εκτός (ex utero), εάν πρέπει το αίμα να δωρίζεται σε δημόσια CBB για χρήση από οποιονδήποτε ή να δεσμεύεται για την άμεση οικογένεια του βρέφους, εάν το ΟΠΑ συλλέγεται για ερευνητικούς ή θεραπευτικούς σκοπούς, τον αριθμό του προσωπικού που διαθέτει η CBB για τη συλλογή, επεξεργασία και κατάψυξη του ΟΠΑ και εάν η CBB εξαλείφει ή διατηρεί αναγνωριστικά στοιχεία των μονάδων ομφαλοπλακουντιακού αίματος και αντίστοιχες εγγραφές (Annas, 1999) (Askari, 2002) (Wagner J. , 1993) (Rubinstein P. T., 1994) (Haley, 1998) (Wong, 2001). Το πρόγραμμα ομφαλοπλακουντιακού αίματος του Αμερικανικού Ερυθρού Σταυρού (American Red Cross Cord Blood Program) διερεύνησε τη σταδιακή πολιτική συγκατάθεσης (Vawter, 2002). Η προσέγγιση της σταδιακής συγκατάθεσης είναι μία διαδικασία τριών βημάτων που περιλαμβάνει: (1) στοχευμένες πληροφορίες σχετικά με τις τράπεζες ομφαλοπλακουντιακού αίματος σε έγκυες γυναίκες, (2) την πρόωρη συγκατάθεση για την εκτός μήτρας συλλογή και προσωρινή αποθήκευση της μονάδας ΟΠΑ. Παρά τις προσπάθειες για προσέγγιση γυναικών κατά τη διάρκεια του τρίτου τρίμηνου της εγκυμοσύνης και την παραχώρηση συγκατάθεσης πολύ πριν από την έναρξη του τοκετού, πολλές ετοιμόγεννες γυναίκες που προσέρχονται στο νοσοκομείο ενδιαφέρονται για τη δωρεά ΟΠΑ αλλά χωρίς προηγουμένως να έχουν δώσει τη συγκατάθεσή τους. Μερικά κέντρα έχουν διευθετήσει αυτήν την κατάσταση βάζοντας έγκυες γυναίκες με σημάδια πρόωρου τοκετού να υπογράψουν ένα σύντομο ή «μίνι» έντυπο συγκατάθεσης που επιτρέπει τη συλλογή του ΟΠΑ και των μητρικών δειγμάτων (Kurtzberg J. L., 2005) και (3) τη συνάντηση μαζί της αφού ανακάμψει από τον τοκετό για να την εκπαιδεύσει και να λάβει πλήρη συγκατάθεση που επιτρέπει τη μόνιμη αποθήκευση, δωρεά και έλεγχο της μονάδας του ΟΠΑ.

Η αξιολόγηση του ιατρικού ιστορικού πραγματοποιείται για να γίνει το ΟΠΑ όσο το δυνατόν ασφαλέστερο για μεταμόσχευση. Οι περισσότερες CBBs διατηρούν το ιατρικό

ιστορικό της μητέρας, συμπεριλαμβανομένων τυχόν πληροφοριών του πατρικού ιστορικού που μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα της CBU. Η λήψη του ιατρικού ιστορικού της μητέρας, μαζί με τον έλεγχο για μολυσματικές ασθένειες, είναι απαραίτητα και αποτελούν μέρος της πρακτικής των τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος παγκοσμίως. Το ιατρικό ιστορικό προέρχεται από τη μητέρα επειδή εκείνη καθορίζει τον κίνδυνο μετάγγισης μεταδιδόμενων ασθενειών από το ΟΠΑ (Askari, 2002). Επανεξέταση των βρεφών για γενετικές ασθένειες που δεν είναι εμφανείς κατά τη γέννηση έχει επίσης προταθεί. Αν και αμφιλεγόμενος, εάν χρειαστεί, μπορεί να πραγματοποιηθεί έλεγχος του ΟΠΑ για επιλεγμένες γενετικές νόσους.

Πίνακας 2. Διαφορές παραδοσιακής τράπεζας αίματος έναντι τράπεζας ομφαλοπλακουντιακού αίματος (Rebulla, 2002).

Θέμα	Τράπεζα αίματος	Τράπεζα ΟΠΑ
Δωρητής	Ενήλικας	Νεογέννητο (μητέρα = κηδεμόνας)
Συχνότητα δωρεάς	Συχνή	Μοναδική
Προσωπικό που συμμετέχει στη διαδικασία δωρεάς	Νοσοκόμα	Μαία, Μαιευτήρας, Τεχνολόγος
Μέσος όγκος συλλογής	300-450 ml	50-150 ml
Συστατικά για κλινική χρήση	RBCs, PLTs, πλάσμα, WBCs	HSCs
Ποσοστό κλινικής χρήσης	>90%	<5%
Θερμοκρασίες αποθήκευσης προϊόντος	-80°C έως 20-40°C	Κάτω από -135°C
Διάρκεια αποθήκευσης προϊόντος	Σύντομη έως μέτρια	Μεγάλη
Κατάσταση αποθήκευσης	Συνήθως υγρή	Κατεψυγμένη
Απογραφή προϊόντων	Κυρίως τοπικά	Κυρίως δικτυωμένο με άλλους
Χρήση προϊόντων	Κυρίως τοπικά και εθνικά	Εθνικά και διεθνώς
Η ανάγκη για τυποποίηση HLA	Σπάνια	Πάντα
Κόστος ανά προϊόν που χρησιμοποιείται	€ 41,6-416,6	> € 12,500

Συλλογή ομφαλοπλακουντιακού αίματος, βραχυπρόθεσμη αποθήκευση και μεταφορά
 Η μέθοδος της συλλογής ΟΠΑ μετά τη γέννηση είναι τεχνικά απλή και παρόμοια με τη συλλογή ολικού αίματος (Πίν.2). Υπάρχουν δύο βασικές τεχνικές για τη συλλογή ΟΠΑ από την ομφαλική φλέβα: στην αίθουσα τοκετού κατά τη διάρκεια του τρίτου στάδιο της γέννας (in utero) από μαιευτήρες και μαίες ή σε ένα παρακείμενο δωμάτιο μετά την αποκόλληση του πλακούντα από τη μήτρα (ex utero) από εκπαιδευμένο προσωπικό της τράπεζας

ομφαλοπλακουντιακού αίματος (Wong, 2001) (Lasky, 2002) (Solves, 2003). Και στις δύο περιπτώσεις, μετά από στείρα προετοιμασία, γίνεται διάτρηση της ομφαλικής φλέβας με βελόνα διαμετρήματος 17G προσαρτημένη σε έναν αποστειρωμένο σάκο συλλογής κλειστού συστήματος που περιέχει αντιπηκτικό κιτρική φωσφορική δεξτρόζη, τοποθετημένο χαμηλότερα από τον πλακούντα. Αίμα ρέει από τον πλακούντα μέσω του ομφάλιου λώρου μέσα στο σάκο συλλογής για πάνω από 5 λεπτά περίπου. Οι έμπειροι επαγγελματίες συλλέγουν κατά μέσο όρο 110 ml από έναν μόνο πλακούντα. Η CBU επισημαίνεται και στη συνέχεια αποστέλλεται στην CBB για επεξεργασία, έλεγχο, κρυοσυντήρηση και αποθήκευση.

Και οι δύο μέθοδοι έχουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Γενικά, στην πρώτη μέθοδο, ο όγκος των συλλεχθέντων κυττάρων είναι συνήθως υψηλότερος εάν ο ομφάλιος λώρος συσφιχθεί νωρίς και η συλλογή ξεκινήσει αμέσως. Μετά τον τοκετό, η συλλογή ΟπΑ είναι ευκολότερη, ωστόσο, μπορεί να συλλεχθούν λιγότερα κύτταρα και πιθανόν να υπάρξει αύξηση του κινδύνου βακτηριακής μόλυνσης. Επιπλέον, στις συλλογές ex utero υπάρχει καλύτερος έλεγχος της τεχνικής, αλλά μπορεί να είναι πιο ακριβές λόγω του επιπλέον προσωπικού που εμπλέκεται. Μία μελέτη έδειξε συγκρίσιμους αριθμούς κυττάρων και CD34⁺ και με τις δύο μεθόδους (Lasky, 2002). Το New York Blood Center συλλέγει το CB από τον πλακούντα μετά την αποκόλλησή του από τη μήτρα και ανέφερε συσχετισμό μεταξύ του μήκους του ομφάλιου λώρου και του όγκου συλλογής (Jones, 2003).

Οι τράπεζες ομφαλοπλακουντιακού αίματος συλλέγουν ομφαλοπλακουντιακό αίμα 24 ώρες το 24ωρο και δεν είναι ασυνήθιστο η συλλογή να γίνεται σε απομακρυσμένη τοποθεσία από το εργαστήριο επεξεργασίας. Κατά συνέπεια, είναι δύσκολη η επεξεργασία και κατάψυξη του ΟπΑ αμέσως μετά τη συλλογή. Επομένως, είναι απαραίτητο να δημιουργηθούν οι κατάλληλες συνθήκες για τη βραχυπρόθεσμη αποθήκευση και μεταφορά των μονάδων. Αρκετές μελέτες (Kurtzberg, 1996) (Broxmeyer H. C., 1997) υποδεικνύουν ότι το ομφαλοπλακουντιακό αίμα μπορεί να αποθηκευτεί έως και 72 ώρες είτε στους 4°C, είτε στους 20±2°C με απώλεια 5-15% των προγονικών κυττάρων, αν και η ανάκτηση των προγονικών κυττάρων παραμένει υψηλότερη εάν το αίμα του πλακούντα δεν καταψυχθεί πριν την επεξεργασία. Αυτό σημαίνει ότι οι CBU που δωρίζονται μπορούν να μεταφερθούν σε βιώσιμη κατάσταση σε θερμοκρασία δωματίου στους 20°C ή στους 4°C. Η πλειονότητα

των CBBs στοχεύουν στην επεξεργασία της CBU εντός 24 ωρών από τη συλλογή, με την προϋπόθεση ότι η μονάδα θα αποθηκευτεί σε υγρό άζωτο εντός 30 ωρών από τη συλλογή.

Επεξεργασία, έλεγχος, κρυοσυντήρηση και αποθήκευση αίματος ομφάλιου λώρου για μεταμόσχευση

Για την εγκαθίδρυση μιας βιώσιμη τράπεζας ομφαλοπλακουντιακού αίματος με μονάδες ευρέως φάσματος συμβατότητας HLA είναι απαραίτητη η αποθήκευση μεγάλου αριθμού μονάδων. Το μείζον υλικοτεχνικό πρόβλημα με την τόσο μακροπρόθεσμη αποθήκευση είναι ο απαιτούμενος αποθηκευτικός χώρος, ειδικά όταν οι CBU αποθηκεύονται μη επεξεργασμένες ως πλήρες αίμα σε δεξαμενές υγρού αζώτου. Η τρέχουσα πρακτική ήταν η ελαχιστοποίηση της ποσότητας των ερυθρών αιμοσφαιρίων και η μείωση του όγκου του προϊόντος προς κατάψυξη. Αυτό μειώνει τις πιθανές δυσμενείς επιπτώσεις της ασυμβατότητας και της αιμόλυσης και μεγιστοποιεί την αποθηκευτική χωρητικότητα. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι για τη μείωση του όγκου των ερυθρών αιμοσφαιρίων και του πλάσματος, συμπεριλαμβανομένων ανοικτών ή κλειστών συστημάτων (Zingsem, 2003) (Solves P. M.-U., 2005), ανεστραμμένη ή όρθια περιστροφή και προσθήκη διαφόρων μέσων όπως ζελατίνη, υδροξυαιθυλικό άμυλο (HES), δεξτράνη και πολυσακχαρίτες για να βοηθήσουν το διαχωρισμό (Rubinstein P. D., 1995) (Davis, 1990) (Tsang, 2001). Τα περισσότερα εργαστήρια επεξεργάζονται το CB με βάση τη μέθοδο που ανέπτυξε ο Rubinstein και οι συνεργάτες του (Rubinstein P. D., 1995), η οποία περιλαμβάνει την απομάκρυνση των ερυθρών αιμοσφαιρίων χρησιμοποιώντας HES και ακολουθείται από ένα στάδιο συγκέντρωσης των λευκοκυττάρων. Μόλις η διαδικασία απομάκρυνσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και μείωσης του όγκου ολοκληρωθεί και παρθούν όλα τα δείγματα, ο όγκος του τελικού προϊόντος είναι γενικά μεταξύ 20 και 25 ml. Στη συνέχεια εκτελείται η κρυοσυντήρηση διασφαλίζοντας ότι το πρωτόκολλό της βελτιστοποιεί την ανάκτηση των κυττάρων, τη βιωσιμότητα και τη λειτουργικότητά τους. Έτσι, η κρυοσυντήρηση πραγματοποιείται με προσθήκη ενός κρυοπροστατευτικού διαλύματος DMSO και DEXTRAN 40 (οι τελικές συγκεντρώσεις είναι 10% και 1% αντίστοιχα) στη μονάδα ομφαλοπλακουντιακού αίματος στην οποία έχουν απομακρυνθεί τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Το προϊόν καταψύχεται σε κρυογονικό σάκο σε καταψύκτης ελεγχόμενης θερμοκρασίας. Μετά την κατάψυξη, οι CBU μεταφέρονται σε συνεχούς παρακολούθησης και μακροχρόνιας αποθήκευσης δοχεία υγρού αζώτου. Η επιτρεπόμενη διάρκεια αποθήκευσης είναι προς το παρόν απροσδιόριστη. Ωστόσο, μελέτες έχουν δείξει

ότι τα κατεψυγμένα ΟΠΑ κύτταρα μπορούν να αποθηκευτούν με ασφάλεια για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα (π.χ. 10 χρόνια) χωρίς σημαντική απώλεια αιμοποιητικών προγονικών κελιών (Mugishima, 1999). Περίπου οι μισές από τις CBU που συλλέγονται και προορίζονται για αποθήκευση από τις τράπεζες δεν καταψύχονται για πιθανή μεταμόσχευση, ο συνηθέστερος λόγος είναι ο μικρός όγκος του προϊόντος (Ballen K. , 2005).

Οι CBU που προορίζονται για αλλογενή συγγενή και μη συγγενή χρήση πρέπει να τυποποιηθούν για αντιγόνα HLA κλάσης I και II συμπεριλαμβανομένου του HLA-A, -B και -DRB1 τύπου (FACT, 2019). Πριν την κρυοσυντήρηση λαμβάνονται δείγματα για τη μέτρηση του αριθμού των εμπύρηνων κυττάρων (NCs), το ποσοστό διαφοροποίησης, τη δοκιμασία κλωνογένεσης των κυττάρων, την ανάλυση των CD34⁺ κυττάρων, την καλλιέργεια για αερόβια και αναερόβια μικρόβια και μύκητες, τη βιωσιμότητα των NCs και την τυποποίηση ABO/Rh. Η έλλειψη τυποποιημένων μεθόδων μεταξύ των CBBs για τη δοκιμασία κλωνογένεσης των κυττάρων και τον έλεγχο των CD34⁺ κάνει τη σύγκριση των CBU δύσκολη. Επιπλέον, πρέπει να πραγματοποιούνται εργαστηριακές εξετάσεις για τις ακόλουθες μολυσματικές ασθένειες: Ηπατίτιδα Β, Ηπατίτιδα C, HTLV τύπου I και II, HIV τύπου I και II , Κυτταρομεγαλοϊό (CMV) και σύφιλη. Πρόσφατα, χρησιμοποιήθηκαν δοκιμές νουκλεϊκών οξέων ως πιο ευαίσθητη μέθοδος ελέγχου για λοίμωξη από ηπατίτιδα Β και HIV. Επανεξέταση του δότη για δείκτες ιικών λοιμώξεων σε ηλικία 6 έως 12 μηνών για να αποκλειστεί η περίοδος παραθύρου έχει εξεταστεί σε περιοχές όπου η λοίμωξη από τον ιό HIV είναι ενδημική, αλλά αυτό δεν έχει γίνει μια διαδεδομένη πρακτική (Warwick, 1998).

Αποδέσμευση μονάδας ομφαλοπλακουντιακού αίματος προς το μεταμοσχευτικό κέντρο
Ένας σημαντικός στόχος της CBB είναι η αύξηση της δωρεάς ΟΠΑ, για να βοηθήσουν τους ασθενείς που δυσκολεύονται να βρουν δωρητές μέσω των διεθνών μητρώων. Έτσι, η ίδρυση πολλών CBBs τα τελευταία χρόνια έχει επεκτείνει τη δεξαμενή των δωρητών. Πιθανή HLA ταυτόσημη CBU για ασθενείς εντοπίζεται μέσω ηλεκτρονικών μητρώων. Η Παγκόσμια Ένωση Δωρητών Μυελού των Οστών (WMDA) απαριθμεί περίπου 802.608 διαθέσιμες CBU από 135 διαφορετικές CBBs σε 55 χώρες (<https://wmda.info/>, 2021). Σχεδόν όλες οι CBU τυποποιούνται για HLA-A, -B και -DR, το 76% των μονάδων έχουν μοριακή τυποποίηση κλάσης II και το 49% έχει μοριακή τυποποίηση κλάσης I (Ballen K. , 2005). Το Εθνικό Πρόγραμμα Δωρητών Μυελού (NMDP) έχει καταγεγραμμένες περίπου 300.000

CBUs που προέρχονται από διάφορες CBBs (https://en.wikipedia.org/wiki/Main_Page, 2021). Οι συντονιστές των μεταμοσχεύσεων μπορούν να εντοπίσουν CBUs για ασθενείς μέσω του μηχανογραφικού συστήματος STAR (Search, Tracking and Registry) του NMDP, ενώ παράλληλα γίνεται αναζήτηση για ανεύρεση μη συγγενών δοτών μυελού των οστών. Η τρέχουσα σύνθεσης φυλής και εθνικότητας του μητρώου ομφαλοπλακουντιακού αίματος NMDP είναι 77% Λευκοί, 23% Αφρικανοί Αμερικάνοι, 41% Ασιάτες, 46% Ισπανόφωνοι και 57% Ιθαγενής της Αμερικής ή της Αλάσκας (<https://bethematch.org/>, 2021). Το αυξανόμενο ενδιαφέρον των δωρητών έχει ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη ποικιλία στις CBUs. Ο Το New York Blood Center έχει δική του μηχανή αναζήτησης και τα κέντρα μεταμόσχευσης μπορούν να επικοινωνήσουν απευθείας με την CBB για να αναζητήσουν CBUs (Ballen K. , 2005) (FACT, 2019).

Στην Ευρώπη, το ίδρυμα NETCORD (www.netcord.org), ένα μη κερδοσκοπικό συνεταιριστικό δίκτυο των μεγάλων και έμπειρων CBBs, που ιδρύθηκε επίσημα το 1998, είναι το διεθνές παρακλάδι του EUROCORD (<https://www.eurocord.com>), ένα διεθνές μητρώο της Ευρωπαϊκής Ομάδας για Μεταμόσχευση Αίματος και Μυελού (EBMT) (Broxmeyer H. , 2004). Η αποστολή του NETCORD είναι η προώθηση υψηλής ποιότητας τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος και η ενιαία κλινική χρήση του ΟπΑ για αλλογενή μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων. Το NETCORD εκπροσωπεί αυτήν τη στιγμή 58 CBB στην Ευρώπη, την Ασία, τη Βόρεια και Νότια Αμερική και την Αυστραλία (<http://www.factwebsite.org/>, 2021). Το απόθεμα του NETCORD επί του παρόντος έχει περισσότερες από 100.000 κρυοσυντηρημένες CBUs έτοιμες για κλινική χρήση και μία αρκετά ακριβής παγκόσμια εκτίμηση υπολογίζει περισσότερες από 200.000 CBUs (Rocha V. S., 2004). Για να βοηθήσει τα κέντρα μεταμόσχευσης στις άμεσες αναζητήσεις συμβατών CBUs, το NETCORD έχει καθιερώσει ένα ηλεκτρονικό πρόγραμμα αναζήτησης και κατανομής που ονομάζεται Virtual Office (Hakenberg, 1998). Αυτό το πρόγραμμα επιτρέπει σε πραγματικό χρόνο αναζητήσεις συμβατών και διαθέσιμων μονάδων. Τα μέλη CBBs γενικά έχουν αποθέματα τουλάχιστον 1.000 CBUs τεκμηριωμένης υψηλής ποιότητας. Ωστόσο, μια πρώιμη μελέτη 5 διαφορετικών CBBs δεν βρήκε βελτίωση στη δωρεά CB από μειονότητες σε σύγκριση με τα μητρώα μυελού των οστών στην ίδια γεωγραφική περιοχή (Ballen K. H., 2002).

Διασφάλιση ποιότητας και πρότυπα NETCORD/FACT των τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος

Από τη συλλογή και επεξεργασία της μονάδας ομφαλοπλακουντιακού αίματος μέχρι τη μεταμόσχευση και τη μετέπειτα πορεία του ασθενούς, ένα πρόγραμμα διασφάλισης ποιότητας ΟΠΑ καθιερώνει μια σειρά ελέγχων, μόνιτορ παρακολούθησης ποιότητας και μηχανισμούς ανατροφοδότησης που διασφαλίζουν την ομοιομορφία των προϊόντων ενώ αποκαλύπτει τάσεις, προλαμβάνει σφάλματα και προωθεί τη συνεχή εξέλιξη και βελτίωση (Broxmeyer H. , 2004). Αυτή η προσέγγιση έχει ανυψώσει τον τομέα των CBBs και της μεταμόσχευσης σε ένα νέο επίπεδο σκέψης σχετικά με τον έλεγχο της ποιότητας και της επεξεργασίας. Ένα καλά σχεδιασμένο πρόγραμμα διασφάλισης ποιότητας θα επιτρέψει σε μια CBB να διατηρήσει την τρέχουσα σωστή πρακτική παρασκευής (cGMP) και τρέχουσα σωστή διαχείριση ιστών (cGTP) και, συνεπώς, τη συμμόρφωση με τις ρυθμιστικές απαιτήσεις.

Καθώς Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) διαμόρφωσε μια ρυθμιστική δομή για την κυτταρική βιολογία, το ίδρυμα NETCORD, σε συνεργασία με το FACT, ανέπτυξαν πρότυπα (FACT, 2019) για τις CBBs που υιοθετήθηκαν από την Παγκόσμια Ένωση Δωρητών Μυελού (WMDA) και τις περισσότερες εθνικές και διεθνείς οργανώσεις μεταμοσχεύσεων αίματος και μυελού, συμπεριλαμβανομένων των ASBMT, EBMT, ISHAGE, EUROISHAGE, JACIE και άλλες. Όλα οι τράπεζες του δικτύου NETCORD πρέπει να έχουν τη διαπίστευση NETCORD/FACT, και επομένως, πρέπει να συμμορφώνονται με τα πρότυπα ποιότητας του NETCORD/FACT για να γίνουν μέλη. Ανεξάρτητες CBBs παγκοσμίως χρησιμοποιούν αυτά τα πρότυπα για να επιτύχουν υψηλή ποιότητα στις διαδικασίες και τα προϊόντα τους και πολλές από υποβάλει αίτηση για να λάβουν τη διαπίστευση NETCORD/FACT.

Η διαπίστευση επιτυγχάνει μια επίσημη αναγνώριση ότι η CBB ικανοποιεί ένα αυστηρό σύνολο ελάχιστων προτύπων, που αντιπροσωπεύουν το επίπεδο τεχνικής και επιστημονικής απόδοσης που μοιραστεί με όλες τις άλλες διαπιστευμένες CBBs. Αυτή η ομοιότητα στα επίπεδα απόδοσης που διακρίνει τις CBBs του δικτύου NETCORD, επιτρέπει σε αυτές και τα αποθέματά τους να πραγματοποιήσουν ουσιαστικές κοινές αναζητήσεις αντιστοίχισης CBUs για ασθενείς που χρειάζονται μεταμόσχευση. Οι CBBs που δεν είναι διαπιστευμένες μπορεί να φτάσουν το επίπεδο ποιότητας που απαιτείται από τα πρότυπα

αλλά το επίτευγμά τους δεν μπορεί να πιστοποιηθεί. Έτσι, τα κοινά πρότυπα και οι αυστηρές διαδικασίες διαπίστευσης είναι απαραίτητες για την παροχή ομοιογενούς ποιότητας μοσχευμάτων από διαφορετικές CBBs.

Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά Αλλογενούς Τράπεζας (<https://hcbb.bioacademy.gr/>, 2021).

<p>Απαιτούμενες προϋποθέσεις για να χαρακτηριστεί μια Τράπεζα ως «Αλλογενής Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος» (“Unrelated Cord Blood Bank”)</p> <ol style="list-style-type: none">1 Η προσφορά του Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος (ΟΠ.Α) είναι «ΔΩΡΕΑ» και «ΔΩΡΕΑΝ».2 Η Τράπεζα πρέπει να επιλέγει για επεξεργασία και κρυοκατάψυξη τις μονάδες ΟΠ.Α που τηρούν τις αναγκαίες προϋποθέσεις για να χρησιμοποιηθούν σε ασθενείς που επιβάλλεται να υποβληθούν σε Μεταμόσχευση Αρχέγονων Αιμοποιητικών Κυττάρων.3 Να προσδιορίζει τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας (Human Leucocyte Antigen, HLA) των μονάδων ΟΠ.Α που καταψύχονται καθώς και των αντίστοιχων μητέρων.4 Να χορηγεί τις μονάδες στον Εθνικό Οργανισμό Μεταμοσχεύσεων (Ε.Ο.Μ), καθώς και στην Παγκόσμια Δεξαμενή Δοτών Αιμοποιητικών Κυττάρων.5 Να διαθέτει αρχείο για τις μονάδες της Τράπεζας που αναζητούνται από την Παγκόσμια Δεξαμενή Δοτών για λογαριασμό των Μεταμοσχευτικών Κέντρων.6 Να έχει χορηγήσει μονάδες ΟΠ.Α για ΑΛΛΟΓΕΝΗ ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ7 Να έχει αναπτύξει μηχανισμό παρακολούθησης (<i>follow-up</i>) και καταγραφής της πορείας των ασθενών μετά τη Μεταμόσχευση μονάδων ΟΠ.Α. <p>ΜΙΑ ΑΛΛΟΓΕΝΗΣ ΤΡΑΠΕΖΑ ΟΠ.Α ΤΗΡΕΙ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΑ ΚΑΙ ΤΟΥΣ «7» ΠΑΡΑΠΑΝΩ ΚΑΝΟΝΕΣ</p>
--

Μοντέλα τραπεζών Ομφαλοπλακουντιακού αίματος

Υπάρχουν τρία μοντέλα τραπεζών CB: το «δημόσιο» μοντέλο, το "οικογενειακό" ή "ιδιωτικό" μοντέλο και το "υβριδικό" τραπεζικό μοντέλο.

Το δημόσιο μοντέλο, όπως καθιερώθηκε από τον Rubinstein και τους συνεργάτες του το 1993, είναι αφιερωμένο στη συλλογή και αποθήκευση των δωρηθέντων CBUs για αλλογενή χρήση σε ασθενείς που δεν έχουν εντοπίσει κάποιον HLA-ταυτόσημο συγγενή. Οι δημόσιες CBBs είναι παρόμοιες με τις τράπεζες αίματος στο γεγονός ότι η πηγή ΟΠΑ είναι μη συγγενείς δότες. Ομφαλοπλακουντιακό αίμα και αίμα από τη μητέρα τυποποιούνται για αντιγόνα HLA και ομάδα αίματος και εξετάζονται για μολυσματικές ασθένειες, και συλλέγονται πληροφορίες για το ιατρικό ιστορικό της μητέρας και της οικογένειας. Οι πολιτικές ποικίλλουν όσον αφορά την παρακολούθηση των δωρητών για την ανάπτυξη ασθενειών που θα μπορούσαν να μεταδοθούν μέσω μεταμόσχευσης (Steinbrook, 2004).

Σε αντίθεση με τις ιδιωτικές τράπεζες, οι δημόσιες δεν χρεώνουν για τη συλλογή και την αποθήκευση. Οι δημόσιες CBBs χρεώνουν 15.000 \$ (12.500 €) έως 25.000 \$ (20.833 €) όταν μία μονάδα παρέχεται για μεταμόσχευση, ποσό που καλύπτεται συνήθως από το ασφαλιστικό ταμείο. Επί του παρόντος υπάρχουν περίπου 15 δημόσιες CBBs στην Αμερική και περίπου 43 ακόμη παγκοσμίως (<http://www.factwebsite.org/>, 2021). Όλες αυτές οι CBBs αγωνίζονται οικονομικά επειδή τα έσοδα που εισπράττουν από την πώληση των CBUs για μεταμόσχευση δεν επαρκούν για την υποστήριξη των βασικών λειτουργιών μιας τράπεζας που βρίσκεται σε διαδικασία δημιουργίας αποθέματος. Επίσης, δεν είναι απαραίτητο για τις δημόσιες CBBs για να καταγράφουν τα αποθέματά τους σε ένα μόνο μητρώο διαθέσιμο σε όλα τα κέντρα μεταμόσχευσης. Έτσι, το προσωπικό του κέντρου μεταμόσχευσης πρέπει να είναι ενημερωμένο σχετικά και να αναζητά στα διάφορα μητρώα τραπεζών για την εύρεση του καλύτερου δότη για τους ασθενείς τους (Kurtzberg J. L., 2005).

Το New York Blood Center συνεχίζει να είναι η μεγαλύτερη δημόσια CBB (έχει απόθεμα πάνω από 25.000 CBUs), παρέχοντας περισσότερο από το ήμισυ του ομφαλοπλακουντιακού αίματος που χρησιμοποιείται σε όλο τον κόσμο. Οι μονάδες σε μία δημόσια CBB απορρίπτονται συχνά βάσει αυστηρών κριτηρίων διασφάλισης ποιότητας (π.χ.

παρουσία βακτηριακής και/ή μυκητιασικής μόλυνσης, χαμηλός όγκος και χαμηλός αριθμός κυττάρων). Μερικές από αυτές τις μονάδες που απορρίπτονται μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ερευνητικούς σκοπούς (Broxmeyer H. , 2004).

Το 2004, μετά από πίστωση 20.000.000 δολαρίων (€ 16.666.666) από το Κογκρέσο των ΗΠΑ για αύξηση του αποθέματος των CBU's στις δημόσιες CBBs των ΗΠΑ, το Ινστιτούτο Ιατρικής (IOM) συνέστησε η Διαχείριση Πόρων και Υπηρεσιών Υγείας (HRSA) να υπογράψει σύμβαση με επιλεγμένες τράπεζες προς προμήθεια περίπου 150.000 νέων, διαφορετικών εθνικοτήτων, μη συγγενών δοτών CBU's για τα επόμενα 5 χρόνια. Οι μονάδες θα έπρεπε να πληρούν τα πρότυπα ποιότητας όπως ορίζονται από τον FDA, και άλλους οργανισμούς διαπίστευσης. Θα έπρεπε επίσης να έχουν καταγραφεί σε ένα μηχανογραφημένο διαδικτυακό σύστημα που δημιουργήθηκε για να επιτρέψει την αναζήτηση όλων των μη συγγενών ΟΠΑ και αίματος που λαμβάνονται από ενήλικες δωρητές από ένα μόνο σημείο πρόσβασης. Από τη δημοσίευση της μελέτης του IOM, ψηφίστηκε νέα νομοθεσία από τη Βουλή των Αντιπροσώπων των ΗΠΑ, για τα κατάλληλα κεφάλαια για την ίδρυση ενός Εθνικού Προγράμματος Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος, το οποίο χρηματοδοτείται και διαχειρίζεται μέσω της HRSA. Αυτή η χρηματοδότηση θα επέτρεπε σε επιλεγμένες CBBs να αυξήσουν τις δραστηριότητές τους έτσι ώστε να χτίσουν απόθεμα, αυξάνοντας έτσι τον αριθμό και την ποιότητα των CBU's που είναι διαθέσιμες για μη συγγενείς μεταμοσχεύσεις ΟΠΑ. Στο πλαίσιο αυτού του νέου προγράμματος, πρέπει να παρέχεται υπεράσπιση στους ασθενείς και τα αποτελέσματα της μεταμόσχευσης να συλλέγονται και να αξιολογούνται (Kurtzberg J. L., 2005).

Στις οικογενειακές (ιδιωτικές) CBBs, οι οικογένειες που αποθηκεύουν ομφαλοπλακουντιακό αίμα το κάνουν είτε για κάποια αναμενόμενη ανάγκη (π.χ. αδερφός με ασθένεια που χρήζει κυτταρικής θεραπείας), είτε για μελλοντική χρήση σε περίπτωση που προκύψει ανάγκη. Έτσι, μια «οικογενειακή» CBU είναι ιδιοκτησία του βρέφους, υπό την κηδεμονία των γονέων, έως το βρέφος να ενηλικιωθεί ώστε να μπορεί να δώσει συγκατάθεση. Μόνο ο κηδεμόνας ή ο ιδιοκτήτης μπορεί να κάνει άμεση χρήση του ΟΠΑ και το ΟΠΑ δεν μπορεί να απορριφθεί χωρίς την άμεση συγκατάθεση του ιδιοκτήτη. Παρόλο που πρέπει να καθοριστούν κριτήρια ποιότητας για τις οικογενειακές τράπεζες ΟΠΑ, στις περισσότερες περιπτώσεις η οικογενειακή τράπεζα δεν μπορεί να καθορίσει μονομερώς ποιες μονάδες πρέπει να απορριφθούν βάσει κριτηρίων ποιότητας. Ομφαλοπλακουντιακό αίμα

από ιδιωτικές τράπεζες έχει χρησιμοποιηθεί μόνο σε μία μικρή μειοψηφία μεταμοσχεύσεων. Επιπλέον, στατιστικά στοιχεία για τις ιδιωτικές τράπεζες δεν είναι διαθέσιμα (Steinbrook, 2004). Η διαφήμιση των περισσότερων από αυτές τις εταιρείες είναι εύκολα προσβάσιμη μέσω διαδικτύου. Το μάρκετινγκ της άμεσης προσέγγισης θέτει τα προφανή ζητήματα της αλήθειας στη διαφήμιση και την πιθανή εκμετάλλευση των ασθενών σε μια ιδιαίτερα ευάλωτη στιγμή στη ζωή τους. Πολλές ιδιωτικές τράπεζες διαφημίζουν επιθετικά τις υπηρεσίες τους πολλά υποσχόμενες (Kurtzberg J. L., 2005). Επιπλέον, ο συχνά χρησιμοποιούμενος όρος «βιολογική εξασφάλιση» είναι παραπλανητικός, δεδομένου ότι η πιθανότητα το ΟπΑ να χρησιμοποιηθεί σε μια οικογένεια χωρίς ιστορικό αιματολογικών ασθενειών προσεγγίζει το μηδέν (περίπου 1 στα 20.000 για τα πρώτα 20 χρόνια ζωής). Τα περισσότερα παιδιά με λευχαιμία μπορούν να θεραπευτούν μόνο με συμβατική χημειοθεραπεία, και σε εκείνους για τους οποίους αυτή η προσέγγιση αποτυγχάνει, η αλλογενής μεταμόσχευση είναι η θεραπεία επιλογής. Επιπλέον, λευχαιμικά κύτταρα έχουν βρεθεί σε αυτόλογο ΟπΑ των παιδιών που παρουσιάζουν λευχαιμία από 1-11 ετών (Rubinstein P. C., 1998) (Annas, 1999) (Rowley, 1998).

Αρκετές τράπεζες ομφαλοπλακουντιακού αίματος προσφέρουν μια υβριδική προσέγγιση, ιδιωτική φύλαξη για όσους το επιθυμούν και έχουν ανάγκη να το κάνουν, παράλληλα με εγκαταστάσεις για δημόσιες δωρεές μονάδων. Αυτό το μοντέλο προσφέρει τα πλεονεκτήματα της οικογενειακής τράπεζας για όσους επιλέγουν να χρησιμοποιήσουν αυτήν την υπηρεσία, παρέχοντας παράλληλα ανοιχτά μητρώα για την παροχή CBUs στο ευρύ κοινό.

Θεσμικό πλαίσιο στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα, οι αρμόδιοι φορείς για την αδειοδότηση, την πιστοποίηση και τον έλεγχο των τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος είναι το Υπουργείο Υγείας και ο Εθνικός Οργανισμός Μεταμοσχεύσεων (ΕΟΜ) (Αριθμ. Φ6.131/οικ.30819/340, 2017).

Πιστοποίηση τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος

Οι προδιαγραφές πιστοποίησης κατά FACT-NETCORD είναι αυτές που σύμφωνα με τα διεθνή δεδομένα προτείνονται και οι τράπεζες, εντός τεσσάρων ετών από τη λήψη έγκρισης για τη λειτουργία τους, πρέπει να αποκτήσουν διαπίστευση από τον Οργανισμό FACT-NETCORD. Πρέπει να ελέγχονται οι ακόλουθες διαδικασίες: α) Η ενημέρωση και η συγκατάθεση των γονέων μετά από επίδειξη έντυπου υλικού και από το διαδίκτυο, διενέργεια σεμιναρίων και υπογραφή συμβολαίων μεταξύ της τράπεζας και των γονέων, β) Η συλλογή, η επεξεργασία, η κρυοκατάψυξη και η συντήρηση του ΟπΑ, γ) Ο έλεγχος της ποιότητας και της ασφάλειας των μονάδων ομφαλοπλακουντιακού αίματος, δ) Ο έλεγχος της ιστοσυμβατότητας για αλλογενή χρήση και ε) η επικοινωνία με τα μεταμοσχευτικά κέντρα και η αποστολή των μονάδων ΟπΑ για μεταμόσχευση. Ο έλεγχος της διαπίστευσης, όπως ορίζεται από το νόμο, πρέπει να γίνεται το λιγότερο κάθε δύο χρόνια από επιτροπή επιθεωρητών, οι οποίοι πρέπει να είναι ιατροί ή επιστήμονες του κλάδου υγείας ασχολούμενοι με τη μεταμόσχευση και διαθέτουν τίτλο επιθεωρητή από τους διεθνείς οργανισμούς πιστοποίησης FACT-NETCORD ή FACT-JACIE.

Ενημέρωση γονέων

Το Υπουργείο Υγείας έχει εκδώσει ένα ενιαίο ενημερωτικό έντυπο του άρθρου 48 του ν. 3984/2011 (ΦΕΚ 150/Α') για τις δημόσιες και ιδιωτικές τράπεζες ομφαλοπλακουντιακού αίματος μέσω του οποίου θα πρέπει να γίνεται η ενημέρωση των γονέων που επιθυμούν να αποθηκεύσουν το ΟπΑ του κυοφορούμενου τέκνου τους. Το προσωπικό των τραπεζών, το οποίο θα πρέπει να είναι κατάλληλα εκπαιδευμένο, ασχολείται με την ενημέρωση του κοινού και ο ΕΟΜ είναι υποχρεωμένος να ελέγχει το περιεχόμενο των διαφημίσεων που δημοσιεύονται από τις τράπεζες ΟπΑ στον τύπο και το διαδίκτυο, έτσι ώστε να προστατεύσει τους γονείς από ενδεχόμενη παραπληροφόρηση.

Λειτουργία τραπεζών ομφαλοπλακουντιακού αίματος (ΟΠΑ)

Απαραίτητες προϋποθέσεις για την εύρυθμη λειτουργία των δημόσιων και ιδιωτικών τραπεζών ΟΠΑ είναι η εξασφάλιση ικανής και σταθερής χρηματοδότησης, η στελέχωση με το κατάλληλο και αφοσιωμένο προσωπικό, η διάθεση κατάλληλων υποδομών και εξοπλισμού, η λήψη πιστοποίησης κατά FACT-NETCORD, η ύπαρξη σχεδιασμού για την αύξηση του αποθέματός τους σε μονάδες ομφαλοπλακουντιακού αίματος και η συνεργασία με τον ΕΟΜ και τα μεταμοσχευτικά κέντρα.

Οργάνωση και διαχείριση δημόσιων και ιδιωτικών τραπεζών ΟΠΑ

Οι τράπεζες ΟΠΑ έχουν την υποχρέωση να διαθέτουν τις κατάλληλες διαδικασίες λειτουργίες και την οργανωτική δομή για την επίτευξη των δραστηριοτήτων τους για τις οποίες ζητείται διαπίστευση, όπως είναι ο ορισμός, η έγκριση ή η αδειοδότηση. Θα πρέπει να υπάρχει οργανόγραμμα, το οποίο είναι απαραίτητο για τον σαφή καθορισμό των υπεύθυνων και των αρμοδιοτήτων τους. Επίσης, είναι απαραίτητη η εφαρμογή τεκμηριωμένου συστήματος διαχείρισης ποιότητας, σύμφωνα με τα πρότυπα που ορίζονται από την κοινοτική οδηγία, για την επικύρωση των μονάδων ΟΠΑ που χρησιμοποιούνται και διανέμονται ότι πληρούν τις κατάλληλες προδιαγραφές ασφαλείας και ποιότητας .

Προσωπικό δημόσιων και ιδιωτικών τραπεζών ΟΠΑ

Κάθε τράπεζα ΟΠΑ πρέπει να διαθέτει διευθυντή, ιατρικό διευθυντή, προσωπικό εργαστηρίου και λοιπό προσωπικό και να υποστηρίζεται από επιστήμονα προγραμματιστή ηλεκτρονικού υπολογιστή για τη δημιουργία, συντήρηση και αναβάθμιση των προγραμμάτων. Επιπλέον, η τράπεζα πρέπει να ορίζει εκπαιδευμένα άτομα, τα οποία μπορεί να είναι από τα στελέχη ή τους συνεργάτες της, και έχουν την υποχρέωση να ενημερώσουν τους γονείς, να διεκπεραιώσουν τη διαδικασία συγκατάθεσης για τη συλλογή του ΟΠΑ και να την υλοποιήσουν σε συνεργασία με τα μαιευτήρια.

Ο διευθυντής της τράπεζας ΟΠΑ πρέπει να έχει την ειδικότητα του αιματολόγου ή του βιοπαθολόγου με προσόντα διευθυντή ΕΣΥ ή αντίστοιχης βαθμίδας ΔΕΠ ή ερευνητή Α', ανάλογα με το εάν η τράπεζα εντάσσεται σε νοσοκομείο του ΕΣΥ, πανεπιστημιακό τμήμα ή ερευνητικό κέντρο, ή άλλος επιστήμονας βιολογικών επιστημών πανεπιστημιακής εκπαίδευσης. Επίσης, είναι απαραίτητο να διαθέτει αποδεδειγμένη επαγγελματική

και επιστημονική εμπειρία τουλάχιστον πέντε ετών στον τομέα των μεταμοσχεύσεων αιμοποιητικών κυττάρων. Ο διευθυντής είναι υπεύθυνος για την προμήθεια, τον έλεγχο, την επεξεργασία, την αποθήκευση και τη διάθεση των ανθρώπινων ιστών και κυττάρων που προορίζονται για ανθρώπινες εφαρμογές σύμφωνα με την υπάρχουσα νομοθεσία, καθώς επίσης για την κοινοποίηση και κατάθεση στον ΕΟΜ όλων των απαραίτητων πληροφοριών που ζητούνται, των σοβαρών ανεπιθύμητων συμβάντων και αντιδράσεων και του μητρώου δραστηριοτήτων και αποθηκευμένων μονάδων.

Ο ιατρικός διευθυντής έχει την ευθύνη να επιβλέπει τον έλεγχο, την επεξεργασία, την κρυοσυντήρηση και τη διάθεση των μονάδων σε συνεργασία με τον διευθυντή της τράπεζας ΟΠΑ. Πρέπει να έχει την ειδικότητα του αιματολόγου και να διαθέτει εμπειρία στη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων τουλάχιστον πέντε ετών, ενώ σε περίπτωση που ο διευθυντής είναι αιματολόγος μπορεί να ασκεί και τα δύο καθήκοντα.

Το προσωπικό του εργαστηρίου θα πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον έναν τεχνολόγο ιατρικών εργαστηρίων και ένα βιολόγο με εμπειρία στον έλεγχο, την επεξεργασία και την κρυοσυντήρηση των αιμοποιητικών μοσχευμάτων δύο ετών τουλάχιστον. Το λοιπό προσωπικό ορίζεται ως τουλάχιστον ένας υπάλληλος διοικητικού/λογιστικού, ένας γραμματέας, που γνωρίζει αποδεδειγμένα την αγγλική γλώσσα και να χειρίζεται ηλεκτρονικό υπολογιστή, και ένας τηλεφωνητής. Ο υπάλληλος διοικητικού/λογιστικού είναι υπεύθυνος για την οργάνωση, τη διοίκηση και την οικονομοδιαχειριστική λειτουργία της τράπεζας ΟΠΑ, ενώ και οι τρεις θα ασχολούνται επίσης με την παράδοση των υλικών συλλογής και την παραλαβή των μοσχευμάτων. Η τράπεζα ΟΠΑ πρέπει να ορίζει τα σαφή, τεκμηριωμένα και ενημερωμένα καθήκοντα του λοιπού προσωπικού, καθώς και να τους παρέχει την απαραίτητη αρχική και βασική εκπαίδευση ή επανεκπαίδευση σε περίπτωση μεταβολής των διαδικασιών ή εξέλιξης των επιστημονικών γνώσεων. Τα προσόντα του προσωπικού και η επάρκειά τους θα πρέπει να αξιολογούνται σε τακτά χρονικά διαστήματα, όπως αυτά ορίζονται από το σύστημα ποιότητας που εφαρμόζεται.

Εξοπλισμός και υλικά

Η επιθεώρηση, ο προσδιορισμός και η επικύρωση όλου του εξοπλισμού και των υλικών που χρησιμοποιούνται πρέπει να γίνεται τακτικά, όπως ορίζουν οι οδηγίες του κατασκευ-

αστή, καθώς και να συντηρούνται προληπτικά. Ο εξοπλισμός και τα υλικά για την επεξεργασία ή την αποθήκευση του ομφαλοπλακουντιακού αίματος επηρεάζουν κρίσιμες παραμέτρους, οι οποίες πρέπει να παραμένουν διαρκώς εντός αποδεκτών ορίων, και γι' αυτό απαιτείται ο προσδιορισμός και η κατάλληλη παρακολούθησή τους μέσω προειδοποιήσεων, συστημάτων συναγερμού και διορθωτικών ενέργειων, εάν χρειάζεται, ώστε να εντοπίζονται οποιεσδήποτε δυσλειτουργίες και ελαττώματα. Κρίνεται λοιπόν απαραίτητη η βαθμονόμηση του εξοπλισμού και η συντήρηση του σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή ή τουλάχιστον μια φορά ετησίως, σύμφωνα με το εφαρμοζόμενο σύστημα ποιότητας. Όλες οι λειτουργικές διαδικασίες για τον έλεγχο, τη βαθμονόμηση ή την αποστείρωση των μηχανημάτων πρέπει να είναι τυποποιημένες και έντυπες. Τα αντιδραστήρια και τα κρίσιμα υλικά σε χρήση πρέπει να είναι συμβατά με τις προδιαγραφές και τις τεκμηριωμένες απαιτήσεις των ιατροτεχνολογικών προϊόντων, καθώς επίσης να είναι αποστειρωμένα και εγκεκριμένα για διάγνωση in vitro (in vitro diagnosis, IVD). Είναι σημαντικό να γίνεται λεπτομερής καταγραφή του τμήματος του εξοπλισμού και όλων των αναλώσιμων υλικών που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε στάδιο επεξεργασίας της κάθε μονάδας ομφαλοπλακουντιακού αίματος, όπως αριθμός παρτίδας (lot number) και ημερομηνία λήξης εάν πρόκειται για αποστειρωμένο υλικό μιας χρήσης (single use), καθότι η βιωσιμότητα των δειγμάτων δεν πρέπει να επηρεάζεται αρνητικά και δεν πρέπει να υπάρχει ο κίνδυνος εισαγωγής παθογόνων στοιχείων ή επιμόλυνσης του δείγματος και διάδοσης μολυσματικών ασθενειών.

Μέσα και εγκαταστάσεις

Οι τράπεζες ΟΠΑ έχουν την υποχρέωση, σύμφωνα με τα πρότυπα που ορίζει ο νόμος, να διαθέτουν όλα τα κατάλληλα μέσα για τη διεκπεραίωση των δραστηριοτήτων τους, για τις οποίες απαιτείται διαπίστευση, ορισμός, έγκριση ή αδειοδότηση. Σε περίπτωση που περιλαμβάνουν επεξεργασία κυττάρων που εκτίθενται στο περιβάλλον, αυτή είναι απαραίτητο να γίνεται σε περιβάλλον όπου είναι καθορισμένη η ποιότητα και η καθαρότητα του αέρα, έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος μόλυνσης των μονάδων ΟΠΑ. Οι τράπεζες οφείλουν να επικυρώνουν και να παρακολουθούν την αποτελεσματικότητα αυτών των μέτρων. Το ίδιο ισχύει και στην περίπτωση που οι μονάδες ΟΠΑ, κατά τη διάρκεια της

επεξεργασίας τους, εκτίθενται στο περιβάλλον. Η ποιότητα αέρα που απαιτείται, σε αριθμό σωματιδίων και μικροβιακών αποικιών, είναι ισοδύναμη με την κατηγορία Α σύμφωνα με τον ισχύοντα Ευρωπαϊκό Οδηγό Παρασκευαστικής Πρακτικής (European Guide to Good Manufacturing Practice, GMP), (Παράρτημα Ι του π.δ. 26/2008, όπως αυτό ισχύει) με περιβάλλοντα χώρο κατάλληλο για την επεξεργασία των κυττάρων, τουλάχιστον ισοδύναμο με την κατηγορία Δ του GMP, όσον αφορά αριθμό σωματιδίων και μικροβίων. Είναι απαραίτητη η παρουσία τυποποιημένων διαδικασιών λειτουργίας (ΤΔΛ) για να ελέγχεται, να παρακολουθείται και να καταγράφεται η ποιότητα του αέρα και άλλες κρίσιμες παράμετροι, όπως η θερμοκρασία και η υγρασία, έτσι ώστε να αποδεικνύεται η συμμόρφωση με τις προδιαγραφές, καθώς και να ελέγχεται η στειρότητα του εργαστηριακού χώρου. Είναι υποχρέωση των τράπεζων ΟπΑ να έχουν στη διάθεσή τους χώρους κατάλληλους για την επεξεργασία και την κρυοσυντήρηση των μονάδων, καθώς επίσης να έχουν τη δυνατότητα να διατηρήσουν εμπιστευτικά δεδομένα, να φυλάξουν αρχεία και να τηρήσουν και διαχειριστούν τα δεδομένα τους ηλεκτρονικά, όπως προβλέπεται από το π.δ. 26/2008 και τους Διεθνείς Οργανισμούς διαπίστευσης FACT/NetCord. Λεπτομερέστερα, μια Τράπεζα ΟπΑ θα πρέπει να διαθέτει τουλάχιστον 150 τ.μ., εκ των οποίων οι χώροι παραλαβής, ελέγχου και επεξεργασίας θα κατέχουν 50 τ.μ., ο χώρος κρυοσυντήρησης 50 τ.μ. και ο χώρος του εργαστηρίου 50 τ.μ. τουλάχιστον.

Παρασκευή ιστών και κυττάρων

Οι ιδιότητες των κυττάρων που είναι απαραίτητες για την τελική κλινική τους χρήση πρέπει να προστατεύονται με την τήρηση των διαδικασιών συλλογής, μεταφοράς και φύλαξης, ενώ συγχρόνως ελαχιστοποιείται ο κίνδυνος μικροβιακής λοίμωξης. Πριν από την οποιαδήποτε συλλογή ΟπΑ, επιβεβαιώνεται και καταγράφεται από τον υπεύθυνο (Διευθυντής ή Ιατρικός Διευθυντής της Τράπεζας) ότι η μητέρα έχει δώσει τη συγκατάθεσή της για τη συλλογή και ότι το άτομο που πραγματοποίησε όλα τα βήματα για τη λήψη της συγκατάθεσής, όπως ορίζονται από τη νομοθεσία, είναι αξιόπιστο και κατάλληλα εκπαιδευμένο. Η συλλογή των μονάδων ΟπΑ είναι δυνατό να πραγματοποιείται από συνεργαζόμενες μαιευτικές κλινικές ή μη συμβεβλημένα κέντρα εφόσον έχει δοθεί η συγκατάθεση των γονέων/δοτών. Ο ιατρικός διευθυντής της τράπεζας είναι υπεύθυνος για τον έλεγχο της τή-

ρησης όλων των απαραίτητων προϋποθέσεων και προδιαγραφών όλων των κέντρων συλλογής. Μόνο εκπαιδευμένο προσωπικό μπορεί να εκτελεί τη λήψη του ΟΠΑ, ενώ η εκπαίδευση τους αφορά όλα τα στάδια συλλογής, που περιλαμβάνουν τη χρήση του ασκού συλλογής, την απολύμανση της ομφαλίδας, τον έλεγχο και αποθήκευση των μονάδων μέχρι και τη μεταφορά τους.

Η συλλογή του ΟΠΑ πραγματοποιείται πριν (in utero) ή μετά τον τοκετό του πλακούντα (ex utero) και σε νεογνά που έχουν ξεπεράσει τις 34 εβδομάδες κύησης, μα εφόσον ο γιατρός που θα κάνει τη λήψη κρίνει ότι δεν συνίσταται κίνδυνος για τη μητέρα και το νεογνό, η λήψη μπορεί να γίνει και σε μικρότερα νεογνά. Κάθε μονάδα ΟΠΑ λαμβάνει το δικό της χαρακτηριστικό αριθμό κατά τη λήψη, για την οποία χρησιμοποιούνται εξειδικευμένα αποστειρωμένα εργαλεία και συσκευές (ασκός). Κάθε ασκός λήψης συσκευάζεται σε δεύτερο σφραγισμένο/αποστειρωμένο ασκό μετά τη συλλογή, έτσι ώστε να αποφευχθεί τυχόν διαρροή αίματος. Η έτοιμη μονάδα ΟΠΑ εναποτίθεται εντός ισοθερμικού δοχείου, κατάλληλου για μεταφορά βιολογικών υλικών, το οποίο εξασφαλίζει την ποιότητα του μεταφερομένου υλικού και την προστασία του από εξωτερικούς παράγοντες, πιθανές διαρροές και επιμολύνσεις. Κάθε μονάδα ΟΠΑ φέρει ένδειξη ώρας και τόπου λήψης και συνοδεύεται από δείγματα αίματος για τη διενέργεια εργαστηριακών εξετάσεων, τα οποία είναι αναγκαίο να διαθέτουν τη σωστή σήμανση για να εξασφαλίζεται η ορθή ταυτοποίηση του δότη. Επιπλέον, στις απαραίτητες συνοδευτικές πληροφορίες συμπεριλαμβάνεται το ιατρικό ιστορικό της μητέρας/δότης. Βασικό είναι να ολοκληρώνεται η επεξεργασία και η κρυοσυντήρηση της μονάδας του ΟΠΑ το αργότερο εντός 48 ωρών από τη συλλογή.

Σε κάθε ασκό ΟΠΑ, μετά τη λήψη, τοποθετείται ετικέτα αναγραφής με κωδικό, είδος κυττάρων, ημερομηνία και ώρα συλλογής και προειδοποίηση κινδύνου, ενώ σε περίπτωση κατευθυνόμενης συλλογής πρέπει να περιλαμβάνει και τα στοιχεία ταυτοποίησης του λήπτη. Εάν οι παραπάνω πληροφορίες δεν συμπεριληφθούν στην ετικέτα της πρωτογενούς συσκευασίας, αυτή θα πρέπει να συνοδεύεται από ξεχωριστό φύλλο που αναφέρει τα στοιχεία που λείπουν. Κάθε δοχείο που αποστέλλεται πρέπει να διαθέτει σήμανση με τουλάχιστον τις εξής πληροφορίες: «ΟΜΦΑΛΟΠΛΑΚΟΥΝΤΙΑΚΟ ΑΙΜΑ», «ΕΥΘΡΑΥΣΤΟ», «ΝΑ ΜΗΝ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΘΕΙ», να τακτοποιείται το ίδρυμα από το οποίο γίνεται

η αποστολή με διεύθυνση και τηλέφωνο και του υπεύθυνου επικοινωνίας του, ημερομηνία και ώρα έναρξης της μεταφοράς, σε περίπτωση θετικού προϊόντος για μολυσματική ασθένεια να συμπεριλαμβάνεται η σήμανση «ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ» και τέλος οι προδιαγεγραμμένες συνθήκες αποθήκευσης (π.χ. «ΝΑ ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΘΕΙ»). Η άφιξη της μονάδας ΟΠΑ στην Τράπεζα ακολουθείται από τον έλεγχο της ακεραιότητας του σάκου, της τήρησης των συνθηκών μεταφοράς και θερμοκρασίας, καθώς και τη διασταύρωση των στοιχείων που αναγράφονται στο σάκο με αυτά των συνοδευτικών έγγραφων. Κάθε τράπεζα οφείλει να διατηρεί αρχείο, στο οποίο για κάθε μονάδα συντηρούνται τα εξής στοιχεία: η συναίνεση/εξουσιοδότηση, η οποία συμπεριλαμβάνει τον πιθανό σκοπό χρήσης (θεραπευτικό ή ερευνητικό σκοπό ή και τους δύο), και τυχόν συγκεκριμένες οδηγίες για διαφορετική διάθεση της μονάδας στην περίπτωση που δεν χρησιμοποιηθεί για τον σκοπό για τον οποίο δόθηκε συγκατάθεση, τα απαραίτητα αρχεία συλλογής και καταγραφής του κληρονομικού ιστορικού του δότη, σύμφωνα με τη νομοθεσία, και τα αποτελέσματα των εργαστηριακών εξετάσεων που πραγματοποιήθηκαν.

Όλες οι τράπεζες ΟΠΑ πρέπει να διαχωρίζουν μονάδες που είναι κατάλληλες για επεξεργασία με βάσει κριτήρια (τουλάχιστον τον ολικό αριθμό εμπύρηνων κυττάρων και τον όγκο συλλογής), τα οποία συμπεριλαμβάνονται στις ΤΔΛ τους και εναρμονίζονται με τα διεθνή επιστημονικά δεδομένα που αφορούν τις μεταμοσχεύσεις ΟΠΑ. Για να διασφαλιστεί ότι τα κύτταρα είναι κλινικά αποτελεσματικά ή μη επιβλαβή για τον λήπτη μετά τις κρίσιμες διαδικασίες επεξεργασίας των μονάδων πρέπει να γίνεται επικύρωση των διαδικασιών που περιλαμβάνει η επεξεργασία με βάση μελέτες της ίδιας της τράπεζας ή δεδομένα που προκύπτουν από δημοσιευμένες μελέτες ή, όσον αφορά τις καθιερωμένες διαδικασίες επεξεργασίας, βάσει στοιχείων που συλλέγει η τράπεζα επεξεργαζόμενη τα κλινικά αποτελέσματα των μονάδων ΟΠΑ που έχει ήδη διαθέσει. Πριν την κρυσυντήρηση της μονάδας ΟΠΑ, η μόνη επεξεργασία που πρέπει να πραγματοποιείται είναι η διαδικασία μείωσης του όγκου με απομάκρυνση του πλάσματος και των ερυθρών αιμοσφαιρίων, η οποία εκτελείται σε τελείως άσηπτες συνθήκες και συμβάλει στη διατήρηση της βέλτιστης βιωσιμότητας των κυττάρων. Για να γίνει οποιαδήποτε άλλη επεξεργασία πρέπει να προηγηθεί έγκριση από τον ΕΟΜ ή άλλη αρμόδια εθνική αρχή. Πρέπει να εξασφαλίζεται ότι όλες οι διαδικασίες επεξεργασίας και κρυσυντήρησης που λαμβάνουν χώρα τεκμη-

ριώνονται στις ΤΔΛ της τράπεζας και συμφωνούν με τις επικυρωμένες μεθόδους και πρότυπα που ορίζονται από το νόμο. Ο εξοπλισμός και τα αναλώσιμα υλικά που χρησιμοποιούνται πρέπει να διαφυλάσσουν τη μονάδα από πιθανή επιμόλυνση με μικροοργανισμούς ή μολυσματικές ασθένειες. Η χρήση προγραμματιζόμενου καταψύκτη ή άλλης ανάλογης επικυρωμένης διαδικασίας για την κρυσυντήρηση της μονάδας βοηθά στη διατήρηση της βιωσιμότητας των κυττάρων. Είναι σημαντικό να μεσολαβεί όσο το δυνατό μικρότερο χρονικό διάστημα μεταξύ της προσθήκης κρυσταλλοπροστατευτικού διαλύματος και της έναρξης της κρυσκατάψυξης και η χρησιμοποιούμενη μέθοδος κρυσυντήρησης να εξασφαλίζει τη βιωσιμότητα τουλάχιστον του 70% των κυττάρων μετά την απόψυξη. Όσον αφορά την κρυσυντήρηση των μονάδων ΟΠΑ, θα πρέπει στις ΤΔΛ να καθορίζονται τα εξής: ο ολικός αριθμός των εμπύρηνων κυττάρων, ο τρόπος και ο ρυθμός κρυσκατάψυξης, ο τύπος και η συγκέντρωση της κρυσταλλοπροστατευτικής ουσίας και η τελική θερμοκρασία αποθήκευσης. Για τη συντήρηση των μονάδων ΟΠΑ πρέπει να χρησιμοποιούνται κρυσταλλοπροστατευτικοί κατάλληλοι για ανθρώπινα κύτταρα, οι οποίοι για προστασία τους κατά τη διάρκεια της κατάψυξης και της μεταφοράς είναι απαραίτητο να τοποθετούνται σε μεταλλικά κάδυστρα. Συνοδευτικά δείγματα αναφοράς που πρέπει να φυλάσσονται μαζί με τη μονάδα ΟΠΑ είναι τα ακόλουθα: τρία δείγματα τουλάχιστον 100 μl συνδεδεμένα στον ασκό κρυσυντήρησης (attached segments) έτσι ώστε να γίνει έλεγχος ιστοσυμβατότητας, ή εναλλακτικά μπορεί να γίνει κρυσυντήρηση δύο δειγμάτων των 100 μl ΟΠΑ ή εκχυλισμένου DNA από τη μονάδα σε ειδικά κρυσταλλοπροστατευτικά, τα οποία φυλάσσονται σε αέρια ή υγρή φάση αζώτου ή καταψύκτη αντίστοιχης θερμοκρασίας, και δύο κρυσταλλοπροστατευτικά με πλάσμα για εργαστηριακές εξετάσεις σε θερμοκρασία χαμηλότερη των -70°C . Οποιαδήποτε σημαντική τροποποίηση της μεθόδου επεξεργασίας είναι απαραίτητο πριν πραγματοποιηθεί να λάβει επικύρωση και τεκμηρίωση με νέες ΤΔΛ, καθώς επίσης θα πρέπει να γίνεται τακτική και αυστηρή αξιολόγηση των διαδικασιών έτσι ώστε να υπάρχει η εξασφάλιση ότι τα αποτελέσματα ανταποκρίνονται στις καθορισμένες προδιαγραφές ποιότητας.

Η νομοθεσία καθορίζει τον τρόπο αποθήκευσης και διάθεσης, καθώς επίσης και τις ακόλουθες παραμέτρους. Ο χώρος στον οποίο βρίσκονται τα κυτία αποθήκευσης θα πρέπει να είναι ελεγχόμενης πρόσβασης και να υπάρχει δυνατότητα απομόνωσης και ασφάλισης (να κλειδώνεται), ενώ οι πιθανά θετικές μονάδες σε μολυσματικές ασθένειες είναι σημαντικό να φυλάσσονται σε δοχεία καραντίνας ξεχωριστά, από τα οποία μπορούν

να εξέλθουν μόνο μετά την ολοκλήρωση όλων των εξετάσεων και αφού δώσει άδεια ο διευθυντής της τράπεζας. Οι μονάδες ΟΠΑ είναι σημαντικό να διατηρούνται στην υγρή ή αέρια φάση του αζώτου και σε θερμοκρασίες μικρότερες των -150°C , γι' αυτό το λόγο οι δεξαμενές αποθήκευσης τους πρέπει να διαθέτουν σύστημα συνεχούς ελέγχου θερμοκρασίας, στο οποίο καταγράφονται μετρήσεις κάθε 4 ώρες τουλάχιστον, σύστημα ελέγχου στάθμης υγρού αζώτου, καθώς και σύστημα τηλεειδοποίησης (alarm systems) των κυτίων αποθήκευσης, έτσι ώστε σε περίπτωση που προκύψει πρόβλημα στη διαδικασία κρυοσυντήρησης να στέλνεται ειδοποίηση στο προσωπικό ανά πάσα στιγμή της ημέρας.

Εξετάσεις δειγμάτων δοτών

Υπάρχουν ορισμένες βιολογικές δοκιμασίες που είναι απαραίτητο να γίνονται σε όλους τους δότες. Ως ελάχιστη απαίτηση εργαστηριακών εξετάσεων ορίζονται οι εξής: HIV 1 και 2 (αντι-HIV 1 και 2), ηπατίτιδα Β (HBsAg και αντι-HBc), ηπατίτιδα C (αντι-HCV), κυτταρομεγαλοϊός (αντι-CMV IgG και IgM) και σύφιλη (μη ειδικές ή/και ειδικές δοκιμασίες για *Treponema pallidum*). Σε περίπτωση γονέων του δότη που κατοικούν ή προέρχονται από περιοχές με υψηλή λοιμωξιολογική επίπτωση διενεργούνται και δοκιμασίες ανίχνευσης αντισωμάτων HTLV-I/II. Το σύνολο των ορολογικών εξετάσεων πραγματοποιείται εντός επτά ημερών πριν ή μετά τη λήψη του ΟΠΑ σε δείγμα αίματος της μητέρας.

Διενεργούνται επίσης, εργαστηριακές αναλύσεις για την εξασφάλιση της ποιότητας και της συμβατότητας της μονάδας ΟΠΑ που φτάνει στην τράπεζα για περαιτέρω επεξεργασία. Ο όγκος κάθε μονάδας ΟΠΑ είναι σημαντικό να μην είναι χαμηλότερος των 60 ml και να μην περιέχει αιμοπήγματα. Βασικός στόχος πριν την επεξεργασία είναι ο ολικός αριθμός των εμπύρηνων κυττάρων να είναι $\geq 9 \times 10^8$ και ο ολικός αριθμός των $\text{CD}34^+$ κυττάρων τουλάχιστον 3×10^6 , ενώ μετά την επεξεργασία τα ανακτώμενα κύτταρα να είναι τουλάχιστον το 70% των αρχικών κυττάρων και ο ολικός αριθμός των $\text{CD}34^+$ κυττάρων τουλάχιστον $2,5 \times 10^6$. Είναι σημαντικό για τα $\text{CD}34^+$ κύτταρα να έχουν, μετά την επεξεργασία και πριν την κρυοσυντήρηση, βιωσιμότητά $\geq 85\%$.

Στο τελευταίο μέρος του εργαστηριακού ελέγχου κάθε μονάδας ΟΠΑ περιλαμβάνεται μικροβιολογικός έλεγχος στο δείγμα για την ανίχνευση αερόβιων ή/και αναερόβιων βακτηρίων ή/και μυκήτων πριν και μετά την επεξεργασία. Ακολουθεί ο προσδιορισμός της

ομάδας ερυθρών αιμοσφαιρίων κατά το σύστημα ABO και Rhesus και ο έλεγχος για αιμοσφαιρινοπάθειες όπως η μεσογειακή και η δρεπανοκυτταρική αναιμία. Επίσης, είναι απαραίτητος ο έλεγχος αντιγόνων ιστοσυμβατότητας με χαμηλής διακριτικής ευκρίνειας τυποποίηση για τους τύπους HLA -A και -B και υψηλής διακριτικής ευκρίνειας τυποποίηση για τον τύπο HLA-DRB1. Αυτός ο έλεγχος θα πρέπει να γίνεται σε εργαστήριο που έχει πιστοποιηθεί από την Ευρωπαϊκή Ομοσπονδία Ανοσογενετικής (European Federation of Immunogenetics - EFI). Τέλος, πριν την αποστολή κάθε μονάδας ΟπΑ πρέπει να πραγματοποιούνται επιβεβαιωτικές εξετάσεις ελέγχου ιστοσυμβατότητας και να επαναλαμβάνεται ο έλεγχος της ποιότητάς της σε αποψυγμένο δείγμα.

Τράπεζες Μεσεγχυματικών Κυττάρων και δυνητικές κλινικές εφαρμογές τους
Η συνεχής ανακάλυψη νέων πηγών μεσεγχυματικών στελεχειαίων κυττάρων άνοιξε νέους ορίζοντες για τη χρήση αυτών των κυττάρων στην αναγεννητική ιατρική. Τα MSCs μπορούν να απομονωθούν εύκολα, να αποθηκευτούν και τελικά να επεκταθούν στις ίδιες δομές που χρησιμοποιούνται σήμερα για τραπεζική ιστών και πρωτογενών κυττάρων με κάποια λογική τροποποίηση για συμμόρφωση με τους κανόνες της ορθής προπαρασκευαστικής πρακτικής (Good Manufacturing Practice, GMP) σύμφωνα με τον ευρωπαϊκό κανόνα στις προηγμένες θεραπείες. Πρέπει να επιτευχθεί παραγωγή MSCs κλινικής ποιότητας. Αυτό επιτυγχάνεται, όχι μόνο μέσω της χρήσης αποκλειστικών «καθαρών δωματίων» (Clean Rooms) που ακολουθούν τους GMP κανόνες, αλλά και μέσω της επικύρωσης των πρωτοκόλλων χειρισμού των κυττάρων σύμφωνα με ευρωπαϊκά πρότυπα και κανόνες ποιοτικού ελέγχου. Η επεξεργασία των κυττάρων πρέπει να προσαρμοστεί προσεκτικά από ερευνητικά πρωτόκολλα (ερευνητικός βαθμός) σε μεγάλης κλίμακας κλινικά πρωτόκολλα (κλινικός βαθμός). Η συνοχή των προϊόντων πρέπει να διασφαλίζεται μέσω της ανάλυσης της μικροβιακής ακεραιότητας, καθαρότητας, ταυτότητας, απόδοσης, βιωσιμότητας, δυνατότητας, πιθανής ογκογένεσης και γονιδιωματικής σταθερότητας. Από μικροβιολογική άποψη, οι δοκιμές που απαιτούνται για την αποδοχή ιστών δότη και πρωτογενών κυττάρων είναι εύκολα εφαρμόσιμες σε MSCs από διαφορετικές πηγές. Καθώς η αποστείρωση των κυττάρων οδηγεί αναπόφευκτα σε απώλεια βιωσιμότητας και βιολογικής δραστηριότητας, ο χειρισμός σε καθαρά δωμάτια θα ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο μόλυνσης. Στην πραγματικότητα, τα καθαρά δωμάτια ελέγχονται και παρέχουν ένα τυποποιημένο περιβάλλον όπου ένας αριθμός περιβαλλοντικών παραμέτρων (π.χ. φιλτράρισμα αέρα και εξαερισμός, αριθμός σωματιδίων αέρα και μονάδες σχηματισμού αποικιών, συνθήκες θερμοκρασίας, σχετική υγρασία) και οι διαδικασίες λειτουργίας συνεχώς παρακολουθούνται. Επιπλέον, πραγματοποιείται περιοδική ανάλυση για την παρουσία βακτηριακών μόλυνσεων, μυκοπλάσματος και ενδοτοξινών στις κυτταρικές καλλιέργειες και τα αντιδραστήρια (Roseti, 2008). Πρέπει επίσης να εφαρμόζεται μία προηγμένη και ενδεδειγμένη εκπαίδευση του προσωπικού για την τυποποίηση των συνθηκών επεξεργασίας. Έχει αποδειχθεί, για παράδειγμα, ότι οι χειρισμοί με τους οποίους λαμβάνεται η βιοψία νωτιαίου μυελού επηρεάζει την απόδοση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων που συλλέγονται (Fennema,

2009). Αν και δεν υπάρχει σύγκριση της επίδρασης της εκπαίδευσης του χειριστή της συλλογής στη βιβλιογραφία σε σχέση με άλλους ιστούς πηγές MSCs, παρόμοιες παραλλαγές μπορούν να αναμένονται.

Από μια πιο πρακτική προοπτική, η επιλογή κυτταρικής πηγής θα μπορούσε να εξεταστεί ανάλογα με τα πρωτόκολλα απομόνωσης που απαιτούνται για την επίτευξη MSCs και εξισορροπώντας τη συχνότητα παρουσίας MSCs σε ένα συγκεκριμένο ιστό με τον προβληματισμό εάν μεταφέρονται αυτά τα πρωτόκολλα σε καθαρά δωμάτια που λειτουργούν με GMP. Αν και τα BM-MSCs εξακολουθούν να θεωρούνται τα στελεχιαία κύτταρα που απομονώνονται ευκολότερα, η φτωχή συχνότητά τους ήταν η κινητήρια δύναμη για την αναζήτηση εναλλακτικών πηγών. Επιπλέον, η τυπική διαδικασία απομόνωσης περιλαμβάνει αναρρόφηση νωπιαίου μυελού που είναι επίπονη για τον ασθενή. Μια πιθανή εναλλακτική λύση θα ήταν η απομόνωση BM-MSCs από πτωματικές πηγές. Ο Ahrens και οι συνεργάτες του (Ahrens, 2004) έδειξαν ότι BM-MSCs θα μπορούσαν να απομονωθούν σε μεγαλύτερο αριθμό από τους σπονδύλους σε σύγκριση με το λαγόνιο λοφίο, ενώ διατηρούν τις ανοσορυθμιστικές τους ιδιότητες. Τα UCB-MSCs είναι επίσης εύκολο να απομονωθούν, αλλά η αμφιλεγόμενη αναφορά της παρουσίας τους και της σωστής αναγνώρισης τους εξακολουθεί να δημιουργεί κάποιες αμφιβολίες στην αποτελεσματικότητα της κλινική τους χρήσης. Τα AT-MSCs βρίσκονται με πολύ υψηλότερη συχνότητα, συνήθως της τάξης του 1-5%, και είναι σχετικά εύκολη η απομόνωσή τους από λιποαναρροφήσεις ή επιθέματα λίπους από αλλογενή πηγή (Jurgens, 2008). MSCs που προέρχονται από τον πλακούντα και τη βαρτόναιο γέλη φαίνεται να είναι εξίσου συχνά, ωστόσο τα πρωτόκολλα που χρησιμοποιούνται μέχρι τώρα για την απομόνωση είναι δυσκίνητα και μακρά (Seshareddy, 2008) (Fariha, 2011). Η ανάπτυξη των αυτοματοποιημένων συσκευών απομόνωσης και των βιοαντιδραστήρων εμφανίζεται ως κρίσιμος παράγοντας για την επίλυση αυτών των ζητημάτων και τη διευκόλυνση της εφαρμογής των GMP κανόνων για κλινικές εφαρμογές (Ramot, 2009). Στην παρούσα φάση, MSCs από το νωπιαίο μυελό, το λιπώδη ιστό και το αίμα του ομφάλιου λώρου φαίνεται να είναι τα πιο πρακτικά για να επεξεργαστούν σε GMP εγκαταστάσεις αποθήκευσης κυττάρων.

Όταν επιλέγονται MSCs για τραπεζική κυττάρων, ένα κρίσιμο ζήτημα συνίσταται στην εύρεση υποκατάστατων θεραπευτικών συστατικών ζωικής προέλευσης. Συνήθως, τα

MSCs καλλιεργούνται και αναπτύσσονται παρουσία εμβρυικού βόειου ορού (FBS). Μερικές μελέτες έδειξαν ότι η αντικατάσταση του FBS με αυτόλογο ορό του ασθενούς θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη συντήρηση της βιωσιμότητας και του ρυθμού πολλαπλασιασμού των MSCs (Kocaoemer, 2007). Σε ορισμένα μέσα καλλιέργειας, προστίθενται αυξητικοί παράγοντες για ενίσχυση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Σε αυτές τις περιπτώσεις θα πρέπει να εφαρμοστούν μεγάλες προφυλάξεις, καθώς καμία μελέτη δεν έχει διερευνήσει μέχρι τώρα εάν η χρήση αυξητικών παραγόντων μπορεί να προκαλέσει παρεκκλίνουσες μεταλλάξεις DNA με αποτέλεσμα έναν διαφορετικό καρυότυπο. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι τα MSCs ενδέχεται να υποβληθούν σε χρωμοσωμικές τροποποιήσεις σε φυσιολογικές συνθήκες καλλιέργειας ανάλογα με την πηγή του ιστού και τον αριθμό των βημάτων *in vitro* (Grigorian, 2010) (Nikitina, 2011) (Poloni, 2011) (Wang Y. H., 2012). Προσεκτική ανάλυση πιθανών γενετικών τροποποιήσεων λόγω εκτεταμένης κυτταρικής καλλιέργειας και επέκτασης πρέπει επίσης να πραγματοποιείται για την αξιολόγηση της ογκογένεσης, της αναπαραγωγικής γήρανσης και της απώλειας δυνητικών κινδύνων διαφοροποίησης (Sekiya, 2002) (Stolzinger A. S., 2006) (Wagner W. H., 2010) (Klorpp, 2011). Τα μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα από διαφορετικές πηγές δεν επέδειξαν μόνο επιτυχή αναγέννηση στοχευμένων ιστών *in vivo*, αλλά και ότι διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην αναστολή του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων (Li X. L., 2011) (Magatti, 2012). Ωστόσο, μια λεπτή ισορροπία μεταξύ της αναγεννητικής τους δυνατότητας ή της πιθανής εμπλοκής τους στην έναρξη του καρκίνου πρέπει να κατανοηθεί πλήρως καθώς οι επιγενετικές τροποποιήσεις έχουν ήδη δείξει ότι οδηγούν σε MSCs κακοήθεια (Serakinci, 2004) (Teng, 2011). Η ένταση του οξυγόνου που χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας πρέπει επίσης να μελετηθεί προσεκτικά. Ανάλογα με την πηγή, τα MSCs βιώνουν διαφορετικές εντάσεις οξυγόνου. Αν και οι χαμηλές εντάσεις οξυγόνου συνήθως έχουν ως αποτέλεσμα βελτιωμένη διάρκεια ζωής και ικανότητες διαφοροποίησης των MSCs (Fehrer, 2007) (Markway, 2010), μια δραστική αλλαγή σε αυτά τα επίπεδα θα μπορούσε ενδεχομένως να οδηγήσει στην παραγωγή επιβλαβών αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (Potier, 2007) (Das, 2010). Ανεξάρτητα από τις καλλιεργητικές συνθήκες που επιλεγεί κάθε τράπεζα κυττάρων, φαίνεται προφανές ότι όλες οι ενώσεις που χρησιμοποιούνται πρέπει να παράγονται υπό συνθήκες GMP και να χρησιμοποιούνται ως τέτοια.

Ένας άλλος παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψη για την κυτταρική τραπεζική είναι η ανάγκη βελτίωσης των πρωτοκόλλων κρυοσυντήρησης. Τα κύτταρα συντηρούνται συνήθως σε ψυκτικά μέσα που αποτελούνται από τροποποιημένο κατά Dulbecco θρεπτικό μέσο του Eagle (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) (DMEM) ή α-MEM, FBS και διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO). Ενώ η συγκέντρωση DMSO διατηρείται συνήθως στο 10%, διαφορετικές συνταγές αναπτυχθήκαν με αλλαγή της σχετικής συγκέντρωσης του FBS στο μέσο. Υπό την προϋπόθεση ότι πρέπει να βρεθεί μια εναλλακτική λύση για το FBS, δεν είναι επίσης σαφές εάν η παρουσία μεγαλύτερης ποσότητας ορού είναι ευεργετική για την επιβίωση των κυττάρων κατά τους κύκλους κατάψυξης και απόψυξης. Σύμφωνα με την εμπειρία, μια αύξηση της συγκέντρωσης του FBS στα ψυκτικά μέσα δεν επηρέασε σημαντικά την επιβίωση των κυττάρων για τιμές υψηλότερες από 40%. Παραμένει ακόμη κρίσιμο θέμα η επίτευξη υψηλού ποσοστού επιβίωσης του πληθυσμού των μονοπύρηνων κυττάρων μετά την απομόνωση με αυτή τη συνταγή μέσων κατάψυξης. Εναλλακτικά, πρωτόκολλα υαλοποίησης έχουν αναπτυχθεί και αποδειχθεί να αυξάνουν την κρυοσυντήρηση των κυττάρων (Moon, 2008) (Todoron, 2010). Η χρήση παραγόντων υαλοποίησης όπως αιθυλενογλυκόλη και γλυκερόλη πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω και μπορεί να αποτελέσει τη βάση για βελτιωμένες τυποποιημένες διαδικασίες για δραστηριότητες τραπεζικής κυττάρων. Πιο πρόσφατα, η εκτοΐνη (ectoin) προτάθηκε ως εναλλακτικό κρυοσυντηρητικό σε συνθήκες χωρίς ορό με ποσοστό βιωσιμότητας 72% των MSCs (Grein, 2010).

Όταν τα πρωτόκολλα απομόνωσης, καλλιέργειας και κρυοσυντήρησης είναι βελτιστοποιημένα για την αναβάθμιση των MSCs από την έρευνα σε κλινικό βαθμό, θα πρέπει να γίνει και η επιλογή μιας κατάλληλης μεθόδου χορήγησης. Τα κύτταρα μπορούν είτε να εγχυθούν στην κυκλοφορία είτε απευθείας στη θέση χρήσης (Agung, 2006) (Lee K. H., 2007) ή σε συνδυασμό με πολλαπλά πορώδη βιοϋλικά (Bensaid, 2003) (Shao, 2006) (Sharma, 2007). Οι εγχύσεις κυττάρων είναι συνήθως μη στοχευμένες λύσεις, οι οποίες βασίζονται στην ικανότητα των MSCs να μεταναστεύουν στο σημείο της βλάβης χάρη στα κλάσματα των κυτοκινών που απελευθερώνονται λόγω της φλεγμονής (Schmidt, 2006). Παρόλο που οι πιο πρόσφατες εξελίξεις στην παρακολούθηση των κυττάρων (van Buul, 2011) επιτρέπουν την καλύτερη κατανόηση του ταξιδιού των κυττάρων στο ανθρώπινο σώμα μετά την έγχυση και κατά συνέπεια το σχεδιασμό καλύτερου συστήματος για τον

έλεγχο της στοχευμένης παράδοσής τους (Hori, 2011), αυτό το σύστημα στερείται επαρκούς ελέγχου για αποτελεσματική επί τόπου παράδοση. Επιπλέον, όταν επεκτείνονται *in vitro*, τα MSCs μπορεί να μειώσουν την ικανότητα μετανάστευσής τους *in vivo* μετά από ενδοφλέβια έγχυση. *In vitro* διέγερση με συγκεκριμένες κυτοκίνες (π.χ. προερχόμενους από αιμοπετάλια και ηπατικούς αυξητικούς παράγοντες, προερχόμενο από στρωματικά κύτταρα παράγοντα-1) ενισχύει την ικανότητα μετανάστευσης των MSCs, τονίζοντας έτσι τη δυνατότητα για αυτά τα κύτταρα να μεταναστεύσουν σε φλεγμονώδεις περιοχές όπου είναι παρόντα τέτοια χημειοτακτικά κλάσματα (Ponte, 2007) (Abumaree M. A., 2013) (Qiu, 2012). Υδρογέλες ή στερεά πορώδη βιοϋλικά προσφέρουν μια καλύτερη εναλλακτική λύση για τον εντοπισμό της παρουσίας των MSCs στο σημείο εμφύτευσης. Επιπλέον, νέες στρατηγικές στη βιοϋλική λειτουργικοποίηση υπόσχονται να μεταδώσουν σε αυτές τις κατασκευές διδακτικές ιδιότητες για τον έλεγχο της δραστηριότητας των στελεχιαίων κυττάρων και της μοίρας τους (Burdick, 2009) (Lutolf, 2009). Ο μελλοντικός σχεδιασμός βιοϋλικών πρέπει να στοχεύει στη βελτίωση της στοχευμένης παράδοσης των MSCs από μηχανικούς φορείς που εμφανίζουν μικρο- και νανο- περιβάλλοντα ικανά να ελέγχουν τη λειτουργία των κυττάρων και ταυτόχρονα να αναγνωρίζουν τον ιστό ή το όργανο που πρέπει να φτάσουν μέσω, για παράδειγμα, αλληλεπιδράσεων προσδέματος.

Αν και αυτές οι παράμετροι πρέπει να εξεταστούν πιο προσεκτικά και να βελτιωθούν στο μέλλον, ο ενθουσιασμός και η ελπίδα γύρω από τη χρήση των MSCs από νωτιαίο μυελό ή εναλλακτικές πηγές επιβεβαιώθηκαν με την αύξηση των αναφερόμενων επιτυχιών όπως τη θεραπεία της νόσου του μοσχεύματος έναντι του ξενιστή (Le Blanc, 2008) ή την πιο πρόσφατη αναγέννηση του ιστού των αεραγωγών (Jungebluth, 2011). Μεταξύ των κλινικών δοκιμών που βρίσκονται σε εξέλιξη, περισσότερες από τις μισές περιλαμβάνουν τη διερεύνηση των MSCs ως ανοσορυθμιστές, ενώ το 30% περίπου επικεντρώνεται στη διευκόλυνση της επισκευής ιστών. Εξακολουθεί να είναι ένα δίλημμα εάν τα MSCs συμμετέχουν άμεσα στην αναγέννηση των ιστών ή ενεργούν ως εργοστάσιο κυττάρων που εκκρίνει βιοδραστικά μόρια που βοηθούν στη διαδικασία επισκευής από άλλα κύτταρα, όπως προτείνεται από τους Carlan και Dennis (Carlan, 2006). Τα BM-MSCs αποδείχθηκε ότι εκκρίνουν τροφικούς παράγοντες που φαίνεται να βοηθούν στην αναγεννητική διαδικασία που εμπλέκεται στους νευρικούς (Wilkins, 2009), καρδιακούς (Zisa, 2009), δερματικούς (Walter, 2010) και παγκρεατικούς ιστούς (Park K. K., 2010) μεταξύ άλλων (Carlan A. ,

2009). Τα AT-MSCs αποδείχθηκε ότι παρήγαγαν νευροτροφικούς παράγοντες που οδήγησαν σε νευρωνική προστασία του εγκεφαλικού ιστού μετά από ισχαιμία (Wei, 2009). Αποδείχθηκε επίσης ότι τα PD-MSCs εκκρίνουν μια ομάδα αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών, μεταξύ των οποίων αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα και ιντερλευκίνη-6, που έχουν ως αποτέλεσμα την αυξημένη κυτταρική μετανάστευση και την προστασία του ενδοθηλιακού ιστού κατά της οξειδωτικής βλάβης (Chen C. L., 2008) (Liu S. H., 2010). Ομοίως, τα UC-MSCs απελευθερώνουν διάφορους τροφικούς παράγοντες και κυτοκίνες, όπως αναθεωρήθηκε πρόσφατα από τον Fan και τους συνεργάτες του (Fan C. Z., 2011). Επιπλέον στις εναλλακτικές ενήλικες και εμβρυικές πηγές που συζητήθηκαν, μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα προέρχονται επίσης από ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα όπως τα εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα και τα επαγόμενα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα (Hwang, 2008) (Wei H. T., 2012). Αυτά τα κύτταρα έχουν παρόμοια χαρακτηριστικά με τα MSCs χωρίς να πάσχουν από το εγγενές πρόβλημα σχηματισμού τερατωμάτων όταν εμφυτεύονται, ενώ ταυτόχρονα διατηρούν παρόμοιο δυναμικό διαφοροποίησης με τα κύτταρα προέλευσής τους. Αν και πρέπει να γίνουν περισσότερες μελέτες για να χαρακτηρίσουν περαιτέρω το φαινότυπο και τις δυνατότητές τους πριν εισαχθούν στις προηγμένες θεραπείες, προσφέρουν μια νέα εναλλακτική η οποία μπορεί να δημιουργηθεί από σχεδόν ανεξάντλητες πηγές *in vitro* καλλιεργημένων κύτταρων.

Μια κρίσιμη πρόοδος στην κλινική χρήση των μεσεγχυματικών στελεχιαίων κυττάρων αφορά την ακριβή και εντοπισμένη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο αυτά τα κύτταρα συμμετέχουν στις διαδικασίες αναγέννησης των ιστών, έτσι ώστε να είναι δυνατή η προσαρμογή της χρήσης τους για σχεδόν οποιονδήποτε ασθενή ή κατεστραμμένο ιστό και όργανο. Στα εργοστάσια παραγωγής κυττάρων, θα είναι ύψιστης σημασίας ο έλεγχος των τροφικών παραγόντων που παράγονται από τα MSCs υπό συγκεκριμένες συνθήκες και τι ρόλο παίζουν αυτοί οι παράγοντες στην κυτταρική μετανάστευση, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση. Εάν τα αποθηκευμένα σε τράπεζες κύτταρα χρησιμοποιηθούν για αυτόλογες ή αλλογενείς θεραπείες, θα είναι κρίσιμο να εξασφαλιστεί η καθαρότητά τους για να εξλειφθεί κάθε πιθανός κίνδυνος ανοσολογικής αντίδρασης. Τεχνολογίες κυτταρικής διαλογής θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να βοηθήσουν σε αυτή τη διαδικασία, καθώς επίσης πρέπει να αναπτυχθούν νέες λειτουργικές δοκιμασίες για να αξιολογηθεί

εάν τα ταξινομημένα κύτταρα είναι πράγματι απαλλαγμένα από τον κίνδυνο έναρξης ανοσολογικών αντιδράσεων και απόρριψης. Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι όταν θα είμαστε σε θέση να προσαρμόσουμε τη μοίρα των στελεχιαίων κυττάρων, μια καταπληκτική νέα θεραπεία θα είναι διαθέσιμη σε εκατομμύρια ασθενείς παγκοσμίως.

Ταξινόμηση μεσεγχυματικών στελεχιαίων κύτταρων

Μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα (ή στρωματικά κύτταρα) είναι ο όρος που χρησιμοποιείται για την περιγραφή της συλλογής κακώς καθορισμένου, πολυδύναμου και ετερογενή πληθυσμού κυττάρων μυελού των οστών. Τα MSCs είναι αυτοανανεώσιμα πολυδύναμα προγονικά κύτταρα που έχουν την ικανότητα διαφοροποίησης, υπό επαρκή ερεθίσματα, σε πολλές μεσεγχυματικές κυτταρικές σειρές (Sollazzo, 2011). Τα MSCs βρίσκονται σχεδόν σε όλους τους ιστούς. Με βάση την πηγή των κύτταρων, τα MSCs ταξινομούνται ως εξής:

MSCs προερχόμενα από μυελό των οστών (BM-MSCs)

Τα μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα του μυελού των οστών ορίστηκαν αρχικά από τον Friedenstein και τους συνεργάτες του (Friedenstein A. G., 1976). Επιλέγονται συχνά ως το χρυσό πρότυπο και το πιο διεξοδικά μελετημένο τύπο στελεχιαίων κυττάρων. Η αναρρόφηση μυελού των οστών από υγιείς δότες είναι μια επεμβατική διαδικασία. Συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τη δημιουργία MSCs από μυελό των οστών είναι η φυγοκέντρηση σε κλίση πυκνότητας (Pittenger, 1999) και στη συνέχεια τα κύτταρα καλλιεργούνται. Τα BM-MSCs είναι μορφολογικά μεγαλύτερα από άλλους τύπους κυττάρων (Peng, 2008). Τα MSCs από το μυελό των οστών γενικά καλλιεργούνται σε τροποποιημένο κατά Dulbecco θρεπτικό μέσο του Eagle (DMEM)/DMEM-F12 εμπλουτισμένο με 10% εμβρυικό βόειο ορό (FBS). Τα BM-MSCs είναι θετικά για δείκτες όπως CD73, CD90, CD105, STRO-1 και αρνητικά για CD14, CD34, CD45, HLA-DR (Otsuru, 2013) (Mamidi, 2012). Τα BM-MSCs απομονώνονται εύκολα, μπορούν να επεκταθούν και να συλλεχθούν. Διατίθενται άφθονα στο μυελό των οστών και μπορούν να διαφοροποιηθούν σε χονδρογενείς και οστεογενείς κυτταρικές σειρές με υψηλότερο ρυθμό σε σύγκριση με άλλους τύπους MSCs (Gimble, 2007).

MSCs προερχόμενα από λιπώδη ιστό (AT-MSCs)

Αυτά τα κύτταρα συχνά απομονώνονται από υλικό ομογενοποιημένου λιπώδη ιστού που λαμβάνεται κατά τη διάρκεια διαδικασιών όπως λιποπλαστική, λιποαναρρόφηση ή λιπεκτομή (Kuhbier, 2010). Τα AT-MSCs λέγεται ότι έχουν μεγαλύτερη ικανότητα πολλαπλασιασμού από τα BM-MSCs (Kern, 2006). MSCs που είναι απομονωμένα από λιπώδη ιστό

στη συνέχεια καλλιεργούνται σε DMEM/DMEM-χαμηλής περιεκτικότητας σε γλυκόζη (LG) εμπλουτισμένο με 10% FBS (Pendleton, 2013).

MSC προερχόμενα από αίμα ομφάλιου λώρου (UC-MSCs)

Το αίμα που συλλέγεται από τον ομφάλιο λώρο ενός μωρού είναι πλούσια πηγή στελεχιαίων κυττάρων, που περιγράφονται για πρώτη φορά από τον Erices και τους συνεργάτες του (Erices, 2000), και απομονώνονται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο φυγοκέντρησης διαβάθμισης πυκνότητας Ficoll (Kögler, 2004). Οι πιθανότητες αυτών των στελεχιαίων κυττάρων να απορριφθούν από τον ιστό του ξενιστή είναι σπάνιες. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι τα κύτταρα του αίματος του ομφάλιου λώρου δεν έχουν μόρια κυτταρικής επιφάνειας που αναγνωρίζονται και δέχονται επίθεση από το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή.

Wharton's Jelly MSCs

Αυτά τα κύτταρα μπορούν να χαρακτηριστούν ως επιδεκτική, άφθονη και οικονομική πηγή MSCs που έχει δείξει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα σε χρήση στην αναγεννητική ιατρική. Η βαρτόνιος γέλη (Wharton's jelly) είναι ένας ζελατινώδης ιστός που βρίσκεται μέσα στον ομφάλιο λώρο. Φρέσκοι ομφάλιοι λώροι από τελειόμηνες γεννήσεις λαμβάνονται και υποβάλλονται σε επεξεργασία χρησιμοποιώντας κατάλληλα τυποποιημένες διαδικασίες (Peng J. W., 2011). MSCs από τη γέλη του Wharton καλλιεργούνται σε DMEM εμπλουτισμένο με 10% FBS. Τα πλεονεκτήματα αυτών των κυττάρων περιλαμβάνουν: ευκολία διαθεσιμότητας, in vitro επεκτασιμότητα, δυνατότητες διαφοροποίησης, ανοσοαποφυγή και ανοσορυθμιστικές ικανότητες (Semenov, 2011).

MSCs προερχόμενα από πλακούντα (PD-MSCs)

Τα MSCs που προέρχονται από πλακούντα λαμβάνονται και καλλιεργούνται από την κοτυληδόνα στη μητρική πλευρά του πλακούντα. Οι διακριτικές ιδιότητες αυτών των στελεχιαίων κυττάρων περιλαμβάνουν το γεγονός ότι τα κύτταρα είναι ευρέως διαθέσιμα χωρίς ηθικούς προβληματισμούς. Τα κύτταρα μπορούν να καλλιεργηθούν χωρίς να διακυβεύεται το μοτίβο του κυτταρικού κύκλου/απόπτωσης και το μοτίβο της ενδογενούς γονιδιακής έκφρασης (Sabarathy, 2012). Τα PD-MSCs λαμβάνονται με μέθοδο ενζυματικής πέψης και γενικά καλλιεργούνται σε DMEM-LG εμπλουτισμένο με 10% FBS.

MSC προερχόμενα από αμνιακό υγρό

Αυτά τα κύτταρα αναφέρθηκαν αρχικά από τον Prusa και τους συνεργάτες του (Prusa, 2002). Η αμνιακή μεμβράνη και το αμνιακό υγρό περιέχουν υποπληθυσμό MSCs. Αυτά τα κύτταρα μπορούν επίσης να απομονωθούν με μέθοδο ενζυματικής πέψης και γενικά καλλιεργούνται σε α -Minimal Essential Medium (α -MEM)/DMEM-F12 με 10% FBS. Τα MSCs που απομονώνονται και καλλιεργούνται από εμβρυικούς ιστούς έχουν το πλεονέκτημα της ευρείας διαθεσιμότητας, της χαμηλής ογκογονικότητας, της απουσίας ηθικής ανησυχίας, της υψηλής επεκτασιμότητας και του χαμηλού κίνδυνου μόλυνσης (Beeravolu, 2017) (Margossian, 2012).

MSC αρθρικού υγρού

Το αρθρικό υγρό έχει σημαντική ικανότητα αναγέννησης που εκφράζεται κατά την επανεμφάνισή του μετά από χειρουργική συνανοκτομή (Ostergaard, 2001). Τα αρθρικά MSCs απομονώνονται με τη μέθοδο της διαβάθμισης πυκνότητας Ficoll και καλλιεργούνται σε α -MEM εμπλουτισμένο με 10% FBS. Φαίνεται να υπάρχει ένας πιθανός ρόλος αυτών των MSCs στην αναγέννηση των συνδέσμων σε σύγκριση με τα BM-MSCs (McGonagle, 2008).

MSCs οδοντικού πολτού (DPSCs)

Η αναζήτηση για εύκολα προσβάσιμα MSCs εκτός από το μυελό των οστών ξεκίνησε τις έρευνες σε κύτταρα των οδοντικών ιστών. Στην αρχή, τα MSC-ομοιάζοντα κύτταρα απομονώθηκαν από τον ανθρώπινο οδοντιατρικό πολτό και ορίστηκαν ως μεταγεννητικά στελεχιαία κύτταρα οδοντικού πολτού (DPSCs) (Gronthos, 2000). Τα MSCs που προέρχονται από τον οδοντικό πολτό γενικά καλλιεργούνται σε α -MEM εμπλουτισμένο με 10% FBS ή FCS.

MSCs προερχόμενα από περιφερικό αίμα (PB-MSCs)

Αυτή είναι μια από τις εύκολα προσβάσιμες πηγές στελεχιαίων κυττάρων και αποτελεί την εναλλακτική λύση για τα BM-MSCs. Κύτταρα που απομονώθηκαν από περιφερικό αίμα επιδεικνύουν όλα τα βασικά χαρακτηριστικά των MSCs και παρουσιάζουν παρόμοια μορφολογία με τα BM-MSCs. Οι διαφορές τους ήταν μόνο στην κλωνογονική αποτελεσματι-

κότητα και τον ανοσοφαινότυπο (Trivanonί, 2013). Τα PB-MSCs απομονώνονται με τη μέθοδο διαχωρισμού πυκνότητας-διαβάθμισης Ficoll-Paque χρησιμοποιώντας το περιφερικό αίμα και καλλιεργούνται σε α-MEM εμπλουτισμένο με 10% ορό νεογέννητου μόσχου (NBCS).

MSCs προερχόμενα από άλλες πηγές

Μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα προέρχονται επίσης από ανθρώπινο αλλομόσχευμα πνεύμονα. Κύτταρα που λαμβάνονται από υγρό βρογχοκυψελιδικής έκπλυσης (BAL) διατηρούνται σε καλλιεργητικό μέσο γλυκόζης DMEM εμπλουτισμένο με 10% FBS. Ο Hoogduijn και οι συνεργάτες του, ανέφεραν την απομόνωση και το χαρακτηρισμό MSCs από την ανθρώπινη καρδιά, το σπλήνα και τον περιφερικό λιπώδη ιστό (Hoogduijn, 2007). MSCs που λαμβάνονται από αυτούς τους ιστούς είναι παρόμοια με αυτά που προέρχονται το μυελό των οστών και εκφράζουν τους κυτταροεπιφανειακούς δείκτες CD90, CD166, CD105 και HLA τάξης I.

Βιολογικά πλεονεκτήματα των Wharton's Jelly MSCs (WJ-MSCs)

Τα WJ-MSCs ανακαλύφθηκαν πρόσφατα στον ανθρώπινο ομφάλιο λώρο και μελετήθηκαν εκτενώς. Αυτά τα κύτταρα αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη προοπτική για την κλινική μηχανική αναγέννησης και την ανάπτυξη νέων πρώιμων θεραπειών.

Πηγή

Ο ομφάλιος λώρος (UC) καλύπτεται με πλακώδες επιθήλιο, που είναι συνέχεια της αμνιακής μεμβράνης. Ο ομφάλιος λώρος αποτελείται από δύο αρτηρίες, μία φλέβα και βλενώδη συνδετικό ιστό (βαρτόνειος γέλη-Wharton's jelly) μεταξύ τους. Η γέλη του Wharton είναι ένας βλενώδης συνδετικός ιστός πλούσιος σε πρωτεογλυκάνες και υαλουρονικό οξύ, τα οποία μονώνουν και προστατεύουν τον ομφάλιο λώρο (Ziaei, 2017). Ο Romanov και οι συνεργάτες του (Wang H. H., 2004) απέσπασαν στελεχιαία κύτταρα με δυναμικό διαφοροποίησης πολλαπλών κυτταρικών σειρών από τη γέλη του Wharton, τα οποία ορίστηκαν ως μεσεγχυματικά στελεχιαία κύτταρα της γέλης του Wharton (WJ-MSCs).

Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Τα WJ-MSCs αναπτύσσονται προσκολλημένα και μοιάζουν με κοντούς ινοβλάστες όταν καλλιεργούνται *in vitro*, με παράλληλο, σπειροειδές, δικτυωτό και εκθετικό μοτίβο ανάπτυξης. Έχουν άφθονο κυτταρόπλασμα και μεγάλους πυρήνες με ασαφή όρια κυττάρων. Μετά την απόσπαση των προσκολλημένων WJ-MSCs με πέψη τρυψίνης και το πέρασμα ορισμένου χρονικού διαστήματος, η μορφολογία των κυττάρων αλλάζει σε ένα μακρύ σχήμα ατράκτου για να σχηματίσει ινομύδη κύτταρα ομοιόμορφου μεγέθους. Υπό μικροσκοπία χαμηλής ισχύος, τα κύτταρα φαίνεται να αναπτύσσονται σε σπειροειδές ή μονοπολικό ακτινικό σχήμα, παρόμοιο με αυτό των μεσεγχυματικών στελεχιαίων κυττάρων του μυελού των οστών (BM-MSCs) (Zhang C. Z., 2015) (Kim D. S., 2013). Τα WJ-MSCs θα μπορούσαν να διατηρήσουν σταθερό πολλαπλασιασμό σε αδιαφοροποίητη κατάσταση και να πολλαπλασιαστούν *in vitro* για περισσότερες από 10 γενιές. Έτσι, τα WJ-MSCs έχουν τα βιολογικά χαρακτηριστικά της εύκολης καλλιέργειας και επέκτασης. Ο Zhang και οι συνεργάτες του (Zhang H. Z., 2012) διαπίστωσαν ότι μία πρωταρχική καλλιέργεια 1×10^6 WJ-MSCs θα μπορούσε να αποδώσει 1×10^{10} WJ-MSCs μετά από 4 εβδομάδες επέκτασης, η οποία ήταν επαρκής για κλινική χρήση.

Δείκτες κυτταρικής επιφάνειας

Ο Karahuseyinoglu και οι συνεργάτες του (Karahuseyinoglu, 2007) έδειξαν ότι τα WJ-MSCs εκφράζουν CD10, CD73, CD49, CD166, CD90 και CD146 επιπλέον στα CD44, CD13, CD29, CD105, αλλά όχι CD14 και CD34. Τα WJ-MSCs εκφράζουν επίσης επιφανειακούς δείκτες που σχετίζονται με μεταμοσχευτική ανοσοαπόρριψη, όπως CD86, CD80 και CD40. Ο Το ενδοθηλιακό κυτταρικό αντιγόνο CD31 δεν εκφράζεται, το οποίο συνάδει με το φαινότυπο των μεσεγχυματικών στελεχιαίων κυττάρων του μυελού των οστών (Kim D. S., 2013) (Moretti, 2010). Έτσι, τα WJ-MSCs έχουν πιθανώς λειτουργίες παρόμοιες με αυτές των BM-MSCs. Η έκφραση των SH2, CD106 και HLA-1 είναι μικρότερη στα WJ-MSCs παρά στα BM-MSCs (Weiss M. M., 2006), γεγονός που πιθανόν υποδηλώνει ότι τα WJ-MSCs είναι πιο πρωτόγονος πληθυσμός μεσεγχυματικών στελεχιαίων κυττάρων και έχουν ισχυρότερη ικανότητα κατευθυνόμενης διαφοροποίησης.

Ανοσογονικότητα

Τα WJ-MSCs παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην επίκτητη ανοσία. Δείχνουν χαμηλή έκφραση μορίων MHC τάξης I και δεν εκφράζουν μόρια MHC τάξης II και συνδιεγερτικά μόρια απαραίτητα για την ενεργοποίηση των T κυττάρων. Επομένως, αλλογενή WJ-MSCs δεν προκαλούν απόκριση πολλαπλασιασμού T κυττάρων (Bassi, 2011). Μεταξύ στελεχιαίων κυττάρων από διαφορετικές πηγές, όπως ο μυελός των οστών, ο λιπώδης ιστός και ο πλακούντας, η έκφραση των MHC II και των σχετιζόμενων με το ανοσοποιητικό γονιδίων ήταν ασθενέστερη στα WJ-MSCs, τα οποία ελαχιστοποίησαν τη σαρωτική επίδραση των NK κυττάρων. Σε πειράματα συν-καλλιέργειας, τα WJ-MSCs είχαν το σημαντικότερο ανασταλτικό αποτέλεσμα στα T λεμφοκύτταρα. Το ανοσοποιητικό σύστημα έχει καλή ανοχή έναντι των WJ-MSCs (Xiuqing, 2014), πιθανότατα λόγω της χαμηλής ανοσογονικότητάς τους. Επομένως, τα WJ-MSCs είναι δυνητικά ένας από τους καλύτερους τύπους κυττάρων για κλινική ιστική αναγέννηση.

Χαρακτηριστικά έκκρισης

Τα WJ-MSCs έχουν επίσης παρακρινική επίδραση, μπορούν να εκκρίνουν μια ποικιλία βιολογικά ενεργών παραγόντων για να επηρεάσει μία συγκεκριμένη βιολογική λειτουργία (Bai, 2016). Τα εξωσώματα των WJ-MSCs περιλαμβάνουν ενεργές εκκρίσεις σχετιζόμενου

με κύτταρα miRNA, mRNA και πρωτεΐνης που εκκρίνεται από WJ-MSCs. Θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως σημαντικές ουσίες μετάδοσης σήματος μεταξύ των κυττάρων και συμμετέχουν στην επιδιόρθωση βλάβης και στην ανοσορρύθμιση από τα WJ-MSCs. Για παράδειγμα, τα εξωσώματα WJ-MSCs θα μπορούσαν να προάγουν την ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος στους πνεύμονες με μεταφορά miR-410 (Hu M. D., 2018). Τα WJ-MSCs εξωσώματα θα μπορούσαν να εμποδίσουν την έκφραση και τη λειτουργία των Th22 κύτταρων. Τα Th22 είναι νέα βοηθητικά CD4⁺ T-λεμφοκύτταρα που εκκρίνουν ιντερλευκίνη 22 και παράγοντα νέκρωσης όγκων-α, και έχουν προ-φλεγμονώδη δράση σε πολλές ασθένειες όπως όγκους και ρευματοειδή αρθρίτιδα (Wolk, 2006). Έτσι, τα WJ-MSCs εξωσώματα παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναστολή της φλεγμονής.

Πλεονεκτήματα στην εφαρμογή των WJ - MSCs

Διαθεσιμότητα

Η συλλογή των περισσότερων στελεχειαίων κυττάρων (όπως τα στελεχειαία κύτταρα μυελού των οστών) από δότες απαιτεί επεμβατικές διαδικασίες και η μεγάλης κλίμακας εξαγωγή συνήθως δεν είναι δυνατή. Ωστόσο, η ανάκτηση WJ-MSCs είναι ευκολότερη και μη επεμβατική. Η εξαγωγή WJ-MSCs δεν περιλαμβάνει ηθικά ζητήματα, καθώς τα περισσότερα νοσοκομεία, σήμερα, αντιμετωπίζουν τον ομφάλιο λώρο ως ιατρικό απόβλητο και η διαδικασία συλλογής είναι μη επεμβατική. Έτσι, τα WJ-MSCs είναι άφθονα, εύκολα στη συλλογή και δεν έχουν καμία δυσμενή επίπτωση στους δότες (Watson, 2015) (Weiss M. T., 2006).

Χαρακτηριστικά καλλιέργειας

Τα WJ-MSCs έχουν καλές ιδιότητες κατάψυξης-απόψυξης και μπορούν να καταψυχθούν σε φιάλες υγρού αζώτου Dewar μακροπρόθεσμα και να αποψυχθούν όταν χρειαστεί. Αυτό το χαρακτηριστικό είναι βολικό για τη βασική πειραματική εργασία στα WJ-MSCs και παρέχει μια καλή θεωρητική βάση για τη δημιουργία μιας «τράπεζας κλινικών πόρων» στο μέλλον (Harris D. , 2013).

Χαμηλή ανοσογονικότητα

Τα WJ-MSCs εκφράζουν επίσης τους υποδοχείς χημειοκινών CXCR3, CXCR4 και CXCR6, οι οποίοι παίζουν βασικό ρόλο στη στοχευμένη μετανάστευση των στελεχειαίων κυττάρων σε θέσεις βλάβης ιστών (Gao L. Z., 2013). Τα τελευταία χρόνια, η ανοσογονικότητα και οι ανοσοκατασταλτικές λειτουργίες των WJ-MSCs μέσω κυτταρικής επαφής και παρακρινών μηχανισμών κυττάρων έχουν επιβεβαιωθεί με *in vitro* μελέτες σε ξενογενή και αλλογενή μοντέλα. Προθεραπεία με προφλεγμονώδεις κυτοκίνες θα μπορούσε ακόμη και να βελτιώσει την ανοσορύθμιση των WJ-MSCs (Donders, 2015). Επιπλέον, τα WJ-MSCs δεν προκαλούν τον πολλαπλασιασμό των ξενογενών και αλλογενών ανοσοκυττάρων. Η έκφραση των ανοσοκατασταλτικών αντιγόνων ανθρώπινων λευκοκυττάρων HLA-G6, IL-6 και VEGF και η απουσία των συνδιεγερτικών μορίων CD40, CD80 και CD86 υποστηρίζουν περαιτέρω τις ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες των στελεχειαίων κυττάρων του ομφάλιου λώρου (Weiss M. A., 2008).

Δυναμικό διαφοροποίησης

Τα WJ-MSCs είναι ανώτερα από τα στελεχειαία κύτταρα από άλλες πηγές όπως ο μυελός των οστών από την άποψη των οστεογονικών και των χονδρογονικών ικανοτήτων διαφοροποίησης (Reppel, 2015). Ο Reppel και οι συνεργάτες του καλλιέργησαν WJ-MSCs σε τρισδιάστατα ικρίωματα χωρίς προσθήκη αυξητικών παραγόντων και αξιολόγησαν τη χονδρογονική τους ικανότητα διαφοροποίησης σε μεταγραφικά και πρωτεϊνικά επίπεδα. Μετά από 28 ημέρες καλλιέργειας των ικριωμάτων, η έκφραση χονδρο-ειδικών δεικτών σε επίπεδο μεταγραφής ήταν σημαντικά αναβαθμισμένη. Περαιτέρω, τα WJ-MSCs παρουσιάζουν περισσότερη σύνθεση κολλαγόνου τύπου II σε σχέση με τα στελεχειαία κύτταρα του μυελού των οστών (Xiuqing, 2014). Λόγω της σχετικής δυσκολίας στην απόκτηση στελεχειαίων κυττάρων μυελού των οστών, τα WJ-MSCs έχουν καλύτερες προοπτικές εφαρμογής.

Κεφάλαιο 3. Αναγεννητική Ιατρική για την Εξατομικευμένη Θεραπεία

Νευροεκφυλιστικές ασθένειες

Οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες χαρακτηρίζονται από μη αναστρέψιμη κυτταρική βλάβη, απώλεια νευρικών κύτταρων και περιορισμένο δυναμικό αναγέννησης του νευρικού συστήματος των ενηλίκων. Τα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα είναι ικανά για διαφοροποίηση στους πολλαπλούς τύπους κυττάρων που συνθέτουν το κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα και έτσι έχουν γίνει το βασικό επίκεντρο των θεραπειών αντικατάστασης κυττάρων για τη θεραπεία νευρολογικών διαταραχών. Τα ανθρώπινα εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα (hESCs) και παράγωγα από τα ανθρώπινα επαγόμενα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα (hiPSCs) έχουν μελετηθεί εκτενώς ως κυτταρικές θεραπείες σε ευρύ φάσμα μοντέλων νευροεκφυλιστικών νόσων σε τρωκτικά και πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένων της νόσου του Parkinson, το εγκεφαλικό επεισόδιο, την επιληψία, τον τραυματισμό του νωτιαίου μυελού, της νόσου του Alzheimer, της πολλαπλής σκλήρυνσης και του πόνου.

Η βιολογία των στελεχιαίων κυττάρων είναι ένας αναμφισβήτητα ταχέως εξελισσόμενος τομέας έρευνας και τα τελευταία χρόνια θεραπείες βασισμένες στα ανθρώπινα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα (hPSCs) έχουν εξελιχθεί σε πρώιμες κλινικές δοκιμές, με αρκετούς ασθενείς να λαμβάνουν τώρα παράγωγα hPSCs. Μεταμοσχεύσεις μελάγχρουν επιθηλίου του αμφιβληστροειδούς (RPE) προερχόμενο από ανθρώπινα εμβρυονικά στελεχιαία κύτταρα (hESCs) (Schwartz, 2012) (Schwartz S. R., 2015) (Song, 2015) και ανθρώπινα επαγόμενα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα (hiPSCs) (Mandai, 2017) έχουν δοκιμαστεί σε ασθενείς με εκφυλισμό της ωχράς κηλίδας σχετιζόμενο με την ηλικία (AMD), αιτία τύφλωσης στον ηλικιωμένο πληθυσμό (Boldt, 1990) και τα αποτελέσματα είναι πολλά υποσχόμενα στην αναστολή εξέλιξης της νόσου. Θεραπεία με βάση τα hiPSCs για τη νόσο του Parkinson (PD) εισήχθη σε κλινικές δοκιμές το 2018, σχεδόν 30 χρόνια μετά τις πρώτες μεταμοσχεύσεις ανθρώπινου εμβρυϊκού υλικού που αποκάλυψαν την πιθανότητα για μεταμοσχεύσεις ντοπαμινεργικών κυττάρων (Lindvall, 1990) (Schweitzer, 2020). Τον Αύγουστο του 2019, ένας ασθενής στην Ιαπωνία έλαβε το πρώτο μόσχευμα κερατοει-

δούς φτιαγμένο από hiPSCs. Αν και είναι ακόμα πολύ νωρίς για να εξακριβωθεί η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας, η όραση του ασθενούς φέρεται να έχει βελτιωθεί σημαντικά μετά τη μεταμόσχευση. Κλινικές δοκιμές που χρησιμοποιούν hiPSCs για τη θεραπεία του τραυματισμού του νωτιαίου μυελού πρόκειται επίσης να ξεκινήσουν στην Ιαπωνία (Tsuji, 2019). Η αξιοσημείωτη κλινική πρόοδος που αντιπροσωπεύουν αυτές οι πρώτες στον άνθρωπο θεραπείες που βασίζονται σε hPSCs έχει δημιουργήσει σημαντικό ενθουσιασμό. Ωστόσο, τα ζητήματα ηθικής και ασφάλειας που σχετίζονται με τη μεταμόσχευση hPSCs εξακολουθούν να υφίστανται και η κλινική εφαρμογή των στελεχειαίων κυττάρων παραμένει ένα δύσκολο έργο. Αν και μία μεγάλη ποικιλία τύπων κυττάρων που προέρχεται από hPSCs (> 40) μπορούν να δημιουργηθούν in vitro, για κάθε τύπο υπάρχουν ιδιαίτερες προκλήσεις να ξεπεραστούν για να είναι κατάλληλος για κυτταρική θεραπεία. Η αναγεννητική ιατρική πρέπει επομένως να αντιμετωπίζει τις παθολογίες ή τις καταστάσεις για τις οποίες δεν υπάρχει ικανοποιητική ιατρική αντιμετώπιση. Έτσι, η θεραπεία με στελεχειαία κύτταρα μπορεί να αντιπροσωπεύει την πιο ελπιδοφόρα προσέγγιση για ένα μεγάλος αριθμός εκφυλιστικών ασθενειών λόγω της περιορισμένης ικανότητας ενδογενούς αναγέννησης των ιστών.

Τις τελευταίες δεκαετίες, οι θεραπείες στελεχειαίων κυττάρων έχουν προχωρήσει περαιτέρω κλινικά προς τη θεραπεία κατεστραμμένων ιστών και διάφορων εκφυλιστικών ασθενειών, ειδικά εκείνες που επηρεάζουν το νευρικό σύστημα. Οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες χαρακτηρίζονται συχνά από τη μη αναστρέψιμη λειτουργική βλάβη ή/και απώλεια κυττάρων και περιορισμένη αναγέννηση του νευρικού συστήματος των ενηλίκων. Η αντικατάσταση κυττάρων, επομένως, αντιπροσωπεύει μια κρίσιμη στρατηγική για την αποτελεσματική θεραπεία των νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Τα hPSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν σε πολλά είδη νευρικών κυττάρων, από νευρικούς προγόνους έως εξειδικευμένους ώριμους νευρώνες, αστροκύτταρα ή ολιγοδενδροκύτταρα. Όλα έχουν μεγάλες δυνατότητες για τη θεραπεία νευροπαθειών όπως PD, πολλαπλή σκλήρυνση (MS) ή τραυματισμό του νωτιαίου μυελού (SCI). Πρόσφατα, δύο μελέτες ανέφεραν ογκογόνες μεταλλάξεις στα hiPSCs (Mandai, 2017) και στα hESCs (Merkle, 2017) και ανέδειξε τη σημασία του σχεδιασμού νέων στρατηγικών για ασφαλή και αποτελεσματική παραγωγή και λειτουργική αξιολόγηση των παραγώγων των hPSCs που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για

μεταμόσχευση. Ωστόσο, εξακολουθούν να υπάρχουν συζητήσεις σχετικά με το εάν η θεραπεία με στελεχιαία κύτταρα είναι εφικτή, ασφαλής και αποτελεσματική ή απλά ιδεατή. Λαμβάνοντας υπόψη το αυξανόμενο ενδιαφέρον για θεραπείες με στελεχιαία κύτταρα, η καλύτερη κατανόηση των επιπτώσεών τους στη θεραπεία των νευροεκφυλιστικών ασθενειών είναι ζωτικής σημασίας για το σχεδιασμό κατάλληλων στρατηγικών.

Η νόσος του Πάρκινσον

Η νόσος του Πάρκινσον (PD) είναι μια προοδευτική νευροεκφυλιστική διαταραχή, που χαρακτηρίζεται από προοδευτική απώλεια ντοπαμινεργικών νευρώνων (DANs) εντός της μέλαινας ουσίας, προκαλώντας στη συνέχεια βραδυκινησία, τρόμο και άλλα εξουθενωτικά συμπτώματα όπως μειωμένη αντίληψη. Θεραπείες που αυξάνουν τα επίπεδα της ντοπαμίνης (DA) στον εγκέφαλο, συμπεριλαμβανομένου του προδρόμου της DA L-DOPA (levodopa), και της βαθιάς διέγερσης του εγκεφάλου αποτελούν αυτή τη στιγμή τις βασικές θεραπείες για το PD (Raza, 2019). Η χορήγηση της L-DOPA μπορεί έχει εξαιρετικά αποτελέσματα στη βραδυκινησία και είναι συχνά μια αποτελεσματική αρχική θεραπεία για τη βελτίωση της ποιότητας της ζωής ορισμένων ασθενών. Ωστόσο, καθώς η νόσος εξελίσσεται ένας μειούμενος αριθμός ντοπαμινεργικών νευρώνων μπορούν να μετατρέψουν την L-DOPA και λιγότερες συνάψεις μπορούν να απελευθερώσουν ντοπαμίνη. Ακολουθώντας η θεραπεία χάνει την αποτελεσματικότητά της (Poewe, 2009) (Figge, 2016). Ως εκ τούτου, η κυτταρική αντικατάσταση των χαμένων DANs για τη PD έχει από καιρό επιδιωχθεί και έχει βαθύ κλινικό ενδιαφέρον.

Ενώ το ανθρώπινο εμβρυϊκό υλικό έχει διερευνηθεί εδώ και πολύ καιρό για τη νόσο του Πάρκινσον, τα ανθρώπινα έμβρυα δεν αποτελούν βιώσιμη πηγή υλικού για κυτταρική θεραπεία. Διάφορα παράγωγα ανθρώπινων στελεχιαίων κυττάρων, με πιο συνηθισμένα τα νευρικά στελεχιαία κύτταρα (NSCs) ή τα νευρικά προγονικά κύτταρα (NPCs) και DANs, έχουν ήδη δείξει βελτίωση στα συμπτώματα μετά από μεταμόσχευση κυττάρων σε τρωκτικά και πρωτεύοντα μοντέλα PD.

Μια πρωτοποριακή μελέτη χρησιμοποίησε ένα σύστημα συν-καλλιέργειας τελομεράσης-αθανατοποιημένης αστροκύτταρα μέσου εγκεφάλου ανθρώπινου εμβρύου με hESCs για επίτευξη υψηλής ποιότητας ντοπαμινεργική νευρογένεση σε hESCs. Αυτός ο ε-

μπλουτισμένος πληθυσμός DANs παρείχε σημαντικό λειτουργικό όφελος όταν μεταμοσχεύτηκε στο ραβδωτό σώμα της 6-υδροξυδοπαμίνης (6-OHDA) του αρουραίου μοντέλου της νόσου Πάρκινσον (Roy, 2006). Ενώ αυτή η μελέτη αντιπροσώπευε ένα σημαντικό βήμα για την ανάπτυξη μιας θεραπείας με στελεχειαία κύτταρα για PD, συγχρόνως αύξησε την ανησυχία για τον σχηματισμό όγκων λόγω της παρουσίας πολλαπλασιαζόμενων μη διαφοροποιημένων νευρο-επιθηλιακών κυττάρων στο μόσχευμα.

Η παρατεταμένη ωρίμανση των hESCs-DANs in vitro πριν τη μεταμόσχευση φάνηκε να μειώνει τον κίνδυνο σχηματισμού όγκων χωρίς να επηρεάζει τη λειτουργία και την αποτελεσματικότητά τους σε ένα πρωτεύον μοντέλο PD (Doi, 2012). Πιο αποτελεσματικά και καθορισμένα πρωτόκολλα, βασισμένα σε διπλή αναστολή των πρωτεϊνών SMAD και ενεργοποίηση του σηματοδότη Wnt, έχουν επίσης αναπτυχθεί. DANs του μέσου εγκεφάλου που εκφράζει υδροξυλάση τυροσίνης (TH, το ένζυμο περιορισμού του ρυθμού σύνθεσης της DA) προήλθαν από hESCs. Η λειτουργία και η αποτελεσματικότητά τους in vivo αποδείχθηκε σε μοντέλα PD χρησιμοποιώντας τρία είδη ξενιστές. HESCs-DANs μέσου εγκεφάλου εμφυτεύτηκαν σε ποντίκια και αρουραίους με 6-OHDA αλλοιώσεις και η επιβίωσή τους συσχετίστηκε με βελτίωση της προκαλούμενης από αμφεταμίνη περιστροφικής ασυμμετρία και της βραδυκινησίας. Η επεκτασιμότητα της διαδικασίας επιβεβαιώθηκε σε παρκινσονικούς πιθήκους και η ασφάλεια υπονοήθηκε από την έλλειψη σχηματισμού όγκων στα τρία ζωικά μοντέλα (Kriks, 2011). Μια παρόμοια προσέγγιση βασίζεται σε διπλή αναστολή των πρωτεϊνών SMAD, διαμόρφωση της οδού σηματοδότησης Wnt και σχηματισμό εμβρυοειδούς σώματος (EB) για να κατευθύνει τη διαφοροποίηση των hESCs προς μια κοιλιακή μεσοεγκεφαλική (VM) μοίρα και να δημιουργήσει έναν εμπλουτισμένο πληθυσμό προγονικών κυττάρων εδαφιαίου πετάλου. Όταν μεταμοσχεύτηκαν στον εγκέφαλο ενός αρουραίου μοντέλου PD, προγονικά VM προερχόμενα από hESCs διαφοροποιημένα σε λειτουργικά DANs του μέσου εγκεφάλου, απελευθέρωσαν DA in vivo 18 εβδομάδες μετά τη μεταμόσχευση και ανέστρεψαν τις κινητικές βλάβες (προκαλούμενη από αμφεταμίνη περιστροφική ασυμμετρία) σε αρουραίους με αλλοιώσεις 6-OHDA (Kirkeby, 2012) με παρεμφερή αποτελεσματικότητα με αυτή που παρατηρείται με ανθρώπινα εμβρυϊκά κύτταρα VM (Grealish, 2014). Τα hESC-DANs είναι ικανά για μεγάλης έκτασης νευρική επέκταση στον εγκέφαλο του ξενιστή (Grealish, 2014). Ωστόσο, το συνολικό ποσοστό των hESC-DANs εντός της εμβολιασμένης περιοχής παραμένει χαμηλό, εξαιτίας κατά μέρος

στη χαμηλή επιβίωσή τους αμέσως μετά τη μεταμόσχευση. Ο νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από γλοιακά κύτταρα (GDNF) έχει πρόσφατα αποδειχθεί ότι αυξάνει την επιβίωση, την πλαστικότητα και τη λειτουργική ολοκλήρωση των προερχόμενων από hPSCs VM DA προγονικών μοσχευμάτων, με τρόπο που εξαρτάται από το χρόνο μετά τη μεταμόσχευση (Gantner, 2020). Είναι ενδιαφέρον ότι ένας νέος τύπος κυττάρων που μοιάζει με περιφερικού τύπου κύτταρα, ονομάζονται αγγειακά λεπτομηνιγγικά κύτταρα (VLMC), έχει πολύ πρόσφατα εντοπιστεί σε hESC-DANs μοσχεύματα (Tikloná, 2020). Η συμβολή αυτού του πληθυσμού στην επιβίωση του μοσχεύματος και τη λειτουργία πρέπει να καθοριστεί.

Τα αυτόλογα ανθρώπινα επαγόμενα ποικιλοδύναμα στελεχιαία κύτταρα (hiPSCs) πιθανώς αντιπροσωπεύουν μια περισσότερο ανεκτή επιλογή μεταμόσχευσης κυττάρων από τα hESCs και έχουν προσελκύσει σημαντικό ενδιαφέρον (Hargus, 2010) (Kikuchi, 2017) (Rhee, 2011) (Kikuchi T. M., 2011). Ο Han και οι συνεργάτες του, το 2015 επιβεβαίωσαν ότι τα NSCs από hiPSCs ενσωματώθηκαν στα κυκλώματα του εγκεφάλου του ξενιστή και διαφοροποιήθηκαν σε DA νευρώνες όταν μεταμοσχεύτηκαν στο ραβδωτό σώμα των 6-OHDA PD αρουραίων. Η λειτουργικός ανάκαμψη ήταν εμφανής από την 4η έως την 16η εβδομάδα μετά τη μεταμόσχευση. Ωστόσο, ένα μεγαλύτερο το ποσοστό των NSCs διαφοροποιείται σε αστροκύτταρα από ότι σε νευρώνες, με απόδοση 51,1% και 20,5% αντίστοιχα (Han F. W., 2015). Άλλες μελέτες απέφυγαν αυτό το ζήτημα μεταμοσχεύοντας άμεσα DANs από hiPSCs στο ραβδωτό σώμα των 6-OHDA αρουραίων, παρατηρώντας λειτουργική ανάκαμψη χρησιμοποιώντας την επαγόμενη από αμφεταμίνη δοκιμή περιστροφής και επισημαίνοντας καμία διαφορά στα αποτελέσματα κατά τη σύγκριση DANs που προέρχονται από υγιή ή PD hiPSCs σειρές (Hargus, 2010) (Kikuchi, 2017). Τα PD-hiPSC-DANs δε δείχνουν αυξημένη ευπάθεια στο εξωτερικό τοξικό στρες σε σύγκριση με αυτά που προέρχονται από υγιή. Επιπλέον, όταν μεταμοσχεύονται στον εγκέφαλο του άλφα-συνουκλείνης υπερεκφράζοντας διαγονιδιακού ποντικού μοντέλου του PD (Yamakado, 2012), τα PD DANs από hiPSCs δεν επιδείνωσαν τη συσσώρευση παθολογικής άλφα-συνουκλείνης στον εγκέφαλο του ξενιστή ή στα μοσχεύματα, υποδηλώνοντας ότι τα hiPSCs που προέρχονται από ασθενείς με PD είναι κατάλληλα για αυτόλογη μεταμόσχευση κυττάρων (Kikuchi, 2017). Μείωση των κινητικών ελλειμμάτων παρατηρήθηκε επίσης μετά τη μεταμόσχευση NPCs ή DANs από hiPSCs στη δεξιά πλευρά του ραβδωτού σώματος αρουραίου (Rhee, 2011).

Ωστόσο, τρεις από τους δώδεκα μεταμοσχευμένους αρουραίους εμφάνισαν ανάπτυξη όγκου και επακόλουθο θάνατο πριν τις οκτώ εβδομάδες που υποδηλώνουν την παρουσία ογκογόνων παραγόντων ή την παραμονή αδιαφοροποίητων κύτταρων. Παρά τις διαφορές στη φύση των μεταμοσχευμένων κυττάρων, αυτές οι μελέτες στα τρωκτικά επέδειξαν λειτουργική ανάκαμψη. Επομένως, η μεταμόσχευση νευρωνικών κυττάρων από hPSCs αντιπροσωπεύει μια πιθανή θεραπευτική στρατηγική για τη θεραπεία της PD.

Εκτός από τα μοντέλα τρωκτικών, πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου (NHP) μοντέλα PD έχουν χρησιμοποιηθεί για δοκιμή της θεραπείας με βάση τα hiPSCs. Μετά από διμερή μεταμόσχευση NPCs από hiPSCs στο κέλυφος του φακοειδούς πυρήνα του εγκεφάλου πιθήκων cynomolgus που είχαν υποστεί αγωγή με MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine), τα κύτταρα επέζησαν για έξι μήνες και διαφοροποιήθηκαν σε DANs. Ένας μόνο παρκινσονικός πίθηκος μεταμοσχεύτηκε και αξιολογήθηκε συμπεριφορικά για επίτευξη δεξιοτήτων. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια μικρή λειτουργική βελτίωση (Kikuchi T. M., 2011). Μια μεταγενέστερη ανάλυση από την ίδια ομάδα διαπίστωσε βελτιωμένες νευρολογικές βαθμολογίες και υψηλότερα ποσοστά ανάκτησης μετά τη μεταμόσχευση DA προγόνων από hiPSCs στο κέλυφος του φακοειδούς πυρήνα του εγκεφάλου πιθήκων cynomolgus που είχαν υποστεί αγωγή με MPTP. Τα hiPSC-DA προγονικά κύτταρα ωρίμασαν και επέζησαν τουλάχιστον 12 μήνες μετά τη μεταμόσχευση και η αποτελεσματικότητα της κυτταρικής θεραπείας ήταν παρόμοια με εκείνη της θεραπείας με L-DOPA. Εξάλλου, οι επιδράσεις ήταν παρόμοιες είτε τα κύτταρα δότες προέρχονταν από υγιή άτομα, είτε ασθενείς με PD (Kikuchi T. M., 2017). Μετά από αυτή τη μελέτη σε NHPs, η οποία ήταν μια προσομοίωση μιας προγραμματισμένης κλινικής δοκιμής και επιβεβαίωσε την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των προγόνων DA από hiPSCs, μια κλινική δοκιμή φάσης I σε ασθενείς με PD ξεκίνησε το 2018 στην Ιαπωνία και άλλες προγραμματίζονται για το εγγύς μέλλον στις ΗΠΑ και στην Ευρώπη (Schweitzer, 2020) (Barker R. P., 2017) (Parmar, 2020).

Αυτές οι μελέτες στηρίζονται σε στοιχεία ότι μια θεραπεία που βασίζεται σε hPSCs έχει σημαντικές δυνατότητες για αναστροφή των κινητικών ελαττωμάτων ασθενών με PD. Η αντικατάσταση των DAN από τη μέλαινα ουσία από hPSC-DANs αποκαθιστά το έλλειμμα της απελευθέρωσης ντοπαμίνης, ακολούθως διεγείροντας τους μεσαίου μεγέ-

θους ακανθωτούς νευρώνες του ραβδωτού σώματος και ανακουφίζοντας τις PD αναπηρίες που περιλαμβάνουν βραδυκινησία, τρόμο ανάπαυσης και μυϊκή ακαμψία. Η θεραπεία αντικατάστασης κυττάρων θα μπορούσε επίσης να μειώσει τις παρενέργειες της φαρμακευτικής αγωγής όπως δυσκινησία (ανεξέλεγκτες ακούσιες κινήσεις) που προκύπτουν από τη μακροχρόνια χρήση της Levodopa. Ένας σημαντικός περιορισμός αυτής της θεραπείας, ωστόσο, είναι η εστίασή της μόνο στα κινητικά συμπτώματα, τα οποία περιλαμβάνουν μόνο μέρος της παθολογίας της PD. Παραμένει ασαφές εάν κάποια από αυτές τις θεραπείες θα έχει αντίκτυπο στα μη κινητικά συμπτώματα της PD συμπεριλαμβανομένων διαταραχών της διάθεσης, όπως κατάθλιψη και μειωμένη αντίληψη.

Εγκεφαλικό επεισόδιο

Παρά το γεγονός ότι το εγκεφαλικό επεισόδιο είναι μια σημαντική αιτία αναπηρίας σε ενήλικες (George, 2015), εκτός από τη μακροχρόνια αποκατάσταση, υπάρχουν λίγες θεραπευτικές στρατηγικές για τη θεραπεία της πάθησης. Το εγκεφαλικό επεισόδιο χαρακτηρίζεται από μια ξαφνική διακοπή της ροής του αίματος σε μια συγκεκριμένη περιοχή του εγκεφάλου. Μπορεί να οδηγήσει σε θάνατο ενός εύρους τύπων νευρικών κυττάρων με περιορισμένο δυναμικό αναγέννησης και ως εκ τούτου, η χρήση των hPSCs ως θεραπεία αντικατάστασης με βάση τα κύτταρα είναι μια πολλά υποσχόμενη πιθανή προσέγγιση για την προώθηση της ανάρρωσης. Μεταμόσχευση νευρικών κυττάρων από hPSCs μπορεί να οδηγήσει σε λειτουργική βελτίωση σε ζωικά μοντέλα εγκεφαλικού επεισοδίου μέσω διάφορων μηχανισμών, όπως η νευρική αντικατάσταση, η ρύθμιση της φλεγμονής, η νευροπροστασία και η διέγερση της αγγειογένεσης (Marei, 2018). Λόγω της ετερογένειας των κυττάρων που χάνονται στο εγκεφαλικό επεισόδιο, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφοροι τύποι κυττάρων για θεραπείες μεταμόσχευσης μα παραμένει ασαφές ποιος από αυτούς τους τύπους κυττάρων έχει περισσότερα πλεονεκτήματα.

Τα μακροπρόθεσμα αυτοανανεώσιμα νευροεπιθηλιακά στελεχιαία κύτταρα (Lt-NES) είναι πολυδύναμοι πρόγονοι που μπορούν να δημιουργήσουν γλοία και νευρώνες και μοιάζουν περισσότερο με το πρώιμο νευροεπιθήλιο του αναπτυσσόμενου εμβρύου. Τα κύτταρα Lt-NES μπορούν να προέρχονται από ανθρώπινα iPSCs ή ESCs (Koch, 2009). Σε αντίθεση με τα διαφοροποιημένα κύτταρα που είναι ήδη εξειδικευμένα, τα Lt-NES κύτ-

ταρα είναι λιγότερο περιορισμένα στη γενεαλογία και μπορούν να καθοδηγηθούν από τοπικούς παράγοντες *in vivo* για περαιτέρω διαφοροποίηση στις απαιτούμενες νευρικές κυτταρικές σειρές. Αυτό θα μπορούσε να αποτελέσει μεγάλο πλεονέκτημα στο εγκεφαλικό επεισόδιο όπου πολλοί τύποι νευρικών κυττάρων έχουν υποστεί βλάβη και η κατευθυνόμενη διαφοροποίηση για αντικατάσταση ενός μόνο τύπου νευρώνων μπορεί να μην παρέχει το μέγιστο όφελος. Προηγουμένως, τα Lt-NES από hiPSCs έχουν επιδείξει κάποια θεραπευτική υπόσχεση μετά από μεταμόσχευση στο ραβδωτό σώμα ή στον φλοιό ποντικών και αρουραίων με εγκεφαλική βλάβη από απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας (MCAo) (Oki, 2012) (Torner, 2017) (Torner D. W., 2013). Αποκατάσταση της κίνησης παρατηρήθηκε μόλις μία εβδομάδα μετά τη μεταμόσχευση, γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτή η διάσωση μπορεί να οφείλεται σε απελευθέρωση νευροτροφικών παραγόντων, όπως ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF), παρά από την αντικατάσταση των νευρικών κυττάρων. Τα μεταμοσχευμένα Lt-NES κύτταρα διαφοροποιούνται σε διάφορους νευρικούς υπότυπους συμπεριλαμβανομένων των φλοιωδών νευρώνων, και επιδεικνύουν λειτουργικά χαρακτηριστικά των νευρώνων, όπως η δυνητική γένεση με ενσωμάτωση στο κύκλωμα του ξενιστή εμφανής πέντε μήνες μετά τη μεταμόσχευση. Κατά συνέπεια μειώθηκαν και τα κινητικά ελλείμματα (Oki, 2012). Τα HiPSC-Lt-NES, τα οποία κατευθύνθηκαν προς έναν φλοιώδη φαινότυπο *in vitro* πριν από τη μεταμόσχευση εμφάνισαν λιγότερο πολλαπλασιασμό και πιο αποτελεσματική μετατροπή σε ώριμους νευρώνες από τα μη κατευθυνόμενα κύτταρα (Torner D. W., 2013). Έξι μήνες μετά την έγχυση, οι μεταμοσχευμένοι φλοιώδεις νευρώνες από hiPSCs λαμβάνουν άμεσα και λειτουργικά συναπτικά ερεθίσματα από τον τραυματισμένο από εγκεφαλικό επεισόδιο εγκέφαλο (Torner, 2017), οι άξονες τους μυελινώνονται στον εγκέφαλο του ξενιστή και τα τερματικά τους σχηματίζουν διεγερτικές γλουταμιτερικές συνάψεις με ξενιστές φλοιώδεις νευρώνες (Palma-Tortosa, 2020). Επιπλέον, τα φυσιολογικά αισθητήρια ερεθίσματα μπορούν να διαμορφώσουν την αυθόρμητη δραστηριότητά τους (Torner, 2017) και η δραστηριότητά τους μπορεί να διατηρήσει τη φυσιολογική κινητική λειτουργία σε αρουραίους MCAo (Palma-Tortosa, 2020), επιδεικνύοντας λειτουργική ενσωμάτωση των μεταμοσχευμένων hiPSC-φλοιωδών νευρώνων στα νευρικά κυκλώματα των εγκεφάλων που έχουν υποστεί βλάβη από εγκεφαλικό επεισόδιο. Ενώ αυτές οι μελέτες δείχνουν ότι τα Lt-NES κύτταρα γενικά δεσμεύονται και χάνουν την πολλαπλασιαστική τους ικανότητα *in vivo*, ορισμένα

κύτταρα παραμένουν πολλαπλασιαστικά και πιθανώς ογκογόνα. Ως εκ τούτου, ο κίνδυνος υπερανάπτυξης του μοσχεύματος αποτελεί σημαντική ανησυχία.

Ως εναλλακτική στρατηγική, NPCs από hiPSC έχουν μεταμοσχευτεί σε τρωκτικά με εγκεφαλικό επεισόδιο και φαίνεται να είναι εξίσου αποτελεσματικά στην προώθηση της λειτουργικής ανάκαμψης. Τα νευρο-προγονικά κύτταρα διαφέρουν από τα Lt-NES λόγω της πιο περιορισμένης ικανότητάς τους να πολλαπλασιάζονται, αν και διατηρούν την πολυδυναμικότητά τους. Αυτό το χαρακτηριστικό μπορεί να βοηθήσει στην άμβλυση του προβλήματος της υπερανάπτυξης του μοσχεύματος που παρατηρείται με τα Lt-NES και ορισμένες μελέτες ισχυρίζονται σημαντική επιτυχία με αυτήν τη στρατηγική τόσο σε ποντίκια όσο και αρουραίους. Τα NPCs (της τελεγκεφαλικής μοίρας) που μεταμοσχεύονται στο ραβδωτό σώμα των ισχαιμικών ποντικών επιβιώνουν, μεταναστεύουν και συνδέονται με μία βελτίωση στην τροποποιημένη βαθμολογία νευρολογικής σοβαρότητας (mNSS) για έως και έξι εβδομάδες μετά τη μεταμόσχευση. Η λειτουργική ανάκτηση που παρατηρήθηκε στη μεταμοσχευμένη ομάδα θα μπορούσε να εξηγηθεί από ανασύσταση του νευρικού κυκλώματος (Gomi, 2012). Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία αφαίρεσης της συγκόλλησης όπου η καθυστέρηση/ταχύτητα αφαίρεσης μετρείται. Η μεταμόσχευση hiPSC-NPCs όχι μόνο ενισχύει τη λειτουργική ανάκαμψη των αισθητήρων κίνησης, αλλά επίσης φέρεται να αύξησε την τροφική υποστήριξη και βελτίωσε τη ροή του αίματος στον φλοιό αποκαθιστώντας τη νευροαγγειακή σύζευξη έως και 28 ημέρες μετά τη μεταμόσχευση. Ωστόσο, η μελέτη δεν εκτίμησε τις σχετικές συνεισφορές διαφορετικών τύπων νευρικών κυττάρων στην ανάκαμψη (Mohamad, 2013). Ομοίως, η μεταμόσχευση hiPSC-NPCs στον εγκέφαλο αρουραίων που υπέστησαν εγκεφαλικό επεισόδιο οδηγεί επίσης σε λειτουργική βελτίωση και στις δύο δοκιμασίες της περιστροφής και της βάδισης, με αρχική ανάκτηση κίνησης από μία εβδομάδα μετά τη μεταμόσχευση. Ωστόσο, πιο σταδιακή ανάκαμψη παρατηρήθηκε σε δύο άλλες μετρήσεις, τη δοκιμασία περιστροφής μετά τη χορήγηση απομορφίνης και την mNSS. Η μελέτη υπογράμμισε τις βραχυπρόθεσμες επιπτώσεις των hiPSC-NPCs και κατέδειξε το διαφορετικό τρόπο δράσης τους δείχνοντας το σχηματισμό νευρικών ιστών από τα μεταμοσχευμένα hiPSC-NPCs και τη μείωση της φλεγμονής, της γλοίωσης και της απόπτωσης στον κατεστραμμένο εγκέφαλο (Chang, 2013). Πιο πρόσφατα, επιτεύχθηκε βελτίωση της ασυμμετρίας των άκρων με μεταμόσχευση hiPSC-NPCs στο δεξί φλοιό αρουραίων MCAo. Ωστόσο, υπήρξαν μόνο

μέτριες βελτιώσεις στην κινητική λειτουργία, γεγονός που υποδηλώνει ότι απαιτείται περαιτέρω κλινική ανάπτυξη (Hermanto, 2018).

Μέχρι σήμερα, μόνο μία μελέτη που περιλαμβάνει τη χρήση hiPSCs έχει διεξαχθεί σε μη-τροκτικά μοντέλα με εγκεφαλικό επεισόδιο. Τα HiPSC-NSCs μεταμοσχεύτηκαν στο εγκεφαλικό παρέγχυμα που περιείχε βλάβες εντοπισμένες με μαγνητική τομογραφία ενός μοντέλου ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου χοίρου και αποδείχθηκε ότι επιβιώνουν μακροπρόθεσμα, διαφοροποιούνται σε νευρώνες και ολιγοδενδροκύτταρα και βελτιώνουν την επανόρθωση των κατεστραμμένων ιστών στον εγκέφαλο. Μεταβολικές επιπτώσεις καταγράφηκαν μετά τη μεταμόσχευση, όπως μειωμένες αλλαγές στην πυκνότητα της λευκής ουσίας, βελτιωμένη εγκεφαλική αιμάτωση και ανάκτηση του μεταβολισμού του εγκεφάλου στον κατεστραμμένο ιστό. Η HiPSC-NSCs μεταμόσχευση μετά από εγκεφαλικό επεισόδιο οδηγεί επίσης σε νευρική προστασία και σε μειωμένη μικρογλοιακή ενεργοποίηση. Ωστόσο, καμία επιβεβαίωση της λειτουργικής ανάκαμψης δεν αξιολογήθηκε σε αυτή τη μελέτη (Baker, 2017).

Ένας περιορισμός αυτού του πεδίου είναι ότι μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί μόνο βραχυπρόθεσμες μελέτες. Η μακροπρόθεσμη λειτουργική παρακολούθηση είναι απαραίτητη για την παροχή αποδεικτικών στοιχείων για τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα. Το εγκεφαλικό επεισόδιο είναι επίσης δύσκολο ως ασθένεια να μοντελοποιηθεί καθώς η παθολογία εξαρτάται από τις περιοχές του εγκεφάλου που θα επηρεαστούν. Από αυτές τις μελέτες παραμένει ασαφές εάν η λειτουργική ανάκαμψη θα μπορούσε να επιτευχθεί σε όλες τις περιοχές του εγκεφάλου και την έκταση στην οποία ο βαθμός νευροπαθολογίας μεταβάλλει τα αποτελέσματα.

Επιληψία

Η επιληψία είναι μια κοινή νευρολογική διαταραχή που εκδηλώνεται από υπερβολική, ρυθμική (ictal) και μη φυσιολογική εγκεφαλική δραστηριότητα που προκαλεί αυθόρμητες επαναλαμβανόμενες κρίσεις, ασυνήθιστη συμπεριφορά ή αισθήσεις και απώλεια συνείδησης. Η δυσλειτουργία των GABAεργικών ανασταλτικών ενδονευρώνων παίζει σημαντικό ρόλο στην παθολογική υπερδιέγερση που υπόκειται στην επιληψία, λόγω της ευθύνης τους για απόσβεση της νευρικής δραστηριότητας και προώθηση της αναστολής του δικτύου. Η φλεγμονή έχει επίσης σημαντικό ρόλο στην επιληψία. Ωστόσο, υπάρχει μια

ενεργή συζήτηση σχετικά με το αν η φλεγμονή είναι αιτία ή συνέπεια της επιληψίας (Vezzani, 2011) (Paudel, 2018). Αν και πολλά αντισπασμωδικά φάρμακα χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της επιληψίας, η αποτελεσματικότητά τους ποικίλλει σημαντικά μεταξύ ατόμων και οι ανεπιθύμητες ενέργειες είναι σχεδόν πανταχού παρούσες μεταξύ των ασθενών (Devinsky, 2018). Επιπλέον, πολλοί ασθενείς δεν μπορούν να σταθεροποιηθούν επιτυχώς σε αντισπασμωδικά, απαιτώντας δραστική χειρουργική επέμβαση, όπως χειρουργική εκτομή της επιληπτικής εστίασης (το κέντρο της έντονης επιληπτικής δραστηριότητας). Κατά συνέπεια, η ανάπτυξη μιας θεραπείας με βάση τα στελεχιαία κύτταρα θα μπορούσε να αντιπροσωπεύει ένα μεγάλο πλεονέκτημα για τη θεραπεία της επιληψίας.

Τα hESCs μπορούν να διαφοροποιούνται σε κύτταρα μέσης γαγγλιακής προεξοχής (MGE), πρόδρομους των GABAεργικών ενδονευρώνων (GINs). Σημαντική γνωστική βελτίωση παρατηρήθηκε μετά τη μεταμόσχευση hESC-MGE πρόγονων στον ιππόκαμπο ενός μοντέλου ποντικίου με επιληψία κροταφικού λοβού (TLE) προκαλούμενη από πιλοκαρπίνη. Τα μεταμοσχευμένα hESC-MGE προγονικά κύτταρα διαφοροποιήθηκαν σε ενεργούς GABAεργικούς νευρώνες με ώριμα μοτίβα πυροδότησης, που δείχνουν την ένταξή τους στο κύκλωμα του ιππόκαμπου του ξενιστή και υποδηλώνουν ένα συναπτικό τρόπο δράσης (Cunningham, 2014) (Anderson, 2018). Εναλλακτικά, τα hESC-ενδονευρωνικά μοσχεύματα μπορούν να βελτιώσουν τη βλάβη στη μνήμη μέσω της απελευθέρωσης GABA ή νευροτροφικών παραγόντων που προστατεύουν τους νευρώνες του ιππόκαμπου και τη συναπτική ακεραιότητα, ή με την απελευθέρωση παραγόντων που μειώνουν τη φλεγμονή που είναι γνωστό ότι δυσχεραίνει τη μάθηση και μνήμη (Hamlett, 2020) (Wang D. Z., 2017).

Σε μία από τις μελέτες, τα μεταμοσχευμένα κύτταρα ήταν επίσης λειτουργικά αποτελεσματικά στη μείωση των επιληπτικών κρίσεων για έως και τέσσερις μήνες μετά τη μεταμόσχευση, γεγονός που αποδόθηκε άμεσα στα προερχόμενα από τη μεταμόσχευση ανασταλτικά ρεύματα που διέρχονται από τους ενδογενείς νευρώνες του ιππόκαμπου (Cunningham, 2014). Ωστόσο, η πιο πρόσφατη μελέτη δεν έδειξε σημαντική καταστολή των κρίσεων μετά από μεταμόσχευση hESC-GABA νευρικών προγόνων στον εγκέφαλο ποντικών TLE σε σύγκριση με έγχυση μέσου (Anderson, 2018). Επιπλέον, σε αυτή τη μελέτη, συστάδες NSCs που μοιάζουν με όγκο παρατηρήθηκαν επίσης σε μερικούς ποντικούς που

εγγύθησαν, πιθανώς λόγω πολλαπλασιαστικών μη διαφοροποιημένων κύτταρων που παραμένουν στον μεταμοσχευμένο πληθυσμό. Οι διαφορές μεταξύ των δύο μελετών ενδέχεται να εξηγούνται από την διαφορετικότητα στην ετερογένεια των μεταμοσχευμένων κυτταρικών πληθυσμών. Παρόλο που οι θεραπείες με βάση τα hPSCs έχουν μεγάλες δυνατότητες στη θεραπεία της επιληψίας, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες σε τρωκτικά και μη τρωκτικά μοντέλα για να αποδείξουν την αποτελεσματικότητά τους στην καταστολή των επιληπτικών κρίσεων και το σημαντικότερο να επιβεβαιώσουν την ασφάλεια της διαδικασίας.

Διαταραχές μάθησης και μνήμης / Άνοια (Νόσος του Αλτσχάιμερ)

Η μάθηση και η μνήμη είναι πολύπλοκες γνωστικές διαδικασίες που περιλαμβάνουν τη λειτουργία του ιππόκαμπου που επηρεάζεται σοβαρά από τη γήρανση και ορισμένες νευροεκφυλιστικές διαταραχές όπως η νόσος του Alzheimer (AD). Η AD είναι η πιο κοινή μορφή άνοιας που σχετίζεται με την ηλικία και χαρακτηρίζεται κλινικά από προοδευτική απώλεια χολινεργικών νευρώνων και συνάψεων, απόθεση νευροτοξικών πρωτεϊνών όπως εξωκυτταρικές πλάκες β-αμυλοειδούς (Aβ) και ενδοκυτταρικά νευροϊνιδιακά συμπλέγματα (NFTs) (Ho, 2018). Ενώ η AD είναι μη θεραπεύσιμη επί του παρόντος, αυξανόμενες ενδείξεις υποστηρίζουν τη θεραπευτική δυνατότητα της αναγεννητικής ιατρικής για τη θεραπεία της AD.

Κατά την τελευταία δεκαετία, πολλές προκλινικές θεραπείες στελεχιαίων κυττάρων προσπάθησαν να αντικαταστήσουν του χαμένου νευρώνες ή να υποστηρίξουν τους υπάρχοντες νευρώνες σε ζωικά μοντέλα της AD. NSCs από εγκέφαλο ενήλικα ποντικού ή ESCs μεταμοσχεύθηκαν σε AD μοντέλα τρωκτικών και οδήγησαν στη γένεση χολινεργικών νευρώνων, σε αυξημένη συναπτική ισχύ και ενίσχυση απόδοσης της μνήμης (Blurton-Jones, 2009) (Fouad, 2019) (Moghadam, 2009). Βελτιώσεις στη μάθηση και τις ικανότητες μνήμης έχουν επίσης αποδειχθεί μετά από θεραπείες αντικατάστασης κυττάρων με βάση τα hPSCs. hiPSC-NPCs χολινεργικού φαινότυπου μεταμοσχεύτηκαν στον ιππόκαμπο διαγονιδιακών ποντικών PDAPP (PDGF καθοδηγητής της πρόδρομης πρωτεΐνης του β-αμυλοειδούς της APP πρωτεΐνης) μοντέλων άνοιας (Games, 1995). Μέχρι 45 ημέρες μετά τη μεταμόσχευση, τα hiPSC-NPCs βρέθηκαν να επιβιώνουν και να διαφοροποιούνται σε χολι-

νεργικούς και GABAεργικούς νευρώνες στον εγκέφαλο του ξενιστή, με αποτέλεσμα τη βελτίωση της χωρικής μνήμης (Fujiwara, 2013). ESCs από ποντίκια και ανθρώπους κατευθύνθηκαν επίσης για να διαφοροποιηθούν σε προγόνους των χολινεργικών νευρώνων του βασικού πρόσθιου εγκεφάλου (BFCN) και μεταμοσχεύτηκαν στον πρόσθιο εγκέφαλο μοντέλων ποντικού AD. Δύο μήνες μετά την έγχυση, οι μεταμοσχευμένοι πρόγονοι BFCN διαφοροποιήθηκαν κυρίως σε ώριμους χολινεργικούς νευρώνες που λειτουργικά ενσωματώνονται στο ενδογενές χολινεργικό κύκλωμα του ξενιστή. Η θεραπεία HESC-BFCN θα μπορούσε να αποκαταστήσει τη χολινεργική λειτουργία και να ανακουφίσει τα γνωστικά ελλείμματα των δύο στελεχών των μοντέλων ποντικού AD (5XFAD και APP/PS1) έως έξι μήνες μετά τη μεταμόσχευση (Yue, 2015). Αυτά τα αποτελέσματα επιδεικνύουν μεγάλες δυνατότητες της μεταμόσχευσης hPSCs για τη βελτίωση της μάθησης και των διαταραχών μνήμης όπως η AD.

Η συσσώρευση στοιχείων δείχνει ότι η μεταμόσχευση στελεχιαίων κυττάρων επηρεάζει τα παθολογικά χαρακτηριστικά της AD μέσω πολλαπλών τρόπων δράσης. Παρόμοια με το εγκεφαλικό, το θεραπευτικό δυναμικό μπορεί εν μέρει να αποδοθεί σε μια παρακρινική επίδραση των νευροτροφικών παραγόντων (στην περίπτωση αυτή BDNF και GDNF) που βελτιώνουν διάφορες κυτταρικές λειτουργίες σε ζωικά μοντέλα AD, συμπεριλαμβανομένης της νευρικής ακεραιότητας, της ενδογενούς νευρογένεσης, της μικρογλοιακής δραστηριότητας, της αγγειογένεσης, της μιτοχονδριακής λειτουργίας, της αυτοφαγίας και της απόπτωσης (Yue C. J., 2015) (Fang, 2018) μαζί με τη βελτίωση της γνωστικής λειτουργίας. Ενδιαφέρον αποτελεί το γεγονός ότι ενώ η νόσος του Huntington (HD) αναφέρεται συνήθως ως κινητική διαταραχή, οι γνωστικές διαταραχές είναι παρούσες και συχνά εξελίσσονται σε άνοια. Παρόμοιες βελτιώσεις συμπεριφοράς παρατηρήθηκαν μετά τη μεταμόσχευση iPSC-NPCs από ποντίκι και άνθρωπο στο ραβδωτό σώμα των YAC128 HD ποντικών (Al-Gharaibeh, 2017) (Jeon, 2014). Τα μεταμοσχευμένα κύτταρα απεδείχθη ότι διαφοροποιήθηκαν σε μέσους ακανθώδεις νευρώνες (Al-Gharaibeh, 2017), τον πιο έντονα επηρεασμένο τύπο νευρικών κυττάρων στη HD, καθώς και σε GABAεργικούς νευρώνες (Jeon, 2014). Τα hPSC-NPCs μπορούν επίσης να αντιπροσωπεύουν μια αποτελεσματική θεραπεία αντικατάστασης νευρικών κυττάρων για τη HD.

Ενώ οι περισσότερες μεταμοσχεύσεις NPC/NSC και BFCN ήταν επιτυχείς στη βελτίωση της γνωστικής δυσλειτουργίας σε AD μοντέλα ζώων, απέτυχαν να μειώσουν το επίπεδο των Αβ πλακών στον AD εγκέφαλο. Ακολουθώντας μια διαφορετική στρατηγική, δημιουργήθηκαν κύτταρα τύπου μακροφάγων (ML) από hiPSCs και σχεδιάστηκαν να εκφράζουν τη Neprilysin-2 (NEP2), μια εκκρινόμενη πρωτεάση με δραστικότητα Αβ-αποικοδόμησης. HiPSC-ML/NEP2 εγχύθηκαν στον υπόκαμπο 5XFAD διαγονιδιακών AD ποντικών (Takamatsu, 2014) (Oakley, 2006). Αν και η επίδραση στη γνωστική λειτουργία και τη νευρική βλάβη δεν εξετάστηκε, μια σημαντική μείωση του επιπέδου του Αβ παρατηρήθηκε στον μεταμοσχευμένο εγκέφαλο ποντικού. Η μείωση του Αβ δεν ήταν σημαντική όταν μεταμοσχεύθηκαν μη τροποποιημένα hiPSC-ML, αποδεικνύοντας ότι η έκκριση του NEP2, και όχι η φαγοκυττάρωση από τα hiPSC-ML, προκάλεσαν την εξάλειψη του Αβ. Ενώ περαιτέρω έρευνες είναι απαραίτητες για την αξιολόγηση της προστατευτικής τους επίδρασης στη νευρική βλάβη και την επακόλουθη γνωστική μείωση, αυτή η μελέτη υποδεικνύει ένα πιθανό θεραπευτικό όφελος των hiPSC-ML που εκκρίνουν NEP2 για τη θεραπεία του AD.

Πολλαπλή σκλήρυνση

Η πολλαπλή σκλήρυνση (MS) είναι μια χρόνια απομυελινωτική νόσος που επηρεάζει το κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι τρέχουσες θεραπείες κατευθύνονται κυρίως εναντίον του ανοσοποιητικού συστήματος για τη θεραπεία της φλεγμονώδους σύστασης της διαταραχής. Ωστόσο, η πραγματική πρόκληση είναι να αναπτυχθούν θεραπείες επαναμυελίνωσης και νευροπροστασίας.

Για να προσδιοριστεί μια πιθανή πηγή μυελινογόνων ολιγοδενδροκυττάρων για τη θεραπεία της MS, αναπτύχθηκαν αρκετά πρωτόκολλα για τη δημιουργία πρόδρομων ολιγοδενδροκυττάρων (OPCs) από hiPSCs (Wang S. B.-M., 2013) (Hu B. D., 2009) (Izrael, 2007). HiPSC-OPC μεταμοσχεύθηκαν στο μεσολόβιο γενετικού μοντέλου της συγγενούς υπομυελίνωσης, το ποντίκι με ρίγη (Molineaux, 1986). In vivo, τα hiPSC-OPCs διαφοροποιήθηκαν σε ολιγοδενδροκύτταρα που παρήγαγαν μυελίνη και είχαν την ικανότητα να μυελινώνουν αποτελεσματικά τον υπομυελινωμένο εγκέφαλο με ρίγη χωρίς ενδείξεις ογκογένεσης σε εννέα μήνες μετά τη μεταμόσχευση. Επιπλέον, οι μεταμοσχεύσεις οδήγησαν σε σημαντική λειτουργική βελτίωση και σημαντική αύξηση της διάρκειας ζωής κατά περίπου 20% σε σύγκριση με τους χωρίς θεραπεία ομολόγους τους (Wang S. B.-M., 2013). Είναι

σημαντικό το γεγονός ότι όταν τα hiPSCs προήλθαν από τέσσερις ασθενείς με προοδευτική μορφή MS μπορούσαν επίσης να προκληθούν να σχηματίσουν πληθυσμούς OPCs υψηλά εμπλουτισμένους. Αν και δεν πραγματοποιήθηκε καμία λειτουργική δοκιμασία σε αυτή τη μελέτη, η ανοσοϊστοχημεία έδειξε ότι τα μεταμοσχευμένα hiPSC-OPCs διαφοροποιήθηκαν, εξέφρασαν ώριμους δείκτες ολιγοδενδροκυττάρων μετά τη μεταμόσχευση in vivo και μυελινωμένους άξονες σε έναν ανοσοκατασταλμένο εγκέφαλο ποντικού με ρίγη, υπογραμμίζοντας το δυναμικό των αυτόλογων hiPSCs για τη θεραπεία της MS (Dounaras, 2014).

Κάκωση νωτιαίου μυελού

Η κάκωση του νωτιαίου μυελού (SCI) συχνά οδηγεί σε καταστροφικά νευρολογικά ελλείμματα τα οποία μειώνουν δραματικά την ποιότητα ζωής ενός ατόμου. Η χειρουργική επέμβαση (λαμινοτομία, η οποία περιλαμβάνει τη χειρουργική αφαίρεση οστού για την ανακούφιση της πίεσης στο νωτιαίο σωλήνα) και η αποκατάσταση είναι οι μόνες παρεμβάσεις που χρησιμοποιούνται συνήθως για τη βελτίωση της λειτουργικής ανάκτησης μετά από SCI. Το κορτικοστεροειδές μεθυλπρεδνιζολόνη είναι η μόνη φαρμακοθεραπεία που έχει εγκριθεί επί του παρόντος και έχει χρησιμοποιηθεί για τη μείωση της φλεγμονής στο νωτιαίο μυελό (SC) αμέσως μετά από τραυματισμό. Ωστόσο, έχει περιορισμένη αποτελεσματικότητα και σοβαρές παρενέργειες, όπως γαστρεντερική αιμορραγία και αναπνευστική βακτηριακή λοίμωξη, και έτσι αυτό το φάρμακο δεν χορηγείται συχνά πλέον (Liu Z. Y., 2019). Παρά τις δεκαετίες προσπαθειών για την ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπειών, εξακολουθεί να υπάρχει επείγουσα ανάγκη για νέα θεραπευτική αντιμετώπιση που προάγει τη λειτουργική ανάκαμψη μετά από SCI.

Κεντρικό σημείο της παθολογίας της SCI είναι μια σημαντική προσβολή στο νευρικό σύστημα. Ένα τραύμα του νωτιαίου μυελού μπορεί να προκαλέσει οξεία βλάβη στις ανερχόμενες και κατερχόμενες οδούς και να οδηγήσει σε αξοτομή (διακοπή των νευραξόνων). Αμέσως μετά τον αρχικό τραυματισμό, εμφανίζεται μια ισχυρή νευροφλεγμονώδης απόκριση και ενεργοποιούνται οι δευτερογενείς μηχανισμοί τραυματισμού στις χρόνιες φάσεις της SCI, που οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο και περαιτέρω εκφυλισμό των ιστών (εκφυλισμός Wallerian). Γύρω από το σημείο της κάκωσης, ο σχηματισμός κύστης και η

ανασταλτική της ανάπτυξης ουλή (γνωστή ως γλοιακή ουλή) θα αποτρέψει την αναγέννηση των ιστών (Alizadeh, 2019). Για αυτούς τους λόγους, τα βλαστικά κύτταρα, ιδίως τα hiPSCs, έχουν προσελκύσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως πιθανή πηγή για θεραπεία κυτταρικής αντικατάστασης μετά από SCI.

Ανθρώπινες νευροσφαίρες από hiPSCs μεταμοσχεύθηκαν σε μοντέλο ποντικού με SCI στο επίπεδο του T10 σπονδύλου (Nori, 2011). Τα κύτταρα διαφοροποιήθηκαν σε νευρώνες, ολιγοδενδροκύτταρα και αστροκύτταρα. Η λειτουργική ανάκαμψη ήταν εμφανής 112 ημέρες μετά τον τραυματισμό σε πολλαπλές παραμέτρους κίνησης συμπεριλαμβανομένης της βάρδισης και της συνολικής μετακίνησης. Ωστόσο, μόνο το 22% των κυττάρων διαφοροποιήθηκαν σε ώριμους νευρώνες. Σε μια περαιτέρω μελέτη που χρησιμοποιήθηκαν hiPSC-Lt-NES για μεταμόσχευση σε ποντίκι στο επίπεδο του T9 σπονδύλου, το 75% των μεταμοσχευμένων κυττάρων διαφοροποιήθηκαν σε νευρώνες. Λειτουργική ανάκαμψη του πίσω άκρου βρέθηκε χρησιμοποιώντας την κλίμακα BMS (Basso Mouse Scale) και συσχετίστηκε με βελτιώσεις στο δυναμικό που προκαλείται από την κίνηση (καταγεγραμμένο από το οπίσθιο άκρο και διέγερση του κινητικού φλοιού) (Fujimoto, 2012).

HiPSC-NPCs έχουν επίσης μεταμοσχευτεί σε ανοσο-ικανό μοντέλο ποντικού SCI αλλά είχαν πολύ περιορισμένη επιβίωση, καμία μείωση του μεγέθους της βλάβης και καμία λειτουργική ανάκαμψη (Pomeshchik, 2015). Αντιθέτως, λειτουργική βελτίωση της δυσλειτουργίας του οπίσθιου άκρου και δομική αποκατάσταση του νωτιαίου μυελού ήταν εμφανείς μετά τη μεταμόσχευση hiPSC-NPCs σε μια μελέτη ποντικού (Oh, 2015). Οι ίδιες αποκλίσεις αναφέρθηκαν σε μοντέλα αρουραίου SCI. HiPS-NPCs εγχύθηκαν σε θέσεις αλλοίωσης του σπονδύλου C5 ανοσοανεπαρκών αρουραίων. Αν και η πλειονότητα των κυττάρων διαφοροποιήθηκε σε νευρώνες των οποίων οι άξονες βρέθηκαν να έχουν ενσωματωθεί και σχηματίζει συνάψεις με ξενιστές νευρώνες τρεις μήνες μετά τη μεταμόσχευση, δεν υπήρξε λειτουργική βελτίωση (Lu, 2014). Σε αντίθεση, μια μελέτη με πολύ μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος (34 μεταμοσχευμένοι και 35 αρουραίοι μάρτυρες) έδειξε σαφή λειτουργική βελτίωση της κίνησης (μετρούμενη με την κλίμακα εντοπισμού της κίνησης Basso, Beattie και Bresnahan (BBB), πορεία, περιστροφή και πελματιαία δοκιμή) μετά τη μεταμόσχευση hiPSC-NPCs στο επίπεδο T8 σπονδύλου του νωτιαίου μυελού. Μετά από 17 εβδομάδες, τα hiPSC-NPCs διαφοροποιήθηκαν σε αστροκύτταρα, ολιγοδενδροκύτταρα και ειδικούς νευρώνες (ενδονευρώνες, ντοπαμινεργικοί, σεροτονινεργικοί και κινητικοί

νευρώνες), αλλά ένα μεγάλο μέρος των μοσχευμάτων ήταν γλοιακά κύτταρα. Είναι ενδιαφέρον ότι βρέθηκαν ανθρώπινοι ChAT (χολινο-ακετυλοτρανσφεράση) θετικοί κινητικοί νευρώνες στο κοιλιακό τμήμα του νωτιαίου μυελού, ενώ ανθρώπινοι ενδονευρώνες που εκφράζουν καλβινδίνη εντοπίστηκαν στο κεντρικό τμήμα του νωτιαίου μυελού, δείχνοντας ότι τα κύτταρα μπορούν να μεταναστεύσουν σε συγκεκριμένες περιοχές του ιστού και να υιοθετήσουν συγκεκριμένους φαινοτύπους (Romanjuk, 2015). Παρά τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα, ο βαθμός της λειτουργικής ανάκαμψης μετά τη μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων παραμένει μέτριος. Πρόσφατα, η ενεργοποίηση του Notch που προκλήθηκε από τραυματισμό στο νωτιαίο μυελό έχει αποδειχθεί ότι προσανατολίζει τα μεταμοσχευμένα hiPSC-NPCs προς την αστροκυτταρική σειρά και μειώνει τη θεραπευτική τους αποδοτικότητα (Khazaei, 2020). Είναι αξιοσημείωτο ότι η διαμόρφωση της σηματοδότησης notch από τον GDNF στα μεταμοσχευμένα κύτταρα αύξησε τη νευρική μοίρα τους και ενίσχυσε την ηλεκτρική τους ολοκλήρωση ανεξάρτητα από την επίδραση στην επιβίωση των κυττάρων. Αυτή η στρατηγική είχε ως αποτέλεσμα βελτιωμένη λειτουργική ανάκαμψη μετά τη μεταμόσχευση και αντιπροσωπεύει μια σημαντική βελτιστοποίηση της θεραπείας hiPSC-NPCs για SCI.

HiPSC-NSCs έχουν επίσης δοκιμαστεί ως κυτταρική θεραπεία σε μαρμόζες μοντέλα του SCI. Προκλήθηκε τραυματισμός στο επίπεδο του C5 σπονδύλου του νωτιαίου μυελού και πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις συμπεριφοράς για έως και 12 εβδομάδες μετά. Λειτουργική ανάκαμψη παρατηρήθηκε σε κινητικές παραμέτρους όπως δοκιμασίες ανοιχτού πεδίου, λαβή ράβδου και αναρρίχηση κλουβιού. Ωστόσο, αν και τα μεταμοσχευμένα κύτταρα βρέθηκε να διαφοροποιούνται και στις τρεις κυτταρικές σειρές (νευρώνες, αστροκύτταρα και ολιγοδενδροκύτταρα), περίπου το ένα τέταρτο των κυττάρων παρέμεινε ανώριμο. Παρά αυτόν τον περιορισμό, δεν παρατηρήθηκε ογκογονικότητα στο περιορισμένο χρονικό πλαίσιο της μελέτης (Kobayashi, 2012). Απαιτούνται πρόσθετες και πιο μακροχρόνιες μελέτες σε μεγάλα ζώα για την ενίσχυση των σημερινών στοιχείων.

Επειδή η επαναμυελίνωση των αξόνων είναι βασικό συστατικό της ανάκαμψης, κάποιος έχει αξιολογήσει το θεραπευτικό δυναμικό των OPCs, που προέρχονται από hESCs ή hiPSCs, για την αποκατάσταση των νευρικών οδών μετά από μέτρια SCI σε αρουραίους. Και στις δύο περιπτώσεις, τα περισσότερα κύτταρα διαφοροποιήθηκαν σε ώριμα

ολιγοδενδροκύτταρα που εκφράζουν τη βασική πρωτεΐνη της μυελίνης (MBP) και ενσωματώθηκαν στον νωτιαίο μυελό του ξενιστή. Μεταμοσχευμένα 2 ώρες μετά τον τραυματισμό, τα hESC-OPCs οδηγούν σε βελτίωση των σωματοαισθητικών (SSEPs) προκλητών δυναμικών που καταγράφηκε στο φλοιό και δείχνει λειτουργική βελτίωση των αισθητηριακών οδών (All, 2012). Μεταμόσχευση hiPSC-OPCs 24 ώρες μετά τον τραυματισμό είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους της κοιλότητας και των ουλών της γλοίας στο σημείο του τραυματισμού. Αναφέρθηκε επίσης μία σημαντική αύξηση του αριθμού των μυελινωμένων αξόνων. Αν και οι σχετικοί μηχανισμοί είναι ακόμα ασαφείς, τα hiPSC-OPCs βελτιώνουν τη λειτουργική ανάκτηση της κίνησης (μετριέται με χρήση της κλίμακας BBB) μετά μεταμόσχευση σε SCI (All A. G., 2015). Σημειωτέων, iPSC-NSCs ποντικού, που προήρθαν τόσο από άγριου τύπου όσο και από ποντίκια με ρίγος, μεταμοσχεύθηκαν στον νωτιαίο μυελό ενός ποντικού μοντέλου SCI στο επίπεδο του T6 σπονδύλου. Ενώ και οι δύο κυτταρικές σειρές ενσωματώθηκαν και διαφοροποιήθηκαν σε ολιγοδενδροκύτταρα, αστροκύτταρα και νευρώνες, τα κύτταρα που προήρθαν από άγριου τύπου ποντίκια επέδειξαν πολύ μεγαλύτερη βελτίωση στην κινητική λειτουργία, δείχνοντας τον βασικό ρόλο της επανамυελίνωσης στη λειτουργική αποκατάσταση του νωτιαίου μυελού (Salewski, 2015).

Τέλος, ορισμένες έρευνες επικεντρώθηκαν σε άλλες παθολογικές πτυχές της SCI, οι οποίες περιλαμβάνουν νευρογενείς διαταραχές της ουροδόχου κύστης και νευροπαθητικό πόνο. Ένα κοινό χαρακτηριστικό και των δύο συνθηκών είναι η απώλεια του GABAεργικού ανασταλτικού τόνου στον τραυματισμένο νωτιαίο μυελό (Griffiths, 2015) (Jensen, 2014). HESCs προκλήθηκαν να σχηματίσουν MGE προγονικά κύτταρα και μεταμοσχεύτηκαν στην οσφυϊκή διεύρυνση ποντικών SCI. Έξι μήνες μετά τη μεταμόσχευση, οι hESC-MGE πρόγονοι ενσωματώθηκαν και διαφοροποιήθηκαν σε ώριμους GABAεργικούς νευρώνες και γλοιακά κύτταρα. Τα μοσχεύματα hESC-MGE βελτίωσαν τη νευρογενή δυσλειτουργία της ουροδόχου κύστης και ανακούφισαν τον κεντρικό νευροπαθητικό πόνο, δύο από τα πιο εξουθενωτικά συμπτώματα που σχετίζονται με την SCI (Fandel, 2016).

Παρόλες τις προκλινικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε τρωκτικά για την καθιέρωση μιας προσέγγισης που βασίζεται σε hPSCs όσον αφορά την αναγεννητική ιατρική της σπονδυλικής στήλης, κλινικές δοκιμές που χρησιμοποιούν hPSCs για να στοχεύσουν την SCI δεν έχουν διεξαχθεί πλήρως. Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA)

ενέκρινε την πρώτη κλινική δοκιμή στις ΗΠΑ για τη χρήση ολιγοδενδροκύτταρων που προέρχονται από hESCs για τη θεραπεία της SCI. Η Geron Corporation ξεκίνησε τη δοκιμή σε 4 ασθενείς το 2010 αλλά αργότερα έκλεισε για επιχειρηματικούς λόγους. Η Asterias Biotherapeutics ξεκίνησε εκ νέου μία μελέτη φάσης I/II κλιμάκωσης δόσης με 25 ασθενείς το 2015 αλλά, μέχρι σήμερα, δεν έχουν αναφερθεί αποτελέσματα (Clinical Trial ID NCT02302157). Κλινικές δοκιμές που χρησιμοποιούν μεταμόσχευση hiPSC-NPCs προγραμματίζεται να ξεκινήσουν επίσης στην Ιαπωνία (Tsuji, 2019).

Νευροπαθητικός πόνος

Ο χρόνιος νευροπαθητικός πόνος είναι ένας επιδεινωμένος ή παρατεταμένος πόνος που προκαλείται από βλάβη ή νόσο που προσβάλλει το σωματοαισθητικό νευρικό σύστημα (συμπεριλαμβανομένου του νευρικού τραυματισμού, του καρκίνου, του διαβήτη ή της ιογενούς λοίμωξης). Ο χρόνιος νευροπαθητικός πόνος μπορεί να χαρακτηριστεί ως νευροεκφυλιστική ασθένεια (Calvo, 2019) (Scholz, 2019) που κορυφώνεται με μειωμένη κεντρική αναστολή στο νωτιαίο μυελό (Moore, 2002) (Manion, 2019) (Khuong, 2019).

Ο νευροπαθητικός πόνος αντιμετωπίζεται επί του παρόντος με μη ειδικές στρατηγικές διαχείρισης όπως αντιεπιληπτικά, αντικαταθλιπτικά και, σε ορισμένες περιπτώσεις, οπιοειδή. Ωστόσο, αυτές οι θεραπείες είναι γνωστό ότι έχουν κακή απόδοση, προκαλούν ανεπιθύμητες παρενέργειες ή/και μακροπρόθεσμο εθισμό (Paulozzi, 2006) (Walia, 2004). Θεραπείες κυτταρικής αντικατάστασης για να θεραπευτεί ο νευροπαθητικός πόνος έχουν διερευνηθεί ως μέσο για την αύξηση των GABA τοπικά στο σημείο της κεντρικής δυσλειτουργίας. Λειτουργική αντικατάσταση των νωτιαίων GABAεργικών ανασταλτικών νευρώνων πραγματοποιήθηκε αρχικά με τη μεταμόσχευση εμβρυονικών MGE προγονικών κυττάρων ποντικού και είχε ως αποτέλεσμα την εξασθένιση του νευροπαθητικού πόνου αποκαθιστώντας την κεντρική αναστολή μέσω της απελευθέρωσης των GABA (Bráz, 2012) (Bráz J. W., 2015). Προγονικά κύτταρα hESC-MGE έχουν επίσης μεταμοσχευτεί στον νωτιαίο μυελό ποντικού και φαίνεται να ανακουφίζει τον κεντρικό νευροπαθητικό πόνο μετά από SCI (Fandel, 2016). Πιο πρόσφατα, δημιουργήθηκαν ώριμοι λειτουργικοί GABAεργικοί νευρώνες από το hiPSCs και μεταμοσχεύτηκαν στον νωτιαίο μυελό ποντικού με διαπιστωμένο τραυματισμό περιφερικού νεύρου, παρέχοντας ανακούφιση από τον πόνο έως και δύο μήνες χωρίς να βλάπτει το νωτιαίο μυελό ή να επηρεάζει την κινητική

λειτουργία των ποντικών (Manion J. K., 2020). Λαμβάνοντας υπόψη την ισχυρή αναλγητική επίδραση των GABAεργικών μεταμοσχεύσεων και τις δυνατότητες που προκύπτουν για την κλινική του χρήση, μία μακροχρόνια μελέτη είναι επί του παρόντος σε εξέλιξη για να εξακριβωθεί η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια αυτής της διαδικασίας. Ωστόσο, ένας περιορισμός αυτής της στρατηγικής είναι ο έλεγχος της μετανάστευσης των GABAεργικών νευρώνων και της απελευθέρωσης των GABA. Υπερβολική αποκατάσταση της κεντρικής αναστολής στον νωτιαίο μυελό, ειδικά στο κοιλιακό κέρασ, θα μπορούσε ενδεχομένως να επηρεάσει την κινητική λειτουργία και να οδηγήσει σε εξουθενωτικές διαταραχές.

Αναγέννηση ιστών

Τις τελευταίες δεκαετίες, οι βιοϊατρικές εφαρμογές των μεσεγχυματικών στελεχιαίων κυττάρων (MSCs) έχουν προσελκύσει αυξανόμενη προσοχή. Από την ανακάλυψη των, σε σχήμα ατράκτου, πλαστικών-προσκολλημένων κυττάρων που προέρχονται από το μυελό των οστών στα μέσα της δεκαετίας του 1970 (Friedenstein A. G., 1976), η επιστήμη έχει προχωρήσει πολύ και οι μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι αυτά τα κύτταρα θα μπορούσαν να διαφοροποιηθούν σε οστεοβλάστες και χονδροκύτταρα (Ashton, 1980) (Owen, 1988). Οι τεχνικές εξαγωγής, καλλιέργειας και επαγωγής των MSCs έχουν βελτιωθεί, με σχεδόν όλους τους τύπους MSC προερχόμενους από διάφορους ιστούς να είναι πλέον ικανοί να διαφοροποιηθούν σε οστεοκύτταρα και τελικού σταδίου κυτταρικές σειρές (Salgado, 2013). Η γρήγορη ανάπτυξη της μοριακής βιολογίας και των μεταμοσχευτικών τεχνικών έχει ωφελήσει τις εφαρμογές των MSCs στην αναγεννητική ιατρική. Τα MSCs είναι ιδανική πηγή κυττάρων για αναγέννηση ιστών λόγω των εξαιρετικών ιδιοτήτων τους. Τα MSCs υπάρχουν σχεδόν σε όλους τους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του μυελού των οστών, του λιπώδους ιστού και του αρθρικού (Camragnoli, 2001) και μπορούν εύκολα να εξαχθούν. Τα MSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν σε σχεδόν οποιοδήποτε κύτταρο τελικού σταδίου για να επιτρέψουν τη σπορά τους σε συγκεκριμένα ικριώματα (Chen, 2008). Οι ανοσολογικές τους ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένων των αντιφλεγμονωδών, ανοσορρυθμιστικών και ανοσοκατασταλτικών τους ικανοτήτων, συμβάλλουν στον πιθανό ρόλο τους ως ανοσοανεκτικοί παράγοντες (Gao, 2016) (Aggarwal, 2005).

Πολλές μελέτες έχουν διερευνήσει τα MSCs για την αναγέννηση ιστών σε πολλά ζωικά μοντέλα *in vitro* και οι δοκιμές δεν περιορίστηκαν στην προκλινική επικύρωση. Αρκετές κλινικές αναφορές επιβεβαιώνουν την πιθανή αποτελεσματικότητα της κυτταρικής θεραπείας με βάση τα MSCs. Αν και η αποτελεσματικότητά τους παραμένει περιορισμένη, τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά. Η άφθονη παροχή MSCs αποτελεί κρίσιμη βάση για τις εκτεταμένες έρευνες και εφαρμογές τους. Είναι γνωστό ότι τα MSCs μπορούν να απομονωθούν από διάφορους ιστούς, όπως ο μυελός των οστών, ο λιπώδης ιστός και το αρθρικό υγρό, καθώς και το ανθρώπινο αίμα του ομφάλιου λώρου και είναι μια από τις βασικές πηγές τους. Τα MSCs υπάρχουν σε διάφορους ιστούς και όργανα εκτός από το μυελό των οστών, με πολλαπλές κυτταρικές σειρές από το ανθρώπινο ομφαλοπλακουντιακό αίμα που αναφέρθηκε για πρώτη φορά στις αρχές του 2000 (Erices, 2000). Ο λιπώδης ιστός

αποδείχθηκε ως πλούσια πηγή MSCs το 2001 (Zuk, 2001) και στη συνέχεια απομονώθηκαν επιτυχώς MSCs που προέρχονται από το αρθρικό (SMSCs) (De Bari, 2001).

Το δυναμικό διαφοροποίησης πολλαπλής κατεύθυνσης είναι ένα από τα πιο κρίσιμα χαρακτηριστικά των MSCs. Επιπλέον, η διαφορετική ιστική προέλευση επηρεάζει τη διαφοροποιητική τάση και την ικανότητα πολλαπλασιασμού των MSCs. Υπάρχει ένας αυξανόμενος αριθμός δημοσιεύσεων που αφορούν την ετερογένεια των MSCs (Andrzejewska, 2019). Οι τρανσκριπτομικές, πρωτεομικές, ανοσοφαινοτυπικές και ανοσορρυθμιστικές δραστηριότητες ποικίλων τύπων MSCs διαφέρουν, υπονοώντας ότι τα MSCs παρουσιάζουν μοναδικές δυνατότητες διαφοροποίησης. MSCs που προέρχονται από διαφορετικούς ιστούς εμφανίζουν διακριτές τάσεις διαφοροποίησης σε διαφορετικές τελικού σταδίου κυτταρικές σειρές, όπως οστεοβλάστες και χονδροκύτταρα. Ως κρίσιμη πηγή MSCs για την ιστομηχανική, τα MSCs που προέρχονται από το μυελό των οστών (BMSCs) επιδεικνύουν ανώτερες ικανότητες οστεογένεσης και χονδρογένεσης υπό τυποποιημένα πρωτόκολλα διαφοροποίησης (Lin, 2019) και τα SMSCs επιδεικνύουν σημαντικότερο πολλαπλασιαστικό και χονδρογόνο δυναμικό από τα προερχόμενα από λιπώδη ιστό MSCs (ADSCs) (Mochizuki, 2006). Τα MSCs που προέρχονται από το ομφαλοπλακουντιακό αίμα (UCB-MSCs) παρουσιάζουν βιολογικά πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες πηγές ενηλίκων, συμπεριλαμβανομένης της ικανότητάς τους για πιο μακροχρόνιες καλλιέργειες, επέκταση μεγαλύτερης κλίμακας, σημαντικότερη καθυστέρηση της γήρανσης και υψηλότερες αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις (Jin, 2013). Οι ερευνητές πρέπει να επιλέξουν τον επιθυμητό τύπο MSCs σύμφωνα με τον ειδικό σκοπό τους. Μέχρι στιγμής, τα MSCs έχουν μελετηθεί ευρέως και εφαρμόζονται στην αναγεννητική ιατρική, εστιάζοντας κυρίως στην ανοικοδόμηση εύθραυστων ιστών, συμπεριλαμβανομένων αυτών που σχετίζονται με το μυοσκελετικό σύστημα, το νευρικό σύστημα, το μυοκάρδιο, το συκώτι, τον κερατοειδή και την τραχεία.

Αναγέννηση οστών

Τα οστικά ελλείμματα συχνά συνοδεύουν την αποκατάσταση από τραύματα, αρθροπλαστικές ή χειρουργικές επεμβάσεις αφαίρεσης όγκων. Η αυτόλογη μεταμόσχευση οστού αντιπροσωπεύει την τυπική θεραπευτική στρατηγική, παρά τα πολλά μειονεκτήματά της, συμπεριλαμβανομένης (Friedenstein A. G., 1976) της περιορισμένης παροχής αυτόλογου

οστού, (Ashton, 1980) του αυξημένου χρόνου επέμβασης και απώλειας αίματος, (Owen, 1988) της προσωρινή διαταραχής της δομής των οστών στο σημείο της δωρεάς και (Salgado, 2013) του αυξημένου κινδύνου λοίμωξης (Younger, 1989). Η αλλογενής μεταμόσχευση ενέχει κίνδυνο ασθένειας και/ή μόλυνσης (Lozano-Calderón, 2016). Επομένως, η αναγέννηση των οστών με βάση τα MSCs θεωρείται μια άριστη προσέγγιση (Jiang, 2002).

Η ικανότητα διαφοροποίησης των MSCs οστεοβλαστών έχει αναγνωριστεί (Ashton, 1980) (Owen, 1988), με τα BMSCs να αντιπροσωπεύουν τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα κύτταρα για διαφοροποίηση οστεοβλαστών (Ashton, 1980). Συγκριτικές μελέτες αξιολόγησης της οστεογενετικής ικανότητας άλλων τύπων MSCs δεν απέδωσε οριστικά συμπεράσματα. Αντίθετα, τα UCB-MSCs δείχνουν καλύτερη αγγειογενετική ικανότητα, υποστηρίζοντας πιο άφθονη παροχή αίματος κατά την αναγέννηση των οστών (Kargozar, 2018), η οποία προάγει την ταχεία ανακατασκευή των ιστών. Εκτός από τα BMSCs, τα βλαστοκύτταρα ανθρώπινου οδοντικού πολφού (hDPSCs) επιδεικνύουν εξαιρετικό δυναμικό αγγειακής διαφοροποίησης ενώ διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες, που ακολούθως στηρίζουν την αναγέννηση των οστών (Yang, 2017). Ωστόσο, τα hDPSCs συλλέγονται από ένα κλάσμα στρωματικού αγγειακού οδοντικού πολφού, επομένως αποτελούν μια περιορισμένη πηγή για περαιτέρω έρευνα και εφαρμογή. Από τότε που τα ADSCs μπορούν να απομονωθούν εύκολα από τον λιπώδη ιστό με υψηλό βαθμό καθαρότητας και ελάχιστη νοσηρότητα του δότη ή δυσφορία του ασθενούς, θεωρούνται ότι έχουν τις περισσότερες δυνατότητες ως πρωταρχική πηγή για την κλινική οστική ιστομηχανική (Lin, 2019) (Bougioukli, 2018) (Burrow, 2017). Προσθέτως, είναι απαραίτητες συγκριτικές μελέτες και διαλογή για την αναγνώριση άλλων πηγών κυττάρων με εφαρμογές στο ανοικοδόμηση των οστών.

Οι διεγερτικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην κατεύθυνση της διαφοροποίησης των MSCs σε κύτταρα στόχους *in vitro*. Ο συνηθέστερα χρησιμοποιούμενος παράγοντας διέγερσης για την οστεογένεση είναι η μορφογενετική πρωτεΐνη των οστών 2 (BMP-2), που συνήθως ακινητοποιείται σε ικρίωματα για την προώθηση της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών. Η BMP-2 παρουσιάζει μία ισχυρή οστεογενετική ικανότητα, η οποία μπορεί να ελεγχθεί από τη δραστηριότητα των οστεοβλαστών και/ή την έκφραση οστικών δεικτών, όπως η αλκαλική φωσφατάση (ALP), η οστεοποντίνη (OPN) και η οστεοκαλσίνη (OCN) (Ye, 2019) (Aragón, 2018) (Decambon, 2019). Η BMP-7 ενεργοποιεί τον

μετασηματιστικό αυξητικό παράγοντα-β (TGF-β)/SMAD σε σηματοδότηση CD105⁺ MSCs για ενίσχυση της έκφρασης των γονιδίων που σχετίζονται με την οστεογένεση (Chen F. B., 2019). Η πρωτεΐνη Wnt11 ενισχύει το οστεογενετικό δυναμικό του BMP-9 (Zhu, 2018). Ο νανο-υδροξυαπατίτης (Ye, 2019) και το στρόντιο (Bizelli-Silveira, 2018) χρησιμοποιούνται ως οστεογενετικοί ρυθμιστές στην ιστομηχανική για την προώθηση της οστεογενετικής διαφοροποίησης των MSCs ενώ αλλάζουν τις φυσικές ιδιότητες των ικριωμάτων.

Μελέτες κυτταρικής θεραπείας με βάση τα MSCs για οστικά ελλείμματα και η χρήση νέων ικριωμάτων αποτελούν ενθαρρυντική πρόοδο *in vitro* και *in vivo* (Tang, 2016) (Westhauser, 2017). Κλινικές εφαρμογές των MSCs στην ανοικοδόμηση των οστών έχουν περιγράψει, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που περιλαμβάνουν την εμφύτευση ικριωμάτων σπαρμένων με MSCs στα σημεία των οστικών ελλειμμάτων. Συγκεκριμένα, οι οδοντίατροι έχουν χρησιμοποιήσει αυτήν την τεχνική για την αντιμετώπιση ελλειμμάτων φατνιακών σχισμών, την αποκατάσταση ελλειμμάτων της γνάθου και την αύξηση του ιγμορείου, με εξαιρετικά αποτελέσματα (Khojasteh, 2017) (Katagiri, 2017) (Gjerde, 2018). Ελλείμματα ή μη ένωση του ανθρώπινου σωληνοειδούς οστού έχουν προσωρινά υποβληθεί σε θεραπεία μέσω τοπικής εμφύτευσης MSCs με ή χωρίς ικριώματα (Liebergall, 2013) (Giannotti, 2013).

Επιδιόρθωση χόνδρων

Η επιδιόρθωση των χόνδρινων βλαβών είναι μια από τις σημαντικές προκλήσεις που αντιμετωπίζουν οι ορθοπεδικοί χειρουργοί. Εξαιτίας της εγγενούς αγγειακής φύσης του χόνδρου και του πολλαπλασιασμού των ώριμων χονδροκυττάρων, ο χόνδρος έχει πολύ περιορισμένη ικανότητα αυτοεπιδιορθώσης. Επί του παρόντος, οι κλινικά εφαρμοζόμενες τεχνικές επιδιόρθωσης του χόνδρου, όπως η διέγερση του μυελού των οστών και η μεταμόσχευση οστεοχόνδρινων κυλίνδρων, έχουν τους περιορισμούς τους. Ο ινοκορτίγιος που παράγεται από τη διέγερση του μυελού των οστών δεν είναι αρκετά ισχυρός και τα μόσχευματα για οστεοχόνδρινη μεταμόσχευση είναι δύσκολο να ενσωματωθούν.

Τα MSCs προσφέρουν μια νέα στρατηγική για την επισκευή των κατεστραμμένων χόνδρων, καθώς μπορούν να διαφοροποιηθούν σε χονδροκύτταρα (Ashton, 1980) (Owen, 1988). Μια ολοκληρωμένη μονάδα ανασυγκρότησης χόνδρου περιλαμβάνει κύτταρα, ικριώματα και διεγερτικούς παράγοντες, με BMSCs (Honarpardaz, 2019), ADSCs

(Bougioukli, 2018) και SMSCs (Fernandes, 2018), που χρησιμοποιούνται ως πρωταρχικές πηγές κυττάρων. Μεταξύ αυτών, τα BMSCs παρουσίασαν καλύτερη ικανότητα χονδρογένεσης in vitro και in vivo (Park, 2011) (Pievani A, 2014) (Honarpardaz, 2019), αν και τα SMSCs επιδεικνύουν καλύτερη πολλαπλασιαστική και διαφοροποιητική δυνατότητα και λιγότερη υπερτροφία από τα BMSCs και τα ADSCs (Fernandes, 2018). Η ανοικοδόμηση του χόνδρου απαιτεί συνδυασμό πολλαπλών διεγερτικών παραγόντων, συν-καλλιέργεια χονδροκυττάρων και MSCs θα επιτύχει καλύτερα αποτελέσματα από την εφαρμογή μόνο MSCs (Zou, 2018).

Νέα βιοδραστικά τρισδιάστατα (3D) ικρίωματα, όπως υδρογέλες (Yang, 2017) και ηλεκτροσύνδετα ικρίωματα (Girão, 2018), υφίστανται συνεχή βελτίωση. Αυτά τα ικρίωματα παρέχουν ένα βέλτιστο 3D μικροπεριβάλλον για την αναγέννηση του χόνδρου. Επιπλέον, οι υδρογέλες μπορούν να ρυθμίσουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των MSCs λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε νερό, της βιοσυμβατότητας και των παρόμοιων ιδιοτήτων με την εξωκυτταρική μήτρα (ECM) (Yang, 2017). Οι ενέσιμες υδρογέλες επιτρέπουν την ελάχιστη επεμβατική θεραπεία των μεγάλων περιοχών ελλείματος χόνδρου (Liu M. Z., 2017). Έτσι, οι υδρογέλες που είναι φορτωμένες με MSCs και διεγερτικούς παράγοντες είναι εξαιρετικά αποτελεσματικές στην αποκατάσταση των χόνδρινων βλαβών. Η ανάπτυξη ηλεκτροσύνδετων ικριωμάτων υποδηλώνει ότι η διάταξη των νανοϊνών επίσης επηρεάζει την κυτταρική διαφοροποίηση και παρέχει μια διαφορετική προσέγγιση στην επισκευή του χόνδρου (Girão, 2018). Οι διεγερτικοί παράγοντες είναι απαραίτητοι για τη χονδρομηχανική και υπεύθυνοι για την πρόκληση, την επιτάχυνση και/ή την ενίσχυση του σχηματισμού του χόνδρου. Συνηθισμένοι διεγερτικοί παράγοντες είναι η BMP-2/-4, ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας (IGF-1) και ο TGF-β1/-β3 (Legendre, 2017) (Crecente-Campo, 2017) (Gugjoo, 2017). Επιπλέον, φυσικά ερεθίσματα, όπως η υδροστατική πίεση και η δυναμική συμπίεση, έχουν διερευνηθεί για να προκαλέσουν MSC-μεσολάβηση στο σχηματισμό χόνδρου (Fahy, 2018).

Η πρώτη προκλινική δοκιμή εφαρμογής MSCs για επισκευή χόνδρου πραγματοποιήθηκε το 1994 (Wakitani, 1994). Τα MSCs ήταν φορτωμένα σε γέλη κολλαγόνου (Col) για τη θεραπεία ενός ελλείματος πλήρους πάχους στον χόνδρο του μηριαίου κουνελιού, με καλύτερα αποτελέσματα από αυτά που παρατηρήθηκαν σε μια ομάδα ελέγχου. Αυτό το μοντέλο ελλείματος χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια ως κλασικό μοντέλο ελλείματος

χόνδρου για την αναγέννησή του. Ακολούθως, πολυάριθμες δοκιμές έχουν διεξαχθεί τόσο σε ζωικά μοντέλα όσο και σε ανθρώπους για την αξιολόγηση της θεραπείας με βάση τα MSCs για χόνδρινη βλάβη (de Windt, 2017).

Παρά τις κλινικές δοκιμές που διεξάγονται, δεν υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα για ανοικοδόμηση χόνδρου με βάση τα MSCs (Wakitani S. I., 2002) (Orozco, 2013). Αρκετές μελέτες διερεύνησαν τις επιπτώσεις των διευρυμένων MSCs in vivo για βλάβες στον ανθρώπινο αρθρικό χόνδρο. Η μεταμόσχευση διευρυμένων αυτόλογων BMSCs βελτίωσε την ποιότητα του χόνδρου σε ασθενείς με χρόνια οστεοαρθρίτιδα γόνατος (Orozco, 2013), αν και η κλινική βελτίωση δεν ήταν σημαντική (Wakitani S. I., 2002). Άλλες μελέτες ανέφεραν την έγχυση αλλογενών MSCs σε αρθρώσεις παρουσία ή απουσία προ-ανάμιξης με αυτόλογα χονδροκύτταρα (de Windt, 2017). Όλα τα κλινικά αποτελέσματα υπέδειξαν την ασφάλεια αυτών των θεραπευτικών προσεγγίσεων και την ικανότητά τους να ανακουφίζουν ορισμένα συμπτώματα, αν και η ικανότητα επιδιόρθωσης των χόνδρινων βλαβών δεν ήταν πάντα εμφανής. Η μεταμόσχευση MSCs παρουσίασε καλύτερα αποτελέσματα σε πρώιμες βλάβες (de Windt, 2017).

Παραμένουν πολλές προκλήσεις σχετικά με την αναγέννηση των χόνδρων με βάση τα MSCs, συμπεριλαμβανομένης της ταυτοποίησης βέλτιστων κυτταρικών πηγών. Απαιτούνται επιπλέον μελέτες για να καταστεί δυνατή η χρήση υλικών με βάση τα MSCs ως εμπορικά προϊόντα για εμφύτευση για την προώθηση της αναγέννησης των χόνδρων.

Αναγέννηση άλλων μυοσκελετικών ιστών

Πρόσφατες μελέτες διερεύνησαν την αναγέννηση των μεσολαβούμενων από MSCs μυοσκελετικών ιστών έξω από το οστό και τον χόνδρο, συμπεριλαμβανομένου του μηνίσκου, των τενόντων και συνδέσμων και των μεσοσπονδύλιων δίσκων (IVD).

Η αναγέννηση του μηνίσκου έχει λάβει αυξανόμενη προσοχή. Ενδοαρθρική χορήγηση MSCs για την προώθηση της αναγέννησης του μηνίσκου πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά με ευνοϊκά αποτελέσματα (Shapiro, 2017). Παρόμοια με τη χρήση τους για την αναγέννηση του χόνδρου, οι υδρογέλες (Sasaki, 2018) και τα ηλεκτροσύνδετα ικριώματα (Shimomura, 2019) φορτωμένα με MSCs χρησιμοποιήθηκαν για την ανοικοδόμηση του μηνίσκου. Επιπλέον, η αποκυτταροποιημένη μήτρα που προέρχεται από το μηνίσκο εμφανίζει καλύτερη ιστοσυμβατότητα και είναι ικανότερη στην πρόκληση διαφοροποίησης

των MSCs σε σύγκριση με τα φυσικά ή συνθετικά πολυμερή υλικά (Liang Y. I.-S., 2018). Οι ιστομηχανικές κατασκευές χωρίς ικρίσματα είναι πολλά υποσχόμενες ως τεχνικές εμφύτευσης με βάση τα MSCs για την επιδιόρθωση των βλαβών του μηνίσκου (Toratani, 2017). Ο Tarafder και οι συνεργάτες του (Tarafder S, 2018) πρότειναν τη στρατολόγηση αρθρικών MSCs μέσω συνδετικού ιστού TGF και TGF-3 για την αποκατάσταση των τραυματισμών του μηνίσκου, αποφεύγοντας έτσι τα μειονεκτήματα των τεχνικών που βασίζονται σε κύτταρα. Η μηχανική διέγερση είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη και την συντήρηση του μηνίσκου, με μηχανικά ερεθίσματα όπως η δυναμική συμπίεση και η εφαρμογή έντονου φορτίου που εφαρμόζεται για την επισκευή του μηνίσκου (Chen M. G., 2018). Αν και επιτεύχθηκαν ικανοποιητικά αποτελέσματα σε ζωικά μοντέλα, υπάρχει έλλειψη στοιχείων στους ανθρώπους σχετικά με την ικανότητα των MSCs να σχηματίζουν ανθεκτικούς ιστούς παρόμοιους με τον μηνίσκο (Chew, 2017).

Ο τραυματισμός του τένοντα είναι ένα κοινό πρόβλημα που σχετίζεται με τον αθλητισμό (Clanton, 1998). Η BMP-14 προκαλεί μυογενή διαφοροποίηση των BMSCs μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού sirtuin-1- Janus N-terminal kinase (JNK)/SMAD1-ενεργοποιημένοι με πολλαπλασιαστική υπεροξειδωσώματος υποδοχείς-γ (Wang D. J., 2018). Μελέτες που περιγράφουν τενοντογόνο διαφοροποίηση των MSCs δεν περιορίστηκαν στους διεγερτικούς παράγοντες (Aktas, 2017) και τα ικρίσματα (Park S. C., 2018), αλλά αναφέρθηκαν επίσης στα μηχανικά ερεθίσματα που διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη διαφοροποίηση των MSCs σε κύτταρα των τενόντων. Η μονοαξονική κυκλική τάνυση προώθησε την τενοντογόνο διαφοροποίηση των MSCs in vitro και in vivo (Wang T. T., 2018). Ωστόσο, τα MSCs δεν επισκεύασαν τον τραυματισμό του τένοντα, παρά μόνο καθυστέρησαν την εξέλιξη της βλάβης (Gülecyüz, 2018).

Με την αυξανόμενη ηλικία των πληθυσμών, ο εκφυλισμός IVD έχει επικρατήσει. Τα MSCs αποτελούν πολλά υποσχόμενους υποψήφιους για την αναγέννηση των δίσκων. Τα ικρίσματα φτιαγμένα από Col παρέχουν άμεσα διαθέσιμη υποστήριξη για χονδρογονική διαφοροποίηση των MSCs in vitro, αν και ο φαινότυπος των διαφοροποιημένων MSCs δεν είναι ακόμη ισοδύναμος με εκείνο των κυττάρων του πηκτοειδούς πυρήνα (NP) (Bertolo, 2012). Οι ακυτταρικές μήτρες που προέρχονται από κύτταρα NP διεγείρονται από τον TGF-β3 ενισχύουν επίσης τη διαφοροποίηση των MSCs (Zhou, 2018). Διαμόλυνση της αδενοϊκής έκφρασης του SOX-9 και της BMP-2 στα BMSCs αύξησαν την έκφραση Col

Η και aggregan και προώθησαν την επισκευή του IVD (Hou, 2018). Η Varma και οι συνεργάτες της (Varma, 2018) χρησιμοποίησαν μια υδρογέλη φορτωμένη με δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις MSCs για την επισκευή του NP, και έδειξαν ότι ο εμβολιασμός MSCs σε χαμηλότερη πυκνότητα είχε ως αποτέλεσμα καλύτερο φαινότυπο μήτρας ειδικής για NP. Μια συστηματική ανασκόπηση της κυτταρικής θεραπείας με βάση τα MSCs για τον IVD έδειξε την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της βραχυπρόθεσμης μεταμόσχευσης MSCs, καθώς και την αναγκαιότητα για κλινικές δοκιμές με βάση τον άνθρωπο (Kraus, 2017). Το 2011, αναπτυγμένα αυτόλογα BMSCs που εγχύθηκαν σε ασθενείς με εκφυλισμό οσφυϊκού δίσκου αποκάλυψαν αρκετά πλεονεκτήματα και καλύτερη πρόγνωση σε σχέση με τις τρέχουσες τυπικές θεραπείες (Orozco L. S.-S., 2011). Κλινική διαδερμική ένεση συμπυκνωμένων αυτόλογων κυττάρων μυελού των οστών σε έναν ασθενή με εκφυλισμό IVD είχε ως αποτέλεσμα μειωμένο οσφυϊκό δισκογόνο πόνο εντός 13 ετών (Pettine, 2017). Κλινικές μελέτες (Kumar, 2017) έδειξαν ότι η μεταμόσχευση MSCs αποτελεί μια ασφαλή επιλογή θεραπείας για την εκφυλιστική νόσο του IVD, αλλά τα συγκεκριμένα αποτελέσματα χρειάζονται επαλήθευση με πρόσθετες κλινικές δοκιμές.

Αναδόμηση κεντρικού νευρικού συστήματος

Το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) των ενηλίκων δεν έχει την ικανότητα να επιδιορθώνει τους κατεστραμμένους νευρώνες, έτσι η βλάβη του ΚΝΣ είναι μη αναστρέψιμη και προς το παρόν δεν υπάρχει κλινικά αποτελεσματική μέθοδος επιδιόρθωσης τραυματισμού στο ΚΝΣ. Στον τομέα της αναγέννησης του ΚΝΣ, η θεραπεία με βάση τα MSCs επικεντρώνεται κυρίως σε δύο περιπτώσεις, βλάβη ή τραυματισμό του ΚΝΣ που προκαλείται από σοβαρό τραύμα και συνεχή ισχαιμία και δυσλειτουργία του ΚΝΣ που προκαλείται από νευρολογικές ασθένειες. Μέχρι σήμερα, τα BMSCs και τα ADSCs είναι οι πιο εκτενώς μελετημένες πηγές κυττάρων για την επιδιόρθωση του ΚΝΣ, με κάθε μία να δείχνει παρόμοιο δυναμικό νευρωνικής διαφοροποίησης (Chung, 2013) (Bae, 2011). Τα BMSCs μπορούν να μειώσουν το σχηματισμό ουλών γύρω από τις βλάβες του νωτιαίου μυελού (SCI) και να προωθήσουν την αξονική αναγέννηση (Kim M. K., 2018). Ωστόσο, τα ADSCs μπορεί να αντιπροσωπεύουν μια πιο κατάλληλη πηγή κυττάρων λόγω της εύκολης εξαγωγής τους και των άφθονων πηγών. Τα ADSCs αναστέλλουν τη φλεγμονή του νευρικού συστήματος και βελτιώνουν την αποκατάσταση της λειτουργίας μετά από τραυματική εγκεφαλική βλάβη μέσω νευρικών

στελεχιαίων κυττάρων (Jahan-Abad, 2018). Τα UCB-MSCs μπορούν να διεγερθούν προς διαφοροποίηση σε νευρικά κύτταρα *in vitro* (Hou L. C., 2003). Τα DPSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν σε νευρώνες και εκφράζουν πολλαπλούς παράγοντες που προάγουν την νευρωνική και αξονική αναγέννηση (Luo, 2018).

Έκφραση MSCs νευρωνικών ή αστροκυτταρικών δεικτών παρατηρήθηκε *in vitro* (Fesharaki, 2018) και *in vivo* (Ma, 2018). Για την προώθηση της αποκατάστασης του ΚΝΣ με βάση τα MSCs, γονιδιακά τροποποιημένα MSCs, όπως η νευροτροφίνη-3 μεταφερόμενη στα BMSCs, επέδειξαν βελτιωμένη νευρωνική διαφοροποίηση *in vivo* (Comar, 2014). Επίμονη απελευθέρωση συγκεκριμένων κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων, που μπορούν να διευκολύνουν τη νευρογένεση, την αγγειογένεση και τη συναπτογένεση, δημιουργεί ένα ευνοϊκό μικροπεριβάλλον για αγγειογένεση ή επαναμυελίνωση κατά την ανοικοδόμηση (van Velthoven, 2012). IGF-1-διαμολυσμένα νευρικά βλαστικά κύτταρα του νωτιαίου μυελού παρουσίασαν μεγαλύτερη βιωσιμότητα και ικανότητα διαφοροποίησης σε ολιγοδενδροκύτταρα (Shi, 2014). Επιπλέον, τα MSCs μπορούν να προκαλέσουν ανοχή T-κυττάρων και απελευθέρωση παρακρινικών αντιφλεγμονωδών παραγόντων, όπως ο TGF- β , που προάγουν τις νευροπροστατευτικές επιδράσεις (de Araujo Farias, 2018).

Ζωικά μοντέλα τραυματικής και ισχαιμικής εγκεφαλικής βλάβης ή SCI έχουν χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση θεραπειών που βασίζονται σε MSCs (Zhang, 2017) (Oliveri, 2014). Μια μετανάλυση 1568 αρουραίων με τραυματικό SCI έδειξε ότι η MSCs θεραπεία παρείχε μια σημαντική ευεργετική επίδραση στην κινητική ανάκαμψη (Oliveri, 2014). Κλινικές μελέτες υπέδειξαν τη θεραπεία με βάση τα MSCs ως ασφαλής και εφικτή τεχνική για ασθενείς με SCI ή/και τραυματική εγκεφαλική βλάβη (Oh S. C., 2016) (Wang S. C., 2013). Η μετανάστευση MSCs προεπεξεργασμένων υπό υποξικές συνθήκες στην περιεγκεφαλική περιοχή βλάβης αρουραίων που υπέστησαν εγκεφαλικό αιμορραγικό επεισόδιο είχε ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση διαφόρων αυξητικών παραγόντων για την προώθηση της νευρογένεσης και της νευρολογικής ανάκαμψης (Hu C. L., 2018). Για νευρολογικές ασθένειες, μη διευρυμένα ή διευρυμένα MSCs έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για τη θεραπεία της πολλαπλής σκλήρυνσης (Harris, 2018), της αμυοτροφικής πλευρικής σκλήρυνσης (Sykova, 2017), του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου (Shichinohe, 2017) και της νόσου του Πάρκινσον (Venkatesh, 2017). Τα περισσότερα από τα ευεργετικά αποτελέσματα των MSCs σε νευρολογικές ασθένειες σχετίζονται με τις ανοσορρυθμιστικές και

νευροπροστατευτικές τους ιδιότητες που ασκούνται μετά από τοπική ένεση μη διευρυμένων ή διευρυμένων αυτόλογων MSCs, με κλινικές δοκιμές να αξιολογούν την ικανότητά τους να επιτύχουν πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα και διαφορετικούς βαθμούς ύφεσης.

Αναδόμηση Περιφερικού Νευρικού Συστήματος

Ο τραυματισμός του περιφερικού νευρικού συστήματος (ΠΝΣ) προκαλείται κυρίως από σοβαρό τραύμα, που συνήθως συνοδεύεται από κάταγμα οστού και αγγειακή βλάβη. Το αυτόλογο νευρικό μόσχευμα (αυτόλογο νευρική γέφυρα) είναι η θεραπεία εκλογής για την επιδιόρθωση των περιφερικών νεύρων. Ωστόσο, η περιορισμένη ύπαρξη νευρικών δοτών και άλλα ζητήματα αποκλείουν την αναζήτηση νέων θεραπευτικών στρατηγικών. Τα κύτταρα Schwann, οι νευροτροφικοί παράγοντες και τα αντιφλεγμονώδη κύτταρα συνεργάζονται για την προώθηση της αναγέννησης των περιφερικών νεύρων, με αυτή τη διαδικασία να περιλαμβάνει βλάστηση αξόνων και μυελίνωση ινών.

Υπάρχουν κάποιες συγκριτικές μελέτες σχετικά με τις επιπτώσεις διαφορετικών τύπων MSCs σε ζωικά μοντέλα τραυματισμού των περιφερικών νεύρων. Τα ADSCs είναι καταλληλότερη πηγή κυττάρων για νευρική αναγέννηση *in vitro* (Chung, 2013), και ένα αντίγραφο του παράγοντα ανάπτυξης νεύρων έχει αναγνωριστεί σε ADSC-εκκρινόμενα νανοσωματίδια που προάγει τη συναπτική ανάπτυξη *in vitro* και την αποκατάσταση της βλάβης του ισχιακού νεύρου *in vivo* (Bucan, 2019). Ο Sun και οι συνεργάτες του (Sun, 2018) πρότειναν ένα νέο πρωτόκολλο που ονομάζεται διαλείπουσα επαγωγή και εναλλάσσει πλήρη και ατελή επαγωγικά μέσα για να προκαλέσουν διαφοροποίηση των ADSCs σε δευτερογενείς λεμφικές χημειοκίνες (SLCs). Σε σύγκριση με τα παραδοσιακά πρωτόκολλα, οι SLCs που λαμβάνονται με διαλείπουσα επαγωγή εκκρίνουν νευροτροφικούς παράγοντες και προάγουν την αξονική ανάπτυξη *in vitro* και επιδιορθώνουν πιο αποτελεσματικά τον τραυματισμό του ισχιακού νεύρου αρουραίου *in vivo*. Συγκεκριμένα, SLCs σπαρμένες σε ακυτταρικά νευρικά μοσχεύματα επιδεικνύουν καλύτερη λειτουργική ανάκαμψη σε σύγκριση με τα MSCs (Fan, 2014). BMSCs (Comar, 2014), ADSCs (Hu F. Z., 2017), και UCB-MSCs (Para, 2018) έχουν επίσης σπαρθεί σε μια ποικιλία βιοαποικοδομήσιμων ικριωμάτων, με σχεδόν όλα να έχουν ως αποτέλεσμα καλύτερη ανάκτηση σε σχέση με τα δείγματα

ελέγχου. Τα MSCs σχηματίζουν μια θήκη ομοιάζουσα με νευροβλάστη μετά τη μεταμόσχευση στο σημείο του νευρικού τραυματισμού και εκκρίνει νευροτροφικούς παράγοντες που παρέχουν φυσικά και χημικά εμπόδια για τις εσωτερικές νευρικές ίνες (Ma, 2018). Σε σύγκριση με πολυμερή, ακυτταρική νευρική μήτρα υδρογέλης δείχνουν καλύτερη βιοσυμβατότητα και ιστοειδικότητα και υποστηρίζουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Schwann in vitro και την επισκευή των ελλειμάτων του ισχιακού νεύρου αρουραίου in vivo (Lin T. L., 2018). Επιπλέον, η τεχνολογία της τρισδιάστατης βιοεκτύπωσης (3D-bioprinting) έχει επιτρέψει την ανάπτυξη τρισδιάστατων κριωμάτων με πολύπλοκες δομές για την αντιμετώπιση των προκλήσεων της αναγέννησης του νευρικού ιστού (Lee, 2018).

Όσον αφορά μελέτες για νευρική αναγέννηση, καθιερώθηκαν ζωικά μοντέλα θραύσης του ισχιακού νεύρου και νευρικού κενού (Decosterd, 2000) (Angius, 2012) και έχουν διερευνηθεί οι επιπτώσεις της τοπικής εμφύτευσης (O'Rourke, 2018) ή της ενδοφλέβιας χορήγησης (Thomson A. C., 1999) (Matthes, 2013) νευρικών στελεχιαίων κυττάρων ή MSCs σε μοντέλα περιφερικού νευρικού τραυματισμού έχοντας εξαιρετικά αποτέλεσμα σε σχέση με τα δείγματα ελέγχου. Τα ADSCs εμφάνισαν σχετικό θεραπευτικό δυναμικό, όχι μόνο μέσω της άμεσης απελευθέρωσης αυξητικών παραγόντων, αλλά και μέσω της έμμεσης διαμόρφωσης της συμπεριφοράς των νευροκυττάρων σε ένα ζωικό μοντέλο οξείας αξονικής βλάβης (Thomson A. C., 1999). Επιπλέον, ενδοφλέβια έγχυση MSCs βελτίωσε τη λειτουργική αποκατάσταση μετά από οξύ τραυματισμό του περιφερικού νεύρου σε ένα μοντέλο θραύσης του ισχιακού νεύρου (Matthes, 2013). Αν και οι προκλινικές μελέτες δείχνουν τη σκοπιμότητα της θεραπείας με βάση τα MSCs σε ζωικά μοντέλα τραυματισμού των περιφερικών νεύρων, υπάρχουν λίγες αναφορές για την κλινική εφαρμογή τους (Fan, 2014).

Αποκατάσταση μυοκαρδίου

Η καρδιακή νόσος χαρακτηρίζεται από σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα και σοβαρές δυσμενείς συνέπειες. Εκτός από τις συγγενείς καρδιακές παθήσεις, σχεδόν όλες οι καρδιακές παθήσεις περιλαμβάνουν ανεπαρκή παροχή αίματος σε κρίσιμες περιοχές με αποτέλεσμα βλάβη του μυοκαρδίου και νέκρωση. Αν και το μυοκάρδιο έχει περιορισμένη αναγεννητική ικανότητα, η αποκατάσταση σοβαρής βλάβης στα καρδιομυοκύτταρα λόγω καταστροφικού εμφράγματος ή άλλων ασθενειών του μυοκαρδίου είναι ανεπαρκής.

Ο ρόλος των MSCs στη μείωση των βλαβών του μυοκαρδίου αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 2002 (Toma, 2002). Καθαρισμένα BMSCs εμφυτευμένα στο μυοκάρδιο ποπτικού φάνηκαν να διαφοροποιούνται σε καρδιομυοκύτταρα. Αρκετές επόμενες μελέτες αξιολόγησαν τη δυνατότητα διαφορετικών πηγών MSCs να διαφοροποιούνται σε καρδιομυοκύτταρα (Lei, 2013) (Xu, 2004) (Yang J. S., 2012), καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι τα ADSCs είναι τα πιο κατάλληλα. Ο ψεκασμός βρέθηκε να είναι πιο αποδοτικός και λιγότερο επεμβατική μέθοδος για τη μεταφορά ADSCs στην καρδιά χοίρου μοντέλου εμφράγματος για την προώθηση της καρδιακής λειτουργικής αποκατάστασης (Mori, 2018). MSC-ειδικοί μηχανισμοί που σχετίζονται με την επιδιόρθωση κατεστραμμένων καρδιομυοκυττάρων περιλαμβάνουν τρεις παράγοντες: (α) μυογενείς και αγγειογενείς ικανότητες, (β) δυνατότητα παροχής τεράστιων ποσοτήτων αγγειογενών, αντιαποπτωτικών και μιτογόνων παραγόντων και (γ) αναστολή της μυοκαρδιακής ίνωσης (Nagaya, 2005) (Gnecchi, 2012). Ο Butler και οι συνεργάτες του (Butler, 2017) απέδειξαν την ασφάλεια της θεραπείας με MSCs και παρατήρησαν ότι βελτίωσε το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας σε ασθενείς με μη-ισχαιμική καρδιομυοπάθεια μέσω των ανοσορρυθμιστικών επιπτώσεών της. Η συν-καλλιέργεια MSCs με καρδιομυοκύτταρα προάγει την αντίσταση στο υψηλό οξειδωτικό στρες στον καρδιακό ιστό μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου (Choe, 2019). Η 5-Αζακυτιδίνη είναι ένας αποτελεσματικός παράγοντας για την πρόκληση διαφοροποίησης των MSCs σε καρδιομυοκύτταρα (Jiang S. Z., 2017). Τα IGF-1-διαμολυσμένα MSCs προστάτευσαν το μυοκάρδιο από ίνωση και καρδιομυοκυτταρική απόπτωση και μείωσαν το μέγεθος εμφράγματος σε αρουραίους μετά από μυοκαρδιακό έμφραγμα (Jung, 2018). Η ιντερλευκίνη 7 (IL-7) ενισχύει τη συνένωση των MSCs με καρδιομυοκύτταρα για τη βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας, με αυτό το γεγονός να αποδίδεται στην ικανότητα της IL-7 να προάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και να υποστηρίζει την αναγέννηση του κατεστραμμένου μυοκαρδίου (Haneef, 2018). Εκτός από την ικανότητά τους να διαφοροποιούνται σε καρδιομυοκύτταρα, τα MSCs προώθησαν την αγγειογένεση εκκρίνοντας αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF) σε κρίσιμο σημείο μοντέλου ισχαιμίας (Fujita, 2017) με αποτέλεσμα την καρδιακή ανασυγκρότηση.

Η θεραπεία που βασίζεται σε MSCs είναι μια εφικτή στρατηγική για τη βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας, σύμφωνα με προκλινικά και κλινικά ευρήματα (Shafei, 2017). Επιπλέον, η θεραπεία με MSCs έχει διερευνηθεί εντατικά ως θεραπεία για έμφραγμα του

μυοκαρδίου (Tse, 2003), περιφερικές ισχαιμικές αγγειακές παθήσεις (Eng, 2013), διεσταλμένη καρδιομυοπάθεια (Nagaya, 2005) και πνευμονική υπέρταση (Cheng, 2017).

Αναγέννηση ήπατος

Το ήπαρ είναι ένα βασικό ανθρώπινο όργανο, η ανεπάρκεια του οποίου προκαλεί θανατηφόρες ασθένειες. Μέχρι πρόσφατα, η μόνη αποτελεσματική θεραπεία για την ηπατική ανεπάρκεια ήταν η μεταμόσχευση (Bernal, 2013). Ωστόσο, τα διαθέσιμα μοσχεύματα ήπατος είναι σπάνια και πολλοί ασθενείς δεν επιβιώνουν λόγω του χρόνου αναμονής για μεταμόσχευση. Η κυτταρική θεραπεία παρέχει μια πιθανή λύση, είτε παρασκευάζοντας μερικό ή πλήρες ήπαρ για μεταμόσχευση, είτε αντιμετωπίζοντας τη βλάβη στο ήπαρ. Αν και έχουν μελετηθεί ηπατοκύτταρα που έχουν απομονωθεί από το ήπαρ δωτών, η θεραπευτική τους ικανότητα είναι αμφισβητήσιμη λόγω της ανοσογονικότητάς τους. Πρόσφατα, τα MSCs έγιναν μια θεραπευτική επιλογή λόγω της ικανότητάς τους να ασκούν ισχυρή ανοσοκατασταλτική και αντιφλεγμονώδη επίδραση (Aggarwal, 2005). Σημαντικό είναι επίσης το γεγονός ότι το δυναμικό των MSCs να διαφοροποιούνται σε πολλαπλούς τύπους ώριμων κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ηπατοκυττάρων, τα καθιστά ελκυστικούς υποψήφιους για ηπατο-ειδικές θεραπείες (Petersen, 1999).

Η κλινική χρήση των MSCs για τη θεραπεία της ηπατικής ανεπάρκειας βασίζεται κυρίως στην ανοσορυθμιστική τους ικανότητα (Shi D. Z., 2017). Προκλινικές και κλινικές μελέτες αποκάλυψαν τους μηχανισμούς που σχετίζονται με την ανοσορύθμιση μετά από θεραπεία με βάση τα MSCs, συμπεριλαμβανομένης της μεταδιαφοροποίησης, της σύντηξης, της αναστολής εναπόθεσης Col, των παρακρινικών επιδράσεων, της διαμόρφωσης της δραστηριότητας και της έκφρασης της μήτρας μεταλλοπρωτεΐνάσης, της νεοαγγειογένεσης και της αγγειακής υποστήριξη (Higashiyama, 2007) (Liu W. S., 2015) (Lou, 2017). Μια κλινική δοκιμή φάσης II έδειξε ότι η μεταμόσχευση αυτόλογων BMSCs ανέστειλε την ίνωση των ιστών και βελτίωσε την ηπατική λειτουργία στην αλκοολική κίρρωση (Suk, 2016), ενώ ενδοφλέβια έγχυση αλλογενών MSCs επηρέασε θετικά τη θεραπεία της αυτοάνοσης κίρρωσης (Liang J. Z., 2017). Χορήγηση UCB-MSCs μειώνει την ηπατική φλεγμονώδη απόκριση και τον τραυματισμό των ηπατοκυττάρων, καθώς και την πιθανότητα ηπατικής ανεπάρκειας, αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό των T και B κυττάρων και αυξάνοντας τα επίπεδα των ρυθμιστικών T κυττάρων (Fang X. Z., 2016).

Εκτός από τις ανοσορυθμιστικές τους επιδράσεις, τα MSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ηπατοκύτταρα για την προώθηση της ηπατικής αναγέννησης. Τα MSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν σε διάφορους τύπους κυττάρων του ήπατος κάτω από ορισμένους φυσιοπαθολογικές καταστάσεις (Petersen, 1999). Λειτουργικά κύτταρα τύπου ηπατοκυττάρων ελήφθησαν από πολυδύναμα προγονικά κύτταρα ενηλίκων (Schwartz R. R., 2002). Ηπατοκυτταρικός αυξητικός παράγων (HGF) και ογκοστατίνη M (OSM) έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για την πρόκληση ανθρώπινων BMSCs και ανθρώπινων UCB-MSCs να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα τύπου ηπατοκυττάρων (Lee K. K.-P., 2004). Κύτταρα τύπου ηπατοκυττάρων έχουν προέλθει από BMSCs (Haga, 2017), ADSCs (Yin, 2015) (Banas, 2007), UCB-MSCs (Zhou R. L., 2014) και MSCs προερχόμενα από τον πλακούντα (PDSCs) (Lee H. J., 2012) μέσω κατάλληλων συνθηκών καλλιέργειας, συμπεριλαμβανομένης της συν-καλλιέργειας με ηπατοκύτταρα σε δισδιάστατα (2D) ή τρισδιάστατα (3D) ικρίσματα (Jiang S. Z., 2017), της πλωτής καλλιέργειας ή της θεραπείας με ορό που συλλέγεται από αρουραίους μετά από μερική ηπατεκτομή (Paranikolaou, 2017). Η αναδόμηση του ήπατος με χρήση διαφοροποιημένων MSCs έχει αποδειχθεί μόνο σε ζωικά μοντέλα, αν και πρόσφατα, μια δοκιμή φάσης II έδειξε ότι η μεταμόσχευση διαφοροποιημένων αυτόλογων MSCs θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως πιθανή κλινική θεραπεία για την κίρρωση του ήπατος (El-Ansary, 2012).

Παραμένουν δύο εμπόδια στην αναγέννηση του ήπατος με βάση τα MSCs, τα μεταμοσχευμένα MSCs δεν μπορούν διαφοροποιηθούν ικανοποιητικά σε κύτταρα τύπου ηπατοκυττάρων και πιθανόν να προάγουν την ινογένεση (Di Bonzo, 2008). Επιπλέον, μια προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι τα μεταμοσχευμένα MSCs μπορεί να συμβάλλουν στη δεξαμενή των μυοϊνοβλαστών για την ενίσχυση των ινωτικών διεργασιών στο ήπαρ (Decker, 2017). Ωστόσο, μια κλινική μελέτη (Detry, 2017) ανέφερε ότι οι εγχύσεις MSCs ήταν αρκετά ασφαλείς, αλλά τα ανοσοκατασταλτικά τους αποτελέσματα μετά τη μεταμόσχευση ήπατος ήταν ανεπαρκή για να αντικαταστήσουν τα ανοσοκατασταλτικά, παρά τις σοβαρές παρενέργειες αυτών που χρησιμοποιούνται συνήθως στην κλινική πρακτική.

Αναδόμηση κερατοειδούς

Ο κερατοειδής αποτελεί έναν διαφανή αγγειακό συνδετικό ιστό που παρέχει το μεγαλύτερο μέρος της διαθλαστικής ικανότητας του ματιού και ενεργεί ως το πρωταρχικό εμπόδιο κατά της μόλυνσης και της μηχανικής βλάβης των εσωτερικών δομών. Επειδή ο κερατοειδής είναι εύθραυστος και εκτίθεται άμεσα στο εξωτερικό περιβάλλον, μια ποικιλία κλινικών διαταραχών, όπως η ανιριδία και το σύνδρομο Stevens-Johnson, ή χημικός, μηχανικός και θερμικός τραυματισμός δύναται να προκαλέσει βλάβη στον κερατοειδή. Τα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα του κερατοειδούς μπορούν να ανανεωθούν από βλαστοκύτταρα που εντοπίζονται στην περιφερειακή περιοχή του κερατοειδούς που περιέχει σκληροκεράτια επιθηλιακά στελεχιαία κύτταρα (LESCs). Ωστόσο, εάν ολόκληρη η κερατοειδική στιβάδα έχει υποστεί βλάβη, εμφανίζονται αγγείωση, επιπεφυκοποίηση, κερατινοποίηση, κερατοειδική ουλή και αδιαφάνεια, τα οποία οδηγούν σε μειωμένη όραση, ακόμα και τύφλωση. Επί του παρόντος, η κερατοπλαστική είναι η κύρια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την αποκατάσταση του κερατοειδούς, μα οι πηγές των δοτών ιστού είναι περιορισμένες και η μετεγχειρητική ανοσοαπόρριψη θέτει σε κίνδυνο την αποτελεσματικότητα της μεταμόσχευσης.

Η μεταμόσχευση κερατοειδικών επιθηλιακών στελεχιαίων κυττάρων από σκληροκεράτιο αλλομόσχευμα αποκατέστησε τη χρήσιμη όραση σε ορισμένους ασθενείς με σοβαρές επιφανειακές οφθαλμικές διαταραχές (Tsubota, 1999). Τα LESCs έχουν διερευνηθεί ως κύριοι κυτταρικοί θεραπευτικοί υποψήφιοι για κερατοειδικές διαταραχές, με κλινικές ή/και προκλινικές μελέτες που αποδεικνύουν ότι τα LESCs που καλλιεργήθηκαν σε μία αμνιακή μεμβράνη ανέστειλαν δραστικά τη φλεγμονή και αναδόμησαν την επιφάνεια του κερατοειδούς που είχε υποστεί βλάβη (Navas, 2018). Ωστόσο, αν και τα LESCs έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην κλινική πρακτική, η οπτική ανάκτηση μετά από επιτυχημένη μεταμόσχευση παραμένει ανεπαρκής (Haagdorens, 2016). Τα MSCs που χρησιμοποιήθηκαν για την επιδιόρθωση τους κερατοειδούς περιλαμβάνουν BMSCs (Katikireddy, 2014), ADSCs (Shen, 2017) και UCB-MSCs (Yamashita K. I., 2018). Τα αλλογενή MSCs παρουσίασαν καλά ανοσοκατασταλτικά αποτελέσματα σε έναν προευσθητοποιημένο αρουραίο μοντέλο μεταμόσχευσης κερατοειδούς (Lohan, 2018). Ωστόσο, καμία συγκριτική μελέτη δεν αξιολογεί τις επιπτώσεις των διαφορετικών τύπων MSCs στην αναδόμηση του κερατοειδούς.

Η μεταμόσχευση MSCs ανακατασκεύασε επιτυχώς την κατεστραμμένη επιφάνεια του κερατοειδούς σε μοντέλο αρουραίου και η κύρια θεραπευτική επίδραση των MSC δεν ήταν η επιθηλιακή διαφοροποίηση, αλλά αντίθετα η αναστολή της φλεγμονής και της αγγειογένεσης μετά τη μεταμόσχευση (Ma Y. X., 2006). Μεταμοσχευμένα MSCs προερχόμενα από αμνιακό υγρό μειώνουν τη νεοαγγείωση και προάγουν ένα αντιφλεγμονώδες και αντινωτικό περιβάλλον (Navas, 2018). Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει τις διαδικασίες διαφοροποίησης που σχετίζονται με την ανοικοδόμηση του κερατοειδούς. Τα BMSCs κουνελιού προώθησαν την επούλωση του τραυματισμένου επιθηλίου του κερατοειδούς και θα μπορούσαν να προκληθούν σε διαφοροποίηση προς επιθηλιακά κύτταρα τύπου κερατοειδούς που εκφράζουν CK3, έναν ειδικό δείκτη κερατοειδικού επιθηλίου, *in vivo* και *ex vivo* (Gu, 2009), καθώς επίσης διαφοροποιημένα MSCs που καλλιεργήθηκαν σε αμνιακή μεμβράνη εξέφρασαν το δείκτη CK3 (Rohaina, 2014). MSCs που καλλιεργήθηκαν σε μέσο με κερατοκύτταρα διαφοροποιήθηκαν σε κύτταρα τύπου κερατοκυττάρων (Shen, 2017) και ο Yamashita και οι συνεργάτες του (Yamashita K. I., 2018) προκάλεσαν διαφοροποίηση UCB-MSCs με ιστομηχανική σε κερατοειδικά ενδοθηλιακά κύτταρα *in vitro*, τα οποία στη συνέχεια παρουσίασαν βελτιωμένη διατήρηση του πάχους και της διαφάνειας του κερατοειδούς. Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να αποκαλυφθεί εάν τα MSCs παίζουν ρόλο στην αναδόμηση του κερατοειδούς μέσω των μεταδιαφοροποιητικών τους επιπτώσεων.

Οι ανοσορυθμιστικές, αντιφλεγμονώδεις και ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες των MSCs παίζουν ουσιαστικό ρόλο στα θεραπευτικά τους αποτελέσματα και έχουν αποδειχθεί σε μελέτες οι μεταδιαφοροποιητικές τους επιπτώσεις (Ma Y. X., 2006) (Lee H. K., 2014). Οι σχετικοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη μειωμένη έκφραση των CD45 και της IL-2 (Ma Y. X., 2006), τη μείωση της φλεγμονώδους πρωτεΐνης των μακροφάγων 1α και του VEGF (Yao L. L., 2012), την έκκριση διαλυτών παραγόντων (Oh J. K., 2008), την καταστολή του πολλαπλασιασμού των T κυττάρων (Bray, 2014), την αναστολή της ενεργοποίησης και μετανάστευσης των αντιγονικών υποδοχέων 7 χημειοκίνης που παρουσιάζουν τα κύτταρα (Lee H. K., 2014) και την αναστολή πρώιμων φλεγμονωδών αποκρίσεων με την έκκριση του διεγερμένου με τον παράγοντα νέκρωσης όγκου-α-γονιδίου/πρωτεΐνης-6 (TSG-6) (Oh J. L., 2012). MSCs που χρησιμοποιήθηκαν ως θεραπευτικοί παράγοντες για την αναδόμηση

κερατοειδών σε ζωικά μοντέλα είχαν αποτελέσματα κυρίως καλής πρόγνωσης (Rohaina, 2014).

Οι περισσότερες διαθέσιμες μελέτες περιγράφουν τις στρατηγικές της αναδόμησης του κερατοειδούς με βάση τα MSCs εμπλέκοντας τις αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις τους που σχετίζονται με την κερατοειδική αγγειογένεση και την ικανότητά τους να διαφοροποιούνται σε κύτταρα τύπου κερατοκυττάρων. Ωστόσο, πρέπει να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα και η καθαρότητά τους.

Ανακατασκευή τραχείας

Η τραχειακή στένωση και άλλες σοβαρές ασθένειες, όπως ο τραχειοβρογχικός καρκίνος, απαιτούν μερική εκτομή και αναδόμηση της τραχείας. Πρόσφατα, πραγματοποιήθηκαν κλινικές δοκιμές για την προώθηση της ανακατασκευής της τραχείας χρησιμοποιώντας υποκατάστατα, συμπεριλαμβανομένων αυτόλογων μοσχευμάτων, ομοσχευμάτων και προθέσεων (Den Hondt, 2017). Με βάση την πρόοδο στην αναγέννηση ιστών με βάση MSCs, έχουν διεξαχθεί έρευνες σχετικά με την ικανότητά τους για αναδόμηση της τραχείας.

Για την αναγέννηση του επιθηλίου των αεραγωγών έχουν διερευνηθεί διαφορετικές μέθοδοι καλλιέργειας, όπως συν-καλλιέργεια με επιθηλιακά κύτταρα ή σε συνδυασμό με επαγωγικούς παράγοντες, όπως VEGF, νευροτροφικό παράγοντα που προέρχεται από τον εγκέφαλο, TGF-β1, και ακτιβίνη A. Αυτοί οι τέσσερις παράγοντες διαδραματίζουν ζωτικό ρόλο στη διαφοροποίηση των MSCs σε επιθηλιακά κύτταρα ενεργοποιώντας τα κατάλληλα σηματοδοτικά μονοπάτια (Sun Z. W., 2012). Άλλοι επαγωγικοί παράγοντες επίσης προωθούν τη διαφοροποίηση της επιθηλιακής κυτταρικής σειράς, συμπεριλαμβανομένου του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF), του κερατινοκυτταρικού αυξητικού παράγοντα, του ηπατοκυτταρικού αυξητικού παράγοντα (HGF) και της IGF-2 (Paunescu, 2007). Οι φυσικές συνθήκες καλλιέργειας εμπλέκονται επίσης στη ρύθμιση της διαφοροποίησης της επιθηλιακής κυτταρικής σειράς, με μελέτες να αποκαλύπτουν ότι οι διαμερισματοποιημένες ή πολωμένες συνθήκες καλλιέργειας παρέχουν ένα κατάλληλο περιβάλλον για τη διαφοροποίηση των MSCs σε επιθηλιακά προγονικά κύτταρα με σχηματισμό σφιχτής διασταύρωσης (Shu, 2006). Ομοίως, BMSCs και πορώδη τραχειακά ικριώματα εμφυτευμένα in vivo μετά από συγκαλλιέργεια in vitro διατηρούν τη δομική τους ακεραιότητα και μειώνουν σημαντικά την ανοσολογική απόρριψη (Pan, 2019).

Για αναγέννηση ολόκληρης της τραχείας, προκλινικές δοκιμές με χρήση ζωικών μοντέλων επιβεβαίωσαν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της αναδόμησης της τραχείας με βάση τα MSCs. Η σπορά MSCs σε αποκυτταρικά ικρίωματα τραχείας αντιπροσωπεύει ένα πολλά υποσχόμενο μέσο της μηχανικής της τραχείας σε αρουραίους (Ghorbani, 2017), καθώς επίσης ακυτταρική τραχειακή μήτρα εμβολιασμένη με BMSCs έδειξε εξαιρετική βιοσυμβατότητα και ανοσογονικότητα (Pan S. L., 2018). Ένα τρισδιάστατα βιοτυπωμένο τεχνητό ικρίωμα επικαλυμμένο με MSCs που εμφυτεύτηκαν σε ινώδες κατασκευάστηκε για να επιδιορθώσει μερικά ελλείμματα της τραχείας με αποτέλεσμα επιτυχημένη αποκατάσταση απουσία απόρριψης μοσχευμάτων σε τέσσερα κουνέλια (Chang J. P., 2017). Το αορτικό αλλομόσχευμα για αντικατάσταση της τραχείας με μεταμόσχευση MSCs αποδείχθηκε επίσης ως εφικτή μέθοδος ανακατασκευής για τραχειακά ελλείμματα (Siddiqi, 2018). Η Jorge και οι συνεργάτες της (Jorge, 2018) χρησιμοποίησαν μια ακυτταρική αμνιακή μεμβράνη για την ανακατασκευή της τραχείας, αποκαλύπτοντας ότι η μεμβράνη προήγαγε την αναγέννηση του χόνδρου, τη νεοαγγείωση και την επιθηλιοποίηση και συγχρόνως μείωσε τον κίνδυνο μετεγχειρητικών επιπλοκών, όπως η τραχειακή στένωση. Ωστόσο, χαμηλού πορώδους ακυτταρική τραχειακή μήτρα μπορεί να οδηγήσει σε ατελή αναγέννηση χόνδρου (Xu Y. L., 2017). Επομένως, χρησιμοποίησαν τεχνολογία λέιζερ μικροπόρων για την αλλαγή του πορώδους του ικρίωματος με τα *in vivo* αποτελέσματα να επιβεβαιώνουν ότι η τεχνική βελτίωσε τη μήτρα του χόνδρου και τη μηχανική αντοχή των ικρίωμάτων. Επιπλέον, τεχνητά ικρίωματα βασισμένα σε βιοϋλικά που έχουν σπαρθεί με MSCs, όπως είναι τα ηλεκτροστατικά ικρίωματα με βάση Col (Jing, 2018) και τα πυρήνα-κελύφους νανοϊνώδη ικρίωματα (Wang J. S., 2017), αποτελούν βιώσιμες επιλογές για την αντικατάσταση της κατεστραμμένης τραχείας, αν και τα ικρίωματα που έχουν φορτωθεί με MSCs προάγουν το σχηματισμό επιθηλίου και την αγγειογένεση *in vivo* αλλά σε απουσία σχηματισμού χόνδρου (Bae S. L., 2018).

Μια δοκιμή αναγέννησης ιστών που περιλαμβάνει αναδόμηση της τραχείας υποστήριξε τη χρήση MSCs για κλινική τραχειακή ιστομηχανική με βάση τη συμβολή τους στην ολοκλήρωση των μεταμοσχευμένων ιστών και την αγγειογένεση (Maughan, 2017). Το 2008, πραγματοποιήθηκε η πρώτη μεταμόσχευση τραχείας ιστομηχανικής προέλευσης σε μία 30χρονη γυναίκα με τελικού σταδίου αριστερή κύρια βλάβη του βρόγχου και αφο-

ρούσε μία τραχεία από αποκυτταρωμένη τραχεία δότη, επιθηλιακά κύτταρα και χονδροκύτταρα προερχόμενα από BMSCs (Macchiarini, 2008). Μετά από ιατρική παρακολούθηση πέντε ετών, η ασθενής παρουσίασε φυσιολογική πνευμονική λειτουργία, ακτινωτή λειτουργία, αντανακλαστικό βήχα και εκκαθάριση της βλέννας, απουσία τερατώματος που σχετίζεται με τα βλαστικά κύτταρα και αντισωμάτων κατά του δότη (Gonfiotti, 2014). Αυτό το αποτέλεσμα απέδειξε ότι το σπαρμένο με κύτταρα ικρίωμα ήταν κλινικά ασφαλές και εφικτό, και ακολουθήθηκε από άλλη μία αντικατάσταση τραχείας ιστομηχανικής προέλευσης με βάση BMSCs σε ένα 12χρονο αγόρι, το οποίο επίσης εμφάνισε καλά αποτελέσματα κατά τη διετή ιατρική παρακολούθηση (Elliott, 2012).

Για την ανακατασκευή μιας λειτουργικής τραχείας είναι απαραίτητες συνεργατικές τεχνικές, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που σχετίζονται με τη βιολογία των στελεχιαίων κυττάρων, τα βιοϋλικά και την ιστομηχανική, καθώς και η τραχεία που απαιτείται για να συναρμολογηθούν γύρω της τα διαφοροποιημένα MSCs και τα συστατικά της μήτρας.

Αναγέννηση δέρματος

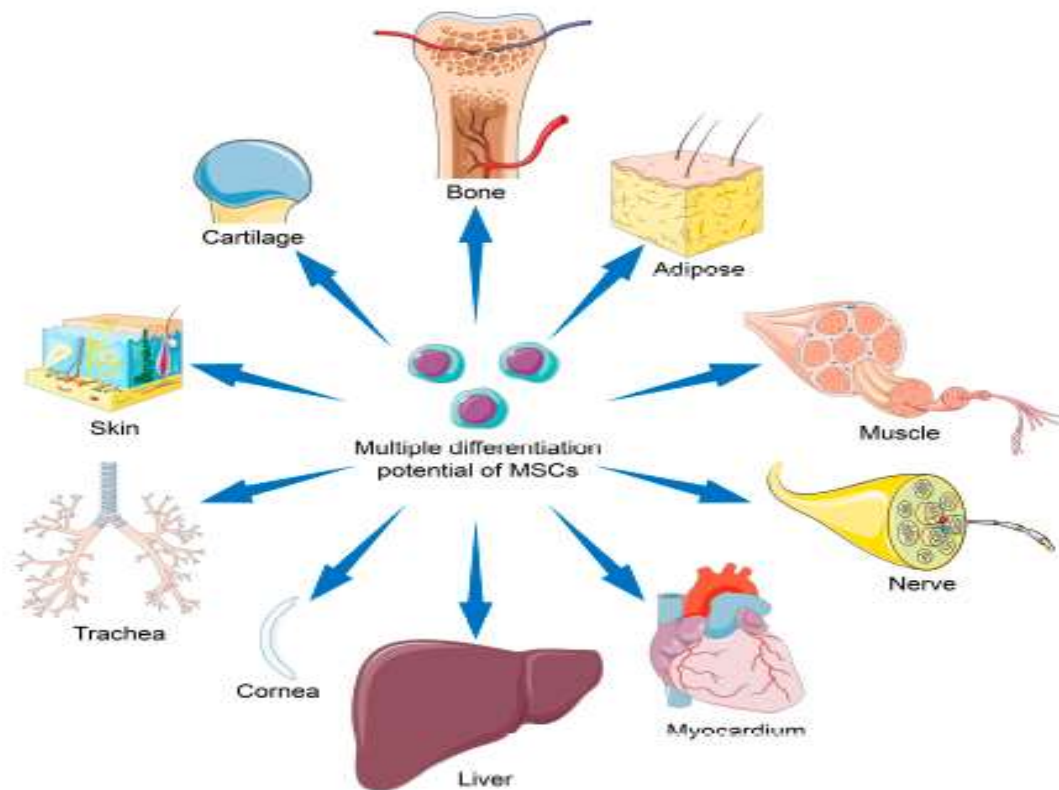
Το δέρμα είναι η πρώτη γραμμή άμυνας έναντι μικροοργανισμών ή σωματικών βλαβών και λοιμώξεις ή/και τραυματισμοί ενδέχεται να οδηγήσουν σε ελλείμματα δέρματος. Η θεραπεία μεγάλης κλίμακας βλάβης του δέρματος είναι μερικές φορές ανεπαρκής επειδή η αυτόλογη μεταμόσχευση δέρματος περιορίζεται από τη διαθεσιμότητα ιστού δέρματος. Επιπροσθέτως, αλλογενή δερματικά μοσχεύματα προκαλούν πάντα ανοσολογική απόρριψη ή μεταδοτικές ασθένειες.

Η επούλωση των πληγών είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαλυτών διαμεσολαβητών, της ECM και διηθημένων κυττάρων του αίματος (Wang P. H., 2018). Θεραπεία με βάση τα MSCs σε συνδυασμό με τεχνητά ικρίωματα προσφέρει μία πολλά υποσχόμενη στρατηγική για την προώθηση της επούλωσης των πληγών ή την πλήρη ανακατασκευή δέρματος πλήρους πάχους (Laverdet, 2014). Ο Feldman και οι συνεργάτες του (Feldman, 2018) χρησιμοποίησαν TGF-β3, ικρίωματα με βάση λευκωματίνη και MSCs για τη θεραπεία ελκών πίεσης με καλά θεραπευτικά αποτελέσματα. Πρόσφατη πρόοδος έχει επίσης αναφερθεί στην αναγέννηση του δέρματος μέσω θεραπείας με βάση MSCs, καθώς τα MSCs βελτιώνουν σημαντικά την κατάσταση της

πληγής και την αγγειογένεση. Ο TSG-6 εκκρινόμενος από MSCs βελτιώνει την επούλωση των πληγών περιορίζοντας την ενεργοποίηση των μακροφάγων, τη φλεγμονή και την ίνωση (Qi, 2014). Ο VEGF που εκκρίνεται από MSCs προάγει την διαμέσου κερατινοκυττάρων επούλωση τραυμάτων (Ong, 2018). Η αγγειοτενσίνη II προωθεί τη διαφοροποίηση των BMSCs σε κερατινοκύτταρα μέσω των σηματοδοτικών μονοπατιών της μιτογόνο-ενεργοποιημένης πρωτεϊνικής κινάσης/JNK/Janus κινάσης 2 (Jiang X. W., 2019). Επιπλέον, γενετικά τροποποιημένα MSCs παρέχουν έναν άλλο δυνατό τρόπο για την προώθηση της αναγέννησης του δέρματος. MSCs επιμολυσμένα με EGF (Kolakshyarati, 2017), επιμολυσμένα με αδενοϊό CXC υποδοχέα χημειοκίνης τύπου 4 (CXCR-4) υπερεκφράζοντα BMSCs (Yang D. S., 2013), VEGF-τροποποιημένα ανθρώπινα UCB-MSCs (Kisseleva, 2006), προερχόμενα από στρωματικά κύτταρα επιμολυσμένα με παράγοντα-1 BMSCs (Nakamura, 2013) και ectodysplasin-τροποποιημένα MSCs (Cai, 2011) προωθούν την επούλωση των πληγών μέσω MSCs σε ελλείμματα δέρματος, όπως κάνουν τα φυσικά ερεθίσματα, όπως είναι η θεραπεία με λέιζερ (Solmaz, 2017). Μεγάλος αριθμός ικριωμάτων, όπως εκείνα που περιλαμβάνουν υδρογέλες με βάση ινώδες (Murphy, 2017), 3D-υβριδοποιημένη χιτοζάνη (CS) και πολύ(ε-καπρολακτόνη) (PCL) (Tavakol, 2017), Col-CS (Shokrgozar, 2012), καρβοξυμεθυλοκυτταρίνη νατρίου (Rodrigues, 2014) και ηλεκτροσύνθετες ναοΐνες μεταξωτού ινώδους (Navone, 2014), έχουν αναπτυχθεί για να υποστηρίξουν την αναγέννηση με βάση MSCs του ελλειμματικού δέρματος. Ο Qi και οι συνεργάτες του (Qi C. X., 2018) ανέπτυξαν μια υδρογέλη φωτοσυνδεδεμένης σερίνης για την επιδιόρθωση βλάβης του δέρματος πλήρους πάχους. Αυτή η υδρογέλη ανέστειλε τη φλεγμονή, διέγειρε την αγγειογένεση και συγκέντρωσε τα MSCs στο σημείο του τραυματισμού για την αναγέννηση των εξαρτημάτων του δέρματος.

Πρόσφατα, αυτόλογα και αλλογενή MSCs μεταμοσχεύτηκαν σε ανθρώπους για να προωθήσουν την αναγέννηση των ελλειμμάτων του δέρματος και έχουν διεξαχθεί αρκετές κλινικές δοκιμές σχετικά με την αποτελεσματικότητα της μεταμόσχευσης MSCs, μόνων ή σε συνδυασμό με μοσχεύματα, για τη θεραπεία σοβαρών δερματικών εγκαυμάτων (Pelizzo, 2018), περιεδρικών συριγγίων (Lightner, 2018), μη θεραπεύσιμων ελκών λόγω του διαβήτη (Wu, 2018), της δυστροφικής πομφολυγώδους επιδερμόλυσης (Epidermolysis Bullosa) (Kuhl, 2015) και σχετιζόμενων με ακτινοβολία δερματικών βλαβών

(Portas, 2016). Η θεραπεία με οιστρογόνα επιδιορθώνει τα διαβητικά τραύματα αυξάνοντας σημαντικά τη βιωσιμότητα και τον πολλαπλασιασμό των MSCs και προωθώντας τη νεοαγγείωση (Zhuge, 2018). Όσον αφορά την αναγέννηση των εξαρτημάτων, ο Sheng και οι συνεργάτες του (Sheng, 2009) ανέφεραν την επιτυχή μεταμόσχευση MSCs για την αναγέννηση λειτουργικών ιδρωτοποιών αδένων σε πέντε ασθενείς το 2009, ακολουθούμενη από μεταγενέστερες αναφορές επιτυχούς εκτέλεσης της ίδιας διαδικασίας, με ectodysplasin-τροποποιημένα MSCs (Cai, 2011) και BMSCs σε EGF-φορτωμένα ικρίωματα (Χια, 2017) αποδεικνύοντας τη διαφοροποίησή τους σε λειτουργικά κύτταρα ιδρωτοποιών αδένων.



Εικόνα 3. Εφαρμογές μεσεγχυματικών στελεχειαίων κυττάρων με πολλαπλές δυνατότητες διαφοροποίησης για επισκευή (Han Y. L., 2019)

Κλινική χρήση στελεχειαίων κυττάρων στη θεραπεία της πνευμονίας COVID-19

Η πανδημία COVID-19 έχει γίνει μια τεράστια πρόκληση για τα συστήματα υγείας παγκοσμίως. Είναι μια ασθένεια που προκαλείται από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2 (σοβαρό οξύ αναπνευστικό σύνδρομο κορωνοϊού 2) που έχει υψηλό ρυθμό μετάδοσης και σχετίζεται με σημαντική θνησιμότητα, ιδιαίτερα σε ομάδες κινδύνου. Το SARS-CoV-2 επηρεάζει κυρίως το αναπνευστικό σύστημα, αν και είναι μια πολύ περίπλοκη ασθένεια στην οποία μπορεί να επηρεαστούν και άλλα όργανα, όπως τα νεφρά, η καρδιά, το νευρικό σύστημα, το ήπαρ, η γαστρεντερική οδός και το δέρμα, καθώς επίσης εμπλέκονται διάφοροι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί (Gurta, 2020). Οι περισσότεροι θάνατοι οφείλονται σε σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) που προκαλείται από υπερβολική ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος που αγωνίζεται να σκοτώσει τον ιό, οδηγώντας σε σημαντική παραγωγή φλεγμονωδών παραγόντων με αποτέλεσμα σοβαρή «καταιγίδα κυτταροκινών» (Berishvili, 2021). Υψηλά επίπεδα φλεγμονωδών δεικτών στο αίμα που περιλαμβάνουν C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, φερριτίνη και D-διμερή και αυξημένα επίπεδα ορού αρκετών φλεγμονωδών κυτοκινών και χημειοκινών, όπως IL-6, TNF, GCSF, MCP-1 μεταξύ άλλων, έχουν συσχετιστεί με τη σοβαρότητα της νόσου και το θάνατο (Merad, 2020). Εκτός από το ARDS, η καταιγίδα κυτταροκινών συμβάλλει σε δευτερογενείς επιπλοκές, όπως σήψη, υπερπηκτικότητα ή ίνωση, επομένως εξετάζονται θεραπευτικές παρεμβάσεις για τον έλεγχο της. Στεροειδή φάρμακα, όπως η δεξαμεθαζόνη και άλλα κορτικοστεροειδή, ικανά να εμποδίζουν την ανοσολογική απόκριση φαίνονται χρήσιμα βραχυπρόθεσμα αλλά επικίνδυνα μακροπρόθεσμα (Theoharides, 2020). Ομοίως, στοχευμένες θεραπείες για μείωση στα επίπεδα μεμονωμένων κυτοκινών δεν έχουν προσφέρει τα ελπιδοφόρα οφέλη (Della-Torre, 2020). Τα στελεχειαία κύτταρα μπορεί να αντιπροσωπεύουν μια αποτελεσματική στρατηγική για τη θεραπεία βαριά ασθενών με COVID-19, λόγω του ανοσορρυθμιστικού και αναγεννητικού δυναμικού τους και της ικανότητάς τους να εμβολιάζονται σε κατεστραμμένους ιστούς (Yadav, 2020). Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει τα ευεργετικά αποτελέσματα των MSCs σε διαφορετικά μοντέλα πνευμονικής βλάβης και ίνωσης που σχετίζονται με μείωση των προφλεγμονωδών κυτοκινών, όπως TNF και IL-6, και αύξηση των αντιφλεγμονωδών κυτοκινών, όπως IL-10 (Lee J. G., 2009). Επιπλέον, τα MSCs απελευθερώνουν προσταγλανδίνη E2 (PGE2) και προάγουν τον επαναπρογραμματισμό των μακροφάγων προς έναν φαινότυπο M2 που εκκρίνει αντιφλεγμονώδη κυτοκίνες, και

παίζουν βασικό ρόλο στην αγγειογένεση, τη συντήρηση των ιστών, την αναδιαμόρφωση της μήτρας και την επιδιόρθωση (Herold, 2011) (Abumaree, 2013). Η πόλωση των μακροφάγων μπορεί να είναι απαραίτητη για τον μετριασμό της καταϊγίδας των κυτοκινών και τη διάλυση της υπερφλεγμονώδους κατάστασης στην πνευμονία COVID-19. Εκτός από την αναστολή της υπερβολικής ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος, η θεραπεία με MSCs μπορεί να προάγει την ενδογενή επιδιόρθωση διαμορφώνοντας το μικροπεριβάλλον του πνεύμονα. Τα ενδοφλεβίως χορηγούμενα MSCs τείνουν να συσσωρεύονται στους πνεύμονες όπου εκκρίνουν πολλούς παρακρινικούς παράγοντες που παίζουν σχετικό ρόλο στην προστασία και επιδιόρθωση του πνευμονικού ιστού (Shetty, 2020). Τα MSCs δρουν αναστέλλοντας την απόπτωση, περιορίζοντας τον οξειδωτικό τραυματισμό και ενισχύοντας την αναγέννηση (Muraca, 2020).

Πρόσφατα, η πρώτη κλινική δοκιμή με χρήση UC-MSCs στη θεραπεία της χρόνιας αποφρακτική πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ-COPD) δημοσιεύτηκε (Le Thi Bich, 2020). Η μεταμόσχευση UC-MSCs βελτίωσε σημαντικά την ποιότητα ζωής και την κλινική κατάσταση των ασθενών με ΧΑΠ λόγω των αντιφλεγμονωδών αποτελεσμάτων των UC-MSCs, γεγονός που υποδηλώνει ότι η έγχυσή τους μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία της πνευμονίας COVID-19. Στις 30 Οκτωβρίου 2020, υπήρχαν συνολικά 26 καταγεγραμμένες κλινικές δοκιμές που χρησιμοποιούν ή πρόκειται να χρησιμοποιήσουν MSCs. Στις περισσότερες από αυτές τις μελέτες, η κύρια πηγή MSCs είναι ο ομφάλιος λώρος (23 στις 26), δύο από αυτές τις μελέτες χρησιμοποιούν MSCs που προέρχονται από τον πλακούντα και μόνο μία από τις μελέτες χρησιμοποιεί δεκαδικά στρωματικά κύτταρα (DSCs). Δύο από τις μελέτες έχουν ολοκληρωθεί και περίπου το 50% εξακολουθούν να διεξάγονται. Οι ερευνητές από μία από τις ολοκληρωμένες μελέτες (NCT04288102, Phase 1/2) έχουν ήδη δημοσιεύσει τα αποτελέσματα της προηγούμενης μελέτης φάσης 1 που πραγματοποιήθηκε κατά τα πρώτα στάδια του ξεσπάσματος του COVID-19 (Meng, 2020). Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι η ενδοφλέβια χορήγηση UC-MSCs στους COVID-19 ασθενείς ήταν ασφαλής και καλά ανεκτή. Μια πρόσθετη πιλοτική μελέτη που πραγματοποιήθηκε για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των UC-MSCs για τη θεραπεία της βαριάς νόσου COVID-19 έδειξε βελτίωση σε ορισμένα από τα κλινικά συμπτώματα και μειωμένη πνευμονική φλεγμονή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (Shu L. N., 2020).

Κίνδυνοι και προκλήσεις στη μεταμόσχευση στελεχιαίων κυττάρων

Πολυδυναμία και καρκίνος

Τα πολυδύναμα στελεχιαία κύτταρα έχουν απεριόριστη δυνατότητα αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης σχεδόν σε όλους τους τύπους κυττάρων του σώματος. Αυτά τα χαρακτηριστικά τα καθιστούν ελκυστικό υποψήφιο για τις θεραπείες αντικατάστασης κυττάρων και τα hPSCs αποτελούν μεγάλη ελπίδα για την αναγεννητική ιατρική. Ωστόσο, όταν μεταμοσχεύονται *in vivo*, τα μη διαφοροποιημένα hPSCs σχηματίζουν τερατώματα και ο κίνδυνος σχηματισμού όγκων έχει περιορίσει σε μεγάλο βαθμό την κλινική εφαρμογή τους.

Τα πολυδύναμα στελεχιαία κύτταρα διαθέτουν ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά με τα καρκινικά κύτταρα. Βασικά, και τα δύο διαθέτουν μία επ' αόριστον ικανότητα πολλαπλασιασμού, τη δυνατότητα παράκαμψης των σημείων επισκευής του DNA (Savatier, 2002) (Karinas, 2013) και εκφράζουν ογκογονικούς δείκτες. Για παράδειγμα, ο παράγοντας μεταγραφής c-MYC (TF) εκφράζεται έντονα και στα δύο, καρκινικά κύτταρα (Somay, 1992) (Meyer, 2009) (Zhang C. X., 2017) και hESCs (Nie, 2012) (Yeo, 2013), και είναι βασικός για τη δημιουργία iPSCs (Park I. Z., 2008) (Takahashi K. Y., Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors, 2006). Πρόσφατα, ο c-MYC αναγνωρίστηκε ως ο κύριος ογκογονικός τελεστής της σηματοδότησης Wnt/ β -κατενίνης στην hESC ογκογονικότητα (Chang Y. C., 2017). Πολλά από τα γονίδια και τα δίκτυα που σχετίζονται με την πολυδυναμία διατηρούνται επίσης στα καρκινικά κύτταρα. Ο βασικός δείκτης πολλαπλασιαστικής ισχύος OCT4 εμπλέκεται στην ανάπτυξη πολλαπλών καρκίνων, όπως των ωοθηκών (Samardzija, 2012) (Comisso, 2017), του τραχήλου της μήτρας (Li, 2015), του παχέος εντέρου (Fujino, 2019) (Zhou H. H., 2015), του ήπατος (Wang G. Z., 2018) και του καρκίνου του στόματος (Fu, 2016). Γενικά, η έκφραση του OCT4 συσχετίζεται με δυσμενή έκβαση του καρκίνου στους περισσότερους όγκους (Villodre, 2016), ενώ η υποέκφρασή του σχετίζεται με επιβραδυνόμενου ρυθμού εξέλιξη του όγκου (Lin J. Z., 2015). Ο OCT4 δεν είναι ο μόνος σημαντικός παράγοντας πολυδυναμίας, σχηματίζει ένα σύμπλεγμα με άλλους TFs, όπως ο SOX2 και ο NANOG, για τη ρύθμιση της έκφρασης διαφορετικών γονιδίων και διατήρηση των ESCs σε αδιαφοροποίητη κατάσταση. Ο NANOG παίζει επίσης ρόλο στην αυτοανανέωση των CD24⁺ καρκινικών στελεχιαίων κυττάρων σε ηπατοκυτταρικά καρκινώματα (Lee T. C., 2011) και έχει βρεθεί να εκφράζεται

εκτροπικά σε μια ποικιλία καρκίνων στον άνθρωπο, συμπεριλαμβανομένων καρκινωμάτων κεφαλής και τραχήλου εκ πλακωδών κυττάρων (HNSCC) (Palla, 2015) (Santaliz-Ruiz, 2014). Ο SOX2 έχει αποδειχθεί ότι εκφράζεται σε τουλάχιστον 25 διαφορετικούς τύπους καρκίνου και κατευθύνει την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων (Wuebben, 2017). Ένας άλλος βλαστοκυτταρικός παράγοντας, ο KLF-4 (Krüppel-like factor 4), έχει αναφερθεί ότι προωθεί την αποσύνδεση του σημείου ελέγχου επισκευής του DNA και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στον καρκίνο του μαστού καταστέλλοντας την p53 (Lee A. T., 2013). Ο KLF4 δρα επίσης ως ογκογονίδιο στο γλοιοβλάστωμα υποστηρίζοντας την επιβίωση των βλαστικών κυττάρων γλοιοβλαστώματος και προωθώντας τον πολλαπλασιασμό τους (Ray, 2016). Τα πολυδύναμα στελεχιαία κύτταρα είναι επίσης γνωστό ότι διαθέτουν πολλά από τα χαρακτηριστικά του καρκίνου, συμπεριλαμβανομένης της έλλειψης εξ επαφής αναστολής *in vitro* (Blum, 2008), της απώλειας της p53 (Edel, 2010) (Zhang Z. C., 2014) και της απενεργοποίησης της Rb (πρωτεΐνη καταστολής όγκου ρετινοβλαστώματος) που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο τους (Kohno, 2019). Επιπλέον, η μακροχρόνια καλλιέργεια δημιουργεί κυτταρογενετικές ανωμαλίες και τα στελεχιαία κύτταρα είναι πολύ ευαίσθητα στην απόκτηση μεταλλάξεων που είναι επωφελείς για την αναγέννηση. Δεδομένης της υψηλής γονιδιωματικής αστάθειας των hPSCs, ογκογόνες μεταλλάξεις είναι πιθανό να συσσωρεύονται με την πάροδο του χρόνου κατά την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων κυττάρων που απαιτούνται για κυτταρική θεραπεία. Συγκεκριμένα, το 44% των γονιδίων που ρυθμίστηκαν ως αποτέλεσμα της γονιδιωματικής αστάθειας των hESCs συνδέθηκαν λειτουργικά με γονίδια που εκφράζονται συνήθως σε μια γκάμα καρκίνων (Närnä, 2010). Ένα σημαντικό παράδειγμα είναι η αυθόρμητη απόκτηση μεταλλάξεων p53, τόσο από hiPSCs, όσο και από hESC, σε παρατεταμένη καλλιέργεια, παρόμοιες με αυτές που παρατηρούνται στον καρκίνο του ανθρώπου (Merkle, 2017). Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε υψηλό ποσοστό δυνητικά καρκινικών κυττάρων εντός της καλλιέργειας, καθιστώντας τα κύτταρα ακατάλληλα για μεταμόσχευση σε ανθρώπους.

Μετά τη διαφοροποίηση των hPSCs, ενδέχεται να παραμείνουν υπολειμματικά αδιαφοροποίητα ή μερικώς διαφοροποιημένα κύτταρα και να προκαλέσουν το σχηματισμό όγκου όταν εμφυτευθούν σε ζωικά μοντέλα. Στην περίπτωση των νευροεκφυλιστικών ασθενειών, ο κίνδυνος δεν είναι μόνο η ανάπτυξη τερατωμάτων από αδιαφοροποίητα

hiPSCs/ hESCs, αλλά και μη διαφοροποιημένων νευρικών όγκων, είτε πρωτόγονων νευροεκτοδερμικών όγκων ή γλοιωμάτων, από μερικούς διαφοροποιημένα νευρικά κύτταρα. Ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός και ογκογονικές μάζες παρατηρήθηκαν μετά από μεταμόσχευση νευρωνικών παραγώγων hPSCs σε μοντέλα τρωκτικών PD (Roy, 2006) (Rhee, 2011), επιληψίας (Anderson, 2018) και SCI (Nori S. O., 2015), γεγονός που υπογραμμίζει τη σημασία της ανάπτυξης αποτελεσματικών, ασφαλών και κλινικά σχετικών πρωτοκόλλων για πλήρη απομάκρυνση των μη-διαφοροποιημένων κυττάρων.

Μέθοδοι για την πρόληψη του σχηματισμού όγκων

Σε μια προσπάθεια να ξεπεραστεί αυτό το ζήτημα, πολλές στρατηγικές έχουν διερευνηθεί για την ανάπτυξη ασφαλέστερων θεραπειών στελεχειαίων κυττάρων. Η παρατεταμένη ωρίμανση των hPSC-DANs in vitro πριν από την εμφύτευση έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την υπερανάπτυξη του μοσχεύματος και το σχηματισμό όγκων σε πρωτεύον μοντέλο εγκεφάλου PD (Doi, 2012). Ωστόσο, αν και αυτή η μελέτη έδειξε βελτιώσεις στη συμπεριφορά των πιθήκων που μεταμοσχεύτηκαν με ώριμα hESC-DANs, η εξάλειψη των αδιαφοροποίητων hESCs δεν θα μπορούσε να αποτρέψει πλήρως τον κίνδυνο σχηματισμού όγκου λόγω του ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού των ανώριμων νευρικών κυττάρων. Άλλοι έχουν εφαρμόσει ένα στάδιο καθαρισμού με ταξινόμηση των ενεργοποιημένων με φθορισμό κυττάρων (FACS) για την επιλογή των πιο ώριμων νευρικών κύτταρων για μεταμόσχευση, την απομάκρυνση των μη-διαφοροποιημένων κυττάρων και την αποφυγή σχηματισμού όγκων (Kriks, 2011) (Cunningham, 2014) (Fandel, 2016) (Doi D. S., 2014). Τα αδιαφοροποίητα κύτταρα μπορούν επίσης να εξαλειφθούν χρησιμοποιώντας μικρά μόρια. Θεραπεία με προερχόμενο από hESCs πληθυσμό με χημικούς αναστολείς της σηματοδότησης επιβιωτικής (survivin) (κερσετίνη ή YM155) προκάλεσε επιλεκτικό αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο των αδιαφοροποίητων hPSCs και απέτρεψε ικανοποιητικά τον σχηματισμό τερατωμάτων μετά τη μεταμόσχευση hPSCs (Lee M. M., 2013). Αναστολή της σηματοδότησης β-κατενίνης με τον χημικό αναστολέα FH535 σε hESCs μείωσε τον σχηματισμό τερατωμάτων κατά 79%. Παρόλο που το μονοπάτι της β-κατενίνης παίζει θεμελιώδη ρόλο στην αυτοανένωση των hESCs και τη διατήρηση των ιδιοτήτων των στελεχειαίων κυττάρων, η αναστολή της σε hESCs πριν από την επαγωγή της διαφοροποίησής τους δεν έθεσε σε κίνδυνο την πολυδυναμία τους (Chang Y. C., 2017). Ομοίως, η προ-θεραπεία των hPSC-NPCs με

αναστολέα γ-σεκρετάσης, έναν αναστολέα σηματοδότησης της Notch, μείωσε τις πολλαπλασιαστικές ικανότητες και προώθησε τη διαφοροποίηση των μη-διαφοροποιημένων νευρικών κυττάρων, αποτρέποντας έτσι τον σχηματισμό όγκων μετά από μεταμόσχευση σε τρωκτικά μοντέλα SCI (Okubo, 2016).

Γονίδια αυτοκτονίας έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την εξάλειψη των αδιαφοροποίητων και πιθανώς νεοπλασματικών κύτταρων. Η κινάση θυμιδίνης του ιού του απλού έρπητα (HSV-TK) είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο γονίδιο αυτοκτονίας στα hESCs/iPSCs και έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό στην εξάλειψη του σχηματισμού όγκων μετά από μεταμόσχευση (Cheng F. K., 2012) (Schuldiner, 2003) (Zhao, 2012) (Liang Q. M., 2018) (Qadir, 2019). Ωστόσο, το HSV-TK υπόστρωμα γκανσικλοβίρης έχει χαμηλή ικανότητα να διαπεράσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (blood-brain barrier, BBB) (Nau, 2010) και η μακροχρόνια χορήγησή του σχετίζεται με πιθανούς κινδύνους για την υγεία, όπως βλάβη της νεφρικής λειτουργίας, ηπατική δυσλειτουργία και πανκυτταροπενία (Zhao, 2012). Η χρήση της HSV-TK μπορεί επομένως να μην είναι κατάλληλη για κυτταρική θεραπεία, ειδικά για νευρικές διαταραχές. Επιπλέον, στοχεύοντας τη σύνθεση του DNA, η HSV-TK έχει την ικανότητα να προκαλεί απόπτωση ειδικά των υψηλά πολλαπλασιαζόμενων κύτταρων, αλλά μπορεί να μην είναι αποτελεσματική στην εξάλειψη των αργά διαιρούμενων κυττάρων. Μία στρατηγική κυτταρικού κύκλου ανεξαρτήτως αποτυχίας-ασφάλειας χρησιμοποιώντας ένα γονίδιο επαγωγίμης κασπάσης 9 (iC9) έχει επίσης δείξει την αποτελεσματικότητά του στην απομάκρυνση τερατωμάτων που προκύπτουν από iPSCs (Ando, 2015) (Yagyu, 2015) (Shi Z. T., 2020) ή όγκους που προέρχονται από κακοήγη μετασχηματισμό των μεταμοσχευμένων hiPSC-NPCs σε ποντίκι μοντέλο SCI (Itakura, 2017). Ένας συγκεκριμένος χημικός επαγωγέας διμερισμού (CID, AP1903) ενεργοποιεί το iC9 το οποίο στη συνέχεια ενεργοποιεί μια αποπτωτική απόκριση που σκοτώνει τα hPSCs ή τα παράγωγά τους εντός 24 ωρών. Μια λιγότερο συμβατική μέθοδος «διακόπτη microRNA» (miR-switch) επίσης απέδειξε επιτυχία. Το MicroRNA-302-5p (miR-302a) υπερεκφράζεται στα αδιαφοροποίητα hPSCs αλλά σταδιακά μειώνεται κατά τη διαφοροποίηση έως ότου γίνει μη ανιχνεύσιμο στα πλήρως διαφοροποιημένα κύτταρα. Ένας miR-διακόπτης βασισμένος στη δραστηριότητα του miR-302a αναπτύχθηκε για τον εντοπισμό υπολειμματικά αδιαφοροποίητων και μερικώς διαφοροποιημένων κυττάρων που ακολουθεί τη διαφοροποίηση των hiPSCs. Επιλεκτική εξάλειψη των hiPSCs επιτεύχθηκε ελέγχοντας την αντίσταση

στην πουρομυκίνη χρησιμοποιώντας το διακόπτη miR-302a και αποτράπηκε ο σχηματισμός τερατώματος σε μία in vivo δοκιμασία ογκογονικότητας (Parr, 2016).

Όλες αυτές οι προσεγγίσεις παρέχουν μία προστασία στην κλινική χρήση των hPSC κυτταρικών θεραπειών. Ωστόσο, επειδή οι περισσότερες μελέτες μεταμόσχευσης hPSCs πραγματοποιούνται σε ανοσοανεπαρκή ζώα ή παρουσία ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, ο πραγματικός κίνδυνος σχηματισμού όγκων σε ξενιστές με ανοσοεπάρκεια είναι κυρίως άγνωστος. Πρόσφατα, με τη χρήση πολλαπλών μοντέλων εξανθρωπισμένων ποντικών έχει προταθεί ότι οι αυτόλογες θεραπείες με κύτταρα που προέρχονται από hPSCs είναι απίθανο να σχηματίσουν τερατώματα παρουσία φυσικών κυττάρων φονιάδων (NK) (Benabdallah, 2019).

Ογκογονικοί κίνδυνοι που σχετίζονται με τον επαναπρογραμματισμό

Παρά το προφανές πλεονέκτημά τους, η χρήση των hiPSCs στην αναγεννητική ιατρική συνεπάγεται πρόσθετους κινδύνους. Μελέτες σε ολόκληρο το γονιδίωμα αποκάλυψαν πολυάριθμες μεγάλες και σημειακές μεταλλάξεις στα hiPSCs, οδηγώντας σε σοβαρές αμβιβολίες σχετικά με την ασφάλειά τους και τις πιθανές κλινικές εφαρμογές τους (Gore, 2011) (Hussein, 2011). Είναι επομένως κρίσιμο να αξιολογηθεί η ασφάλεια των hiPSCs (και των παραγώγων τους) που δημιουργούνται πριν από τη μεταμόσχευση. Ακολουθώντας αυτή την ιδέα, εντοπίστηκαν ογκογονικές μεταλλάξεις στα hiPSCs που επαναπρογραμματίστηκαν από τα σωματικά κύτταρα του δεύτερου ασθενή που συμμετείχε στην κλινική δοκιμή που εξετάζει το RPE που προέρχεται από hiPSCs ως θεραπεία αντικατάστασης κυττάρων για τον εκφυλισμό της ωχράς κηλίδας. Ως αποτέλεσμα, η μεταμόσχευση του δεύτερου ασθενούς αναβλήθηκε και η δοκιμή τερματίστηκε. Οι μεταλλάξεις δεν ήταν ανιχνεύσιμες στους αρχικούς ινοβλάστες του ασθενούς (Mandai, 2017).

Ο επαναπρογραμματισμός σωματικών κυττάρων ενηλίκων σε κατάσταση πολυδυναμίας απαιτεί την έκθεσή τους σε πολλαπλούς παράγοντες επαναπρογραμματισμού (Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc ή Nanog και Lin-28) που είναι κρίσιμοι για την απόκτηση και τη διατήρηση της επαγόμενης πολυδυναμίας, αλλά μπορεί να προωθήσει τον ογκογονικό μετασχηματισμό όπως συζητήθηκε προηγουμένως. Η ίδια η διαδικασία του επαναπρογραμματισμού προκαλεί επίσης γονιδιωματικές αλλοιώσεις. Μονονουκλεοτιδικές παραλλα-

γές (SNVs) μερικές φορές προκύπτουν στην κωδικοποιητική περιοχή ενός γονιδίου, με αποτέλεσμα την έκφραση μιας μεταλλαγμένης πρωτεΐνης που μπορεί να αποκτήσει ή να χάσει κάποια λειτουργία και να γίνει δυνητικά επιβλαβής. Παραλλαγές αριθμού αντιγράφων (CNVs), που περιλαμβάνουν την επικάλυψη ή τη διαγραφή μεγάλου μέρους του DNA, μπορεί επίσης να προέρχονται από τον επαναπρογραμματισμό, προκαλώντας δυνητικά επικίνδυνες μεταλλάξεις σε διαφορετικά γονίδια (Perrera, 2019). Επιπλέον, οι πρώτες γενιές iPSCs επαναπρογραμματίστηκαν χρησιμοποιώντας ρετροϊούς ως μέθοδο παράδοσης για τους παράγοντες επαναπρογραμματισμού (Takahashi K. Y., 2006) (Takahashi K. T., 2007) που ενσωματώνονται στο γονιδίωμα των κυττάρων και επομένως μπορούν να προκαλέσουν δυνητικά επικίνδυνες μεταλλάξεις. Μη ολοκληρωμένες μέθοδοι επαναπρογραμματισμού που μειώνουν την εμφάνιση γενετικών παραλλαγών (Cheng L. H., 2012) (Sugiura, 2014) (Schlaeger, 2015) έχουν έκτοτε αναπτυχθεί και αποτελούν προϋπόθεση για την κλινική χρήση των hPSCs. Αυτές περιλαμβάνουν μεθόδους που βασίζονται στο DNA, όπως φορείς ιών Sendai (Fusaki, 2009), επισωματικοί φορείς (Yu, 2009) και εκτεμνώμενοι piggyBac φορείς (Woltjen K. M., 2009). Μέθοδοι επαναπρογραμματισμού χωρίς DNA, συμπεριλαμβανομένων του αγγελιοφόρου RNA (Warren, 2010) και των πρωτεϊνών (Kim D. K., 2009) (Zhou H. S., 2009), έχουν επίσης αποδειχθεί αποτελεσματικές και συχνά προτιμώνται καθώς είναι παροδικές μέθοδοι και εξαλείφονται γρήγορα. Αντίθετα, δημιουργήθηκαν NPC και DANs από hiPSCs με χρήση φακοϊών που εμφανίζουν υπολειμματική έκφραση γονιδίων εξωγενούς επαναπρογραμματισμού. Επιπλέον, μια μέθοδος επαναπρογραμματισμού που βασίζεται σε πρωτεΐνες οδηγεί σε πιο ισχυρά hiPSCs που είναι εξαιρετικά επεκτάσιμα χωρίς γήρανση (Rhee, 2011). Άνευ φορέα και διαγονιδίου hiPSC-NPCs μεταμοσχεύθηκαν σε μοντέλο εγκεφαλικού επεισοδίου (Mohamad, 2013) ή PD (Rhee, 2011) (Kikuchi T. M., 2017). Δεν παρατηρήθηκε σχηματισμός όγκου για έως και 12 μήνες μετά τη μεταμόσχευση.

Το επιγενετικό τοπίο των επαγόμενων πολυδύναμων στελεχειαίων κυττάρων

Για να αποκτήσει πολυδυναμικότητα, ένα σωματικό κύτταρο πρέπει να επαναπρογραμματιστεί από μια διαφοροποιημένη κατάσταση σε μια ανεκτική κατάσταση παρόμοια με το πρώιμο έμβρυο. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας επαναπρογραμματισμού, το

γονιδίωμα μπορεί να μεταβληθεί μόνιμα μέσω ανώμαλης αποτύπωσης, ενεργοποίησης ενδογενών ρετροϊών (Ohnuki, 2014) και ελλιπούς επαναπρογραμματισμού.

Τα iPSCs που προέκυψαν από επαναπρογραμματισμό επιδεικνύουν υπογραφές μεθυλίωσης του DNA παρόμοιες με τα προερχόμενα από σωματικό ιστό, οι οποίες προωθούν τη διαφοροποίησή τους σε κυτταρικές σειρές που σχετίζονται με το κύτταρο δότη και περιορίζουν τη συμμετοχή τους σε άλλες κυτταρικές μοίρες (Kim K. D., 2010) (Lister, 2011) (Ohi, 2011). Ο επαναπρογραμματισμός δημιουργεί επίσης ανώμαλη διαφορική μεθυλίωση (συχνά μείωση της μεθυλίωσης του DNA) που διαφέρει από το σωματικό κύτταρο δότη ή το hESC (Lister, 2011). Σε γενικές γραμμές, τα hiPSCs διατηρούν την ειδική επιγενετική τους υπογραφή σε όλη τη διαφοροποίηση και ως αποτέλεσμα, αναφέρθηκε ότι είχαν μειωμένο δυναμικό διαφοροποίησης σε σύγκριση με τα hESCs (Kim K. D., 2010) (Lister, 2011) (Polo, 2010). Ενώ η παρατεταμένη επέκταση των iPSCs στην καλλιέργεια μπορεί να επαναφέρει τα iPSCs και επιτρέπει την απώλεια αυτής της επιγενετικής μνήμης (Nishino, 2011), η εκτεταμένη καλλιέργεια προάγει επίσης τη συσσώρευση γενετικών ελαττωμάτων όπως συζητήθηκε προηγουμένως, και προκαλεί άλλες επιγενετικές ανωμαλίες όπως διάβρωση του χρωμοσώματος X στα θηλυκά hPSCs (Kim K. H., 2014) (Silva, 2008). Εκτός από την πρόκληση διαφοροποιητικών ελαττωμάτων, οι επιγενετικές αλλοιώσεις μπορεί να παράσχουν ένα πολλαπλασιαστικό πλεονέκτημα στα κύτταρα, λόγω για παράδειγμα μιας αυξημένης έκφρασης των ογκογονιδίων που εντοπίζονται στο επανενεργοποιημένο χρωμόσωμα X (Anguera, 2012), και εν δυνάμει ενέχουν πρόσθετους κινδύνους καρκίνου για την κλινική εφαρμογή των hiPSCs.

Ανοσολογική απόρριψη

Ένα κρίσιμο βήμα προς την επιτυχή κλινική εφαρμογή των hPSCs είναι να ξεπεραστεί η ανοσοαπόκριση που μπορεί να προκληθεί από τη μεταμόσχευσή τους. Από την πρωτοποριακή ανακάλυψή τους από τον Shinya Yamanaka το 2006, τα iPSCs έχουν φέρει επανάσταση στην αναγεννητική ιατρική. Εκτός από την αποφυγή των ηθικών ανησυχιών που συνδέεται με την καταστροφή ανθρώπινων εμβρύων, το κύριο πλεονέκτημα των hiPSCs έναντι των hESCs είναι ότι μπορούν να προέρχονται απευθείας από τους ίδιους τους ασθενείς και να χρησιμοποιούνται για αυτόλογη θεραπεία αντικατάστασης κυττάρων. Σε αντίθεση με ένα αλλογενές μόσχευμα που χρησιμοποιεί hESCs, η αυτόλογη μεταμόσχευση

με hiPSCs θα μπορούσε, θεωρητικά, να προκαλέσει αμελητέα ανοσοαπόκριση, εξαλείφοντας τον κίνδυνο απόρριψης μοσχευμάτων.

Η ανοσογονικότητα των iPSCs δεν αμφισβητήθηκε αρχικά, καθώς φαινόταν προφανές ότι τα επαναπρογραμματισμένα iPSCs έφεραν τους ίδιους δείκτες ανοσογονικότητας που εξέφραζαν στην αρχική σωματική τους κατάσταση. Ο Zhao και οι συνεργάτες του, το 2011, ήταν οι πρώτοι που διερεύνησαν το ζήτημα εξετάζοντας τις ανοσολογικές αντιδράσεις που πυροδοτούνται από αυτομόσχευμα μη διαφοροποιημένων iPSCs από ποντίκι και άνθρωπο σε συγγενικά ή εξανθρωπισμένα ποντίκια αντίστοιχα (Zhao T. Z., 2011) (Zhao T. Z., 2015). Αν και τα αυτόλογα κύτταρα θεωρήθηκαν γενικά ανοσο-ανεκτά από τον παραλήπτη από τον οποίο προήλθαν αρχικά, μια απροσδόκητη ανοσοαπόκριση στα τερατώματα που δημιουργήθηκαν από αυτόλογα iPSCs ποντικού ή ανθρώπου (αλλά όχι mESCs) αναφέρθηκε και συσχετίστηκε με διήθηση με T λεμφοκύτταρα και νέκρωση (Zhao T. Z., 2011). Ομοίως, η μεταμόσχευση αυτόλογων hiPSCs προερχόμενων από κύτταρα λείου μυός (SMCs) σε σκελετικούς μύες εξανθρωπισμένων ποντικών πυροδότησαν μια ανοσογονική απόκριση και κατέληξε σε διήθηση του μοσχεύματος με T κύτταρα, ενώ τα αυτόλογα κύτταρα προερχόμενα από HiPSCs του μελάγχρου επιθήλιου του αμφιβληστροειδούς (RPE) ήταν καλά ανεκτά και εμφάνισαν χαμηλή ανοσογονικότητα τόσο στα μάτια όσο και στους σκελετικούς μύες (Zhao T. Z., 2015). Επειδή χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι χωρίς ενσωμάτωση για τον επαναπρογραμματισμό, δεν μπορούσε να προκληθεί ανοσοαπόρριψη από κακοήγη μετασχηματισμό λόγω της ολοκλήρωσης του φορέα. Αυτά τα αποτελέσματα προκάλεσαν αρχικά σοβαρές αμφιβολίες σχετικά με την πιθανή χρήση των hiPSCs στην αναγεννητική ιατρική.

Ωστόσο, πολλές μελέτες από τότε αντισταθμίζουν αυτήν την αρχική παρατήρηση. Η ανοσογονικότητα του ενδοθηλίου, των ηπατοκυττάρων και των νευρικών κύτταρων που προέρχονται από ESCs και iPSCs ελέγχθηκαν με αξιολόγηση της απόκρισης των κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων *in vitro* και *in vivo* μετά τη μεταμόσχευση σε συγγενικά ποντίκια. Καμία ανοσοαπόκριση δεν παρατηρήθηκε στα συγγενικά iPSCs (Guha, 2013). Ομοίως, διαφοροποιημένοι ιστοί δέρματος και μυελού των οστών προερχόμενοι από iPSCs ποντικού δεν έδειξαν καμία διαφορά στο ποσοστό επιτυχίας της μεταμόσχευσης σε σύγκριση με τους ιστούς που προήρθαν από ESCs ποντικού. Επιπλέον, καμία ανοσοαπόκριση, συ-

μπεριλαμβανομένης της διήθησης με T κύτταρα, δεν παρατηρήθηκε για ιστούς προερχόμενους από συγγενικά iPSCs ή ESCs (Araki, 2013). Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν περαιτέρω από την επιτυχή μεταμόσχευση iPSC-NPCs χοίρου στο νωτιαίο μυελό συγγενικών μίνι χοίρων απουσία ανοσοκαταστολής. Σημειώθηκε μακροχρόνια επιβίωση με νευρική και γλοιακή διαφοροποίηση και καμία ανοσολογική απόρριψη των μεταμοσχευμένων κυττάρων (Strnadel, 2018). Πιο πρόσφατα, πρόγονοι hiPSC-DANs που προέρχονται από τον ασθενή παρατηρήθηκε ότι προκαλούν ανοσοαπόρριψη μετά τη μεταμόσχευση σε αλλογενή εξανθρωπισμένα ποντίκια, αλλά έδειξαν απουσία ανοσογονικότητας όταν μεταμοσχεύτηκαν σε εκ του ασθενή εξανθρωπισμένα ποντίκια (χρησιμοποιώντας μονοπύρηνια κύτταρα περιφερικού αίματος του ασθενούς) (Schweitzer, 2020).

Διάφοροι μηχανισμοί όπως η επιγενετική και γενετική αστάθεια στο hiPSCs θα μπορούσαν να εξηγήσουν τις ανοσοαποκρίσεις στους αποδέκτες των μεταμοσχεύσεων α-κόμη και όταν μεταμοσχεύονται διαφοροποιημένα κύτταρα. Η ανοσοαπόκριση του ξενιστή (διήθηση με T κύτταρα) στα hiPSCs φαίνεται να εξαρτάται από το αντιγονικό προφίλ του μοσχεύματος. Έκφραση ανοσογονικών αντιγόνων, Zg16 και Hormad1, βρέθηκε σε SMCs προερχόμενα από hiPSCs, αλλά όχι σε RPE προερχόμενο από hiPSCs, και πιθανώς εξηγεί τη διαφορά στην ανοσογονικότητα αυτών δύο hiPSCs παραγώγων μετά από μεταμόσχευση σε εξανθρωπισμένα ποντίκια (Zhao T. Z., 2015). Πρώτον, επιγενετικές ανωμαλίες που παρατηρήθηκαν στα hiPSCs θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε ανώμαλη έκφραση ανοσογονικών πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια συγκεκριμένης κυτταρικής σειράς διαφοροποίηση των hiPSCs αλλά όχι των hESC. Δεύτερον, γονιδιακές μετατοπίσεις ή σημειακές μεταλλάξεις αποκτημένες κατά τη διαδικασία του επαναπρογραμματισμού θα μπορούσαν να δημιουργήσουν νέους ανοσογονικούς καθοριστικούς παράγοντες. Είναι σημαντικό ότι, παρά τη διαμάχη, η έλλειψη ανοσογονικότητας των κυττάρων που προέρχονται από hiPSCs έχει επιβεβαιωθεί στον ασθενή που έλαβε το δικό του RPE προερχόμενο από hiPSCs για τη θεραπεία του εκφυλισμού της ωχράς κηλίδας (Mandai, 2017) και στον ασθενή του Πάρκινσον που μεταμοσχεύτηκε με τους δικούς του hiPSC-DAN προγόνους (Schweitzer, 2020).

Πολλές πρακτικές ανησυχίες προκύπτουν με την αυτόλογη μεταμόσχευση. Οι αυτόλογες hiPSC-κυτταρικές θεραπείες είναι μια έντονη εργασία και μια πολύ χρονοβόρα διαδικασία. Η πίεση του χρόνου που συχνά σχετίζεται με τις θεραπευτικές καταστάσεις

όπως σοβαρή SCI ή εγκεφαλικό επεισόδιο είναι ασυμβίβαστη με το χρόνο που απαιτείται για την εκτέλεση εξατομικευμένων εργασιών βλαστικών κυττάρων (π.χ. εξαγωγή hiPSCs από τον ασθενή, αποθήκευση κυττάρων και διαφοροποίηση στο σχετικό τύπο κυττάρων). Η πρώιμη νευρωνική μεταμόσχευση ακολούθως της SCI είναι πράγματι πολύ ευεργετική καθώς μπορεί να αποτρέψει δευτερογενή τραυματισμό και ενισχύει την ανάρρωση (All A. B., 2012) (All A. G., 2015). Η χρήση αλλογενών hiPSC/hESC σειρών για επακόλουθη χορήγηση σε ασθενείς με SCI είναι πιθανώς πιο εφικτές. Μια άλλη ανησυχία είναι η κατάσταση της νόσου των κυττάρων του δότη από ασθενείς που έχουν ειδικό γενετικό υπόβαθρο για την ασθένεια. Για να αποφευχθεί η υποτροπή της νόσου, η μετάλλαξη που προκαλεί την ασθένεια θα πρέπει να διορθωθεί στα hPSCs πριν από τη μεταμόσχευση, ή η αλλογενή μεταμόσχευση μπορεί επίσης να γίνει η προτιμώμενη επιλογή για γενετικές εκφυλιστικές ασθένειες.

Σε αντίθεση με τα hiPSCs, ένα αλλογενές μόσχευμα που χρησιμοποιεί hESCs θα απαιτούσε αναμφισβήτητα κάποια μορφή φαρμακολογικής ανοσοκαταστολής για να αποφευχθεί η απόρριψη από το ανοσοποιητικό σύστημα του παραλήπτη. Η μακροπρόθεσμη ανοσοκαταστολή επιφυλάσσει κινδύνους λοιμώξεων και καρκίνου και μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές επιπλοκές όπως καρδιαγγειακές παθήσεις (López, 2006). Το υψηλά πολυμορφικό σύμπλεγμα μείζονος ιστοσυμβατότητας (MHC), γνωστό ως HLA (Human Leukocyte Antigen) Κατηγορίας I και II στον άνθρωπο, επιτρέπει στο ανοσοποιητικό σύστημα να αναγνωρίζει τα κύτταρα του ίδιου του σώματος και να στοχεύει τα ξένα στοιχεία. Τα hESCs εκφράζουν χαμηλό επίπεδο μορίων HLA κατηγορίας I αλλά όχι κατηγορίας II. Έχει αρχικά προταθεί ότι τα hESCs διαθέτουν μοναδικά ανοσο-προνομιακά χαρακτηριστικά καθώς έχουν μια πολύ ασθενέστερη ικανότητα διέγερσης των T κυττάρων σε σύγκριση με άλλους τύπους μοσχευμάτων και μπορεί να αποφευχθεί η ανοσοαπόρριψη (Li L. B., 2004) (Drukker, 2006). Ωστόσο, τα αλλογενή NK κύτταρα μπορούν να εξαλείψουν τα ανθρώπινα ESCs in vitro και in vivo (Benabdallah, 2019) (Perez-Cunningham, 2014). Δεύτερον, μετά τη μεταμόσχευση τα hESCs θα υποστούν διαφοροποίηση σε διάφορους τύπους κυττάρων που εκφράζουν μόρια HLA, οδηγώντας σε ισχυρή T-εξαρτώμενη αλλογενή απόρριψη.

Στη μεταμόσχευση οργάνων, η αντιστοίχιση HLA-A, -B και -DR βελτιώνει τα ποσοστά επιβίωσης του μοσχεύματος (Sheldon, 2006) και θα μπορούσε να αντιπροσωπεύει μια

πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τη μείωση της χρήσης ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων στις διαδικασίες μεταμόσχευσης hPSCs . Ωστόσο, η αντιστοίχιση τύπων HLA μεταξύ δωρητών και παραληπτών είναι εξαιρετικά δύσκολη. Ένας τρόπος για την παραγωγή HLA συμβατών κυττάρων για θεραπεία με βάση τα κύτταρα είναι με τη χρήση ιστοσυμβατών hPSCs με ομόζυγους HLA τόπους. Αυτή η στρατηγική όχι μόνο μειώνει σημαντικά την πιθανότητα να απορριφθούν τα παράγωγα κύτταρα από το ανοσοποιητικό σύστημα του παραλήπτη, αλλά επίσης κάνει μία μονή κυτταρική σειρά κατάλληλη για εκατομμύρια ασθενείς. Ένας σχετικά μικρός αριθμός HLA ομόζυγων κυτταρικών σειρών θα μπορούσαν να είναι επαρκείς για την παροχή ανοσολογικά συμβατών κυττάρων σε μεγάλο ποσοστό του παγκόσμιου πληθυσμού. Υπολογίζεται ότι επιλέγοντας αυτά τα ομόζυγα για τους 10 πιο συχνούς HLA-A, -B ή -DRB1 απλότυπους, 10, 75 και 140 HLA-ομόζυγες iPSC κυτταρικές σειρές θα ταιριάζουν περίπου στο 50%, 80% και 90% του κορεάτικου/ιαπωνικού πληθυσμού αντίστοιχα (Lee S. H., 2018) (Umekage, 2019). Αυτή η στρατηγική θα είναι πιο δύσκολη για πληθυσμούς με υψηλότερη φυλετική και γενετική ποικιλομορφία, όπως οι ΗΠΑ. Μια τράπεζα 100 hiPSC κυτταρικών σειρών ομόζυγων για το πιο συχνό HLA σε κάθε πληθυσμό θα μπορούσε να ταιριάζει με το 88% των Ευρωπαίων Αμερικανών, το 63% των Ασιατών Αμερικανών, το 52% των Ισπανόφωνων Αμερικανών και το 45% μόνο των Αφρικανών Αμερικανών (Gourraud, 2012). Η στόχευση HLA ειδικών αλληλόμορφων πραγματοποιήθηκε επίσης σε ετερόζυγα hiPSCs για τη δημιουργία ψευδο-ομόζυγων HLA hiPSCs που θα μπορούσε να μειώσει τον αριθμό των δοτών που χρειάζονται για την HLA αντιστοίχιση (Xu H. W., 2019). Η MHC αντιστοίχιση δοκιμάστηκε για ντοπαμινεργικά μοσχεύματα σε NHPs και κατάφερε να μειώσει την ανοσοαπόκριση και να βελτιώσει την εμφύτευση του μοσχεύματος (Morizane, 2017). Αυτή η ιδέα όμως πρόσφατα αμφισβητήθηκε. Ελλείπει ανοσοκαταστολής, η αντιστοίχιση MHC από μόνη της είναι ανεπαρκής για να αποφευχθεί η μακροχρόνια απόρριψη των νευρωνικών μοσχευμάτων προερχόμενων από iPSCs στον τραυματισμένο εγκέφαλο NHP (Badin, 2019). Παρομοίως, αν και η ανοσογονικότητα των αλλογενών iPSC-καρδιομυοκυττάρων (CMs) μειώθηκε με την MHC-αντιστοίχιση, δεν καταργήθηκε πλήρως και απαιτούνταν ένα κατάλληλο επίπεδο ανοσοκαταστολής για τον επιτυχή εμβολιασμό στην καρδιά μακάκων (Kawamura, 2016).

Εναλλακτικά, ορισμένες ομάδες έχουν ξεκινήσει να δημιουργούν καθολικά βλαστικά κύτταρα ικανά να αποφεύγουν το ανοσοποιητικό σύστημα κάθε ασθενούς. Αυτή η

προσέγγιση συνίσταται στο χειρισμό γονιδίων που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες HLA I και II (Xu H. W., 2019) (Deuse, 2019) (Jang, 2019) (Han X. W., 2019). Ενώ η κατάλυση των HLA κατηγορίας II μπορεί να επιτευχθεί με τη στόχευσή του κύριου μεταγραφικού ρυθμιστή CIITA, η διαταραχή του γονιδίου της β₂ μικροσφαιρίνης (B2M) εξαλείφει την επιφανειακή έκφραση όλων των μορίων HLA τάξης Ia και b και αποτρέπει την αναγνώριση των κυττάρων ως αλλογενή από τα CD8⁺ T κύτταρα. Ωστόσο, τα B2M KO hPSCs καθίστανται ευάλωτα σε NK κυτταρικής διαμεσολάβησης απόρριψη μέσω της απουσίας αυτοαπόκρισης. Η αναγκαστική έκφραση του ελάχιστα πολυμορφικού HLA-E είναι ένας τρόπος για να προσδώσουμε αντίσταση στα NK κύτταρα όταν αφαιρείται το HLA I (Gornalusse, 2017). Ατομική διαγραφή των υψηλά πολυμορφικών HLA τάξης Ia (HLA-A, -B, -C) γονιδίων αντιπροσωπεύουν μια άλλη στρατηγική για την προστασία των κυττάρων δότη από την κυτταροτοξικότητα που προκαλείται από τα CD8⁺ T κύτταρα χωρίς την απώλεια των HLA κλάσης Ib (μη πολυμορφικό HLA-E, -G) προστατευτική λειτουργία έναντι της λύσης που προκαλείται από τα NK κύτταρα (Xu H. W., 2019) (Han X. W., 2019). Υπερέκφραση του PDL1 και CD47 επίσης παρέχει ένα επιπλέον πλεονέκτημα προστατεύοντας τα κύτταρα από την απόρριψη των T κυττάρων και αποτρέποντας αντίστοιχα την καταπίεση των μακροφάγων (Deuse, 2019) (Han X. W., 2019). Μηχανικά υπο-ανοσογόνα hPSCs επέδειξαν μειωμένη ανοσολογική απόρριψη in vivo, ξεκλειδώνοντας το πλήρες δυναμικό τους για την αναγεννητική ιατρική.

Πιθανός κίνδυνος εμφύτευσης MSCs

Αν και έχει αναφερθεί ένας μεγάλος αριθμός προκλινικών και κλινικών μελετών, η ασφάλεια των θεραπειών που σχετίζονται με τα MSCs παραμένει το μεγαλύτερο πρόβλημα για τις κλινικές εφαρμογές. Οι κύριοι κίνδυνοι των MSCs είναι η ογκογονικότητα, η προφλεγμονή και η ίνωση.

Η ογκογένεση είναι ένας από τους πιο σοβαρούς παράγοντες κινδύνου. Από τη μία πλευρά, τα MSCs έχουν την ικανότητα να εξελιχθούν σε όγκους και ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι τα κύτταρα σαρκώματος του Ewing προέρχονται από MSCs (Lin P. W., 2011). Επιπλέον, ένα περιστατικό γλοιώματος εμφανίστηκε τέσσερα χρόνια μετά τη μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων για την αταξία-τηλαγγειεκτασία και τα καρκινικά κύτταρα αποδείχθηκε ότι προέρχονταν από μοσχεύματα (Amariglio, 2009). Από την άλλη πλευρά, τα MSCs προάγουν την ανάπτυξη όγκων. Περίσσεια κυτοκινών που παράγονται από τα

MSCs, όπως χημειοκίνες και αυξητικοί παράγοντες, δρουν άμεσα στους υποδοχείς στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων και έτσι ρυθμίζουν την ανάπτυξη του όγκου. Η ανοσοκατασταλτική ικανότητα των MSCs συμβάλλει στην ανάπτυξη όγκων και τη μετάσταση καρκινικών κυττάρων (Uccelli, 2008) (Karnoub, 2007). Επιπλέον, τα MSC έχουν προ-αγγειογενετικές λειτουργίες στο πλαίσιο της ανάπτυξης όγκου (Weis, 2011).

Τα MSCs εμφανίζουν ανοσοκατασταλτικά αποτελέσματα όταν εκτίθενται σε αρκετά υψηλά επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών. Ωστόσο, προάγουν φλεγμονώδεις αποκρίσεις παρουσία χαμηλών επιπέδων TNF- α και IFN- γ (Li W. R., 2012). Δείχνει ότι τα MSCs πρέπει να προκαλούνται από φλεγμονώδεις κυτοκίνες για να γίνουν ανοσοκατασταλτικά, και το φλεγμονώδες περιβάλλον είναι ένας κρίσιμος παράγοντας που επηρεάζει το ανοσολογική ρύθμιση των MSCs.

Εκτός από την επιδιόρθωση ιστών, τα MSCs παράγουν επίσης ινωτικές αντιδράσεις. Για παράδειγμα, τα MSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μυοϊνοβλάστες (Porona, 2010). Επιπλέον, η ισορροπία μεταξύ επιδιόρθωσης και ίνωσης των MSCs διαταράσσεται κατά τη διαδικασία της αποκατάστασης τραυματισμών, η οποία οδηγεί σε ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση (Collins, 2014).

Προκειμένου να βελτιωθεί η θεραπευτική επίδραση των MSCs και να μειωθούν οι πιθανοί κίνδυνοι πρέπει να εφαρμοστούν ορισμένα μέτρα, όπως η μείωση των υπερβολικών κυτοκινών, η περαιτέρω διερεύνηση των ανοσορρυθμιστικών επιπτώσεων των MSCs και ο καθορισμός αυστηρών προκλινικών κανόνων δοκιμής βιοασφάλειας. Ευτυχώς, σοβαρά δυσμενή συμβάντα ήταν σπάνια σύμφωνα με την αξιολόγηση των κλινικών δοκιμών της θεραπείας με MSCs (Lalu, 2012). Ωστόσο, αυτή η μελέτη αποδεικνύει μόνο ότι τα MSCs είναι καλά ανεκτά και ασφαλή βραχυπρόθεσμα. Καθώς η ανάπτυξη του καρκίνου είναι μία συνεχής διαδικασία, απαιτούνται περαιτέρω μακροπρόθεσμες και ευρύτερες ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές για τον προσδιορισμό της ασφάλειας των MSCs.

Συμπεράσματα και προοπτικές

Τις τελευταίες δεκαετίες, οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες και ο τραυματισμός του νευρικού συστήματος υπήρξαν σημαντικό σημείο εστίαση της αναγεννητικής ιατρικής, με πολλές μελέτες αφιερωμένες στην ανάπτυξη αποτελεσματικών και κλινικά σχετικών θεραπειών αντικατάστασης hPSCs για τη θεραπεία μιας ποικιλίας νευρολογικών διαταραχών. Ωστόσο, η κλινική σκοπιμότητα αυτών των θεραπειών απαιτεί περαιτέρω αξιολόγηση. Μια βαθύτερη κατανόηση των μονοπατιών και των μηχανισμών διαφοροποίησης θα επιτρέψουν την ανάπτυξη καθορισμένων κυτταρικών πληθυσμών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως η πιο ισχυρή θεραπεία. Επιπλέον, ο αυξημένος κίνδυνος καρκίνου που προκαλείται από τη χρήση των hiPSCs εγείρει σοβαρές επιφυλάξεις σχετικά με την ανάπτυξη αυτόλογων κυτταρικών θεραπειών. Μελλοντικές κατευθύνσεις θα επικεντρωθούν στην αποθήκευση κλινικά ασφαλών και καθολικά συμβατών hPSCs για να ξεπεραστεί η πρόκληση της ανοσολογικής απόρριψης. Ωστόσο, οι θεραπείες hPSCs παρέχουν πραγματική ελπίδα για ένα ευρύ φάσμα επί του παρόντος καταστροφικών εκφυλιστικών ασθενειών και τελικά θα αλλάξουν τον τρόπο που βλέπουμε τη γήρανση και το σχετιζόμενος εκφυλισμός των ιστών επαναπροσδιορίζοντας το αδύνατο.

Η μαγική ικανότητα της αναγέννησης των κατεστραμμένων τμημάτων του σώματος για να ανακτήσουν τη χαμένη λειτουργικότητα ήταν από καιρό ένα όνειρο της ανθρωπότητας. Έχουν περάσει 50 χρόνια από τότε που τα MSCs εντοπίστηκαν για πρώτη φορά και έχουν ακολουθήσει αρκετές εξελίξεις στην ιστομηχανική με αυτά ως βάση. Τα τελευταία χρόνια, η βελτιστοποίηση της εξαγωγής, της καλλιέργειας και των μεθόδων διαφοροποίησης επέτρεψαν στα MSCs να πλησιάσουν περισσότερο στην κλινική εφαρμογή τους για θεραπεία ασθενειών και ανασυγκρότηση ιστών. Τρεις ιδιότητες των MSCs τα καθιστούν ιδανικά για αναγέννηση ιστών: (1) ανοσορρυθμιστική ικανότητα ευεργετική για την εξάλειψη ανώμαλων ανοσολογικών αποκρίσεων, (2) παρακρινική ή αυτοκρινική λειτουργία που παράγει αυξητικούς παράγοντες και (3) ικανότητα διαφοροποίησης σε κύτταρα στόχους. Προηγούμενες μελέτες της αναγεννητικής ιατρικής με βάση τα MSCs επικεντρώθηκαν κυρίως σε μυοσκελετικούς ιστούς. Ωστόσο, η πρόσφατη πρόοδος έχει επεκτείνει τις εφαρμογές τους σε άλλους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του ΚΝΣ, της καρδιάς, του ήπατος, του κερατοειδή και της τραχείας. Οι επαγωγικοί παράγοντες είναι ένας από τους πιο κρίσιμους παράγοντες που επηρεάζουν το αποτέλεσμα της MSC θεραπείας, η οποία

επιταχύνει απότομα τη διαδικασία επιδιόρθωσης των MSC στους ιστούς. Τα ικρίωματα παρέχουν το περιβάλλον για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των MSCs και παράγουν κάποια μηχανική διέγερση στα MSCs, η οποία είναι επωφελής για περαιτέρω εφαρμογές των MSCs. Επιπλέον, ικρίωματα φορτωμένα με παράγοντες επαγωγής ενισχύουν τις θεραπευτικές επιδράσεις των MSCs κάτι που αξίζει επίσης να μελετηθεί περαιτέρω. Τα ικρίωματα και οι επαγωγικοί παράγοντες παραμένουν απαραίτητοι παράγοντες σε αυτές τις διαδικασίες. Ως εκ τούτου, μελλοντική έρευνα για προηγμένα υλικά και ικανούς επαγωγικούς παράγοντες θα προωθήσουν τις περαιτέρω εφαρμογές των MSCs στην αναγεννητική ιατρική.

Αν και τα MSCs έχουν πολλά πλεονεκτήματα, υπάρχουν ακόμη πολλές προκλήσεις που πρέπει να ξεπεραστούν. Οι μοναδικές ανοσορυθμιστικές ιδιότητες των MSCs είναι απαραίτητες για τις λειτουργίες τους, αλλά οι μηχανισμοί της ανοσολογικής ρύθμισης των MSCs δεν έχει διευκρινιστεί. Διαφορετικοί ερευνητές έχουν διαφορετικές μεθόδους απομόνωσης και καλλιέργειας των MSCs, αν και το πρωτογενές μέσο είναι παρόμοιο. Ωστόσο, διαφορετικές συνθήκες καλλιέργειας, όπως το FBS, τα συμπληρώματα, η πυκνότητα σποράς των κυττάρων και το οξυγόνο, μπορεί να επηρεάσουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και το δυναμικό διαφοροποίησης (Tsumi, 2001) (Shahdadfar, 2005) (Berniakovich, 2013). Επομένως, πρέπει να διαμορφωθεί ένα τυπικό πρωτόκολλο για την *in vitro* καλλιέργεια των MSCs. Επιπλέον, τα κρυοσυντηρημένα MSCs έχουν χαμηλή βιωσιμότητα, κάτι που θα επηρεάσει τις περαιτέρω εφαρμογές των κυττάρων (Holubova, 2014). Προσθέτως, η ηλικία των δοτών επηρεάζει επίσης τον πολλαπλασιασμό και το δυναμικό διαφοροποίησης των MSCs, και τα MSCs από νέους δότες εμφανίζουν μικρότερη ζημιά και καλύτερο πολλαπλασιασμό (Stolzinger, 2008). Συμπεραίνουμε ότι πολλοί παράγοντες επηρεάζουν το θεραπευτικό δυναμικό των MSCs, όπως παράγοντες επαγωγής, συγκεντρώσεις οξυγόνου και μηχανικά ερεθίσματα. Ως εκ τούτου, βελτιστοποιώντας τις συνθήκες καλλιέργειας των MSCs μπορεί να είναι ένα αποτελεσματικό μέσο για τη βελτίωση του θεραπευτικού δυναμικού των MSCs έτσι ώστε να επιτευχθεί επιδιόρθωση ιστών με επιτυχία.

Για κλινικές εφαρμογές, τα αυτόλογα και τα αλλογενή MSCs έχουν αναφερθεί αμφότερα ως πηγές για αναγέννηση ιστών. Συγκεκριμένα, τα αυτόλογα MSCs αντιπροσωπεύουν τις κύριες πηγές που θεωρούνται ασφαλείς για μεταμόσχευση και ελαχιστοποίηση

του ανοσολογικού κινδύνου, παρά την έλλειψη τεκμηριωμένων παραπόνων σχετικά με την αλλογενή θεραπεία με βάση τα MSCs. Επιπλέον, το ογκογονικό δυναμικό της ανεξέλεγκτης διαφοροποίησης των MSCs πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω. Το διαφοροποιητικό δυναμικό, οι δείκτες επιφάνειας και η μεταγραφή MSCs προερχόμενων από διάφορους ιστούς είναι δύσκολο να είναι ενοποιημένα, γεγονός που αναμφίβολα αποτελεί εμπόδιο στον κλινικό μετασχηματισμό των MSCs.

Στην κλινική, η επίδραση των MSCs στα ανθρώπινα κλινικά αποτελέσματα δεν έχει επιτύχει εύκολα το κυρίως θετικό αποτέλεσμα στον ποντικό. Τα διαφορετικά αποτελέσματα αποδίδονται κυρίως στην ανοσοσυμβατότητα και την καταλληλότητα των MSCs. Η επέκταση των ενδείξεων των ασθενειών και η μείωση των διαφορών μεταξύ διαφορετικών ατόμων είναι προκλήσεις στη μελλοντική έρευνα των μεσεγχυματικών στελεχιαίων κυττάρων. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται στη φυσιολογία των κυττάρων σχετικά με τον τρόπο λειτουργίας των MSCs in vivo και πώς να επιτευχθεί ακριβής διαχείριση.

Παρά τις τρέχουσες προκλήσεις, η ιστομηχανική με βάση τα MSCs αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη κλινική στρατηγική στον τομέα της αναγεννητικής ιατρικής. Επιπλέον, η βελτίωση του καλλιεργητικού περιβάλλοντος των MSCs και η επιλογή των κατάλληλων ικριωμάτων και επαγωγικών παραγόντων είναι απαραίτητα για τη θεραπεία με MSCs.

Αναφορές

- Abumaree, M. A. (2013). Human placental mesenchymal stem cells (pMSCs) play a role as immune suppressive cells by shifting macrophage differentiation from inflammatory M1 to anti-inflammatory M2 macrophages. *Stem Cell Reviews and Reports*, 9(5), σσ. 620-641.
- Abumaree, M. A. (2013). Phenotypic and functional characterization of mesenchymal stem cells from chorionic villi of human term placenta. *Stem Cell Reviews and Reports*, 9(1), σσ. 16-31.
- Aggarwal, S. P. (2005). Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*, 105(4), σσ. 1815-1822.
- Agung, M. O. (2006). Mobilization of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into the injured tissues after intraarticular injection and their contribution to tissue regeneration. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 14(12), σσ. 1307-1314.
- Ahrens, N. T. (2004). Mesenchymal stem cell content of human vertebral bone marrow. *Transplantation*, 78(6), σσ. 925-929.
- Aktas, E. C.-K.-M. (2017). Immune modulation with primed mesenchymal stem cells delivered via biodegradable scaffold to repair an Achilles tendon segmental defect. *Journal of Orthopaedic Research*, 35(2), σσ. 269-280.
- Al-Gharaibeh, A. C. (2017). Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Stem Cell Transplantations Reduced Behavioral Deficits and Ameliorated Neuropathological Changes in YAC128 Mouse Model of Huntington's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 11, σσ. 1-13. doi:10.3389/fnins.2017.00628
- Alizadeh, A. D.-A. (2019). Traumatic Spinal Cord Injury: An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms. *Frontiers in Neurology*, 10, σσ. 1-25. doi:10.3389/fneur.2019.00282
- All, A. B. (2012). Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitors aid in functional recovery of sensory pathways following contusive spinal cord injury. *PLoS One*, 7(10), σσ. 1-11. doi:10.1371/journal.pone.0047645
- All, A. G. (2015). Early intervention for spinal cord injury with human induced pluripotent stem cells oligodendrocyte progenitors. *PLoS One*, 10(1), σσ. 1-27. doi:10.1371/journal.pone.0116933
- Amariglio, N. H. (2009). Donor-Derived Brain Tumor Following Neural Stem Cell Transplantation in an Ataxia Telangiectasia Patient. *PLoS Medicine*, 6, doi:10.1371/journal.pmed.1000029

- Anderson, N. V. (2018). Pluripotent stem cell-derived interneuron progenitors mature and restore memory deficits but do not suppress seizures in the epileptic mouse brain. *Stem Cell Research*, 33, σσ. 83-94.
- Ando, M. N.-T. (2015). A Safeguard System for Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Rejuvenated T Cell Therapy. *Stem Cell Reports*, 5(4), σσ. 597-608.
- Andrzejewska, A. L. (2019). Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: From Roots to Boost. *Stem Cells*, 37(7), σσ. 855-864.
- Angelini, A. C. (2004). Pathological evidence of stem cell regeneration in the heart. *International Journal of Cardiology*, 96(3), σσ. 499-504.
- Angius, D. W.-C. (2012). A systematic review of animal models used to study nerve regeneration in tissue-engineered scaffolds. *Biomaterials*, 33(32), σσ. 8034-8039.
- Anguera, M. S. (2012). Molecular Signatures of Human Induced Pluripotent Stem Cells Highlight Sex Differences and Cancer Genes. *Cell Stem Cell*, 11(1), σσ. 75-90.
- Annas, G. (1999). Waste and longing--the legal status of placental-blood banking. *The New England Journal of Medicine*, 340(19), σσ. 1521-1524.
- Aragón, J. S. (2018). Polymeric electrospun scaffolds for bone morphogenetic protein 2 delivery in bone tissue engineering. *Journal of Colloid and Interface Science*, 531, σσ. 126-137.
- Araki, R. U. (2013). Negligible immunogenicity of terminally differentiated cells derived from induced pluripotent or embryonic stem cells. *Nature*, 494(7435), σσ. 100-104.
- Ashton, B. A. (1980). Formation of bone and cartilage by marrow stromal cells in diffusion chambers in vivo. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 151, σσ. 294-307.
- Askari, S. M. (2002). The role of the paternal health history in cord blood banking. *Transfusion*, 42(10), σσ. 1275-1278.
- Augello, A. K. (2010). Mesenchymal stem cells: a perspective from in vitro cultures to in vivo migration and niches. *eCM Journal*(20), σσ. 121-133.
- Badin, R. B. (2019). MHC matching fails to prevent long-term rejection of iPSC-derived neurons in non-human primates. *Nature Communications*, 10, σσ. 1-12. doi:10.1038/s41467-019-12324-0
- Bae, K. P. (2011). Neuron-Like Differentiation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Yonsei University College of Medicine*, 52(3), σσ. 401-412.
- Bae, S. L. (2018). 3D Bioprinted Artificial Trachea with Epithelial Cells and Chondrogenic-Differentiated Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), σσ. 1-14.

- Baharvand, H. A. (2004). Establishment and in vitro differentiation of a new embryonic stem cell line from human blastocyst. *Differentiation*, 72(5), σσ. 224-229.
- Bai, L. L. (2016). Bioactive molecules derived from umbilical cord mesenchymal stem cells. *Acta Histochemica*, 118(8), σσ. 761-769.
- Baker, E. P. (2017). Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Stem Cell Therapy Enhances Recovery in an Ischemic Stroke Pig Model. *Scientific Reports*, 7(1), σσ. 1-15. doi:10.1038/s41598-017-10406-x
- Ballen, K. (2005). New trends in umbilical cord blood transplantation. *Blood*, 105(10), σσ. 3786-3792.
- Ballen, K. H. (2002). Racial and ethnic composition of volunteer cord blood donors: comparison with volunteer unrelated marrow donors. *Transfusion*, 42(10), σσ. 1279-1284.
- Ballen, K. S. (2007). Double unrelated reduced-intensity umbilical cord blood transplantation in adults. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 13(1), σσ. 82-89.
- Ballen, K. W.-A. (2016). Infection Rates among Acute Leukemia Patients Receiving Alternative Donor Hematopoietic Cell Transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 22(9), σσ. 1636-1645.
- Banas, A. T. (2007). Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology*, 46(1), σσ. 219-228.
- Barker, J. B. (2010). Availability of cord blood extends allogeneic hematopoietic stem cell transplant access to racial and ethnic minorities. *Biol Blood Marrow Transplant*, 16(11), σσ. 1541-1548.
- Barker, J. W. (2001). Creation of a double chimera after the transplantation of umbilical-cord blood from two partially matched unrelated donors. *The New England Journal of Medicine*, 344(24), σσ. 1870–1871.
- Barker, J. W. (2003). Umbilical-cord blood transplantation for the treatment of cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3(7), σσ. 526–532.
- Barker, J. W. (2005). Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood*, 105(3), σσ. 1343-1347.
- Barker, R. P. (2017). Human Trials of Stem Cell-Derived Dopamine Neurons for Parkinson's Disease: Dawn of a New Era. *Cell Stem Cell*, 21(5), σσ. 569-573.
- Barzilay, R. M. (2009). Introducing transcription factors to multipotent mesenchymal stem cells: making transdifferentiation possible. *Stem Cells*, 27(10), σσ. 2509-2515.

- Bassi, E. A. (2011). Immune regulatory properties of multipotent mesenchymal stromal cells: Where do we stand? *World Journal of Stem Cells*, 3(1), σσ. 1-8.
- Bautista, G. C.-M. (2009). Cord blood transplants supported by co-infusion of mobilized hematopoietic stem cells from a third-party donor. *Bone Marrow Transplantation*, 43(5), σσ. 365–373.
- Beck, B. B. (2012). Mechanisms regulating epidermal stem cells. *The EMBO Journal*, 31(9), σσ. 2067-2075.
- Beeravolu, N. M.-C. (2017). Isolation and Characterization of Mesenchymal Stromal Cells from Human Umbilical Cord and Fetal Placenta. *Journal of Visualized Experiments*, 122, σσ. 1-13. doi:10.3791/55224
- Benabdallah, B. D.-L. (2019). Natural Killer Cells Prevent the Formation of Teratomas Derived From Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Frontiers in Immunology*, 10, σσ. 1-9. doi:10.3389/fimmu.2019.02580
- Bensaid, W. T. (2003). A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation. *Biomaterials*, 24(14), σσ. 2497-2502.
- Bentzinger, C. W. (2013). The emerging biology of muscle stem cells: implications for cell-based therapies. *Bioessays*, 35(3), σσ. 231-241.
- Berishvili, E. K. (2021). Treatment of COVID-19 Pneumonia: the Case for Placenta-derived Cell Therapy. *Stem Cell Reviews and Reports*, 17(1), σσ. 63-70.
- Bernal, W. W. (2013). Acute Liver Failure. *The New England Journal of Medicine*, 369(26), σσ. 2525–2534.
- Berniakovich, I. G. (2013). Low Oxygen Tension Maintains Multipotency, Whereas Normoxia Increases Differentiation of Mouse Bone Marrow Stromal Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(1), σσ. 2119-2134.
- Bertolo, A. M. (2012). Influence of different commercial scaffolds on the in vitro differentiation of human mesenchymal stem cells to nucleus pulposus-like cells. *European Spine Journal*, 21, σσ. 826–838 . doi:10.1007/s00586-011-1975-3
- Bizelli-Silveira, C. P.-N. (2018). Strontium enhances proliferation and osteogenic behavior of periodontal ligament cells in vitro. *Journal of Periodontal Research*, 53(6), σσ. 1020-1028.
- Blum, B. B. (2008). The Tumorigenicity of Human Embryonic Stem Cells. *Advances in Cancer Research*, 100, σσ. 133-158.
- Blurton-Jones, M. K.-C. (2009). Neural stem cells improve cognition via BDNF in a transgenic model of Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(32), σσ. 13594-13599.

- Boldt, C. B. (1990). Age-related macular degeneration. *Current Opinion in Ophthalmology*, 1(3), σσ. 247-257.
- Bond, A. M. (2015). Adult Mammalian Neural Stem Cells and Neurogenesis: Five Decades Later. *Cell Stem Cell*, 17(4), σσ. 385-395.
- Bongso, A. (2006). Blastocyst culture for deriving human embryonic stem cells. *Human Embryonic Stem Cell Protocols*, 331, σσ. 13-22.
- Bongso, A. R. (2004). History and perspective of stem cell research. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 18(6), σσ. 827-842.
- Bougioukli, S. S. (2018). Gene Therapy for Bone Repair Using Human Cells: Superior Osteogenic Potential of Bone Morphogenetic Protein 2-Transduced Mesenchymal Stem Cells Derived from Adipose Tissue Compared to Bone Marrow. *Human Gene Therapy*, 29(4), σσ. 507-519.
- Bouwens, L. (1998). Transdifferentiation versus stem cell hypothesis for the regeneration of islet beta-cells in the pancreas. *Microscopy Research & Technique*, 43(4), σσ. 332-336.
- Bray, L. H. (2014). Immunosuppressive properties of mesenchymal stromal cell cultures derived from the limbus of human and rabbit corneas. *Cytotherapy*, 16(1), σσ. 64-73.
- Bráz, J. S.-N.-B. (2012). Forebrain GABAergic neuron precursors integrate into adult spinal cord and reduce injury-induced neuropathic pain. *Neuron*, 74(4), σσ. 663-675.
- Bráz, J. W. (2015). Transplant-mediated enhancement of spinal cord GABAergic inhibition reverses paclitaxel-induced mechanical and heat hypersensitivity. *Pain*, 156(6), σσ. 1084-1091.
- Broxmeyer, H. (2004). *Cord Blood: Biology, Immunology, Banking, and Clinical* (1η εκδ.). AABB Press.
- Broxmeyer, H. (2004). *Cord blood: biology, immunology, banking, and clinical transplantation*. AABB Press.
- Broxmeyer, H. (2004). *Cord blood: biology, immunology, banking, and clinical transplantation*. (1η εκδ.). AABB Press.
- Broxmeyer, H. (2005). Biology of cord blood cells and future prospects for enhanced clinical benefit. *Cytotherapy*, 7(3), σσ. 209-218.
- Broxmeyer, H. C. (1997). High-efficiency recovery of immature haematopoietic progenitor cells with extensive proliferative capacity from human cord blood cryopreserved for 10 years. *Clinical and Experimental Immunology*, 107, σσ. 45-53.

- Broxmeyer, H. D. (1989). Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(10), σσ. 3828–3832.
- Broxmeyer, H. H. (1992). Growth characteristics and expansion of human umbilical cord blood and estimation of its potential for transplantation in adults. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(9), σσ. 4109–4113.
- Bruder, S. J. (1997). Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *Journal of Cellular Biochemistry*, 64(2), σσ. 278-294.
- Brunstein, C. B. (2007). Umbilical cord blood transplantation after nonmyeloablative conditioning: impact on transplantation outcomes in 110 adults with hematologic disease. *Blood*, 110(8), σσ. 3064–3070.
- Brunstein, C. F. (2011). Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood*, 118(2), σσ. 282-288.
- Bucan, V. V. (2019). Effect of Exosomes from Rat Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells on Neurite Outgrowth and Sciatic Nerve Regeneration After Crush Injury. *Molecular Neurobiology*, 56(3), σσ. 1812–1824.
- Burdick, J. V.-N. (2009). Engineered microenvironments for controlled stem cell differentiation. *Tissue Engineering Part A*, 15(2), σσ. 205-219.
- Burrow, K. H. (2017). Human Adipose-Derived Stem Cells Exhibit Enhanced Proliferative Capacity and Retain Multipotency Longer than Donor-Matched Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells during Expansion In Vitro. *Stem Cells International*, 2017, σσ. 1-15. doi:10.1155/2017/2541275
- Butler, J. E. (2017). Intravenous Allogeneic Mesenchymal Stem Cells for Nonischemic Cardiomyopathy. *Circulation Research*, 120(2), σσ. 332-340.
- Cai, S. P. (2011). Transplantation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells transfected with ectodysplasin for regeneration of sweat glands. *Chinese Medical Journal*, 124(15), σσ. 2260-2268.
- Calvo, M. D. (2019). The Genetics of Neuropathic Pain from Model Organisms to Clinical Application. *Neuron*, 104(4), σσ. 637-653.
- Campagnoli, C. R. (2001). Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood*, 98(8), σσ. 2396-2402.
- Caplan, A. (2009). Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *The Journal of Pathology*, 217(2), σσ. 318-324.

- Caplan, A. D. (2006). Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *Journal of Cellular Biochemistry*, 98(5), σσ. 1076-1084.
- Cathy, O. (2017). *Weapons of Math Destruction: How Big Data Increases Inequality and Threatens Democracy*. Chicago: Crown Random House.
- Cerletti, M. J. (2008). Highly efficient, functional engraftment of skeletal muscle stem cells in dystrophic muscles. *Cell*, 134(1), σσ. 37-47.
- Chang, D. L. (2013). Therapeutic potential of human induced pluripotent stem cells in experimental stroke. *Cell Transplantation*, 22(8), σσ. 1427-1440.
- Chang, J. P. (2017). Tissue-Engineered Tracheal Reconstruction Using Three-Dimensionally Printed Artificial Tracheal Graft: Preliminary Report. *Artificial Organs*, 38(6), σσ. E95-E105.
- Chang, Y. C. (2017). WNT/ β -Catenin signaling pathway regulates non-tumorigenesis of human embryonic stem cells co-cultured with human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Scientific Reports*, 7, σσ. 1-10. doi:10.1038/srep41913
- Chen, C. L. (2008). Trafficking of multipotent mesenchymal stromal cells from maternal circulation through the placenta involves vascular endothelial growth factor receptor-1 and integrins. *Stem Cells*, 26(2), σσ. 550-561.
- Chen, F. B. (2019). Bone morphogenetic protein 7 enhances the osteogenic differentiation of human dermal-derived CD105+ fibroblast cells through the Smad and MAPK pathways. *International Journal of Molecular Medicine*, 43(1), σσ. 37-46.
- Chen, M. G. (2018). Biomechanical Stimulus Based Strategies for Meniscus Tissue Engineering and Regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 24(5), σσ. 392-402.
- Chen, Y. S. (2008). Mesenchymal stem cells: a promising candidate in regenerative medicine. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(5), σσ. 815-820.
- Cheng, F. K. (2012). Protecting against wayward human induced pluripotent stem cells with a suicide gene. *Biomaterials*, 33(11), σσ. 3195-3204.
- Cheng, G. W. (2017). Let-7a-transfected mesenchymal stem cells ameliorate monocrotaline-induced pulmonary hypertension by suppressing pulmonary artery smooth muscle cell growth through STAT3-BMP2 signaling. *Stem Cell Research & Therapy*, 8(1), σσ. 1-11. doi:10.1186/s13287-017-0480-y
- Cheng, L. H. (2012). Low Incidence of DNA Sequence Variation in Human Induced Pluripotent Stem Cells Generated by Nonintegrating Plasmid Expression. *Cell Stem Cell*, 10(3), σσ. 337-344.
- Chew, E. P. (2017). Mesenchymal stem cells in human meniscal regeneration: A systematic review. *Annals of Medicine and Surgery*, 24, σσ. 3-7.

- Chien, K. (2008). Regenerative medicine and human models of human disease. *Nature*(453), σσ. 302–305.
- Chimutengwende-Gordon, M. K. (2012). Advances in the use of stem cells and tissue engineering applications in bone repair. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 7(2), σσ. 122-126.
- Choe, G. P. (2019). Studies on the effects of microencapsulated human mesenchymal stem cells in RGD-modified alginate on cardiomyocytes under oxidative stress conditions using in vitro biomimetic co-culture system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, σσ. 512-520.
- Chung, C. F. (2013). A Comparison of Neurosphere Differentiation Potential of Canine Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells and Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Journal of Veterinary Medical Science*, 75(7), σσ. 879-886.
- Clanton, T. C. (1998). Hamstring strains in athletes: diagnosis and treatment. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 6(4), σσ. 237-248.
- Codega, P. S.-V.-S. (2014). Prospective identification and purification of quiescent adult neural stem cells from their in vivo niche. *Neuron*, 82(3), σσ. 545-55.
- Collins, J. T. (2014). Lung Mesenchymal Stromal Cells in Development and Disease: To Serve and Protect? *Antioxidants & Redox Signaling*, 21(13), σσ. 1849-1862.
- Comar, M. D. (2014). In vivo detection of polyomaviruses JCV and SV40 in mesenchymal stem cells from human umbilical cords. *Pediatric Blood Cancer*, 61(8), σσ. 1347-1349.
- Comisso, E. S. (2017). OCT4 controls mitotic stability and inactivates the RB tumor suppressor pathway to enhance ovarian cancer aggressiveness. *Oncogene*, 36(30), σσ. 4253-4266.
- Cota-Coronado, A. R.-R.-C.-F.-G. (2019). Implications of human induced pluripotent stem cells in metabolic disorders: from drug discovery toward precision medicine. *Drug Discovery Today*, 24(1), σσ. 334-341.
- Crecente-Campo, J. B.-F. (2017). New scaffolds encapsulating TGF-β3/BMP-7 combinations driving strong chondrogenic differentiation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 114, σσ. 69-78.
- Cunningham, M. C. (2014). hPSC-derived maturing GABAergic interneurons ameliorate seizures and abnormal behavior in epileptic mice. *Cell Stem Cell*, 15(5), σσ. 559-573.
- Cutler, C. K. (2011). Donor-specific anti-HLA antibodies predict outcome in double umbilical cord blood transplantation. *Blood*, 118(25), σσ. 6691–6697.

- Cutler, C. S. (2011). Double umbilical cord blood transplantation with reduced intensity conditioning and sirolimus-based GVHD prophylaxis. *Bone Marrow Transplantation*, 46(5), σσ. 659–667.
- Dakhore, S. N. (2018). Human Pluripotent Stem Cell Culture: Current Status, Challenges, and Advancement. *Stem Cells International*, 2018, σσ. 1-17.
doi:10.1155/2018/7396905
- Dameshek, W. (1957). Bone marrow transplantation; a present-day challenge. *Blood*, 12(4), σσ. 321-323.
- Daniela, F. V. (2007). The stem cells as a potential treatment for neurodegeneration. *Methods in Molecular Biology*, 399, σσ. 199-213.
- Das, R. J. (2010). The role of hypoxia in bone marrow-derived mesenchymal stem cells: considerations for regenerative medicine approaches. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 16(2), σσ. 159-168.
- Davis, J. R. (1990). Clinical toxicity of cryopreserved bone marrow graft infusion. *Blood*, 75(3), σσ. 781-786.
- de Araujo Farias, V. C.-G. (2018). TGF- β and mesenchymal stromal cells in regenerative medicine, autoimmunity and cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 43, σσ. 25-37.
- De Bari, C. D. (2001). Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis & Rheumatology*, 44(8), σσ. 1928-1942.
- de la Morena, M. G. (2010). A History of Bone Marrow Transplantation. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 30(1), σσ. 1-15.
- De Miguel, M. F.-J. (2010). Pluripotent Stem Cells: Origin, Maintenance and Induction. *Stem Cell Reviews and Reports*(6), σσ. 633–649.
- de Rooij, D. G. (1998). Spermatogonial stem cells. *Current Opinion in Cell Biology*, 10(6), σσ. 694–701.
- de Windt, T. V.-C. (2017). Allogeneic Mesenchymal Stem Cells Stimulate Cartilage Regeneration and Are Safe for Single-Stage Cartilage Repair in Humans upon Mixture with Recycled Autologous Chondrons. *Stem Cells*, 35(1), σσ. 256-264.
- Decambron, A. D.-H. (2019). Effect of the Bone Morphogenetic Protein-2 Doses on the Osteogenic Potential of Human Multipotent Stromal Cells- Containing Tissue Engineered Constructs. *Tissue Engineering Part A*, 25(7-8), σσ. 642-651.
- Decker, M. M.-M. (2017). Leptin-receptor-expressing bone marrow stromal cells are myofibroblasts in primary myelofibrosis. *Nature Cell Biology*, 19(6), σσ. 677-688.
- Decosterd, I. W. (2000). Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain*, 87(2), σσ. 149-158.

- Della-Torre, E. C. (2020). Interleukin-6 blockade with sarilumab in severe COVID-19 pneumonia with systemic hyperinflammation: an open-label cohort study. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 79(10), σσ. 1277-1285.
- Den Hondt, M. V. (2017). Reconstruction of defects of the trachea. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine volume 28, Article number: 24 (2017)*, 28(2). doi:10.1007/s10856-016-5835-x
- Denham, M. C. (2005). Stem Cells: An Overview. *Current Protocols in Cell Biology*, σσ. 23.1.1-23.1.18.
- Detry, O. V. (2017). Infusion of mesenchymal stromal cells after deceased liver transplantation: A phase I-II, open-label, clinical study. *Journal of Hepatology*, 67(1), σσ. 47-55.
- Deuse, T. H. (2019). Hypoimmunogenic derivatives of induced pluripotent stem cells evade immune rejection in fully immunocompetent allogeneic recipients. *Nature Biotechnology*, 37(3), σσ. 252-258.
- Devinsky, O. V. (2018). Epilepsy. *Nature Reviews Disease Primers*, 4. doi:10.1038/nrdp.2018.25
- Di Bonzo, L. F. (2008). Human mesenchymal stem cells as a two-edged sword in hepatic regenerative medicine: engraftment and hepatocyte differentiation versus profibrogenic potential. *Gut*, 57(2), σσ. 223-231.
- Doetschman, T. E. (1985). The in vitro development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium. *J Embryol Exp Morphol*(87), σσ. 27-45.
- Doi, D. M. (2012). Prolonged maturation culture favors a reduction in the tumorigenicity and the dopaminergic function of human ESC-derived neural cells in a primate model of Parkinson's disease. *Stem Cells*, 30(5), σσ. 935-945.
- Doi, D. S. (2014). Isolation of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Dopaminergic Progenitors by Cell Sorting for Successful Transplantation. *Stem Cell Reports*, 2(3), σσ. 337-350.
- Donders, R. V. (2015). Human Wharton's Jelly-Derived Stem Cells Display Immunomodulatory Properties and Transiently Improve Rat Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Cell Transplantation*, 24(10), σσ. 2077-2098.
- Douvaras, P. W. (2014). Efficient generation of myelinating oligodendrocytes from primary progressive multiple sclerosis patients by induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports*, 3(2), σσ. 250-259.
- Drukker, M. K. (2006). Human Embryonic Stem Cells and Their Differentiated Derivatives Are Less Susceptible to Immune Rejection Than Adult Cells. *Stem Cells*, 24(2), σσ. 221-229.

- Eapen, M. R. (2007). Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study. *Lancet*, 369(9577), σσ. 1947–1954.
- Ebben, J. Z. (2011). Introduction to induced pluripotent stem cells: advancing the potential for personalized medicine. *World Neurosurgery*, 76(3-4), σσ. 270-275.
- Edel, M. M. (2010). Rem2 GTPase maintains survival of human embryonic stem cells as well as enhancing reprogramming by regulating p53 and cyclin D1. *Genes & Development*, 24(6), σσ. 561-573.
- El-Ansary, M. A.-A.-H. (2012). Phase II Trial: Undifferentiated Versus Differentiated Autologous Mesenchymal Stem Cells Transplantation in Egyptian Patients with HCV Induced Liver Cirrhosis. *Stem Cell Reviews and Reports*, 8(3), σσ. 972-981.
- Elliott, M. D. (2012). Stem-cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child: a 2-year follow-up study. *The Lancet*, 380(9846), σσ. 994-1000.
- Ende, M. E. (1972). Hematopoietic transplantation by means of fetal (cord) blood. A new method. *Virginia Medical Monthly*, 99(3), σσ. 276-280.
- Eng, G. L. (2013). Assembly of complex cell microenvironments using geometrically docked hydrogel shapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(12), σσ. 4551-4556.
- Erices, A. C. (2000). Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *British Journal of Haematology*, 109(1), σσ. 235-242.
- Erices, A. C. (2000). Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *British Journal of Haematology*, 9(1), σσ. 235-242.
- Evans, M. K. (1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*(292), σσ. 154–156.
- FACT, N. a. (2019). NetCord-FACT International Standards for Cord Blood Collection, Banking, and Release-Seventh Edition. Ανάκτηση από <http://www.factwebsite.org/cbstandards/>
- Fahey, M. W. (2011). Stem cells: research tools and clinical treatments. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 47(9), σσ. 672-675.
- Fahy, N. A. (2018). Mechanical stimulation of mesenchymal stem cells: Implications for cartilage tissue engineering. *Journal of Orthopaedic Research*, 36(1), σσ. 52-63.
- Falanga, V. (2012). Stem Cells in Tissue Repair and Regeneration. *Journal of Investigative Dermatology*, 136(6), σσ. 1538-1541.
- Fan, C. Z. (2011). Therapeutic potentials of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord. *Stem Cell Reviews and Reports*, 7(1), σσ. 195-207.

- Fan, L. Y. (2014). Schwann-like cells seeded in acellular nerve grafts improve nerve regeneration. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 15. doi:10.1186/1471-2474-15-165
- Fandel, T. T. (2016). Transplanted Human Stem Cell-Derived Interneuron Precursors Mitigate Mouse Bladder Dysfunction and Central Neuropathic Pain after Spinal Cord Injury. *Cell Stem Cell*, 19(4), σσ. 544-557.
- Fandel, T. T. (2016). Transplanted Human Stem Cell-Derived Interneuron Precursors Mitigate Mouse Bladder Dysfunction and Central Neuropathic Pain after Spinal Cord Injury. *Cell Stem Cell*, 19(4), σσ. 544-557.
- Fang, X. Z. (2016). Effect of umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation on immune function and prognosis of patients with decompensated hepatitis B cirrhosis. *Zhonghua Gan Zang Bing za Zhi*, 24(12), σσ. 907-910.
- Fang, Y. G. (2018). Recent Advances: Decoding Alzheimer's Disease With Stem Cells. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10, σσ. 1-19. doi:10.3389/fnagi.2018.00077
- Fantuzzo, J. H. (2019). Compartmentalized Devices as Tools for Investigation of Human Brain Network Dynamics. *Developmental Dynamics*, 248(1), σσ. 65-77.
- Fariha, M. C. (2011). Human chorion-derived stem cells: changes in stem cell properties during serial passage. *Cytotherapy*, 13(5), σσ. 582-593.
- Fauser, A. M. (1978). Granuloerythropoietic colonies in human bone marrow, peripheral blood, and cord blood. *Blood*, 52(6), σσ. 1243-1248.
- Fausto, N. (2004). Liver regeneration and repair: Hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology*, 39(6), σσ. 1477-1487.
- Fehrer, C. B. (2007). Reduced oxygen tension attenuates differentiation capacity of human mesenchymal stem cells and prolongs their lifespan. *Aging Cell*, 6(6), σσ. 745-757.
- Feldman, D. M. (2018). Mesenchymal Stem Cells and Transforming Growth Factor-β3 (TGF-β3) to Enhance the Regenerative Ability of an Albumin Scaffold in Full Thickness Wound Healing. *Journal of Functional Biomaterials*, 9(4), σσ. 1-19. doi:10.3390/jfb9040065
- Fennema, E. R. (2009). The effect of bone marrow aspiration strategy on the yield and quality of human mesenchymal stem cells. *Acta Orthopaedica*, 80(5), σσ. 618-621.
- Fernandes, T. K. (2018). Human Synovial Mesenchymal Stem Cells Good Manufacturing Practices for Articular Cartilage Regeneration. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 24(12), σσ. 709-716.
- Fesharaki, M. R.-M. (2018). Differentiation of Human Scalp Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells into Mature Neural Cells on Electrospun Nanofibrous Scaffolds for Nerve Tissue Engineering Applications. *Cell Journal*, 20(2), σσ. 168-176.

- Figge, D. J. (2016). Dynamic DNA Methylation Regulates Levodopa-Induced Dyskinesia. *Journal of Neuroscience*, 36(24), σσ. 6514-6524.
- Fouad, G. (2019). Stem cells as a promising therapeutic approach for Alzheimer's disease: a review. *Bulletin of the National Research Centre*, 43, σσ. 1-20. doi:10.1186/s42269-019-0078-x
- Friedenstein, A. C. (1970). The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet*(3), σσ. 393–403.
- Friedenstein, A. G. (1976). Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Experimental Hematology*, 4(5), σσ. 267-274.
- Fu, T. H. (2016). Association of OCT4, SOX2, and NANOG expression with oral squamous cell carcinoma progression. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 45(2), σσ. 89-95.
- Fujimoto, Y. A. (2012). Treatment of a mouse model of spinal cord injury by transplantation of human induced pluripotent stem cell-derived long-term self-renewing neuroepithelial-like stem cells. *Stem Cells*, 30(6), σσ. 1163-1173.
- Fujino, S. M. (2019). Oct4 Gene Expression in Primary Colorectal Cancer Promotes Liver Metastasis. *Stem Cells International*, 2019, σσ. 1-10. doi:10.1155/2019/7896524
- Fujita, Y. K. (2017). Stem cell-based peripheral vascular regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 120, σσ. 25-40.
- Fujiwara, N. S. (2013). Restoration of spatial memory dysfunction of human APP transgenic mice by transplantation of neuronal precursors derived from human iPS cells. *Neuroscience Letters*, 557(Part B), σσ. 129-134.
- Fusaki, N. B. (2009). Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 85(8), σσ. 348-362.
- Games, D. A. (1995). Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. *Nature*, 373(6514), σσ. 523–527.
- Gantner, C. d. (2020). Viral Delivery of GDNF Promotes Functional Integration of Human Stem Cell Grafts in Parkinson's Disease. *Cell Stem Cell*, 26(4), σσ. 511-526.
- Gao, F. C. (2016). Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects. *Cell Death & Disease*, 7(1), σσ. 1-11. doi:10.1038/cddis.2015.327
- Gao, L. Z. (2013). Common expression of stemness molecular markers and early cardiac transcription factors in human Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells and embryonic stem cells. *Cell Transplantation*, 22(10), σσ. 1883-1900.

- Garderet, L. D. (1998). The umbilical cord blood alphabeta T-cell repertoire: characteristics of a polyclonal and naive but completely formed repertoire. *Blood*, *19*(1), σσ. 340–346.
- George, P. S. (2015). Novel Stroke Therapeutics: Unraveling Stroke Pathophysiology and Its Impact on Clinical Treatments. *Neuron*, *87*(2), σσ. 297-309.
- Ghorbani, F. M. (2017). In-vivo characterization of a 3D hybrid scaffold based on PCL/decellularized aorta for tracheal tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, *81*, σσ. 74-83.
- Giannotti, S. T. (2013). Use of autologous human mesenchymal stromal cell/fibrin clot constructs in upper limb non-unions: long-term assessment. *PLoS One*, *8*(8), σσ. 1-9. doi:10.1371/journal.pone.0073893
- Gimble, J. K. (2007). Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circulation Research*, *100*(9), σσ. 1249-1260.
- Girão, A. S. (2018). Mimicking nature: Fabrication of 3D anisotropic electrospun polycaprolactone scaffolds for cartilage tissue engineering applications. *Composites Part B: Engineering*, *154*, σσ. 99-107.
- Gjerde, C. M. (2018). Cell therapy induced regeneration of severely atrophied mandibular bone in a clinical trial. *Stem Cell Research & Therapy*, *9*(1), σσ. 1-15. doi:10.1186/s13287-018-0951-9
- Gluckman, E. B. (1989). Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *The New England Journal of Medicine*, *321*, σσ. 1174-1178.
- Gluckman, E. R. (2005). History of the clinical use of umbilical cord blood hematopoietic cells. *Cytotherapy*, *7*(3), σσ. 219-227.
- Gluckman, E. R.-C. (1997). Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group. *The New England Journal of Medicine*, *337*(6), σσ. 373–381.
- Gnecchi, M. D. (2012). Mesenchymal stem cell therapy for heart disease. *Vascular Pharmacology*, *57*(1), σσ. 48-55.
- Gomi, M. T. (2012). Functional recovery of the murine brain ischemia model using human induced pluripotent stem cell-derived telencephalic progenitors. *Brain Research*, *1459*, σσ. 52-60.
- Gonfiotti, A. J. (2014). The first tissue-engineered airway transplantation: 5-year follow-up results. *The Lancet*, *383*(9913), σσ. 238-244.
- Gore, A. L.-L.-B. (2011). Somatic coding mutations in human induced pluripotent stem cells. *Nature*, *471*, σσ. 63-67.

- Gornalusse, G. H. (2017). HLA-E-expressing pluripotent stem cells escape allogeneic responses and lysis by NK cells. *Nature Biotechnology*, 35(8), σσ. 765-772.
- Gourraud, P. G. (2012). The role of human leukocyte antigen matching in the development of multiethnic "haplobank" of induced pluripotent stem cell lines. *Stem Cells*, 30(2), σσ. 180-186.
- Gragert, L. E. (2014). HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry. *The New England Journal of Medicine*, 371(4), σσ. 339-348.
- Grealish, S. D. (2014). Human ESC-derived dopamine neurons show similar preclinical efficacy and potency to fetal neurons when grafted in a rat model of Parkinson's disease. *Cell Stem Cell*, 15(5), σσ. 653-665.
- Grein, T. F. (2010). Alternatives to dimethylsulfoxide for serum-free cryopreservation of human mesenchymal stem cells. *The International Journal of Artificial Organs*, 33(6), σσ. 370-380.
- Griffiths, D. (2015). Functional imaging of structures involved in neural control of the lower urinary tract. *Handbook of Clinical Neurology*, 130, σσ. 121-133.
- Grigorian, A. K. (2010). Alterations of cytological and karyological profile of human mesenchymal stem cells during in vitro culturing. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 150(1), σσ. 125-130.
- Gronthos, S. M. (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(25), σσ. 13625-13630.
- Gu, S. X. (2009). Differentiation of rabbit bone marrow mesenchymal stem cells into corneal epithelial cells in vivo and ex vivo. *Molecular Vision*, 15, σσ. 99-107.
- 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.
- Gugjoo, M. A.-I. (2017). Mesenchymal stem cells with IGF-1 and TGF- β1 in laminin gel for osteochondral defects in rabbits. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93, σσ. 1165-1174.
- Guha, P. M. (2013). Lack of immune response to differentiated cells derived from syngeneic induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 12(4), σσ. 407-412.
- Güleçyüz, M. M. (2018). Allogenic Myocytes and Mesenchymal Stem Cells Partially Improve Fatty Rotator Cuff Degeneration in a Rat Model. *Stem Cell Reviews and Reports*, 14(6), σσ. 847-859.
- Gupta, A. M. (2020). Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nature Medicine*, 26(7), σσ. 1017-1032.

- Haagdorens, M. V. (2016). Limbal Stem Cell Deficiency: Current Treatment Options and Emerging Therapies. *Stem Cells International*, 2016, σσ. 1-22. doi:10.1155/2016/9798374
- Haga, H. Y. (2017). Extracellular Vesicles from Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Improve Survival from Lethal Hepatic Failure in Mice. *Stem Cells Translational Medicine*, 6(4), σσ. 1262-1272.
- Hakenberg, P. K. (1998). NETCORD: a cord blood allocation network. *Bone Marrow Transplantation*, 22(1), σσ. 17-18.
- Haley, R. H. (1998). Ethical issues in cord blood banking: summary of a workshop. *Transfusion*, 38(9), σσ. 867-873.
- Hamazaki, T. I. (2001). Hepatic maturation in differentiating embryonic stem cells in vitro. *FEBS Letters*, 497(1), σσ. 15-19.
- Hambiliki, F. S.-E. (2012). Co-localization of NANOG and OCT4 in human pre-implantation embryos and in human embryonic stem cells. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*(29), σσ. 1021-1028.
- Hamlett, E. H. (2020). RvE1 treatment prevents memory loss and neuroinflammation in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Glia*, 68(7), σσ. 1347-1360.
- Han, F. W. (2015). Human induced pluripotent stem cell-derived neurons improve motor asymmetry in a 6-hydroxydopamine-induced rat model of Parkinson's disease. *Cytotherapy*, 17(5), σσ. 665-679.
- Han, W. Y. (2006). Local signals in stem cell-based bone marrow regeneration. *Cell Research*(16), σσ. 189–195.
- Han, X. W. (2019). Generation of hypoimmunogenic human pluripotent stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(21), σσ. 10441-10446.
- Han, Y. L. (2019). Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells*, 8(8), σσ. 1-32. doi:10.3390/cells8080886
- Haneef, K. A. (2018). Role of interleukin-7 in fusion of rat bone marrow mesenchymal stem cells with cardiomyocytes in vitro and improvement of cardiac function in vivo. *Cardiovascular Therapeutics*, 36(6), σσ. 1-11. doi:10.1111/1755-5922.12479
- Hanley, P. C. (2009). Functionally active virus-specific T cells that target CMV, adenovirus, and EBV can be expanded from naive T-cell populations in cord blood and will target a range of viral epitopes. *Blood*, 114(9), σσ. 1958–1967.
- Hargus, G. C. (2010). Differentiated Parkinson patient-derived induced pluripotent stem cells grow in the adult rodent brain and reduce motor asymmetry in Parkinsonian rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(36), σσ. 15921-15926.

- Harris, D. (2013). Umbilical cord tissue mesenchymal stem cells: characterization and clinical applications. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 8(5), σσ. 394-399.
- Harris, V. S. (2018). Phase I Trial of Intrathecal Mesenchymal Stem Cell-derived Neural Progenitors in Progressive Multiple Sclerosis. *EBioMedicine*, 29, σσ. 23-30.
- He, Q. W. (2007). Concise review: multipotent mesenchymal stromal cells in blood. *Stem Cells*, 25(1), σσ. 69-77.
- He, S. N. (2009). Mechanisms of Stem Cell Self-Renewal. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*(25), σσ. 377-406.
- He, X. Z. (2004). BMP signaling inhibits intestinal stem cell self-renewal through suppression of Wnt-beta-catenin signaling. *Nature Genetics*, 36(10), σσ. 1117-1121.
- Hermanto, Y. S. (2018). Transplantation of feeder-free human induced pluripotent stem cell-derived cortical neuron progenitors in adult male Wistar rats with focal brain ischemia. *Journal of Neuroscience Research*, 96(5), σσ. 863-874.
- Herold, S. M. (2011). Acute lung injury: How macrophages orchestrate resolution of inflammation and tissue repair. *Frontiers in Immunology*, 2, σσ. 1-13.
doi:10.3389/fimmu.2011.00065
- Heydarkhan-Hagvall, S. G. (2012). The effect of vitronectin on the differentiation of embryonic stem cells in a 3D culture system. *Biomaterials*, 33(7), σσ. 2032-2040.
- Higashiyama, R. I. (2007). Bone marrow–derived cells express matrix metalloproteinases and contribute to regression of liver fibrosis in mice. *Hepatology*, 45(1), σσ. 213-222.
- Ho, J. N. (2018). Neuropsychological Profiles and Trajectories in Preclinical Alzheimer's Disease. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 24(7), σσ. 693-702.
- Holubova, M. L. (2014). Expanded cryopreserved mesenchymal stromal cells as an optimal source for graft-versus-host disease treatment. *Biologicals*, 42(3), σσ. 139-144.
- Honarpardaz, A. I.-M. (2019). Enhanced chondrogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells on gelatin/glycosaminoglycan electrospun nanofibers with different amount of glycosaminoglycan. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 107(1), σσ. 38-48.
- Hoogduijn, M. C. (2007). Human heart, spleen, and perirenal fat-derived mesenchymal stem cells have immunomodulatory capacities. *Stem Cells and Development* Vol. 16, No. 4, 16(4), σσ. 597-604.
- Hori, J. D. (2011). Articular cartilage repair using an intra-articular magnet and synovium-derived cells. *Journal of Orthopaedic Research*, 29(4), σσ. 531-538.

Horvitz, H. H. (1992). Mechanisms of asymmetric cell division: two Bs or not two Bs, that is the question. *Cell*, 68(2), σσ. 237–255.

Hou, L. C. (2003). Induction of Umbilical Cord Blood Mesenchymal Stem Cells into Neuron-Like Cells In Vitro. *International Journal of Hematology*, 78(3), σσ. 256-261.

Hou, Y. L. (2018). In Vivo Evaluation of the Adenovirus-Mediated Sox9 and BMP2 Double Gene Transduction on Treatment of Intervertebral Disc Degeneration in Rabbit Annular Puncture Model. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 8(8), σσ. 1091–1099.

<http://www.factwebsite.org/>. (2021). Ανάκτηση από https://accredited.factwebsite.org/?_sft_category=cord-blood

<https://bethematch.org/>. (2021). Ανάκτηση από <https://bethematch.org/transplant-basics/matching-patients-with-donors/how-does-a-patients-ethnic-background-affect-matching/>

https://en.wikipedia.org/wiki/Main_Page. (2021). Ανάκτηση από https://en.wikipedia.org/wiki/National_Marrow_Donor_Program

<https://hccb.bioacademy.gr/>. (2021). Ανάκτηση από https://hccb.bioacademy.gr/index.php?option=com_sppagebuilder&view=page&id=11&Itemid=229

<https://hccb.bioacademy.gr/>. (2021). Ανάκτηση από https://hccb.bioacademy.gr/index.php?option=com_sppagebuilder&view=page&id=22#xaraktiristika-allogenos-trapezas

<https://wmda.info/>. (2021). Ανάκτηση από <https://statistics.wmda.info/>

<https://www.cordbloodbankcrete.gr/>. (2021). Ανάκτηση από <https://www.cordbloodbankcrete.gr/index.php/poioi-eimaste/ditov-kritis>

<https://www.eom.gr/>. (2021). Ανάκτηση από <https://www.eom.gr/trapezes-fylaxis-omfaloplakoyntikoy-aimatos/>

<https://www.nobelprize.org/>. (2012). Ανάκτηση από <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2012/summary/>

<https://www.novusbio.com/>. (2021). Ανάκτηση 2021, από <https://www.novusbio.com/research-areas/stem-cells>

<https://www.typosthes.gr/>. (2016). Ανάκτηση από https://www.typosthes.gr/thessaloniki/89187_thessaloniki-othisi-gia-dorea-blastokyttaron-sto-nosokomeio-papanikolaoy-foto

<https://www.vrisko.gr/>. (2021). Ανάκτηση από <https://www.vrisko.gr/search/%CE%A4%CF%81%CE%AC%CF%80%CE%B5%CE%B6>

%CE%B5%CF%82-

%CE%92%CE%BB%CE%B1%CF%83%CF%84%CE%BF%CE%BA%CF%85%CF%84%CF%84%CE%AC%CF%81%CF%89%CE%BD/

- Hu, B. D. (2009). Differentiation of human oligodendrocytes from pluripotent stem cells. *Nature Protocols*, 4(11), σσ. 1614–1622.
- Hu, C. L. (2018). Preconditioning influences mesenchymal stem cell properties in vitro and in vivo. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22(3), σσ. 1428-1442.
- Hu, F. Z. (2017). Neuronally differentiated adipose-derived stem cells and aligned PHBV nanofiber nerve scaffolds promote sciatic nerve regeneration. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 489(2), σσ. 171-178.
- Hu, M. D. (2018). MiR-410 inhibition induces HUVECs proliferation and represses ox-LDL-triggered apoptosis through activating STAT3. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, σσ. 585-590.
- Hussein, S. B. (2011). Copy number variation and selection during reprogramming to pluripotency. *Nature*, 471, σσ. 58-62.
- Hwang, N. V. (2008). In vivo commitment and functional tissue regeneration using human embryonic stem cell-derived mesenchymal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(52), σσ. 20641-20646.
- Ilancheran, S. M. (2009). Human fetal membranes: a source of stem cells for tissue regeneration and repair? *Placenta*, 30(1), σσ. 2-10.
- Ilic, D. P. (2011). Stem cells in regenerative medicine: introduction. *British Medical Bulletin*, 98(1), σσ. 117–126.
- Inoue, H. Y. (2011). The Use of Induced Pluripotent Stem Cells in Drug Development. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*(89), pp. 655–661.
- Itakura, G. K. (2017). Fail-Safe System against Potential Tumorigenicity after Transplantation of iPSC Derivatives. *Stem Cell Reports*, 8(3), σσ. 673-684.
- Izrael, M. Z. (2007). Human oligodendrocytes derived from embryonic stem cells: Effect of noggin on phenotypic differentiation in vitro and on myelination in vivo. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 34(3), σσ. 310-323.
- Jahan-Abad, A. N.-H. (2018). Human Neural Stem/Progenitor Cells Derived From Epileptic Human Brain in a Self-Assembling Peptide Nanoscaffold Improve Traumatic Brain Injury in Rats. *Molecular Neurobiology*, 55(12), σσ. 9122–9138.
- Jang, Y. C. (2019). Development of immunocompatible pluripotent stem cells via CRISPR-based human leukocyte antigen engineering. *Experimental & Molecular Medicine volume 51, pages1–11 (2019)*, 51(1), σσ. 1-11.

- Jarvinen, L. B. (2008). Lung Resident Mesenchymal Stem Cells Isolated from Human Lung Allografts Inhibit T Cell Proliferation via a Soluble Mediator. *The Journal of Immunology*, 181(6), σσ. 4389-4396.
- Jenkins, G. S. (2005). The importance of cultural considerations in the promotion of ethical research with human biologic material. *The Journal of Laboratory Clinical Medicine*, 145(3), σσ. 118-124.
- Jensen, T. F. (2014). Allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: clinical manifestations and mechanisms. *The Lancet Neurology*, 13(9), σσ. 924-935.
- Jeon, I. C. (2014). In Vivo Roles of a Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cell Line (HD72-iPSC) in the YAC128 Model of Huntington's Disease. *International Journal of Stem Cells*, 7(1), σσ. 43-47.
- Jiang, S. Z. (2017). Differentiation of cardiomyocytes from amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells by combined induction with transforming growth factor β 1 and 5-azacytidine. *Molecular Medicine Reports*, 16(5), σσ. 5887-5893.
- Jiang, X. W. (2019). A novel role of angiotensin II in epidermal cell lineage determination: Angiotensin II promotes the differentiation of mesenchymal stem cells into keratinocytes through the p38 MAPK, JNK and JAK2 signalling pathways. *Experimental Dermatology*, 28(1), σσ. 59-65.
- Jiang, Y. J.-G. (2002). Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 418(6893), σσ. 41-49.
- Jin, H. B. (2013). Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), σσ. 17986-18001.
- Jing, H. G. (2018). Restoring tracheal defects in a rabbit model with tissue engineered patches based on TGF- β 3-encapsulating electrospun poly(l-lactic acid-co- ϵ -caprolactone)/collagen scaffolds. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(1), σσ. 985-995.
- Jones, J. S. (2003). Obstetric predictors of placental/umbilical cord blood volume for transplantation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 188(2), σσ. 503-509.
- Jorge, L. F. (2018). Tracheal repair with acellular human amniotic membrane in a rabbit model. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 12(3), σσ. E1525-E1530.
- Jung, S. K. (2018). Therapeutic effects of a mesenchymal stem cell-based insulin-like growth factor-1/enhanced green fluorescent protein dual gene sorting system in a myocardial infarction rat model. *Molecular Medicine Reports*, 18(6), σσ. 5563-5571.

- Jungebluth, P. A. (2011). Tracheobronchial transplantation with a stem-cell-seeded bioartificial nanocomposite: a proof-of-concept study. *The Lancet*, 378(9808), σσ. 1997-2004.
- Jurgens, W. O.-V. (2008). Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Cell and Tissue Research*, 332(3), σσ. 415-426.
- Kaji, K. N. (2009). Virus-free induction of pluripotency and subsequent excision of reprogramming factors. *Nature*(458), σσ. 771–775.
- Kapinas, K. G. (2013). The abbreviated pluripotent cell cycle. *Journal of Cellular Physiology*, 228(1), σσ. 9-20.
- Karahuseyinoglu, S. C. (2007). Biology of stem cells in human umbilical cord stroma: in situ and in vitro surveys. *Stem Cells*, 25(2), σσ. 319-331.
- Kargozar, S. M. (2018). Osteogenic potential of stem cells-seeded bioactive nanocomposite scaffolds: A comparative study between human mesenchymal stem cells derived from bone, umbilical cord Wharton's jelly, and adipose tissue. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 106(1), σσ. 61-72.
- Karnoub, A. D. (2007). Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature*, 449(7162), σσ. 557-563.
- Katagiri, W. W. (2017). Clinical Study of Bone Regeneration by Conditioned Medium From Mesenchymal Stem Cells After Maxillary Sinus Floor Elevation. *Implant Dentistry*, 26(4), σσ. 607-612.
- Katikireddy, K. D. (2014). Differentiation Potential of Limbal Fibroblasts and Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells to Corneal Epithelial Cells. *Stem Cells*, 32(3), σσ. 717-729.
- Kawamura, T. M. (2016). Cardiomyocytes Derived from MHC-Homozygous Induced Pluripotent Stem Cells Exhibit Reduced Allogeneic Immunogenicity in MHC-Matched Non-human Primates. *Stem Cell Reports*, 6(3), σσ. 312-320.
- Kern, S. E. (2006). Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells*, 24(5), σσ. 1294-1301.
- Khazaei, M. A. (2020). GDNF rescues the fate of neural progenitor grafts by attenuating Notch signals in the injured spinal cord in rodents. *Science Translational Medicine*, 12(525), σσ. 1-14. doi:10.1126/scitranslmed.aau3538
- Khojasteh, A. F. (2017). Bone engineering in dog mandible: Coculturing mesenchymal stem cells with endothelial progenitor cells in a composite scaffold containing vascular endothelial growth factor. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 105(7), σσ. 1767-1777.

- Khuong, T. W. (2019). Nerve injury drives a heightened state of vigilance and neuropathic sensitization in *Drosophila*. *Science Advances*, 5(7), σσ. 1-13.
doi:10.1126/sciadv.aaw4099
- Kiefer, J. (2011). Primer and interviews: The dynamic stem cell niche. *Developmental Dynamics*, 240(3), σσ. 737-743.
- Kiernan, J. D. (2017). Clinical Studies of Ex Vivo Expansion to Accelerate Engraftment After Umbilical Cord Blood Transplantation: A Systematic Review. *Transfusion Medicine Reviews*, 31(3), σσ. 173-182.
- Kikuchi, T. M. (2011). Survival of human induced pluripotent stem cell-derived midbrain dopaminergic neurons in the brain of a primate model of Parkinson's disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 1(4), σσ. 395-412.
- Kikuchi, T. M. (2017). Human iPS cell-derived dopaminergic neurons function in a primate Parkinson's disease model. *Nature*, 548(7669), σσ. 592-596.
- Kikuchi, T. M. (2017). Idiopathic Parkinson's disease patient-derived induced pluripotent stem cells function as midbrain dopaminergic neurons in rodent brains. *Journal of Neuroscience Research*, 95(9), σσ. 1829-1837.
- Kim, C. J. (2005). Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell*, 121(6), σσ. 823-835.
- Kim, D. K. (2009). Generation of Human Induced Pluripotent Stem Cells by Direct Delivery of Reprogramming Proteins. *Cell Stem Cell*, 4(6), σσ. 472-476.
- Kim, D. S. (2013). Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: phenotypic characterization and optimizing their therapeutic potential for clinical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6), σσ. 11692-11712.
- Kim, J. S.-B. (2009). Oct4-induced pluripotency in adult neural stem cells. *Cell*, 136(3), σσ. 411-419.
- Kim, J. Z. (2008). Pluripotent stem cells induced from adult neural stem cells by reprogramming with two factors. *Nature*, 454, σσ. 646-650.
- Kim, K. D. (2010). Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. *Nature*, 467, σσ. 285-290.
- Kim, K. H. (2014). X Chromosome of Female Cells Shows Dynamic Changes in Status during Human Somatic Cell Reprogramming. *Stem Cell Reports*, 2(6), σσ. 896-909.
- Kim, M. K. (2018). Transplantation of human bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells reduces fibrotic scar formation in a rat spinal cord injury model. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 12(2), σσ. e1034-e1045.
doi:10.1002/term.2425

- Kirkeby, A. G. (2012). Generation of regionally specified neural progenitors and functional neurons from human embryonic stem cells under defined conditions. *Cell Reports*, 1(6), σσ. 703-714.
- Kisseleva, T. U.-B. (2006). Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *Journal of Hepatology*, 45(3), σσ. 429-438.
- Klopp, A. G. (2011). Concise review: Dissecting a discrepancy in the literature: do mesenchymal stem cells support or suppress tumor growth? *Stem Cells*, 29(1), σσ. 11-19.
- Knoblich, J. (2001). Asymmetric cell division during animal development. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2, σσ. 11-20.
- Knoblich, J. (2008). Mechanisms of asymmetric stem cell division. *Cell*, 132(4), σσ. 583–597.
- Knudtzon, S. (1974). In vitro growth of granulocytic colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood*, 43(3), σσ. 357-361.
- Kobayashi, Y. O. (2012). Pre-evaluated safe human iPSC-derived neural stem cells promote functional recovery after spinal cord injury in common marmoset without tumorigenicity. *PLoS One*, 7(12), σσ. 1-13. doi:10.1371/journal.pone.0052787
- Kobolak, J. D. (2016). Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche. *Methods*, 99, σσ. 62-68.
- Kocaoemer, A. K. (2007). Human AB serum and thrombin-activated platelet-rich plasma are suitable alternatives to fetal calf serum for the expansion of mesenchymal stem cells from adipose tissue. *Stem Cells*, 25(5), σσ. 1270-1278.
- Koch, P. O. (2009). A rosette-type, self-renewing human ES cell-derived neural stem cell with potential for in vitro instruction and synaptic integration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(9), σσ. 3225-3230.
- Kögler, G. S. (2004). A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *Journal of Experimental Medicine*, 200(2), σσ. 123-135.
- Kohno, S. K. (2019). Retinoblastoma tumor suppressor functions shared by stem cell and cancer cell strategies. *World Journal of Stem Cells*, 8(4), σσ. 170-184.
- Kolakshyapati, P. L. (2017). Gene-activated matrix/bone marrow-derived mesenchymal stem cells constructs regenerate sweat glands-like structure in vivo. *Scientific Reports*, 7, σσ. 1-13. doi:10.1038/s41598-017-17967-x
- Kolios, G. M. (2013). Introduction to Stem Cells. *Respiration*(85), σσ. 3-10.

- Korbling, M. E. (2003). Adult stem cells for tissue repair - a new therapeutic concept? *The New England Journal of Medicine*, 349(6), σσ. 570-582.
- Kraus, P. L. (2017). Implications for a Stem Cell Regenerative Medicine Based Approach to Human Intervertebral Disk Degeneration. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 5, σσ. 1-6. doi:10.3389/fcell.2017.00017
- Kriks, S. S. (2011). Dopamine neurons derived from human ES cells efficiently engraft in animal models of Parkinson's disease. *Nature volume*, 480(7378), σσ. 547-551.
- Kuhbier, J. W. (2010). Isolation, characterization, differentiation, and application of adipose-derived stem cells. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 123, σσ. 55-105.
- Kuhl, T. M.-T. (2015). High Local Concentrations of Intradermal MSCs Restore Skin Integrity and Facilitate Wound Healing in Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Molecular Therapy*, 23(8), σσ. 1368-1379.
- Kulkarni, V. K. (2011). Asrij maintains the stem cell niche and controls differentiation during *Drosophila* lymph gland hematopoiesis. *PLoS On*, 6(11), σ. e27667.
- Kumar, H. H. (2017). Safety and tolerability of intradiscal implantation of combined autologous adipose-derived mesenchymal stem cells and hyaluronic acid in patients with chronic discogenic low back pain: 1-year follow-up of a phase I study. *Stem Cell Research & Therapy*, 8. doi:10.1186/s13287-017-0710-3
- Kurita, N. G.-Y. (2017). A phase I/II trial of intrabone marrow cord blood transplantation and comparison of the hematological recovery with the Japanese nationwide database. *Bone Marrow Transplantation*, σσ. 574–579.
- Kurtzberg, J. L. (1996). Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *The New England Journal of Medicine*, 335(3), σσ. 157–166.
- Kurtzberg, J. L. (2005). Untying the Gordian knot: policies, practices, and ethical issues related to banking of umbilical cord blood. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(10), σσ. 2592-2597.
- Kwon, S. K. (2018). Recent advances in stem cell therapeutics and tissue engineering strategies. *Biomaterials Research*, 22, σσ. 1-8.
- Lalu, M. M. (2012). Safety of Cell Therapy with Mesenchymal Stromal Cells (SafeCell): A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *PLoS ONE*, 7(10), σσ. 1-21. doi:10.1371/journal.pone.0047559
- Lane, S. R. (2007). Stem cells in lung repair and regeneration. *Regenerative Medicine*, 2(4), σσ. 407-415.
- Lasky, L. L. (2002). In utero or ex utero cord blood collection: which is better? *Transfusion*, 42(10), σσ. 1261-1267.

- Laughlin, M. B. (2001). Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. *The New England Journal of Medicine*, 344(24), σσ. 1815-1822.
- Laughlin, M. E. (2004). Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 351(22), σσ. 2265-2275.
- Laverdet, B. M. (2014). Use of mesenchymal stem cells for cutaneous repair and skin substitute elaboration. *Pathologie Biologie*, 62(2), σσ. 108-117.
- Lazazari, L. C. (1996). The Milan Cord Blood Bank and the Italian Cord Blood Network. *Journal of Hematotherapy*, 5(2), σσ. 117-122.
- Le Blanc, K. F. (2008). Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *The Lancet*, 371(9624), σσ. 1579-1586.
- Le Thi Bich, P. N. (2020). Allogeneic umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation for treating chronic obstructive pulmonary disease: a pilot clinical study. *Stem Cell Research & Therapy*, 11(1), σσ. 1-14. doi:10.1186/s13287-020-1583-4
- Le, B. R. (2006). Mesenchymal stem cells: properties and role in clinical bone marrow transplantation. *Current Opinion in Immunology*, 18(5), σσ. 586–591.
- Lee, A. T. (2013). Tumorigenicity as a clinical hurdle for pluripotent stem cell therapies. *Nature Medicine volume 19, pages998–1004 (2013)*, 19(8), σσ. 998-1004.
- Lee, H. J. (2012). Comparison of in vitro hepatogenic differentiation potential between various placenta-derived stem cells and other adult stem cells as an alternative source of functional hepatocytes. *Differentiation*, 84(3), σσ. 223-231.
- Lee, H. K. (2014). Intravenous Infusion of Mesenchymal Stem/Stromal Cells Decreased CCR7+ Antigen Presenting Cells in Mice with Corneal Allotransplantation. *Current Eye Research*, 39(8), σσ. 780-789.
- Lee, J. G. (2009). Potential application of mesenchymal stem cells in acute lung injury. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 9(10), σσ. 1259-1270.
- Lee, K. H. (2007). Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects--a porcine model. *Stem Cells*, 25(11), σσ. 2964-2971.
- Lee, K. K.-P. (2004). In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology*, 40(6), σσ. 1275-1284.
- Lee, M. M. (2013). Inhibition of pluripotent stem cell-derived teratoma formation by small molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(35), σσ. E3281-3290.

- Lee, S. E. (2018). Advances in 3D Bioprinting for Neural Tissue Engineering. *Advanced Biosystems*, 2(4). doi:10.1002/adbi.201700213
- Lee, S. H. (2018). Repurposing the Cord Blood Bank for Haplobanking of HLA-Homozygous iPSCs and Their Usefulness to Multiple Populations. *Stem Cells*, 36(10), σσ. 1552-1566.
- Lee, T. C. (2011). CD24(+) liver tumor-initiating cells drive self-renewal and tumor initiation through STAT3-mediated NANOG regulation. *Cell Stem Cell*, 9(1), σσ. 50-63.
- Legendre, F. O.-L. (2017). Enhanced chondrogenesis of bone marrow-derived stem cells by using a combinatory cell therapy strategy with BMP-2/TGF-β1, hypoxia, and COL1A1/HtrA1 siRNAs. *Scientific Reports volume*, 7, σσ. 1-16. doi:10.1038/s41598-017-03579-y
- Lei, H. Y. (2013). Comparative analysis of mesenchymal stem cells from adult mouse adipose, muscle, and fetal muscle. *Molecular Biology Reports*, 40(2), σσ. 885-892.
- Li, L. B. (2004). Human Embryonic Stem Cells Possess Immune-Privileged Properties. *Stem Cells*, 22(4), σσ. 448-456.
- Li, S. W. (2015). The Differential Expression of OCT4 Isoforms in Cervical Carcinoma. *PLoS ONE*, 10, σσ. 1-15. doi:10.1371/journal.pone.0118033
- Li, W. R. (2012). Mesenchymal stem cells: a double-edged sword in regulating immune responses. *Cell Death & Differentiation*, 19(9), σσ. 1505-1513.
- Li, X. L. (2011). Human placenta-derived adherent cells prevent bone loss, stimulate bone formation, and suppress growth of multiple myeloma in bone. *Stem Cells*, 29(2), σσ. 263-273.
- Liang, J. W. (2008). Nanog and Oct4 associate with unique transcriptional repression complexes in embryonic stem cells. *Nature Cell Biology*(10), σσ. 731–739.
- Liang, J. Z. (2017). Effects of allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of liver cirrhosis caused by autoimmune diseases. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 20(9), σσ. 1219-1226.
- Liang, Q. M. (2018). Linking a cell-division gene and a suicide gene to define and improve cell therapy safety. *Nature*, 563(7733), σσ. 701–704.
- Liang, Y. I.-S. (2018). Chondrogenic differentiation of synovial fluid mesenchymal stem cells on human meniscus-derived decellularized matrix requires exogenous growth factors. *Acta Biomaterialia*, 80, σσ. 131-143.
- Liebergall, M. S. (2013). Stem cell-based therapy for prevention of delayed fracture union: a randomized and prospective preliminary study. *Molecular Therapy*, 21(8), σσ. 1631-1638.

- Lightner, A. W. (2018). A Systematic Review and Meta-analysis of Mesenchymal Stem Cell Injections for the Treatment of Perianal Crohn's Disease: Progress Made and Future Directions. *Diseases of the Colon & Rectum*, 61(5), σσ. 629-640.
- Lin, H. S. (2019). Bone marrow mesenchymal stem cells: Aging and tissue engineering applications to enhance bone healing. *Biomaterials*, 203, σσ. 96-110.
- Lin, J. Z. (2015). MiR-26b/KPNA2 axis inhibits epithelial ovarian carcinoma proliferation and metastasis through downregulating OCT4. *Oncotarget*, 6(27), σσ. 23793-23806.
- Lin, P. W. (2011). Mesenchymal Stem Cells and the Origin of Ewing's Sarcoma. *Sarcoma*(2011), σσ. 1-9. doi:10.1155/2011/276463
- Lin, T. L. (2018). Hydrogel derived from porcine decellularized nerve tissue as a promising biomaterial for repairing peripheral nerve defects. *Acta Biomaterialia*, 73, σσ. 326-338.
- Lindvall, O. B. (1990). Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease. *Science*, 247(4942), σσ. 574-577.
- Lister, R. P. (2011). Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells. *Nature*, 471, σσ. 68-73.
- Liu, G. D. (2020). Advances in Pluripotent Stem Cells: History, Mechanisms, Technologies, and Applications. *Stem Cell Reviews and Reports*, 16(1), σσ. 3-32.
- Liu, H. R. (2011). Reduced-intensity conditioning with combined haploidentical and cord blood transplantation results in rapid engraftment, low GVHD, and durable remissions. *Blood*, 118(24), σσ. 6438-6445.
- Liu, M. Z. (2017). Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering. *Bone Research*, 5, σσ. 1-20. doi:10.1038/boneres.2017.14
- Liu, S. H. (2010). Paracrine factors from human placental multipotent mesenchymal stromal cells protect endothelium from oxidative injury via STAT3 and manganese superoxide dismutase activation. *Biology of Reproduction*, 82(5), σσ. 905-913.
- Liu, W. S. (2015). The multiple functional roles of mesenchymal stem cells in participating in treating liver diseases. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 19(3), σσ. 511-683.
- Liu, Z. C. (2018). Cloning of Macaque Monkeys by Somatic Cell Nuclear Transfer. *Cell*, 172(4), σσ. 881-887.
- Liu, Z. Y. (2019). High-dose methylprednisolone for acute traumatic spinal cord injury: A meta-analysis. *Neurology*, 93(9), σσ. e841-e850. doi:10.1212/WNL.0000000000007998

- Lodi, D. I. (2011). Stem cells in clinical practice: applications and warnings. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*(30).
- Lohan, P. M. (2018). Third-Party Allogeneic Mesenchymal Stromal Cells Prevent Rejection in a Pre-sensitized High-Risk Model of Corneal Transplantation. *Frontiers in Immunology, 9*, σσ. 1-14. doi:10.3389/fimmu.2018.02666
- López, M. V.-Á. (2006). Long-term problems related to immunosuppression. *Transplant Immunology, 17*(1), σσ. 31-35.
- Lou, G. Y. (2017). MiR-122 modification enhances the therapeutic efficacy of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells against liver fibrosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine, 21*(11), σσ. 2963-2973.
- Lozano-Calderón, S. S. (2016). Predictors of soft-tissue complications and deep infection in allograft reconstruction of the proximal tibia. *Journal of Surgical Oncology, 113*(7), σσ. 811-817.
- Lu, P. W. (2014). Long-distance axonal growth from human induced pluripotent stem cells after spinal cord injury. *Neuron, 83*(4), σσ. 789-796.
- Luo, L. H. (2018). Potential Roles of Dental Pulp Stem Cells in Neural Regeneration and Repair. *Stem Cells International, 2018*, σσ. 1-16. doi:10.1155/2018/1731289
- Lutolf, M. G. (2009). Designing materials to direct stem-cell fate. *Nature, 462*(7272), σσ. 433-441.
- Ma, Y. X. (2006). Reconstruction of Chemically Burned Rat Corneal Surface by Bone Marrow-Derived Human Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells, 24*(2), σσ. 315-321.
- Ma, Y. Z. (2018). Perineurium-like sheath derived from long-term surviving mesenchymal stem cells confers nerve protection to the injured spinal cord. *Biomaterials, 160*, σσ. 37-55.
- Macchiarini, P. J. (2008). Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *The Lancet, 372*(9655), σσ. 2023-2030.
- Magatti, M. D. (2012). Amniotic membrane-derived cells inhibit proliferation of cancer cell lines by inducing cell cycle arrest. *Journal of Cellular and Molecular Medicine, 16*(9), σσ. 2208-2218.
- Magga, J. S. (2012). Production of monocytic cells from bone marrow stem cells: therapeutic usage in Alzheimer's disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine, 16*(5), σσ. 1060-1073.
- Majo, F. R. (2008). Oligopotent stem cells are distributed throughout the mammalian ocular surface. *Nature*(456), σσ. 250–254.
- Mamidi, M. N. (2012). Comparative cellular and molecular analyses of pooled bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells during continuous passaging and

- after successive cryopreservation. *Journal of Cellular Biochemistry*, 113(10), σσ. 3153-3164.
- Mandai, M. W. (2017). Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. *N. Engl. J. Med.* 2017, 376, 1038–1046., 376(11), σσ. 1038-1046.
- Manion, J. K. (2020). Human induced pluripotent stem cell-derived GABAergic interneuron transplants attenuate neuropathic pain. *Pain*, 161(2), σσ. 379-387.
- Manion, J. W. (2019). Developing Modern Pain Therapies. *Frontiers in Neuroscience*, 13, σσ. 1-22. doi:10.3389/fnins.2019.01370
- Mansergh, F. W. (2000). Neurons from stem cells: implications for understanding nervous system development and repair. *Biochem Cell Biol*, 78(5), σσ. 613-628.
- Marei, H. H. (2018). Potential of Stem Cell-Based Therapy for Ischemic Stroke. *Frontiers in Neurology*, 9, σσ. 1-7. doi:10.3389/fneur.2018.00034
- Margossian, T. R. (2012). Mesenchymal stem cells derived from Wharton's jelly: comparative phenotype analysis between tissue and in vitro expansion. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 22(4), σσ. 243-254.
- Markway, B. T.-W. (2010). Enhanced chondrogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in low oxygen environment micropellet cultures. *Cell Transplantation*, 19(1), σσ. 29-42.
- Marone, M. D. (2002). Cell cycle regulation in human hematopoietic stem cells: from isolation to activation. *Leukemia & Lymphoma*, 43(3), σσ. 493-501.
- Matthes, S. R. (2013). Intravenous Transplantation of Mesenchymal Stromal Cells to Enhance Peripheral Nerve Regeneration. *BioMed Research International*, 2013, σσ. 1-6. doi:10.1155/2013/573169
- Maughan, E. H. (2017). Autologous Cell Seeding in Tracheal Tissue Engineering. *Current Stem Cell Reports*, 3, σσ. 279-289.
- McCormick, J. H. (2010). Stem Cells and Ethics: Current Issues. *Journal of Cardiovascular Translational Research*(3), σσ. 122-127.
- McGonagle, D. J. (2008). A potential role for synovial fluid mesenchymal stem cells in ligament regeneration. *Rheumatology*, 47(8), σσ. 1114–1116.
- Menasche, P. A. (2008). The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation. *Circulation*, 117(9), σσ. 1189-1200.
- Meng, F. X. (2020). Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cell therapy in patients with COVID-19: a phase 1 clinical trial. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), σσ. 1-7. doi:10.1038/s41392-020-00286-5

- Merad, M. M. (2020). Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nature Reviews Immunology*, 20(6), σσ. 355-362.
- Merkle, F. G. (2017). Human pluripotent stem cells recurrently acquire and expand dominant negative P53 mutations. *Nature*, 545(7653), σσ. 229-233.
- Meyer, N. P. (2009). Reflecting on 25 years with MYC. *Nature Reviews Cancer*, 8, σσ. 976-990.
- Mirotsov, M. J. (2011). Paracrine mechanisms of stem cell reparative and regenerative actions in the heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 50(2), σσ. 280-289.
- Mochizuki, T. M. (2006). Higher chondrogenic potential of fibrous synovium- and adipose synovium-derived cells compared with subcutaneous fat-derived cells: distinguishing properties of mesenchymal stem cells in humans. *Arthritis & Rheumatology*, 54(3), σσ. 843-853.
- Moghadam, F. A. (2009). Transplantation of primed or unprimed mouse embryonic stem cell-derived neural precursor cells improves cognitive function in Alzheimerian rats. *Differentiation*, 78(2-3), σσ. 59-68.
- Mohamad, O. D.-S. (2013). Vector-free and transgene-free human iPS cells differentiate into functional neurons and enhance functional recovery after ischemic stroke in mice. *PLoS One*, 8(5), σσ. 1-12. doi:10.1371/journal.pone.0064160
- Molineaux, S. E. (1986). Recombination within the myelin basic protein gene created the dysmyelinating shiverer mouse mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(19), σσ. 7542–7546.
- Moodley, Y. I. (2010). Human amnion epithelial cell transplantation abrogates lung fibrosis and augments repair. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 182(5), σσ. 643-651.
- Moon, J. L. (2008). Successful vitrification of human amnion-derived mesenchymal stem cells. *Human Reproduction*, 23(8), σσ. 1760-1770.
- Moore, K. K. (2002). Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord. *The Journal of Neuroscience*, 22(15), σσ. 6724-6731.
- Moretti, P. H. (2010). Mesenchymal stromal cells derived from human umbilical cord tissues: primitive cells with potential for clinical and tissue engineering applications. *Biochemical engineering and biotechnology*, 123, σσ. 29-54.
- Mori, D. M. (2018). Cell Spray Transplantation of Adipose-derived Mesenchymal Stem Cell Recovers Ischemic Cardiomyopathy in a Porcine Model. *Transplantation*, 102(12), σσ. 2012-2024.

- Morizane, A. K. (2017). MHC matching improves engraftment of iPSC-derived neurons in non-human primates. *Nature Communications*, 8, σσ. 1-12. doi:10.1038/s41467-017-00926-5
- Morrison, S. K. (2006). Asymmetric and symmetric stem-cell. *NATURE*, 441, σσ. 1068–1074.
- 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>
- Mugishima, H. H. (1999). Effects of long-term cryopreservation on hematopoietic progenitor cells in umbilical cord blood. *Bone Marrow Transplantation*, 23(4), σσ. 395-396.
- Muraca, M. P. (2020). Mesenchymal stromal cells and their secreted extracellular vesicles as therapeutic tools for COVID-19 pneumonia? *Journal of Controlled Release*, 325, σσ. 135-140.
- Murphy, K. W. (2017). Engineering fibrin hydrogels to promote the wound healing potential of mesenchymal stem cell spheroids. *Acta Biomaterialia*, 64, σσ. 176-186.
- Nagaya, N. K. (2005). Transplantation of Mesenchymal Stem Cells Improves Cardiac Function in a Rat Model of Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*, 112(8), σσ. 1128-1135.
- Nakamura, Y. I. (2013). Enhanced wound healing by topical administration of mesenchymal stem cells transfected with stromal cell-derived factor-1. *Biomaterials*, 34(37), σσ. 9393-9400.
- Närvä, E. A. (2010). High-resolution DNA analysis of human embryonic stem cell lines reveals culture-induced copy number changes and loss of heterozygosity. *Nature Biotechnology*, 28(4), σσ. 371-377.
- Nau, R. S. (2010). Penetration of Drugs through the Blood-Cerebrospinal Fluid/Blood-Brain Barrier for Treatment of Central Nervous System Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(4), σσ. 858-883.
- Navas, A. M.-G.-L.-G.-H. (2018). Anti-Inflammatory and Anti-Fibrotic Effects of Human Amniotic Membrane Mesenchymal Stem Cells and Their Potential in Corneal Repair. *Stem Cells Translational Medicine*, 7(12), σσ. 906-917.

- Navone, S. P. (2014). Decellularized silk fibroin scaffold primed with adipose mesenchymal stromal cells improves wound healing in diabetic mice. *Stem Cell Research & Therapy*, 5(1), σσ. 1-15. doi:10.1186/scrt396
- Neumuller, R. K. (2009). Dividing cellular asymmetry: asymmetric cell division and its implications for stem cells and cancer. *Genes Development*, 23(23), σσ. 2675–2699.
- Nie, Z. H. (2012). c-Myc Is a Universal Amplifier of Expressed Genes in Lymphocytes and Embryonic Stem Cells. *Cell*, 151(1), σσ. 68-79.
- Nikitina, V. O. (2011). Study of genetic stability of human bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 150(5), σσ. 627-631.
- Nikolić, M. S. (2018). Human lung development: recent progress and new challenges. *Development*, 145(16), σσ. 1-14. doi:10.1242/dev.163485
- Nishino, K. T.-I. (2011). DNA Methylation Dynamics in Human Induced Pluripotent Stem Cells over Time. *PLOS Genetics*, 7(5), σσ. 1-14. doi:10.1371/journal.pgen.1002085
- Nori, S. O. (2011). Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(40), σσ. 16825-16830.
- Nori, S. O. (2015). Long-Term Safety Issues of iPSC-Based Cell Therapy in a Spinal Cord Injury Model: Oncogenic Transformation with Epithelial-Mesenchymal Transition. *Stem Cell Reports*, 4(3), σσ. 360-373.
- O'Rourke, C. D.-D. (2018). An allogeneic 'off the shelf' therapeutic strategy for peripheral nerve tissue engineering using clinical grade human neural stem cells. *Scientific Reports*, 8. doi:10.1038/s41598-018-20927-8
- Oakley, H. C. (2006). Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *Journal of Neuroscience*, 26(40), σσ. 10129-10140.
- Obradovic, S. R.-A. (2004). Autologous bone marrow-derived progenitor cell transplantation for myocardial regeneration after acute infarction. *Vojnosanitetski pregled*, 61(5), σσ. 519-529.
- Oh, J. K. (2008). The Anti-Inflammatory and Anti-Angiogenic Role of Mesenchymal Stem Cells in Corneal Wound Healing Following Chemical Injury. *Stem Cells*, 26(4), σσ. 1047-1055.

- Oh, J. L. (2012). Intravenous Mesenchymal Stem Cells Prevented Rejection of Allogeneic Corneal Transplants by Aborting the Early Inflammatory Response. *Molecular Therapy*, 20(11), σσ. 2143-2152.
- Oh, J. L. (2015). Human-induced pluripotent stem cells generated from intervertebral disc cells improve neurologic functions in spinal cord injury. *Stem Cell Research & Therapy*, 6, σσ. 1-14. doi:10.1186/s13287-015-0118-x
- Oh, S. C. (2016). A Phase III Clinical Trial Showing Limited Efficacy of Autologous Mesenchymal Stem Cell Therapy for Spinal Cord Injury. *Neurosurgery*, 78(3), σσ. 436-447.
- Ohi, Y. Q. (2011). Incomplete DNA methylation underlies a transcriptional memory of somatic cells in human iPS cells. *Nature Cell Biology*, 13(5), σσ. 541-549.
- Ohnuki, M. T. (2014). Dynamic regulation of human endogenous retroviruses mediates factor-induced reprogramming and differentiation potential. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(34), σσ. 12426-12431.
- Oki, K. T. (2012). Human-induced pluripotent stem cells form functional neurons and improve recovery after grafting in stroke-damaged brain. *Stem Cells*, 30(6), σσ. 1120-1133.
- Okita, K. N. (2008). Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science*, 322(5903), σσ. 949-953.
- Okubo, T. I. (2016). Pretreatment with a γ -Secretase Inhibitor Prevents Tumor-like Overgrowth in Human iPSC-Derived Transplants for Spinal Cord Injury. *Stem Cell Reports*, 7(4), σσ. 649-663.
- Oliveri, R. B.-S. (2014). Mesenchymal stem cells improve locomotor recovery in traumatic spinal cord injury: Systematic review with meta-analyses of rat models. *Neurobiology of Disease*, 62, σσ. 338-353.
- Ong, H. D. (2018). Novel non-angiogenic role for mesenchymal stem cell-derived vascular endothelial growth factor on keratinocytes during wound healing. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 44, σσ. 69-79.
- Orozco, L. M. (2013). Treatment of knee osteoarthritis with autologous mesenchymal stem cells: a pilot study. *Transplantation*, 95(12), σσ. 1535-1541.
- Orozco, L. S.-S. (2011). Intervertebral Disc Repair by Autologous Mesenchymal Bone Marrow Cells: A Pilot Study. *Transplantation*, 92(7), σσ. 822-828.
- Ostergaard, M. E. (2001). Quantitative magnetic resonance imaging as marker of synovial membrane regeneration and recurrence of synovitis after arthroscopic knee joint synovectomy: a one year follow up study. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 60(3), σσ. 233-236.

- Otsuru, S. H. (2013). Improved isolation and expansion of bone marrow mesenchymal stromal cells using a novel marrow filter device. *Cytotherapy*, 15(2), σσ. 146-153.
- Overturf, K. a.-D. (1997). Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult mouse hepatocytes. *American Journal of Pathology*, 151(5), σσ. 1273–1280.
- Owen, M. F. (1988). Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Foundation Symposium*, 136, σσ. 42-60.
- Palla, A. P.-L. (2015). The pluripotency factor NANOG promotes the formation of squamous cell carcinomas. *Scientific Reports*, 5, σσ. 1-13. doi:10.1038/srep10205
- Palma-Tortosa, S. T. (2020). Activity in grafted human iPS cell-derived cortical neurons integrated in stroke-injured rat brain regulates motor behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(16), σσ. 9094-9100.
- Pan, S. L. (2018). The biocompatibility and immunogenicity study of decellularized tracheal matrix. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 32(4), σσ. 441-447.
- Pan, S. Z. (2019). Selection of the optimum 3D-printed pore and the surface modification techniques for tissue engineering tracheal scaffold in vivo reconstruction. *Journal of Biomedical Materials Research*, 107(2), σσ. 360-370.
- Papa, S. V. (2018). Mesenchymal stem cells encapsulated into biomimetic hydrogel scaffold gradually release CCL2 chemokine in situ preserving cytoarchitecture and promoting functional recovery in spinal cord injury. *Journal of Controlled Release*, 278, σσ. 49-56.
- Papanikolaou, I. K. (2017). Mesenchymal Stem Cells Transplantation following Partial Hepatectomy: A New Concept to Promote Liver Regeneration-Systematic Review of the Literature Focused on Experimental Studies in Rodent Models. *Stem Cells International*, 2017, σσ. 1-22. doi:10.1155/2017/7567958
- Park, I. Z. (2008). Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature*, 451(7175), σσ. 141-146.
- Park, J. S. (2011). Chondrogenic potential of stem cells derived from amniotic fluid, adipose tissue, or bone marrow encapsulated in fibrin gels containing TGF-β3. *Biomaterials*, 32(32), σσ. 8139-8149.
- Park, K. K. (2010). Trophic molecules derived from human mesenchymal stem cells enhance survival, function, and angiogenesis of isolated islets after transplantation. *Transplantation*, 89(5), σσ. 509-517.
- Park, S. C. (2018). Three-Dimensional Bio-Printed Scaffold Sleeves With Mesenchymal Stem Cells for Enhancement of Tendon-to-Bone Healing in Anterior Cruciate

- Ligament Reconstruction Using Soft-Tissue Tendon Graft. *Arthroscopy*, 34(1), σσ. 166-179.
- Parmar, M. G. (2020). The future of stem cell therapies for Parkinson disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 21(2), σσ. 103-115.
- Parr, C. K. (2016). MicroRNA-302 switch to identify and eliminate undifferentiated human pluripotent stem cells. *Scientific Reports*, 6, σσ. 1-14. doi:10.1038/srep32532
- Passier, R. M. (2003). Origin and use of embryonic and adult stem cells in differentiation and tissue repair. *Cardiovascular Research*, 58(2), σσ. 324–335.
- Paudel, Y. S. (2018). Role of inflammation in epilepsy and neurobehavioral comorbidities: Implication for therapy. *European Journal of Pharmacology*, 837, σσ. 145-155.
- Paulozzi, L. (2006). Opioid analgesic involvement in drug abuse deaths in American metropolitan areas. *American Journal of Public Health*, 96(10), σσ. 1755-1757.
- Paunescu, V. D. (2007). In vitro differentiation of human mesenchymal stem cells to epithelial lineage. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 11(3), σσ. 502-508.
- Pelizzo, G. A. (2018). Granulation tissue-derived mesenchymal stromal cells: a potential application for burn wound healing in pediatric patients. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine*, 14(1), σσ. 53-58.
- Pendleton, C. L.-C.-H. (2013). Mesenchymal stem cells derived from adipose tissue vs bone marrow: in vitro comparison of their tropism towards gliomas. *PLoS One*, 8(3), σσ. 1-7. doi:10.1371/journal.pone.0058198
- Peng, J. W. (2011). 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*, 84(3), σσ. 235-243.
- Peng, L. J. (2008). Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, cartilage, and adipose tissue. *Stem Cells and Development*, 17(4), σσ. 761-773.
- Perez-Cunningham, J. A. (2014). Natural Killer Cell Subsets Differentially Reject Embryonic Stem Cells Based on Licensing. *Transplantation*, 97(10), σσ. 992-998.
- Perin, E. S. (2012). Randomized, double-blind pilot study of transendocardial injection of autologous aldehyde dehydrogenase-bright stem cells in patients with ischemic heart failure. *American Heart Journal*, 163(3), σσ. 415-421.
- Perrera, V. M. (2019). How Does Reprogramming to Pluripotency Affect Genomic Imprinting? *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, σσ. 1-16. doi:10.3389/fcell.2019.00076
- Petersen, B. B. (1999). Bone Marrow as a Potential Source of Hepatic Oval Cells. *Science*, 284(5417), σσ. 1168–1170.

- Pettine, K. S. (2017). Autologous bone marrow concentrate intradiscal injection for the treatment of degenerative disc disease with three-year follow-up. *International Orthopaedics volume 41, pages2097–2103 (2017), 41(10)*, σσ. 2097-2103.
- Pietronave S, P. M. (2012). Advances and applications of induced pluripotent stem cells. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 90(3)*, σσ. 317-325.
- Pievani A, S. V. (2014). Comparative analysis of multilineage properties of mesenchymal stromal cells derived from fetal sources shows an advantage of mesenchymal stromal cells isolated from cord blood in chondrogenic differentiation potential. *Cytotherapy, 16(7)*, σσ. 893-905.
- Pittenger, M. M. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science, 284(5411)*, σσ. 143-147.
- Pizzicannella, J. D. (2018). Endothelial committed oral stem cells as modelling in the relationship between periodontal and cardiovascular disease. *Journal of Cellular Physiology, 233(10)*, σσ. 6734-6747.
- Poewe, W. (2009). Treatments for Parkinson disease--past achievements and current clinical needs. *Neurology, 72*, σσ. 65-73.
- Polo, J. L. (2010). Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells. *Nature Biotechnology, 28(8)*, σσ. 848-855.
- Poloni, A. M. (2011). Human mesenchymal stem cells from chorionic villi and amniotic fluid are not susceptible to transformation after extensive in vitro expansion. *Cell Transplantation, 20(5)*, σσ. 643-654.
- Pomeshchik, Y. P. (2015). Transplanted Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Progenitor Cells Do Not Promote Functional Recovery of Pharmacologically Immunosuppressed Mice With Contusion Spinal Cord Injury. *Cell Transplantation, 24(9)*, σσ. 1799–1812.
- Ponte, A. M. (2007). The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. *Stem Cells, 25(7)*, σσ. 1737-1745.
- Popat, U. M. (2015). Enforced fucosylation of cord blood hematopoietic cells accelerates neutrophil and platelet engraftment after transplantation. *Blood, 125(19)*, σσ. 2885-2892.
- Popova, A. B. (2010). Autocrine production of TGF-β1 promotes myofibroblastic differentiation of neonatal lung mesenchymal stem cells. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology, 298(6)*, σσ. L735-743.
- Portas, M. M. (2016). Use of Human Cadaveric Mesenchymal Stem Cells for Cell Therapy of a Chronic Radiation-Induced Skin Lesion: A Case Report. *Radiation Protection Dosimetry, 171(1)*, σσ. 99-106.

- Potier, E. F.-A. (2007). Prolonged hypoxia concomitant with serum deprivation induces massive human mesenchymal stem cell death. *Tissue Engineering*, 13(6), σσ. 1325-1331.
- Prasad, V. M. (2008). Unrelated donor umbilical cord blood transplantation for inherited metabolic disorders in 159 pediatric patients from a single center: influence of cellular composition of the graft on transplantation outcomes. *Blood*, 112(7), σσ. 2979–2989.
- Prindull, G. P. (1978). Haematopoietic stem cells (CFUc) in human cord blood. *Acta Paediatrica Scandinavica*, 67(4), σσ. 413-416.
- Prockop, D. (1997). Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*, 276(5309), σσ. 71-74.
- Prusa, A. H. (2002). Amniotic fluid cells and human stem cell research: a new connection. *Medical Science Monitor*, 8(11), σσ. RA253-257.
- Qadir, M. Á.-C. (2019). A Double Fail-Safe Approach to Prevent Tumorigenesis and Select Pancreatic β Cells from Human Embryonic Stem Cells. *Stem Cell Reports*, 12(3), σσ. 611-623.
- Qi, C. X. (2018). Sericin hydrogels promote skin wound healing with effective regeneration of hair follicles and sebaceous glands after complete loss of epidermis and dermis. *Biomaterials Science*, 6(11), σσ. 2859-2870.
- Qi, Y. J. (2014). TSG-6 Released from Intradermally Injected Mesenchymal Stem Cells Accelerates Wound Healing and Reduces Tissue Fibrosis in Murine Full-Thickness Skin Wounds. *Journal of Investigative Dermatology*, 134(2), σσ. 526-537.
- Qiu, Y. M.-C.-W. (2012). Mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord blood migrate in response to complement C1q. *Cytotherapy*, 14(3), σσ. 285-295.
- Ramot, Y. M. (2009). Safety and biodistribution profile of placental-derived mesenchymal stromal cells (PLX-PAD) following intramuscular delivery. *Toxicologic Pathology*, 37(5), σσ. 606-616.
- Rashid, S. C. (2010). Modeling inherited metabolic disorders of the liver using human induced pluripotent stem cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(9), σσ. 3127-3136.
- Ratajczak, M. Z.-S. (2012). Pluripotent and multipotent stem cells in adult tissues. *Advances in Medical Sciences*, 57(1), σσ. 1-17.
- Ray, S. (2016). The Transcription Regulator Kruppel-Like Factor 4 and Its Dual Roles of Oncogene in Glioblastoma and Tumor Suppressor in Neuroblastoma. *Oncology Therapeutics*, 7(1-2), σσ. 127-139.
- Raza, C. A. (2019). Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies. *Life Sciences*, 226, σσ. 77-90.

- Rebulla, P. (2002). Cord blood banking 2002: 112,010 of 7,914,773 chances. *Transfusion*, 42(10), σσ. 1246-1248.
- Reppel, L. S. (2015). Chondrogenic induction of mesenchymal stromal/stem cells from Wharton's jelly embedded in alginate hydrogel and without added growth factor: an alternative stem cell source for cartilage tissue engineering. *Stem Cell Research & Therapy*, 6, σσ. 1-13. doi:10.1186/s13287-015-0263-2
- Rhee, Y. K. (2011). Protein-based human iPS cells efficiently generate functional dopamine neurons and can treat a rat model of Parkinson disease. *The Journal Clinical Investigation*, 121(6), σσ. 2326-2335.
- Rocha, V. C. (2001). Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood*, 97(10), σσ. 2962–2971.
- Rocha, V. G. (2006). Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. *Biol Blood Marrow Transplant*, 12(1), σσ. 34–41.
- Rocha, V. L. (2004). Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 351(22), σσ. 2276–2285.
- Rocha, V. S. (2004). Umbilical cord blood transplantation. *Current Opinion in Hematology*, 11(6), σσ. 375-385.
- Rocha, V. W. (2000). Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. *The New England Journal of Medicine*, 342(25), σσ. 1846–1854.
- Rocha, V. W. (2000). Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. *The New England Journal of Medicine*, 342(25), σσ. 1846-1854.
- Rodrigues, C. d. (2014). New Therapy of Skin Repair Combining Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells with Sodium Carboxymethylcellulose Scaffold in a Pre-Clinical Rat Model. *PLoS ONE*, 9. doi:10.1371/journal.pone.0096241
- Rohaina, C. T. (2014). Reconstruction of limbal stem cell deficient corneal surface with induced human bone marrow mesenchymal stem cells on amniotic membrane. *Translational Research*, 163(3), σσ. 200-210.
- Romanyuk, N. A. (2015). Beneficial Effect of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Precursors in Spinal Cord Injury Repair. *Cell Transplantation*, 24(9), σσ. 1781-1797.

- Roseti, L. S. (2008). Cell manipulation in autologous chondrocyte implantation: from research to cleanroom. *La Chirurgia degli Organi di Movimento*, 91(3), σσ. 147-151.
- Rossant, J. (2001). Stem cells from the Mammalian blastocyst. *Stem Cells*, 19(6), σσ. 477-482.
- Rossant, J. (2008). Stem cells and early lineage development. *Cell*, 132(4), σσ. 527-531.
- Rowley, J. (1998). Backtracking leukemia to birth. *Nature Medicine*, 4(2), σσ. 150-151.
- Roy, N. C. (2006). Functional engraftment of human ES cell-derived dopaminergic neurons enriched by coculture with telomerase-immortalized midbrain astrocytes. *Nature Medicine*, 12(11), σσ. 1259-1268.
- Rubinstein, P. (2006). Why cord blood? *Human Immunology*, 67(6), σσ. 398-404.
- Rubinstein, P. C. (1998). Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *The New England Journal of Medicine*, 339(22), σσ. 1565-1577.
- Rubinstein, P. D. (1995). Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 92(22), σσ. 10119-10122.
- Rubinstein, P. T. (1994). Unrelated placental blood for bone marrow reconstitution: organization of the placental blood program. *Blood Cells*, 20(2-3), σσ. 587-600.
- Ruoslahti, E. (1997). Stretching is good for a cell. *Science*, 276(5317), σσ. 1345-1346.
- Sabapathy, V. R. (2012). Long-term cultured human term placenta-derived mesenchymal stem cells of maternal origin displays plasticity. *Stem Cells International*, 2012, σσ. 1-11. doi:10.1155/2012/174328
- Salewski, R. M. (2015). Transplantation of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Stem Cells Mediate Functional Recovery Following Thoracic Spinal Cord Injury Through Remyelination of Axons. *Stem Cells Translational Medicine*, 4(7), σσ. 743-754.
- Salgado, A. O. (2013). Tissue engineering and regenerative medicine: past, present, and future. *International Review of Neurobiology*, 108, σσ. 1-33.
- Samardzija, C. Q. (2012). Attributes of Oct4 in stem cell biology: perspectives on cancer stem cells of the ovary. *Journal of Ovarian Research*, 5(1), σσ. 1-12. doi:10.1186/1757-2215-5-37
- Santaliz-Ruiz, L. X. (2014). Emerging role of nanog in tumorigenesis and cancer stem cells. *International Journal of Cancer*, 135(12), σσ. 2741-2748.

- Sasaki, H. R. (2018). In Vitro Repair of Meniscal Radial Tear With Hydrogels Seeded With Adipose Stem Cells and TGF- β 3. *The American Journal of Sports Medicine*, 46(10), σσ. 2402-2413.
- Savatier, P. L. (2002). Analysis of the cell cycle in mouse embryonic stem cells. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 185, σσ. 27-33.
- Savoji, H. M. (2019). Cardiovascular disease models: A game changing paradigm in drug discovery and screening. *Biomaterials*, 198, σσ. 3-26.
- Schlaeger, T. D. (2015). A comparison of non-integrating reprogramming methods. *Nature Biotechnology volume 33, pages58–63 (2015, 33(1)*, σσ. 58-63.
- Schmidt, A. L. (2006). Basic fibroblast growth factor controls migration in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 24(7), σσ. 1750-1758.
- Schoemans, H. T. (2006). Adult umbilical cord blood transplantation: a comprehensive review. *Bone Marrow Transplant*, 38(2), σσ. 83–93.
- Scholz, J. F. (2019). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain. *Pain*, 160(1), σσ. 53-59.
- Schuldiner, M. I.-E. (2003). Selective Ablation of Human Embryonic Stem Cells Expressing a “Suicide” Gene. *Stem Cells*, 21(3), σσ. 257-265.
- Schwartz, R. R. (2002). Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *Journal of Clinical Investigation*, 109(10), σσ. 1291-1302.
- Schwartz, S. H.-C. (2012). Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *The Lancet*, 379(9817), σσ. 713-720.
- Schwartz, S. R. (2015). Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *The Lancet*, 385(9967), σσ. 509-516.
- Schweitzer, J. S. (2020). Personalized iPSC-Derived Dopamine Progenitor Cells for Parkinson’s Disease. *The New England Journal of Medicine*, 382(20), σσ. 1926-1932.
- Sekiya, I. L. (2002). Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality. *Stem Cells*, 20(6), σσ. 530-541.
- Semenov, O. O. (2011). Mechanism of diffusive transport in molecular spider models. *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics*, 83(2). doi:10.1103/PhysRevE.83.021117

- Serakinci, N. G. (2004). Adult human mesenchymal stem cell as a target for neoplastic transformation. *Oncogene*, 23(29), σσ. 5095-5098.
- Seshareddy, K. T. (2008). Method to isolate mesenchymal-like cells from Wharton's Jelly of umbilical cord. *Methods in Cell Biology*, 86, σσ. 101-119.
- Shafei, A. A. (2017). Mesenchymal stem cell therapy: A promising cell-based therapy for treatment of myocardial infarction. *The Journal of Gene Medicine*, 19(12). doi:10.1002/jgm.2995
- Shahdadfar, A. F. (2005). In Vitro Expansion of Human Mesenchymal Stem Cells: Choice of Serum Is a Determinant of Cell Proliferation, Differentiation, Gene Expression, and Transcriptome Stability. *Stem Cells*, 23(9), σσ. 1357-1366.
- Shaker, A. R. (2012). One step closer to gut repair. *Nature*(485), σσ. 181-182.
- Shao, X. G. (2006). Repair of large articular osteochondral defects using hybrid scaffolds and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rabbit model. *Tissue Engineering*, 12(6), σσ. 1539-1551.
- Shapiro, S. K. (2017). A Prospective, Single-Blind, Placebo-Controlled Trial of Bone Marrow Aspirate Concentrate for Knee Osteoarthritis. *The American Journal of Sports Medicine*, 45(1), σσ. 82-90.
- Sharma, B. W. (2007). In vivo chondrogenesis of mesenchymal stem cells in a photopolymerized hydrogel. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 119(1), σσ. 112-120.
- Sheldon, S. P. (2006). HLA Typing and Its Influence on Organ Transplantation. *Transplant Immunology*, 333, σσ. 157-174.
- Shen, T. S. (2017). Cell viability and extracellular matrix synthesis in a co-culture system of corneal stromal cells and adipose-derived mesenchymal stem cells. *International Journal of Ophthalmology*, 10(5), σσ. 670–678.
- Sheng, Z. F. (2009). Regeneration of functional sweat gland-like structures by transplanted differentiated bone marrow mesenchymal stem cells. *Wound Repair and Regeneration*, 17(3), σσ. 427-435.
- Shetty, A. (2020). Mesenchymal Stem Cell Infusion Shows Promise for Combating Coronavirus (COVID-19)- Induced Pneumonia. *Aging and Disease*, 11(2), σσ. 462-464.
- Shi, B. D. (2014). ERK1/2 Pathway-Mediated Differentiation of IGF-1-Transfected Spinal Cord-Derived Neural Stem Cells into Oligodendrocytes. *PLoS One*, 9(8), σσ. 1-8. doi:10.1371/journal.pone.0106038
- Shi, D. Z. (2017). Quantitative evaluation of human bone mesenchymal stem cells rescuing fulminant hepatic failure in pigs. *Gut*, 66(5), σσ. 955-964.

- Shi, Z. T. (2020). Precision installation of a highly efficient suicide gene safety switch in human induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Translational Medicine*, 9(11), σσ. 1378-1388.
- Shichinohe, H. K. (2017). Research on advanced intervention using novel bone marrow stem cell (RAINBOW): a study protocol for a phase I, open-label, uncontrolled, dose-response trial of autologous bone marrow stromal cell transplantation in patients with acute ischemic stroke. *BMC Neurology*, 17, σσ. 1-8. doi:10.1186/s12883-017-0955-6
- Shimomura, K. R. (2019). Enhanced repair of meniscal hoop structure injuries using an aligned electrospun nanofibrous scaffold combined with a mesenchymal stem cell-derived tissue engineered construct. *Biomaterials*, 192, σσ. 346-354.
- Shiroi, A. U. (2005). Differentiation of embryonic stem cells into insulin-producing cells promoted by Nkx2.2 gene transfer. *World Journal of Gastroenterology*, 11(27), σσ. 4161-4166.
- Shokrgozar, M. F. (2012). Healing potential of mesenchymal stem cells cultured on a collagen-based scaffold for skin regeneration. *Iranian Biomedical Journal*, 16(2), σσ. 68-76.
- Shu, C. L. (2006). Differentiation of adult rat bone marrow stem cells into epithelial progenitor cells in culture. *Cell Biology International*, 30(10), σσ. 823-828.
- Shu, L. N. (2020). Treatment of severe COVID-19 with human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*, 11(1), σσ. 1-11. doi:10.1186/s13287-020-01875-5
- Siddiqi, S. d. (2018). Aortic allografts: final destination?-a summary of clinical tracheal substitutes. *Journal of Thoracic Disease*, 10(8), σσ. 5149-5153.
- Silberstein, L. J. (1996). Placental-blood banking-a new frontier in transfusion medicine. *The New England Journal of Medicine*, 335(3), σσ. 199-201.
- Silva, S. R. (2008). X-chromosome inactivation and epigenetic fluidity in human embryonic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(12), σσ. 4820-4825.
- Smart, N. R. (2008). The stem cell movement. *Circulation Research*, 102(10), σσ. 1155-1168.
- Smith, A. (2006). A glossary for stem-cell biology. *Nature*(441), σ. 1060.
- Snippert, H. C. (2011). Tracking adult stem cells. *EMBO Reports*, 12(2), σσ. 113-122.
- Sollazzo, V. P. (2011). Trabecular Titanium Induces Osteoblastic Bone Marrow Stem Cells Differentiation. *Journal of Biotechnology & Biomaterials*, 1(1), σσ. 1-5. doi:10.4172/2155-952X.1000102

- Solmaz, H. U. (2017). Photobiomodulation of wound healing via visible and infrared laser irradiation. *Lasers in Medical Science*, 32, σσ. 903-910.
- Solves, P. M. (2003). Comparison between two strategies for umbilical cord blood collection. *Bone Marrow Transplant*, 31(4), σσ. 269-273.
- Solves, P. M.-U. (2005). Red blood cell depletion with a semiautomated system or hydroxyethyl starch sedimentation for routine cord blood banking: a comparative study. *Transfusion*, 45(6), σσ. 867-873.
- Somay, C. G. (1992). Relationship of myc protein expression to the phenotype and to the growth potential of HOC-7 ovarian cancer cells. *British Journal of Cancer*, 66, σσ. 93-98.
- Song, W. P. (2015). Treatment of macular degeneration using embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium: preliminary results in Asian patients. *Stem Cell Reports*, 4(5), σσ. 860-872.
- Sousa, B. P. (2014). Human adult stem cells from diverse origins: an overview from multiparametric immunophenotyping to clinical applications. *Cytometry A*, 85(1), σσ. 43-77.
- Spitalieri, P. T. (2018). Modelling the pathogenesis of Myotonic Dystrophy type 1 cardiac phenotype through human iPSC-derived cardiomyocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 118, σσ. 95-109.
- Stadtfeld, M. N. (2008). Induced pluripotent stem cells generated without viral integration. *Science*, 322(5903), σσ. 945-949.
- Steinbrook, R. (2004). The cord-blood-bank controversies. *The New England Journal of Medicine*, 351(22), σσ. 2255-2257.
- Stolzing, A. J. (2008). Age-related changes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells: Consequences for cell therapies. *Mechanisms of Ageing and Development*, 129(3), σσ. 163-173.
- Stolzing, A. S. (2006). Age-related impairment of mesenchymal progenitor cell function. *Aging Cell*, 5(3), σσ. 213-224.
- Streuli, C. (1999). Extracellular matrix remodelling and cellular differentiation. *Current Opinion in Cell Biology*, 11(5), σσ. 634-640.
- Strnadel, J. C. (2018). Survival of syngeneic and allogeneic iPSC-derived neural precursors after spinal grafting in minipigs. *Science Translational Medicine*, 10(440), σσ. 1-14. doi:10.1126/scitranslmed.aam6651
- Sugarman, J. K. (2002). Optimization of informed consent for umbilical cord blood banking. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 187(6), σσ. 1642-1646.

- Sugiura, M. K. (2014). Induced Pluripotent Stem Cell Generation-Associated Point Mutations Arise during the Initial Stages of the Conversion of These Cells. *Stem Cell Reports*, 2(1), σσ. 52-63.
- Suk, K. Y. (2016). Transplantation with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells for alcoholic cirrhosis: Phase 2 trial. *Hepatology*, 64(6), σσ. 2185-2197.
- Sun, X. Z. (2018). Differentiation of adipose-derived stem cells into Schwann cell-like cells through intermittent induction: potential advantage of cellular transient memory function. *Stem Cell Research & Therapy*, 9. doi:10.1186/s13287-018-0884-3
- Sun, Z. W. (2012). Secretion of rat tracheal epithelial cells induces mesenchymal stem cells to differentiate into epithelial cells. *Cell Biology International*, 36(2), σσ. 169-175.
- Sykova, E. R. (2017). Transplantation of Mesenchymal Stromal Cells in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis: Results of Phase I/IIa Clinical Trial. *Cell Transplantation*, 26, σσ. 647-658.
- Takahashi K, Y. S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126(4), σσ. 663-676.
- Takahashi, K. T. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131(5), σσ. 861-872.
- Takahashi, K. Y. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126(4), σσ. 663-676.
- Takahashi, K. Y. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 126(4), σσ. 663-676.
- Takamatsu, K. I. (2014). Degradation of amyloid beta by human induced pluripotent stem cell-derived macrophages expressing Nepriylsin-2. *Stem Cell Research*, 13(3, Part A), σσ. 442-453.
- Tang, D. T. (2016). Biofabrication of bone tissue: approaches, challenges and translation for bone regeneration. *Biomaterials*, 83, σσ. 363-382.
- Tarafder S, G. J. (2018). Engineered Healing of Avascular Meniscus Tears by Stem Cell Recruitment. *Scientific Reports volume 8, Article number: 8150 (2018, 8(1)*, σσ. 1-9.
- Tavakol, D. J.-G. (2017). Design of a 3D-bioprinted mesenchymal stem-cell laden construct for accelerating angiogenesis in diabetic wounds. *The FASEB Journal*, 31(1), σ. 1004.1.
- Teng, I. H. (2011). Targeted methylation of two tumor suppressor genes is sufficient to transform mesenchymal stem cells into cancer stem/initiating cells. *Cancer Research*, 71(13), σσ. 4653-4663.

- Thaweessapphithak, S. T. (2019). Human serum enhances the proliferative capacity and immunomodulatory property of MSCs derived from human placenta and umbilical cord. *Stem Cell Research & Therapy*, *10*, σσ. 1-18. doi:10.1186/s13287-019-1175-3
- Theoharides, T. C. (2020). Dexamethasone for COVID-19? Not so fast. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, *34*(3), σσ. 1241-1243.
- Thoma, E. M. (2012). Parallel differentiation of embryonic stem cells into different cell types by a single gene-based differentiation system. *Cell Reprogramming*, *14*(2), σσ. 106-111.
- Thomson, A. C. (1999). Prostatic growth and development are regulated by FGF10. *Development*, *126*(16), σσ. 3693-3701.
- Thomson, J. I.-E. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, *282*(5391), σσ. 1145-1147.
- Tiklová, K. N. (2020). Single cell transcriptomics identifies stem cell-derived graft composition in a model of Parkinson's disease. *Nature Communications*, *11*, σσ. 1-11. doi:10.1038/s41467-020-16225-5
- Till, J. M. (1961). A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiation Research*, *14*, σσ. 213-222.
- Todorov, P. H. (2010). Comparative studies of different cryopreservation methods for mesenchymal stem cells derived from human fetal liver. *Cell Biology International*, *34*(5), σσ. 455-462.
- Toma, C. P. (2002). Human Mesenchymal Stem Cells Differentiate to a Cardiomyocyte Phenotype in the Adult Murine Heart. *Circulation*, *105*(1), σσ. 93-98.
- Toratani, T. N. (2017). Scaffold-Free Tissue-Engineered Allogenic Adipose-Derived Stem Cells Promote Meniscus Healing. *Arthroscopy*, *33*(2), σσ. 346-354.
- Tornero, D. T.-H. (2017). Synaptic inputs from stroke-injured brain to grafted human stem cell-derived neurons activated by sensory stimuli. *Brain*, *140*(3), σσ. 692-706.
- Tornero, D. W. (2013). Human induced pluripotent stem cell-derived cortical neurons integrate in stroke-injured cortex and improve functional recovery. *Brain*, *136*(12), σσ. 3561-3577.
- Trivanović, D. K. (2013). Mesenchymal stem cells isolated from peripheral blood and umbilical cord Wharton's jelly. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo*, *141*(3-4), σσ. 178-186.
- Tsai, R. M. (2000). Cell contact regulates fate choice by cortical stem cells. *Journal of Neuroscience*, *20*(10), σσ. 3725-3735.
- Tsang, K. L. (2001). Dextran sedimentation in a semi-closed system for the clinical banking of umbilical cord blood. *Transfusion*, *41*(3), σσ. 344-352.

- Tse, H. K. (2003). Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *The Lancet*, 361(9351), σσ. 47-49.
- Tsubota, K. S.-M. (1999). Treatment of Severe Ocular-Surface Disorders with Corneal Epithelial Stem-Cell Transplantation. *The New England Journal of Medicine*, 340(22), σσ. 1697-1703.
- Tsuji, O. S. (2019). Concise Review: Laying the Groundwork for a First-In-Human Study of an Induced Pluripotent Stem Cell-Based Intervention for Spinal Cord Injury. *Stem Cells*, 37(1), σσ. 6-13.
- Tsutsumi, S. S. (2001). Retention of Multilineage Differentiation Potential of Mesenchymal Cells during Proliferation in Response to FGF. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 288(2), σσ. 413-419.
- Tzouvelekis, A. K. (2011). Stem cell therapy for idiopathic pulmonary fibrosis: a protocol proposal. *Journal of Translational Medicine*(9), σ. 182.
- Uccelli, A. M. (2008). Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 8(9), σσ. 726-736.
- Umekage, M. S. (2019). Overview: an iPS cell stock at CiRA. *Inflammation and Regeneration*, 39, σσ. 1-5. doi:10.1186/s41232-019-0106-0
- Ustun, C. G. (2017). Outcomes of UCB transplantation are comparable in FLT3+ AML: results of CIBMTR, EUROCORD and EBMT collaborative analysis. *Leukemia*, 31(6), σσ. 1408-1414.
- van Buul, G. K. (2011). Clinically translatable cell tracking and quantification by MRI in cartilage repair using superparamagnetic iron oxides. *PLoS One*, 6(2), σσ. 1-9. doi:10.1371/journal.pone.0017001
- van Velthoven, C. K. (2012). Mesenchymal stem cells as a treatment for neonatal ischemic brain damage. *Pediatric Research*, 71, σσ. 474-481.
- Varma, D. D. (2018). Injectable, redox-polymerized carboxymethylcellulose hydrogels promote nucleus pulposus-like extracellular matrix elaboration by human MSCs in a cell density-dependent manner. 33(4), σσ. 576–589.
- Vats, D. B. (2005). Stem cells. *Lancet*(366), σσ. 592-602.
- Vawter, D. R.-C. (2002). A phased consent policy for cord blood donation. *Transfusion*, 42(10), σσ. 1268-1274.
- Venkatesh, K. S. (2017). Mesenchymal Stem Cells as a Source of Dopaminergic Neurons: A Potential Cell Based Therapy for Parkinson's Disease. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 12(4), σσ. 326–347.
- Vezzani, A. F. (2011). The role of inflammation in epilepsy. *Nature Reviews Neurology*, 7(1), σσ. 31-40.

- Villodre, E. K. (2016). Roles of OCT4 in tumorigenesis, cancer therapy resistance and prognosis. *Cancer Treatment Reviews*, 51, σσ. 1-9.
- Voog, J. J. (2010). Stem cells and the niche: a dynamic duo. *Cell Stem Cell*, 6(2), σσ. 103-115.
- Wagers, A. (2012). The stem cell niche in regenerative medicine. *Cell Stem Cell*, 10(4), σσ. 362-369.
- Wagner, J. (1993). Umbilical cord blood stem cell transplantation. *American Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 15(2), σσ. 169-174.
- Wagner, J. B. (2002). Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood*, 100(5), σσ. 1611–1618.
- Wagner, J. E. (2014). One-unit versus two-unit cord-blood transplantation for hematologic cancers. *The New England Journal of Medicine*, 371(18), σσ. 1685-1694.
- Wagner, W. H. (2010). Different facets of aging in human mesenchymal stem cells. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 16(4), σσ. 445-453.
- Wakitani, S. G. (1994). Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 76(4), σσ. 579-59.
- Wakitani, S. I. (2002). Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees. *Osteoarthritis and Cartilage*, 10(3), σσ. 199-206.
- Walia, K. K. (2004). Side effects of antiepileptics--a review. *Pain Practice*, 4(3), σσ. 194-203.
- Walter, M. W. (2010). Mesenchymal stem cell-conditioned medium accelerates skin wound healing: an in vitro study of fibroblast and keratinocyte scratch assays. *Experimental Cell Research*, 316(7), σσ. 1271-1281.
- Wang, D. J. (2018). BMP14 induces tenogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in vitro. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 16(2), σσ. 1165-1174.
- Wang, D. Z. (2017). The role of NLRP3-CASP1 in inflammasome-mediated neuroinflammation and autophagy dysfunction in manganese-induced, hippocampal-dependent impairment of learning and memory ability. *Autophagy*, 13(5), σσ. 914-927.
- Wang, G. Z. (2018). Oct4 promotes cancer cell proliferation and migration and leads to poor prognosis associated with the survivin/STAT3 pathway in hepatocellular carcinoma. *Oncology Reports*, 40(2), σσ. 979-987.

- Wang, H. H. (2004). Mesenchymal stem cells in the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cells*, 22(7):1330-7., 22(7), σσ. 1330-1337.
- Wang, J. S. (2017). Evaluation of the potential of rhTGF-β3 encapsulated P(LLA-CL)/collagen nanofibers for tracheal cartilage regeneration using mesenchymal stem cells derived from Wharton's jelly of human umbilical cord. *Materials Science and Engineering: C*, 70(1), σσ. 637-645.
- Wang, P. H. (2018). Wound healing. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(2), σσ. 94-101.
- Wang, S. B.-M. (2013). Human iPSC-derived oligodendrocyte progenitor cells can myelinate and rescue a mouse model of congenital hypomyelination. *Cell Stem Cell*, 12(2), σσ. 252-264.
- Wang, S. C. (2013). Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation significantly improves neurological function in patients with sequelae of traumatic brain injury. *Brain Research*, 1532, σσ. 76-84.
- Wang, T. T. (2018). 3D uniaxial mechanical stimulation induces tenogenic differentiation of tendon-derived stem cells through a PI3K/AKT signaling pathway. *The FASEB Journal*, 32(9), σσ. 4804-4814.
- Wang, Y. H. (2012). Safety of mesenchymal stem cells for clinical application. *Stem Cells International*, 2012, σσ. 1-4. doi:10.1155/2012/652034
- Wang, Z. O. (2012). Distinct lineage specification roles for NANOG, OCT4, and SOX2 in human embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 10(4), σσ. 440-454.
- Warren, L. M. (2010). Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell*, 7(5), σσ. 618-630.
- Warwick, R. B. (1998). Safety aspects of cord blood banking. *Bone Marrow Transplantation*, 21(3), σσ. 40-42.
- Watson, N. D. (2015). Discarded Wharton jelly of the human umbilical cord: a viable source for mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy*, 17(1), σσ. 18-24.
- Wei, H. T. (2012). One-step derivation of cardiomyocytes and mesenchymal stem cells from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Research*, 9(2), σσ. 87-100.
- Wei, X. D. (2009). IFATS collection: The conditioned media of adipose stromal cells protect against hypoxia-ischemia-induced brain damage in neonatal rats. *Stem Cells*, 27(2), σσ. 478-488.
- Weis, S. C. (2011). Tumor angiogenesis: molecular pathways and therapeutic targets. *Nature Medicine*, 17(11), σσ. 1359-1370.

- Weiss, D. B.-M. (2011). Stem cells and cell therapies in lung biology and lung diseases. *Proceeding of the American Thoracic Society*, 8(3), σσ. 223–272.
- Weiss, M. A. (2008). Immune properties of human umbilical cord Wharton's jelly-derived cells. *Stem Cells*, 26(11), σσ. 2865-2874.
- Weiss, M. M. (2006). Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease. *Stem Cells*, 24(3), σσ. 781-792.
- Weiss, M. T. (2006). Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cell Reviews*, σσ. 155-162.
- Wernig, M. M. (2007). In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature*(448), σσ. 318-324.
- Westhauser, F. S. (2017). In Vivo Models for the Evaluation of the Osteogenic Potency of Bone Substitutes Seeded with Mesenchymal Stem Cells of Human Origin: A Concise Review. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 23(12), σσ. 881-888.
- Wexler, S. D.-K. (2003). Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem' cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *British Journal of Haematology*, 121(2), σσ. 368–374.
- Wilkins, A. K. (2009). Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells secrete brain-derived neurotrophic factor which promotes neuronal survival in vitro. *Stem Cell Research*, 3(1), σσ. 63-70.
- Wilmut, I. S. (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 385, σσ. 810–813.
- Wolk, K. W. (2006). IL-22 regulates the expression of genes responsible for antimicrobial defense, cellular differentiation, and mobility in keratinocytes: a potential role in psoriasis. *European Journal of Immunology*, 36(5), σσ. 1309–1323.
- Woltjen, K. M. (2009). piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature*(458), σσ. 766–770.
- Woltjen, K. M. (2009). piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature*, 458(7239), σσ. 766-770.
- Wong, A. Y. (2001). Cord blood collection before and after placental delivery: levels of nucleated cells, haematopoietic progenitor cells, leukocyte subpopulations and macroscopic clots. *Bone Marrow Transplant*, 27(2), σσ. 133-138.
- Wu, Q. L. (2018). Autologous platelet-rich gel combined with in vitro amplification of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation to treat the diabetic foot ulcer: a case report. *Annals of Translational Medicine*, 6(15), σσ. 1-7.
doi:10.21037/atm.2018.07.12

- Wuebben, E. R. (2017). The dark side of SOX2: cancer - a comprehensive overview. *Oncotarget*. 2017; 8:44917-44943, 8(27), σσ. 44917-44943.
- Xi, J. Z. (2008). Stem cells in development of therapeutics for Parkinson's disease: A perspective. *Journal of Cellular Biochemistry*, 105(5), σσ. 1153-1160.
- Xia, Y. Y. (2017). Epidermal growth factor promotes mesenchymal stem cell-mediated wound healing and hair follicle regeneration. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 10(7), σσ. 7390-7400.
- Xiuying, L. B. (2014). Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. *International Journal of Molecular Medicine*, 34(3), σσ. 695-704.
- Xu, H. W. (2019). Targeted Disruption of HLA Genes via CRISPR-Cas9 Generates iPSCs with Enhanced Immune Compatibility. *Cell Stem Cell*, 24(4), σσ. 566-578.
- Xu, W. Z. (2004). Mesenchymal Stem Cells from Adult Human Bone Marrow Differentiate into a Cardiomyocyte Phenotype In Vitro. *Experimental Biology and Medicine*, 229(7), σσ. 623–631.
- Xu, Y. L. (2017). Tissue-engineered trachea regeneration using decellularized trachea matrix treated with laser micropore technique. *Acta Biomaterialia*, 58, σσ. 113-121.
- Yadav, P. V. (2020). Mesenchymal stem cell immunomodulation and regeneration therapeutics as an ameliorative approach for COVID-19 pandemics. *Life Sciences*, 263, σσ. Volume 263, 15 December 2020, 118588. doi:10.1016/j.lfs.2020.118588
- Yagyu, S. H. (2015). An Inducible Caspase-9 Suicide Gene to Improve the Safety of Therapy Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Molecular Therapy*, 23(9), σσ. 1475-1485.
- Yamakado, H. M. (2012). α -Synuclein BAC transgenic mice as a model for Parkinson's disease manifested decreased anxiety-like behavior and hyperlocomotion. *Neuroscience Research*, 73(2), σσ. 173-177.
- Yamashita, K. I. (2018). Corneal Endothelial Regeneration Using Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Umbilical Cord. *Stem Cells and Development*, 27(16), σσ. 1097-1108.
- Yamashita, Y. (2010). Cell adhesion in regulation of asymmetric stem cell division. *Current Opinion in Cell Biology*, 22(5), σσ. 605-610.
- Yang, D. S. (2013). Stromal Cell-Derived Factor-1 Receptor CXCR4-Overexpressing Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Accelerate Wound Healing by Migrating into Skin Injury Areas. *Cellular Reprogramming*, 15(3), σσ. 206-215.

- Yang, J. S. (2012). Differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from adipose tissue and bone marrow to sinus node-like cells. *Molecular Medicine Reports*, 5(1), σσ. 108-113.
- Yang, J. Z. (2017). Cell-laden hydrogels for osteochondral and cartilage tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 57, σσ. 1-25. doi:10.1016/j.actbio.2017.01.036
- Yao, L. L. (2012). Role of Mesenchymal Stem Cells on Cornea Wound Healing Induced by Acute Alkali Burn. *PLoS ONE*, 7(2), σσ. 1-7. doi:10.1371/journal.pone.0030842
- Yao, S. C. (2006). Long-term self-renewal and directed differentiation of human embryonic stem cells in chemically defined conditions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103(18), σσ. 6907-6912.
- Ye, K. L. (2019). Three-dimensional electrospun nanofibrous scaffolds displaying bone morphogenetic protein-2-derived peptides for the promotion of osteogenic differentiation of stem cells and bone regeneration. *Journal of Colloid and Interface Science*, 534, σσ. 625-636.
- Yeo, J. N. (2013). The transcriptional regulation of pluripotency. *Cell Research*, 23(1), σσ. 20-32.
- Yeung, T. C. (2011). Regulation of self-renewal and differentiation by the intestinal stem cell niche. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 68(15), σσ. 2513–2523.
- Yeung, T. S. (2012). Human mesenchymal stem cells protect human islets from pro-inflammatory cytokines. *PLoS One*, 7(5), σ. e38189.
- Yin, L. Z. (2015). Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiated into hepatocyte-like cells in vivo and in vitro. *Molecular Medicine Reports*, 11(3), σσ. 1722-1732.
- Young, T. H. (2005). Behavior of embryonic rat cerebral cortical stem cells on the PVA and EVAL substrates. *Biomaterials*, 26(20), σσ. 4291-4299.
- Younger, E. C. (1989). Morbidity at bone graft donor sites. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 3(3), σσ. 192-195.
- Yu, J. H.-O. (2009). Human Induced Pluripotent Stem Cells Free of Vector and Transgene Sequences. *Science*, 324(5928), σσ. 797-801.
- Yue, C. J. (2015). The promise of stem cells in the therapy of Alzheimer's disease. *Translational Neurodegeneration*, 4, σσ. 1-5. doi:10.1186/s40035-015-0029-x
- Yue, W. L. (2015). ESC-Derived Basal Forebrain Cholinergic Neurons Ameliorate the Cognitive Symptoms Associated with Alzheimer's Disease in Mouse Models. *Stem Cell Reports*, 5(5), σσ. 776-790.

- Zhan, X. E.-A. (2019). A Comparative Study of Biological Characteristics and Transcriptome Profiles of Mesenchymal Stem Cells from Different Canine Tissues. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), σσ. 1-16. doi:10.3390/ijms20061485
- Zhang, C. X. (2017). HN1 contributes to migration, invasion, and tumorigenesis of breast cancer by enhancing MYC activity. *Molecular Cancer*, 16, σσ. 1-10. doi:10.1186/s12943-017-0656-1
- Zhang, C. Z. (2015). Therapeutic Potential of Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells for Inhibiting Myofibroblastic Differentiation of Irradiated Human Lung Fibroblasts. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 236(3), σσ. 209-217.
- Zhang, H. Z. (2012). Isolation and characterization of mesenchymal stem cells from whole human umbilical cord applying a single enzyme approach. *Cell Biochemistry & Function*, 30(8), σσ. 643-649.
- Zhang, Y. C. (2017). Systemic administration of cell-free exosomes generated by human bone marrow derived mesenchymal stem cells cultured under 2D and 3D conditions improves functional recovery in rats after traumatic brain injury. *Neurochemistry International*, 111, σσ. 69-81.
- Zhang, Z. C. (2014). Oct4 Maintains the Pluripotency of Human Embryonic Stem Cells by Inactivating p53 Through Sirt1-Mediated Deacetylation. *Stem Cells*, 32(1), σσ. 157-165.
- Zhao, L. C. (2019). The role of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation: prevention and treatment of graft-versus-host disease. *Stem Cell Research & Therapy*, 10, σσ. 1-13. doi:10.1186/s13287-019-1287-9
- Zhao, Q. L. (2012). Safeguarding pluripotent stem cells for cell therapy with a non-viral, non-integrating episomal suicide construct. *Biomaterials*, 33(29), σσ. 7261-7271.
- Zhao, T. Z. (2011). Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Nature*, 474(7350), σσ. 212-215.
- Zhao, T. Z. (2015). Humanized Mice Reveal Differential Immunogenicity of Cells Derived from Autologous Induced Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell*, 17(3), σσ. 353-359.
- Zhou, H. H. (2015). Expression of Oct-4 is significantly associated with the development and prognosis of colorectal cancer. *Oncology Letters*, 10(2), σσ. 691-696.
- Zhou, H. S. (2009). Generation of Induced Pluripotent Stem Cells Using Recombinant Proteins. *Cell Stem Cell*, 4(6), σ. 581.
- Zhou, R. L. (2014). Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells and Derived Hepatocyte-Like Cells Exhibit Similar Therapeutic Effects on an Acute Liver Failure Mouse Model. *PLoS ONE*, 9(8), σσ. 1-14. doi:10.1371/journal.pone.0104392

- Zhou, X. W. (2018). Injectable decellularized nucleus pulposus-based cell delivery system for differentiation of adipose-derived stem cells and nucleus pulposus regeneration. *Acta Biomaterialia*, 81, σσ. 115-128.
- Zhu, J. L. (2018). Wnt11 promotes BMP9-induced osteogenic differentiation through BMPs/Smads and p38 MAPK in mesenchymal stem cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(11), σσ. 9462-9473.
- Zhuge, Y. R.-P. (2018). The effect of estrogen on diabetic wound healing is mediated through increasing the function of various bone marrow-derived progenitor cells. *Journal of Vascular Surgery*, 68(6), σσ. 127S-135S.
- Ziaei, M. Z. (2017). Umbilical cord stem cells in the treatment of corneal disease. *Survey of Ophthalmology*, 62(6), σσ. 803-815.
- Zingsem, J. S. (2003). Cord blood processing with an automated and functionally closed system. *Transfusion*, 43(6), σσ. 806-813.
- Zisa, D. S. (2009). Vascular endothelial growth factor (VEGF) as a key therapeutic trophic factor in bone marrow mesenchymal stem cell-mediated cardiac repair. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 390(3), σσ. 834-838.
- Zou, J. B. (2018). Progress of co-culture systems in cartilage regeneration. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 18(11), σσ. 1151-1158.
- Zuk, P. Z. (2001). Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering*, 7(2), σσ. 211-228.
- Αριθμ. Φ6.131/οικ.30819/340. (2017). *Εφημερίδα της Κυβερνήσεως της Ελληνικής Δημοκρατίας*.
- Βλαστοκύτταρα: Γιατί να τα φυλάξω;. (2017). Ανάκτηση 2021, από <https://www.iatronet.gr/eidiseis-nea/epistimi-zwi/news/43825/vlastokyttara-giati-na-ta-fylaxw.html>
- Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος. (2021). <https://hcbb.bioacademy.gr/>. Ανάκτηση από https://hcbb.bioacademy.gr/index.php?option=com_sppagebuilder&view=page&id=27&Itemid=260
- ΕΛΤΟΠΑ. (2021). <https://hcbb.bioacademy.gr/>. Ανάκτηση από https://hcbb.bioacademy.gr/index.php?option=com_sppagebuilder&view=page&id=27&Itemid=260

Πηγές Εικόνων

Εικόνα 1. (https://www.novusbio.com, 2021)	4
Εικόνα 2. (Liu G. D., 2020)	13
Εικόνα 3. (Han Y. L., 2019).....	103