



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών



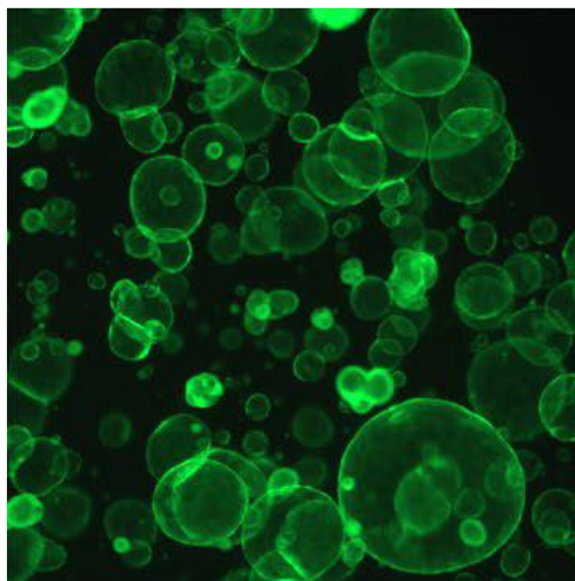
Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας, Κοσμητολογίας

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Οργανοειδή: Εργαλεία Βασικής και Εφαρμοσμένης Έρευνας

GRADUATE THESIS

Organoids; Tools of Basic and Applied Research



Όνομα Φοιτητή/Name of Student

Ελένη Σιδέρη
Eleni Sideri

Ονόματα Εισηγητών/Names of the Supervisors

Πέτρος Καρκαλούσος, Ευμορφία Ρεμπούτσικα
Petros Karkalousos, Eumorphia Remboutsika

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences



Laboratory of Chemistry, Biochemistry, Cosmetology

GRADUATE THESIS
Organoids; tools of basic and applied research

Name of Student

Eleni Sideri

6216065

eleni.sideri15@gmail.com, ml16065@uniwa.gr

First Supervisors

Petros Karkalousos, Eumorphia Remboutsika

Second Supervisor

Maria Trapali

Third Supervisor

Christina Fountzoula

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: **10/07/2023**

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1^{ος} Εξεταστής	Πέτρος Καρκαλούσος	
2^{ος} Εξεταστής	Μαρία Τράπαλη	
3^{ος} Εξεταστής	Χριστίνα Φούντζουλα	

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη **Ελένη Σιδέρη** του **Γεωργίου**, με αριθμό μητρώου **62116065** φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής 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».

Όνομα φοιτητή

Ελένη Σιδέρη

Υπογραφή φοιτητή

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους τους καθηγητές μου, που με υποστήριξαν και με καθοδήγησαν προς το αρτιότερο αποτέλεσμα της διπλωματικής μου εργασίας. Ιδιαίτερως, θέλω να ευχαριστήσω προσωπικά τους επιβλέποντες καθηγητές μου κύριο Πέτρο Καρκαλούσο και κυρία Ευμορφία Ρεμπούτσικα για την αρωγή και την εποπτεία τους, καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής εργασίας μου. Τέλος, είμαι ευγνώμων για την οικογένεια και για τους φίλους μου, που μου συμπαραστάθηκαν σε όλη τη διάρκεια της συγγραφής της παρούσας εργασίας και συνεχίζουν να με στηρίζουν σε όλα μου τα βήματα και όνειρα, ακαδημαϊκά και μη.

Αφιερώσεις

Στην Έλλη Χριστοφόρου

Περίληψη

Σκοπός αυτής της βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι η εν τω βάθει μελέτη της δημιουργίας, της προέλευσης και της χρησιμότητας των οργανοειδών στη βασική και στην εφαρμοσμένη έρευνα. Αναφέρονται λεπτομερώς οι επιμέρους κυτταρικές σειρές από τις οποίες προέρχονται τα διαφορετικά είδη οργανοειδών. Αναπτύσσονται οι κύριες διαφορές της βασικής και της εφαρμοσμένης έρευνας και παραθέτονται οι πολυάριθμες χρήσεις των οργανοειδών σε αυτές τις δύο κατηγορίες. Τα οργανοειδή αξιοποιούνται ευρέως στη μελέτη της φυσιολογίας και ιστοπαθολογίας των οργάνων, στη μοντελοποίηση των ασθενειών, σε έρευνες για τον καρκίνο και για γενετικές ασθένειες, σε μελέτες φαρμάκων, στην αναγεννητική ιατρική, καθώς και στην εξατομικευμένη ιατρική. Επιπρόσθετα, παρουσιάζονται πιθανές μελλοντικές εφαρμογές και βιοηθικά διλήμματα που προκύπτουν σχετικά με τη χρήση τους σε σχέση με άλλες ενδεχομένως παρωχημένες ή συμβατικές τεχνικές. Ανά τα χρόνια, τα οργανοειδή έχουν συνδράμει σε μεγάλο βαθμό στη γενικότερη πρόοδο της επιστήμης και θεωρείται ότι υπάρχουν ακόμα πολλές δυνατότητες που μπορούν να ανακαλυφθούν στο άμεσο μέλλον.

Λέξεις κλειδιά: οργανοειδή, βασική έρευνα, εφαρμοσμένη έρευνα, βλαστικά κύτταρα, μοντελοποίηση ασθενειών, αναγεννητική ιατρική, εξατομικευμένη ιατρική, βιοηθική

Abstract

The objective of this review is an in depth study of the generation, derivation and utilization of organoids in basic and applied research. The individual cell lines from which various types of organoids originate from are presented. Basic and applied research and their primary differences are defined. The most significant uses of organoids are listed and divided into these two main categories. Organoids are widely utilized by physiological and histopathological organ studies, disease modeling, cancer and genetic disease research, drug screening and development, regenerative medicine and personalized medicine. Furthermore, there is a discussion vis-à-vis their possible future applications and the arising bioethical dilemmas concerning their use instead of other potentially obsolete or conventional techniques. Over the years, organoids have made a critical impact on science and it is suspected there are still many great possibilities that can be unlocked in the near future.

Key words: organoids, basic research, applied research, stem cells, disease modeling, regenerative medicine, personalized medicine, bioethics

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	v
Αφιερώσεις	vi
Περίληψη	vii
Abstract	viii
Περιεχόμενα	ix
Συνομογραφίες.....	xi
1. Πρόλογος	1
1.1 Πλεονεκτήματα χρήσης οργανοειδών	5
1.2 Μειονεκτήματα χρήσης οργανοειδών	7
1.3 Προϋποθέσεις ανάπτυξης οργανοειδών	9
2. Ιστορική αναδρομή των ερευνών-οροσήμων για τα οργανοειδή.....	10
3. Σημαντικότερα είδη οργανοειδών	12
3.1 Γαστρεντερικά οργανοειδή	15
3.2 Εγκεφαλικά οργανοειδή	16
3.3 Καρδιαγγειακά οργανοειδή.....	18
3.4 Πνευμονικά οργανοειδή	19
3.5 Οργανοειδή ήπατος και παγκρέατος.....	19
3.6 Νεφρικά οργανοειδή.....	20
3.7 Γαστρολοιδή	21
3.8 Λοιπά είδη οργανοειδών	21
4. Ορισμοί της βασικής και της εφαρμοσμένης έρευνας	24
5. Διαφορές και ομοιότητες των δύο ειδών έρευνας	25
6. Κατηγοριοποίηση χρήσεων των οργανοειδών.....	26
7. Χρήση οργανοειδών στη βασική έρευνα.....	30
7.1 Μοντελοποίηση ασθενειών	30
7.2 Μελέτη σχέσης ξενιστή-παθογόνου	32
7.3 Έρευνα για τον καρκίνο	35
7.4 Οπτικοποίηση και ανακατασκευή οργάνων	36
7.5 Έρευνες μελέτης των ανοσολογικών αποκρίσεων	37
8. Χρήση οργανοειδών στην εφαρμοσμένη έρευνα	39
8.1 Έλεγχος ουσιών και τοξικολογικές δοκιμές	39
8.2 Ανάπτυξη εμβολίων	40
8.3 Γονιδιακή θεραπεία	42
8.4 Ανοσοθεραπεία	42

8.5 Αναγεννητική Ιατρική.....	45
8.6 Εξατομικευμένη Ιατρική.....	48
9. Βιοηθικά διλήμματα αξιοποίησης των οργανοειδών	48
10. Μελλοντικές προοπτικές χρήσης οργανοειδών	49
10.1 Έρευνα ασθενειών	49
10.2 Ταχύτερη διάγνωση και προληπτική ιατρική	50
10.3 Μελέτη των ζωϊκών μοντέλων	50
10.4 Τοξικολογία και τοξικολογικές μελέτες φαρμάκων και ουσιών.....	52
10.5 Ανάπτυξη φαρμάκων και θεραπειών	53
10.6 Γονιδιωματική τροποποίηση και OMICs.....	53
10.7 Αναγεννητική ιατρική.....	54
10.8 Εξατομικευμένη ιατρική.....	54
10.9 Εξειδικευμένες βιοτράπεζες	55
11. Επίλογος	55
12. Βιβλιογραφία	58
13. Πίνακας περιεχομένων εικόνων.....	67

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
2D	Two Dimensions/Two-dimensional	Δύο Διαστάσεις/Δυσδιάστατος
3D	Three Dimensions/Three-dimensional	Τρεις Διαστάσεις/Τρισδιάστατος
ALI	Air Liquid Interface Culture	Καλλιέργεια Διεπιφάνειας Αέρα-Υγρού
ASCs	Adult Stem Cells	Ενήλικα Βλαστικά Κύτταρα
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats	Συγκεντρωμένες Τακτικά Παρεμβαλλόμενες Σύντομες Παλινδρομικές Επαναλήψεις
CRS	Cytokine Release Syndrome	Σύνδρομο Απελευθέρωσης Κυτταροκινών
dACC	Dorsal Anterior Cingulate Cortex	Ραχιαίος Πρόσθιος Φλοιός Του Προσαγωγίου
DBE	Dibenzyl Ether	Διβενζυλικός Αιθέρας/Διβενζυλαιθέρας
DPE	Diphenyl Ether	Διφαινυλικός Αιθέρας/Διφαινυλαιθέρας
DCM	Dichloromethane	Διχλωρομεθάνιο
EBs	Embryonic Bodies	Εμβρυονικά Σώματα
ECM	Extracellular Matrix	Εξωκυτταρική Μήτρα
ESCs	Embryonic Stem Cells	Εμβρυονικά Βλαστικά Κύτταρα
hPSCs	Human Pluripotent Stem Cells	Ανθρώπινα Πλειοδύναμα Βλαστικά Κύτταρα
HSPGs	Heparan Sulfate Proteoglycans	Πρωτεογλυκάνες Θειικής Ηπαράνης
IELs	Intraepithelial Lymphocytes	Ενδοεπιθηλιακά Λεμφοκύτταρα
iPSCs	Induced Pluripotent Stem Cells	Επαγόμενα Πλειοδύναμα Βλαστικά Κύτταρα
LSFM	Light Sheet Fluorescence Microscopy	Μικροσκοπία Φθορισμού Φύλλου Φωτός
MIA	Multiple Intestinal Atresia	Πολλαπλή Εντερική Ατρησία
NPCs	Neural Progenitor Cells	Νευρικά Προγονικά Κύτταρα
PSCs	Pluripotent Stem Cells	Πλειοδύναμα Βλαστικά Κύτταρα
qPCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction	Ποσοτική PCR Πραγματικού Χρόνου
THF	Tetrahydrofuran	Τετραϋδροφουράνιο
WGS	Whole Genome Sequencing	Αλληλούχιση Ολόκληρου Γονιδιώματος

1. Πρόλογος

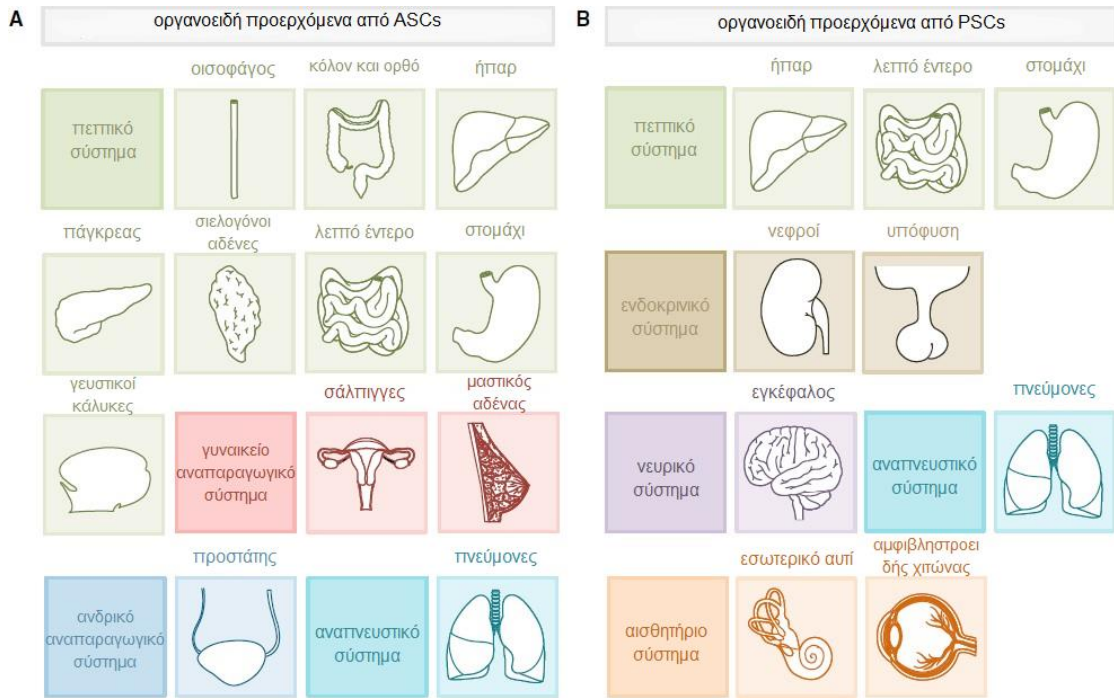
Ο όρος οργανοειδή χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1946 προκειμένου να περιγραφεί μια κλινική περίπτωση κυστικού τερατώματος (Smith & Cochrane, 1946). Πλέον, οργανοειδές ονομάζεται μια δομή τριών διαστάσεων (Three Dimensions ή 3D) προερχόμενη από βλαστικά κύτταρα, που αυτο-οργανώνεται και μιμείται την *in vivo* αρχιτεκτονική και διαφοροποίηση του ιστού στα θηλαστικά (Dutta, et al., 2017); (Saorin, et al., 2023). Εξαιτίας της ικανότητας τους να αναπαριστούν τις *in vivo* συνθήκες της δομής και της λειτουργίας ενός οργάνου, έχουν επίσης λάβει την ονομασία «μίνι όργανα» (mini organs); (Corrò, et al., 2020). Αυτές οι πολύπλοκες πολυκυτταρικές δομές χρειάζονται για την επιβίωση τους την παρουσία εξειδικευμένων παραγόντων του μικροπεριβάλλοντος (niche factors), καθώς και ενός τρισδιάστατου εξωκυτταρικού ικρίωματος (scaffolding), χωρίς όμως να απαιτούν κάποιου είδους εξωτερική καθοδήγηση ή παρέμβαση (Yang, et al., 2020).

Μια από τις πρώτες καταγεγραμμένες αναφορές παραγωγής οργανοειδών έγινε το 1998, όπου περιγράφηκε η ανάπτυξη τους από βλαστικά κύτταρα από έντερο ποντικίου (Korinek, et al., 1998). Τα βλαστοκύτταρα είναι αρχέγονα κύτταρα τα οποία συμβάλλουν στη δημιουργία όλων των κυττάρων του ανθρώπινου σώματος. Τα οργανοειδή προέρχονται από τρεις βασικούς τύπους βλαστικών κυττάρων, τα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (Pluripotent Stem Cells ή PSCs), τα ενήλικα βλαστοκύτταρα (Adult Stem Cells ή ASCs) και τα επαγόμενα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (Induced Pluripotent Stem Cells ή iPSCs). Πολλές φορές στη διεθνή βιβλιογραφία, τα iPSCs παρομοιάζονται με τα εμβρυονικά βλαστοκύτταρα (Embryonic Stem Cells ή ESCs) λόγω της ομοιότητας και της συνάφειας τους (Bartfeld & Clevers, 2017); (Corrò, et al., 2020). Η ανάπτυξη των οργανοειδών, από οποιοδήποτε από αυτούς τους τρεις τύπους βλαστοκυττάρων, γίνεται μέσα από μια διαδικασία που μοιάζει πολύ με τον τρόπο με τον οποίο τα όργανα αποκτούν τη χαρακτηριστική τους οργάνωση. Η αυτο-οργάνωση των οργανοειδών λαμβάνει χώρα μέσα στα ίδια τα οργανοειδή, μέσω της περιορισμένης κυτταρικής δέσμευσης και της ταξινόμησης των κυττάρων, η οποία απαιτεί την ενεργοποίηση διαφόρων σηματοδοτικών μονοπατιών είτε από τα ίδια τα κύτταρα είτε από γειτονικά κύτταρα ή ακόμα και από το εξωκυτταρικό περιβάλλον, όπως για παράδειγμα οι εξειδικευμένοι παράγοντες του μικροπεριβάλλοντος (Corrò, et al., 2020).

Τα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (PSCs) προέρχονται από το έμβρυο όταν είναι 5-7 ημερών και μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μεγάλο αριθμό διαφορετικών τύπων κυττάρων του σώματος (Korinek, et al., 1998). Τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα (ASCs) μπορούν να προέλθουν απευθείας από διάφορους ενήλικους ιστούς και όργανα όπως τον εγκέφαλο, τον μυελό των οστών και το ήπαρ. Τα ASCs οδηγούν στην αναγέννηση και στην ανάπτυξη των ιστών και των οργάνων του σώματος (Korinek, et al., 1998); (Corrò, et al., 2020). Πιο συγκεκριμένα, τα οργανοειδή προερχόμενα από ASCs αναπτύσσονται και αποτελούνται από ώριμα είδη κυττάρων (Yang, et al., 2020). Τα επαγόμενα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs) προέρχονται από ενήλικο ιστό, συνήθως από κύτταρα του δέρματος ή του αίματος. Ουσιαστικά τα iPSCs είναι ενήλικα βλαστοκύτταρα (ASCs), τα οποία μέσω γενετικού αναπρογραμματισμού αποκτούν το δυναμικό διαφοροποίησης των εμβρυονικών κυττάρων (ESCs); (Korinek, et al., 1998); (Takahashi & Yamanaka, 2006); (Corrò, et al., 2020). Ειδικότερα, τα οργανοειδή προερχόμενα από iPSCs διατηρούν τα χαρακτηριστικά και τα γνωρίσματα μιας εμβρυϊκής κατάστασης (Yang, et al., 2020). Η πλειοδυναμία των iPSCs/ESCs επιτρέπει την ανάπτυξη οργανοειδών και από τις τρεις βλαστικές στοιβάδες, το εξώδερμα, το μεσόδερμα και το ενδόδερμα. Αυτό είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για έρευνες πρώιμης εμβρυϊκής ανάπτυξης, όπου το πρωταρχικό ανθρώπινο υλικό είναι αρκετά περιορισμένο και σπανίζει (Corrò, et al., 2020).

Η κατηγορία των ενήλικων οργανοειδών, προερχόμενων από ASCs, έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την έρευνα και τη μελέτη ποικίλων ανθρώπινων λοιμώξεων και παθήσεων, όπως η κυστική ίνωση (Yang, et al., 2020), κατά τη μοντελοποίηση ασθενειών, στην αναγεννητική ιατρική (Corrò, et al., 2020), ακόμα και σε έρευνες για τον καρκίνο (Yang, et al., 2020). Αντιθέτως, η τρίτη κατηγορία των επαγόμενων οργανοειδών, προερχόμενων από iPSCs, έχει αξιοποιηθεί κυρίως για τη μελέτη της οργανογένεσης και της ανθρώπινης ανάπτυξης, νεφρικών και ηπατικών παθήσεων, καθώς και άλλων νευροψυχιατρικών ή νευρολογικών διαταραχών (Yang, et al., 2020). Τα οργανοειδή είναι πολύ σημαντικά για την κατανόηση του τρόπου λειτουργίας των βλαστικών κυττάρων, της διαφοροποίησή τους, της ανάπτυξης οργάνων, αλλά και για τη μελέτη πολλών παθολογικών καταστάσεων του οργανισμού. Άλλωστε, έχουν αποκτήσει παγκόσμια απήχηση και προτίμηση, λόγω του ότι παρέχουν τη δυνατότητα της αντιγραφής μέχρι και της τελευταίας λεπτομέρειας της αρχιτεκτονικής και της

φυσιολογίας των ανθρώπινων οργάνων, καθώς και της ιστοπαθολογίας, της γενετικής και της φαρμακευτικής απόκρισης των ιστών, γεγονός το οποίο από μόνο του είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτο (Dutta, et al., 2017); (Yang, et al., 2020); (Kim, et al., 2020).



Εικόνα 1: Α) Παρουσιάζονται οργανοειδή από ενήλικα βλαστοκύτταρα, όπως οργανοειδή που προσομοιάζουν τον οισοφάγο, το ήπαρ, τον πνεύμονα, το στομάχι και τα γυναικεία αναπαραγωγικά όργανα. Β) Παρουσιάζονται οργανοειδή από πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα προερχόμενα από το ήπαρ, τους νεφρούς, τον εγκέφαλο και τον πνεύμονα (Kretzschmar & Clevers, 2016).

1.1 Πλεονεκτήματα χρήσης οργανοειδών

Τα οργανοειδή διαθέτουν ένα σύνολο πλεονεκτημάτων που τα καθιστούν χρήσιμα εργαλεία για τη βασική και εφαρμοσμένη έρευνα. Οι μικρές αυτές δομές μπορούν να προσομοιάσουν ένα όργανο, να διατηρήσουν την ταυτότητα του οργάνου αυτού και να παραμείνουν γενετικά σταθερά για μεγάλο χρονικό διάστημα (Drost & Clevers, 2017); (Behjati, et al., 2014); (Huch, et al., 2015). Το σαφές πλεονέκτημα της εφαρμογής των συστημάτων οργανοειδών είναι η ικανότητα ανίχνευσης των μοριακών γεγονότων και των μεμονωμένων κυττάρων, καθώς οργανώνονται και διαφοροποιούνται σε λειτουργικό ιστό. Με τα οργανοειδή συστήματα είναι επίσης δυνατή η μεταπήδηση σε διαφορετικές βιολογικές κλίμακες, με αποτέλεσμα την καλύτερη κατανόηση του μεγέθους ποικίλων σωματιδίων και κυττάρων. Ένα άλλο όφελος των ανθρώπινων οργανοειδών είναι ότι είναι εύκολα προσβάσιμα, διαθέσιμα και μπορούν να παραχθούν με σχετική άνεση (Yang, et al., 2020). Κατά τη διάρκεια μελέτης των υποκυτταρικών διεργασιών και σχέσεων σε πραγματικό χρόνο, μια σημαντική πρόκληση που παρουσιάστηκε ήταν η μαζική παραγωγή φθοριζόντων «knock-in» οργανοειδών (Yang, et al., 2020). Η τεχνική knock-in είναι μέθοδος γενετικής μηχανικής που επιτυγχάνεται με τη στοχευμένη αντικατάσταση ή προσθήκη συγκεκριμένων γονιδίων. Είναι το ακριβώς αντίθετο από τη γενετική μέθοδο knock-out κατά την οποία γίνεται αφαίρεση ή απενεργοποίηση, αλλιώς και σίγαση, ενός γονιδίου μιας περιοχής του γονιδιώματος του οργανισμού (Westphal & Leder, 1997); (Doyle, et al., 2012). Η δυσκολία της αποτελεσματικής μαζικής παραγωγής φθοριζόντων knock-in οργανοειδών λύθηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο CRISPR–HOT, ιδιαίτερα σε οργανοειδή που προέρχονται από iPSCs (Yang, et al., 2020). Ουσιαστικά, η μέθοδος CRISPR–HOT είναι μια τροποποιημένη μέθοδος που βασίζεται στην τεχνική CRISPR/Cas9 (Artegiani, et al., 2020). Οι αλληλουχίες CRISPR, γνωστές και ως συγκεντρωμένες τακτικά παρεμβαλλόμενες σύντομες παλινδρομικές επαναλήψεις (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats ή CRISPR), είναι μια ομάδα DNA αλληλουχιών που προέρχονται από DNA θραύσματα βακτηριοφάγων (Barrangou, 2015). Η Cas9 είναι μια πρωτεΐνη, και συγκεκριμένα ένα ένζυμο, και κύρια λειτουργία του είναι ότι έχει την ικανότητα να δρα ως ενδονουκλεάση, δηλαδή μπορεί να «κόβει» το DNA (Zhang, et al., 2014). Σε προκαρυωτικούς οργανισμούς, όπως τα βακτήρια και τα αρχαία, ο συνδυασμός CRISPR/Cas9 τελεί χρέη ανοσοποιητικού συστήματος έναντι των βακτηριοφάγων, των πλασμιδίων,

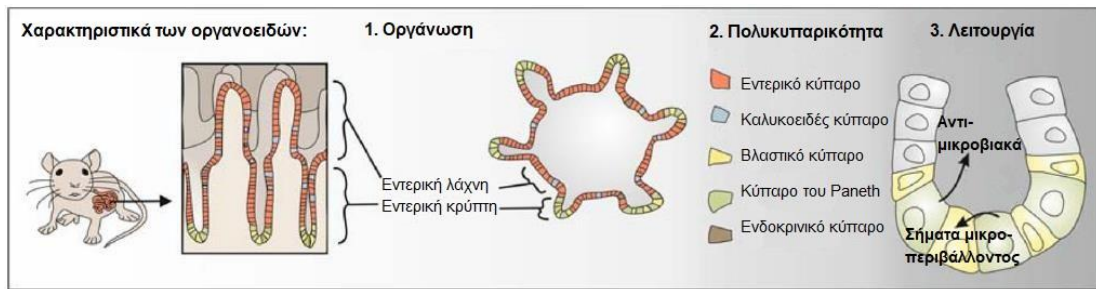
των DNA ιών και οποιοδήποτε άλλων ξένων γενετικών στοιχείων (Barrangou, 2015); (Barrangou, et al., 2007). Η μέθοδος CRISPR/Cas9 είναι τεχνική γονιδιωματικής τροποποίησης, κατά την οποία είναι εφικτή η επεξεργασία του γονιδιώματος ενός οργανισμού, επιτρέποντας την προσθήκη, αφαίρεση ή τροποποίηση του γενετικού υλικού σε συγκεκριμένες θέσεις του γονιδιώματος. Ουσιαστικά, αυτή η τεχνική απλοποιεί και εκμεταλλεύεται το CRISPR/Cas9 ανοσοποιητικό σύστημα των βακτηρίων και χρησιμοποιείται κατά τη γονιδιωματική τροποποίηση (Doudna & Charpentier, 2014). Ανακαλύφθηκε από τους επιστήμονες ότι εισαγωγή οποιοδήποτε κομματιού DNA σε ανθρώπινα οργανοειδή μέσω ένωσης με μη ομόλογη σύνδεση άκρων (κυτταρικός μηχανισμός επιδιόρθωσης) είναι πιο αποτελεσματική και ισχυρή από άλλες μεθόδους που χρησιμοποιούνταν κατά την τεχνική CRISPR/Cas9. Αυτή η τροποποίηση της τεχνικής αποτελεί τη μέθοδο CRISPR–HOT (Artegiani, et al., 2020). Επομένως, συνδυάζοντας τα φθορίζοντα knock in οργανοειδή και τη διαδοχική μικροσκόπηση ανά τακτά χρονικά διαστήματα (timelapse microscopy), είναι εφικτό να ανιχνευθούν, να καταγραφούν και να αξιολογηθούν οι δυναμικές οι οποίες υφίστανται κατά την ανάπτυξη οργάνων σε διαφορετικές βιολογικές κλίμακες. Ο συνδυασμός αυτός θα μπορούσε ακόμα να συμβάλει στην περαιτέρω κατανόηση των βιολογικών διεργασιών που συμβαίνουν, εξαιτίας της οργάνωσης των ιστών στον άνθρωπο (Yang, et al., 2020). Καθώς τα οργανοειδή αποτελούνται από διαφορετικού τύπου κύτταρα, δίνουν τη δυνατότητα να μελετηθούν οι σχέσεις μεταξύ κυττάρου-κυττάρου, κυττάρου-οργάνου και κυττάρου-μεσοκυττάριας ουσίας, όπως πραγματικά συμβαίνει in vivo (Yin, et al., 2016). Η μελέτη της σχέσης μεταξύ κυττάρου-κυττάρου μέχρι τώρα γινόταν με τα συστήματα καλλιέργειας δύο διαστάσεων. Ωστόσο, τα διαφοροποιημένα κύτταρα διατηρούν καλύτερα τα χαρακτηριστικά που έχουν in vivo, όταν αναπτυχθούν σε τρεις διαστάσεις. Επιπλέον, σε καλλιέργεια τριών διαστάσεων τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα διατηρούν τη δυνατότητα διαφοροποίησης τους (Drost & Clevers, 2017).

Κάθε άνθρωπος διαθέτει πολλαπλούς διαφορετικούς πληθυσμούς ενήλικων βλαστικών κυττάρων που είναι ειδικά για κάθε ιστό. Τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα μπορούν να αναγεννιούνται, δηλαδή έχουν τη δυνατότητα να διαιρούνται επ' αόριστον χωρίς να διαφοροποιούνται, και να δημιουργούν διάφορους τύπους κυττάρων από τους οποίους αποτελείται ένα συγκεκριμένο όργανο (Drost & Clevers, 2017). Επομένως, όταν καλλιεργούνται τα οργανοειδή εν δυνάμει

μπορούν να περιέχουν όλους τύπους κυττάρων του οργάνου από το οποίο προήλθαν.

1.2 Μειονεκτήματα χρήσης οργανοειδών

Παρ' όλα αυτά, τα οργανοειδή εμφανίζουν και κάποια μειονεκτήματα, όπως η απουσία εννεύρωσης των κυττάρων (Rookmaaker, et al., 2015). Τα σύγχρονα πρωτόκολλα οργανοειδών στερούνται του περιφερικού νευρικού συστήματος, που φυσιολογικά νευρώνει τα περισσότερα όργανα και ιστούς (Bredenoord, et al., 2017). Επίσης, απουσιάζει οποιαδήποτε αιματική ή μεσεγχυματική υποστήριξη (Rookmaaker, et al., 2015), με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η πολυπλοκότητα και το μέγεθος των οργανοειδών. Εκτός από αυτά, λαμβάνονται και ψευδή αποτελέσματα, λόγω της ανεπαρκούς διάχυσης του οξυγόνου και των θρεπτικών ουσιών, μιας και αυτά είναι η κύρια λειτουργία των αιμοφόρων αγγείων στον οργανισμό (Bredenoord, et al., 2017). Επιπρόσθετα, δεν παρουσιάζονται μυϊκά κύτταρα, καθώς και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (Rookmaaker, et al., 2015). Συνεπώς, δεν αντικατοπτρίζονται στην πραγματικότητα οι ανοσολογικές αποκρίσεις (Bredenoord, et al., 2017). Όλες αυτές οι προκλήσεις μπορούν να επιλυθούν με την αξιοποίηση του αποκαλούμενου μοντέλου συγκαλλιέργειας, όπου καλλιεργούνται τα οργανοειδή μαζί με την επιθυμητή κυτταρική σειρά που απουσιάζει (Bredenoord, et al., 2017); (Elbadawi & Efferth, 2020); (Yang, et al., 2020). Πολλές φορές με τα οργανοειδή συστήματα, επιτυγχάνεται η αναπαραγωγή της ιστολογίας των οργάνων μόνο σε μικρή κλίμακα. Συχνά το σχήμα των οργανοειδών είναι μεταβλητό και δεν παρουσιάζεται η σαφής και χαρακτηριστική αρχιτεκτονική των οργάνων. Αυτός ο περιορισμός είναι εφικτό να διευθετηθεί με τη χρήση βιολογικά σχηματισμένων ικριωμάτων, που θα ρυθμίζουν και θα ελέγχουν το μέγεθος των παραγόμενων οργανοειδών, καθώς και θα αναπαράγουν τους άξονες πολικότητας (Bredenoord, et al., 2017). Αδιαμφισβήτητα, υπάρχουν και κάποια βιοηθικά διλήμματα σχετικά με την εφαρμογή τους στην έρευνα και πρόκειται να συζητηθούν παρακάτω (Hockemeyer & Jaenisch, 2016); (Purnell, 2017).



Εικόνα 2: Παρουσιάζονται τα κύρια χαρακτηριστικά των οργανοειδών, 1) η οργάνωση τους, 2) η ποικιλία των διαφορετικών κυττάρων από τα οποία συνίστανται και 3) η λειτουργικότητα κάθε τύπου κυττάρων (Bartfeld & Clevers, 2017).

1.3 Προϋποθέσεις ανάπτυξης οργανοειδών

Για να αναπτυχθούν τα οργανοειδή χρειάζονται κάποιους εξειδικευμένους παράγοντες του μικροπεριβάλλοντος (niche factors), οι οποίοι ελέγχουν την αυτοανανέωση και τη διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων (Yin, et al., 2016). Στα περισσότερα συστήματα καλλιέργειας, ένα κύριο συστατικό του μέσου καλλιέργειας είναι το Matrigel, το οποίο χρησιμεύει ως ικρίωμα για τη στήριξη των κυττάρων (Xu, et al., 2001). Τα ικρίωματα, γνωστά στη διεθνή βιβλιογραφία και με τον όρο «scaffolding», έχουν κατά κόρον παρομοιαστεί με τις σιδηροδρομικές ράγες του τρένου, εξαιτίας του σχήματος και της δομής που παρουσιάζουν (Lambrou & Remboutsika, 2014). Το μέσο καλλιέργειας Matrigel είναι ένα ετερογενές και ζελατινώδες μείγμα πρωτεϊνών που εκκρίνεται από τα Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) σαρκώματα από τα κύτταρα ποντικών (Corrò, et al., 2020). Αποτελείται κυρίως από συγκολλητικές πρωτεΐνες, όπως η λαμινίνη, η οποία βοηθά στην επέκταση και τη διαφοροποίηση, το κολλαγόνο (Rookmaaker, et al., 2015), η εντακτίνη και οι πρωτεογλυκάνες θειϊκής ηπαράνης (Heparan Sulfate Proteoglycans ή HSPGs), που μιμούνται το εξωκυτταρικό περιβάλλον και προσφέρουν δομική στήριξη (Corrò, et al., 2020). Επιπρόσθετα, το μέσο περιλαμβάνει αυξητικούς παράγοντες, καθώς και άλλους ειδικούς δείκτες για κάθε τύπο κυττάρου (Rookmaaker, et al., 2015). Συνήθως, χρησιμοποιούνται τεχνικές ικριωμάτων για δύο βασικούς λόγους. Πρώτος λόγος, είναι η αποφυγή της άμεσης επαφής των οργανοειδών με το τρυβλίο ή με οποιοδήποτε άλλο πλαστικό ή γυάλινο μέσο καλλιέργειας. Ειδικότερα, με πρωταρχική επιδίωξη να εξασφαλιστεί η επιβίωση των οργανοειδών, χρησιμοποιούνται τέτοιου είδους τεχνικές έτσι ώστε να δημιουργηθούν καλλιέργειες εναιωρήματος, ώστε να μην έρχονται σε άμεση σύνδεση τα οργανοειδή συστήματα με ξένα ή ασυνήθιστα για αυτά υλικά. Ο δεύτερος λόγος είναι ότι αυτά τα ικρίωματα είναι βιολογικές ή συνθετικές υδρογέλες που μιμούνται τη φυσική εξωκυτταρική μήτρα (Extracellular Matrix ή ECM); (Corrò, et al., 2020), ένα εξαιρετικά απαραίτητο συστατικό για την επιβίωση αλλά και για τη βιωσιμότητα της καλλιέργειας των οργανοειδών. Η εξωκυτταρική μήτρα είναι ένα μεγάλο τρισδιάστατο μη κυτταρικό δίκτυο πρωτεϊνών και άλλων μακρομορίων που περιβάλλουν, ενισχύουν και παρέχουν δομή σε κύτταρα και ιστούς του σώματος. Εμπλέκεται και παίζει σημαντικό ρόλο στην κυτταρική ανάπτυξη, στη διαφοροποίηση των κυττάρων, στην αποκατάσταση κατεστραμμένων ιστών και σε άλλες κυτταρικές λειτουργίες. Επίσης, είναι ζωτικής

σημασίας για τη διατήρηση της φυσιολογικής ομοιόστασης (Theocharis, et al., 2016). Εντούτοις, εκτός από τις τεχνικές ικριωμάτων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και τεχνικές χωρίς ικριώματα. Κατά αυτές τις τεχνικές, τα κύτταρα καλλιεργούνται με τη μορφή σταγονιδίων, λόγω της βαρύτητας και της επιφανειακής τάσης, διότι το μέσο καλλιέργειας κρέμεται από μια πλάκα. Εναλλακτικά, μια τρίτη τεχνική είναι η καλλιέργεια διεπιφάνειας αέρα-υγρού (Air Liquid Interface ή ALI). Αυτή η τεχνική αξιοποιεί την καλλιέργεια των οργανοειδών σε 2 φάσεις, σε υγρή φάση και σε αέρια φάση. Πάνω σε μια βασική στοιβάδα ινοβλαστών ή Matrigel καλλιεργούνται τα κύτταρα, που είναι αρχικά εμβαπτισμένα σε μέσο. Το μέσο καλλιέργειας σταδιακά εξατμίζεται και εκθέτει τα ανώτερα κυτταρικά στρώματα στον αέρα, επιτρέποντας έτσι την πολικότητα και τη διαφοροποίηση (Corrò, et al., 2020).

2. Ιστορική αναδρομή των ερευνών-οροσήμων για τα οργανοειδή

Η αυτο-οργάνωση των κυττάρων παρατηρήθηκε για πρώτη φορά από τον Henry Van Peters Wilson το 1907. Ο Wilson ανακάλυψε ότι, υπό ορισμένες συνθήκες, τα κύτταρα σπόγγων μπορούν να αυτο-οργανωθούν, να διαφοροποιηθούν και να αναγεννήσουν έναν ολόκληρο τέλειο οργανισμό. Αυτή η μελέτη αποτέλεσε την απόδειξη της ικανότητας αναγέννησης των οργανισμών *in vitro*, χωρίς εξωτερικές παρεμβάσεις (Wilson, 1907), και αποτέλεσε τον ακρογωνιαίο λίθο της μετέπειτα έρευνας των οργανοειδών συστημάτων.

Τις επόμενες δεκαετίες, πραγματοποιήθηκαν πειράματα διάσπασης-επανασυσσωμάτωσης με προνεφρούς αμφιβίων και εμβρυονικά κύτταρα νεοσσών, το 1944 και το 1960 αντίστοιχα (Tung & Kü, 1944); (Weiss & Taylor, 1960). Αυτά τα πειράματα απέδειξαν τη δυνατότητα αυτο-οργάνωσης και των σπονδυλωτών μοντέλων, και όχι μόνο των ασπόνδυλων μοντέλων, όπως οι σπόγγοι, που είχε μελετήσει ο Wilson το 1907.

Η πρώτη θεωρία κυτταρικής αναγέννησης εμφανίστηκε το 1964, όταν ο Malcolm Steinberg συσχέτισε την κυτταρική αυτο-οργάνωση με τη θεωρία διαφοροποιημένης προσκόλλησης (differential adhesion hypothesis). Προτάθηκε ότι η ταξινόμηση και η αναδιάταξη των κυττάρων οφείλεται στη θερμοδυναμική που μεσολαβείται από τη διαφοροποιημένη προσκόλληση (Steinberg, 1964).

Η πραγματική άνθιση της βλαστοκυτταρικής έρευνας αρχίζει το 1981, όταν απομονώθηκαν για πρώτη φορά πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (PSCs) από έμβρυα ποντικών (Martin, 1981).

Τη δεκαετία του 1980, μελετήθηκαν εκτεταμένα οι αλληλεπιδράσεις των κυττάρων και της εξωκυτταρικής μήτρας (ECM). Αποδείχθηκε η αναγκαιότητα της παρουσίας κάποιου είδους μέσου καλλιέργειας που να μιμείται την ECM μήτρα, καθώς και να αποτελεί ένα ικρίωμα για τη στήριξη των κυττάρων. Για αυτόν τον λόγο, το 1987, χρησιμοποιήθηκε από τους επιστήμονες το EHS Matrigel ως μέσο καλλιέργειας, κατά την ανάπτυξη μαστικών επιθηλίων. Παρατηρήθηκε η σύνθεση και η έκκριση πρωτεΐνης γάλακτος από τα μαστικά κύτταρα που είχαν καλλιεργηθεί στο Matrigel, ενισχύοντας έτσι τις ενδείξεις για την αναγκαία παρουσία του EHS Matrigel κατά την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των οργανοειδών (Li, et al., 1987). Παρομοίως, η ίδια τεχνική αξιοποιήθηκε και κατά τη δημιουργία κυψελιδικών κυττάρων τύπου II, έχοντας ακριβώς τα ίδια αποτελέσματα (Shannon, et al., 1987). Οι παραπάνω έρευνες αποτέλεσαν πειστήρια για τη σπουδαιότητα των αλληλεπιδράσεων των κυττάρων και της εξωκυτταρικής μήτρας κατά την ανάπτυξη, συντήρηση και διαφοροποίηση των ιστών (Corrò, et al., 2020).

Το 1998, ο Thomson και οι συνεργάτες του καταφέρνουν για πρώτη φορά να απομονώσουν και να καλλιεργήσουν εμβρυονικά βλαστοκύτταρα (ESCs) προερχόμενα από ανθρώπινες βλαστοκύστες. Απόρροια αυτού, ήταν η εμφάνιση των πρώτων κυτταρικών σειρών εμβρυονικών βλαστοκυττάρων (Thomson, et al., 1998).

Λίγα χρόνια μετά, το 2006, επιτυγχάνεται η παραγωγή επαγόμενων πλειοδύναμων βλαστοκυττάρων (iPSCs), από τον επαναπρογραμματισμό ινοβλαστών ποντικού και ανθρώπου. Έκτοτε, τα iPSCs παίζουν εξαιρετικά σημαντικό ρόλο και είναι αναπόσπαστο κομμάτι για τις μελέτες των οργανοειδών (Takahashi & Yamanaka, 2006).

Δύο χρόνια μετά, ο Sasai και οι συνεργάτες του καταφέρνουν να αναπτύξουν τρισδιάστατους ιστούς εγκεφαλικού φλοιού από εμβρυονικά βλαστοκύτταρα, αποδεικνύοντας έτσι την αυτο-οργάνωση των iPSCs του ανθρώπινου εγκεφάλου σε νευρικά κύτταρα. Κατά συνέπεια, το 2008 τέθηκαν τα θεμέλια για τη μετατόπιση της έρευνας των οργανοειδών από δυσδιάστατες (Two Dimensional ή 2D) σε τρισδιάστατες (3D) καλλιέργειες (Eiraku, et al., 2008).

Τον επόμενο χρόνο, ο Sato και οι συνεργάτες του απέδειξαν για πρώτη φορά ότι τα εντερικά οργανοειδή, προερχόμενα από ASCs εντέρου, έχουν τη δυνατότητα αυτο-οργάνωσης και διαφοροποίησης προς τον σχηματισμό δομών εντερικών κρυπτών-εντερικών λαχνών (crypt-villus structures). Η ανάπτυξη των οργανοειδών έγινε σε Matrigel, με την παράλληλη απουσία των μεσεγχυματικών παραγόντων, και επιπλέον παρατηρήθηκε ότι η καλλιέργεια περιείχε όλους τους διαφορετικούς τύπους των εντεροκυττάρων (Sato, et al., 2009). Στην έρευνα του 2009, έγινε η πρώτη αναφορά σε 3D καλλιέργεια οργανοειδών προερχόμενη από απομονωμένα ACSs. Ασφαλώς και είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν είτε ACSs είτε PSCs. Αυτή η ανακάλυψη αποτέλεσε τη βάση μεταγενέστερων ερευνών σε άλλα συστήματα, λόγω χάρη το μεσόδερμα, από όπου προέρχονται το στομάχι, το ήπαρ, το πάγκρεας, οι νεφροί και οι πνεύμονες, καθώς και από το νευροεξώδερμα, από όπου προέρχονται ο εγκέφαλος και ο αμφιβληστροειδής (Corrò, et al., 2020).

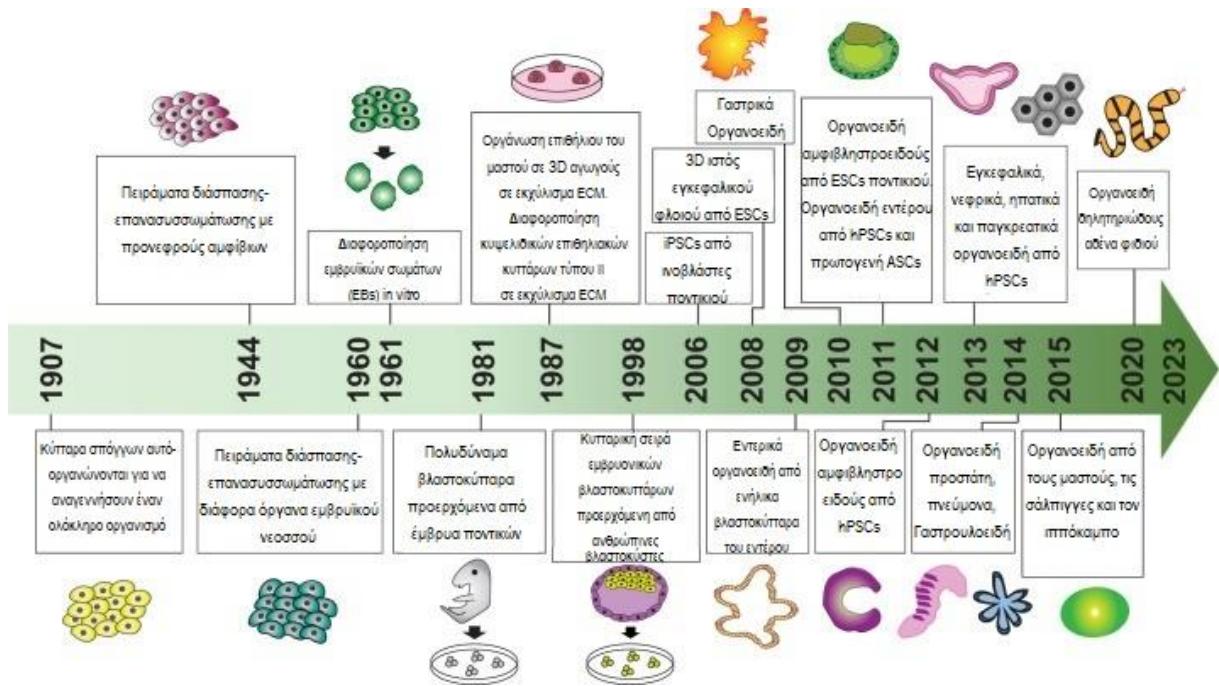
Το 2012, η ίδια ομάδα ερευνητών αποκάλυψε τη δυνατότητα μεταμόσχευσης εντερικών οργανοειδών σε κατεστραμμένο κόλον ποντικίου. Παρατηρήθηκε η πλήρης ενσωμάτωση των μεταμοσχευμένων οργανοειδών στο κατεστραμμένο κόλον, ακόμη και μετά από 6 μήνες (Yui, et al., 2012).

Κατά την προηγούμενη δεκαετία έως και σήμερα, έχουν διεξαχθεί μελέτες ανάπτυξης κάποιων από τα σημαντικότερα είδη οργανοειδών. Το 2013 γίνεται η ανάπτυξη 3D εγκεφαλικών οργανοειδών (Lancaster, et al., 2013), ηπατικών, καθώς και παγκρεατικών οργανοειδών (Huch, et al., 2013); (Greggio, et al., 2013). Έναν χρόνο αργότερα, εμφανίζεται μια έρευνα κατά την οποία παράχθηκαν πνευμονικά οργανοειδή (Lee, et al., 2014). Μετά από αυτά, ακολουθεί η παραγωγή οργανοειδών από το ενδομήτριο (Boretto, et al., 2017), τον πλακούντα (Turco, et al., 2018), ακόμα και από το δέρμα (Lee, et al., 2020).

3. Σημαντικότερα είδη οργανοειδών

Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, υπάρχουν πολλά και διαφορετικά είδη οργανοειδών ανάλογα με τον τύπο κυττάρων από τον οποίο προέρχονται. Τα είδη κυττάρων από τα οποία συγκροτούνται τα οργανοειδή καθορίζουν τον τύπο τους, καθώς και την ονομασία τους. Συγκεκριμένα, έχουν υπάρξει αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία σε οργανοειδή προερχόμενα από: Α) τον γαστρεντερικό σωλήνα

(gastrointestinal organoids), Β) το ήπαρ (liver organoids), Γ) το πάγκρεας (pancreatic organoids), Δ) τον εγκέφαλο (brain organoids), Ε) τον αμφιβληστροειδή (retinal organoids), ΣΤ) τους νεφρούς (kidney organoids), Ζ) τους μαστούς (mammary organoids), Η) τον προστάτη (prostate organoids), Θ) τον θυρεοειδή αδένα (thyroid organoids), Ι) τους πνεύμονες (lung organoids), ΙΑ) τις σάλπιγγες (fallopian tube organoids), ΙΒ) την υπόφυση (pituitary organoids), ΙΓ) το εσωτερικό αυτί (inner ear organoids), ΙΔ) το ενδομήτριο (endometrial organoids), ΙΕ) τον πλακούντα (placental organoids), ΙΣΤ) το δέρμα (skin organoids), ΙΖ) τα εμβρυονικά βλαστοκύτταρα (embryonic organoids), καθώς και από ΙΗ) την καρδιά και τα περιβάλλοντα αγγεία (cardiovascular organoids); (Corrò, et al., 2020); (Drost & Clevers, 2017); (Kretschmar & Clevers, 2016); (Baktash, et al., 2018); (Watanabe, et al., 2017); (Korinek, et al., 1998); (Farin, et al., 2014); (Elbadawi & Efferth, 2020); (Gao & Pun, 2021); (Srikanth, et al., 2018); (Boretto, et al., 2017); (Turco, et al., 2018); (Lee, et al., 2020). Επιπλέον, έχει υπάρξει αναφορά σε οργανοειδή προερχόμενα από τον δηλητηριώδη αδένα των φιδιών (Post, et al., 2020). Γεγονός που καθιστά απολύτως βάσιμο τον ισχυρισμό της ενδεχόμενης αξιοποίησης των οργανοειδών συστημάτων κατά τη ζωολογία, καθώς και την κτηνιατρική (Seeger, 2020). Οι δυνατότητες ανάπτυξης οργανοειδών είναι ατελείωτες και οι διαθέσιμες κυτταρικές σειρές πολυάριθμες.



Εικόνα 3: Εξελικτικό χρονοδιάγραμμα της ανάπτυξης καλλιιεργειών από οργανοειδή. Μια σύνοψη των βασικών μελετών-ορόσημων και ανακαλύψεων που οδήγησαν στην καθιέρωση διαφόρων τεχνολογιών που αφορούν τα οργανοειδή, καθώς και τα ποικίλα είδη τους (Corrò, et al., 2020).

3.1 Γαστρεντερικά οργανοειδή

Τα γαστρεντερικά οργανοειδή έχουν προέλευση είτε από τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα είτε από τα επαγόμενα βλαστικά κύτταρα (Kim, et al., 2020). Τα οργανοειδή αυτά προκύπτουν από κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα. Χωρίζονται σε 2 βασικές κατηγορίες, τα γαστρικά οργανοειδή (gastric organoids) και τα εντερικά οργανοειδή (intestinal organoids); (Corrò, et al., 2020). Πιο συγκεκριμένα για τα γαστρικά οργανοειδή, συνήθως προέρχονται από κύτταρα του στομάχου, του πυλωρού ή ακόμα και από το άνω κομμάτι του δωδεκαδακτύλου (Stange, et al., 2013); (Barker, et al., 2010); (Zhang, et al., 2022). Ειδικότερα, τα εντερικά οργανοειδή προκύπτουν από κύτταρα του εντέρου ή ακόμα και από τα επιμέρους τμήματα του, όπως το λεπτό και το παχύ έντερο (Sato, et al., 2009). Όσον αφορά το λεπτό έντερο, έχει γίνει η καταγραφή οργανοειδών προερχόμενων από περιοχές, όπως το υπόλοιπο κατώτερο κομμάτι του δωδεκαδακτύλου, τη νήστιδα και τον ειλεό (Daghero, et al., 2022); (Sugimoto, et al., 2021). Ειδικά για το παχύ έντερο, είναι γνωστό ότι υπάρχουν οργανοειδή που έχουν προκύψει από το τυφλό, τη σκωληκοειδή απόφυση, το ανιόν κόλον, το εγκάρσιο κόλον, το κατιόν κόλον, το σιγμοειδές κόλον και το ορθό (Dilly, et al., 2020); (Jung, et al., 2011); (Costales-Carrera, et al., 2020). Άλλες κατηγορίες γαστρεντερικών οργανοειδών που έχουν καταγραφεί είναι από τη στοματική κοιλότητα, τον φάρυγγα, τον οισοφάγο, τη γλώσσα, τους σιελογόνους αδένες, τους γευστικούς κάλυκες, την παρωτίδα και την επιγλωττίδα (Corrò, et al., 2020).

Είναι ευρέως γνωστό ότι ανατομικά η στοματική κοιλότητα, ο φάρυγγας, ο οισοφάγος, το στομάχι, η αναπνευστική οδός, το πάγκρεας και το ήπαρ προέρχονται από το πρόσθιο έντερο. Από το μέσο έντερο προκύπτουν το λεπτό έντερο και το ανιόν κόλον. Και τέλος, από το τελικό έντερο προέρχονται το υπόλοιπο τμήμα του κόλον και το ορθό. Συνεπώς, είναι εφικτό να κατασκευαστούν οργανοειδή από οποιαδήποτε από αυτές τις κυτταρικές σειρές που αναφέρθηκαν πιο πάνω, αναφορικά με το γαστρεντερικό σύστημα (Moore, et al., 2012); (Drake, et al., 2006).

Σημαντικό είναι να σημειωθεί επιπρόσθετα ότι η μεταμόσχευση εντερικών οργανοειδών σε ποντίκια έδειξε ότι υπάρχει η in vivo δυνατότητα μακροχρόνιας εμφύτευσης και ενσωμάτωσης τους σε ήδη υπάρχον και κατεστραμμένο επιθήλιο

του παχέος εντέρου, τονίζοντας έτσι την αναγεννητική ικανότητα και προοπτική των τρισδιάστατων οργανοειδών (Yui, et al., 2012).

3.2 Εγκεφαλικά οργανοειδή

Τα εγκεφαλικά οργανοειδή αναφέρονται στη βιβλιογραφία και ως mini-brains και συνηθέστερα προκύπτουν από τμήματα του εγκεφάλου, όπως τον πρόσθιο εγκέφαλο, τον μεσεγκέφαλο και τον οπίσθιο εγκέφαλο. Τα τμήματα αυτά αποτελούνται κυρίως από νευρώνες και γλοιακά κύτταρα (αστροκύτταρα). Άλλοι τύποι εγκεφαλικών οργανοειδών προέρχονται από περιοχές, όπως η υπόφυση, ο ραχιαίος φλοιός, ο κοιλιακός πρόσθιος εγκέφαλος, το χοριοειδές πλέγμα, ο ιππόκαμπος, η παρεγκεφαλίδα, το όριο μεσεγκεφάλου-οπίσθιου εγκεφάλου και η περιοχή dACC (Dorsal Anterior Cingulate Cortex) του εγκεφάλου, δηλαδή ο ραχιαίος πρόσθιος φλοιός του προσαγωγίου, που ελέγχει τη γνωστική ικανότητα, την προσαρμοστικότητα, τον αυτοέλεγχο, και τον συντονισμό και τον έλεγχο των κινήσεων (Corrò, et al., 2020); (Voloh, et al., 2021); (Clevers, 2016); (Mandalos, et al., 2023).

Ο ανθρώπινος εγκέφαλος είναι ένα εξαιρετικά περίπλοκο όργανο του κεντρικού νευρικού συστήματος και ανατομικά αποτελείται από τα δύο ημισφαίρια, από το στέλεχος και από την παρεγκεφαλίδα. Τα δύο ημισφαίρια χωρίζονται από την επιμήκη σχισμή σε δεξιό και σε αριστερό ημισφαίριο. Τα δύο ημισφαίρια διαιρούνται σε λοβούς. Οι λοβοί των ημισφαιρίων είναι πέντε στον αριθμό και είναι ο μετωπιαίος λοβός, ο βρεγματικός λοβός, ο κροταφικός λοβός, ο ινιακός λοβός και η νήσος του Reil. Βέβαια, όσον αφορά τα οργανοειδή, ειδικά λόγω της προέλευσής τους, πιο ενδιαφέρουσα δεν είναι η ανατομική αλλά η εμβρυολογική διαίρεση του εγκεφάλου. Εμβρυολογικά, ο εγκέφαλος χωρίζεται στον τελικό εγκέφαλο (αλλιώς γνωστός και ως πρόσθιος), στον διάμεσο εγκέφαλο, στον μέσο εγκέφαλο, στον οπίσθιο εγκέφαλο, στον έσχατο εγκέφαλο, στους οπτικούς θαλάμους, στον υποθάλαμο, στον μεταθάλαμο, στον επιθάλαμο και στο τετράδυμο. Συνοψίζοντας, είναι εύκολα κατανοητή η δημιουργία οργανοειδών από οποιαδήποτε περιοχή του εγκεφάλου από αυτές που έχουν προαναφερθεί (Drake, et al., 2006); (Moore, et al., 2012); (Remboutsika, et al., 2011).

Είναι απαραίτητο να επισημανθεί μέχρι πρότινος τα εγκεφαλικά οργανοειδή εμφανίζονταν σε αρκετά μεγάλο βαθμό σε δυσδιάστατες (2D) καλλιέργειες. Ειδικότερα, παρουσιάζονταν μόνο ως απλά νευρικά συσσωματώματα. Κατά συνέπεια, η 2D μελέτη των εγκεφαλικών οργανοειδών δεν είχε επιτρέψει την πλήρη διερεύνηση της ανάπτυξης και της λειτουργίας του εγκεφάλου (Corrò, et al., 2020). Άλλωστε, όπως έχει αναφερθεί και πιο πάνω, ο εγκέφαλος χαρακτηρίζεται από μια πολυπλοκότητα, κάτι που εξ' ορισμού δυσχεραίνει την ικανότητα των ερευνητών να μελετήσουν περαιτέρω την ανάπτυξη και τη λειτουργία του (Moore, et al., 2012); (Corrò, et al., 2020); (Drake, et al., 2006).

Κατά τη διάρκεια πειραμάτων διάσπασης-επανασυσσωμάτωσης, οι επιστήμονες χρησιμοποίησαν νευρικά προγονικά κύτταρα από νεοσσούς, προερχόμενα από τον πρώιμο εγκέφαλο. Γύρω από τον αυλό (lumen) που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα, με σκοπό να παρομοιάζει τον νευρικό σωλήνα, παρατηρήθηκε ότι τα νευροεπιθηλιακά κύτταρα του νεοσσού, όχι μόνο αναπτύχθηκαν, αλλά στοιβάχτηκαν σε συστάδες με ακτινωτό τρόπο περιμετρικά από αυτόν. Η παρατήρηση αυτή αποτέλεσε απόδειξη ότι αυτά τα εγκεφαλικά κύτταρα παρουσιάζουν μια ικανότητα αυτο-οργάνωσης (Ishii, 1966).

Ομοίως, τα νευρικά προγονικά κύτταρα (Neural Progenitor Cells ή NPCs) επίσης παρουσιάζουν την ικανότητα να δημιουργούν συσσωματώματα σε καλλιέργειες εναιωρήματος και να διαφοροποιούνται σε νευρώνες και σε αστροκύτταρα (Reynolds & Weiss, 1992); (Remboutsika, et al., 2011).

Σε πιο πρόσφατες μελέτες όμως, εμφανίστηκαν νευρικές ροζέτες οι οποίες περιείχαν NPCs που περιέβαλαν τον κεντρικό αυλό, που μιμείται τον νευρικό σωλήνα. Παραδόξως, αυτά τα νευρικά συσσωματώματα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ώριμους τύπους κυττάρων, παρουσιάζοντας χαρακτηριστικά της εκάστοτε διαφορετικής περιοχής του εγκεφάλου που έχει χρησιμοποιηθεί (Corrò, et al., 2020).

Έχει παρατηρηθεί ότι μπορούν να δημιουργηθούν νευρικά συσσωματώματα από εμβρυονικά σώματα (Embryonic Bodies ή EBs) προερχόμενα από τα πλειοδύναμα εμβρυονικά κύτταρα, αλλιώς γνωστά και ως PSCs (Zhang, et al., 2001). Τα εμβρυονικά σώματα είναι συσσωματώματα πλειοδύναμων κυττάρων, τα οποία προέρχονται από εμβρυονικά βλαστικά

κύτταρα (ESCs), και έχουν τη δυνατότητα να αυτο-οργανώνονται και να συνοψίζουν ορισμένες πτυχές της εμβρυογένεσης (Zeevaert, et al., 2020). Τα νευρικά οργανοειδή μπορούν επίσης να προέλθουν και από τα πλειοδύναμα βλαστικά κύτταρα (PSCs); (Kim, et al., 2020).

3.3 Καρδιαγγειακά οργανοειδή

Τα καρδιαγγειακά οργανοειδή είναι τρισδιάστατες δομές που προέρχονται από την καρδιά και από τα περιβάλλοντα αγγεία. Τα οργανοειδή αυτά αποτελούνται κυρίως από ενδοκαρδιακά κύτταρα, επικαρδιακά κύτταρα, καρδιομυοκύτταρα, ενδοθήλιο και καρδιακούς ινοβλάστες (Xuan, et al., 2022); (Zhu, et al., 2022); (Kim, et al., 2022).

Μπορούν να δημιουργηθούν καρδιαγγειακά οργανοειδή χρησιμοποιώντας είτε πλειοδύναμα βλαστικά κύτταρα (PSCs) είτε εμβρυονικά βλαστοκύτταρα (ESCs) είτε επαγόμενα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs); (Kim, et al., 2020); (Zhu, et al., 2022).

Το 2019, κατασκευάστηκε για πρώτη φορά μια ολόκληρη τρισδιάστατη καρδιά, η οποία αποτελούταν από τους δύο κόλπους, τις δύο κοιλίες και όλα τα συνοδά αιμοφόρα αγγεία. Αυτή η 3D καρδιά δημιουργήθηκε μέσω βιοεκτύπωσης (bioprinting) και με την παράλληλη αξιοποίηση των επαγόμενων βλαστοκυττάρων (iPSCs); (Noor, et al., 2019). Η τρισδιάστατη εκτύπωση οργάνων είναι μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση, αλλά εξακολουθούν να υφίστανται πολλές προκλήσεις (Noor, et al., 2019). Δυστυχώς, δεν έχει ακόμη επιτευχθεί η πλήρης κατασκευή ολόκληρων λειτουργικών οργάνων *in vitro*. Προς το παρόν, υπάρχει μόνο η δυνατότητα της ανακεφαλαίωσης των δομικών, μηχανικών και βιολογικών ιδιοτήτων των ιστών (Zhao, et al., 2021).

Είναι επίσης εφικτό να αναπτυχθούν καρδιαγγειακά οργανοειδή, μέσω των εμβρυικών σωμάτων (EBs), ρυθμίζοντας όμως πρώτα την ακαμψία του υποστρώματος (Shkumatov, et al., 2014).

Έχουν αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία οργανοειδή από τους κόλπους (Lee, et al., 2022), τις κοιλίες και τις βαλβίδες (Patel & Birla, 2018), καθώς και τις αρτηρίες και τις φλέβες της καρδιάς (Wimmer, et al., 2019); (Wimmer, et al., 2019).

Τελευταία εξέλιξη στα καρδιακά οργανοειδή είναι τα οργανοειδή πάνω σε τσιπ αλλιώς γνωστά και ως organoids-on-a-chip, όπου συνδυάζεται η τεχνολογία των οργανοειδών με τη βιοπληροφορική (bioinformatics). Το ίδιο ισχύει και σε όλα τα υπόλοιπα είδη οργανοειδών και ειδικά σε όργανα, όπως ο εγκέφαλος, το πάγκρεας και το ήπαρ. (Saorin, et al., 2023).

3.4 Πνευμονικά οργανοειδή

Τα πνευμονικά οργανοειδή είναι δυνατόν να προέλθουν από τους πνεύμονες και περιοχές, όπως ο υπεζωκότας (Mazzocchi, et al., 2022), η τραχεία (Shaffi, et al., 2023), οι βρόγχοι και τα βρογχιόλια (Miller, et al., 2019), καθώς και οι κυψελίδες (Basil, et al., 2022).

Έχει αναφερθεί από τους ερευνητές ότι τα πνευμονικά οργανοειδή συνήθως προέρχονται είτε από ASCs ή από PSCs (Kim, et al., 2020), καθώς και από ESCs (Clevers, 2016). Εναλλακτικά, μπορούν να αναπτυχθούν οργανοειδή με την αξιοποίηση ανθρώπινων πλειοδύναμων βλαστοκυττάρων (hPSCs), ακόμα και των επαγόμενων πλειοδύναμων βλαστοκυττάρων (iPSCs); (Cunniff, et al., 2021).

Τα οργανοειδή από πνεύμονα παράγονται με το αποκαλούμενο μοντέλο συγκαλλιέργειας. Κατά αυτό το μοντέλο, γίνεται η παράλληλη καλλιέργεια πνευμονικού ενδοθηλίου και βρογχοκυψελιδικών βλαστικών κυττάρων (Lee, et al., 2014). Το πνευμονικό επιθήλιο, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατά τη συγκαλλιέργεια, συνήθως προέρχεται από τύπους κυττάρων, όπως τα βασικά κύτταρα, τα καλκοειδή κύτταρα, τα κροσσωτά εκκριτικά κύτταρα των αεραγωγών, όπως για παράδειγμα τα κύτταρα Clara, και τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου I & II (Cunniff, et al., 2021); (Barkauskas, et al., 2017); (Clevers, 2016).

3.5 Οργανοειδή ήπατος και παγκρέατος

Το ήπαρ και το πάγκρεας προέρχονται από το μεσόδερμα (Corrò, et al., 2020). Για την ανάπτυξη ηπατικών και παγκρεατικών οργανοειδών, συνήθως, χρησιμοποιούνται ηπατικά προγονικά κύτταρα και παγκρεατικά προγονικά κύτταρα, αντίστοιχα (Huch, et al., 2013); (Huch, et al., 2015); (Greggio, et al., 2013). Εξυπακούεται ότι είναι δυνατή η χρήση πλειοδύναμων βλαστικών κυττάρων

(Kim, et al., 2020), ενήλικων βλαστικών κυττάρων (Kim, et al., 2020); (Huch, et al., 2013); (Boj, et al., 2015), καθώς και επαγόμενων πλειοδύναμων βλαστοκυττάρων (iPSCs) αυτών των δύο οργάνων (Takebe, et al., 2013). Όσον αφορά το ήπαρ, γίνεται η διαφοροποίηση των προγονικών κυττάρων σε ηπατοβλάστες και έπειτα σε ηπατοκύτταρα. Αυτά με τη σειρά τους μπορούν να διαφοροποιηθούν σε χολικό επιθήλιο (Zaret, 2002) και σε ενδοκρινικά κύτταρα (Boj, et al., 2015), μετά από τη μεταμόσχευση τους, για παράδειγμα σε ζωικό μοντέλο ποντικού (Huch, et al., 2013); (Boj, et al., 2015). Η ίδια διαδικασία ακολουθείται και κατά τη διαφοροποίηση των παγκρεατικών προγονικών κυττάρων. Συμπερασματικά, αυτή η κατηγορία οργανοειδών κατά κανόνα μπορεί να προκύψει από κύτταρα του ήπατος, του παγκρέατος, των χοληφόρων πόρων, καθώς και της χοληδόχου κύστης.

Μέσω της χρήσης iPSCs, αποδείχθηκε η ικανότητα των ηπατικών οργανοειδών να δημιουργούν αγγειακό δίκτυο (Takebe, et al., 2013). Κατά αυτήν τη μέθοδο, σε δυσδιάστατη καλλιέργεια διαφοροποιήθηκαν ανθρώπινα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα σε ηπατικά κύτταρα, μαζί με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα και ανθρώπινο ενδοθήλιο. Έπειτα, αυτή η καλλιέργεια μεταφέρθηκε σε 3D συνθήκες με μέσο καλλιέργειας το Matrigel. Παρατηρήθηκε από τους επιστήμονες ο σχηματισμός ηπατικών συσσωματωμάτων που παρουσίαζαν αγγείωση, χωρίς εξωτερικές παρεμβάσεις. Η επακόλουθη in vivo εμφύτευση τους αποδεικνύει περαιτέρω τον σχηματισμό ήπατος με λειτουργικό αγγειακό δίκτυο (Corrò, et al., 2020).

3.6 Νεφρικά οργανοειδή

Παρομοίως, οι νεφροί προέρχονται από το μεσόδερμα, όπως ακριβώς το ήπαρ και το πάγκρεας (Corrò, et al., 2020). Είναι εφικτό να αναπτυχθούν οργανοειδή που προέρχονται από τους νεφρούς, και ακριβέστερα από περιοχές όπως οι νεφρικοί κάλυκες, η νεφρική πύελος, ακόμα και από τους ουρητήρες και την ουροδόχο κύστη (Corrò, et al., 2020); (Moore, et al., 2012); (Drake, et al., 2006). Είναι γνωστό ότι τα νεφρικά οργανοειδή έχουν συνήθως προέλευση είτε από PSCs είτε από ASCs (Kim, et al., 2020).

Η δυνατότητα αυτο-οργάνωσης τους σε νεφρικές δομές επισημάνθηκε έπειτα από τη συγκαλλιέργεια ανθρώπινων νεφρικών προγονικών κυττάρων με εμβρυικά νεφρικά κύτταρα από ποντικούς (Taguchi, et al., 2014). Παρατηρήθηκε επιπλέον η δημιουργία λειτουργικών νεφρώνων, νεφρικών σωληναρίων, καθώς και νεφρικών σπειραμάτων (Takasato, et al., 2015); (Takasato, et al., 2014). Το 2019, οι ερευνητές κατάφεραν να αναπτύξουν οργανοειδή που σχημάτιζαν τα εγγύς εσπειραμένα σωληνάκια, καθώς και τα άπω εσπειραμένα σωληνάκια των νεφρών (Schutgens, et al., 2019).

3.7 Γαστρολοιιδή

Τα εμβρυικά οργανοειδή, αλλιώς γνωστά και ως γαστρολοιιδή (gastruloids), προέρχονται από τα εμβρυονικά βλαστοκύτταρα (ESCs) και έχουν αξιοποιηθεί κατά τη διερεύνηση της πρώιμης εμβρυϊκής ανάπτυξης, κυρίως των θηλαστικών, *in vitro* (Corrò, et al., 2020); (van den Brink, et al., 2020). Τα γαστρολοιιδή αναπτύχθηκαν έπειτα από τη συσσωμάτωση εμβρυονικών βλαστοκυττάρων ποντικού σε καλλιέργεια εναιωρήματος (van den Brink, et al., 2014). Οι δομές που σχηματίστηκαν, έμοιαζαν με έμβρυα και εμφάνισαν τη δυνατότητα αυτο-οργάνωσης και συγκεκριμένες συμπεριφορές που παρομοίαζαν τη γαστριδίωση, με άλλα λόγια τον σχηματισμό των τριών βλαστικών στοιβάδων, των θηλαστικών. Η περαιτέρω έρευνα πάνω στα εμβρυονικά οργανοειδή, θα προσέφερε την ευκαιρία της μοντελοποίησης της πρώιμης ανάπτυξης του ανθρώπινου εμβρύου μέσα στο εργαστήριο (Corrò, et al., 2020). Αυτή θα αποτελέσει μια ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα δυνατότητα για τη μελέτη της διαδικασίας της εμβρυογένεσης *in vitro*.

3.8 Λοιπά είδη οργανοειδών

Αξίζουν να αναφερθούν και κάποια άλλα σημαντικά είδη οργανοειδών που εμφανίζονται κατά τη διεθνή βιβλιογραφία. Οι ερευνητές ανά τον κόσμο έχουν περιγράψει τη δημιουργία οργανοειδών από τον αμφιβληστροειδή χιτώνα, τον θυρεοειδή αδένα, τον προστάτη, τον μαστό, τις σάλπιγγες, τους γευστικούς κάλυκες, καθώς και τους σιελογόνους αδένες (Corrò, et al., 2020). Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι τα οργανοειδή του αμφιβληστροειδούς χιτώνα και του

θυρεοειδούς αδένες μπορούν έχουν προέλευση είτε από τα PSCs ή από τα iPSCs. Προς το παρόν, έχουν αναπτυχθεί οργανοειδή από τον προστάτη και τους γευστικούς κάλυκες, μόνο από τα ενήλικα βλαστοκύτταρα (ASCs). Τουναντίον, έχουν υπάρξει περιγραφές στην παραγωγή οργανοειδών από ASCs και από PSCs, σε μαστικά οργανοειδή, σε σαλπγγικά οργανοειδή, ακόμα και σε οργανοειδή από τους σιελογόνους αδένες (Kim, et al., 2020); (Clevers, 2016).



	Προέλευση από ASCs	Προέλευση από PSCs	Καρκινικές Βιοτράπεζες	Μοντελοποίηση Ασθενειών
Εγκέφαλος		✓	✓	✓
Αμφιβληστροειδής		✓		
Σιελογόνι Αδένες	✓	✓		
Θυρεοειδής Αδένας		✓		✓
Πνεύμονες	✓	✓	✓	✓
Αιμοφόρα Αγγεία		✓	✓	✓
Μαστοί	✓	✓	✓	✓
Ήπαρ	✓	✓	✓	✓
Νεφροί	✓	✓	✓	✓
Πάγκρεας	✓	✓	✓	✓
Στομάχι	✓	✓	✓	✓
Έντερο	✓	✓	✓	✓
Σάλπιγγες, Ενδομήτριο	✓	✓	✓	✓
Προστάτης, Ουροδόχος Κύστη	✓		✓	✓

Εικόνα 4: Συγκεντρωτικός πίνακας των σημαντικότερων ειδών οργανοειδών και κατηγοριοποίηση τους ανάλογα με την προέλευση τους από ενήλικα βλαστοκύτταρα (ASCs) και από πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (PSCs). Αναφέρονται οι υπάρχουσες καρκινικές βιοτράπεζες ανά όργανο και σε ποια είδη οργανοειδών έχει πραγματοποιηθεί μοντελοποίηση ασθενειών (Kim, et al., 2020).

4. Ορισμοί της βασικής και της εφαρμοσμένης έρευνας

Η βασική έρευνα, γνωστή και ως καθαρή ή θεμελιώδης έρευνα, είναι η μια από τις δύο κύριες κατηγορίες της επιστημονικής έρευνας. Κεντρική επιδίωξη της καθαρής έρευνας είναι η κατανόηση των βασικών νόμων και των θεμελιωδών αρχών. Τείνει να επικεντρώνεται σε θεωρίες και σε υποθέσεις, οι οποίες ελέγχονται για την ορθότητα τους (Roll-Hansen, 2017). Σκοπός είναι η εξέλιξη της ήδη υπάρχουσας επιστημονικής γνώσης και η προσθήκη νέων και αξιόπιστων δεδομένων σε αυτήν (Piel, 1954). Μέσω αυτής, είναι εφικτή η καλύτερη κατανόηση των βιολογικών διεργασιών και η πρόβλεψη γεγονότων που πρόκειται να συμβούν. Η κινητήριος δύναμη της καθαρής έρευνας είναι η απλή επιστημονική περιέργεια, ιδιαίτερα κατά την ανακάλυψη γνωστικών κενών από τους ερευνητές. Συμπερασματικά, η θεμελιώδης έρευνα αξιοποιείται για την καταπολέμηση της επιστημονικής γνωστικής αμάθειας (Ellaway & Hecker, 2022). Ωστόσο, τα αποτελέσματα που απορρέουν από αυτή, πολλές φορές πυροδοτούν τα καινοτόμα τεχνολογικά ευρήματα της εφαρμοσμένης έρευνας. Επομένως, η βασική έρευνα προηγείται της εφαρμοσμένης (Rimnac & Leopold, 2014). Οι αναδυόμενες γνώσεις που προκύπτουν, κατά την εφαρμοσμένη έρευνα, μπορούν να αξιοποιηθούν συνδυαστικά με την υπερσύγχρονη τεχνολογία, με βλέψη την επίλυση διάφορων προβλημάτων που αφορούν την υγεία (Roll-Hansen, 2017); (Rimnac & Leopold, 2014).

Όσον αφορά την εφαρμοσμένη έρευνα, ορίζεται ως το είδος της έρευνας που ασχολείται με την πρακτική επίλυση ορισμένων ζητημάτων και κύριο μέλημα της είναι η αποσαφήνιση συγκεκριμένων ερωτημάτων (Roll-Hansen, 2017). Είναι η δεύτερη βασική κατηγορία της επιστημονικής έρευνας και ακολουθεί τις εξελίξεις, καθώς και εφαρμόζει τα αποτελέσματα που απορρέουν από την καθαρή έρευνα (Rimnac & Leopold, 2014). Σε αντίθεση με τη θεμελιώδη έρευνα, ο στόχος της δεν είναι η ξεκάθαρη παραγωγή επιστημονικής γνώσης, αλλά η πρακτική επίλυση διαφόρων προβλημάτων. Αυτό επιτυγχάνεται με τη συνδυαστική αξιοποίηση της τεχνολογίας και των ήδη υπαρχόντων βασικών γνώσεων (Piel, 1954). Ασφαλώς, αξιοποιούνται εμπειρικές τεχνικές, λόγω χάρη τα ερευνητικά πειράματα, με βλέψη τη συλλογή επιπρόσθετων δεδομένων σε ένα ειδικό και συγκεκριμένο πεδίο μελέτης. Τα ευρήματα είναι συνήθως εφαρμόσιμα μετά το πέρας της έρευνας. Κατά συνέπεια, είναι σημαντικό προτού γίνει κάποια ανακάλυψη, για παράδειγμα

μιας θεραπείας, να έχει προηγηθεί η συλλογή σωστών και φερέγγυων δεδομένων, κατά τη βασική έρευνα (Rimnac & Leopold, 2014); (Roll-Hansen, 2017).

5. Διαφορές και ομοιότητες των δύο ειδών έρευνας

Η κύρια διαφορά της καθαρής και της εφαρμοσμένης έρευνας είναι ο σκοπός που έχουν όσον αφορά την εξέλιξη της επιστήμης. Στην πρώτη περίπτωση κύρια επιδίωξη είναι η προσθήκη νέων δεδομένων στην ήδη καθιερωμένη γνώση (Piel, 1954). Στον αντίποδα, κύριο μέλημα στην εφαρμοσμένη έρευνα είναι η ανακάλυψη νέων και καινοτόμων γνώσεων (Roll-Hansen, 2017). Άλλωστε, όπως έχει αναφερθεί και προηγουμένως, η θεμελιώδης έρευνα προηγείται της εφαρμοσμένης, και η δεύτερη ακολουθεί τα αποτελέσματα της πρώτης. Με άλλα λόγια, κατά τη βασική έρευνα γίνεται η διερεύνηση ήδη υπαρχόντων επιστημονικών γνώσεων, ενώ κατά την εφαρμοσμένη έρευνα επιλύονται συγκεκριμένα πρακτικά προβλήματα και δίνεται η απάντηση σε ορισμένα ζητήματα (Rimnac & Leopold, 2014). Αναμφισβήτητα, και οι δύο έχουν διαφορετική προέλευση. Η πρώτη απορρέει από την απλή περιέργεια, το επιστημονικό ενδιαφέρον και τη διαίσθηση του ερευνητή (Ellaway & Hecker, 2022). Ακολούθως, η δεύτερη κατηγορία έρευνας προέρχεται από την ανάγκη εύρεσης λύσεων και απαντήσεων σε πολύ συγκεκριμένα ερωτήματα. Ακόμα μια διαφορά που παρουσιάζεται είναι το είδος τους και το πεδίο εφαρμογής που βρίσκουν κατά τη χρήση τους. Η βασική έρευνα είναι κατά κόρον θεωρητική ερευνητική μέθοδος και συνήθως δίνει απαντήσεις σε υποθετικά ερωτήματα. Για αυτόν τον λόγο άλλωστε έχει και τόσο ευρεία και παγκόσμια απήχηση, διότι πιο πολύ μελετώνται γενικευμένες έννοιες, υποθέσεις και θεωρίες. Η εφαρμοσμένη έρευνα είναι περισσότερο πρακτική μέθοδος και ασχολείται με την εύρεση πρακτικών λύσεων σε ζητήματα. Απόρροια αυτού είναι ότι έχει μικρότερη απήχηση. Είναι πολύ ειδική και συγκεκριμένη επιστημονική μέθοδος και παράγει πληροφορίες για ένα επιλεγμένο θέμα (Roll-Hansen, 2017). Εν κατακλείδι, η βασική έρευνα ασχολείται με την παραγωγή νέων και αξιόπιστων γνώσεων και με την πρόβλεψη συμβάντων. Τουναντίον, η εφαρμοσμένη έρευνα είναι η πρακτική αξιοποίηση της θεμελιώδους έρευνας και ασχολείται με την ανάπτυξη νέων τεχνολογιών και τεχνικών (Piel, 1954); (Roll-Hansen, 2017).

Εκτός από τις προφανείς διαφορές τους, αυτές οι δύο επιστημονικές μέθοδοι βεβαίως παρουσιάζουν και ομοιότητες. Πολύ συχνά χρησιμοποιούνται οι ίδιες διαδικασίες συλλογής δεδομένων όπως οι ομάδες εστίασης (focus groups), οι συνεντεύξεις και τα ερωτηματολόγια (Bowling, 2014). Λόγω του ότι η καθαρή έρευνα χρησιμεύει ως βάση για την εφαρμοσμένη έρευνα, διακρίνεται με ευκολία η από κοινού εγγύτητα και αλληλοεπικάλυψη τους. Μολονότι παρατηρείται κάποιου είδους ανεξαρτησίας μεταξύ αυτών των δύο, γίνεται γρήγορα αντιληπτή η παράλληλη εμφάνιση αλληλεπίδρασης και αλληλοϋποστήριξης ανάμεσα τους. Δεν υφίσταται η μια χωρίς την άλλη. Η εφαρμοσμένη επιστήμη δρα ως η απόδειξη της θεμελιώδους και η καθαρή επιστήμη παρέχει στην εφαρμοσμένη τα βασικά δεδομένα και τις θεμελιώδεις αρχές (Rimnac & Leopold, 2014); (Roll-Hansen, 2017). Παρόλο που η τελευταία επικεντρώνεται στην εύρεση πρακτικών λύσεων, η πρώτη είναι εξίσου σημαντική, εφόσον παρέχει τις πληροφορίες στις οποίες βασίζεται η προαναφερόμενη ανάπτυξη των λύσεων διάφορων προβλημάτων κατά την εφαρμοσμένη έρευνα (Rimnac & Leopold, 2014). Και οι δύο κατηγορίες μελέτης απαιτούν τη διατύπωση ξεκάθαρων στόχων και αντικειμενικών σκοπών. Συμπληρωματικά, είναι απαραίτητος ο σχηματισμός των υποθέσεων της έρευνας, καθώς και η επακόλουθη απόδειξη τους. Για την απόδειξη των υποθέσεων, επιστρατεύεται ο επαγωγικός και ο παραγωγικός συλλογισμός κατά την καθαρή και την εφαρμοσμένη έρευνα. Ο παραγωγικός συλλογισμός ξεκινά από μια γενική υπόθεση καταλήγει σε μια ειδική απόδειξη. Στον αντίποδα, κατά την επαγωγή παρουσιάζεται μια ειδική υπόθεση που καταλήγει σε μια γενική απόδειξη. Συχνά αποδεικνύεται πολύ απαιτητική η απόπειρα του ορισμού των ερευνητικών υποθέσεων χωρίς προκαταλήψεις και σφάλματα. Για την καταπολέμηση της μεροληψίας, είναι εξαιρετικής σημασίας η επίγνωση των προκαταλήψεων και η προσπάθεια της διεξαγωγής της έρευνας όσο το δυνατόν πιο αντικειμενικά γίνεται από την πλευρά του ερευνητή (Bowling, 2014).

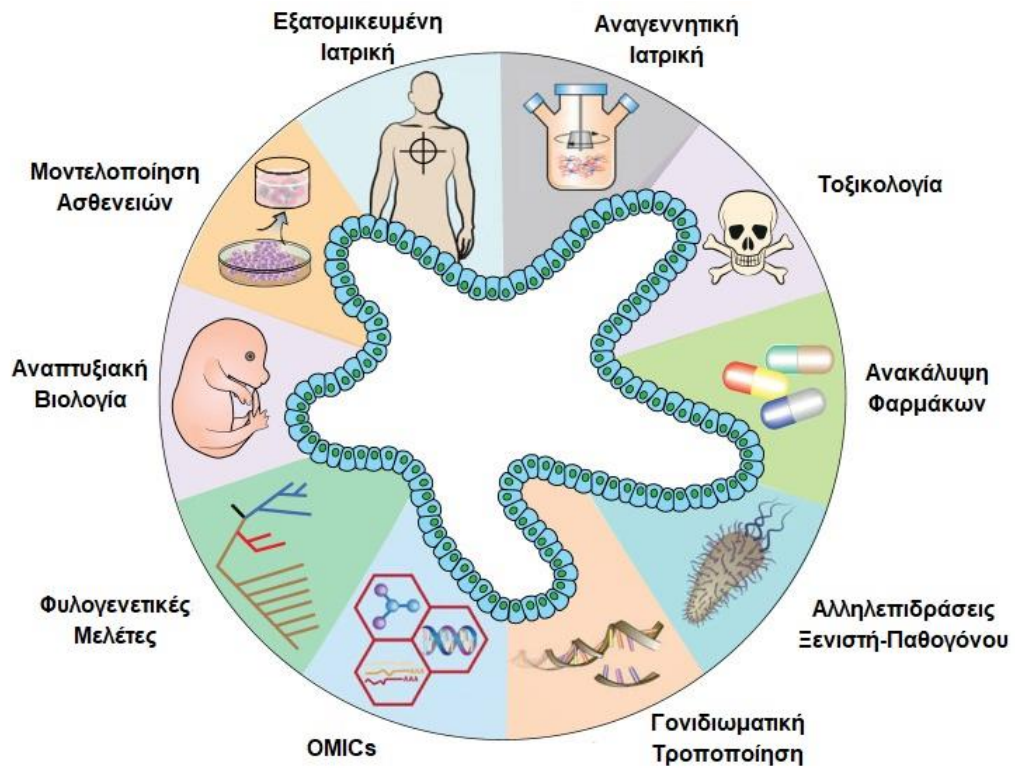
6. Κατηγοριοποίηση χρήσεων των οργανοειδών

Προηγουμένως, αναλύθηκε εκτενώς η περίπτωση του διαχωρισμού της έρευνας σε δύο κύριες κατηγορίες στη θεμελιώδη έρευνα και στην εφαρμοσμένη έρευνα. Μια τεράστια πληθώρα εφαρμογών προκύπτει από την αξιοποίηση των οργανοειδών συστημάτων και στις δύο αυτές βασικές υποκατηγορίες της έρευνας.

Στη βασική έρευνα, η πρωταρχική χρήση των οργανοειδών είναι για τη μελέτη της φυσιολογίας, της παθοφυσιολογίας και της ιστολογίας των οργάνων (Drost & Clevers, 2017). Με βάση την προηγούμενη χρήση καθίσταται εφικτή η μοντελοποίηση και η μελέτη των επιθυμητών ασθενειών και οργάνων (Yuki, et al., 2020); (Corrò, et al., 2020); (Drost & Clevers, 2017). Υπάρχουν αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία για τη μελέτη μεταδοτικών ασθενειών, για παράδειγμα μόλυνση από τους ιούς της ηπατίτιδας (Baktash, et al., 2018), τον ιό Zika (Qian, et al., 2017), τον ιό SARS-CoV-2 και από τους εντεροϊούς (Elbadawi & Efferth, 2020), νευρολογικών ασθενειών (Yang, et al., 2020), λόγου χάρη οι νόσοι Αλτσχάιμερ, Πάρκινσον, Χάντινγκτον και η πολλαπλή σκλήρυνση, γενετικών ασθενειών, όπως κυστική ίνωση (Cutting, 2015) και η σχιζοφρένεια (Srikanth, et al., 2018), αυτοάνοσων ασθενειών, για παράδειγμα η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Χασιμότο (Xiao, et al., 2021), ακόμα και μελέτες για τον καρκίνο (Yang, et al., 2020). Με τη συμβολή των οργανοειδών γίνεται ευκολότερη και σαφέστερη η διάγνωση της εκάστοτε ασθένειας. Συμπερασματικά, τα οργανοειδή μπορούν να αξιοποιηθούν στην προληπτική ιατρική (Xiao, et al., 2021). Άλλες εφαρμογές των οργανοειδών πάνω στην έρευνα είναι η μελέτη των αλληλεπιδράσεων του ξενιστή με το παθογόνο (Leslie & Young, 2016) και οι έρευνες μελέτης των ανοσολογικών αποκρίσεων (Elbadawi & Efferth, 2020); (Yang, et al., 2020). Οι φυλογενετικές μελέτες (Corrò, et al., 2020), καθώς και η οπτικοποίηση και ανακατασκευή ενός ολόκληρου οργάνου (Lagoutte, et al., 2020) είναι μερικά επιπλέον παραδείγματα της αξιοποίησης των οργανοειδών συστημάτων. Συμπληρωματικά, τα οργανοειδή είναι επίσης ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο κατά τη μελέτη των ζωικών μοντέλων (Post, et al., 2020). Επομένως, και η ενδεχόμενη επικείμενη εφαρμογή τους στη ζωολογία ή ακόμα και στην κτηνιατρική είναι πολλά υποσχόμενη (Seeger, 2020). Επιπρόσθετα, είναι καίριας σημασίας η συμβολή των οργανοειδών στην αναπτυξιακή βιολογία, καθώς και στις σύγχρονες προσεγγίσεις των -omics (OM-ICs), με σημαντικότερες τη γενωμική (genomics), γνωστή και ως γονιδιωματική, την πρωτεωμική (proteomics), τη μεταγραφωμική (transcriptomics) και την επιγονιδιωματική (epigenomics); (Corrò, et al., 2020); (Subramanian, et al., 2020).

Εντούτοις, στην εφαρμοσμένη έρευνα αξιοποιούνται τα οργανοειδή συστήματα κατά τον έλεγχο ουσιών και τις μελέτες ανάπτυξης φαρμάκων (Roekmaaker, et al., 2015). Άλλες εφαρμογές συμπεριλαμβάνουν την ανάπτυξη

εμβολίων (Yang, et al., 2020); (Elbadawi & Efferth, 2020), τις τοξικολογικές μελέτες (Rookmaaker, et al., 2015); (Corrò, et al., 2020) και την ανοσοθεραπεία (Nozaki, et al., 2016); (Zumwalde, et al., 2016); (Drost & Clevers, 2017). Όσον αφορά την τοξικολογία έχουν υπάρξει αναφορές σε ανάπτυξη οργανοειδών προερχόμενα από τον δηλητηριώδη αδένα των φιδιών με επιδίωξη τη μελέτη τους και την παραγωγή αντιδότην (Post, et al., 2020); (Clyde, 2020). Δύο άλλες πολύ σημαντικές χρήσεις, των οργανοειδών στην εφαρμοσμένη έρευνα, είναι η ανάπτυξη γονιδιακής θεραπείας (Driehuis & Clevers, 2017), καθώς και η γονιδιωματική τροποποίηση (gene editing); (Corrò, et al., 2020). Ιδιαίτερα για το άμεσο μέλλον, οι σημαντικότερες και πολλά υποσχόμενες εφαρμογές της τεχνολογίας αυτής στην έρευνα, είναι η αναγεννητική ιατρική (Takahashi & Yamanaka, 2006); (Drost & Clevers, 2017); (Hockemeyer & Jaenisch, 2016) και η εξατομικευμένη ιατρική, αλλιώς γνωστή και ως ιατρική ακριβείας (Corrò, et al., 2020); (Drost & Clevers, 2017). Άλλη μια πιθανή μελλοντική εφαρμογή συμπεριλαμβάνει την ανάπτυξη εξειδικευμένων βιοτραπεζών (biobank), είτε ως προς τον ασθενή είτε ως προς συγκεκριμένη ασθένεια (Hockemeyer & Jaenisch, 2016).



Εικόνα 5: Σχηματικό διάγραμμα που παρουσιάζει τις ποικίλες εφαρμογές των οργανοειδών στη βασική και στην εφαρμοσμένη έρευνα. Παρατηρείται ότι τα οργανοειδή συστήματα μπορούν να αξιοποιηθούν σε πολλαπλούς τομείς της επιστήμης όπως η μοντελοποίηση ασθενειών, η εξατομικευμένη ιατρική, η αναγεννητική ιατρική, η μελέτη των αλληλεπιδράσεων ξενιστή-παθογόνου, οι έρευνες φαρμάκων, καθώς και πάρα πολλές άλλες εφαρμογές (Corrò, et al., 2020).

7. Χρήση οργανοειδών στη βασική έρευνα

Η βασική έρευνα προηγείται της εφαρμοσμένης έρευνας, διότι είναι αυτή που προσφέρει τις γνώσεις για τη βιολογία των διάφορων οργανισμών. Επομένως, είναι σημαντικό προτού γίνει κάποια ανακάλυψη, όπως για παράδειγμα ενός φαρμάκου, να έχει προηγηθεί η συλλογή σωστών και αξιόπιστων γνώσεων. Κάθε νέο σύστημα, που προσφέρεται για μελέτη των οργανισμών, κρίνεται από το πόσο καλά μπορεί να αναπαριστάνει τις *in vivo* συνθήκες. Τα οργανοειδή προσφέρουν το πλεονέκτημα αυτό σε ικανοποιητικό βαθμό και χάρη σε αυτό θεωρούνται εξαιρετικά εργαλεία για τη βασική έρευνα. Μέσω των οργανοειδών, μπορεί να μελετηθεί η ομοιότητα των υγείων ιστών, η διαφοροποίηση των κυττάρων, οι παράγοντες που είναι απαραίτητοι για τη διαδικασία διαφοροποίησης, η λειτουργία διάφορων γονιδίων, ακόμη και η αλληλεπίδραση κυττάρου-κυττάρου (Schwank, et al., 2013); (Middendorp, et al., 2014).

7.1 Μοντελοποίηση ασθενειών

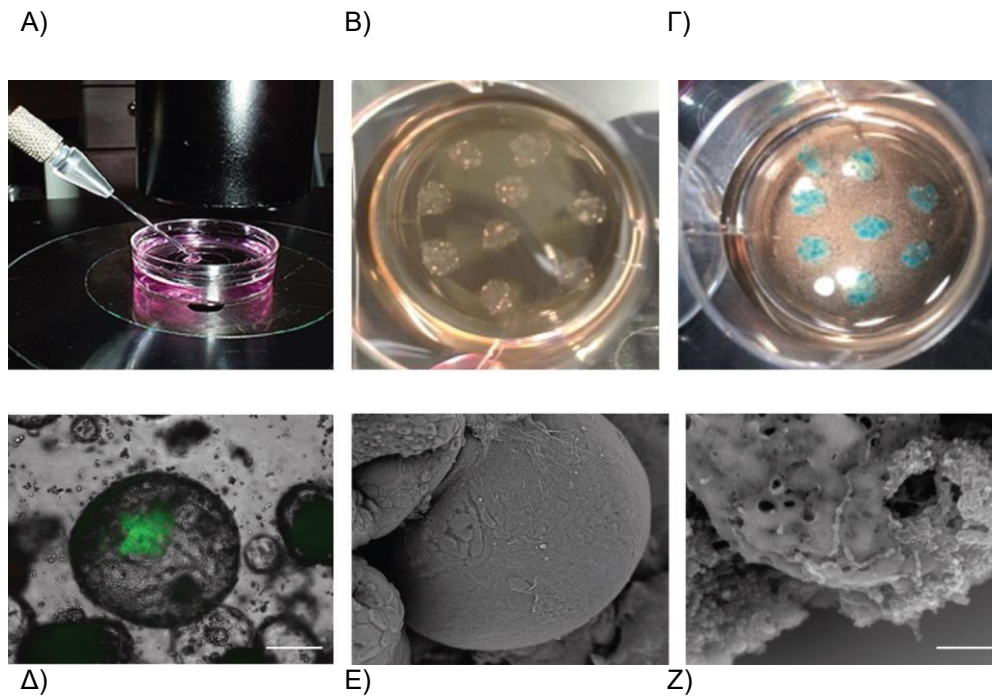
Τα οργανοειδή από ενήλικα βλαστικά κύτταρα αποτελούν ένα πολύ καλό εργαλείο για τη μοντελοποίηση ασθενειών, με σκοπό τη μελέτη της φυσιολογίας της ασθένειας (Drost & Clevers, 2017); (Saorin, et al., 2023). Εκτός από φυσιολογικούς ιστούς, μπορούν να χρησιμοποιηθούν οργανοειδή προερχόμενα από ενήλικα βλαστοκύτταρα (ASCs), έτσι ώστε να δημιουργηθεί εξειδικευμένο υλικό για την εκάστοτε ασθένεια που βρίσκεται ή πρόκειται να βρεθεί υπό μελέτη (Corrò, et al., 2020). Παρ' όλα αυτά, μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα οργανοειδή που προέρχονται από παθολογικό ιστό, καθώς μπορούν να αποδώσουν ιστολογικά το πρόβλημα. Για παράδειγμα, τα οργανοειδή από ασθενή με πολλαπλή εντερική ατρησία (Multiple Intestinal Atresia ή MIA) παρουσιάζουν διαταραχή της πολικότητας, της ανάπτυξης και της διαφοροποίησης τους (Bigorgne, et al., 2014). Τα οργανοειδή προερχόμενα από απομονωμένα βλαστικά κύτταρα είναι πολύ πιο αποτελεσματικά κατά την παρακολούθηση της ανοσολογικής απόκρισης, σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους της 2D καλλιέργειας των βιοψιών των ασθενών. Συμπερασματικά, είναι καίριας σημασίας η εφαρμογή τους για τη μοντελοποίηση της οποιασδήποτε ασθένειας χρειάζεται να μελετηθεί (Yuki, et al., 2020). Αφού τα επαγόμενα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα μπορούν να προέλθουν από ενήλικα βλαστοκύτταρα, μπορούν να αναπτυχθούν

με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να εμφανίζεται πλήρης και καθολική αντιστοίχιση ανάμεσα σε αυτά και στα κύτταρα του ασθενούς. Συνεπώς, θα μπορούσαν να δημιουργηθούν ειδικά ως προς τον ασθενή κυτταρικά μοντέλα οργανοειδών, που να φέρουν οποιοδήποτε μεταλλαγμένο γονίδιο σχετίζεται με την ασθένεια που μελετάται ή βρίσκεται υπό διερεύνηση (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Όπως αναφέρθηκε ήδη, μια εξίσου σημαντική εφαρμογή είναι η μελέτη των γενετικών ασθενειών και ιδιαίτερα αυτών που κληρονομούνται. Λόγω της γενετικής σταθερότητας που έχουν τα οργανοειδή, γίνεται εφικτή η μελέτη των γονιδιακών μεταλλάξεων που κληρονομούνται και ευθύνονται για την εμφάνιση μιας νόσου (Drost & Clevers, 2017). Η περίπτωση της κυστικής ίνωσης είναι ένα τέτοιο παράδειγμα. Αιτία της κυστικής ίνωσης είναι μεταλλάξεις στο γονίδιο CFTR, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που λειτουργεί ως κανάλι χλωρίου στις μεμβράνες των επιθηλιακών κυττάρων, συνεισφέροντας στη ρύθμιση της απορρόφησης και της έκκρισης αλατιού και νερού. Έχουν εντοπιστεί πολλαπλές μεταλλάξεις οι οποίες επηρεάζουν τη λειτουργία του γονιδίου αυτού ποικιλοτρόπως, για αυτό άλλωστε και η ασθένεια παρουσιάζει πολλούς φαινοτύπους (Cutting, 2015). Είναι κατανοητό ότι η θεραπεία πρέπει να είναι ειδική για κάθε περιστατικό της μετάλλαξης, καθώς τα φάρμακα δεν είναι αποτελεσματικά για όλες τις περιπτώσεις. Λύση στο πρόβλημα αυτό μπορούν να δώσουν τα οργανοειδή. Η καλλιέργεια οργανοειδών από τη βιοψία κάθε ασθενούς, δίνει την ευκαιρία να μελετηθεί η παθοφυσιολογία και η λειτουργία του γονιδίου. Επόμενο βήμα είναι η χορήγηση θεραπείας που είναι συγκεκριμένη για κάθε μετάλλαξη. Η δυνατότητα αυτή είναι μεγάλης σημασίας, καθώς πολλές φορές στα ζωικά μοντέλα δεν αναπαριστάνεται με μεγάλη ακρίβεια μια ασθένεια. Αντίθετα, τα οργανοειδή που προκύπτουν από κύτταρα της βιοψίας αποδίδουν καλύτερα τον μορφολογικό και μοριακό φαινότυπο. Για τη μελέτη των γενετικών ασθενειών, μπορούν να αξιοποιηθούν και οργανοειδή στα οποία μπορεί να γίνει εξουδετέρωση ή αφαίρεση (knock-out) ενός συγκεκριμένου γονιδίου, μέσω της γενετικής μηχανικής. Λόγου χάρη, σε οργανοειδή παρεγκεφαλίδας έγινε αποσιώπηση του γονιδίου DISC1, το οποίο εμπλέκεται στη σχιζοφρένεια, και παρατηρήθηκε ότι τα οργανοειδή αυτά είχαν αποδιοργανωμένη μορφολογία. Επισημάνθηκε επίσης ότι τα κύτταρα δεν πολλαπλασιάστηκαν σωστά και ότι υπήρχαν αλλαγές στους δείκτες που ευθύνονται για τη μετανάστευση των νευρικών κυττάρων (Srikanth, et al., 2018).

7.2 Μελέτη σχέσης ξενιστή-παθογόνου

Ακόμα μια εφαρμογή των οργανοειδών στη βασική έρευνα είναι η μελέτη της σχέσης του ξενιστή και των παθογόνων (Leslie & Young, 2016). Μέχρι πρότινος, η μελέτη γινόταν με τη χρήση κυτταρικών σειρών. Όμως, λόγω του ότι τα οργανοειδή αναπαριστούν την *in vivo* κατάσταση, η μελέτη μπορεί να εστιάσει μόνο στα κύτταρα τα οποία προσβάλλονται από τον παθογόνο οργανισμό (Sato, et al., 2009). Πολλοί παθογόνοι οργανισμοί, όπως οι ιοί ή κάποια πρωτόζωα, είναι άμεσα εξαρτώμενα από τον ξενιστή τους και επομένως δεν μπορούν να μελετηθούν *in vitro*. Αυτό το σημαντικό πρόβλημα επιλύεται με τα οργανοειδή (Klotz, et al., 2012). Για παράδειγμα, τα οργανοειδή μπορούν να αξιοποιούνται για τη μελέτη της κινητικής της αντιγραφής, του τροπισμού, των σχέσεων μεταξύ του ιού, λόγω χάρη του ιού SARS-CoV-2, και του ξενιστή, καθώς και της απόκρισης του ξενιστή στον ιό (Elbadawi & Efferth, 2020). Για να εξεταστεί η σχέση του παθογόνου μικροοργανισμού και του ξενιστή, γίνεται καλλιέργεια οργανοειδών μαζί με μικροοργανισμούς, όπως για παράδειγμα καλλιέργεια οργανοειδούς από έντερο ποντικίου μαζί με το βακτήριο *Escherichia coli*. Η συνύπαρξη του βακτηρίου με τα οργανοειδή χρησιμοποιείται για να διερευνηθούν οι συνέπειες των αντιμικροβιακών προϊόντων που εκκρίνουν τα κύτταρα του Paneth (εκκριτικά κύτταρα των αδένων του εντέρου) (Farin, et al., 2014). Για παράδειγμα, παρατηρούνται συγκαλλιέργειες οργανοειδών και μυοϊνοβλαστών ώστε να ερευνηθούν οι αλληλεπιδράσεις του επιθηλίου-μικροπεριβάλλοντος (*niche*). Στον αντίποδα, η συνύπαρξη των συστημάτων οργανοειδών με ενδοθηλιακά κύτταρα αξιοποιείται για την κατανόηση της αγγειογένεσης (Yang, et al., 2020). Επίσης, οργανοειδή εντέρου χρησιμοποιήθηκαν για να μελετηθεί η μόλυνση από το βακτήριο *Salmonella* (Wilson, et al., 2015); (Zhang, et al., 2014). Εκτός από τα βακτήρια, τα οργανοειδή αποτελούν κατάλληλα εργαλεία και για τη μελέτη των ιικών λοιμώξεων. Στο παρελθόν, διάφορες μολυσματικές ασθένειες που προκαλούνται από ιούς, όπως ο ροταϊός (RV), ο νοροϊός (NRV), ο εντεροϊός 71 (EV71) και ο ανθρώπινος αδενοϊός (HAdV), έχουν ερευνηθεί εκτενώς με την αξιοποίηση ανθρώπινων εντερικών οργανοειδών (Elbadawi & Efferth, 2020). Λόγου χάρη, στην περίπτωση μελέτης λοιμώξεων από τον ιό Zika, έγινε χρήση εγκεφαλικών οργανοειδών, που προήλθαν από επαγόμενα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs), προκειμένου να εξεταστούν οι επιπτώσεις στην ανάπτυξη

του εγκεφάλου (Qian, et al., 2017). Εξάλλου είναι γνωστό ότι ο ιός Zika μολύνει και καταστρέφει κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως για παράδειγμα τα νευρικά, τα γλοιακά και τα νευρικά βλαστικά κύτταρα. Ειδικά τα νευρικά βλαστοκύτταρα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στη μόλυνση από τον ιό Zika. Ο συγκεκριμένος ιός εμποδίζει τη νευρογένεση, οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο και προκαλεί μικροκεφαλία μετά τη γέννηση. Μετά τη μόλυνση των οργανοειδών με τον ιό Zika, παρατηρήθηκε απόπτωση των βλαστικών κυττάρων, περιορισμός της ανάπτυξης, επαγωγή της φλεγμονής, καθώς και νευροεκφυλισμός (Watanabe, et al., 2017). Όπως φαίνεται στην παραπάνω περίπτωση, τα οργανοειδή μπορούν να προσομοιάσουν τη μόλυνση σε μεγάλο βαθμό και να ενισχύσουν έτσι τη διερεύνηση της κατανόησης των μολύνσεων από διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς. Ένας άλλος ιός, του οποίου οι δράσεις εξετάστηκαν με τα οργανοειδή, είναι ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV). Η έκβαση της έρευνας αυτής έδειξε ότι ο ιός αυτός αλληλεπιδρά με υποδοχείς και διάφορους παράγοντες σε μια πολυσταδιακή διαδικασία και εν τέλει καταφέρνει να μολύνει το ηπατικό κύτταρο (Baktash, et al., 2018). Συμπερασματικά, τα οργανοειδή μπορούν να δώσουν απάντηση σε πολλαπλά ερωτήματα, για παράδειγμα, πώς ένας μικροοργανισμός μολύνει ένα κύτταρο, ποιοι παράγοντες εμπλέκονται και τι συνθήκες προϋποθέτει η μόλυνση. Γνωρίζοντας τα παραπάνω, το επόμενο βήμα είναι να ανακαλυφθούν φάρμακα που μπορούν να στοχεύουν ειδικά το παθογόνο, καταλήγοντας έτσι σε αποτελεσματικότερες θεραπείες.



Εικόνα 6: Παρουσιάζεται η μικροέγχυση παθογόνου στα οργανοειδή προκειμένου να μελετηθεί η σχέση μεταξύ παθογόνου-ξενιστή. Στην Α) εικόνα φαίνεται η μικροέγχυση του παθογόνου στον εσωτερικό αυλό του οργανοειδούς (lumen) προκειμένου να έλθει σε επαφή με το παθογόνο. Β) Οργανοειδή στα οποία δεν έγινε έγχυση. Γ) Η έγχυση στα οργανοειδή φαίνεται με μπλε χρωστική. Δ) Μετά την έγχυση το βακτήριο ελευθερώνει πρωτεΐνη που φθορίζει (GFP). Ε) Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο φαίνεται η κανονική δομή ενός οργανοειδούς. Ζ) Το βακτήριο προκαλεί αλλαγές στην αρχιτεκτονική του οργανοειδούς (Dutta, et al., 2017).

7.3 Έρευνα για τον καρκίνο

Μετά τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ο καρκίνος αποτελεί τη δεύτερη (2^η) αιτία θανάτου. Τα καρκινικά κύτταρα εμφανίζουν ετερογένεια όσον αφορά τις μεταλλάξεις, τη μορφολογία, τον φαινότυπο, τη γονιδιακή έκφραση, τον μεταβολισμό, τον πολλαπλασιασμό και την ικανότητα τους να μεταναστεύουν (McGranahan & Swanton, 2015). Μέχρι τώρα, η έρευνα για τον καρκίνο γίνεται μέσω των καρκινικών σειρών και των ζωικών μοντέλων. Παρ' όλα αυτά, δεν μπορεί να προσομοιωθεί η πραγματική ετερογένεια του καρκίνου. Ένα βήμα πιο κοντά βρίσκεται η περαιτέρω διερεύνηση της πολύπλοκης αυτής νόσου, μέσω της χρήσης οργανοειδών. Τα καρκινικά οργανοειδή (tumoroids), προέρχονται από βιοψίες ασθενών με καρκίνο και μπορούν να καλλιεργηθούν κάτω υπό ορισμένες συνθήκες. Μέχρι τώρα, έχουν αναπτυχθεί με επιτυχία οργανοειδή από καρκίνο στο στομάχι, στο έντερο (Vlachogiannis, et al., 2018), στο πάγκρεας (Seino, et al., 2018), στο ήπαρ (Broutier, et al., 2017), στον προστάτη (Gao, et al., 2014), στο μαστό (Sachs, et al., 2018) και στην ουροδόχο κύστη (Lee, et al., 2018). Τα καρκινικά οργανοειδή αναπαριστούν τα καρκινικά κύτταρα *in vivo* και τον τρόπο που αυτά επηρεάζουν τον παρακείμενο ιστό κάθε οργάνου (Dutta, et al., 2017). Στα οργανοειδή που προέκυψαν από καρκίνο στο στομάχι, παρατηρήθηκε ότι μπορούν να διατηρήσουν σημαντικά χαρακτηριστικά από τον *in vivo* όγκο, όπως η μορφολογία, η έκφραση συγκεκριμένων βιοδεικτών και οι μεταλλάξεις που οδηγούν σε αυτόν τον τύπο καρκίνου. Τη δυνατότητα διατήρησης των χαρακτηριστικών έχουν επίσης και τα οργανοειδή που αναπτύχθηκαν από καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου, του ήπατος και του μαστού. Η χρήση αυτών των οργανοειδών βοηθά στον εντοπισμό συγκεκριμένων μεταλλάξεων, που είναι χαρακτηριστικές για κάθε τύπο καρκίνου (Bartfeld & Clevers, 2017). Επιπλέον, μπορούν να αξιοποιηθούν οργανοειδή από υγιή ιστό για τη μελέτη ογκογονιδίων. Λόγου χάρη, ο εντοπισμός των συνθηκών που οδηγούν στην απενεργοποίηση της έκφρασης ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου ή/και των μεταλλάξεων που ευθύνονται για την ανάπτυξη ενός τύπου καρκίνου. Θα μπορούσε να θεωρηθεί έκφραση ευσεβών πόθων ο υπαινιγμός δημιουργίας οργανοειδών από iPSCs που θα μπορούσαν να παραγάγουν αίμα απαλλαγμένο από καρκινικά κύτταρα για λευχαιμικό ασθενή ή ακόμα και νευρώνες για τη θεραπεία νευρολογικών διαταραχών. Ακούγεται απίθανο αλλά δεν αποκλείεται στο άμεσο μέλλον (Hockemeyer & Jaenisch, 2016).

7.4 Οπτικοποίηση και ανακατασκευή οργάνων

Τα οργανοειδή μπορούν επιπρόσθετα να αξιοποιηθούν για την οπτικοποίηση και την ανακατασκευή ενός ολόκληρου οργάνου. Αυτές οι δύο εφαρμογές είναι ζωτικής σημασίας για την ανάλυση της μορφολογίας του οργάνου, καθώς και της σύστασης του μικροπεριβάλλοντος του. Πέρα από αυτά, είναι εφικτή η μελέτη της ανάπτυξης του οργάνου και η διερεύνηση μιας ενδεχόμενης καρκινικής μετάστασης στο ίδιο το όργανο. Για παράδειγμα, αξιοποιήθηκαν τα οργανοειδή συστήματα παράλληλα με την τεχνική uDISCO, για την απεικόνιση και την ανακατασκευή, σε κυτταρική-υποκυτταρική ανάλυση/κλίμακα, ενός μαστικού αδένου στο σύνολό του, ο οποίος είχε προέλθει από ποντίκια. Η απεικόνιση επετεύχθη με τον συνδυασμό αυτών των δύο τεχνικών και το τελικό αποτέλεσμα ήταν ένα μωσαϊκό από στοιβαγμένες ομοεστιακές εικόνες (γνωστό και ως z-stack imaging). Συμπερασματικά, δόθηκε η ευκαιρία στους επιστήμονες να μελετήσουν τη μορφολογία και τη δομή του μικροπεριβάλλοντος ολόκληρου του μαστικού αδένου, καθώς και να αναζητήσουν πιθανούς τύπους καρκίνου ή/και να αποκλείσουν τυχόν μεταστάσεις (Lagoutte, et al., 2020). Ουσιαστικά, η τεχνική uDISCO είναι μια τροποποίηση της μεθόδου 3DISCO (Pan, et al., 2016). Η μέθοδος 3DISCO είναι μια απεικονιστική ιστολογική τεχνική, κατά την οποία πρώτα γίνεται η διαύγαση, δηλαδή ο καθαρισμός, των ιστών (tissue cleaning) με τρεις οργανικούς διαλύτες: το τετραϋδροφουράνιο (Tetrahydrofuran ή THF), το διχλωρομεθάνιο (Dichloromethane ή DCM) και τον διβενζυλικό αιθέρα (Dibenzyl Ether ή DBE), αλλιώς γνωστός και ως διβενζυλαιθέρας (Ertürk, et al., 2012); (Richardson, et al., 2021). Σκοπός της συνδυαστικής χρήσης αυτών των οργανικών διαλυτών είναι η μείωση του δείκτη διάθλασης των κυττάρων (Richardson, et al., 2021). Συνεπώς, η διαύγαση των κυττάρων με THF, DCM και DBE καθιστά τους ιστούς διαφανείς. Έπειτα ακολουθεί η τρισδιάστατη απεικόνιση των ιστών με μικροσκόπιο φύλλου φωτός (Ertürk, et al., 2012). Η τεχνική uDISCO, όπως συζητήθηκε και πιο πάνω, αποτελεί μια τροποποίηση της τεχνικής 3DISCO, κατά την οποία γίνεται ακόμα μεγαλύτερη συρρίκνωση των ιστών, σε σχέση με την πρωτύτη μέθοδο. Αντί για τετραϋδροφουράνιο (THF), χρησιμοποιήθηκε tert-βουτανόλη (tert-butanol) και αντί για διβενζυλαιθέρα (DBE), χρησιμοποιήθηκε ένα μείγμα διφαινυλικού αιθέρα (Diphenyl Ether ή DPE), βενζυλικής αλκοόλης και βενζοϊκού βενζύλιου. Επιπρόσθετα, χρησιμοποιήθηκε συμπληρωματικά και η βιταμίνη E (α-

τοκοφερόλη). Επιδίωξη της μεθόδου uDISCO είναι η διεύρυνση του εφικτού απεικονιστικού φάσματος, με απόρροια την καλύτερη και ευκολότερη 3D απεικόνιση των ιστών. Η απεικόνιση των ιστών σε αυτή τη μέθοδο γίνεται με συμβατικό μικροσκόπιο φθορισμού και με μικροσκόπιο φύλλου φωτός (Pan, et al., 2016). Επιπλέον, έχουν υπάρξει αρκετές αναφορές που δίνουν έμφαση στις δυσμενείς συνθήκες της φθορίζουσας απεικόνισης των τρισδιάστατων (3D) προτύπων. Η απεικόνιση τρισδιάστατων ανθρώπινων οργανοειδών στερείται μακροχρόνιας υψηλής ανάλυσης και τα αποτελέσματα δεν είναι αξιόπιστα, ούτε μπορούν να αξιολογηθούν καταλλήλως. Δεν έχουν δημιουργηθεί ακόμη μεγάλες αυτοματοποιημένες απεικονιστικές βάσεις δεδομένων, και δυστυχώς επακόλουθο αυτού είναι ότι εμφανίζονται μέχρι και σήμερα ιδιαίτερες δυσκολίες κατά την εξαγωγή των εν λόγω δεδομένων. Εντούτοις, με την πάροδο του χρόνου, όταν η επεξεργασία της αυτοματοποιημένης απεικόνισης βελτιωθεί και αναβαθμιστεί, θα είναι εντελώς εφικτή η καλύτερη κατανόηση και ερμηνεία των κυτταρικών βιολογικών διεργασιών που διεξάγονται στα οργανοειδή. Μέχρι στιγμής, με την αξιοποίηση προηγμένων τεχνικών απεικόνισης, όπως για παράδειγμα η μικροσκοπία φθορισμού φύλλου φωτός (Light Sheet Fluorescence Microscopy ή LSFM), μπορούν να παρατηρούνται τα κύτταρα σε πραγματικό χρόνο και να μελετάται περαιτέρω η συμπεριφορά τους (Yang, et al., 2020). Εν κατακλείδι, είναι εύκολα κατανοητό και αντιληπτό ότι η συγκεκριμένη αξιοποίηση των οργανοειδών συστημάτων είναι εξαιρετικά χρήσιμη για την προληπτική ιατρική και για τους εν δυνάμει μελλοντικούς ασθενείς που παρουσιάζουν οικογενειακό ιστορικό καρκίνου.

7.5 Έρευνες μελέτης των ανοσολογικών αποκρίσεων

Είναι αυτονόητο ότι η καλύτερη κατανόηση των ανοσολογικών αποκρίσεων και των σηματοδοτικών μονοπατιών που οδηγούν σε αυτές είναι υψίστης σημασίας. Τα οργανοειδή είναι, όχι μόνο εξαιρετικά χρήσιμα εργαλεία και εύκολα διαθέσιμα, αλλά και σχεδόν απαραίτητα έτσι ώστε να επιτευχθούν όλα τα παραπάνω. Πέρα από αυτά, η ανίχνευση των διαφορετικών τύπων κυττάρων πριν, κατά τη διάρκεια και μετά τη μόλυνση από ένα παθογόνο, λόγω χάρη από τον ιό SARS-CoV-2, μπορεί να επιτευχθεί και με τη χρήση της κυτταρομετρίας ροής, που συνήθως είναι πιο διαδεδομένη μέθοδος. Αυτή η τεχνική είναι ζωτικής σημασίας για τη

διερεύνηση των ανοσολογικών αποκρίσεων ενάντια στον ιό, αφού και τα ανοσοκύτταρα, όπως τα CD4+ και CD8+, παρατηρούνται και προσμετρώνται καθόλη τη διάρκεια της ιογενούς λοίμωξης. Στον αντίποδα, ένα άλλο, εξίσου σημαντικό και αποδεκτό, εργαλείο, που μπορεί να ανιχνεύσει τις ανοσολογικές αποκρίσεις και να βοηθήσει τους ερευνητές με τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων του επιθηλίου και του ανοσοποιητικού συστήματος, είναι το αποκαλούμενο μοντέλο συγκαλλιέργειας. Κατά αυτό το μοντέλο, καλλιεργούνται οργανοειδή προερχόμενα από κύτταρα των ανθρώπινων αεραγωγών μαζί με διαφορετικούς τύπους κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (Elbadawi & Efferth, 2020); (Yang, et al., 2020). Αυτή η μέθοδος μπορεί επιπρόσθετα να ωθήσει τους επιστήμονες να διερευνήσουν περαιτέρω την ανοσολογική απόκριση του ανθρώπινου ανοσοποιητικού συστήματος ενάντια σε βακτήρια, μύκητες, πρωτόζωα, μικροοργανισμούς ή ακόμα και σε ιούς, για παράδειγμα ο ιός SARS-CoV-2. Κατά τη διάρκεια της ανοσοαπόκρισης σε μια μόλυνση, αρκετές κυτοκίνες, γνωστές και ως κυτταροκίνες, απελευθερώνονται από τον οργανισμό προκειμένου να καταπολεμήσουν τα παθογόνα που έχουν μολύνει τον ασθενή. Ως εκ τούτου, είναι εξαιρετικά σημαντικό να επιτευχθεί η πλήρης κατανόηση των σηματοδοτικών οδών και τι πραγματικά πυροδοτεί αυτά τα μονοπάτια που οδηγούν στο σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών (Cytokine Release Syndrome ή CRS). Αυτό το σύνδρομο εμφανίζεται κατά κόρον σε πολυάριθμους ασθενείς κατά τη διάρκεια της λοίμωξης τους από τον ιό SARS-CoV-2. Το CRS έχει ήδη υπάρξει θέμα εκτενούς συζήτησης, έρευνας, καθώς και ανησυχίας, εξαιτίας της απροβλεψιμότητας που παρουσιάζει και της σοβαρότητας των συμπτωμάτων που προκαλεί (Elbadawi & Efferth, 2020).

Το 2021, δημοσιεύτηκε μια έρευνα που αποκάλυψε την υποβόσκουσα παθογένεια της αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας Χασιμότο (Hashimoto), αξιοποιώντας τις τεχνικές της πρωτεωμικής, καθώς και τα οργανοειδή συστήματα. Σε αυτήν τη μελέτη, επιλέχθηκαν 21 πρωτεΐνες που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα, τον μεταβολισμό και τον καρκίνο. Σκοπός ήταν η διερεύνηση της ανοσολογικής απόκρισης και η ανακάλυψη της πραγματικής παθογένειας της ασθένειας, διότι ακόμη υπάρχει η γενικότερη αντίληψη ότι η εμφάνιση της θυρεοειδίτιδας οφείλεται σε διάφορους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Εξάλλου, δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί και εξακριβωθεί τελείως η εξέχουσα αιτία εμφάνισης της

ασθένειας. Είναι προφανές ότι η έκβαση αυτής της έρευνας, σε συνδυασμό με δυνητικές μελέτες που πρόκειται να γίνουν, θα αποτελέσουν τη βάση της ανακάλυψης μιας ενδεχόμενης θεραπείας. Αυτό αποτελεί γεγονός εξαιρετικά αξιοσημείωτο από μόνο του, καθώς προς το παρόν δεν υπάρχει γνωστή και αποτελεσματική θεραπεία για τα αυτοάνοσα νοσήματα. Εκτός από την ανακάλυψη θεραπειών κατά την εφαρμοσμένη έρευνα, μια άλλη πιθανή αξιοποίηση των οργανοειδών κατά τη θεμελιώδη έρευνα αυτήν τη φορά, είναι η ευκολότερη και σαφέστερη διάγνωση της ασθένειας και κατά συνεπαγωγή, η συμβολή τους στην προληπτική ιατρική (Xiao, et al., 2021).

8. Χρήση οργανοειδών στην εφαρμοσμένη έρευνα

Η εφαρμοσμένη έρευνα δεν έχει ως πρωταρχική επιδίωξη να παράγει την επιστημονική γνώση όπως η καθαρή έρευνα, αλλά να εφαρμόσει τις γνώσεις για την επίλυση διάφορων προβλημάτων. Στην προηγούμενη ενότητα, αναλύθηκαν οι χρήσεις των οργανοειδών στη βασική έρευνα και αναφέρθηκε ο ρόλος που έχουν για την κατανόηση των ασθενειών, της φυσιολογίας τους και των αιτίων που τις προκαλούν. Η εφαρμοσμένη έρευνα είναι αυτή που θα συνδυάσει τις γνώσεις και την τεχνολογία με απόρροια πολλαπλά οφέλη, με κυριότερο την υγεία.

8.1 Έλεγχος ουσιών και τοξικολογικές δοκιμές

Η κυριότερη χρήση των οργανοειδών γίνεται για έλεγχο ουσιών (drug screening) και σε τοξικολογικές δοκιμές (Saorin, et al., 2023). Με αυτό τον τρόπο ελέγχεται η δράση, η τοξικότητα και η δόση μιας ουσίας ή ενός φαρμάκου, χωρίς να χρειάζεται η χρήση πειραματόζων. Συνεπώς, και το αποτέλεσμα είναι πιο αξιόπιστο, λόγω του ότι ο έλεγχος γίνεται σε ανθρώπινο ιστό. Σε πολλές ασθένειες, που δεν οφείλονται αποκλειστικά σε μια μόνο μετάλλαξη, τα φάρμακα δε δουλεύουν αποτελεσματικά για όλους τους ασθενείς, αλλά μόνο για το φάσμα των ασθενών με την ίδια μετάλλαξη. Επομένως, αυτή η χρήση των οργανοειδών έχει προστατεύσει πολλαπλούς ασθενείς από το να επιβαρύνονται με αναποτελεσματικά ή τοξικά φάρμακα (Roosmaaker, et al., 2015). Είναι απολύτως φυσικό το συμπέρασμα ότι με την ενδεχόμενη εφαρμογή των οργανοειδών συστημάτων, συχνότερα προερχόμενων από επαγόμενα βλαστοκύτταρα,

καθίσταται δυνατός ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας ενός φαρμάκου, καθώς και της ευαισθησίας ενός συγκεκριμένου ασθενούς στην αγωγή, εφόσον τα κύτταρα προέρχονται από τον ίδιο τον ασθενή. Τα επαγόμενα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs) θα μπορούσαν εύκολα να αξιοποιηθούν σε απόπειρες ανακάλυψης εξατομικευμένων φαρμάκων και στην κατανόηση της, ειδικής ως προς τον ασθενή, βάσης της ασθένειας (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Ο έλεγχος των φαρμάκων γίνεται σε μια σειρά από οργανοειδή, γνωστή και ως βιοτράπεζα οργανοειδών (organoid biobank). Οι βιοτράπεζες μπορούν να δημιουργηθούν από οργανοειδή που προέρχονται είτε από υγιείς δότες είτε από ασθενείς (Rookmaaker, et al., 2015). Λόγου χάρη, υπάρχουν βιοτράπεζες οργανοειδών από ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου. Στα οργανοειδή αυτά, γίνεται γενετικός χαρακτηρισμός και έλεγχος των φαρμάκων, με στόχο να γίνει συσχέτιση της ευαισθησίας κάθε φαρμάκου με συγκεκριμένη μετάλλαξη (van de Wetering, et al., 2015). Ιδιαίτερα στην περίπτωση του καρκίνου, όπου υπάρχει μεγάλη ετερογένεια, είναι εξαιρετικής σημασίας η ιδιότητα των οργανοειδών να διατηρούν τα γενετικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά του όγκου (Fujii, et al., 2016); (van de Wetering, et al., 2015). Επιπρόσθετα, όπως συζητήθηκε και προηγουμένως, το μοντέλο της συγκαλλιέργειας μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη βασική έρευνα, ώστε να μελετηθούν οι αλληλεπιδράσεις του επιθηλίου-μικροπεριβάλλοντος (niche), του επιθηλίου-ανοσοποιητικού συστήματος ή ακόμα και να ανιχνευθούν οι ανοσολογικές αποκρίσεις. Εν αντιθέσει, στην εφαρμοσμένη έρευνα, η χρήση του μοντέλου συγκαλλιέργειας, (καλλιέργεια οργανοειδών μαζί με άλλα είδη κυττάρων του οργανισμού), μπορεί επίσης να αξιοποιηθεί κατά τη διάρκεια ερευνών για την επίδραση και το ποσοστό επιτυχίας των ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων που χορηγούνται ως θεραπεία. Για παράδειγμα, κατά τη λοίμωξη από την ασθένεια COVID-19, μπορεί να αξιοποιηθεί το μοντέλο της συγκαλλιέργειας οργανοειδών, προερχόμενων από ανθρώπινα αναπνευστικά κύτταρα μαζί με διαφορετικούς τύπους κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, για τη διαπίστωση της επιτυχίας αγωγής που χορηγείται με επιδίωξη την καταπολέμηση της νόσου COVID-19 (Elbadawi & Efferth, 2020).

8.2 Ανάπτυξη εμβολίων

Αδιαμφισβήτητα, εκτός από τον έλεγχο ουσιών, τα οργανοειδή μπορούν να αξιοποιηθούν κατά την ανάπτυξη εμβολίων. Είναι πια γνωστό ότι προκειμένου να

μελετηθούν ιικά ή βακτηριακά παθογόνα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν οργανοειδή, όπου έχουν ήδη μολυνθεί από αυτούς τους μικροοργανισμούς, έτσι ώστε να αποσαφηνιστεί ο τρόπος παθογένειας τους και να αναπτυχθεί το κατάλληλο εμβόλιο ενάντια στον εκάστοτε παθογόνο μικροοργανισμό (Yang, et al., 2020). Ακολουθούν παραδείγματα των γνωστότερων και σημαντικότερων τεχνικών που χρησιμοποιούνται συνδυαστικά με τα οργανοειδή, κατά τις μελέτες ανάπτυξης των εμβολίων. Το ιικό φορτίο μπορεί να εκτιμηθεί με την αξιοποίηση της ποσοτικής PCR πραγματικού χρόνου (Quantitative Polymerase Chain Reaction ή qPCR). Η ποσότητα της κυτταρικής μόλυνσης μπορεί να ποσοτικοποιηθεί είτε με ανοσοφθορισμό είτε με ηλεκτρονική μικροσκοπία είτε με τον συνδυασμό αυτών των δύο μεθόδων. Τεχνικές όπως η qPCR και η αλληλούχιση ολόκληρου του γονιδιώματος (Whole Genome Sequencing ή WGS) είναι απαραίτητες για την καλύτερη κατανόηση των γενετικών μεταλλάξεων του ιού, καθώς και της κινητικής της αντιγραφής του ιού. Κατά τη διάρκεια της μόλυνσης, έχει παρατηρηθεί ότι η έκφραση των γονιδίων του ιού μεταβάλλεται και διαφοροποιείται, ανάλογα με το κάθε μεμονωμένο και ξεχωριστό περιστατικό. Άλλες μοριακές τεχνικές που μπορούν να επωφεληθούν από την παράλληλη χρήση οργανοειδών είναι το μεταγραφικό (transcriptomic) και γονιδιωματικό προφίλ (genomic profiling), αλλιώς γνωστά και ως μεταγραφικός και γονιδιωματικός χαρακτηρισμός αντίστοιχα. Όπου, κατά τη διάρκεια της ανοσοαπόκρισης, μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν συνδυαστικά προκειμένου να μελετηθούν τα μονοπάτια σηματοδότησης και να ανιχνευθούν νέες ή εκκρινόμενες κυτοκίνες που απελευθερώνονται. Επιπρόσθετα, η χρήση του μεταγραφικού προφίλ μπορεί να αποκωδικοποιήσει τη διαφορική γονιδιακή έκφραση. Εκτός από αυτές τις τεχνικές, οι μικροσυστοιχίες αποτελούν σημαντικό και κρίσιμο εργαλείο για τον προσδιορισμό των μοριακών μηχανισμών και μονοπατιών που χρησιμοποιούνται από τα υπό έρευνα υποψήφια φάρμακα και από τους κυτταρικούς στόχους τους (Elbadawi & Efferth, 2020). Οι υποψήφιοι και ανερχόμενες δραστικές ουσίες, που περιέχουν τα υπό διερεύνηση φάρμακα, υποβάλλονται σε διάφορες μεθόδους στο εργαστήριο προκειμένου να δοκιμαστεί το κατά πόσον αποτελεσματικές μπορεί να είναι. Εξυπακούεται βέβαια, η συνδυαστική χρήση τους με τα οργανοειδή συστήματα. Ένα πολύ χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι το φλέγον ζήτημα της πανδημίας COVID-19, που συνοδεύεται από την επιτακτική ανάγκη ταχύτερης ανάπτυξης αποτελεσματικών εμβολίων κατά του ιού SARS-CoV-2. Με βλέψη την ανάπτυξη αποτελεσματικών φαρμάκων χωρίς

ανεπιθύμητες παρενέργειες, προτάθηκε από τους Elbadawi και Efferth η αξιοποίηση οργανοειδών, προερχόμενων από αναπνευστικά κύτταρα των αεραγωγών, για τη μελέτη της διάδοσης και της κυτταροπάθειας του ιού. Αυτά τα ανθρώπινα οργανοειδή μπορούν να παραχθούν από τη βιοψία υγιούς ιστού από τους πνεύμονες και αργότερα να μολυνθούν από τον ιό SARS-CoV-2, ο οποίος έχει προέλθει από ασθενείς που έχουν διαγνωστεί θετικοί για τον ιό. Τα επακόλουθα της αξιοποίησης αυτών των μολυσμένων πια οργανοειδών, είναι η μέτρηση της δραστηριότητας και της αποτελεσματικότητας του φαρμάκου έναντι του ιού, δύο καίριας σημασίας δείκτες κατά την ανάπτυξη των εμβολίων (Elbadawi & Efferth, 2020).

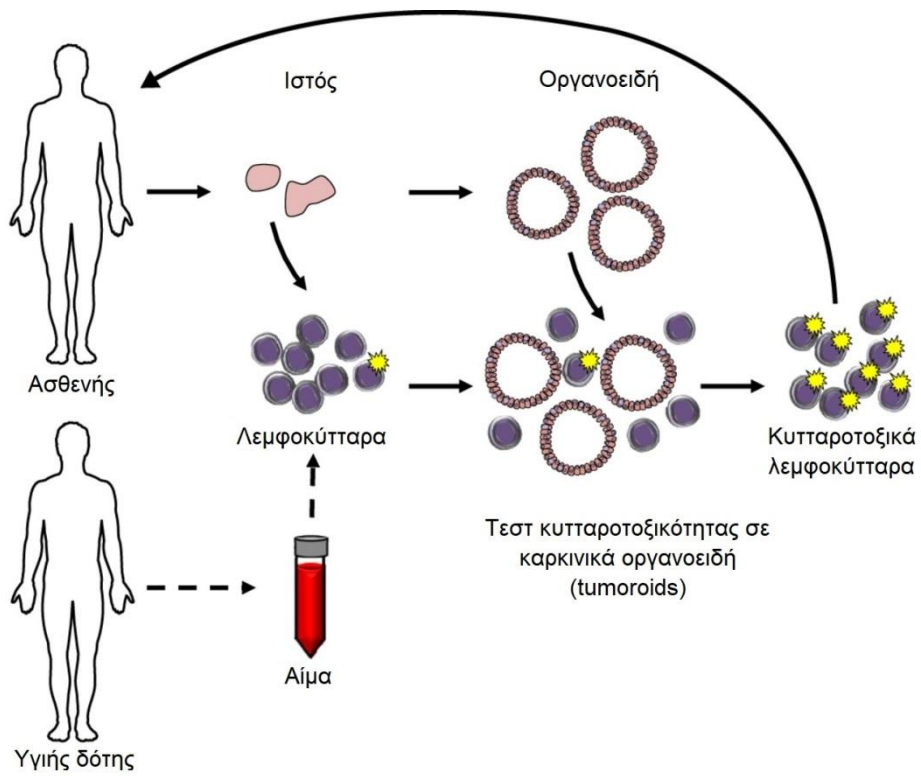
8.3 Γονιδιακή θεραπεία

Προηγουμένως, αναφέρθηκε το παράδειγμα της κυστικής ίνωσης, όπου τα οργανοειδή μπορούν να μοντελοποιήσουν την ασθένεια αυτή. Εφόσον εντοπιστεί μια μετάλλαξη του γονιδίου CFTR, που οφείλεται για έναν συγκεκριμένο φαινότυπο, επόμενο βήμα είναι να εξεταστεί αν η μετάλλαξη αυτή μπορεί να διορθωθεί, ή αν όχι, να βρεθούν φάρμακα, για να αντιμετωπιστούν οι συνέπειες που προκαλεί στον ασθενή. Το 2013, μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού, διορθώθηκε η μετάλλαξη DF508 στο γονίδιο CFTR σε οργανοειδή εντέρου από ασθενή, αξιοποιώντας την τεχνική CRISPR/Cas9 (Schwank, et al., 2013). Η προσέγγιση αυτή δεν έχει εφαρμοστεί ακόμη σε κλινικό επίπεδο, αλλά αναμφίβολα είναι πολλά υποσχόμενη για το επερχόμενο ενδιαφέρον ανάπτυξης γονιδιακής θεραπείας ενάντια στις μονογονιδιακές ασθένειες (single-gene disease) (Driehuis & Clevers, 2017).

8.4 Ανοσοθεραπεία

Τα οργανοειδή βρίσκουν εφαρμογή και στο πεδίο της ανοσοθεραπείας. Υπάρχει η δυνατότητα να καλλιεργηθούν οργανοειδή από καρκινοπαθείς μαζί με επιθηλιακά λεμφοκύτταρα (Intraepithelial Lymphocytes ή IELs), από τον ίδιο τον ασθενή ή από υγιή δότη, με επιδίωξη να γίνει πρόβλεψη της κυτταροτοξικότητας των T λεμφοκυττάρων έναντι των καρκινικών κυττάρων. Γίνεται ο εντοπισμός όσων λεμφοκυττάρων έχουν τη δυνατότητα να σκοτώσουν τα καρκινικά κύτταρα και πολλαπλασιάζεται ο συγκεκριμένος κλώνος. Τα παράγωγα μπορούν να

χορηγηθούν στον ασθενή, ώστε να διεγερθεί ανοσολογική απόκριση έναντι των καρκινικών κυττάρων (εικόνα 7); (Nozaki, et al., 2016); (Zumwalde, et al., 2016); (Drost & Clevers, 2017). Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι τα οργανοειδή από ενήλικα βλαστοκύτταρα του μαστού έχουν υπότυπους επιθηλιακών κυττάρων που μπορούν να αντιμετωπίσουν καρκινικά κύτταρα του μαστού (Zumwalde, et al., 2016). Εν κατακλείδι, τα οργανοειδή συμβάλλουν στην έρευνα για την ανάπτυξη θεραπειών στις οποίες εμπλέκεται το ανοσοποιητικό σύστημα.

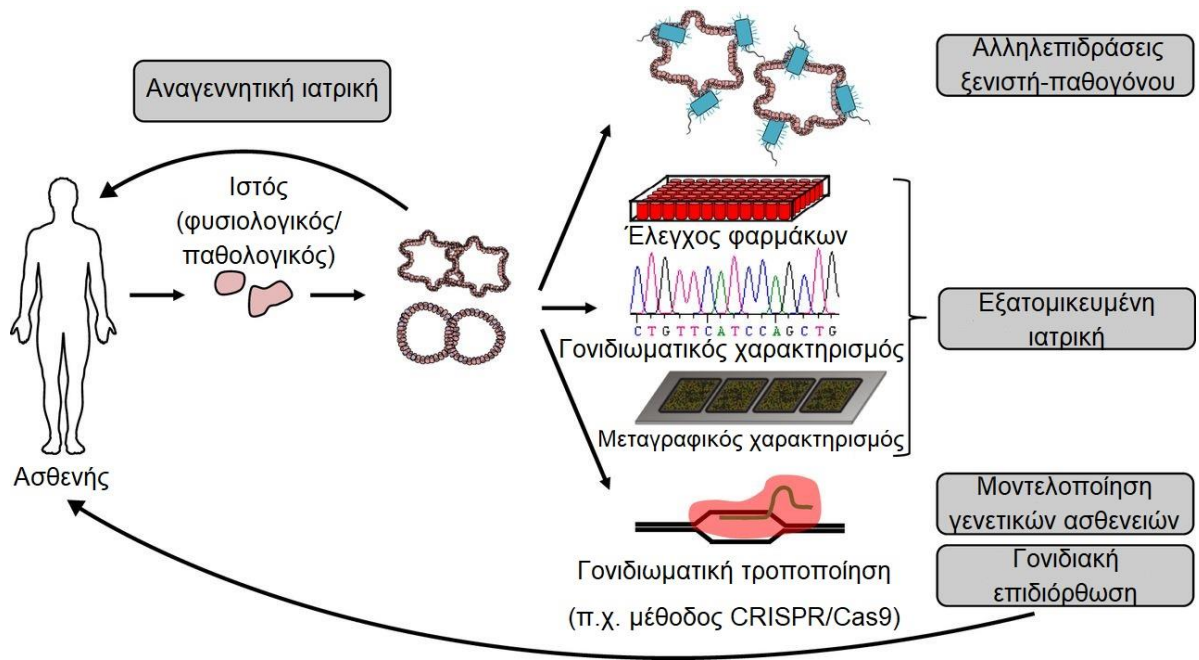


Εικόνα 7: Δυνατότητα ελέγχου της κυτταροτοξικότητας των λεμφοκυττάρων του επιθηλίου (Drost & Clevers, 2017).

8.5 Αναγεννητική Ιατρική

Ο τομέας της αναγεννητικής ιατρικής αποτελεί μια ακόμα χρησιμότητα των οργανοειδών συστημάτων. Η πρώτη αναφορά που έγινε στις πολλά υποσχόμενες εφαρμογές των οργανοειδών, και ειδικά αυτών που προέρχονται από iPSCs, στην αναγεννητική ιατρική, ήταν το 2006 όταν αναπτύχθηκαν για πρώτη φορά επαγόμενα βλαστοκύτταρα από ινοβλάστες ποντικών (Takahashi & Yamanaka, 2006). Η ικανότητα πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης των οργανοειδών, ιδιαίτερα αυτών που προέρχονται από ενήλικα βλαστοκύτταρα (ASCs), είναι αυτή που εφοδιάζει την αναγεννητική ιατρική με εργαλεία όπως η δυνατότητα θεραπείας και αποκατάστασης (Lambrou & Remboutsika, 2014). Υποστηρίζεται ότι τα οργανοειδή μπορούν να αποτελέσουν πηγή αντικατάστασης κατεστραμμένων ιστών (Drost & Clevers, 2017). Πράγματι, πειράματα που έγιναν σε ποντίκια απέδειξαν ότι κάτι τέτοιο είναι εφικτό. Συγκεκριμένα, οργανοειδή παχέος εντέρου μεταμοσχεύθηκαν σε ποντίκια με κατεστραμμένο παχύ έντερο. Τα οργανοειδή αυτά, λειτούργησαν ως εκμαγείο για τη δημιουργία λειτουργικών αδένων, όπως επίσης οδήγησαν σε ανάκτηση της λειτουργίας του επιθηλιακού φραγμού του εντέρου (Yui, et al., 2012). Επιπρόσθετα, όταν ανθρώπινα οργανοειδή ήπατος μεταφέρθηκαν σε ήπαρ ποντικίου, απέκτησαν αγγείωση (Huch, et al., 2015). Το 2020, υπήρξαν επιστημονικά άρθρα που αναφέρονταν στην ανάπτυξη δερματικών οργανοειδών. Τα οργανοειδή αυτά παράχθηκαν με την ίδια μέθοδο που είχαν προηγουμένως παραχθεί και οργανοειδή από το εσωτερικό αυτί. Ακριβέστερα, αναπτύχθηκαν με την αξιοποίηση ανθρώπινων πλειοδύναμων βλαστοκυττάρων (Human Pluripotent Stem Cells ή hPSCs); (Lee, et al., 2020). Τα hPSCs είναι πλειοδύναμα βλαστικά κύτταρα προερχόμενα είτε από ανθρώπινα έμβρυα, δηλαδή από εμβρυονικά βλαστοκύτταρα (ESCs), είτε από ανθρώπινα σωματικά κύτταρα, πιο συγκεκριμένα από επαγόμενα πλειοδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs); (Gao & Pun, 2021). Φυσικό επακόλουθο ήταν η παραγωγή λειτουργικών δερματικών οργανοειδών που παρουσίαζαν ακόμα και τριχοφυΐα. Έπειτα, εξετάστηκε η δυνατότητα εμφύτευσης των οργανοειδών σε ουρές ποντικών, όπου επετεύχθη 55% ποσοστό επιτυχίας. Παρατηρήθηκε είσφρουση τριχών (ingrown hairs) σε 22% των περιπτώσεων και το εναπομείναν ποσοστό ήταν το ποσοστό αποτυχίας, λόγω τεχνικού λάθους (Lee, et al., 2020). Αυτή η μελέτη απέδειξε την ικανότητα της εξ ολοκλήρου ανάπτυξης δερματικών μοσχευμάτων μέσα στο εργαστήριο (in vitro). Η πιθανή μελλοντική εφαρμογή τους ως δερματικά

μοσχεύματα κατά την πλαστική και την επιδιορθωτική χειρουργική είναι εκτός από συναρπαστική, άκρως ρηξικέλευθη και καινοτόμος. Είναι εμφανείς οι ενδεχόμενες εφαρμογές των οργανοειδών, προερχόμενων από επαγόμενα βλαστοκύτταρα, στην αναγεννητική, καθώς και στην εξατομικευμένη ιατρική. Δυνητικά, θα μπορούσε κάθε άτομο να έχει την προσωπική του σειρά πλειοδύναμων βλαστοκυττάρων (iPSCs), η οποία θα αποτελεί μια ιδιαίτερα μοναδική και προσωποποιημένη πηγή κυττάρων, έτοιμων να αποκαταστήσουν τους ενδεχομένως κατεστραμμένους ιστούς του ασθενούς (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Όλα αυτά βρίσκονται ακόμη σε πειραματικό στάδιο και απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση προκειμένου να εξεταστεί το κατά πόσον τα μοσχεύματα από οργανοειδή μπορούν να ανακτήσουν όλες τις λειτουργίες του ιστού. Επιπλέον, γίνεται μια προσπάθεια να δημιουργηθούν οργανοειδή τα οποία θα είναι αυτόλογα και έτσι δε θα αναγνωρίζονται ως ξένα, και ως απόρροια δε θα απορρίπτονται από τον οργανισμό (Xu, et al., 2018). Για την ακρίβεια, σκοπός είναι η δημιουργία ενός μοσχεύματος που στερείται τον κίνδυνο της απόρριψης του από το ανοσοποιητικό σύστημα, λόγω του ότι παρουσιάζει πλήρη ιστοσυμβατότητα, αφού ο λήπτης είναι ταυτόσημος με τον δότη. Δυστυχώς όμως, δεν έχει εξελιχθεί αρκετά η τεχνολογία ώστε να θεωρούνται ασφαλείς αυτές οι μεταμοσχεύσεις. Η ελλιπής τεχνογνωσία, καθώς και οι βιοηθικοί φραγμοί που προκύπτουν, προφανώς και αποτελούν τροχοπέδες για τη μετάβαση της εφαρμογής των iPSCs από πειραματικό στάδιο σε κλινικές μελέτες πάνω σε ανθρώπους (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Εντούτοις, με την πάροδο του χρόνου είναι σαφές ότι θα αποτελέσουν ιδιαίτερο και εξαιρετικά ενδιαφέρον πεδίο έρευνας.



Εικόνα 8: Σύνοψη της χρήσης των οργανοειδών στη βασική και εφαρμοσμένη έρευνα. Τα οργανοειδή βρίσκουν εφαρμογή στο πεδίο της αναγεννητικής ιατρικής, της μελέτης των σχέσεων ξενιστή-παθογόνου και των γενετικών ασθενειών, της εξατομικευμένης ιατρικής και της επιδιόρθωσης των γονιδίων (Drost & Clevers, 2017).

8.6 Εξατομικευμένη Ιατρική

Ένα νέο πεδίο στο οποίο εμπλέκονται τα οργανοειδή είναι αυτό της εξατομικευμένης ιατρικής (personalized medicine), γνωστή και ως ιατρική ακριβείας (precision medicine). Η εξατομικευμένη ιατρική έχει ως στόχο να βρίσκει τις κατάλληλες θεραπείες για το προφίλ κάθε ασθενούς ξεχωριστά (Drost & Clevers, 2017). Είναι δυνατόν να αξιοποιηθούν οργανοειδή προερχόμενα από τα ενήλικα βλαστοκύτταρα (ASCs), έτσι ώστε να αναπαραχθεί και να διερευνηθεί το προσωποποιημένο πια προφίλ του εκάστοτε ασθενούς (Corrò, et al., 2020). Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, τα οργανοειδή που προκύπτουν από βιοψία ασθενών χρησιμεύουν για να βρεθούν οι μεταλλάξεις, να μελετηθεί η παθοφυσιολογία και να συσχετιστούν οι μεταλλάξεις με τον φαινότυπο του κάθε ασθενούς (Drost & Clevers, 2017). Στη συνέχεια, τα οργανοειδή αυτά χρησιμοποιούνται για την εύρεση του καταλληλότερου φαρμάκου ή θεραπείας που θα ακολουθήσει ο ασθενής (Rookmaaker, et al., 2015). Συνεπώς, πιθανόν σε κάποια χρόνια από τώρα να μην υπάρχει φάρμακο ειδικό για την κάθε ασθένεια, αλλά ένα φάρμακο που θα είναι αποτελεσματικό για τον κάθε ασθενή ξεχωριστά. Η σημασία της εξατομικευμένης ιατρικής και κατ' επέκταση της αξιοποίησης των οργανοειδών είναι το γεγονός ότι ο ασθενής θα λαμβάνει έγκαιρα το κατάλληλο φάρμακο το οποίο θα είναι στοχευμένο και δε θα προκαλεί παρενέργειες.

9. Βιοηθικά διλήμματα αξιοποίησης των οργανοειδών

Είναι εντελώς βέβαιο ότι στο προσεχές μέλλον η εφαρμογή των οργανοειδών συστημάτων θα πυροδοτήσει πολλές αμήχανες, ωστόσο αναμφισβήτητα αναγκαίες, συζητήσεις, οι οποίες είναι κάτι παραπάνω από απαραίτητο να συμβούν (Jeziorski, et al., 2023). Είναι αυτονόητο ότι θα χρειαστεί να θεσπιστεί ένα νομοθετικό πλαίσιο που θα ανυψώνει την ανεξάρτητη επιστημονική πρόοδο και θα την προστατεύει από τα μεροληπτικά συμφέροντα ειδικών ομάδων (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Με την πάροδο του χρόνου, τα οργανοειδή συστήματα έχουν εξελιχθεί με τόσο ραγδαίο ρυθμό ώστε να αρχίζουν να αποτελούν πια πρότυπα και κύρια ερευνητικά πρωτόκολλα (Wang, et al., 2013), σε σχέση με άλλα συμβατικά και πιθανώς παρωχημένα μοντέλα λόγου χάρη οι δυσδιάστατες καλλιέργειες και τα ζωικά μοντέλα. Αυτό έχει αποτελέσει έναυσμα συνεχούς διαλόγου και έντονου διχασμού όσον αφορά τη δεοντολογία της

αξιοποίησης τέτοιων συστημάτων (Jeziorski, et al., 2023), ειδικά επειδή εφάπτονται με άλλα ήδη υπάρχοντα και αρκετά φλέγοντα βιοηθικά ζητήματα όπως η χρήση πειραματόζων, η πειραματική έρευνα σε ανθρώπινα και μη έμβρυα, η συναίνεση του ασθενούς, καθώς και ο αναλογισμός μιας ενδεχόμενης αναθεώρησης της ήδη θεσπισμένης βιοηθικής δεοντολογίας (Purnell, 2017). Έχουν ήδη εγερθεί σημαντικά βιοηθικά διλήμματα για το εάν θα πρέπει αυτές οι τεχνολογίες να χρησιμοποιούνται για την επέμβαση και την τροποποίηση των ανθρώπινων βλαστικών στοιβάδων (Sheridan, 2015) και γενικότερα της οποιαδήποτε ανθρώπινης κυτταρικής σειράς. Σοβαρότερος ενδοιασμός είναι η πρωτοφανής και μη αναστρέψιμη τροποποίηση των κυττάρων και οι πιθανές επιπτώσεις αυτού στις μεταγενέστερες γενιές (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Το βασικότερο ανεπιχείρημα σε αυτόν τον δισταγμό, είναι ότι με τη θέσπιση της κατάλληλης νομοθεσίας, μπορεί να διαφυλαχθεί η όσο το δυνατόν ασφαλέστερη και υπεύθυνη εφαρμογή τους κατά την έρευνα, χωρίς ανεπιθύμητα αποτελέσματα. Αποκλειστικά και μόνο με εποικοδομητικό διάλογο, σοβαρή νομοθεσία και ευρύτητα πνεύματος μπορεί να γίνει ευρέως αποδεκτή η αξιοποίηση των οργανοειδών στην έρευνα (Bredenoord, et al., 2017). Πράγματι οι βιοηθικοί φραγμοί, καθώς και τεχνικές προκλήσεις δεν επιτρέπουν ακόμη τη μετάβαση εφαρμογής των οργανοειδών από πειραματικές έρευνες σε ανθρώπινες κλινικές μελέτες (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Μπορεί να υπάρχει ελλιπής τεχνογνωσία, όμως οι προοπτικές της εφαρμογής των οργανοειδών συστημάτων είναι πολλά υποσχόμενες και πολύ ενδιαφέρουσες για το άμεσο μέλλον.

10. Μελλοντικές προοπτικές χρήσης οργανοειδών

Εξυπακούεται ότι η εφαρμογή των οργανοειδών μοντέλων επιφυλάσσει πολλά υποσχόμενες και ελπιδοφόρες προοπτικές ανάπτυξης και εξέλιξης της επιστημονικής έρευνας.

10.1 Έρευνα ασθενειών

Από τη στιγμή που μέσω των οργανοειδών είναι εφικτή η μοντελοποίηση ασθενειών (Drost & Clevers, 2017); (Yuki, et al., 2020), οι δυνητικές εφαρμογές τους κατά την έρευνα διαφόρων ασθενειών, όπως για παράδειγμα ο καρκίνος, διάφορες νευρολογικές ή νευροψυχιατρικές ασθένειες και αυτοάνοσα νοσήματα,

λόγου χάρη η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Χασιμότο, είναι πολυάριθμες (Xiao, et al., 2021); (Yang, et al., 2020). Τα οργανοειδή, και ιδιαίτερα τα iPSCs, έχουν την ικανότητα ανάπτυξης και εμφάνισης πλήρους και ακριβούς αντιστοίχησης ανάμεσα σε αυτά και στα κύτταρα του ασθενούς. Λογικό επακόλουθο αυτών είναι η ενδεχόμενη ανάπτυξη εξατομικευμένων κυτταρικών μοντέλων που θα επιτρέπουν τη μελέτη της ασθένειας σε ένα πολύ πιο ειδικό επίπεδο ως προς το ίδιο νόσημα ακόμα και ως προς τον ασθενή. Η δυνητική παραγωγή αίματος χωρίς λευχαιμικά κύτταρα ή νευρώνων που θα μπορούσαν να μεταμοσχευθούν σε λευχαιμικούς ή νευρολογικούς ασθενείς αντίστοιχα, είναι πέραν από κάθε φαντασία αλλά μέσα στα πλαίσια του εφικτού στο εγγύς μέλλον (Hockemeyer & Jaenisch, 2016).

10.2 Ταχύτερη διάγνωση και προληπτική ιατρική

Φυσική απόρροια της επιτυχούς μοντελοποίησης των ασθενειών ή μιας ενδεχόμενης οπτικοποίησης και ανακατασκευής ενός ολόκληρου οργάνου είναι η σαφέστερη και γρηγορότερη διάγνωση του εκάστοτε νοσήματος που διερευνάται (Xiao, et al., 2021). Μέσω της οπτικοποίησης της πάσχουσας περιοχής, καθίσταται πολύ εύκολο να σημειωθεί ακριβώς που βρίσκεται η παθογένεια πάνω στο όργανο *in vitro* και αυτές οι γνώσεις μπορούν να μεταφερθούν *in vivo*. Μια εξαιρετικά χρήσιμη εφαρμογή για τους εν δυνάμει μελλοντικούς ασθενείς που παρουσιάζουν οικογενειακό ιστορικό διαφόρων κληρονομικών και μη ασθενειών, για παράδειγμα ο καρκίνος και η θυρεοειδίτιδα Χασιμότο (Xiao, et al., 2021); (Lagoutte, et al., 2020); (Yang, et al., 2020). Ανακεφαλαιώνοντας, είναι ολοφάνερες οι προσεχείς εφαρμογές των οργανοειδών κατά τη διάγνωση των ασθενειών και συνεπώς η συνδρομή τους στην προληπτική ιατρική.

10.3 Μελέτη των ζωϊκών μοντέλων

Άλλη μια ανερχόμενη αξιοποίηση είναι η μελέτη των ζωϊκών μοντέλων μέσω των οργανοειδών συστημάτων (Post, et al., 2020). Τα σημαντικότερα, δημοφιλέστερα και πιο ευρέως γνωστά ζωϊκά μοντέλα είναι από ζώα όπως τα τρωκτικά (Farin, et al., 2014); (Yui, et al., 2012); (Huch, et al., 2013), τα αμφίβια και τα εκτρεφόμενα ζώα λόγω τα βοοειδή, οι χοίροι, οι όρνιθες, τα πρόβατα και αιγοειδή (Seeger, 2020). Έχουν υπάρξει ακόμα αναφορές και σε μελέτες του δηλητηριώδους αδένος φιδιών (Post, et al., 2020). Κύριος στόχος είναι η μελέτη της φυσιολογίας και

ιστολογίας των ζωϊκών μοντέλων με σκοπό την καλύτερη κατανόηση τους και την εφαρμογή αυτών των γνώσεων σε διάφορους τομείς όπως η παραγωγή και η κατανάλωση ζωϊκών προϊόντων (Finot, et al., 2021); (Seeger, 2020). Έχει αναφερθεί ότι προς το παρόν έχουν διεξαχθεί πάρα πολύ λίγες μελέτες με οργανοειδή μαστικού αδένα οικόσιπων ζώων, ιδιαίτερα από μηρυκαστικά ζώα. Μέσω αυτών των ερευνών επιδιώκεται η καλύτερη μελέτη της διαδικασίας παραγωγής γάλακτος και η κατά συνέπεια βελτίωση της διαδικασίας αυτής σε ζωϊκό επίπεδο. Με τελική προσδοκία την εξασφάλιση της ποιότητας και της ασφάλειας των παραγόμενων προϊόντων προς κατανάλωση (Finot, et al., 2021). Τα ζωϊκά μοντέλα χρησιμοποιούνται, ακόμη σε πολύ πρώιμα στάδια, για τη μελέτη των ζωνοσών και των ζωνοσογόνων παραγόντων που τις προκαλούν (Seeger, 2020). Με αυτές τις ανερχόμενες μελέτες θα επιτευχθεί η πλήρης κατανόηση των παθολογιών και των νοσογόνων παραγόντων που προκαλούν διάφορες ασθένειες στον άνθρωπο κατά την επαφή του με τα ζώα ή κατά την κατανάλωση κάποιου ζωϊκού προϊόντος.

Η μελέτη των ζωϊκών μοντέλων είναι προφανές ότι απλά προσφέρει τα γνωστικά εργαλεία για καλύτερη κατανόηση της φυσιολογίας και της λειτουργίας των ζωϊκών οργανισμών (Finot, et al., 2021). Δεν επαρκούν μόνο αυτά τα μοντέλα για την εν τω βάθει έρευνα που ενδεχομένως μελλοντικά μπορεί να εφαρμοστεί στη ζωολογία, καθώς και στην κτηνιατρική. Χρειάζεται να δημιουργηθούν πρώτα ειδικά κυτταρικά μοντέλα που θα αφορούν ένα συγκεκριμένο είδος που πρόκειται να μελετηθεί. Με άλλα λόγια, είναι αναγκαία η ανάπτυξη εξειδικευμένων οργανοειδών ανάλογα με το είδος του ζώου στο οποίο εμφανίζεται ερευνητικό ενδιαφέρον. Συνοψίζοντας, η αξιοποίηση των εξειδικευμένων οργανοειδών συστημάτων θα μπορούσε κάλλιστα να εφαρμοστεί στο άμεσο μέλλον κατά τη ζωολογική ή ακόμα και κατά την κτηνιατρική έρευνα (Seeger, 2020).

Από βιοηθική σκοπιά τα οργανοειδή μοντέλα μπορούν να θεωρηθούν ως η πολυαναμενόμενη απάντηση για τη μείωση ή και την πιθανή αντικατάσταση των δοκιμών σε ζώα, καθώς και των πειραματισμών σε ανθρώπινα και μη έμβρυα (Bredenoord, et al., 2017). Πλέον τα οργανοειδή αξιοποιούνται σε συνδυασμό με τα ζωϊκά μοντέλα και άλλες συμβατικές μεθόδους, όπως για παράδειγμα οι 2D καλλιέργειες. Εντούτοις, με την πάροδο του χρόνου και με την εξέλιξη της τεχνολογίας και της αξιοπιστίας τους θα μπορούσαν αναμφίβολα να μειώσουν την επιτακτική ανάγκη χρήσης πειραματόζων κατά τις ερευνητικές μελέτες. Ιδανικό

θα ήταν, η τεχνολογία των οργανοειδών συστημάτων να φτάσει σε τέτοιο σημείο ώστε να εξαλείψει ολοκληρωτικά τη χρήση των ζωικών μοντέλων (Seeger, 2020); (Bredenoord, et al., 2017); (Finot, et al., 2021). Κάτι τέτοιο αποδεικνύεται αρκετά δύσκολο όμως, εξαιτίας της πολυπλοκότητας και απροβλεψιμότητας διάφορων νοσημάτων. Ειδικά, οι πολυσυστηματικές παθήσεις και τα αυτοάνοσα νοσήματα, που προσβάλλουν ταυτόχρονα πολλαπλά όργανα ή συστήματα οργάνων, συνήθως απαιτούν τη μελέτη τους σε ολόκληρο τον οργανισμό. Η συνέπεια αυτού είναι αναγκαία η χρήση των ζωικών μοντέλων. Άλλα παραδείγματα είναι η εξασθένηση οργάνων κατά τον καρκίνο και οι περίπλοκες αλληλεπιδράσεις του εντερικού μικροβιώματος, του παγκρέατος και του παρασυμπαθητικού νευρικού συστήματος κατά την παχυσαρκία. Επομένως, καθίσταται σχεδόν απίθανη η πλήρης αντικατάσταση των ζωικών μοντέλων (Bredenoord, et al., 2017). Απεναντίας, η θέσπιση και η καθιέρωση των οργανοειδών ως κύρια και προτιμώμενη τεχνική μελέτης των ζώων θα συνείσφερε σημαντικά στην αντικατάσταση ή στη μείωση της αλόγιστης πειραματικής μελέτης πάνω σε αυτά, σύμφωνα με την προσέγγιση των 3R (RRR), «Αντικατάσταση-Μείωση-Βελτίωση» (Replacement-Reduction-Refinement), που προτάθηκε από τους Russell και Burch (Seeger, 2020); (Hubrecht & Carter, 2019); (Russell & Burch, 1959).

10.4 Τοξικολογία και τοξικολογικές μελέτες φαρμάκων και ουσιών

Αναφέρθηκε παραπάνω το παράδειγμα της ανάπτυξης οργανοειδών από τον δηλητηριώδη αδένα φιδιού (Post, et al., 2020). Εκτός από τη μελέτη της φυσιολογίας του δηλητηριώδους αδένα, βασικός στόχος ήταν και η παραγωγή αντιδότη ενάντια στο δηλητήριο του φιδιού (Post, et al., 2020); (Clyde, 2020). Συνεπώς, είναι προφανείς οι μελλοντικές εφαρμογές των οργανοειδών μοντέλων πάνω στην τοξικολογία. Μια άλλη χρήση τους είναι κατά τις τοξικολογικές μελέτες (Rookmaaker, et al., 2015). Μπορούν να γίνουν τοξικολογικές μελέτες είτε κατά την ανάπτυξη φαρμάκων, με βλέψη την ποσοτικοποίηση της τοξικότητας της φαρμακευτικής ουσίας που διερευνάται (Rookmaaker, et al., 2015), είτε κατά την έρευνα μέτρησης της επίδρασης τοξικών ουσιών, λόγω χάρη οι τοξίνες (Finot, et al., 2021). Το 2013, αναφέρθηκε από τους ερευνητές η περίπτωση τοξικολογικής έρευνας, πάνω σε οργανοειδή μαστικών επιθηλιακών κυττάρων βοοειδών, με επιδίωξη τη μέτρηση της επίδρασης και της κυτταροτοξικότητας της τοξίνης αφλατοξίνης B1. Η αφλατοξίνη B1 είναι ένα είδος δηλητηριώδους μυκοτοξίνης

(τοξίνη που παράγεται από τους μύκητες), που προκαλεί καρκινογεννήσεις και μεταλλάξεις στο γονιδίωμα των προσβαλλόμενων κυττάρων (Finot, et al., 2021); (Forouharmehr, et al., 2013). Ανακεφαλαιώνοντας, είναι εξαιρετικά σημαντική η συμβολή των μοντέλων οργανοειδών κατά την τοξικολογία και ιδιαίτερα κατά τη μελέτη της άμεσης επίδρασης των φαρμάκων ή των τοξικών ουσιών, όπως για παράδειγμα η αφλατοξίνη B1, πάνω στα κύτταρα-στόχους (target cells) (Finot, et al., 2021).

10.5 Ανάπτυξη φαρμάκων και θεραπειών

Εκτός από τις τοξικολογικές μελέτες, μπορούν να αξιοποιηθούν τα οργανοειδή και κατά τις μελέτες ανάπτυξης φαρμάκων και θεραπειών (Rookmaaker, et al., 2015), ακόμα και εμβολίων (Yang, et al., 2020); (Elbadawi & Efferth, 2020). Στο προσεχές μέλλον θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν οργανοειδή, προερχόμενα από επαγόμενα βλαστικά κύτταρα (iPSCs), για την προσπάθεια ανακάλυψης εξατομικευμένων φαρμάκων ως προς τον ασθενή (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Το 2020 προτάθηκε από τους Elbadawi και Efferth η χρήση των οργανοειδών συστημάτων για τον έλεγχο των φαρμάκων, και κατά συνέχεια των εμβολίων, έναντι του ιού SARS-CoV-2 (Elbadawi & Efferth, 2020). Άλλη μια ανερχόμενη αξιοποίηση τους είναι κατά την ενδεχόμενη ανάπτυξη γονιδιακής θεραπείας μονογονιδιακών ασθενειών όπως η κυστική ίνωση. Η εφαρμογή αυτή δεν έχει αξιοποιηθεί ακόμη σε κλινικές δοκιμές αλλά είναι μια επίδοξη και πρωτοποριακή προσέγγιση (Driehuis & Clevers, 2017).

10.6 Γονιδιωματική τροποποίηση και OMICs

Αναμφίβολα, η συμβολή των συστημάτων οργανοειδών είναι εξαιρετικά υποσχόμενη κατά τη γονιδιωματική τροποποίηση (gene editing); (Corrò, et al., 2020); (Hockemeyer & Jaenisch, 2016), καθώς και στον τομέα των OMICs, κυρίως για τη γενωμική, τη μεταγραφωμική και την επιγονιδιωματική (Corrò, et al., 2020); (Subramanian, et al., 2020). Και οι δύο τομείς είναι εξίσου ανερχόμενοι και ιδιαίτερα μεγάλου επιστημονικού ενδιαφέροντος. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα της διόρθωσης μιας μετάλλαξης στο γονίδιο CFTR της κυστικής ίνωσης σε οργανοειδή εντέρου μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού με την τεχνική CRISPR/Cas9 (Schwank, et al., 2013). Ο συνδυασμός της γονιδιωματικής

τροποποίησης και των οργανοειδών συστημάτων φαίνεται ότι θα αποτελέσει το μέσο για την ανάπτυξη γονιδιακών θεραπειών στο επικείμενο μέλλον (Schwank, et al., 2013); (Bredenoord, et al., 2017). Αναμφισβήτητα, με τη συνδυαστική χρήση αυτών των δύο μεθόδων, παρουσιάζονται και κάποιοι βιοηθικοί φραγμοί σχετικά με το κατά πόσο είναι επιτρεπτή και επιθυμητή η ανθρώπινη παρέμβαση στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Σημαντικότεροι φόβοι είναι η εκτέλεση μιας πιθανώς μη αντιστρέψιμης τροποποίησης και οι επακόλουθες επιπτώσεις που θα προκληθούν από αυτήν την ενέργεια (Hockemeyer & Jaenisch, 2016).

10.7 Αναγεννητική ιατρική

Η συμβολή των οργανοειδών μοντέλων είναι ξεκάθαρη όσον αφορά την αναγεννητική ιατρική. Με την πάροδο του χρόνου και την εξέλιξη της τεχνογνωσίας, χωρίς αμφιβολία θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν τα οργανοειδή συστήματα και σε κλινικό επίπεδο, διότι ακόμη αυτή η τεχνολογία βρίσκεται σε πειραματικό στάδιο. Ωστόσο, οι επικείμενες εφαρμογές τους είναι κάτι παραπάνω από συναρπαστικές. Υποστηρίζεται ότι τα οργανοειδή αποτελούν εργαλείο αποκατάστασης παθολογικών ιστών (Drost & Clevers, 2017) και δημιουργίας μοσχευμάτων από τον ίδιο τον ασθενή (Xu, et al., 2018). Αντιπροσωπευτικό παράδειγμα αποτελεί η *in vitro* δημιουργία δερματικών οργανοειδών που επετεύχθη το 2020 από τον Lee και τους συνεργάτες του (Lee, et al., 2020). Ενδεχομένως στο μέλλον να υπάρχουν εξειδικευμένες και προσωποποιημένες βιοτράπεζες όπου κάθε άτομο θα έχει μια ιδιωτική σειρά πλειοδύναμων βλαστοκυττάρων (iPSCs) η οποία θα δρα ως εκμαγείο αντικατάστασης των δυνητικά κατεστραμμένων ιστών του ασθενούς (Hockemeyer & Jaenisch, 2016).

10.8 Εξατομικευμένη ιατρική

Ασφαλώς οι εξελισσόμενες προοπτικές δε σταματούν μόνο στην αναγεννητική ιατρική. Η εξατομικευμένη ιατρική, αλλιώς γνωστή και ως ιατρική ακριβείας θα μπορούσε επίσης να επωφεληθεί από την αξιοποίηση των οργανοειδών στο εγγύς μέλλον (Drost & Clevers, 2017). Χρησιμοποιώντας οργανοειδή προερχόμενα από ενήλικα βλαστοκύτταρα θα ήταν δυνατή η δημιουργία και επομένως η μελέτη του εξατομικευμένου προφίλ του εκάστοτε ασθενούς (Corrò, et al., 2020). Κατά

συνέπεια, η ανάπτυξη φαρμάκων ειδικών πια προς τον ασθενή, και όχι απλά προς μια γενικευμένη ασθένεια, θα μπορούσε να είναι εφικτή.

10.9 Εξειδικευμένες βιοτράπεζες

Έγινε προηγουμένως αναφορά στην πιθανότητα ανάπτυξης εξειδικευμένων βιοτραπεζών (biobank). Ο βασικός ρόλος τους θα είναι η αποθήκευση των ειδικών κυτταρικών σειρών επαγόμενων βλαστοκυττάρων που θα είναι συγκεκριμένες ως προς τον ασθενή ή την εκάστοτε ασθένεια που είναι επιθυμητό να διερευνηθεί (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Συνοψίζοντας, είναι ολοφάνερη η συμβολή των βιοτραπεζών στη μοντελοποίηση ασθενειών, στις μελέτες ανάπτυξης φαρμάκων, στην αναγεννητική, καθώς και στην εξατομικευμένη ιατρική.

11. Επίλογος

Τα οργανοειδή με την πάροδο του χρόνου έχουν εξελιχθεί και συνεισφέρει στην έρευνα σε μεγάλο βαθμό. Είναι πολύ καλό εργαλείο για την αναπτυξιακή βιολογία, τη φαρμακολογία (Rookmaaker, et al., 2015) και τη μελέτη ασθενειών (Drost & Clevers, 2017). Βοηθούν στην κατανόηση κυτταρικών μηχανισμών και σηματοδοτικών μονοπατιών που διέπουν την οργανογένεση και την επικοινωνία των κυττάρων βελτιώνοντας συνεχώς τις γνώσεις που είναι διαθέσιμες για τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού (Elbadawi & Efferth, 2020); (Leslie & Young, 2016). Επιπλέον, με τα οργανοειδή μπορούν να μελετηθούν οι ασθένειες προκειμένου να κατανοηθεί η παθοφυσιολογία, να βρεθούν οι αιτίες που τις προκαλούν και οι δυνητικές μεταλλάξεις στα γονίδια (Drost & Clevers, 2017); (Srikanth, et al., 2018). Και εφόσον αποσαφηνιστούν οι αιτίες μπορούν να σχεδιαστούν και να δοκιμαστούν πιθανές θεραπείες. Μια ακόμα πολύ σημαντική χρήση τους στην εφαρμοσμένη έρευνα είναι ο έλεγχος της απόδοσης της τοξικότητας φαρμάκων και ουσιών προστατεύοντας τον ασθενή από ενδεχόμενες αλλεργικές αντιδράσεις (Rookmaaker, et al., 2015). Όσον αφορά τις χρήσεις των οργανοειδών στην αναγεννητική ιατρική, στη γονιδιακή επιδιόρθωση και στην ιατρική ακριβείας μπορεί να βρίσκονται σε πειραματικό στάδιο ακόμη, ωστόσο στο μέλλον η εφαρμογή τους θα επιλύσει πολλαπλά προβλήματα, όπως την εύρεση θεραπείας για τις μονογονιδιακές ασθένειες (Drost & Clevers, 2017); (Driehuis & Clevers, 2017).

Όπως όλα τα *in vitro* συστήματα, τα οργανοειδή δεν αναπαριστούν πλήρως τις *in vivo* συνθήκες (Rookmaaker, et al., 2015); (Bredenoord, et al., 2017). Καθώς η τεχνολογία εξελίσσεται, αποτελεί πρόκληση η εύρεση τρόπων με τους οποίους θα βελτιωθούν τα συστήματα καλλιέργειας των οργανοειδών, με την ενσωμάτωση αιματικής ροής ή μεσεγγυματικής υποστήριξης στα ίδια τα οργανοειδή. Μέσω της μηχανικής επεξεργασίας των οργανοειδών (bioengineering), μπορούν να αναπρογραμματιστούν τα κύτταρα και να ελεγχθεί η διαφοροποίηση και η αυτοανανέωση τους, προκειμένου να μην προκύπτουν ανεπιθύμητα συμβάντα, όπως η δημιουργία τερατωμάτων, όπως συμβαίνει μέχρι και σήμερα (Yin, et al., 2016).

Οι μελλοντικές προοπτικές οι οποίες προσφέρονται μέσω της αξιοποίησης των οργανοειδών περιλαμβάνουν την ταχύτερη διάγνωση ασθενειών (Xiao, et al., 2021), τη μελέτη των ζωικών μοντέλων (Post, et al., 2020), τις τοξικολογικές μελέτες φαρμάκων (Corrò, et al., 2020); (Rookmaaker, et al., 2015), την προσπάθεια εύρεσης και ανάπτυξης είτε αντιδότην (Clyde, 2020); (Post, et al., 2020) είτε γενικότερα θεραπειών σε ασθένειες, όπως ο καρκίνος, οι νευρολογικές παθήσεις (Yang, et al., 2020); (Hockemeyer & Jaenisch, 2016) ακόμα και οι αυτοάνοσες ασθένειες, όπως η θυρεοειδίτιδα Χασιμότο (Xiao, et al., 2021). Επιπρόσθετα, είναι εφικτό πια να αναπτύσσονται δερματικά μοσχεύματα από οργανοειδή εξ ολοκλήρου *in vitro* (Lee, et al., 2020). Συνεπακόλουθο αυτού, είναι ότι με την πάροδο του χρόνου και την εξέλιξη της τεχνογνωσίας, θα μπορούσε να επιτευχθεί η μεταμόσχευση αυτών των δερματικών τρισδιάστατων δομών σε ανθρώπους. Είναι λοιπόν εμφανής η συμβολή των οργανοειδών συστημάτων στην αναγεννητική ιατρική. Καταληκτικά, άλλη μια εφαρμογή, που θα μπορούσε να είναι ενδιαφέρουσα στο εγγύς μέλλον, είναι κατά την ιατρική ακριβείας. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε με την ανάπτυξη και τη μελέτη του μοναδικού προφίλ του ασθενούς είτε με τη δυννητική εύρεση ειδικών και εξατομικευμένων φαρμάκων, ανά το κάθε περιστατικό και όχι ανά το εκάστοτε νόσημα (Drost & Clevers, 2017); (Corrò, et al., 2020); (Hockemeyer & Jaenisch, 2016).

Εξυπακούεται ότι τα οργανοειδή θα αποτελέσουν ένα ζήτημα που θα απασχολήσει τους επιστήμονες στο προσεχές μέλλον, λόγω των ευρέων προτερημάτων που προσφέρουν και των βιοηθικών ερωτημάτων που εγείρονται κατά την αξιοποίησή τους. Βεβαίως, με την κατάλληλη νομοθεσία μπορεί να

περιοριστεί σημαντικά η αλόγιστη χρήση πειραματόζων και η προτίμηση τους ένα βασικό ερευνητικό πρωτόκολλο (Seeger, 2020); (Bredenoord, et al., 2017); (Finot, et al., 2021). Αυτό θα βοηθούσε σημαντικά στη θέσπιση των οργανοειδών συστημάτων ως την κύρια μέθοδο έρευνας (Wang, et al., 2013). Η πλήρης αντικατάσταση των πειραματισμών σε ζώα θεωρείται σχεδόν αδύνατη, αλλά η σημαντική μείωση της θα ήταν κάτι παραπάνω από αξιοσημείωτη (Bredenoord, et al., 2017). Τα οργανοειδή συνιστούν μια λιγότερο επεμβατική προοπτική στην έρευνα και αποτελούν το σκαλοπάτι για την περαιτέρω εξέλιξη της.

Εν κατακλείδι, είναι πλέον πασιφανές το γεγονός ότι η αξιοποίηση των οργανοειδών θα αποτελέσει αναπόσπαστο κομμάτι της έρευνας από εδώ και εφεξής. Τα πλεονεκτήματα υπερτερούν των μειονεκτημάτων και οι βιοηθικές προκλήσεις μπορούν να ξεπεραστούν μόνο με εποικοδομητικό διάλογο και με τη θέσπιση μιας άρτιας και αμερόληπτης νομοθεσίας (Bredenoord, et al., 2017); (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Πρωταρχικός ρόλος αυτής θα είναι να προστατεύει την έρευνα και την εξέλιξη της. Ταυτόχρονα, θα εποπτεύει τη χρήση των συστημάτων των οργανοειδών και θα υπαγορεύει αυστηρά πρωτόκολλα ασφαλείας, με σκοπό την αποφυγή ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων, που μπορεί να έχουν αρνητικό αντίκτυπο στις μελλοντικές γενιές (Hockemeyer & Jaenisch, 2016). Με προϋπόθεση τη συνετή αξιοποίηση των οργανοειδών, οι ανερχόμενες δυνατότητες τους μοιάζουν ατελείωτες και τα οφέλη που προσφέρουν στην έρευνα δείχνουν να είναι απέραντα.

12. Βιβλιογραφία

- Artegiani, B. και συν., 2020. Fast and efficient generation of knock-in human organoids using homology-independent CRISPR-Cas9 precision genome editing (φωτογραφία εξωφύλλου). *Nature Cell Biology*, 22(3), p. 325.
- Baktash, Y., Madhav, A., Coller, K. E. & Randall, G., 2018. Single Particle Imaging of Polarized Hepatoma Organoids upon Hepatitis C Virus Infection Reveals an Ordered and Sequential Entry Process. *Cell Host Microbe*, 23(3), pp. 382-394.
- Barkauskas, C. και συν., 2017. Lung organoids: current uses and future promise. *Development*, 144(6), pp. 986-997.
- Barker, N. και συν., 2010. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro. *Cell Stem Cell*, 6(1), pp. 25-36.
- Barrangou, R., 2015. The roles of CRISPR-Cas systems in adaptive immunity and beyond. *Current Opinion in Immunology*, Τόμος 32, pp. 36-41.
- Barrangou, R. και συν., 2007. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, 315(5819), pp. 1709-12.
- Bartfeld, S. & Clevers, H., 2017. Stem cell-derived organoids and their application for medical research and patient treatment. *Journal of molecular medicine*, 95(7), pp. 729-738.
- Basil, M. και συν., 2022. Human distal airways contain a multipotent secretory cell that can regenerate alveoli. *Nature*, 604(7904), pp. 120-126.
- Behjati, S. και συν., 2014. Genome sequencing of normal cells reveals developmental lineages and mutational processes. *Nature*, 513(7518), p. 422.
- Bigorgne, A. και συν., 2014. TTC7A mutations disrupt intestinal epithelial apicobasal polarity. *The Journal of clinical investigation*, 124(1), pp. 328-37.
- Boj, S. και συν., 2015. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer. *Cell*, 160(1-2), pp. 324-38.
- Boretto, M. και συν., 2017. Development of organoids from mouse and human endometrium showing endometrial epithelium physiology and long-term expandability. *Development*, 144(10), pp. 1775-1786.
- Bowling, A., 2014. *Μεθοδολογία έρευνας στην υγεία, μελέτη της υγείας και των υπηρεσιών υγείας*. 1η Έκδοση επιμ. Λευκωσία: Broken Hill Publishers.
- Bredenoord, A., Clevers, H. & Knoblich, J., 2017. Human tissues in a dish: The research and ethical implications of organoid technology. *Science*, 355(6322), p. eaaf9414.
- Broutier, L. και συν., 2017. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening. *Nature medicine*, 23(12), p. 1424.
- Clevers, H., 2016. Modeling Development and Disease with Organoids. *Cell*, 165(7), pp. 1586-1597.

- Clyde, D., 2020. Omics and organoids - a route to improved anti-venom. *Nature Reviews Genetics*, 21(3), p. 133.
- Corrò, C., Novellasademunt, L. & Li, V., 2020. A brief history of organoids. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 319(1), pp. C151-C165.
- Costales-Carrera, A. και συν., 2020. ComparatStudy of Organoids from Patient-Derived Normal and Tumor Colon and Rectal Tissue. *Cancers*, 12(8), p. 2302.
- Cunniff, B., Druso, J. & van der Velden, J., 2021. Lung organoids: advances in generation and 3D-visualization. *Histochemistry and Cell Biology*, 155(2), pp. 301-308.
- Cutting, G., 2015. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nature Reviews Genetics*, 16(1), pp. 45-56.
- Daghero, H. και συν., 2022. Jejunum-derived NF-κB reporter organoids as 3D models for the study of TNF-alpha-induced inflammation. *Scientific Reports*, 12(1), p. 14425.
- Dilly, A. και συν., 2020. Rational application of targeted therapeutics in mucinous colon/appendix cancers with positive predictive factors. *Cancer Medicine*, 9(5), pp. 1753-1767.
- Doudna, J. & Charpentier, E., 2014. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*, 346(6213), p. 1258096.
- Doyle, A., McGarry, M., Lee, N. & Lee, J., 2012. The construction of transgenic and gene knockout/knockin mouse models of human disease. *Transgenic Research*, 21(2), pp. 327-49.
- Drake, R., Vogl, W. & Mitchell, A., 2006. *Gray's Ανατομία 1,2*. 2η Έκδοση επιμ. Λευκωσία: Broken Hill Publishers.
- Driehuis, E. & Clevers, H., 2017. CRISPR/Cas 9 genome editing and its applications in organoids. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 312(3), pp. G257-G265.
- Drost, J. & Clevers, H., 2017. Translational applications of adult stem cell-derived organoids. *Development*, 144(6), pp. 968-975.
- Dutta, D., Heo, I. & Clevers, H., 2017. Disease modeling in stem cell-derived 3D organoid systems. *Trends in molecular medicine*, 23(5), pp. 393-410.
- Eiraku, M. και συν., 2008. Self-organized formation of polarized cortical tissues from ESCs and its active manipulation by extrinsic signals. *Cell Stem Cell*, 3(5), pp. 519-32.
- Elbadawi, M. & Efferth, T., 2020. Organoids of human airways to study infectivity and cytopathy of SARS-CoV-2. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(7), pp. e55-e56.

- Ellaway, R. & Hecker, K., 2022. What role does basic research have in an applied field?. *Advances in Health Sciences Education: Theory and Practice*, 27(2), pp. 289-292.
- Ertürk, A. και συν., 2012. Three-dimensional imaging of solvent-cleared organs using 3DISCO. *Nature Protocols*, 7(11), pp. 1983-95.
- Farin, H. και συν., 2014. Paneth cell extrusion and release of antimicrobial products is directly controlled by immune cell-derived IFN- γ . *Journal of Experimental Medicine*, 211(7), pp. 1393-1405.
- Finot, L., Chanat, E. & Dessauge, F., 2021. Mammary gland 3D cell culture systems in farm animals. *Veterinary Research*, 52(1), p. 78.
- Forouharmehr, A., Harkinezhad, T. & Qasemi-Panahi, B., 2013. Effect of Aflatoxin B1 on Growth of Bovine Mammary Epithelial Cells in 3D and Monolayer Culture System. *Advanced Pharmaceutical Bulletin (APB)*, 3(1), pp. 143-6.
- Fujii, M. και συν., 2016. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis. *Cell Stem Cell*, 18(6), pp. 827-838.
- Gao, D. και συν., 2014. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer. *Cell*, 159(1), pp. 176-187.
- Gao, Y. & Pun, J., 2021. Differentiation and Application of Human Pluripotent Stem Cells Derived Cardiovascular Cells for Treatment of Heart Diseases: Promises and Challenges. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, Τόμος 9, p. 658088.
- Greggio, C. και συν., 2013. Artificial three-dimensional niches deconstruct pancreas development in vitro. *Development*, 140(21), pp. 4452-62.
- Hockemeyer, D. & Jaenisch, R., 2016. Induced Pluripotent Stem Cells Meet Genome Editing. *Cell Stem Cell*, 18(5), pp. 573-86.
- Hubrecht, R. & Carter, E., 2019. The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change. *Animals*, 9(10), p. 754.
- Huch, M. και συν., 2013. Unlimited in vitro expansion of adult bi-potent pancreas progenitors through the Lgr5/R-spondin axis. *European Molecular Biology Organization (EMBO)*, 32(20), pp. 2708-21.
- Huch, M. και συν., 2013. In vitro expansion of single Lgr5+ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration. *Nature*, 494(7436), pp. 247-50.
- Huch, M. και συν., 2015. Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver. *Cell*, 160(1), pp. 299-312.
- Ishii, K., 1966. Reconstruction of dissociated chick brain cells in rotation-mediated culture. *Cytologia*, 31(1), pp. 89-98.
- Jeziorski, J. και συν., 2023. Brain organoids, consciousness, ethics and moral status. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, Τόμος 144, pp. 97-102.

- Jung, P. και συν., 2011. Isolation and in vitro expansion of human colonic stem cells. *Nature Medicine*, 17(10), pp. 1225-7.
- Kim, H., Kamm, R., Vunjak-Novakovic, G. & Wu, J., 2022. Progress in multicellular human cardiac organoids for clinical applications. *Cell Stem Cell*, 29(4), pp. 503-514.
- Kim, J., Koo, B. & Knoblich, J., 2020. Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Τόμος 7, pp. 1-14.
- Klotz, C., Aebischer, T. & Seeber, F., 2012. Stem cell-derived cell cultures and organoids for protozoan parasite propagation and studying host-parasite interaction. *International Journal of Medical Microbiology*, 302(4-5), pp. 203-209.
- Korinek, V. και συν., 1998. Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4. *Nature Genetics*, 9(4), pp. 379-83.
- Kretschmar, K. & Clevers, H., 2016. Organoids: Modeling Development and the Stem Cell Niche in a Dish. *Developmental cell*, 38(6), pp. 590-600.
- Lagoutte, E. και συν., 2020. A new pipeline for pathophysiological analysis of the mammary gland based on organoid transplantation and organ clearing. *Journal of Cell Science*, 133(12), p. jcs242495.
- Lambrou, G. & Remboutsika, E., 2014. Proliferation versus regeneration: the good, the bad and the ugly. *Frontiers in Physiology*, Τόμος 5, p. 10.
- Lancaster, M. και συν., 2013. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature*, 501(7467), pp. 373-9.
- Lee, J. και συν., 2014. Lung stem cell differentiation in mice directed by endothelial cells via a BMP4-NFATc1-thrombospondin-1 axis. *Cell*, 156(3), pp. 440-55.
- Lee, J. και συν., 2020. Hair-bearing human skin generated entirely from pluripotent stem cells. *Nature*, 582(7812), pp. 399-404.
- Lee, S. και συν., 2018. Tumor evolution and drug response in patient-derived organoid models of bladder cancer. *Cell*, 173(2), pp. 515-528.
- Lee, S. και συν., 2022. Generation of human iPSCs derived heart organoids structurally and functionally similar to heart. *Biomaterials*, Τόμος 290, p. 121860.
- Leslie, J. & Young, V., 2016. A whole new ball game: Stem cell-derived epithelia in the study of host-microbe interactions. *Anaerobe*, Τόμος 37, pp. 25-8.
- Li, M. και συν., 1987. Influence of a reconstituted basement membrane and its components on casein gene expression and secretion in mouse mammary epithelial cells.. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 84(1), p. 136–140.
- Mandalos, N. και συν., 2023. Craniofacial Development Is Fine-Tuned by Sox2. *Genes*, 14(2), p. 380.

- Martin, G., 1981. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 78(12), pp. 7634-8.
- Mazzocchi, A., Dominijanni, A. & Soker, S., 2022. Pleural Effusion Aspirate for Use in 3D Lung Cancer Modeling and Chemotherapy Screening. *Methods in Molecular Biology*, Τόμος 2394, pp. 471-483.
- McGranahan, N. & Swanton, C., 2015. Biological and therapeutic impact of intratumor heterogeneity in cancer evolution. *Cancer cell*, 27(1), pp. 15-26.
- Middendorp, S. και συν., 2014. Adult stem cells in the small intestine are intrinsically programmed with their location-specific function. *Stem Cells*, 32(5), pp. 1083-91.
- Miller, A. και συν., 2019. Generation of lung organoids from human pluripotent stem cells in vitro. *Nature Protocols*, 14(2), pp. 518-540.
- Moore, K., Dalley, A. & Agur, A., 2012. *Κλινική Ανατομία*. 2η έκδοση επιμ. Λευκωσία: Broken Hill Publishers.
- Noor, N. και συν., 2019. 3D Printing of Personalized Thick and Perfusable Cardiac Patches and Hearts. *Advanced Science*, 6(11), p. 1900344.
- Nozaki, K. και συν., 2016. Co-culture with intestinal epithelial organoids allows efficient expansion and motility analysis of intraepithelial lymphocytes. *Journal of gastroenterology*, 51(3), pp. 206-213.
- Pan, C. και συν., 2016. Shrinkage-mediated imaging of entire organs and organisms using uDISCO. *Nature Methods*, 13(10), pp. 859-67.
- Patel, N. & Birla, R., 2018. The Bioengineered Cardiac Left Ventricle. *American Society for Artificial Internal Organs (ASAIO)*, 64(1), pp. 56-62.
- Piel, G., 1954. Science and the Next Fifty Years. *Bulletin of the Atomic Scientists*, 10(1), pp. 17-20.
- Post, Y. και συν., 2020. Snake Venom Gland Organoids. *Cell*, 180(2), pp. 233-247.
- Purnell, B., 2017. Ethics of organoid research. *Science*, 355(6322), pp. 257-259.
- Qian, X. και συν., 2017. Using brain organoids to understand Zika virus-induced microcephaly. *Development*, Τόμος 144, pp. 952-957.
- Remboutsika, E. και συν., 2011. Flexibility of neural stem cells. *Frontiers in Physiology*, Τόμος 2, p. 16.
- Reynolds, B. & Weiss, S., 1992. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*, 255(5052), pp. 1707-10.
- Richardson, D. και συν., 2021. Tissue Clearing. *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1), p. 84.

- Rimnac, C. & Leopold, S., 2014. Editorial: Basic Science, Applied Science, and Product Testing. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 472(8), pp. 2311-2.
- Roll-Hansen, N., 2017. A Historical Perspective on the Distinction Between Basic and Applied Science. *Journal for General Philosophy of Science*, 48(4), p. 535–551.
- Rookmaaker, M., Schutgens, F., Verhaar, M. & Clevers, H., 2015. Development and application of human adult stem or progenitor cell organoids. *Nature Reviews Nephrology*, 11(9), p. 546.
- Russell, W. & Burch, R., 1959. *The Principles of Humane Experimental Technique*. Λονδίνο: Methuen και συν.
- Sachs, N. και συν., 2018. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity. *Cell*, 172(1-2), pp. 373-386.
- Saorin, G., Caligiuri, I. & Rizzolio, F., 2023. Microfluidic organoids-on-a-chip: The future of human models. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, Τόμος 144, pp. 41-54.
- Sato, T. και συν., 2009. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature*, 459(7244), p. 262.
- Schutgens, F. και συν., 2019. Tubuloids derived from human adult kidney and urine for personalized disease modeling. *Nature Biotechnology*, 37(3), pp. 303-313.
- Schwank, G. και συν., 2013. Generation of BAC transgenic epithelial organoids. *PLoS One*, 8(10), p. e76871.
- Schwank, G. και συν., 2013. Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell*, 13(6), pp. 653-8.
- Seeger, B., 2020. Farm Animal-derived Models of the Intestinal Epithelium: Recent Advances and Future Applications of Intestinal Organoids. *Alternatives to Laboratory Animals (ATLA)*, 48(5-6), pp. 215-233.
- Seino, T. και συν., 2018. Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression. *Cell stem cell*, 22(3), pp. 454-467.
- Shaffi, S. και συν., 2023. The Rapid Development of Airway Organoids: A Direct Culture Strategy. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, p. doi: 10.1007/5584_2023_767.
- Shannon, J., Mason, R. & Jennings, S., 1987. Functional differentiation of alveolar type II epithelial cells in vitro: effects of cell shape, cell-matrix interactions and cell-cell interactions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 931(2), pp. 143-56.
- Sheridan, C., 2015. CRISPR germline editing reverberates through biotech industry. *Nature Biotechnology*, 33(5), pp. 431-2.

- Shkumatov, A., Baek, K. & Kong, H., 2014. Matrix rigidity-modulated cardiovascular organoid formation from embryoid bodies. *PLoS One*, 9(4), p. e94764.
- Smith, E. & Cochrane, W., 1946. Cystic Organoid Teratoma: (Report of a Case). *Canadian Medical Association Journal*, 55(2), p. 151.
- Srikanth, P. και συν., 2018. Shared effects of DISC1 disruption and elevated WNT signaling in human cerebral organoids. *Translational psychiatry*, 8(1), p. 77.
- Stange, D. και συν., 2013. Differentiated Troy+ chief cells act as reserve stem cells to generate all lineages of the stomach epithelium. *Cell*, 155(2), pp. 357-68.
- Steinberg, M., 1964. The Problem of Adhesive Selectivity in Cellular Interactions. Στο: L. M., επιμ. *Cellular Membranes in Development*. First Edition επιμ. Storrs, Connecticut: Academic Press, pp. 321-366.
- Subramanian, I. και συν., 2020. Multi-omics Data Integration, Interpretation, and Its Application. *Bioinformatics and Biology Insights*, Τόμος 14, p. 1177932219899051.
- Sugimoto, S. και συν., 2021. An organoid-based organ-repurposing approach to treat short bowel syndrome. *Nature*, 592(7852), pp. 99-104.
- Taguchi, A. και συν., 2014. Redefining the in vivo origin of metanephric nephron progenitors enables generation of complex kidney structures from pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 14(1), pp. 53-67.
- Takahashi, K. & Yamanaka, S., 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126(4), pp. 663-76.
- Takasato, M. και συν., 2014. Directing human embryonic stem cell differentiation towards a renal lineage generates a self-organizing kidney. *Nature Cell Biology*, 16(1), pp. 118-26.
- Takasato, M. και συν., 2015. Kidney organoids from human iPSC cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis. *Nature*, 526(7574), pp. 564-8.
- Takebe, T. και συν., 2013. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature*, 499(7459), pp. 481-4.
- Theocharis, A., Skandalis, S., Gialeli, C. & Karamanos, N., 2016. Extracellular matrix structure. *Advanced Drug Delivery Reviews*, Τόμος 97, pp. 4-27.
- Thomson, J. και συν., 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 282(5391), pp. 1145-7.
- Tung, T. & Kü, S., 1944. Experimental studies on the development of the pronephric duct in anuran embryos. *Journal of Anatomy*, Τόμος 78, p. 52-57.
- Turco, M. και συν., 2018. Trophoblast organoids as a model for maternal-fetal interactions during human placentation. *Nature*, 564(7735), pp. 263-267.

- van de Wetering, M. και συν., 2015. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell*, 161(4), pp. 933-945.
- van den Brink, S. και συν., 2020. Single-cell and spatial transcriptomics reveal somitogenesis in gastruloids. *Nature*, 582(7812), pp. 405-409.
- van den Brink, S. και συν., 2014. Symmetry breaking, germ layer specification and axial organisation in aggregates of mouse embryonic stem cells. *Development*, 141(22), pp. 4231-42.
- Vlachogiannis, G. και συν., 2018. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*, 359(6378), pp. 920-926.
- Voloh, B., Knoebl, R., Hayden, B. & Zimmermann, J., 2021. Oscillations as a window into neuronal mechanisms underlying dorsal anterior cingulate cortex function. *International Review of Neurobiology*, Τόμος 158, pp. 311-335.
- Wang, H. και συν., 2013. One-step generation of mice carrying mutations in multiple genes by CRISPR/Cas-mediated genome engineering. *Cell*, 153(4), pp. 910-8.
- Watanabe, M. και συν., 2017. Self-organized cerebral organoids with human-specific features predict effective drugs to combat Zika virus infection. *Cell reports*, 21(2), pp. 517-532.
- Weiss, P. & Taylor, A., 1960. Reconstitution of complete organs from single-cell suspensions of chick embryos in advanced stages of differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 46(9), pp. 1177-85.
- Westphal, C. & Leder, P., 1997. Transposon-generated 'knock-out' and 'knock-in' gene-targeting constructs for use in mice. *Current Biology*, 7(7), pp. 530-3.
- Wilson, H., 1907. A new method by which sponges may be artificially reared. *Science*, 25(649), pp. 912-5.
- Wilson, S. και συν., 2015. A small intestinal organoid model of non-invasive enteric pathogen-epithelial cell interactions. *Mucosal immunology*, 8(2), p. 352.
- Wimmer, R. και συν., 2019. Generation of blood vessel organoids from human pluripotent stem cells. *Nature Protocols*, 14(11), pp. 3082-3100.
- Wimmer, R. και συν., 2019. Human blood vessel organoids as a model of diabetic vasculopathy. *Nature*, J565(7740), pp. 505-510.
- Xiao, H. και συν., 2021. Proteomics and Organoid Culture Reveal the Underlying Pathogenesis of Hashimoto's Thyroiditis. *Frontiers in Immunology*, Τόμος 12, p. 784975.
- Xuan, W., Tipparaju, S. & Ashraf, M., 2022. Transformational Applications of Human Cardiac Organoids in Cardiovascular Diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, Τόμος 10, p. 936084.
- Xu, C. και συν., 2001. Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells. *Nature biotechnology*, 19(10), p. 971.

- Xu, H. και συν., 2018. Organoid technology in disease modelling, drug development, personalized treatment and regeneration medicine. *Experimental hematology & oncology*, 7(1), p. 30..
- Yang, Q., Oost, K. & Liberali, P., 2020. Engineering human knock-in organoids. *Nature Cell Biology*, 22(3), pp. 261-263.
- Yin, X. και συν., 2016. Engineering stem cell organoids. *Cell stem cell*, 18(1), pp. 25-38.
- Yui, S. και συν., 2012. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+ stem cell. *Nature medicine*, 18(4), pp. 618-23.
- Yuki, K., Cheng, N., Nakano, M. & Kuo, C., 2020. Organoid Models of Tumor Immunology. *Trends in Immunology*, 41(8), pp. 652-664.
- Zaret, K., 2002. Regulatory phases of early liver development: paradigms of organogenesis. *Nature Reviews Genetics*, 3(7), pp. 499-512.
- Zeevaert, K., Elsaifi Mabrouk, M., Wagner, W. & Goetzke, R., 2020. Cell Mechanics in Embryoid Bodies. *Cells*, 9(10), p. 2270.
- Zhang, F., Wen, Y. & Guo, X., 2014. CRISPR/Cas9 for genome editing: progress, implications and challenges. *Human Molecular Genetics*, 23(R1), pp. R40-6.
- Zhang, S. και συν., 2022. Rapid establishment of murine gastrointestinal organoids using mechanical isolation method. *Biochemical and Biophysical Research Communications (BBRC)*, Τόμος 608, pp. 30-38.
- Zhang, S. και συν., 2001. In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nature Biotechnology*, 19(12), pp. 1129-33.
- Zhang, Y., Wu, S., Xia, Y. & Sun, J., 2014. Salmonella-infected crypt-derived intestinal organoid culture system for host-bacterial interactions. *Physiological reports*, 2(9), p. e12147.
- Zhao, D., Lei, W. & Hu, S., 2021. Cardiac organoid - a promising perspective of preclinical model. *Stem Cell Research & Therapy*, 12(1), p. 272.
- Zhu, L., Liu, K., Feng, Q. & Liao, Y., 2022. Cardiac Organoids: A 3D Technology for Modeling Heart Development and Disease. *Stem Cell Reviews and Reports (SCRR)*, 18(8), pp. 2593-2605.
- Zumwalde, N. και συν., 2016. Analysis of immune cells from human mammary ductal epithelial organoids reveals Vδ2+ T cells that efficiently target breast carcinoma cells in the presence of bisphosphonate. *Cancer Prevention Research*, 9(4), pp. 305-16.

13. Πίνακας περιεχομένων εικόνων

Εικόνα 1.	4
Εικόνα 2.	8
Εικόνα 3.	14
Εικόνα 4.	23
Εικόνα 5.	29
Εικόνα 6.	34
Εικόνα 7.	44
Εικόνα 8.	47