



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Α΄ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

Διευθυντής: Α. Χ. Λάζαρης, Καθ. Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ:

«Νεοπλασματική Νόσος στον Άνθρωπο: Σύγχρονη
Κλινικοπαθολογοανατομική προσέγγιση και έρευνα »

Διευθυντής ΠΜΣ

Α. Χ. Λάζαρης, Καθ. Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΘΕΜΑ: «Τα Βλαστοκύτταρα στη Υπηρεσία της Θεραπείας των
Νεοπλασμάτων, Νέες Προσεγγίσεις - Ηθικοί και Νομικοί
Προβληματισμοί»**

Όν/μο: ΑΜΑΛΙΑ Χ. ΚΟΛΛΙΑΛΗ

Αρ. μητρώου: 20130599

Ιδιότητα: ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ

Επιβλέπων ΜΔΕ: Α. Χ. ΛΑΖΑΡΗΣ

ΙΟΥΛΙΟΣ 2020

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στη

**«Νεοπλασματική Νόσος στον Άνθρωπο:
Σύγχρονη Κλινικοκοπαθολογοανατομική προσέγγιση και έρευνα »**

που απονέμει η Ιατρική Σχολή του Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ

ΒΑΘΜΙΑ

ΥΠΟΓΡΑΦΗ

Α.Χ. ΛΑΖΑΡΗΣ
(Επιβλέπων)

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

.....

Γ. ΑΓΡΟΓΙΑΝΝΗΣ

ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

.....

Ε. ΘΥΜΑΡΑ

ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

.....

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Ορισμός και ιδιότητες	4
2. Τύποι βλαστικών κυττάρων ανάλογα την προέλευση τους.....	8
2.1. Εμβρυονικά Βλαστικά Κύτταρα	8
2.2. Εμβρυϊκά Βλαστικά Κύτταρα	10
2.3. Βλαστικά Κύτταρα Ομφάλιου Λώρου.....	10
2.4. Αμνιακά Επιθηλιακά Βλαστικά Κύτταρα	10
2.5. Ενήλικα Βλαστικά Κύτταρα	11
2.6. Αιμοποιητικά Βλαστικά Κύτταρα.....	12
2.7. Μεσεγχυματικά Βλαστικά Κυτταρα	12
3. Βιολογία των Βλαστικών Κυττάρων	13
3.1. Αυτοανανέωση και διαφοροποίηση.....	13
3.2. Διαίρεση Βλαστικών Κυττάρων	14
3.3. Οι Φωλεές των Βλαστικών Κυττάρων.....	15
4. Ιστική Αναγέννηση και Βλαστικά Κύτταρα	18
5. Καρκινικά Βλαστικά Κύτταρα.....	19
5.1. Ορισμός και Προέλευση Καρκινικών Βλαστικών Κυττάρων	19
5.2. Διαφορές Κανονικών και Καρκινικών Βλαστικών Κυττάρων	20
6. Χρήση βλαστοκυττάρων για θεραπευτικές προσεγγίσεις νεοπλασμάτων.....	22
7. Αυτόλογη Και Ετερόλογη Μεταμόσχευση Βλαστοκυττάρων.....	24
8. Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ενάντια στα νεοπλάσματα	26
8.1. Χρήση εξωσωμάτων που παράγονται από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα	26
8.2. Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ως μεταφορείς στην αντικαρκινική θεραπεία	27
8.3. Αναστολή της μετάστασης ως αντικαρκινική θεραπεία.	29
8.4. Κλινικές δομικές Μεσεγχυματικών Βλαστικών Κυττάρων Στην Καρκινική Θεραπεία	30
9. Ηθικά Διλήμματα	33
10. ΝΟΜΙΚΑ ΖΗΤΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΑΝΑΚΥΠΤΟΥΝ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	37

ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ: ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ

1. Ορισμός και ιδιότητες

Ο όρος βλαστικό κύτταρο απαντάται για πρώτη φορά στην βιβλιογραφία περίπου ενάμιση αιώνα πριν, στην επιστημονική δουλειά του Ernst Haeckel το 1868, βιολόγου γερμανικής καταγωγής. Εκεί, ως βλαστοκύτταρο ορίζεται ο μονοκύτταρος πρόγονος οργανισμός όλων των πολυκύτταρων οργανισμών. Λίγα χρόνια μετά ορίζεται εκ νέου ως το γονιμοποιημένο ωάριο από το οποίο προέρχονται όλα τα κύτταρα ενός οργανισμού. Καθώς το ζήτημα της προέλευσης και ανάπτυξης ενός οργανισμού εκείνα τα χρόνια αποτελούσε πεδίο έντονου προβληματισμού για τους επιστήμονες της εποχής, νέα δεδομένα προέκυπταν συνεχώς από τις παρατηρήσεις των επιστημόνων. Έτσι 25 χρόνια μετά την πρώτη εμφάνιση του όρου ‘βλαστοκύτταρο’ στην βιβλιογραφία, οι Theodor Boveri και Valentin Hacker ορίζουν ότι είναι το γονιμοποιημένο ωάριο ακριβώς πριν την ασύμμετρη διαίρεση του προς την γαμετική σειρά (germ line) και το μεσόδερμα. Βέβαια αυτές οι έννοιες της αναπτυξιακής εμβρυολογίας καθώς και οι χρονικές στιγμές που αυτές συμβαίνουν έχουν προσδιοριστεί εκ νέου ολοκληρωτικά.

Παράλληλα εκτός από το πεδίο της εμβρυολογίας, γίνονται πληθώρα επιστημονικών ερευνών πάνω στο αιμοποιητικό σύστημα. Ο Artur Pappenheim, μόλις το 1896 όπου τα μέσα παρατήρησης και έρευνας ήταν εξαιρετικά περιορισμένα, υποστηρίζει ότι το σύνολο των αιμοποιητικών κυττάρων προέρχεται από ένα και μόνο το οποίο είναι το κέντρο αιμοποίησης, που είναι και το βλαστικό κύτταρο. Μία θεωρεία που επιβεβαιώνεται πολλά χρόνια μετά το 1960, που οι Till και McCulloch αποδεικνύουν για πρώτη φορά την ύπαρξη των Αιμοποιητικών Βλαστικών Κυττάρων (Hematopoietic Stem Cells, HSC). Τότε θεσπίζεται και ο όρος ‘βλαστοκύτταρο’ όπως είναι γνωστός και σήμερα. Πρόκειται δηλαδή για κύτταρα που είναι έχουν την δυνατότητα να πολλαπλασιάζονται επ’άπειρον, και οι απόγονοι αυτών έχουν την ικανότητα να διαφοροποιηθούν. Ακόμα και σήμερα, ειδικά μετά τις ανακαλύψεις που έχουν γίνει στο πεδίο τα τελευταία χρόνια σχετικά με τις δυνατότητες εφαρμογής τους στην σύγχρονη ιατρική, αποτελούν πεδίο αιχμής για την έρευνα. (1-4 πηγές)

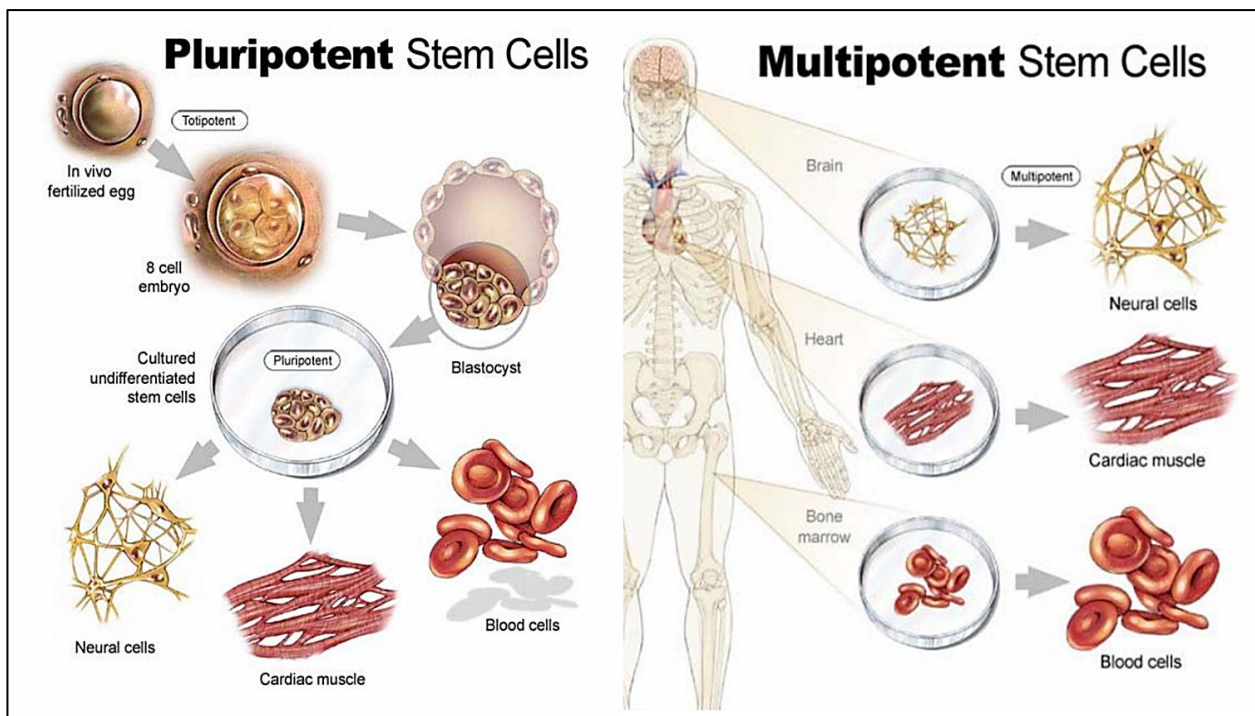
Ουσιαστικά, από τα βλαστοκύτταρα προκύπτουν όλα τα κύτταρα ενός οργανισμού, είναι δηλαδή, ο προγονικός κυτταρικός πυρήνας της ζωής. Διαθέτουν μερικά ιδιαίτερα και μοναδικά χαρακτηριστικά, με κυρίαρχο το γεγονός ότι είναι αδιαφοροποίητα, δηλαδή δεν έχουν αναπτύξει

χαρακτηριστικές δομές, καθώς επίσης δεν φέρουν στην πλασματική τους μεμβράνη ειδικές πρωτεΐνες που χαρακτηρίζουν συγκεκριμένες κυτταρικές σειρές. Ένα επιπρόσθετο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των βλαστοκυττάρων είναι το γεγονός ότι διατηρούν την πολλαπλασιαστική τους ικανότητα και να αυτοανανεώνονται, διατηρώντας αδιαφοροποίητα κυτταρικά αποθέματα. Αντίθετα τα ώριμα κύτταρα ενός οργανισμού, έχουν συγκεκριμένη λειτουργία, και για το σκοπό αυτό πολλές φορές υιοθετούν μορφολογικές ιδιαιτερότητες με τέτοιο τρόπο ώστε οι δύο αυτές έννοιες να είναι άρρηκτα συνδεδεμένες μεταξύ τους, όπως συμβαίνει στα νευρικά κύτταρα. Ενώ επίσης έχουν εξειδικευμένες βιοχημικές λειτουργίες.

Τα βλαστικά κύτταρα στα ενήλικα άτομα βρίσκονται σε πολύ περιορισμένα σημεία του σώματος, με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά στο μικροπεριβάλλον τους, που ονομάζονται φωλές. Τα κύτταρα που εντοπίζονται εκεί μπορούν να διαιρεθούν και οι απόγονοι να διαφοροποιηθούν σε πιο εξειδικευμένα κύτταρα είτε του αιμοποιητικού είτε του ανοσοποιητικού συστήματος, αλλά δυνητικά και σε άλλα είδη κυτταρικών τύπων άλλων οργάνων και ιστών, με σκοπό την αποκατάσταση κάποιας ζημιάς που μπορεί να έχει προκληθεί (1).

Τα βλαστικά κύτταρα διαφοροποιούνται στις εξής κατηγορίες, ανάλογα με την ικανότητα διαίρεσης και διαφοροποίησης τους:

- Στα παντοδύναμα (totipotent), τα οποία έχουν την δυνατότητα σχηματισμού εμβρύου και τροφοβλάστης του πλακούντα και ουσιαστικά πρόκειται για το γονιμοποιημένο κύτταρο ή ζυγωτή.
- Στα ολοδύναμα (pluripotent), τα οποία έχουν την ικανότητα δυνητικά να μπορούν να διαφοροποιηθούν σε όλα τα κύτταρα και από τις τρεις βλαστικές στοιβάδες (δέρματα).
- Στα πολυδύναμα (multipotent), τα οποία πλέον έχουν ξεκινήσει να αποκτούν χαρακτηριστικά για συγκεκριμένες κυτταρικές σειρές, δεν έχουν, ωστόσο, διαφοροποιηθεί πλήρως και διατηρούν ακόμα την ικανότητα διαίρεσης αλλά περιορισμένα. Πρόκειται για ώριμα σωματικά ή ιστοειδικά βλαστικά κύτταρα.
- Στα μονοδύναμα (unipotent), τα οποία πλέον έχουν αποκτήσει την πλειοψηφία των χαρακτηριστικών, διατηρούν την ικανότητα διαίρεσης, αλλά μόνο προς μία κυτταρική σειρά.



Εικόνα 1: Διαγραμματικά παρουσιάζονται τα ολοδύναμα (pluripotent) και τα πολυδύναμα (multipotent), που αποτελούν τις κύριες πηγές βλαστοκυττάρων. Τα ολοδύναμα έχουν μεγαλύτερη ικανότητα τόσο πολλαπλασιασμού όσο και διαφοροποίησης, καθώς πρόκειται για κύτταρα κατά την ανάπτυξη των οποίων, οι πιθανές οδοί είναι πολλές περισσότερες (Πηγή: <http://www.stemcellresearchfoundation.org>).

Τα ώριμα σωματικά κύτταρα έχουν ξεκάθαρο ρόλο να επιτελέσουν στον οργανισμό, καθώς έχουν υιοθετήσει τις δομές και τις πρωτεΐνες-υποδοχείς για να δέχονται τα κατάλληλα σήματα. Σε αντίθεση, τα βλαστικά κύτταρα μέχρι να λάβουν αυστηρά καθορισμένα εξωκυτταρικά σήματα, δε διαφοροποιούνται. Τα κύτταρα που προκύπτουν κατά την οντογένεση, δεν έχουν όλα την ίδια δυναμικότητα πολυδυναμίας και σχηματίζουν διακριτά υποσύνολα. Αν σκεφτεί κανείς την δυναμικότητα αυτή σαν πυραμίδα τότε στην κορυφή της δυνατότητας διαφοροποίησης θα βρίσκεται το ζυγωτό κύτταρο και τα παράγωγα των δύο πρώτων διαιρέσεων του (4 **παντοδύναμα** κύτταρα). Αυτό σημαίνει πως μπορεί το καθένα από αυτά να «δημιουργήσει» εξ ολοκλήρου έναν ολόκληρο οργανισμό, και όλους τους μη εμβρυικούς ιστούς που είναι απαραίτητοι για την ανάπτυξη του εμβρύου μέσα στην μήτρα, όπως ο πλακούντας (2).

Καθώς προχωράνε οι κυτταρικές διαιρέσεις και τα κύτταρα αυξάνονται αρχίζουν να σχηματίζονται διακριτές δομές στο βλαστομερίδιο. Έτσι δημιουργείται η *έσω κυτταρική μάζα* (inner cell mass ICM) της βλαστοκύστης. Από την στιβάδα εκεί στην συνέχεια θα προκύψουν όλοι οι ιστοί του σώματος. Τα κύτταρα που βρίσκονται στην έσω κυτταρική μάζα ονομάζονται εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα, είναι ολοδύναμα (pluripotent) και μπορούν να διαφοροποιηθούν

και ως προς τα τρία βλαστικά δέρματα, ενδόδερμα, μεσόδερμα, εξώδερμα. Όμως πλέον η δυνατότητα ανάπτυξης προς ολόκληρο το έμβρυο έχει χαθεί. Τα κύτταρα έως αυτό το σημείο έχουν γίνει προσπάθειες να αξιοποιηθούν για διάφορες θεραπευτικές προσεγγίσεις, όμως, λόγω της μεγάλης πολλαπλασιαστικής ικανότητας που διατηρούν ακόμα, προκύπτει πολλές φορές ο σχηματισμός όγκων ως παρενέργεια(2).

Μετά τη γέννηση, στους περισσότερους ιστούς του ενήλικου σταδίου, αφού έχει δηλαδή ολοκληρωθεί η οντογένεση, υπάρχουν πηγές πολυδύναμων (multipotent) βλαστικών κυττάρων, που δίνουν γένεση σε διαφοροποιημένα κύτταρα. Η ικανότητα διαφοροποίησης αυτών των κυττάρων είναι περιορισμένη, και κατά κύριο λόγο προκύπτουν κύτταρα όμοια με τον ιστό από τον οποίο βρίσκονται και τα βλαστικά. Τέτοιοι ιστοί είναι ο εγκέφαλος, ο μυελός των οστών, το ήπαρ, το αίμα τα αιμοφόρα αγγεία, το δέρμα και οι σκελετικοί μύες. Υπάρχει η δυνατότητα αυτό-ανανέωσης, όμως πλέον η ικανότητα διαφοροποίησής τους είναι αρκετά περιορισμένη. Μπορούν να ωριμάσουν σε κύτταρα του ιστού ή του οργάνου από το οποίο προέρχονται και ο κύριος ρόλος τους είναι να το συντηρούν και να το επιδιορθώνουν (3).

Τέλος στη βάση της κλίμακας διαφοροποίησης, βρίσκονται τα μονοδύναμα (unipotent) βλαστικά κύτταρα, τα οποία διαιρούνται και δίνουν γένεση σε κύτταρα συγκεκριμένου κυτταρικού τύπου (4).

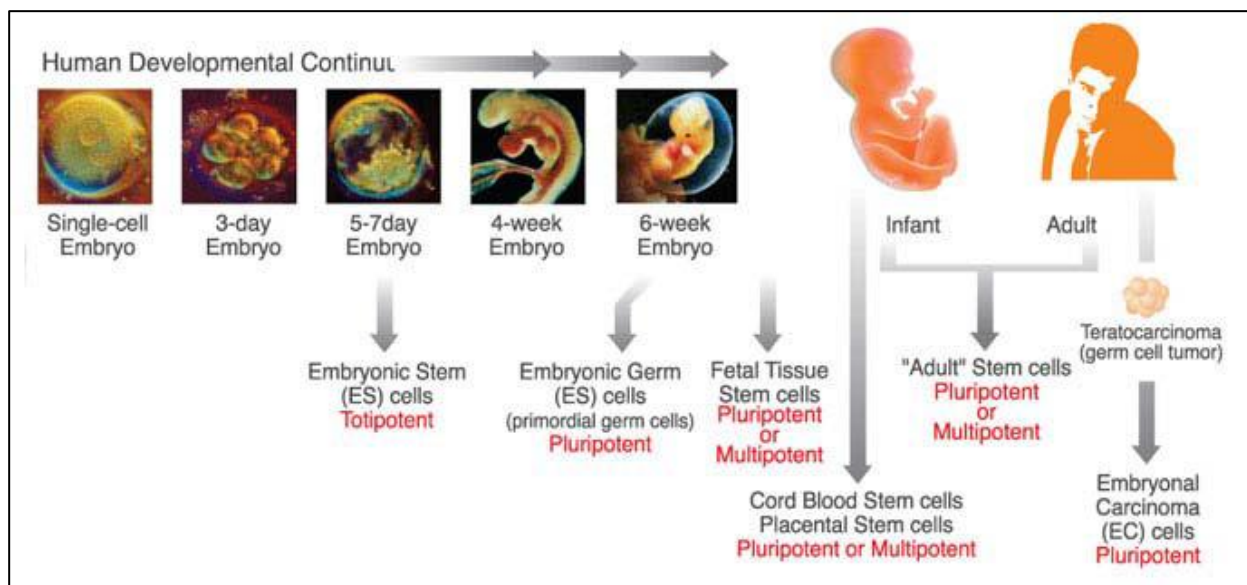
Όσο η μοριακή βιολογία και η γενετική εξελίσσονται, συνεχώς προκύπτουν νέα δεδομένα για τα κύτταρα αυτά, καθώς και για το γενετικό πρόγραμμα το οποίο εκφράζεται σε αυτά. Τα βασικά σηματοδοτικά μονοπάτια που έχουν ανακαλυφθεί τις τελευταίες δεκαετίες για τα κύτταρα αυτά είναι, του Notch, του Sonic Hedgehog του Wnt και του Hox γονιδίου, τα οποία αποτελούν και βασικούς δομικούς λίθους λειτουργίας των κυττάρων αυτών (5).

Παρόλο που τα βλαστικά κύτταρα διαιρούνται συνεχώς δεν παρατηρείται να μπαίνουν να σε φάση κυτταρικής γήρανσης, καθώς για κάθε ώριμο σωματικό κύτταρο υπάρχει συγκεκριμένος αριθμός κυτταρικών διαιρέσεων που μπορεί να πραγματοποιήσει. Από ένα σημείο και μετά, παρατηρούνται μοριακές και γενετικές μεταβολές, που οδηγούν ένα κύτταρο στη φάση της γήρανσης και στην συνέχεια στον κυτταρικό θάνατο. Παρ'όλα αυτά, ένα βλαστικό κύτταρο μπορεί με εξαιρετική επιτυχία να αποφεύγει την απόπτωση, κατηγορία προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, καθώς και την μείωση του μήκους των τελομερών του. Ο παράγοντας που διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο για την πορεία των βλαστοκυττάρων είναι το μικροπεριβάλλον τους, καθώς οι αυξητικοί παράγοντες, οι κυτταροκίνες και άλλοι μοριακοί σηματοδότες που βρίσκονται σε αυτό, θα ενεργοποιήσουν τα κατάλληλα μονοπάτια (6).

2. Τύποι Βλαστικών Κυττάρων Ανάλογα την Προέλευση τους

2.1. Εμβρυονικά Βλαστικά Κύτταρα

Τα εμβρυονικά βλαστοκύτταρα είναι ολοδύναμα. Από τα κύτταρα αυτά προέρχονται τα τρία βλαστικά δέρματα, το ενδόδερμα, το μεσόδερμα και το εξώδερμα. Επίσης μπορούν να δώσουν γένεση στα γαμετικά, αναπαραγωγικά κύτταρα δηλαδή στα κύτταρα των γονάδων που είναι εξειδικευμένα για την παραγωγή απλοειδών γαμετών. Τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα μπορούν να απομονωθούν από την εσωτερική κυτταρική μάζα της βλαστοκύστης (Inner Cell Mass ICM), κατά την εμβρυογένεση, μόλις 4 με 5 ημέρες μετά την γονιμοποίηση του ωαρίου από το σπερματοζώο. Η εσωτερική κυτταρική μάζα αρχίζει να σχηματίζει μία διακριτή δομική οντότητα από την εξωτερική στιβάδα. Η πορεία των δύο αυτών δομών θα είναι τελείως διαφορετική, με την δεύτερη να δίνει γένεση στο τροφοεξώδερμα. Τα περισσότερα από 200-250 κύτταρα που αποτελούν το έμβρυο σε εκείνη τη φάση βρίσκονται στο τροφοεξώδερμα. Η εσωτερική κυτταρική μάζα της βλαστοκύστης αποτελείται από μόλις 30 περίπου κύτταρα, και είναι και η πηγή των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων (7, 8).



Εικόνα 2: Διακρίνονται οι κατηγορίες βλαστοκυττάρων ανάλογα με την προέλευση τους, το χρονικό σημείο της ανάπτυξης καθώς και η δυνατότητα διαφοροποίησής τους.

Μία από τις πρώτες εφαρμογές, στις οποίες έγινε προσπάθεια να αξιοποιηθούν τα βλαστοκύτταρα ως θεραπευτικοί παράγοντες ήταν για την αναδόμηση και αποκατάσταση

καταστραμμένων νευρώνων. Η συντριπτική πλειοψηφία των νευρικών κυττάρων στον εγκέφαλο, μετά την ανάπτυξη, δε μπορεί να διαιρεθεί. Όμως υπάρχουν και κατά την ενήλικη ζωή ορισμένα αποθέματα βλαστικών κυττάρων, τα οποία είναι πολυδύναμα με ικανότητα αυτοανανέωσης. Τα κύτταρα που προκύπτουν από αυτές τις διαιρέσεις μπορούν να διαφοροποιηθούν στις τρεις βασικές κατηγορίες κυττάρων που απαντώνται στον εγκέφαλο, σε ολιγοδενδροκύτταρα, σε αστροκύτταρα και φυσικά σε νευρώνες. Από πειράματα που έγιναν σε νεογνά τρωκτικά, στα οποία μεταμοσχεύτηκαν αλλογενώς βλαστικά κύτταρα εγκεφάλου από άλλο νεογνό, τα κύτταρα διαφοροποιήθηκαν ανάλογα με την σήματα που δέχθηκαν από το μικροπεριβάλλον της περιοχής εγκατάστασης. Επιπλέον τα κύτταρα αυτά στην συνέχεια ήταν απολύτως λειτουργικά, ακόμα και οι νευρώνες. Τα πειράματα αυτά αποδεικνύουν ακόμα ισχυρότερα ότι η πορεία των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων εξαρτάται από τα ερεθίσματα που δέχονται. Όταν σε ποντίκια μεταμοσχεύτηκαν εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα εντοπισμένα στο δικτυωτό σχηματισμό, τότε αυτά διαφοροποιήθηκαν σε ντοπαμινεργικούς νευρώνες (νευρώνες των οποίων ο κύριος νευροδιαβιβαστής είναι η ντοπαμίνη) και αποκατέστησαν την υπάρχουσα βλάβη που οφειλόταν στην νόσο του Parkinson (9).

Υπάρχουν κάποια πρώιμα δεδομένα που δείχνουν ότι σε περίπτωση τραύματος στον εγκέφαλο, αν και η ικανότητα αναγέννησης των νευρικών κυττάρων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος είναι εξαιρετικά περιορισμένη, τα βλαστοκύτταρα που υπάρχουν μετακινούνται στην περιοχή του τραύματος (10).

Τα εμβρυονικά γαμετικά κύτταρα εντοπίζονται στην γενετική ακρολοφία των εμβρύων, και πρόκειται για τα κύτταρα που στην συνέχεια θα δώσουν γένεση στους ώριμους γαμέτες, τα ωάρια και σπερματοζωάρια. Έχουν κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, όπως η μεγάλη ικανότητα αυτοανανέωσης, χωρίς όμως να παρατηρούνται αλλοιώσεις στον καρυότυπό τους, καθώς και η δυνατότητα διαφοροποίησής τους προς κυτταρικές σειρές και από τα τρία βλαστικά δέρματα (11).

Τα εμβρυονικά βλαστοκύτταρα ωστόσο, έχουν και μία βασική αδυναμία. Λόγω της ικανότητας τους να αυτοανανεώνονται πολλές φορές, σε πολλές προσπάθειες εφαρμογών τους σχηματίζουν τερατώματα και τερατοκαρκινώματα (12).

2.2. Εμβρυϊκά Βλαστικά Κύτταρα

Τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα είναι πολυδύναμα. Σε σύγκριση με τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα, τα εμβρυϊκά είναι περισσότερο ιστοειδικά, και δεν δημιουργούν τερατώματα σε *in vivo* δοκιμές. Επίσης πλεονεκτούν και έναντι των βλαστοκυττάρων που απομονώνονται από τον ομφάλιο λώρο και από τον μυελό των οστών στο ότι είναι πιο ασφαλή για μεταμόσχευση, καθώς δεν υπάρχει ο κίνδυνος απόρριψης. Η κατηγορία αυτή των βλαστοκυττάρων δρα και υπέρ της μητέρας, καθώς διαπερνούν τον πλακούντα και εισέρχονται στην μητρική κυκλοφορία. Έχει παρατηρηθεί ότι συμμετέχουν στην επούλωση τυχόν ιστικής βλάβης της μητέρας, ενώ παραμένουν στην κυκλοφορία της και παραμένουν δυνητικά χρήσιμα και μετά την γέννα (13).

2.3. Βλαστικά Κύτταρα Ομφάλιου Λώρου

Ο ομφάλιος λώρος αποτελεί μία εξαιρετικά χρήσιμη δομή για την ανάπτυξη του εμβρύου κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, όμως επίσης είναι και πηγή πολυδύναμων βλαστοκυττάρων. Τα κύτταρα που προέρχονται από τον ομφάλιο λώρο μπορούν εν δυνάμει να διαφοροποιηθούν σε μία πληθώρα ιστικών κυττάρων όπως αιμοποιητικά, δενδριτικά, νευρικά, ηπατοκύτταρα, ενδοθηλιακά και κύτταρα του παγκρέατος (14). Το αίμα από τον ομφάλιο λώρο του νεογνού περιλαμβάνει πολλούς διαφορετικούς υποπληθυσμούς κυτταρικών βλαστικών τύπων. Μία κατηγορία μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων είναι πιο αδιαφοροποίητα από εκείνα που βρίσκονται στον μυελό των οστών, τα οποία στην συνέχεια οι απόγονοι που προκύπτουν από τις διαιρέσεις τους, μπορεί να διαφοροποιηθούν σε οστά, λίπος και νευρικά κύτταρα. Επίσης υπάρχει και ένας προγονικός υποπληθυσμός $CD34^+$ αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων. Τα κύτταρα, όσο ωριμάζουν, αυξάνει η αιμοποιητική τους δραστηριότητα και εκθέτουν διαδοχικά δείκτες. Αυτοί είναι αρχικά ο FLT-3, μετά ο Kit και τέλος ο συνδέτης της θρομβοποιητίνης (15).

2.4. Αμνιακά Επιθηλιακά Βλαστικά Κύτταρα

Τα αμνιακά επιθηλιακά βλαστικά κύτταρα λαμβάνονται από την αμνιακή μεμβράνη του πλακούντα. Το βασικό τους πλεονέκτημα είναι ότι στα κύτταρα αυτά δεν εκφράζεται η τελομεράση, με αποτέλεσμα να μην σχηματίζονται τερατώματα όταν αξιοποιούνται για *in vivo* μεταμόσχευση. Επίσης οι απόγονοι των κυττάρων αυτών μπορούν να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα και από τα τρία βλαστικά δέρματα όπως νευρικά κύτταρα από το εξώδερμα, καρδιακά μυϊκά κύτταρα από το μεσόδερμα και ηπατοκύτταρα από το ενδόδερμα. Ωστόσο, στα

βλαστοκύτταρα αυτά εκφράζονται και κάποιοι από τους δείκτες των εμβρυονικών πολυδύναμων, όπως ο Oct-4, ο Nanog και η αλκαλική φωσφατάση (16).

2.5. Ενήλικα Βλαστικά Κύτταρα

Μπορεί η κύρια πηγή εύρεσης και απομόνωσης βλαστοκυττάρων να εντοπίζεται στα εμβρυϊκά στάδια ανάπτυξης, όμως και σε πολλούς ενήλικους ιστούς υπάρχουν μερικά αποθέματα. Τέτοιοι ιστοί και όργανα είναι ο εγκέφαλος, ο μυελός των οστών, το περιφερικό αίμα, στο μάτι ο αμφιβληστροειδής και ο κερατοειδής (17,18), οι σκελετικοί μύες, το δέρμα, το ήπαρ, ο πολφός των οδόντων, το επιθήλιο του γαστρεντερικού συστήματος και το πάγκρεας (19). Πλέον σε αυτό το στάδιο τα βλαστοκύτταρα δεν είναι ολοδύναμα αλλά ιστικώς πολυδύναμα. Αυτό σημαίνει ότι δεν μπορούν να διαφοροποιηθούν προς οποιοδήποτε κυτταρικό τύπο του οργανισμού, αλλά προς εκείνους που απαρτίζουν τον ιστό στον οποίο βρίσκονται. Κάποια πιθανόν να σχηματίζουν διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους της ίδιας κατηγορίας (ενδοδερμικοί, μεσοδερμικοί και εξωδερμικοί, φαινόμενο που ονομάζεται «πλαστικότητα». Σε κάποιους ιστούς είναι δυνατό να εντοπιστούν και να καλλιεργηθούν απολύτως πανομοιότυπα πρόδρομα κύτταρα, αλλά αυτό δεν έχει αποδειχθεί σε όλους τους ιστούς.

Επίσης, μπορούν να παραμείνουν σε αδιαφοροποίητη κατάσταση για μεγάλο χρονικό διάστημα στον οργανισμό. Σε δεδομένη στιγμή και ανάλογα με τα μηνύματα που θα λάβουν μπορούν να προκύψουν από αυτά ώριμα σωματικά, με χαρακτηριστικά από τους ιστούς που προέρχονται (20). Παρόλα αυτά, τα ενήλικα βλαστοκύτταρα, σε αντίθεση με ότι συμβαίνει στον οργανισμό, σε κυτταρικές σειρές είναι πολύ δύσκολο να παραμείνουν αδιαφοροποίητα για μεγάλα χρονικά διαστήματα, και καθότι και σπάνια, τα κάνει πολύ δύσκολο να μελετηθούν (21).

Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα, όπως και τα υπόλοιπα, παράγονται κατά την οντογένεση. Στην συνέχεια όμως παραμένουν σε αυτή την κατάσταση σε εξειδικευμένες περιοχές των ιστών και των οργάνων, τις φωλεές. Ο αριθμός τους είναι σαφώς πιο περιορισμένος σε σύγκριση με τις εμβρυϊκές κατηγορίες και του ομφάλιου λώρου. Το ένζυμο της τελομεράσης είναι αρκετά ενεργό, γεγονός που σημαίνει ότι υπάρχει περιορισμένη δυνατότητα διαιρέσεων. Η ενεργοποίηση τους συμβαίνει μετά από έναν ειδικό καταρράκτη σηματοδοτικών σημάτων που ειδοποιούν τα κύτταρα αυτά ότι υπάρχει κάποια απώλεια και είναι απαραίτητη η κυτταρική αναπλήρωση, μέσω της διαίρεσης τους αρχικά και έπειτα μέσω της διαφοροποίησής τους. Και σε αυτή την περίπτωση, τόσο για την τελική διαφοροποίηση όσο και για την επιστράτευση των

κυττάρων αυτών, εξαιρετικής σημασίας είναι οι αλλαγές που παρατηρούνται στο μικροπεριβάλλον τους (22).

2.6. Αιμοποιητικά Βλαστικά Κύτταρα

Τα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα δεν αποτελούν έναν ενιαίο πληθυσμό, αλλά μέσα σε αυτά βρίσκονται διακριτά υποσύνολα, με ξεχωριστό φαινότυπο και λειτουργία. Τα μακράς διάρκειας αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα έχουν την μεγαλύτερη ικανότητα αυτοανανέωσης και από αυτά προκύπτουν όλες οι αιμοποιητικές σειρές. Από αυτά προκύπτουν τα βραχείας διάρκειας αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα τα οποία επίσης μπορούν να λειτουργήσουν ως πηγή νέων αιμοποιητικών κυττάρων, αλλά έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής (24).

Τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα δεν υπάρχουν σε αφθονία στον οργανισμό, αντιθέτως είναι πολύ δύσκολο να εντοπιστούν και να απομονωθούν στην αδιαφοροποίητη τους κατάσταση (25). Το CD34 μόριο-δείκτης χαρακτηρίζει ορισμένους υποπληθυσμούς των κυττάρων αυτών. Στους υποπληθυσμούς αυτούς, φαίνεται ότι όταν μεταμοσχεύθηκαν σε ποντίκια με ανοσοκαταστολή, ο φαινότυπος αυτός αναστράφηκε (26). Τα CD34+ αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα έχουν απομονωθεί από το μυελό των οστών, το ομφαλοπλακουντιακό αίμα και το περιφερικό αίμα.

2.7. Μεσεγχυματικά Βλαστικά Κύτταρα

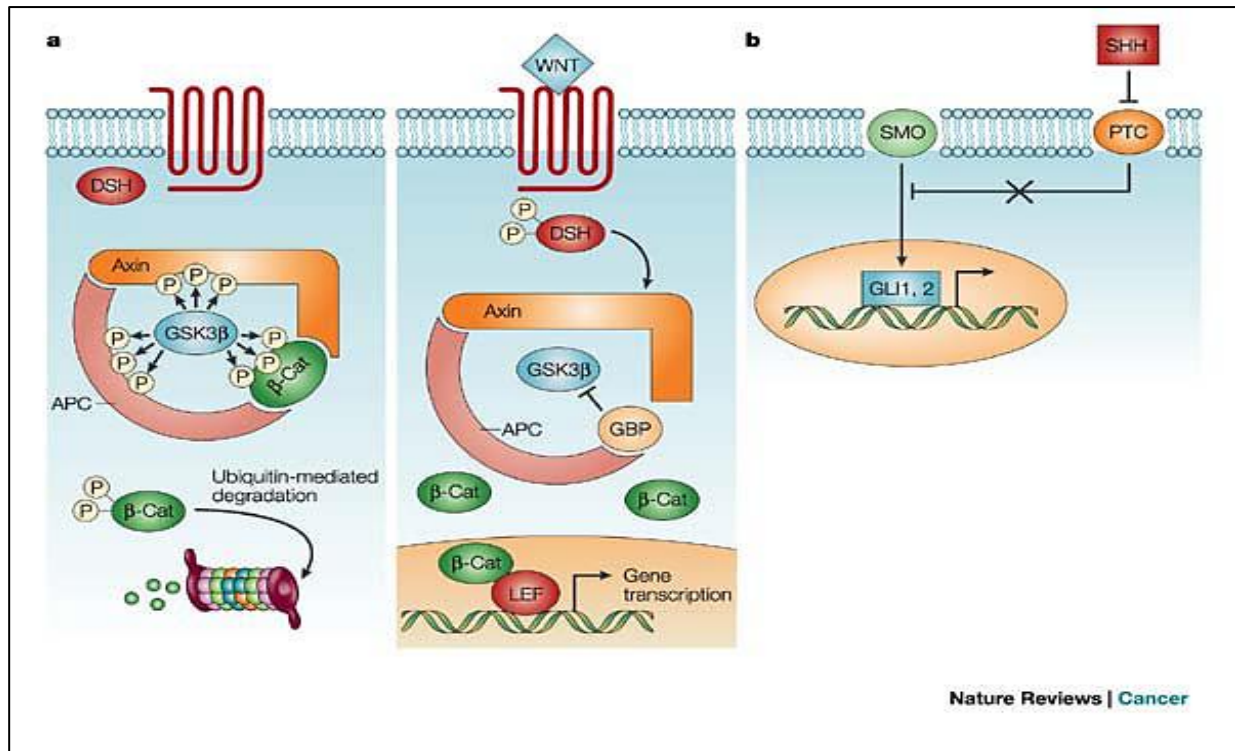
Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα εντοπίζονται στο στρώμα του μυελού των οστών, που είναι και η κύρια πηγή του. Τα μεσεγχυματικά κύτταρα είναι κυρίως μεσοδερμικής προελεύσεως, και αποτελούν τον χαλαρό συνδετικό ιστό του εμβρύου. Από εκεί προέχεται η πλειοψηφία των κυττάρων του συνδετικού ιστού, δηλαδή τα μυϊκά κύτταρα και οι ινοβλάστες, τα λιπώδη, οι τένοντες, οι νευρικοί ιστοί και ο χόνδρος (26).

3. Βιολογία των Βλαστικών Κυττάρων

3.1. Αυτοανανέωση και Διαφοροποίηση

Ο ρόλος των βλαστοκυττάρων κατά την εμβρυογένεση είναι να δώσουν γένεση σε όλα τα κύτταρα που είναι απαραίτητα για την δημιουργία ενός πλήρως λειτουργικού οργανισμού, τα οποία κάθε φορά διαφοροποιούνται ανάλογα με τα σήματα που δέχονται από το μικροπεριβάλλον τους. Σε αντίθεση, τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα, ουσιαστικά λειτουργούν ως αποθήκες σε ορισμένους ιστούς και όργανα ώστε να επιδιορθώσουν τυχόν βλάβες ή να αναπληρώσουν πιθανές απώλειες. Άρα η διαδικασία της αυτοανανέωσης, δηλαδή από τα δύο νέα κύτταρα που προκύπτουν από το μητρικό, το ένα να διατηρείται αδιαφοροποίητο βλαστοκύτταρο, είναι εξαιρετικής σημασίας. Όμως πρέπει να είναι και αυστηρά ρυθμιζόμενη, καθώς τυχόν απορρυθμίσεις της μπορεί να οδηγήσουν σε μη επιθυμητά αποτελέσματα, όπως η ογκογένεση ή από την άλλη πλευρά εξάντληση των αδιαφοροποίητων βλαστοκυττάρων.

Παράγοντες όπως ο LIF, ο Wnt και η bone-morphogenic protein 4 (BMP-4) εξασφαλίζουν την αυτοανανέωση των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων μέσω σηματοδοτικών μονοπατιών μεταγωγής του STAT 3, της β-κατενίνης και του Smad αντίστοιχα. Μέσω αυτών των οδών, ενεργοποιούνται συγκεκριμένα γονίδια στόχοι έτσι ώστε τα κύτταρα να διατηρούν την πολυδυναμία τους. Τέτοια χαρακτηριστικά είναι τα γονίδια Oct 4 και Nanog. Καθοριστικό φαίνεται να είναι και το mTOR, μία πρωτεΐνη που γενικά σχετίζεται στα ώριμα κύτταρα με πληθώρα μονοπατιών που έχουν σχέση με τον πολλαπλασιασμό, τον μεταβολισμό και την επιβίωση των κυττάρων και φαίνεται ότι και στα εμβρυονικά βλαστοκύτταρα διαδραματίζει παρόμοιο ρόλο. Το c-Myc γονίδιο φαίνεται να έχει διττό ρόλο, τόσο ως μιτογόνο ερέθισμα, όσο και ως στόχος κατά την σηματοδότηση του Wnt (27).



Εικόνα 3: Το σηματοδοτικό μονοπάτι του Wnt παράγοντα.

Ο παράγοντας Notch αποτελεί μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη, που μέσω του μονοπατιού της σηματοδότησής του ρυθμίζεται η αυτο-ανανέωση και η διαφοροποίηση των νευρικών βλαστικών κυττάρων. Ο Notch έχει δύο τμήματα, με το ένα να βρίσκεται στην εξωκυττάρια μεριά του εγκεφάλου και να δέχεται του κατάλληλους προσδέτες από το περιβάλλον του και το δεύτερο τμήμα του βρίσκεται ενδοκυτταρικά και μέσω αυτής μεταδίδονται τα κατάλληλα μηνύματα, ώστε να ενεργοποιηθούν τα σωστά κάθε φορά μονοπάτια (28). Μέσω του Notch σηματοδοτείται η διαφοροποίηση των προγονικών κυττάρων, την οποία αναστέλλει η σηματοδότηση από το Wnt (29).

3.2. Διαίρεση Βλαστικών Κυττάρων

Δύο τύποι κυτταρικής διαίρεσης απαντώνται στα βλαστοκύτταρα, η ασύμμετρη και η συμμετρική. Και οι δύο αυτές διαδικασίες υπόκεινται σε αυστηρό έλεγχο, έτσι ώστε να παράγεται ο σωστός αριθμός βλαστοκυττάρων. Σε περίπτωση που η ισορροπία ανάμεσα σε αυτές τις δύο διαδικασίες διαταραχθεί, αναπτύσσεται νεοπλασματική νόσος (30).

Ασύμμετρη ονομάζεται η διαίρεση όπου το ένα θυγατρικό κύτταρο διατηρεί τις ιδιότητες του βλαστικού κυττάρου, ενώ το άλλο οδηγείται σε διαφοροποίηση. Δύο μηχανισμοί ελέγχουν την

κυτταρική διαίρεση. Ο εσωτερικός μηχανισμός κυτταρικής διαίρεσης βασίζεται σε ασύμμετρο καταμερισμό στοιχείων που καθορίζουν την κυτταρική μοίρα, όπως παράγοντες κυτταρικής πολικότητας. Ο εξωτερικός μηχανισμός κυτταρικής διαίρεσης βασίζεται στην ασύμμετρη τοποθέτηση των θυγατρικών κυττάρων σε σχέση με εξωτερικά ερεθίσματα. Στην δεύτερη περίπτωση τα θυγατρικά κύτταρα διαφέρουν ως προς τη θέση τους στη φωλεά και ακολουθούν διαφορετικούς δρόμους ανάπτυξης λόγω έκθεσης σε διαφορετικά εξωτερικά ερεθίσματα (33).

Συμμετρική ονομάζεται η διαίρεση όπου και τα δύο θυγατρικά κύτταρα είτε έχουν τις ίδιες ιδιότητες ως βλαστικά κύτταρα είτε είναι περισσότερο διαφοροποιημένα. Συμμετρικές διαιρέσεις συμβαίνουν κατά την ανάπτυξη του οργανισμού και κατά την ιστική αποκατάσταση και αναγέννηση μετά από βλάβη (34, 55).

3.3. Οι Φωλεές των Βλαστικών Κυττάρων

Τα βλαστικά κύτταρα βρίσκονται σε εξειδικευμένα μικροπεριβάλλοντα, τις φωλεές. Οι φωλεές είναι η βασική μονάδα της φυσιολογίας των ιστών. Πρόκειται για διακριτά ανατομικά και λειτουργικά μικροπεριβάλλοντα τα οποία είναι υπεύθυνα για τη διατήρηση των βλαστικών κυττάρων, για τον έλεγχο της ισορροπίας μεταξύ αυτο-ανανέωσης και διαφοροποίησης, για τη ρύθμιση της συμμετοχής τους σε διαδικασίες ιστικής επιδιόρθωσης και αναγέννησης και τέλος, όπως πρόσφατα έχει αναδειχθεί, είναι υπεύθυνα για την αποτροπή της ογκογένεσης (32).

Για κάθε ιστό υπάρχουν κάποια συγκεκριμένα χαρακτηριστικά που φέρουν οι φωλεές, ώστε να ανταποκρίνονται καλύτερα τα βλαστοκύτταρα που βρίσκονται εκεί στις εκάστοτε ανάγκες που παρουσιάζονται. Παρόλα αυτά, υπάρχουν κάποια στοιχεία μεταξύ των φωλεών διαφορετικών ιστών. Ο βασικός σκελετός της φωλεάς αποτελείται από ώριμα σωματικά κύτταρα, που υποστηρίζουν τη λειτουργία και τη διατήρηση των συγκεκριμένων βλαστικών κυττάρων. Ο αριθμός των βλαστοκυττάρων που παραμένουν μέσα στη φωλεά ρυθμίζεται από παράγοντες που βρίσκονται στο περιβάλλον της. Για παράδειγμα τέτοιοι παράγοντες είναι οι hedgehog, Wnt, bone morphogenic proteins (BMPs), και οι fibroblast growth factors. Οι παράγοντες αυτοί συμμετέχουν στην αυτοανανέωση και την διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων (33).

Η φωλεά λειτουργεί σαν ένας προστατευτικός φραγμός για τα βλαστοκύτταρα, αποτρέποντας την υπέρμετρη αύξηση τους. Το ίδιο το περιβάλλον της είναι που ορίζει αυτόν τον μηχανισμό της λειτουργίας της, καθώς στο περιβάλλον της υπάρχουν όλα αυτά τα μόρια που απαιτούνται για την ρύθμιση αυτή, δρώντας με αυτοκρινή και παρακρινή τρόπο. Επίσης, δρουν μονοπάτια αρνητικής επανατροφοδότησης, μειώνοντας έτσι την ευαισθησία στα μιτογόνα σήματα των

βλαστοκυττάρων. Τα μονοπάτια αυτής της λειτουργίας δρουν με δύο τρόπους, είτε πραγματοποιείται καταστολή της μετάφρασης, είτε ενεργοποιούνται οι κατάλληλοι ρυθμιστές της χρωματίνης καταστέλλοντας την έκφραση γονιδίων που θα ρύθμιζαν την τελική διαφοροποίηση (33).

Οι φωλεές που βρίσκονται στο αιμοποιητικό σύστημα, στο δέρμα και στο έντερο έχουν μελετηθεί εκτενώς. Για το αιμοποιητικό, υπάρχουν δύο φωλεές, ανάλογα με τη φάση της ωρίμανσης στην οποία βρίσκονται τα κύτταρα. Στην οστεοβλαστική φωλεά είναι τα πιο αρχέγονα βλαστοκύτταρα, και εδράζονται στην επιφάνεια των οστών του μυελού των οστών. Στην συνέχεια μετακινούνται προς τα ενδοθηλιακά κύτταρα, στην αγγειακή φωλεά. Τα βλαστικά κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος αρχικά βρίσκονται στην επιφάνεια του οστού στην οστεοβλαστική φωλεά και στην συνέχεια μαζί με τα προγονικά κύτταρα μετακινούνται σε θέσεις που είναι σε άμεση επαφή με τα ενδοθηλιακά κύτταρα των κολποειδών, την αγγειακή φωλεά. Η οστεοβλαστική φωλεά παρέχει μικροπεριβάλλον «ηρεμίας» για τα βλαστικά κύτταρα ενώ η αγγειακή φωλεά ευνοεί τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση (34). Στο θυλάκιο της τρίχας υπάρχουν βλαστοκύτταρα, και τα βασικά σηματοδοτικά μονοπάτια που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση τους είναι τα Wnt, το Dkk, το sFRP και το Wif (35).

Οι πρωτεΐνες της κατηγορίας BMPs ανήκουν στην ευρύτερη υπεροικογένεια του TGF- β και στην συντριπτική τους πλειοψηφία είναι αναστολείς της έκφρασης. Τα μονοπάτια των BMP2/BMP4 γίνεται μέσω των Bmpr 1A ή Bmpr 1B, ενώ συμμετέχουν και ο μεταγραφικοί παράγοντες Smad 1, 5, 8 και 4 για τη μεταγραφική ρύθμιση των κατάλληλων γονιδίων-στόχων. Όταν η σηματοδότηση πραγματοποιείται μέσω του Bmpr 1A, στα βλαστοκύτταρα του δέρματος και του εντέρου αναστέλλεται άμεσα ο πολλαπλασιασμός τους (36).

Η ρύθμιση μέσω BMP αναστολής και μέσω Wnt προαγωγής της ανάπτυξης ελέγχει την ομοιοστατική ισορροπία μεταξύ αυτο-ανανέωσης και διαφοροποίησης, γιατί απαιτείται συνεργασία μεταξύ των δύο καθώς και του ανταγωνιστή Noggin για την ενεργοποίηση των βλαστικών κυττάρων στο έντερο και στο δέρμα και υπερέκφρασή τους οδηγεί σε ανάπτυξη πολύποδα (37).

Ο μιτογόνος παράγοντας Sonic Hedgehog (SHH) εκκρίνεται από τα κύτταρα της φωλεάς που έχουν υποστηρικτικό ρόλο και οδηγούν σε πολλαπλασιασμό τόσο των βλαστικών όσο και των σωματικών κυττάρων της δομής. Στα θηλαστικά ο Hedgehog καθορίζει την τοπογραφική οργάνωση και τον σχηματισμό των φωλεών κατά την διάρκεια της ανάπτυξης. Στα τριχοθυλάκια, συγκεκριμένα, ο Sonic hedgehog είναι εκείνος που ρυθμίζει την αρχιτεκτονική

των φωλέων καθώς διαχωρίζει την πορεία των δύο υποσυνόλων βλαστοκυττάρων. Αλλά και στο έντερο φαίνεται οι Sonic και Indian Hedgehog να έχουν ιστοειδική εντόπιση, καθώς κατά την διάρκεια της ανάπτυξης διαμορφώνουν την αρχιτεκτονική των φωλέων και την πυκνότητα, τις διαστάσεις και την καλή ρύθμιση των κρυπτών. Συμπερασματικά οι Hedgehog παράγοντες (Sonic και Indian) συμβάλλουν στον έλεγχο των βλαστοκυττάρων, μέσα από την δημιουργία φωλέων και καθορίζουν την πορεία των κυττάρων αυτών (38).

Φαίνεται να υπάρχουν ενδείξεις ότι η σηματοδότηση για την αυτό-ανανέωση και την διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων δεν ενεργοποιείται μόνο από πρωτεΐνες αλλά και από άλλα μόρια-σηματοδότες που υπάρχουν στο μικροπεριβάλλον τους. Για παράδειγμα στην επιφάνεια των οστών του μυελού των οστών, η υψηλή συγκέντρωση ιόντων ασβεστίου που υπάρχουν, φαίνεται να επηρεάζουν με κάποιο τρόπο την λειτουργία των βλαστοκυττάρων. Το ασβέστιο συνδέεται στον κατάλληλο υποδοχέα, ο οποίος στην ενδοκυττάρια πλευρά του μετά συνδέεται με G-πρωτεΐνες, ενεργοποιώντας έναν καταρράκτη διαδοχικών πρωτεϊνικών φωσφορυλιώσεων. Μετά από μελέτες πρωτεωμικής, φαίνεται ότι τέτοιοι υποδοχείς ασβεστίου, υπάρχουν αυξημένοι σε αυτά τα βλαστοκύτταρα, καθώς σε κάποιες ομάδες περισσότερων ώριμων αιμοποιητικών κυττάρων (39).

4. Ιστική Αναγέννηση και Βλαστικά Κύτταρα

Η μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων πραγματοποιείται μέσω ενδοφλέβιας ή υποδόριας ένεσης, όπου χορηγείται ο κατάλληλος αριθμός ώστε να είναι επαρκή αλλά και να μην προκαλούνται παρενέργειες. Έχει καταγραφεί ένα μεγάλο εύρος παρενεργειών που μπορεί να προκληθούν από την χρήση βλαστοκυττάρων για την αποκατάσταση ιστικών βλαβών, μερικές από τις οποίες είναι ο διαβήτης, η οξεία ηπατική και καρδιακή ανεπάρκεια, οι αρθρίτιδες, διαταραχές όρασης, νεφρικές διαταραχές, νοσήματα του αιμοποιητικού συστήματος ή του συστήματος ανοσίας. Επίσης έχουν καταγραφεί περιπτώσεις ανάπτυξης νεοπλασιών όπως οξεία λευχαιμία, λέμφωμα και διάφοροι όγκοι συμπαγών οργάνων. Τα χαρακτηριστικά που καθιστούν τα βλαστοκύτταρα κατάλληλα για την θεραπεία ιστικών βλαβών είναι η πλαστικότητα και το δυναμικό μετανάστευσης, γεγονός που δίνει τη δυνατότητα να κινητοποιούνται στην κυκλοφορία και ανάλογα με τα σήματα που λαμβάνουν από το μικροπεριβάλλον να διαφοροποιούνται κατάλληλα στους όποιους ιστούς (41).

Έχουν γίνει επίσης θεραπευτικές προσεγγίσεις για την χρήση των βλαστοκυττάρων στην γονιδιακή θεραπεία, ή ακόμη και για την αποκατάσταση κυττάρων που αποπίπτουν λόγω εκφύλισης. Στη συντριπτική πλειοψηφία, ωστόσο, των μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα, τα κύτταρα αυτά αναγνωρίζονται από το ανοσοποιητικό και προκαλούν την ενεργοποίησή του. Επίσης, δεν επιτυγχάνεται μεγάλη διείσδυση στους ιστούς στόχους, ή και ακόμη παρατηρείται και η μη ειδική ενσωμάτωση (41).

ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΚΑΙ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ

5. ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΒΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

5.1. Ορισμός και Προέλευση Καρκινικών Βλαστικών Κυττάρων

Έχει καταγραφεί συσχέτιση ανάμεσα στον χρόνο ζωής ενός οργανισμού και στην πιθανότητα να αναπτυχθεί καρκίνος, και ειδικά σε ιστούς οι οποίοι παρουσιάζουν υψηλό ρυθμό αυτοανανέωσης. Τέτοιο ιστοί είναι ο πνεύμονας, το έντερο και το αίμα, οι οποίοι έχουν υψηλή επίπτωση καρκίνου. Επίσης υψηλή συχνότητα εμφάνισης καρκίνου παρουσιάζεται και στα παρεγχυματικά όργανα, καθώς συνεχίζεται η ανάπτυξη και μεταγεννητικά (42).

Είναι πλέον γνωστό ότι μέσα σε έναν όγκο δεν υπάρχει κυτταρική ομοιογένεια, αλλά υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί υποπληθυσμοί, οι οποίοι εκφράζουν διαφορετικούς επιφανειακούς δείκτες. Επίσης η κάθε επιμέρους ομάδα δεν έχει την ίδια πολλαπλασιαστική ικανότητα. Ένας μικρός πληθυσμός μπορεί να είναι υπεύθυνος για την δημιουργία του όγκου, και να είναι και ο ίδιος που τον τροφοδοτεί συνεχώς με νέα καρκινικά κύτταρα, και στην συνέχεια να δίνει και τις μεταστάσεις. Τα κύτταρα αυτά έχουν την ικανότητα αυτο-ανανέωσης και διαφοροποίησης, δύο χαρακτηριστικά δηλαδή που απαντώνται στα φυσιολογικά βλαστοκύτταρα. Τα καρκινικά βλαστοκύτταρα μπορεί να έχουν προέλευση είτε από φυσιολογικά βλαστοκύτταρα είτε από σωματικά κύτταρα τα οποία έχουν υποστεί γονιδιακές μεταλλάξεις σε συγκεκριμένα γονίδια στόχους (43).

Στην πρώτη περίπτωση, στους πληθυσμούς των βλαστοκυττάρων στους εκάστοτε ιστούς, πραγματοποιούνται μεταλλάξεις σε γονίδια που ρυθμίζουν τις λειτουργίες αυτές, της αυτό-ανανέωσης και της διαφοροποίησης. Για την ρύθμιση της διαίρεσης, οι μεταλλάξεις συμβαίνουν σε ογκο-γονίδια και ογκοκατασταλτικά. Οι μεταλλάξεις μπορούν επίσης να οδηγήσουν στην έκκριση συγκεκριμένων παραγόντων, οι οποίοι επάγουν την μεταφορά των κυττάρων της φωλεάς στην περιοχή του όγκου. Με αυτό τον τρόπο αυξάνεται ο αριθμός τους και παρέχονται συνεχόμενα σήματα για αυτό-ανανέωση (44).

Επίσης στα καρκινικά βλαστοκύτταρα μέσω μεταλλαγών, τα σήματα για την αυτό-ανανέωση δεν σταματούν και το κύτταρο έχει συνεχόμενα ενεργοποιημένους τους αποδέχτες των μηνυμάτων αυτών, ακόμα και αν απουσιάζουν οι προσδέτες. Ή ακόμη μπορεί το ίδιο το κύτταρο

να παράγει τους προσδέτες, οι οποίοι να δρουν αυτοκρινώς και μέσα στο μικροπεριβάλλον της φωλεάς, που φυσιολογικά για μία δεδομένη χρονική στιγμή δεν θα υπήρχαν (45).

Στην δεύτερη περίπτωση, κατά την οποία τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα προέρχονται από πιο διαφοροποιημένα σωματικά κύτταρα, οι μεταλλαγές μπορεί και τότε να συμβαίνουν σε γονίδια τα οποία ρυθμίζουν την έκβαση του κυτταρικού κύκλου.

Σήμερα, γίνονται πολλές προσπάθειες για την ανάπτυξη μοντέλων πρόγνωσης προέλευσης των καρκινικών όγκων. Το πρώτο είναι το *ιεραρχικό μοντέλο της ογκογένεσης* όπου οι ετερογενείς όγκοι προκύπτουν από μία μικρή ομάδα καρκινικών βλαστικών κυττάρων, και τα κύτταρα που προκύπτουν δεν είναι πλήρως αδιοφοροποίητα και είναι και αυτά που στο μέλλον δυνητικά μπορούν να δώσουν μεταστάσεις. Το δεύτερο είναι το *στοχαστικό μοντέλο ογκογένεσης*, σύμφωνα με το οποίο, όλα τα κύτταρα του όγκου είναι εν γένει δυνατό να δώσουν νέους όγκους και στην συνέχεια μεταστάσεις. Το μικροπεριβάλλον καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την ετερογένεια που υπάρχει στους όγκους (44).

Τα καρκινικά κύτταρα αναπτύσσουν κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, με βασικό την ιδιότητα της αθανатоποίησης καθώς και το απεριόριστο δυναμικό πολλαπλασιασμού. Για να καταφέρει ένα κύτταρο να ξεπεράσει τον φραγμό των περιορισμένων διαιρέσεων πριν μπει σε φάση προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, πρέπει να διατηρηθούν τα μήκη των τελομερών. Η *τελομεράση είναι ένα ριβονουκλεοπρωτεϊνικό ενζυμικό σύμπλεγμα, το οποίο αντιρροπεί την προοδευτική μείωση του μήκους των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών των τελομερών και δεν ανιχνεύεται συνήθως στους φυσιολογικούς ιστούς*. Μετά την ωρίμανση των σωματικών κυττάρων το ένζυμο αυτό σταματά να δρα, με αποτέλεσμα το μήκος των τελομερών μετά από κάθε κυτταρική διαίρεση να μειώνεται. Στα καρκινικά κύτταρα συνεχίζει να δρα, ως αποτέλεσμα γενετικών και επιγενετικών φαινομένων που οδηγούν σε έκτοπη συνεχή ενεργοποίηση της ανθρώπινης αντίστροφης μεταγραφάσης της τελομεράσης. Με τα μέχρι τώρα δεδομένα φαίνεται να εκφράζεται και στα βλαστοκύτταρα, και στα ενήλικα (46).

5.2. Διαφορές Κανονικών και Καρκινικών Βλαστικών Κυττάρων

Τα φυσιολογικά και τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα έχουν κάποια κοινά στοιχεία τόσο στους μοριακούς μηχανισμούς με τους οποίους λειτουργούν όσο και σε φαινοτυπικά στοιχεία. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα καρκινικά βλαστοκύτταρα από καρκίνο εγκεφάλου που στην επιφάνεια τους υπάρχουν κοινοί δείκτες με εκείνων των ενήλικων, νευρικών

βλαστικών κυττάρων. Επίσης, απαντώνται αρκετά κοινά μοριακά μονοπάτια που σηματοδοτούν τον πολλαπλασιασμό τους. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι τα προϊόντα των γονιδίων p53, p16INK4a και p19ARF, τα οποία είναι ογκοκατασταλτικά, είναι αναστολείς του διπλασιασμού και των δύο ομάδων βλαστοκυττάρων (49).

Η PTEN (phosphatase and tensin homologue) είναι μία φωσφατάση που αναστέλλει καταρροϊκά το μονοπάτι PI3K/Akt, με αποτέλεσμα να σταματάει ο κυτταρικός κύκλος, άρα και η διαίρεση. Η PTEN επίσης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και για την επιβίωση των κυττάρων. Το γονίδιο *pten* έχει βρεθεί απενεργοποιημένο σε πολλούς τύπους καρκίνου, και έχει συσχετιστεί άμεσα. Στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα φυσιολογικά αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των νευρικών βλαστοκυττάρων και των προγονικών. Όταν όμως αυτό απενεργοποιήθηκε, παρουσιάστηκε αυξημένη αυτό-ανανέωση, αυξήθηκε ο ρυθμός με τον οποίο τα κύτταρα μετέβαιναν από την φάση G0 στην G1 για να διπλασιαστούν και παρατηρήθηκε μειωμένη εξάρτηση από αυξητικούς παράγοντες (50).

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν όταν το PTEN απενεργοποιήθηκε και στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, υπήρξε, δηλαδή, ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός τους. Η αύξηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού σχετίζεται με τρία χαρακτηριστικά της ίδιας της αποθεματικής δεξαμενής των βλαστοκυττάρων. Αρχικά πλέον αδυνατούν να παραμείνουν στον μυελό των οστών, και διαφεύγουν από εκεί, και πλέον εντοπίζονται στο αίμα και στον σπλήνα. Δεύτερον, αδυνατούν να διαφοροποιηθούν και να αποκτήσουν χαρακτηριστικά ώριμου κυττάρου λευκής σειράς. Τέλος παρατηρείται μείωση του αριθμού τους. Αυτές οι ιδιαίτερες παρατηρήσεις φαίνεται να συνδέονται με τον ενεργοποίηση δύο άλλων πρωτεϊνών, του mTOR και της Akt (51).

6. Χρήση Βλαστοκυττάρων για Θεραπευτικές Προσεγγίσεις Νεοπλασμάτων

Παλαιότερα στην ιατρική ο όρος όγκος χρησιμοποιήθηκε για να προσδιοριστεί κάποια διόγκωση που παρατηρούνταν και είχε φλεγμονώδη αιτιότητα. Σήμερα όμως ορίζεται ως *«όγκος μια μάζα μη φυσιολογικού ιστού, προσκόπτουσα από έναν αυτόνομο και ανώμαλο πολλαπλασιασμό κυττάρων, ο οποίος εμμένει και μετρά την απομάκρυνση του εναρκτήριου ερεθίσματος»* (52).

Ο όρος *νεόπλασμα* αποτελεί συνώνυμος του 'όγκου' και είναι προτιμότερος και αξιοποιείται περισσότερο από τους γιατρούς καθώς είναι πιο εύηχος και προκαλεί λιγότερη ανησυχία στους ασθενείς.

Ο όρος *«καρκίνος»* καθιερώθηκε από την εποχή του Γαληνού (130-200 μ.Χ.), ο οποίος εμπνεύστηκε τον όρο από το σχήμα της κεντρικής μάζας του όγκου και τις διογκωθείσες φλέβες στο περιβάλλον του, που έμοιαζε χαρακτηριστικά με τα ασπόνδυλα αυτά ζώα. Καρκίνος σήμερα είναι ο γενικός όρος που περιγράφει την ανώμαλη ανάπτυξη των κυττάρων. Ο όρος *«αποδίδεται σε μία ομάδα ασθενειών που κύριο γνώρισμα τους είναι αυτό το στοιχείο, ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός μίας ομάδας κυττάρων»* (53).

Τα καρκινικά κύτταρα διαθέτουν την δυνατότητα διείσδυσης σε γειτονικούς ιστούς οπότε είναι σε θέση να επεκταθούν και να προκαλέσουν επιβλαβείς συνέπειες στη γενικότερη λειτουργία του οργανισμού. Οι ερευνητές μελετούν την μετάσταση περισσότερο από 100 χρόνια, και μόλις τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει ουσιαστικά βήματα στην βαθύτερη και ουσιαστικότερη κατανόηση των μηχανισμών που επιτρέπουν στα καρκινικά κύτταρα να μετακινούνται και να δημιουργούν δευτεροπαθείς εστίες καρκίνου. Επίσης, από τα τελευταία δεδομένα γίνεται ολοένα και πιο ξεκάθαρο ότι το μικροπεριβάλλον είναι εκείνο που διαδραματίζει μεγάλο ρόλο στην διαδικασία μετάστασης. Το μικροπεριβάλλον των συμπαγών όγκων είναι ένα ετερογενές, περίπλοκο περιβάλλον για την ανάπτυξη και την επιβίωση του όγκου, με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά όπως το όξινο pH, οι χαμηλές διατροφικές απαιτήσεις, η αυξημένη πίεση μεσοκυττάριας ουσίας και τα χρονίως αυξομειούμενα επίπεδα οξυγόνωσης τα οποία σχετίζονται με το μη φυσιολογικό αγγειακό δίκτυο που υπάρχει στους όγκους (54).

Ένας όγκος, είτε ανήκει στην κατηγορία των καλοηθών είτε των κακοηθών, χαρακτηρίζεται από δύο βασικά στοιχεία. Το πρώτο, που αναφέρθηκε και προηγουμένως είναι τα πολλαπλασιαζόμενα, χωρίς κυτταρικό πρόγραμμα ελέγχου, νεοπλασματικά κύτταρα, και τα οποία συγκρατούν το παρέγχυμα. Το δεύτερο είναι το στηρικτικό στρώμα που παρατηρείται, και

αποτελείται από συνδετικό ιστό κυρίως, και τα απαραίτητα για την μετάσταση, αιμοφόρα αγγεία. Η ιστολογία των νεοπλασμάτων είναι τελείως διαφορετική από εκείνη των φυσιολογικών ιστών, και κάποια στοιχεία που φέρουν τα κύτταρα που τα συγκροτούν είναι χρήσιμα για την βέλτιστη δυνατή διάγνωση, όπως η απώλεια προσανατολισμού των κυττάρων, η απώλεια κυτταρικής συνοχής, η αύξηση του μεγέθους του πυρήνα και η αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα (55).

Τα βλαστοκύτταρα, τα τελευταία χρόνια, αξιοποιούνται στην μάχη ενάντια στα νεοπλάσματα, και σε ορισμένες μορφές έχουν φανεί εξαιρετικά αποτελεσματικά. Για πρώτη φορά τα βλαστοκύτταρα χρησιμοποιήθηκαν ως θεραπευτικό μέσο το 1998, για την θεραπεία ενός παιδιού που έπασχε από αναιμία Fanconi, μία προσέγγιση που στέφθηκε με επιτυχία. Από τότε χρησιμοποιήθηκαν για την θεραπεία και άλλων ασθενειών του αίματος, και κυρίως τα βλαστοκύτταρα του ομφαλοπλακουντιακού αίματος. Είναι ένα πεδίο έρευνας που εγείρει έντονο ενδιαφέρον και επεκτείνεται με ραγδαίους ρυθμούς τον 21^ο αιώνα (56).

Η βασική θεραπευτική προσέγγιση βασίζεται στην μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων, και πρόκειται για μια θεραπευτική επιλογή που βρίσκει εφαρμογή σε διάφορους τύπους κακοήθων νεοπλασμάτων όπως του αίματος, η λευχαιμία, τα λεμφώματα και το μυέλωμα. Μέχρι τώρα δεν είναι θεραπεία πρώτης γραμμής και εφαρμόζεται κατά περίπτωση ανάλογα με τις συστάσεις του θεράποντα ιατρού. Πρώτα αξιοποιούνται άλλες μορφές θεραπείας όπως η συμβατική χημειοθεραπεία ή άλλες. Επειδή ωστόσο η θεραπεία του καρκίνου και των αιματολογικών κακοηθειών είναι ένα μεταβαλλόμενο και αναπτυσσόμενο πεδίο της ιατρικής θεραπευτικής, τεχνικές όπως η μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων αποτελούν αντικείμενο έρευνας και πιθανώς στο μέλλον να αποτελέσουν ενδεδειγμένη θεραπεία σε περισσότερες καταστάσεις.

Οι υψηλότερες δόσεις χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας που χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με την μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων μπορούν να βελτιώσουν τις πιθανότητες ανταπόκρισης μιας θεραπείας σε ορισμένες παθήσεις (56).

7. Αυτόλογη Και Ετερόλογη Μεταμόσχευση Βλαστοκυττάρων

Σήμερα, η μοναδική καθιερωμένη θεραπευτική χρήση βλαστοκυττάρων αναφέρεται στα αρχέγονα κύτταρα του ομφαλοπλακουντιακού αίματος για τη θεραπεία παθήσεων όπου ενδείκνυται η μεταμόσχευση μυελού των οστών. Η αυτόλογη μεταμόσχευση γίνεται με αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα (HSC), που προέρχονται από τη συλλογή ομφαλοπλακουντιακού αίματος που λήφθηκε από τον ίδιο τον ασθενή κατά τη γέννηση. Ο ασθενής υποβάλλεται σε ακτινοβολήση ή χημειοθεραπεία υψηλής δόσεως (ή και τα δύο) προκειμένου να εξαλειφθούν τα κακοήγη κύτταρα, διαδικασία κατά την οποία καταστρέφονται και τα δικά του αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα. Στη συνέχεια, τα κύτταρα της συλλογής επανεγχύονται στον ασθενή προκειμένου να αποκαταστήσουν τη φυσιολογική αιμοποιητική του λειτουργία. Δεν παρατηρείται νόσος μοσχεύματος έναντι του ξενιστή, καθώς ο δότης και ο λήπτης είναι το ίδιο πρόσωπο.

Κατά την ετερόλογη μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (HSC) εμπλέκονται δύο άτομα, ο δότης και ο ασθενής. Ο δότης είναι ένα υγιές άτομο που δίνει το κυτταρικό υλικό στον ασθενή με την βασική προϋπόθεση να είναι ιστοσυμβατοί. Αυτό σημαίνει ότι πρέπει τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας (HLA) να είναι συμβατά ώστε να μην προκαλείται αντίδραση απόρριψης από τον οργανισμό του λήπτη. Για αυτό τον λόγο προτιμούνται τα μοσχεύματα με την καλύτερη δυνατή συμβατότητα. Στις πιο πολλές περιπτώσεις οι ιδανικοί συνδυασμοί HLA παρουσιάζονται ανάμεσα σε συγγενικά άτομα, και κυρίως ανάμεσα σε αδέρφια, χωρίς όμως αυτό να αποτελεί καθοριστική προϋπόθεση για την επιτυχία μίας τέτοιας επέμβασης. Πάντα μετά από μία τέτοια επέμβαση ο λήπτης λαμβάνει ανοσοκατασταλτική αγωγή, ώστε η νόσος του “μοσχεύματος κατά του ξενιστή” να μην εμφανιστεί (57).

Η πιθανότητα αυτόλογης χρήσης ενός ομφαλοπλακουντιακού μοσχεύματος για μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων είναι μικρή. Η χρήση αυτόλογων μοσχευμάτων δεν είναι σκόπιμη στην αντιμετώπιση μεταβολικών και κληρονομικών νοσημάτων, καθώς οι μεταλλάξεις που τα προκαλούν είναι παρούσες στα κύτταρα που φυλάχθηκαν. Δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις σχετικά με την ασφάλειά της στη θεραπεία κακοηθών νόσων, ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι γενετικές μεταλλάξεις σε παιδιά, που αργότερα ανέπτυξαν λευχαιμία, προϋπάρχουν ήδη στα κύτταρα του ομφαλοπλακουντιακού αίματος. Βιβλιογραφικά, αναφέρεται μέχρι σήμερα μόνο μία περίπτωση αυτόλογης μεταμόσχευσης αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων σε παιδί με λευχαιμία. Δεν υπάρχει σήμερα ξεκάθαρη απόδειξη ότι τα κύτταρα που περιέχει το ομφαλοπλακουντιακό αίμα θα μπορέσουν στο μέλλον να χρησιμοποιηθούν για να αναγεννήσουν κατεστραμμένους ή τραυματισμένους ιστούς ή να θεραπεύσουν άλλα νοσήματα. Ωστόσο,

σήμερα είναι αδύνατο να προβλέψει κανείς τα αποτελέσματα της εξελισσόμενης έρευνας που μπορεί να επηρεάσουν τη χρήση αυτών των κυττάρων (57).

Σε περίπτωση που κριθεί από τους θεράποντες ιατρούς ότι η μεταμόσχευση είναι η μοναδική θεραπευτική προσέγγιση, τότε αποφασίζεται ποιες από τις δύο περιπτώσεις είναι προτιμότερη για τον συγκεκριμένο ασθενή. Εκτός από το αν η μεταμόσχευση θα είναι αυτόλογη ή ετερόλογη, θα πρέπει να αποφασιστεί και ποια θα είναι η προέλευση των βλαστοκυττάρων που θα αξιοποιηθούν, δηλαδή από μυελό των οστών ή περιφερικό αίμα ή αίμα του ομφάλιου λώρου. Στην θεραπεία του καρκίνου έχουν αξιοποιηθεί κυρίως μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα έως τώρα. Σε πολλές περιπτώσεις ασθενειών, αναμεσά τους και λευχαιμίες, καλύτερη προσέγγιση αποτελεί η αυτόλογη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων. Στην άλλη περίπτωση, αυτήν της ετερόλογης μεταμόσχευσης, αρχικά ως δότης αναζητείται συγγενής πρώτου βαθμού και κατά προτίμηση τα αδέρφια. Μόνο αν δεν εξευρεθεί, γίνεται προσπάθεια αναζήτησης δότη για μόσχευμα από μη συγγενικό πρόσωπο (57).

8. Μεσεγχυματικά Βλαστοκύτταρα Ενάντια στα Νεοπλάσματα

Από την αρχή της ταυτοποίησής τους, τα βλαστοκύτταρα αποτέλεσαν ενδιαφέρον πεδίο μελέτης και σχεδόν αμέσως τράβηξαν το ενδιαφέρον των ερευνητών, οι οποίοι γοητεύτηκαν από τις ιδιαίτερες ιδιότητες τους, την αυτοανανέωση και την πλαστικότητα διαφοροποίησής τους. Τεράστιο ενδιαφέρον δείχνουν και οι ιατροί στο να αξιοποιήσουν αυτές τις δυνατότητες στην αναγεννητική ιατρική και στη θεραπεία των νεοπλασμάτων. Η πρόοδος της τεχνολογίας τις τελευταίες τέσσερις δεκαετίες, έχουν συμβάλει καθοριστικά στην κατανόηση της βιολογίας των βλαστοκυττάρων αλλά παραμένουν πολλά ακόμα να ανακαλυφθούν, ώστε να μπορέσουν να αξιοποιηθούν ως θεραπευτικά μέσα ενάντια στον καρκίνο. Προς αυτή την κατεύθυνση κινείται η έρευνα κυρίως μέσω των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων, καθώς είναι αυτά που είναι πιο εύκολο να βρεθούν και να εντοπιστούν και παρουσιάζουν και τις λιγότερες παρενέργειες σε σχέση με άλλες κατηγορίες βλαστοκυττάρων (21).

8.1. Χρήση Εξωσωμάτων που Παράγονται από Μεσεγχυματικά Βλαστοκύτταρα

Τα εξωσώματα είναι μικροσκοπικά σωματίδια, μικρότερα από 100nm, και αποτελούνται από λιπιδική διπλοστιβάδα, και είναι εξωκυτταρικά κυστίδια που απελευθερώνονται από πολλούς τύπους κυττάρων. Έχει βρεθεί ότι διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην διακυτταρική επικοινωνία, μέσω της μεταφοράς μορίων γενετικού υλικού όπως mRNA και microRNA, καθώς και κάποιες φορές πρωτεΐνες (59). Ένα κοινό χαρακτηριστικό των ανθρώπινων καρκίνων είναι η μη ορθά ρυθμιζόμενη έκφραση ογκογονιδίων, miRs που σχετίζονται με την ογκογένεση ή καταστολέων ογκογένεσης. Η βασική ιδέα είναι τα καρκινικά κύτταρα να προσλάβουν τα εξωσώματα που εκκρίνονται από τα μεσεγχυματικά κύτταρα, και τα οποία περιέχουν τέτοια ρυθμιστικά μόρια. Έτσι όταν εισέλθουν στα καρκινικά κύτταρα τα μόρια αυτά θα λειτουργήσουν εκεί μέσα. Για παράδειγμα το miR-100 έχει βρεθεί ότι υποεκφράζεται σε όλους τους τύπους καρκίνου του μαστού με αποτέλεσμα να μην ρυθμίζεται η έκφραση των πρωτεϊνών λουμινάλη A και B, basal-like, και ο ανθρώπινος επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (human epidermal growth factor receptor) 2 (HER2) (59). Από πειραματικά δεδομένα φαίνεται ότι όταν το miR-100 μεταφέρεται στα καρκινικά κύτταρα από εκκρινόμενα εξωσώματα μεσεγχυματικής προέλευσης, μπορεί να ανασταλλεί η αγγειογένεση στον όγκο μέσω της ρύθμισης του μονοπατιού mTOR/HIF-1 α /VEGF, σε νεοπλάσματα στήθους (59).

Όμως πέρα από τα ενθαρρυντικά δεδομένα που έχουν δημοσιευθεί, έχουν υπάρξει και μελέτες που φαίνεται ότι τα εξωσώματα από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα μπορεί να λειτουργήσουν και ευνοϊκά για την εξέλιξη ενός όγκου (60-62). Τα αντικρουόμενα δεδομένα για τα μεσεγχυματικής προέλευσης εξωσώματα μπορεί να οφείλονται στην διαφορετική ιστική προέλευση των βλαστοκυττάρων, τα διαφορετικά πρωτόκολλα που εφαρμόστηκαν στην εκάστοτε έρευνα για την συλλογή των εξωσωμάτων καθώς και στα διαφορετικά καρκινικά μοντέλα και στάδια τους, τα οποία αξιοποιήθηκαν κάθε φορά. Ένα επιπλέον ζήτημα είναι το γεγονός ότι τα εξωσώματα δεν εκκρίνονται πάντα στις ίδιες ποσότητες από τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα. Οι αντικρουόμενες αυτές μελέτες μπορούν να αποτελέσουν εφελτήριο για την περαιτέρω μελέτη και ανάλυση των ανησυχιών που προκύπτουν από την χρήση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων για την έρευνα και θεραπεία του καρκίνου. Μία πιθανή προσέγγιση για την χρήση εξωσωμάτων από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα μπορεί να πραγματοποιηθεί με την βοήθεια της γενετικής μηχανικής όπου θα εκφράζονται σταθερά κάποια γονίδια που σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα (63).

8.2. Μεσεγχυματικά Βλαστοκύτταρα ως Μεταφορείς στην Αντικαρκινική Θεραπεία

Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα έχουν το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό να αποφεύγουν το ανοσοποιητικό σύστημα καθώς και την τάση προς την ογκογένεση. Έτσι, αποτελούν ένα πολλά υποσχόμενο εργαλείο, για την χρήση τους ως οχήματα - μεταφορείς αντικαρκινικών θεραπειών (64). Με βάση αυτή την ιδέα υπήρξαν πολλές μελέτες, ακόμα και σε προκλινικές μελέτες *in vitro* μετανάστευσης σε διάφορα μοντέλα νεοπλασμάτων όπως το ηπατίωμα (65), κύτταρα λευχαιμίας (66), καρκίνο του μαστού και ανδροστεοσάρκωμα (67). Μία κατάλληλη στρατηγική είναι η χρήση των βλαστοκυττάρων ως μεταφορείς για την διανομή αντικαρκινικών φαρμάκων. Για παράδειγμα, η ομάδα του Bonomi παρατήρησε ότι όταν τα μεσεγχυματικά μετέφεραν το αντικαρκινικό φάρμακο Paclitaxel (PTX), υπήρξε αναστολή του σχηματισμού μυελώματος σε 3D καλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων (68). Παρόμοια επίδραση του συνδυασμού αυτού παρατηρήθηκε και σε περιπτώσεις παγκρεατικών καρκινωμάτων (69). Τα μεσεγχυματικά κύτταρα επίσης χρησιμοποιούνται και ως εργαλείο για τη μεταφορά σισπλατίνης (cisplatin, CDDP) στο εσωτερικό του νεοπλάσματος (64).

Επιπρόσθετα, οι ερευνητές έχουν αποδείξει ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα με ενεργοποιημένα “γονίδια αυτοκτονία” ή αποπτωτικά γονίδια, που θα διεισδύσουν στο εσωτερικό του όγκου, μπορούν να αποτελέσουν επίσης μία αρκετά αποτελεσματική, θεραπευτική προσέγγιση. *In vivo* και *in vitro* μελέτες έχουν αποδείξει ότι η έκφραση

ιντερφερόνης- γ στα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, τα οποία μετασχηματίστηκαν με αδenoϊό, μπορούν αποτελεσματικά να σκοτώσουν γλοιωματικά κύτταρα (70). Αξίζει να σημειωθεί ότι σε ένα μοντέλο μετάστασης στον πνεύμονα από καρκίνο του προστάτη, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που εξέφραζαν την IFN- β , μπορούσαν να επιμηκύνουν την περίοδο επιβίωσης. Είναι πιθανό αυτό να ήταν εφικτό μέσω του μηχανισμού ενεργοποίησης της απόπτωσης (μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου), μέσω της IFN- β , ενώ επίσης σημειώθηκε μείωση της αγγειογένεσης και αύξηση των κυττάρων “φυσικών δολοφόνων” (natural killer cells, NK-cells) του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα κύτταρα αυτά ενεργοποιούνται στο ανοσοποιητικό σύστημα, προκειμένου να αντιμετωπίσουν μεγάλους κυτταρικούς στόχους όπως τα καρκινικά. Σε ασθενείς με καρκίνο, τα καρκινικά κύτταρα διεφεύγουν του ανοσοποιητικού, με αποτέλεσμα να μην ενεργοποιούνται τα NK- κύτταρα. Για αυτό η ενεργοποίησή τους με αυτόν τον τρόπο δίνει μεγάλες ελπίδες για μία πιο αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση (71).

Σε μοντέλο μελέτης της μετάστασης καρκίνου του πνεύμονα, έχει βρεθεί ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που μεταφέρουν προσδέτες που ενεργοποιούν την απόπτωση μέσω του παράγοντα TNF (TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)), μειώνεται ο ρυθμός αύξησης του όγκου, μειώνεται η υποτροπή και αναστέλλεται η ανάπτυξη μεταστατικών κυττάρων στα περισσότερα ποντίκια (80). Η μελέτη ανέφερε ότι σε ποντίκια με γλοίωμα, ο τροπισμός του όγκου των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων από ομφάλιο λώρο που φέρουν TRAIL, ενισχύθηκε μετά από ακτινοβολία, και σε πολλά ενεργοποιήθηκαν μονοπάτια απόπτωσης όταν ενισχύθηκαν με MSCs-TRAIL (72).

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί και από προηγούμενες μελέτες ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα θα μπορούσαν να τροποποιηθούν γενετικά για την thymidine κινάση χρησιμοποιώντας τον ιό του έρπητα (HSV-TK), ώστε τα καρκινικά κύτταρα να μπορούσαν να σκοτωθούν μέσω της HSV-TK/GCV γονιδιακής θεραπείας (82). Παράλληλα, μία άλλη έρευνα έδειξε ότι οι αναστολείς της αποακετυλάσης ιστονών (HDACis), επάγουν την απόπτωση όταν τα καρκινικά κύτταρα έχουν αποκτήσει ανοχή στην ακτινοβολία. Έτσι τα μεσεγχυματικά CD123/CD47- θετικά κύτταρα, μπορεί να αξιοποιηθούν ως μεταφορείς τέτοιων αναστολέων, και να διαδραματίσουν ρόλο - κλειδί για το μικροπεριβάλλον του όγκου. Επιπλέον, οι HDACis μπορούν αποτελεσματικά να στοχεύσουν και εμποδίσουν χημειοανθεκτικές εκρήξεις λευχαιμίας σε μοντέλο ποντικίου AML (73).

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, το ανοσοποιητικό σύστημα παίζει σημαντικό ρόλο στην παρακολούθηση της ανάπτυξης κακοηθών κυττάρων. Ως εκ τούτου, η ενίσχυση του

ανοσοποιητικού συστήματος του σώματος ώστε να επιτευχθεί μία αποτελεσματική αντικαρκινική θεραπεία από το ίδιο είναι μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική. Οι ιντερλευκίνες (ILs) είναι κυτοκίνες που ρυθμίζουν την ανάπτυξη της φλεγμονής και την ανοσοαπόκριση και έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζει αντικαρκινικά αποτελέσματα μέσω της απευθείας θανάτωσης του όγκου ή της ενεργοποίησης του ενδογενούς ανοσοποιητικού συστήματος. Τα MSC έχουν χρησιμοποιηθεί για την παροχή ιντερλευκίνης, η οποία μπορεί να βελτιώσει την αντικαρκινική ανοσολογική παρακολούθηση με ενεργοποίηση των NK κυττάρων και των κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων (74).

Για παράδειγμα, η IL-18 που εκκρίνεται από τα MSC φαίνεται να σχετίζεται με την ενίσχυση των T λεμφοκυττάρων ώστε να διεισδύουν στο περιβάλλον του όγκου και στην αντικαρκινική ανοσία σε ποντίκια που έχουν επεμβατικά και μη επεμβατικά γλοιώματα (75). Σε παρόμοια λογική με προηγουμένως, τα MSC έχουν σχεδιαστεί για να εκφράζουν την IL-12, και αυτό φαίνεται να απέτρεψε τη μετάσταση στους λεμφαδένες και σε άλλα εσωτερικά όργανα. Ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε και αυξημένη απόπτωση καρκινικών κυττάρων σε ποντίκια που φέρουν προκαθορισμένες μεταστάσεις μελανώματος, και σε όγκους του μαστού και του ηπατώματος. Επίσης, τα MSC που έχουν τροποποιηθεί γενετικά για να εκφράζουν IL-12 δοκιμάστηκαν σε διαφορετικά μοντέλα όγκου ποντικού για μελάνωμα και γλοιόμα (75). Άλλα μόρια ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού, όπως το CX3C chemokine fractalkine (CX3CL), έχουν εκφραστεί μέσω γενετικής τροποποίησης στα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα. Ο CX3CL1 είναι ένας ισχυρός χημειοτακτικός παράγοντας. Πρόσφατες μελέτες έχουν αποκαλύψει ότι ο CX3CL1 είναι ένας οδηγός μετανάστευσης T κυττάρων στο οισοφαγογαστρικό αδενοκαρκίνωμα. Προηγουμένως έχει αποδεχτεί ότι η έγχυση φορέα κλωνοποίησης από αδenoϊό ώστε να εκφράζεται ο CX3CL1, μπορεί να επάγει ισχυρή αντικαρκινική ανοσολογική απόκριση μέσω της ενεργοποίησης των NK- κυττάρων και των T-κυττάρων (89). Συνολικά λαμβάνοντας υπόψιν την τροπισμό των καρκινικών κυττάρων, τα MSC καθίστανται ιδανικά για την κυτταρική διανομή ως οχήματα για την εξατομικευμένη θεραπευτική προσέγγιση βασισμένη στα γονιδιακά δεδομένα για τον κάθε ασθενή.

8.3. Αναστολή της Μετάστασης ως Αντικαρκινική Θεραπεία.

Οι όγκοι έχουν χαρακτηριστεί από πολλούς ερευνητές ως «η πληγή που δεν θα θεραπευτεί ποτέ», όπου τα MSC αποτελούν μέλος του μικροπεριβάλλοντός τους μέσω της παραγωγής παρακρινών και ενδοκρινών ενδοκρινικά σημάτων. Οπότε, θεωρητικά μέσω της αναστολής των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων που βρίσκονται στο περιβάλλον του όγκου, μπορεί να

ανασταλεί η αύξησή του. Για παράδειγμα ο PDGF υποδοχέας β (PDGFR β) έχει αναφερθεί ότι διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην επιστράτευση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων στα πλάγια του όγκου (76). Ερευνητικές ομάδες έχουν αποδείξει ότι παρεμβαίνουν μέσω του διαμεσολαβητή PDGFR β μεταξύ BM-MSCs (ειδική κατηγορία μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων) και των καρκινικών κυττάρων χρησιμοποιώντας ανθεκτικά στη νουκλεάση μόρια RNA, τα οποία θα μπορούσαν να αναστείλλουν τη μετανάστευση των MSCs στα καρκινικά κύτταρα και να μειώσουν την επιθετικότητα του όγκου [93]. Η σηματοδότηση που διέπει αυτήν την συνομιλία είναι μέσω του άξονα SDF1-CXCR4. Ο SDF1 εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα σε περιπτώσεις πολλαπλών μυελωμάτων (77). Στην βιολογία των όγκων είναι πλέον εξακριβωμένο ότι παρατηρείται ενεργοποίηση των μοριακών μονοπατιών της Akt και του Wnt για την μετανάστευση, την διείσδυση και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων (78).

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι τα MSC εμπλέκονται στη διαμεσολάβηση αυτών των οδών σηματοδότησης επηρεάζοντας την μετανάστευση όγκων. Σε κύτταρα γλοιώματος που εγχύθηκαν σε ποντίκια με όγκους, παρουσιάστηκε αύξηση της ρύθμισης του PTEN από το hUCBSC, ενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης Akt και (φωσφοϊνοσιτιδής 3-κινάσης) PI3K, με τελικό αποτέλεσμα την αναστολή της μετάστασης (79). Ομοίως, τα αποτελέσματα μιας μελέτης απέδειξαν ότι η υπερέκφραση του HNF4 α καταστέλλει την πρόοδο του HCC, μειώνοντας την ανάπτυξη του ηπατώματος, καθώς και την μετάσταση, μέσω της μείωσης της σηματοδότησης του Wnt / β -catenin (80).

8.4. Κλινικές δομικές Μεσεγχυματικών Βλαστικών Κυττάρων Στην Καρκινική Θεραπεία

Ένας μικρός αριθμός καταχωρημένων κλινικών δοκιμών για τη θεραπεία των συμπαγών όγκων με MSCs βρίσκονται σε εξέλιξη. Αυτές οι δοκιμές έχουν εμπνευστεί από επιτυχημένες προκλινικές δοκιμές, αν και μερικών τα αποτελέσματα δεν έχουν δημοσιευτεί ακόμα.

Η πρώτη κλινική δοκιμή παγκοσμίως που πραγματοποιήθηκε ήταν πάνω σε γαστρεντερικούς όγκους, κατά την οποία χρησιμοποιήθηκαν γενετικά τροποποιημένα μεσεγχυματικά κύτταρα σε ανθρώπους και ονομάστηκε (TREATME1) (81). Σε αυτή την δοκιμή χρησιμοποιήθηκαν τα MSC για την διανομή του HSV-TK παράγοντα στα καρκινικά κύτταρα, κάτω από τον έλεγχο του προαγωγέα CCL5. Η μελέτη αυτή βρίσκεται στην φάση 2 των κλινικών δοκιμών, και θεωρείται εξαιρετικά επιτυχημένη έως τώρα. Οι άλλες δύο κλινικές δοκιμές που τρέχουν αυτήν την περίοδο αφορούν τον καρκίνο των ωοθηκών. Η μία από αυτές βρίσκεται στη φάση 1, υπό

την χρηματοδότηση του M.D. Anderson Cancer Center, όπου πραγματοποιείται σε ανθρώπους μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων, τα οποία εκφράζουν την ιντερφερόνη 2 μέσω γενετικής τροποποίησης (MSCs-IFN β). Βασικός στόχος της έρευνας αυτής είναι η διερεύνηση της πιθανής τοξικότητας των κυττάρων αυτών, και αυτή την περίοδο διερευνάται η μέγιστη δυνατή δόση που μπορεί να ανεχτεί ένας ανθρώπινος οργανισμός, έτσι ώστε να είναι και αποτελεσματική η θεραπεία αυτή.

Ομοίως, η κλινική Mayo ξεκίνησε μια δοκιμή στην φάση I / II ώστε να βρεθούν οι παρενέργειες που μπορεί να προκαλέσουν, καθώς και ποια είναι η καλύτερη δόση μετασχηματισμένων MSC από ιό της ογκολυτικής ιλαράς που κωδικοποιεί NIS (MV-NIS) και ποια είναι η επίδρασή της σε ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών. Σε μία άλλη κλινική προσέγγιση για τη θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα, πραγματοποιείται αλλογενής μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων που εκφράζουν TRAIL. Η έκφραση και η μεταφορά των TRAIL γίνεται μέσω των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων.

Επιπλέον, μία κλινική δοκιμή για τη θεραπεία του καρκίνου του ήπατος με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα είναι προγραμματισμένη να ξεκινήσει στο προσεχές μέλλον. Ο σκοπός αυτής της δοκιμής είναι να μελετήσει κατά πόσο τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία του. Υπάρχει η ανησυχία ότι μπορεί να επηρεάζουν το αποτέλεσμα της απόκρισης μοσχεύματος έναντι ξενιστή στο ήπαρ σε ασθενείς με καρκίνο του ήπατος.

Σε φάση I βρίσκεται κλινική μελέτη, όπου εγχύθηκαν αλλογενή μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα προερχόμενα από τον μυελό των οστών σε άνδρες με εντοπισμένο καρκίνο του προστάτη. Ο βασικός στόχος ήταν να αξιολογηθεί η ασφάλεια και η ικανότητα του καρκίνου που φιλοξενεί τα βλαστοκύτταρα. Ωστόσο, σε αυτή τη μελέτη, οι ασθενείς δεν έκαναν πρωτοπαθείς όγκους σε επαρκή επίπεδα για να σκοτώσουν καρκινικά κύτταρα ή να αναστείλουν ανάπτυξη όγκου. Ωστόσο, τα αποτελέσματα της θεραπείας δεν έχουν δημοσιευθεί ή δεν έχουν επιτύχει τους αναμενόμενους στόχους. Περισσότερο απαιτείται προσοχή και υπομονή για την προώθηση του μετασχηματισμού των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων, ως θεραπευτικό μέσο στη θεραπεία όγκων (82).

Συνοψίζοντας, λοιπόν τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, καθώς και τα εκκρινόμενα εξωσώματα τους έχουν μεγάλες δυνατότητες για την θεραπεία όγκων. Εν τω μεταξύ, για να επιταχυνθεί η μετάβαση από την προκλινική έρευνα έως την κλινική εφαρμογή, απαιτείται περισσότερη

αποτελεσματικότητα και κύριο μέλημα είναι και η ασφάλεια αυτών των θεραπευτικών προσεγγίσεων.

Οι θεραπευτικές δυνατότητες των βλαστοκυττάρων έχουν αποσπάσει, αναμφίβολα, την προσοχή της επιστημονικής κοινότητας και αποτελούν αντικείμενο εντατικής έρευνας. Με την πρόοδο, όμως, της επιστημονικής έρευνας, ένας μεγάλος αριθμός ηθικών και νομικών ζητημάτων άρχισε να εγείρεται.

ΗΘΙΚΟΙ ΚΑΙ ΝΟΜΙΚΟΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟΙ

9. Ηθικά Διλήμματα

Η έρευνα και χρήση των βλαστοκυττάρων είναι κάτι το καινοφανές τόσο για την ιατρική επιστήμη όσο και για την βιοηθική. Είναι πολλά υποσχόμενη για την μελλοντική θεραπεία ανιάτων ασθενειών και την ανακάλυψη πιο αποτελεσματικών φαρμακευτικών σκευασμάτων, παρόλα αυτά έχει προκαλέσει πολλά ηθικά διλήμματα. Η δημόσια διαμάχη, περιστρέφεται γύρω από τη στάθμιση των ωφελειών που δίνει η χρήση των βλαστοκυττάρων για θεραπευτικούς σκοπούς, απέναντι στα διάφορα ερωτήματα που δημιουργούνται γύρω από τη χρήση των εμβρύων. Βασικός πυρήνας του προβληματισμού είναι το καθεστώς που θα αποδοθεί στο έμβρυο και η αρχή της πιθανής θεώρησης του ως εν δυνάμει πρόσωπο (83).

Καταρχάς, πληθώρα ηθικών διλημμάτων ανακύπτουν από το γεγονός ότι τα περισσότερα βλαστοκύτταρα προέρχονται από έμβρυα *in vitro*, τα οποία έχουν δημιουργηθεί κατά τη διαδικασία της ιατρικώς υποβοηθούμενης αναπαραγωγής καθώς και από εμβρυακό ιστό ύστερα από άμβλωση, γεγονός που θέτει το ζήτημα προστασίας του εμβρύου. Δεδομένου ότι μετά την αφαίρεση από τα γονιμοποιημένα ωάρια των βλαστικών κυττάρων, αυτά καταστρέφονται, προκύπτει το ερώτημα εάν είναι ηθικά θεμιτό να καταστρέφεται μια οντότητα, η οποία επρόκειτο να εξελιχθεί σε άτομο.

Είναι σαφές ότι η απάντηση στην ελεύθερη χρήση των βλαστοκυττάρων, συνδέεται άμεσα με την αρχή της αντίληψης της ζωής. Αν υπάρχει δηλαδή ανθρώπινο πρόσωπο από την στιγμή της ένωσης των δύο γαμετών, τότε η έρευνα στο πεδίο των εμβρυικών βλαστοκυττάρων παρουσιάζει ανυπέρβλητους ηθικούς ενδοιασμούς. Φυσικά, αμέσως τίθενται ερωτήματα, κατά πόσον το έμβρυο *in vitro* είναι άνθρωπος (δηλαδή γενικότερα, πότε αρχίζει η ζωή): το αν έχει δικαιώματα (αν είναι δηλαδή «πρόσωπο», με τη νομική έννοια του όρου) και ποια: το πότε τα αποκτά, ούτως ώστε να δικαιούται προστασίας: και το αν, μέχρις ότου τα απόκτησε, μπορεί να θεωρείται αντικείμενο.

Η προστασία του εμβρύου εξαρτάται άμεσα από το ηθικό status που αποδίδεται σε αυτό και για το οποίο έχουν εκφραστεί διαφορετικές απόψεις. Σύμφωνα με την ιατρική επιστήμη το γονιμοποιημένο ωάριο των δεκατεσσάρων πρώτων ημερών δεν αποτελεί εξατομικευμένη

ανθρώπινη ζωή, δεν έχει αποκτήσει οντολογική ενότητα και είναι αδύνατον να αναπτυχθεί μόνο του έξω από τη μήτρα της μητέρας (84). Συνεπώς, δεν μπορεί να του αναγνωριστεί ανάλογη αξία με εκείνη του ανθρώπου. Στον αντίποδα, βέβαια, κύκλοι με διαφορετικές θρησκευτικές πεποιθήσεις διαφωνούν θεωρώντας ότι το έμβρυο από τη στιγμή της σύλληψης του φέρει το ανθρώπινο status και συνιστά μια πλήρη ψυχοσωματική οντότητα (85). Βέβαια, αξίζει να αναφερθεί, πως η δημιουργία in vitro εμβρύου, δε σημαίνει πάντοτε και εξέλιξη, διότι πολλά δεν εξελίσσονται σε πρόσωπα (86). Επομένως πρέπει να απολαμβάνει τα δικαιώματα του προσώπου, που καθίσταται ολοκληρωμένη οντότητα; Αν αυτό συμβαίνει από την πρώτη στιγμή της σύλληψης, τη στιγμή της ένωσης των δύο γαμετών, η χρήση των βλαστοκυττάρων του εμβρύου, δεν είναι ηθικά αποδεκτή και επιτρεπτή (87).

Απαραίτητη προϋπόθεση για τη λήψη βλαστικών κυττάρων από γονιμοποιημένα ωάρια, αποτελεί η λήψη της έγγραφης συναίνεσης των δοτών του γεννητικού υλικού, αφού τα γονιμοποιημένα αυτά ωάρια αποτελούν στοιχεία της προσωπικότητάς τους δεδομένου ότι φέρουν το dna τους. Η συναίνεση αυτή πρέπει να δίνεται από τους δότες αφού έχει προηγηθεί η κατάλληλη πληροφόρησή τους για συγκεκριμένη χρήση των εμβρύων και καθώς υπάρχει πιστοποιημένη διαβεβαίωση πως το έμβρυο δε θα χρησιμοποιηθεί για αναπαραγωγικούς σκοπούς τρίτων και ακόμα πως η άρνηση της συναίνεσης του ενδιαφερόμενου δεν θα έχει αρνητικές συνέπειες σε μελλοντικές ανάγκες ιατρικής περίθαλψης.

Ακόμα ένα πολύ σοβαρό ηθικό δίλημμα σχετίζεται με τον κίνδυνο εμπορευματοποίησης του εμβρύου, γεγονός που στις ημέρες μας δυστυχώς λαμβάνει χώρα συνεχώς. Απαγορεύεται από σύγχρονο δίκαιο να γίνονται σχετικές συμφωνίες ή να παρέχεται κάποιο οικονομικό αντάλλαγμα κατά τη λήψη των βλαστοκυττάρων για λόγους προστασίας των δοτών του γεννητικού υλικού από την εκμετάλλευση τρίτων. Εντούτοις, βέβαια, στην πράξη δεν είναι εύκολο να εξασφαλιστεί πως δεν γίνονται τέτοιου είδους παράνομες συμφωνίες. Η Εθνική Επιτροπή Βιοηθικής έχει τονίσει πως η έρευνα για σκοπούς μη ιατρικούς θεωρείται ανήθικη, όπως επίσης και η έρευνα η οποία επεκτείνεται πέρα από τα πρώιμα στάδια της εμβρυακής ανάπτυξης. Η έρευνα πρέπει να έχει ως αποκλειστικό σκοπό τη θεραπεία και σε καμία περίπτωση δεν πρέπει η δωρεά βλαστοκυττάρων να καταστεί εμπορική συναλλαγή. (88)

Αναφορικά με τον πτωματικό εμβρυακό ιστό ύστερα από άμβλωση ως πηγή βλαστοκυττάρων, πρέπει καταρχάς να επισημανθεί ότι η άμβλωση είναι επιτρεπτή τους τρεις πρώτους μήνες της κύησης και για συγκεκριμένους λόγους. Επομένως εφόσον δοθεί η συναίνεση της γυναίκας που κυοφορούσε για την απομόνωση των βλαστοκυττάρων από το νεκρό έμβρυο νόμιμης άμβλωσης

δεν εντοπίζονται ιδιαίτερα ηθικά διλήμματα. Στην αντίθετη περίπτωση μη ύπαρξης σχετικής συναίνεσης, η χρήση του εμβρύου οδηγεί σε προσβολή της προσωπικότητας της γυναίκας και γι' αυτό το λόγο πρέπει να αποκλειστεί. Προκειμένου να αποφευχθεί οποιαδήποτε εμπορευματοποίηση πρέπει η γυναίκα να λάβει όλες τις απαραίτητες πληροφορίες πριν δώσει τη συγκατάθεση της για τη χρήση του εμβρυακού ιστού.

Η λήψη σωματικών βλαστοκυττάρων από ενήλικο πρόσωπο δεν παρουσιάζει ιδιαίτερα ηθικά διλήμματα, καθώς δεν τίθεται σε κίνδυνο ο άνθρωπος. Προϋποθέτει, ωστόσο την προηγούμενη έγκυρη συναίνεσή του και σαφώς προκειμένου να αποφευχθεί οποιαδήποτε πρόθεση εμπορευματοποίησης την απαγόρευση προηγούμενης συμφωνίας που περιέχει οικονομικό αντάλλαγμα. Ορθό θα ήταν να απαγορευθεί η απομόνωση σωματικών βλαστοκυττάρων από ανήλικο για πειραματικούς σκοπούς. Κάτι τέτοιο μπορεί να επιτραπεί για θεραπευτικούς σκοπούς του ανηλίκου, εφόσον τηρούνται ανάλογες με την περίπτωση των μεταμοσχεύσεων εγγυήσεις προστασίας του προσώπου του ανηλίκου.

Μια τελευταία πηγή προμήθειας βλαστικών κυττάρων είναι και αυτή από πρώιμους οργανισμούς που έχουν δημιουργηθεί με κλωνοποίηση. Σημειωτέον ότι απαγορεύεται ρητά από τη διεθνή νομοθεσία η αναπαραγωγική κλωνοποίηση. Μιλάμε, λοιπόν, για θεραπευτική κλωνοποίηση, όταν είναι δυνατό να ληφθούν απλά βλαστικά κύτταρα στις πρώτες ημέρες της εξέλιξης του κλωνοποιημένου οργανισμού, χωρίς να επιτραπεί η περαιτέρω ανάπτυξή του και με δεδομένο ότι μετά θα καταστραφεί. Η τεχνική αυτή συναντά εμπόδια τόσο όσο προς τη νομοθεσία αλλά και ως προς τους ηθικούς ενδοιασμούς που παρουσιάζει. Είναι νομικά ανεπίτρεπτη η θεραπευτική κλωνοποίηση καθώς δημιουργούνται έμβρυα για ερευνητικούς σκοπούς, κάτι το οποίο απαγορεύεται όπως αναφέρθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο. Επομένως, απαγορεύεται η λήψη βλαστικών κυττάρων από οργανισμούς που δημιουργούνται με κλωνοποίηση επί τούτου και με αποκλειστικό σκοπό την έρευνα στα βλαστοκύτταρα (89).

Η Εθνική Επιτροπή Βιοηθικής, βέβαια, επισημαίνει ότι η δημιουργία εμβρύων για θεραπευτικούς σκοπούς με την τεχνική της κλωνοποίησης και η απομόνωση βλαστοκυττάρων από αυτά δεν πρέπει να αποκλεισθεί, εφ' όσον δεν υπάρχει εναλλακτική θεραπευτική τεχνική. Εδώ πρέπει να τονιστεί ότι στο Πρόσθετο Πρωτόκολλο της Σύμβασης, όπου απαγορεύεται ρητά η δημιουργία εμβρύων με την τεχνική της κλωνοποίησης για αναπαραγωγικούς σκοπούς, αναφέρεται ότι «ορισμένες τεχνικές κλωνοποίησης μπορούν να προσφέρουν στην επιστημονική γνώση και την ιατρική της εφαρμογή». Βάσει αυτού, η Επιτροπή θεωρεί ότι η θεραπευτική

κλωνοποίηση πρέπει να εξαιρείται από τη γενική απαγόρευση του 18 της Σύμβασης του Συμβουλίου της Ευρώπης για τα Ανθρώπινα Δικαιώματα και τη Βιοϊατρική (90).

Τέλος, όσον αφορά στο ηθικό δίλλημα που δημιουργείται αναφορικά με την φύλαξη του ομφαλοπλακουντιακού αίματος (ΟπΑ) σε ιδιωτική ή σε δημόσια τράπεζα υπάρχουν διαφορετικές απόψεις. Από τη μία πλευρά η αρχή της αλληλεγγύης προστάζει την ετερόλογη χρήση αυτού, δηλαδή τη φύλαξη του σε δημόσιες τράπεζες και την αξιοποίηση του από τρίτους, στους οποίους παρέχεται δωρεάν όταν παραστεί ανάγκη. Στον αντίλογο, μία δεύτερη άποψη διάκειται υπέρ της χρήσης των κυττάρων από τον ίδιο το δότη και συνεπώς προάγει την αυτόλογη κυρίως μεταμόσχευση και τη λειτουργία των ιδιωτικών τραπεζών (91). Το βασικό προτέρημα της ιδιωτικής φύλαξης είναι η δυνατότητα αξιοποίησης του δείγματος μόνο από το δωρητή και η μηδαμινή πιθανότητα απόρριψής του από τον οργανισμό του. Το ενδεχόμενο, όμως, αξιοποίησής του αποκλειστικά από το δότη είναι αμελητέο και η επιμονή στην αυτόλογη μεταμόσχευση αδρανοποιεί την συνεισφορά του εκάστοτε πολίτη στην ευμάρεια της κοινωνίας μας (92).

ΝΟΜΙΚΑ ΖΗΤΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΑΝΑΚΥΠΤΟΥΝ ΑΠΟ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Στο συγκεκριμένο κεφάλαιο θα αναλυθεί το νομοθετικό πλαίσιο, το οποίο καλύπτει τη χρήση των βλαστοκυττάρων. Χαρακτηριστικό είναι πως τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μεγαλύτερη ανοχή ως προς τις αρχές που διέπουν την χρήση ανθρώπινων βλαστοκυττάρων στον άνθρωπο έναντι της αυστηρότητας των προηγούμενων δεκαετιών (93).

Δεδομένης της συνεχώς εξελισσόμενης ιατρικής επιστήμης, το Συμβούλιο της Ευρώπης προχώρησε το 1997 στη σύναψη της Σύμβασης του Οβιέδο για τα Ανθρώπινα Δικαιώματα και τη Βιοϊατρική, η οποία κυρώθηκε από την Ελλάδα και ενσωματώθηκε στην ελληνική έννομη τάξη με υπερνομοθετική ισχύ βάσει του άρθρου 28 του Συντάγματος με τον Ν. 2619/1998 (ΦΕΚ Α' 132/19.06.1998). Στη συγκεκριμένη σύμβαση αποτυπώθηκαν οι βασικές αρχές που πρέπει να διέπουν την άσκηση του ιατρικού λειτουργήματος, την επιστημονική ιατρική έρευνα και την επεξεργασία του ανθρώπινου γονιδιώματος. Χαρακτηριστικά, στο προοίμιο της Συμβάσεως αναφέρεται επί λέξει πως τα κράτη- μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης συνομολόγησαν τους όρους της Σύμβασης «Έχοντας επίγνωση των επιταχυνόμενων εξελίξεων στη Βιολογία και την Ιατρική», «Έχοντας επίγνωση ότι η κατάχρηση της Βιολογίας και της Ιατρικής ενδέχεται να οδηγήσει σε πράξεις που θέτουν σε κίνδυνο την ανθρώπινη αξιοπρέπεια», καθώς και «Επιβεβαιώνοντας ότι η πρόοδος της Βιολογίας και της Ιατρικής πρέπει να χρησιμοποιείται επ' ωφελεία της παρούσας και των μελλοντικών γενεών».

Η πλειοψηφία των νομικών ζητημάτων που ανακύπτουν γύρω από τη χρήση των βλαστοκυττάρων είναι σε άμεση συνάρτηση με τις πηγές λήψης αυτών, οι οποίες δύνανται να είναι είτε έμβρυα είτε ενήλικες. Η Σύμβαση του Οβιέδο απαγορεύει τη δημιουργία ανθρώπινων εμβρύων για ερευνητικούς σκοπούς, ενώ σε εξαιρετικές περιπτώσεις όπου ο νόμος την επιτρέπει το άρθρο 18 παρ. 1 ορίζει πως πρέπει να εξασφαλίζεται η επαρκής προστασία τους (94).

Ωστόσο, ενόψει των ραγδαίων εξελίξεων η Σύμβαση του Οβιέδο είναι φανερό πως δεν καθίστατο ικανή να καλύψει πολλά νομικά ζητήματα που εμφανίζονταν γύρω από την αναπαραγωγή και την έρευνα στα έμβρυα. Γι' αυτό το λόγο προέκυψε η ανάγκη επανεξέτασης του τρόπου που αντιμετωπιζόταν η έρευνα γύρω από τα εμβρυακά βλαστοκύτταρα. Το νομικό

κενό ήρθε να καλύψει η ψήφιση δύο νόμων, ο Ν. 3089/2002 (ΦΕΚ Α' 327/23-12-2002) με τίτλο «Ιατρική υποβοήθηση στην ανθρώπινη αναπαραγωγή» και ο Ν. 3305/2005 με τίτλο «Εφαρμογή της ιατρικώς υποβοηθούμενης αναπαραγωγής».

Ο Ν. 3089/2002 έρχεται να επιλύσει το πρώτο σημαντικό ζήτημα γύρω από την έρευνα βλαστοκύτταρα εκείνα που προέρχονται από την κυριότερη πηγή λήψης αυτών, δηλαδή από τα πλεονάζοντα γονιμοποιημένα ωάρια που περισσεύουν ύστερα από τη διαδικασία της τεχνητής γονιμοποίησης. Όπως ο νόμος αναφέρει, είναι επιτρεπτή η λήψη βλαστοκυττάρων από πλεονάζοντα γονιμοποιημένα ωάρια από εξωσωματική γονιμοποίηση. Η άδεια παραχωρείται μόνο για τις δεκατέσσερις πρώτες ημέρες από τη γονιμοποίηση, υιοθετώντας ο νομοθέτης την άποψη ότι στα γονιμοποιημένα ωάρια των δεκατεσσάρων πρώτων ημερών δεν υπάρχει εξατομικευμένη ζωή. Ειδικότερα, μετά το πέρας των δεκατεσσάρων ημερών το γονιμοποιημένα ωάρια επιβάλλεται να καταστρέφονται, ώστε να μην υπάρχει η δυνατότητα διεξαγωγής πειραμάτων, καθώς υπό φυσιολογικές συνθήκες θα σχηματίζονταν μία ανθρώπινη ζωή από αυτά (95).

Παράλληλα στον Αστικό κώδικα και συγκεκριμένα στο άρθρο 1459 ΑΚ, όπως αυτό αντικαταστάθηκε από το πρώτο άρθρο του ως άνω νόμου, υπάρχει πρόβλεψη για το πλεονάζον γεννητικό υλικό, καθώς ορίζει πως «τα πρόσωπα που προσφεύγουν σε τεχνητή γονιμοποίηση αποφασίζουν με κοινή έγγραφη δήλωσή τους προς τον ιατρό ή τον υπεύθυνο του ιατρικού κέντρου, η οποία λαμβάνεται πριν από την έναρξη της σχετικής διαδικασίας, ότι οι κρυοσυντηρημένοι γαμέτες και τα κρυοσυντηρημένα γονιμοποιημένα ωάρια που δε θα χρησιμοποιηθούν για την τεκνοποίηση: α) Θα διατεθούν χωρίς αντάλλαγμα, κατά προτεραιότητα σε άλλα πρόσωπα, που θα επιλέξει ο ιατρός ή το ιατρικό κέντρο. β) Θα χρησιμοποιηθούν χωρίς αντάλλαγμα για ερευνητικούς ή θεραπευτικούς σκοπούς. γ) Θα καταστραφούν. Αν δεν υπάρχει κοινή δήλωση των ενδιαφερομένων προσώπων, οι γαμέτες και τα γονιμοποιημένα ωάρια διατηρούνται για χρονικό διάστημα πέντε ετών από τη λήψη ή τη δημιουργία τους και μετά την πάροδο του χρόνου αυτού είτε χρησιμοποιούνται για ερευνητικούς ή θεραπευτικούς σκοπούς είτε καταστρέφονται. Τα μη κρυοσυντηρημένα γονιμοποιημένα ωάρια καταστρέφονται μετά τη συμπλήρωση δεκατεσσάρων ημερών από τη γονιμοποίηση. Ο τυχόν ενδιάμεσος χρόνος κρυοσυντήρησής τους δεν υπολογίζεται». Από το συγκεκριμένο άρθρο προκύπτει πως το πλεονάζον γεννητικό υλικό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ερευνητικούς και θεραπευτικούς σκοπούς, δηλαδή να αποτελέσει πηγή λήψης βλαστοκυττάρων (96).

Ο Ν. 3305/2005 έρχεται να συμπληρώσει τον Ν. 3089/2002, ρυθμίζοντας λεπτομερώς τους κανόνες λειτουργίας των μονάδων ιατρικώς υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και τραπεζών κρυοσυντήρησης. Στο άρθρο 11 παρ. 2 αναφέρεται ρητά πως επιτρέπεται η έρευνα σε πλεονάζοντα γονιμοποιημένα ωάρια προκειμένου «να μελετηθεί η βιολογία των εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων και οι πιθανές θεραπευτικές τους χρήσεις» εντός των πρώτων δεκατεσσάρων ημερών από τη γονιμοποίηση. Στον συγκεκριμένο νόμο γίνεται πλέον ξεκάθαρα λόγος για έρευνα σε εμβρυακά βλαστοκύτταρα, σε αντίθεση το άρθρο 1459 ΑΚ όπου υπονοούνταν (96). Ο Ν. 3305/2005 έρχεται ακόμα να προβλέψει ποινικές κυρώσεις στις περιπτώσεις επεξεργασίας του γεννητικού υλικού μετά τις δεκατέσσερις πρώτες ημέρες.

Πηγή λήψης βλαστοκυττάρων αποτελούν, επίσης, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, και οι πρώιμοι ανθρώπινοι οργανισμοί, οι οποίοι έχουν δημιουργηθεί με τη διαδικασία της κλωνοποίησης και έχουν ληφθεί πριν από την δέκατη τέταρτη ημέρα. Το ζήτημα, όμως εξακολουθεί να παραμένει αμφιλεγόμενο, καθώς όπως αναφέρθηκε ως άνω βάσει του άρθρου 18 παρ. 2 της Σύμβασης του Οβιέδο η δημιουργία εμβρύων για ερευνητικούς σκοπούς απαγορεύεται. Ωστόσο από την διατύπωση του άρθρου 1455 παρ. 1 εδ. γ', το οποίο απαγορεύει ρητά μόνο την αναπαραγωγική κλωνοποίηση, την αντίστοιχη διάταξη του Πρόσθετου Πρωτόκολλου της Σύμβασης του Οβιέδο, αλλά και από το άρθρο 2 παρ. 3 εδ. β' του Ν. 3305/2005 η θεραπευτική κλωνοποίηση επιτρέπεται. (97)

Μία ακόμα πηγή βλαστοκυττάρων αποτελούν τα λεγόμενα «ενήλικα βλαστοκύτταρα». Πρόκειται για βλαστοκύτταρα που προέρχονται από ιστούς του ανθρώπινου σώματος, όπως το αίμα, τον μυελό των οστών ή το δέρμα με κυρίαρχο ρόλο του μέσα στον οργανισμό την διατήρηση, την ανασύσταση και την αναζωογόνηση των φθαρμένων ιστών. Δεν είναι πολυδύναμα αλλά ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία και αναπρογραμματισμό μπορούν να εξελιχθούν και σε κύτταρα άλλων τύπων (98). Η χρήση των ενήλικων βλαστικών κυττάρων ως μέσα έρευνας και θεραπείας ασθενειών δεν εγείρουν κρίσιμα νομικά ζητήματα όπως τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα, δεδομένου ότι η παραγωγή αυτών δεν απαιτεί την καταστροφή εμβρύου, δλδ ζώντος ανθρώπινου όντος. Σε αυτήν την περίπτωση γίνεται εφαρμογή της Σύμβασης του Οβιέδο, ώστε να εξασφαλιστεί η προστασία του προσώπου σε περίπτωση βιοϊατρικών πειραμάτων, καθώς και των συνταγματικών διατάξεων περί της προστασίας της ανθρώπινης αξίας (άρθρο 2 Σ) και της προσωπικότητας (άρθρο 5 Σ).

Τέλος, βλαστοκύτταρα δύνανται να ληφθούν από πτωματικό εμβρυακό ιστό μετά από άμβλωση ή αποβολή (99). Η άμβλωση αποτελεί περίπτωση επιτρεπτής καταστροφής γενετικού υλικού και

βάσει της διάταξης του άρθρου 304 παρ. 4 εδ. γ' ΠΚ είναι επιτρεπτή τους τρεις πρώτους μήνες της εγκυμοσύνης, υπό τις προϋποθέσεις που ορίζει το άρθρο (97). Φαίνεται, να υπάρχει κενό, όμως, στην ελληνική νομοθεσία σχετικά με το ποιος μπορεί να αποφασίσει για τη χρήση των νεκρών εμβρύων εκτός από τη γυναίκα, εάν δηλαδή μπορεί επίσης ο γιατρός ή ο σύζυγος.

Σύμφωνα με το ισχύον σήμερα νομοθετικό πλαίσιο, ήτοι το ν. 3984/2011 *όσον αφορά τη δωρεά-μεταμόσχευση οργάνων και ο οποίος, μεταξύ των άλλων, διέπει και τις τράπεζες ΟΠΑ, συμπληρώνοντας το Π.Δ. 26/2008 (ΦΕΚ 51/Α/24-03-2008), με το οποίο ενσωματώνεται στην ελληνική έννομη τάξη η Οδηγία 2004/23/ΕΚ, οι δραστηριότητες ελέγχου, επεξεργασίας, συντήρησης, αποθήκευσης ή διανομής ιστών και κυττάρων προοριζομένων για εφαρμογή στον άνθρωπο ανατίθενται στα αποκαλούμενα «ιδρύματα ιστών» (άρθρο 52 παρ. 1 του Ν. 3984/2011).*

Το Π.Δ. 26/2008 καθορίζει και το οικονομικό αντάλλαγμα των δοτών στην Ελλάδα, ορίζοντας ότι οι δωρεές κυττάρων είναι σε κάθε περίπτωση εθελοντικές και μη αμοιβόμενες (97.). Το ανθρώπινο σώμα και τα συστατικά του δεν είναι δεκτικά εμπορευματοποίησης. Προβλέπεται ότι κάθε δραστηριότητα προώθησης και διαφήμισης για την ύπαρξη δωρεάς ανθρωπίνων κυττάρων, διέπεται από τις διατάξεις της υπάρχουσας σχετικής νομοθεσίας στο πλαίσιο του μη κερδοσκοπικού χαρακτήρα και της απαγόρευσης ανταλλάγματος για την δωρεά.

Η ανάδειξη του ομφαλοπλακουντιακού αίματος ως ανθρώπινου υλικού μεγάλης ιατρικής αξίας δημιούργησε την ανάγκη για την φύλαξη και την διατήρηση του. Προς το σκοπό αυτό έχουν δημιουργηθεί τράπεζες βλαστοκυττάρων, δημόσιου και ιδιωτικού χαρακτήρα, στις οποίες οι γονείς μπορούν να αποθηκεύσουν το ΟΠΑ του νεογέννητου παιδιού τους σε συνθήκες κρυοσυντήρησης.

Το άρθρο 55 του ν. 3984/2011 ορίζει πως οι δημόσιες τράπεζες λειτουργούν σε νοσηλευτικά ιδρύματα Νομικού Προσώπου Δημοσίου Δικαίου ή Νομικού Προσώπου Ιδιωτικού Δικαίου κοινωφελούς και μη κερδοσκοπικού χαρακτήρα. Εξαιτίας της φύση των τραπεζών αυτών αλλά και του νομοθετικού πλαισίου που τις περιβάλλει, οι τράπεζες αυτές τοποθετούνται εκτός ιδιωτικής πρωτοβουλίας και επιχειρηματικότητας. Στη χώρα μας βάσει της ως άνω διάταξης λειτουργεί η Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος στο Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (Ι.Ι.Β.Ε.Α.Α) από το 2003 (100).

Παράλληλα, στο άρθρο 52 παρ. 2 εδ. β' του ν. 3984/2011 γίνεται πρόβλεψη των ιδιωτικών τραπεζών βλαστοκυττάρων ή ομφαλοπλακουντιακού αίματος (ΙΤΒ), οι οποίες χαρακτηρίζονται

από τον νόμο ως ιδρύματα ιστών, στα οποία πραγματοποιείται έλεγχος, συντήρηση, αποθήκευση και διανομή αποκλειστικά ΟπΑ, για μελλοντική χρήση του με θεραπευτικό σκοπό είτε για αυτόλογη είτε αλλογενή μεταμόσχευση σε συγγενικό ή τρίτο πρόσωπο, εάν ο δότης συμφωνεί. Αξίζει να αναφερθεί πως με βάση τη συνταγματικώς κατοχυρωμένη οικονομική ελευθερία (άρθρο 5 παρ. 1 Σ) δεν υπάρχει κώλυμα άσκησης της σχετικής επιχειρηματικής δραστηριότητας, η οποία στοχεύει στη συλλογή, επεξεργασία, και την συντήρηση των βλαστικών κυττάρων ώστε να δύνανται να χρησιμοποιηθούν, σε περίπτωση που παραστεί ανάγκη, για θεραπευτικούς σκοπούς (100). Σημαντική προϋπόθεση είναι βέβαια, να μην παραβιάζεται το Σύνταγμα, τα «δικαιώματα των άλλων» και τα χρηστά ήθη δηλαδή οι ηθικοκοινωνικές αντιλήψεις που επικρατούν στη χώρα μας.

Άλλωστε το άρθρο 52 παρ. 5 του Ν. 3984/2011 ορίζει πως η παροχή υπηρεσιών με σκοπό το κέρδος είναι καταρχήν επιτρεπτή. Κατά συνέπεια, δεν πρόκειται για εκμετάλλευση του ανθρώπινου σώματος. Ως απαγορευμένη πρέπει όμως να θεωρείται οποιαδήποτε δικαιοπραξία, που ενέχει την εμπορία ΟπΑ, αφού θα παραβιάζει τη αρχή της μη εμπορευματοποίησης του ανθρώπινου σώματος. Είναι ευρέως γνωστό, στο Διεθνές δίκαιο, στο δίκαιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης καθώς και στις περισσότερες ευρωπαϊκές έννομες τάξεις ότι το ανθρώπινο σώμα και τα συστατικά του δεν επιδέχονται εμπορευματοποίηση. Στο ελληνικό δίκαιο, η αρχή αυτή προβλέπεται μέσα στη νομοθεσία για τη διαχείριση του αίματος (άρθρο 1 του ν. 3402/2005), στη νομοθεσία για τις μεταμοσχεύσεις (άρθρο 2 του ν. 2737/1999), στη νομοθεσία για την τεχνητή αναπαραγωγή (άρθρο 1459 Α.Κ. παρ. α' και β') και κυρίως στο άρθρο 21 της Σύμβασης του Οβιέδο, η οποία ενσωματώθηκε στο ελληνικό δίκαιο με το ν. 2619/1998, όπου χαρακτηριστικά αναφέρεται: «Το ανθρώπινο σώμα και τα τμήματά του δεν αποτελούν, ως τέτοια, πηγή οικονομικού οφέλους». Δεδομένων των ως άνω, δεν τίθεται ζήτημα ανηθικότητας λόγω καταβολής χρηματικού ποσού γιατί οι δότες δεν πληρώνουν το ΟπΑ αυτό καθ' αυτό, αλλά τις απαιτούμενες ενέργειες γύρω από το ΟπΑ (101). Επομένως, δεν υπάρχει ζήτημα παραβίασης των χρηστών ηθών όπως ορίζεται στο άρθρο 5 § 1 του Συντάγματος και 178 Α.Κ.

Η σύμβαση παροχής υπηρεσιών συλλογής, επεξεργασίας, φύλαξης και συντήρησης ΟπΑ έναντι ανταλλάγματος αποτελεί μεικτή σύμβαση έργου (681 επ. ΑΚ) και παρακαταθήκης (822 επ. ΑΚ). Η σύμβαση πρέπει να υπογράφεται αφενός από τον ιατρό, γυναικολόγο – μαιευτήρα και το Ίδρυμα Ιστών της ΙΤΒ και αφετέρου από τους ασκούντες τη γονική μέριμνα του νεογνού, δηλαδή και από τους δύο γονείς, με βεβαίωση του γνησίου της υπογραφής από δημόσια αρχή, ενώ δύναται να ανακαλείται ελευθέρως (άρθρο 50 παρ. 3 του Ν. 3984/2011).

Πριν από τη σύναψη της σύμβασης οι ΙΤΒ φέρουν απολύτως την υποχρέωση της ενημέρωσης των αντισυμβαλλόμενων γονέων σε δύο στάδια, που απέχουν μεταξύ τους ικανό χρονικό διάστημα και τουλάχιστον τρεις μήνες πριν τον τοκετό (άρθρο 48 § 4 του Ν. 3984/2011). Η ενημέρωση πρέπει να παρέχεται με όρους κατανοητούς, να είναι πλήρης, αντικειμενική και να μην καλλιεργεί αβάσιμες προσδοκίες. Περαιτέρω, η ενημέρωση πρέπει να αφορά τουλάχιστον στα πιο πρόσφατα δεδομένα της επιστήμης σχετικά με τη δυνατότητα χρήσης ΟπΑ για θεραπευτικούς σκοπούς, τα αναμενόμενα οφέλη της αυτόλογης χρήσης σε αντιδιαστολή με τα οφέλη της αλλογενούς. Έμφαση πρέπει να δίνεται στη διάκριση των τραπεζών ΟπΑ σε ιδιωτικές και δημόσιες και στη διάκριση της φύλαξης ΟπΑ για αυτόλογη και αλλογενή χρήση, συγγενική ή μη. Η ενημέρωση αφορά επίσης στην οικονομική επιβάρυνση του δότη (άρθρο 48 § 3 του Ν. 3984/2011). Η ενημέρωση πρέπει να αποδεικνύεται με την υπογραφή σχετικού εντύπου (άρθρο 48 § 4 του Ν. 3984/2011). (Καλαμπούκα- Γιαννοπούλου Π.: Η υποχρέωση ενημέρωσης και η ευθύνη του φορέα αποθήκευσης βλαστικών κυττάρων. Εφαρμογές αστικού δικαίου & πολιτικής δικονομίας, 2014, pp: 361.)

Άλλη μία σημαντική παράμετρος που πρέπει να αναφερθεί είναι και η προστασία των προσωπικών δεδομένων που πρέπει να τηρείται από τις τράπεζες φύλαξης βλαστοκυττάρων. Η προστασία της ιδιωτικής ζωής των επιμέρους ασθενών και η εμπιστευτικότητα των δεδομένων που διαθέτουν αποτελεί ευθύνη όλων των προσώπων που τα διαχειρίζονται και είναι απαραίτητη για την προστασία των ατομικών δικαιωμάτων και των κοινών προσδοκιών.

Εκτός από το βιολογικό υλικό που συλλέγει και επεξεργάζεται μία τράπεζα ΟπΑ, συγκεντρώνει και το πλήρες οικογενειακό ιατρικό ιστορικό των γονέων και του νεογνού. Τα δεδομένα αυτά αποτελούν «ευαίσθητα προσωπικά δεδομένα», ως δεδομένα σχετικά με την υγεία, για τη συλλογή και την επεξεργασία των οποίων απαιτείται ο διορισμός υπευθύνου επεξεργασίας ή προηγούμενη άδεια της Αρχής Προστασίας Δεδομένων Προσωπικού Χαρακτήρα και η σύσταση σχετικού αρχείου. Η ασφάλεια των παραπάνω στοιχείων πρέπει να πληρεί τις προδιαγραφές του ΠΔ 26/2008, το οποίο παράλληλα ορίζει την υποχρεωτική τήρηση της ανωνυμίας των δοτών και των ληπτών.

Καθώς, λοιπόν, η έρευνα στα ανωτέρω θέματα συνεχώς εξελίσσεται και καθώς προκύπτουν νέα δεδομένα και προκλήσεις, οι δικαιοκοί κανόνες που καλούνται και που θα κληθούν στο μέλλον να 'ντύνουν' νομικά τις όποιες εξελίξεις, λαμβάνοντας υπόψη -εκτός από το ήδη υπάρχον δίκαιο- και άλλες παραμέτρους ηθικής και κοινωνικής φύσης, θα είναι πάντα μία πρόκληση για τους επιστήμονες.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα βλαστοκύτταρα αποτελούν πεδίο αιχμής στη σύγχρονη ερευνητική δραστηριότητα, σήμερα ίσως και περισσότερο από ποτέ. Τα νέα δεδομένα που προκύπτουν όσον αφορά τις ιδιότητες τους, θα βοηθήσουν στην ανεύρεση δυνητικών θεραπειών με εφαρμογή στα εκφυλιστικά νοσήματα, την αναγεννητική ιατρική και φυσικά στην θεραπεία των νεοπλασμάτων. Στη συστηματική αυτή ανασκόπηση αναπτύσσονται οι κατηγορίες των βλαστικών κυττάρων και τα βασικά στοιχεία της φυσιολογίας και της διαφοροποίησής τους. Ακολούθως, πραγματοποιείται αναφορά στα καρκινικά βλαστοκύτταρα και στις διαφορές τους από τα φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα. Τα τελευταία χρόνια λαμβάνουν χώρα πολλά διαφορετικά ερευνητικά προγράμματα, κατά τα οποία γίνεται προσπάθεια τα χρησιμοποιηθούν τα βλαστοκύτταρα, και κυρίως τα μεσεγχυματικά, για την θεραπεία του καρκίνου. Τα εξωσώματα που παράγονται από τα μεσεγχυματικά κύτταρα, καθώς και τα ίδια έχουν δοκιμαστεί ως μεταφορείς τόσο φαρμάκων όσο και πρωτεϊνών, ώστε να ανασταλεί η μεταστατικότητα των όγκων. Επίσης, έχει βρεθεί ότι τα ίδια τα κύτταρα αυτά εκκρίνουν ανασταλτικές ως προς την ανάπτυξη των όγκων ουσίες. Από την άλλη πλευρά, η ανάπτυξη και η αξιοποίηση του κλάδου αυτού ως προς το όφελος της υγείας του ανθρώπου, άπτεται ηθικών διλημμάτων καθώς και νομικών ζητημάτων, που απαιτούν λεπτομερές πλέον νομικό πλαίσιο.

Λέξεις κλειδιά: βλαστοκύτταρα, αντικαρκινική θεραπεία, νομικό πλαίσιο

ABSTRACT

Stem cells are the leading field in modern research, today perhaps more than ever. The new data on their properties will help to find potential treatments with application to degenerative diseases, regenerative medicine and of course to the treatment of tumors. In this systematic review, the categories of stem cells and the basic elements of their physiology and differentiation are developed. Next, reference is made to cancer stem cells and their differences from normal stem cells. In recent years, many different research programs have taken place, during which an attempt is made to use stem cells, and especially mesenchymal cells, for the treatment of cancer. Exosomes produced by mesenchymal cells, as well as themselves, have been tested as carriers of both drugs and proteins to inhibit tumor metastasis. It has also been found that these cells themselves secrete substances than inhibit tumor growth. On the other hand, the development and utilization of this sector for the benefit of human health, touches on ethical dilemmas as well as legal issues, which require a more detailed legal framework.

Key words: stem cells, anti-tumor therapy, legal framework

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- (1) Deans, RJ and Moseley, A.B., Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp. Hematol.* 2000; 28, 875-884.
- (2) Mitalipov S, Wolf D, Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming, *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2009;114:185-99.
- (3) Yu J and Thomson A J, Pluripotent stem cell lines, *Genes Dev.* 2008; 22: 1987-1997.
- (4) Overturf, K, al- Dhalimy, M, Ou. C.N., et al, Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult mouse hepatocytes. *Am. J. Pathol.*1997; 151, 1273-1280.
- (5) Shigeru Chiba, Concise Review: Notch Signaling in Stem Cell Systems, *STEM CELLS* 2006;24:2437–2447.
- (6) Sharpless E.N. and. DePinho A.R., Telomeres, stem cells, senescence, and cancer, *J. Clin. Invest.* 2004; 113:160–168.
- (7) Fong C.Y. and Bongso A., Comparison of human blastulation rates and total cell number in sequential culture media with and without co-culture. *Hum. Reprod* 1999; 14, 774-781.
- (8) Scadden T.D. The stem cell niche as an entity of action. *Nature* 2006; 441:1075-1079.
- (9) Bjorklund L.M., Sanchez-Parnate R., Chung S., et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99, 2344-2349
- (10) Bjorklund A. and Lindvall O. Self repair in the brain. *Nature* 2000, 405, 892-895.
- (11) Shambloott M.J., Axelman J., Littlefield J.W., et al. Human embryonic germ cell derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; 98, 113-118
- (12) Perryman V.S., Sylvester G.K. Repair and regeneration: opportunities for carcinogenesis from tissue stem cells. *J.Cell Mol Med.* 2006; 10:292-308
- (13) Wacharaprechanont T. Fetal stem cell: from research to clinical use. *J Med Assoc Thai.* 2005;88 Suppl 2:S133-7.
- (14) Zhong XY, Zhang B, Asadollahi R, Low SH, Holzgreve W. Umbilical cord blood stem cells: what to expect. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1205:17-22.
- (15) Lee M.W, Jang IK, Yoo KH, Sung KW, Koo HH. Stem and progenitor cells in human umbilical cord blood. *Int J Hematol.* 2010; 92(1):45-51.

- (16) Insausti CL, Blanquer M, Bleda P, Iniesta P, Majado MJ, Castellanos G, Moraleda JM. The amniotic membrane as a source of stem cells. *Histol Histopathol.* 2010; 25(1):91-8.
- (17) Brazelton T.R., et al. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 2000; 290 (5497),1775-1779.
- (18) Mezery E., et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science* 2000; 290 (5497), 1779-1782.
- (19) Krause D.S., et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow derived stem cell. *Cell* 2001; 105 (3),369-377.
- (20) Kirschstein R.L. and Ruffin J. A call to action. *Public Health Rep.* 116, 515-516.
- (21) Jiang Y.,et al. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle and brain. *Exp. Hematol.* 2002; 30(8), 896- 904.
- (22) Burness ML, Sipkins DA. The stem cell niche in health and malignancy. *Semin Cancer Biol.* 2010; 20(2):107-15.
- (23) Verfaillie C.M. Adult stem cells: assessing the case for pluripotency. *Trends Cell Biol.* 2002; 12, 502-508.
- (24) Fuchs E. and Segre J.A. Stem cells: a new lease on life. *Cell* 2000; 100 (1), 143-155.
- (25) Martin-Rendon E. and Watt S.M. Stem cell plasticity. *Br. J. Haematol.* 2003; 122, 877-879.
- (26) Makino S. Fukuda K., Miyoshi S., et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J. Clin. Invest* 1999; 103, 697-705.
- (27) Sumer H, Liu J, Verma PJ. The use of signalling pathway inhibitors and chromatin modifiers for enhancing pluripotency. *Theriogenology.* 2010; 74(4):525-33.
- (28) Liu J, Sato C, Cerletti M, Wagers A. Notch signaling in the regulation of stem cell self-renewal and differentiation. *Curr Top Dev Biol.* 2010; 92:367-409.
- (29) Rizo A., Vellenga E., de Haan G., Schuringa J.J. Signaling pathways in self renewing hematopoietic and leukemic stem cells: do all stem cells need a niche?. *Human Molecular Genomics* 2006; 15:210-219.
- (30) Knoblich JA. Asymmetric cell division: recent developments and their implications for tumour biology. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010; 11(12):849-860.
- (31) Theise ND. Stem cell plasticity: recapping the decade, mapping the future. *Exp Hematol.* 2010; 38(7):529-539.
- (32) Nystul G.T., Spradling C.A. Breaking out of the mold:diversity within adult stem cells and their niches. *Cur.Opin.Gen. & Dev.* 2006; 16:463-468.
- (33) Scadden T.D. The stem cell niche as an entity of action. *Nature* 2006; 441:1075-1079.

- (34) Zhang J., Niu C., Ye L., Haiyang H., HeX., Tong W.G., Ross J., Jeff Haug, et al. Identification of the hematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature* 2003; 425:836-841.
- (35) Blanpain C, Fuchs E. Epidermal stem cells of the skin. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2006; 22:339-73.
- (36) Seuntjens E, Umans L, Zwijsen A, Sampaolesi M, Verfaillie CM, Huylebroeck D. Transforming Growth Factor type beta and Smad family signaling in stem cell function. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009; 20(5-6):449-58.
- (37) von Holst A. Tenascin C in stem cell niches: redundant, permissive or instructive? *Cells Tissues Organs.* 2008; 188(1-2):170-7.
- (38) Pitulescu ME, Adams RH. Eph/ephrin molecules--a hub for signaling and endocytosis. *Genes Dev.* 2010; 24(22):2480-92.
- (39) Theman TA, Collins MT. The role of the calcium-sensing receptor in bone biology and pathophysiology. *Curr Pharm Biotechnol.* 2009; 10(3):289-301.
- (40) Calandra G, Bridger G, Fricker S. CXCR4 in clinical hematology. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2010; 341:173-91.
- (41) Sparrow R. Therapeutic cloning and reproductive liberty. *J Med Philos.* 2009; 34(2):102-118.
- (42) Craig T. Jordan, Monica L. Guzman, and Mark Noble,. Mechanisms of Disease Cancer Stem Cells *N Engl J Med* 2006; 355:1253-61.
- (43) Nie D. Cancer stem cell and niche. *Front Biosci (Schol Ed).* 2010; 2:184-93.
- (44) Ishii H., Doki Y. and Mori M. Perspective beyond Cancer Genomics: Bioenergetics of Cancer Stem Cells. *Yonsei Med J* 2010; 51(5):617-621.
- (45) Nie D. Cancer stem cell and niche. *Front Biosci (Schol Ed).* 2010; 2:184-93.
- (46) Shay JW, Wright WE. Telomeres and telomerase in normal and cancer stem cells. *FEBS Lett.* 2010; 584(17):3819-25.
- (47) Dominguez-Brauer C, Brauer PM, Chen YJ, Pimkina J, Raychaudhuri P. Tumor suppression by ARF: gatekeeper and caretaker. *Cell Cycle.* 2010; 9(1):86-9.
- (48) Groszer M., Erickson R., Scripture-Adams D.D., Dougherty D.J., Le Belle J., Zack A.J., et al. Pten negatively regulates neural stem cell self renewal by modulating G0-G1 cell cycle entry. *PNAS* 2006; 103:111-116
- (49) Zhang J., Grindley C. J., Yin T., Joyasinghe S., He C.X., Ross T.J., et al. Pten maintains haematopoietic stem cells and acts in lineage choice and leukaemia prevention. *Nature* 2006; 441:518-522.

- (50) Warburg O. On respiratory impairment in cancer cells. *Science* 1956; 124:269-70.
- (51) Garber K. Energy deregulation: licensing tumors to grow. *Science* 2006; 312:1158-9.
- (52) Willis RA. The spread of tumors in the human body. London, 1952, Butterworth
- (53) Συμεωνίδης Α. Εισαγωγή εις τα νεοπλάσματα, Θεσσαλονίκη 1971.
- (54) Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Neoplasia. In *Pathologic basis of disease*, SL Robbins and RS Cotran (eds), Elsevier Saunders 2005, pp 269-342.
- (55) Underwood JCE. Carcinogenesis and neoplasia. In *General and systematic pathology*. JCE Underwood (ed). Churchill Livingstone, Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto 2004, pp 223-262.
- (56) Brunstein C.G., Wagner J.E., Umbilical Cord Blood Transplantation And Banking, *Annual Review Medicine*, 2006, 57:403-17.
- (57) Gluckman E. , Umbilical Cord Blood Biology And Transplantation, *Current Opinion In Hematology*, 1995, 2 : 413-6.
- (58) Y. Lee, S. El Andaloussi, and M. J. A. Wood, Exosomes and microvesicles: extracellular vesicles for genetic information transfer and gene therapy. *Human Molecular Genetics*, vol. 21.
- (59) D. Chen, Y. Sun, Y. Yuan et al., “miR-100 induces epithelial mesenchymal transition but suppresses tumorigenesis, migration and invasion,” *PLoS Genetics*, vol. 10, no. 2, Article ID e1004177, 2014.
- (60) H. Li and F. Li, “Exosomes from BM-MSCs increase the population of CSCs via transfer of miR-142-3p,” *British Journal of Cancer*, vol. 119, no. 6, pp. 744–755, 2018.
- (61) A. M. Roccaro, A. Sacco, P. Maiso et al., “BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression,” *e Journal of Clinical Investigation*, vol. 123, no. 4, pp.1542–1555, 2013.
- (62) Y. Zhang, W. Dong, J. Wang, J. Cai, and Z. Wang, “Human omental adipose-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium alters the proteomic profile of epithelial ovarian cancer cell lines in vitro,” *OncoTargets and Therapy*, vol. 10, pp. 1655–1663, 2017
- (63) S. Kim, H.-J. Sohn, H.-J. Lee et al., “Use of engineered exosomes expressing HLA and costimulatory molecules to generate antigen-specific CD8(+) T cells for adoptive cell therapy,” *Journal of Immunotherapy*, vol. 40, no. 3, pp. 83–93, 2017.
- (64) D. S. Chulpanova, K. V. Kitaeva, L. G. Tazetdinova, V. James, A. A. Rizvanov, and V. V. Solovyeva, “Application of mesenchymal stem cells for therapeutic agent delivery in anti-tumor treatment,” *Frontiers in Pharmacology*, vol. 9, p. 259, 2018.

- (65) J. Zhang, L. Hou, X. Wu et al., "Inhibitory effect of genetically engineered mesenchymal stem cells with Apoptin on hepatoma cells in vitro and in vivo," *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 416, no. 1-2, pp. 193–203, 2016.
- (66) A. Pessina, V. Cocc`e, L. Pascucci et al., "Mesenchymal stromal cells primed with Paclitaxel attract and kill leukaemia cells, inhibit angiogenesis and improve survival of leukaemia-bearing mice," *British Journal of Haematology*, vol. 160, no. 6, pp. 766– 778, 2013.
- (67) S. Duchi, G. Sotgiu, E. Lucarelli et al., "Mesenchymal stem cells as delivery vehicle of porphyrin loaded nanoparticles: effective photoinduced in vitro killing of osteosarcoma," *Journal of Controlled Release*, vol. 168, no. 2, pp. 225–237, 2013.
- (68) A. Bonomi, N. Steimberg, A. Benetti et al., "Paclitaxel-releasing mesenchymal stromal cells inhibit the growth of multiple myeloma cells in a dynamic 3D culture system," *Hematological Oncology*, vol. 35, no. 4, pp. 693–702, 2017.
- (69) A. T. Brini, V. Cocc`e, L. M. J. Ferreira et al., "Cell-mediated drug delivery by gingival interdental papilla mesenchymal stromal cells (GinPa-MSCs) loaded with paclitaxel," *Expert Opinion on Drug Delivery*, vol. 13, no. 6, pp. 789–798, 2016.
- (70) A. Nakamizo, F. Marini, T. Amano et al., "Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas," *Cancer Research*, vol. 65, no. 8, pp. 3307–3318, 2005.
- (71) C. Ren, S. Kumar, D. Chanda et al., "Cancer gene therapy using mesenchymal stem cells expressing interferon-beta in a mouse prostate cancer lung metastasis model," *Gene therapy*, vol. 15, no. 21, pp. 1446–1453, 2008.
- (72) S. M. Kim, J. H. Oh, S. A. Park et al., "Irradiation enhances the tumor tropism and therapeutic potential of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-secreting human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in glioma therapy," *Stem Cells*, vol. 28, no. 12, pp. 2217–2228, 2010.
- (73) B. Yan, Q. Chen, K. Shimada et al., "Histone deacetylase inhibitor targets CD123/CD47-positive cells and reverse chemoresistance phenotype in acute myeloid leukemia," *Leukemia*, 2018.
- (74) H. Okada and I. F. Pollack, "Cytokine gene therapy for malignant glioma," *Expert Opinion on Biological Therapy*, vol. 4, no. 10, pp. 1609–1620, 2004.
- (75) X. Xu, G. Yang, H. Zhang, and G. D. Prestwich, "Evaluating dual activity LPA receptor pan-antagonist/autotaxin inhibitors as anti-cancer agents in vivo using engineered human tumors," *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, vol. 89, no. 3-4, pp. 140–146, 2009.

- (76) J. Veevers-Lowe, S. G. Ball, A. Shuttleworth, and C.M. Kielty, "Mesenchymal stem cell migration is regulated by fibronectin through alpha 5 beta 1-integrin-mediated activation of PDGFR beta and potentiation of growth factor signals," *Journal of Cell Science*, vol. 124, no. 8, pp. 1288–1300, 2011.
- (77) A. M. Roccaro, A. Sacco, W. G. Purschke et al., "SDF-1 inhibition targets the bone marrow niche for cancer therapy," *Cell Reports*, vol. 9, no. 1, pp. 118–128, 2014.
- (78) S. P. Monga, "Beta-Catenin Signaling and Roles in Liver Homeostasis, Injury, and Tumorigenesis," *Gastroenterology*, vol. 148, no. 7, pp. 1294–1310, 2015.
- (79) V. R. Dasari, K. Kaur, K. K. Velpula et al., "Upregulation of PTEN in glioma cells by cord blood mesenchymal stem cells inhibits migration via downregulation of the PI3K/Akt pathway," *PLoS ONE*, vol. 5, no. 4, Article ID e10350, 2010.
- (80) N. Wu, Y. Zhang, H. Wang et al., "Overexpression of hepatocyte nuclear factor 4alpha in human mesenchymal stem cells suppresses hepatocellular carcinoma development through Wnt/beta-catenin signaling pathway downregulation," *Cancer Biology & Therapy*, vol. 17, no. 5, pp. 558–565, 2016.
- (81) H. Niess, J. C. von Einem, M. N. Thomas et al., "Treatment of advanced gastrointestinal tumors with genetically modified autologous mesenchymal stromal cells (TREAT-ME1): study protocol of a phase I/II clinical trial," *BMC Cancer*, vol. 15, no. 1, p. 237, 2015.
- (82) M. T. Schweizer, H. Wang, T. J. Bivalacqua et al., "A phase I study to assess the safety and cancer-homing ability of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells in men with localized prostate cancer," *Stem Cells Translational Medicine*, vol. 8, no. 5, pp. 441–449, 2019.
- (83) Kevin Fitzgerald, *Human embryonic stem cell research –ethics in the face of uncertainty* στο *Stem cell research new frontiers in science and ethics* edited by Nancy Snow ,Indiana, USA 2003 σ.25
- (84) Μυρτώ Δράγωνα-Μονάχου, *Η βιοηθική ανάμεσα στην επιστήμη και τη φιλοσοφία-Βλαστοκύτταρα*, σελ. 12-16.
- (85) Φανάρας, Βασ *Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή - Ηθικοκοινωνική Προσέγγιση, Θεσσαλονίκη: «Το Παλίμψηστον», 2000.*
- (86) Elisabeth Harman, "How is the Ethics of Stem Cells Research different from the Ethics of Abortion" στο *Stem Cell Research, The Ethical Issues*, edited by Lori Gruen, Grabel κλπ., Great Britain 2007, σ. 71-72.
- (87) Elisabeth Harman, *μν.εργ.σ.* 73-74.

- (88) Alexander McCall Smith-Michel Revel, 2001, The use of embryonic stem cells in therapeutic research, σελ.12.
- (89) Καϊάφα-Γκμπάντι Μ., Κουνουγέρη- Μανωλεδάκη Ε., Συμεωνίδου-Καστανίδου Ε., Βλαστοκύτταρα, Δημοσιεύματα Ιατρικού Δικαίου και Βιοηθικής 2010, σελ. 51-57.
- (90) ΕΘΝΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΒΙΟΗΘΙΚΗΣ: Εισήγηση : Για τη χρήση των βλαστοκυττάρων στη βιοϊατρική έρευνα και την κλινική ιατρική, 2001.
- (91) Παπαχρίστου Θ. Κ., Μήτρου Λ., Βιδάλης Τ., Ξηρός Θ., 2010, Τράπεζες βλαστοκυττάρων, Αθήνα-Θεσσαλονίκη, σελ. 7-8.
- (92) Παπαχρίστου Θ. Κ., Μήτρου Λ., Βιδάλης Τ., Ξηρός Θ., op.cit., σελ. 151-156.
- (93) Έφη Κουνουγέρη – Μανωλεδάκη, βλαστοκύτταρα: Νομικά ζητήματα και Νομοθετικές προβλέψεις, in Χρ ΙΔ θ/2009 σ. 385 επ, της ίδιας, Σπέρμα, ωάριο και γονιμοποιημένο ωάριο που βρίσκονται έξω από το ανθρώπινο σώμα. – Η νομική του φύση και μεταχείριση κατά τον Αστικό Κώδικα, Αρμ. 1999, σ. 465.
- (94) Νικολόπουλος Π. Οριακά ζητήματα Βιοηθικής – Νομικής, Σύνταξη 1998 68:6
- (95) Κουνουγέρη- Μανωλεδάκη Ε., Βλαστοκύτταρα: Νομικά ζητήματα και νομοθετικές προβλέψεις, 2009, σελ. 385.
- (96) Αποστολίδης Δ., Η ελληνική νομοθεσία για την έρευνα στα βλαστοκύτταρα: Άγνοια ή σκοπιμότητα του νομοθέτη, Ιατρική Σήμερα, τεύχος 54: 24-26.
- (97) Καϊάφα-Γκμπάντι Μ., Κουνουγέρη-Μανωλεδάκη Ε., Συμεωνίδου- Καστανίδου Ε., op.cit., σελ. 26.
- (98) Λ.Λεφάκης Ευρεσιτεχνίες ανθρώπινων βλαστοκυττάρων, εκδόσεις Σάκκουλα 2006 σ. 30
- (99) Πρβλ. Έφης Κουνουγέρη - Βλαστοκύτταρα: Νομικά ζητήματα ο.π.π. Χρ ΙΔ σ. 385 επ.
- (100) Τζίβα, Ε., Τράπεζες φύλαξης βλαστοκυττάρων (ομφαλοπλακουντιακού αίματος): Αθέμιτες εμπορικές πρακτικές και ζητήματα ασφαλιστικής κάλυψης, ΧρΙδΔ/2018, τ. 1, σελ. 10.
- (101) Παπαχρίστου Θ. Κ., Μήτρου Λ., Βιδάλης Τ., Ξηρός Θ., op.cit. , σελ. 189-191