

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

« ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ »

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

« ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΤΟΥ ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΟΥ ΚΑΙ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ »

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΠΑΠΠΑ

ΑΘΗΝΑ, ΜΑΪΟΣ 2022

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, κυρία Δέσποινα Μαυρογιάννη, για την πολύτιμη καθοδήγηση και υποστήριξη. Οι επισημάνσεις και οι συμβουλές που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκειας εκπόνησης της διπλωματικής μου αποδείχτηκαν εξαιρετικά χρήσιμες και καθοριστικές προς την πορεία υλοποίησής της. Ευχαριστώ επίσης θερμά και τα υπόλοιπα μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, τον κ. Πέτρο Δρακάκη και τον κ. Σοφοκλή Σταύρο, για τον χρόνο που διέθεσαν και τη σημαντική συμβολή τους στην επιτυχή ολοκλήρωση της εργασίας μου.

Περίληψη

Η παρούσα εργασία μελετά την αναγέννηση του ενδομήτριου από βλαστοκύτταρα. Το ενδομήτριο υφίσταται περίπου 450 κύκλους πολλαπλασιασμού, διαφοροποίησης, διάσπασης, αποβολής και επιδιόρθωσης κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής μιας γυναίκας. Η ανακάλυψη των ενδομήτριων βλαστοκυττάρων αντιπροσωπεύει μια αλλαγή παραδείγματος για τη χρήση ενηλίκων βλαστοκυττάρων, προσφέροντας μια νέα θεραπευτική εφαρμογή αναγεννητικής ιατρικής. Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της περιόδου, το ενδομήτριο, το μυελό των οστών και τον ομφάλιο λώρο δρουν στην αναγέννηση του κατεστραμμένου ενδομήτριου μέσω άμεσης διαφοροποίησης ή παρακρινών επιδράσεων. Η επιτυχής εφαρμογή αυτών των βλαστοκυττάρων στη θεραπεία της ατροφίας του ενδομήτριου, των εκτεταμένων ενδομήτριων συμφύσεων και των ουλών βελτιώνει την έμμηνο ρύση και συμβάλει στην ενίσχυση της γυναικείας γονιμότητας. Παρόλα αυτά, είναι αναγκαίο να δημιουργηθούν αποτελεσματικές τεχνικές για την επιτυχή αναγέννηση του κατεστραμμένου ενδομήτριου μετά από όγκους στο αναπαραγωγικό σύστημα και ειδικά μετά από καρκίνο του ενδομήτριου.

Λέξεις κλειδιά: Ενδομήτριο, Αναγέννηση ενδομήτριου, Βλαστοκύτταρα, Ενήλικα βλαστοκύτταρα, Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου

Abstract

The present study studies the regeneration of the endometrium by stem cells. The endometrium undergoes approximately 450 cycles of multiplication, differentiation, disintegration, elimination and repair during a woman's reproductive life. The discovery of endometrial stem cells represents a paradigm shift in the use of adult stem cells, offering a new therapeutic application of regenerative medicine. Adult stem cells derived from the blood of the period, the endometrium, the bone marrow and the umbilical cord act on the regeneration of the damaged endometrium through direct differentiation or side effects. Successful application of these stem cells in the treatment of endometrial atrophy, extensive endometrial adhesions and scarring improves menstruation and helps enhance female fertility. However, it is necessary to develop effective techniques for the successful regeneration of the damaged endometrium after tumors in the reproductive system and especially after endometrial cancer.

Keywords: Endometrium, Endometrial regeneration, Stem cells, Adult stem cells, Mesenchymal endometrial stem cells

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες 2

Περίληψη 3

Abstract 4

Περιεχόμενα 5

Κατάλογος Εικόνων 7

Εισαγωγή 8

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 10

Κεφάλαιο 1 - Το Ενδομήτριο 10

1.1 Δομή και μορφολογία του ενδομήτριου 10

1.2 Κυκλικές μεταβολές του ενδομήτριου 12

1.3 Παθήσεις που σχετίζονται με το ενδομήτριο 18

Κεφάλαιο 2 - Τα Βλαστοκύτταρα 22

2.1 Ορισμός και ιδιότητες 22

2.2 Ιδιότητες 23

2.3 Εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα 25

2.4 Ενήλικα βλαστοκύτταρα 28

2.5 Επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα 35

2.6 Θεραπεία με βλαστοκύτταρα 38

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 40

Κεφάλαιο 3 - Αναγέννηση Ενδομήτριου και Βλαστοκύτταρα 40

3.1 Βιολογικοί μηχανισμοί αποκατάστασης του ενδομήτριου 40

3.2 Βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου 42

3.2.1 Δείκτες ανθρώπινων βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου 42

3.2.2 Ανοσογονικότητα, δυναμικότητα και διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου 46

3.3 Αναγέννηση ενδομήτριου από βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου 48

3.3.1 Ενήλικα βλαστοκύτταρα στο ανθρώπινο ενδομήτριο 53

3.3.2 Ενδομήτρια επιθηλιακά προγονικά κύτταρα 56

3.3.3 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα 57

3.3.4 Πλευρικά κύτταρα πληθυσμού 59

3.4 Δημιουργία ανθρώπινου ενδομήτριου από ανθρώπινα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα 60

3.5 Αναγέννηση ενδομήτριου από ενήλικα βλαστοκύτταρα 62

3.5.1 Βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως 65

3.5.2 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου 68

3.5.3 Βλαστοκύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών και κύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών 70

3.5.4 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα προερχόμενα από τον ομφάλιο λώρο 75

3.5.5 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από λιπώδη ιστό 76

3.5.6 Άλλα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από ιστό 77

Επίλογος 78

Βιβλιογραφία 81

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1. Ιστολογία του ανθρώπινου ενδομήτριου κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου 13

Εικόνα 2. Ιστολογικές μεταβολές του ενδομήτριου κατά την διάρκεια του έμμηνου κύκλου 18

Εικόνα 3. Αλλαγές στην ισχύ των βλαστοκυττάρων στην ανάπτυξη του ανθρώπινου σώματος 25

Εικόνα 4. Καλλιέργεια εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων 28

Εικόνα 5. Ενήλικα βλαστοκύτταρα 34

Εικόνα 6. Παραγωγή επαγόμενων πολυδύναμων βλαστοκυττάρων 38

Εικόνα 7. Ροοκυτταρομετρική ανάλυση δεικτών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου 46

Εικόνα 8. Ανθρώπινα βλαστοκύτταρα ενδομητρίου 49

Εικόνα 9. Ορόσημα στην αναγνώριση, απομόνωση και χαρακτηρισμό βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου 49

Εικόνα 10. Απομόνωση βλαστοκυττάρων ενδομήτριου 52

Εικόνα 11. Πιθανές θεραπείες με βάση βλαστοκύτταρα/προγονικά κύτταρα για την ανακατασκευή ανεπαρκούς ανθρώπινου ενδομητρίου 55

Εικόνα 12. Οι ρόλοι των ενήλικων βλαστοκυττάρων για την αναγέννηση του ενδομήτριου 63

Εικόνα 13. Εντοπισμός ανθρώπινων ενδομητριακών βλαστοκυττάρων/προγονικών κυττάρων 64

Εικόνα 14. Πηγές και χαρακτηριστικά των βλαστοκυττάρων που συμβάλλουν στην αναγέννηση του ενδομήτριου 64

Εικόνα 15. Θεραπευτικά αποτελέσματα της μεταμόσχευσης βλαστοκυττάρων που προέρχονται από μυελό των οστών για ασθενείς με σύνδρομο Asherman 75

Εισαγωγή

Το ανθρώπινο ενδομήτριο υφίσταται περίπου 450 κύκλους πολλαπλασιασμού, διαφοροποίησης, διάσπασης, αποβολής και επιδιόρθωσης κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής μιας γυναίκας. Το ενδομήτριο αποτελείται από δύο στρώματα. Η βάση βρίσκεται δίπλα στο μυϊκό μυομήτριο και δεν αποβάλλεται κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως, και από αυτό το στρώμα προκύπτει το ανώτερο στρώμα του ενδομήτριου, το λειτουργικό, κατά τη διάρκεια κάθε εμμηνορροϊκού κύκλου (Gargett & Ye, 2012).

Η κυρίαρχη στην οιστραδιόλη πολλαπλασιαστική φάση ξεκινά περίπου την 4η ημέρα ενός μέσου κύκλου, διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό του αδενικού επιθηλίου, των αγγείων και του στρώματος. Η οιστραδιόλη προετοιμάζει το ενδομήτριο για τις δομικές αλλαγές που θα υποστεί κατά την εκκριτική φάση προκαλώντας έκφραση που εξαρτάται από οιστρογόνο του υποδοχέα προγεστερόνης. Κατά την εκκριτική φάση, η προγεστερόνη εκκρίνεται από το ωχρό σωμάτιο μετά την ωορρηξία. Ο πολλαπλασιασμός των επιθηλιακών κυττάρων μειώνεται, τα στρωματικά κύτταρα υφίστανται κυτταρική μεγέθυνση για να γίνουν προκαταρκτικά κύτταρα. Κατά τη φάση της μέσης εκκρίσεως, λαμβάνει χώρα η αποκέντρωση των προκαταρκτικών κυττάρων κάτω από το επιθήλιο του αυλού και γύρω από τα σπειροειδή αρτηρίδια (Critchley et al., 2020).

Απουσία εμφυτευμένης βλαστοκύστης, το ωχρό σωμάτιο υποχωρεί με αποτέλεσμα τη γρήγορη μείωση της παραγωγής στεροειδών που προέρχονται από τις ωοθήκες. Η απόσυρση της προγεστερόνης ξεκινά την έμμηνο ρύση, έναν καταρράκτη γεγονότων που έχει ως αποτέλεσμα την αποσπασματική αποβολή του λειτουργικού ιστού και την αποβολή του ιστού μέσω του κόλπου. Ενώ η αιμορραγία προς τα έξω μπορεί να διαρκέσει έως και 5 ημέρες σε ορισμένες γυναίκες, οι διαδικασίες αποκατάστασης έχουν ξεκινήσει από την 1η ημέρα. Μελέτες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης δείχνουν ότι η επανεπιθηλιοποίηση του ενδομήτριου συμβαίνει εντός 48 ωρών και αποσπασματικά. Το ενδομήτριο είναι μοναδικό στο ότι εμφανίζει απαράμιλλη αναδιαμόρφωση ιστού μετά την έμμηνο ρύση, με αποτέλεσμα έναν ιστό χωρίς ουλές. Επιπλέον, αυτή η διαδικασία λαμβάνει χώρα σε περιβάλλον με εξάντληση

στεροειδών ορμονών, όπως αποδεικνύεται σε ζωικά μοντέλα ενδομήτριας αποκατάστασης (Okada, Tsuzuki & Murata, 2018).

Η επανεπιθηλιοποίηση του ενδομήτριου θεωρείται ότι συμβαίνει με δύο μηχανισμούς. Ο πρώτος προτάθηκε από τους Novak και Te Linde το 1924, οι οποίοι πρότειναν ότι το νέο αυλικό επιθήλιο προκύπτει από τους υπολειπόμενους βασικούς αδένες. Οι μελέτες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης του ενδομήτριου της εμμηνορροϊκής φάσης δείχνουν επιθηλιακές επεκτάσεις προσαρτημένες σε βασικούς αδένες. Ο δεύτερος μηχανισμός είναι αυτός της μετάβασης από μεσεγχυματικό σε επιθηλιακό όπου τα στρωματικά κύτταρα στη βασική ρίζα υφίστανται κυτταρικό μετασχηματισμό για να γίνουν νέα επιθηλιακά κύτταρα του αυλού. Μελέτες έχουν αναφέρει χαμηλό πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων κατά τη μεταεμμηνορροϊκή αποκατάσταση, μαζί με απομονωμένα επιθηλιακά κύτταρα στην επιφάνεια του ενδομήτριου, που δεν σχετίζονται με το αδενικό επιθήλιο (Huang et al., 2012; Patterson et al., 2013).

Η αναγέννηση του ενδομήτριου μετά την αποκατάσταση είναι μια διαδικασία εξαρτώμενη από τα οιστρογόνα, κατά την οποία το ενδομήτριο αναπτύσσεται από βάθος μετά την εμμηνόρροια 0,5 έως 7-8 mm κατά τη διάρκεια της μέσης πολλαπλασιαστικής φάσης. Αυτή η εξαιρετικά αναγεννητική ικανότητα πιθανότατα καθοδηγείται από πληθυσμούς βλαστοκυττάρων/προγονικών κυττάρων που βρίσκονται στη βάση (Cousins, Filby & Gargett, 2022).

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1 - Το Ενδομήτριο

1.1 Δομή και μορφολογία του ενδομήτριου

Το ενδομήτριο είναι το εσωτερικό επιθηλιακό στρώμα, μαζί με τη βλεννογόνο μεμβράνη του, της μήτρας των θηλαστικών. Έχει ένα βασικό στρώμα και ένα λειτουργικό στρώμα. Το λειτουργικό στρώμα πυκνώνει και στη συνέχεια απορρίπτεται κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως στον άνθρωπο και σε ορισμένα άλλα θηλαστικά (π.χ. πίθηκοι). Στα περισσότερα άλλα θηλαστικά, το ενδομήτριο επαναρροφάται στον οιστρικό κύκλο. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, οι αδένες και τα αιμοφόρα αγγεία στο ενδομήτριο αυξάνονται περαιτέρω σε μέγεθος και αριθμό. Οι αγγειακοί χώροι συγχωνεύονται και αλληλοσυνδέονται, σχηματίζοντας τον πλακούντα, ο οποίος παρέχει οξυγόνο και διατροφή στο έμβρυο (Garcia-Alonso et al., 2021).

Το ενδομήτριο αποτελείται από ένα ενιαίο στρώμα επιθηλίου συν το στρώμα στο οποίο στηρίζεται. Είναι ένα στρώμα συνδετικού ιστού που ποικίλλει σε πάχος ανάλογα με τις ορμονικές επιδράσεις. Στη μήτρα, απλοί σωληνοειδείς αδένες φτάνουν από την επιφάνεια του ενδομήτριου μέχρι τη βάση του στρώματος, το οποίο φέρει επίσης μια πλούσια παροχή αίματος που παρέχεται από τις σπειροειδείς αρτηρίες. Σε μια γυναίκα αναπαραγωγικής ηλικίας, διακρίνονται δύο στρώματα ενδομήτριου. Αυτά τα δύο στρώματα εμφανίζονται μόνο στο ενδομήτριο που καλύπτει την κοιλότητα της μήτρας και όχι στην επένδυση των σαλπίγγων (Critchley et al., 2020).

Το λειτουργικό στρώμα βρίσκεται δίπλα στην κοιλότητα της μήτρας. Αυτό το στρώμα συσσωρεύεται μετά το τέλος της εμμήνου ρύσεως κατά το πρώτο μέρος του προηγούμενου εμμηνορροϊκού κύκλου. Ο πολλαπλασιασμός προκαλείται από τα οιστρογόνα (θυλακική φάση του εμμηνορροϊκού κύκλου) και οι μετέπειτα αλλαγές σε αυτό το στρώμα προκαλούνται από την προγεστερόνη από το ωχρό σωμάτιο

(ωχρινική φάση). Είναι προσαρμοσμένο για να παρέχει το βέλτιστο περιβάλλον για την εμφύτευση και την ανάπτυξη του εμβρύου. Αυτό το στρώμα αποβάλλεται εντελώς κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως (Uhlén et al., 2015).

Η βασική στιβάδα, δίπλα στο μυομήτριο και κάτω από τη λειτουργική στιβάδα, δεν αποβάλλεται σε καμία στιγμή κατά τη διάρκεια του εμμηνορροϊκού κύκλου. Το λειτουργικό στρώμα αναπτύσσεται πάνω του. Ελλείψει προγεστερόνης, οι αρτηρίες που παρέχουν αίμα στο λειτουργικό στρώμα συστέλλονται, με αποτέλεσμα τα κύτταρα σε αυτό το στρώμα να γίνονται ισχαιμικά και να πεθαίνουν, οδηγώντας σε έμμηνο ρύση (Gibson et al.,2018).

Περίπου 20.000 γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες εκφράζονται σε ανθρώπινα κύτταρα και περίπου το 70% αυτών των γονιδίων εκφράζεται στο φυσιολογικό ενδομήτριο. Μόνο πάνω από 100 από αυτά τα γονίδια εκφράζονται πιο συγκεκριμένα στο ενδομήτριο με μόνο λίγα γονίδια να είναι ιδιαίτερα ειδικά για το ενδομήτριο. Οι αντίστοιχες ειδικές πρωτεΐνες εκφράζονται στα αδενικά και στρωματικά κύτταρα του βλεννογόνου του ενδομήτριου. Η έκφραση πολλών από αυτές τις πρωτεΐνες ποικίλλει ανάλογα με τον εμμηνορροϊκό κύκλο, για παράδειγμα ο υποδοχέας προγεστερόνης και η ορμόνη απελευθέρωσης θυροτροπίνης που εκφράζονται και οι δύο στην πολλαπλασιαστική φάση, και το PAEP εκφράζεται στην εκκριτική φάση. Άλλες πρωτεΐνες όπως η πρωτεΐνη HOX11 που απαιτείται για τη γονιμότητα των γυναικών, εκφράζονται σε ενδομήτρια κύτταρα στρωμάτων καθ 'όλη τη διάρκεια του εμμηνορροϊκού κύκλου. Ορισμένες συγκεκριμένες πρωτεΐνες όπως ο υποδοχέας οιστρογόνων εκφράζονται επίσης σε άλλους τύπους τύπων γυναικείων ιστών, όπως ο τράχηλος, οι σάλπιγγες, οι ωοθήκες και το στήθος (Zieba et al., 2015).

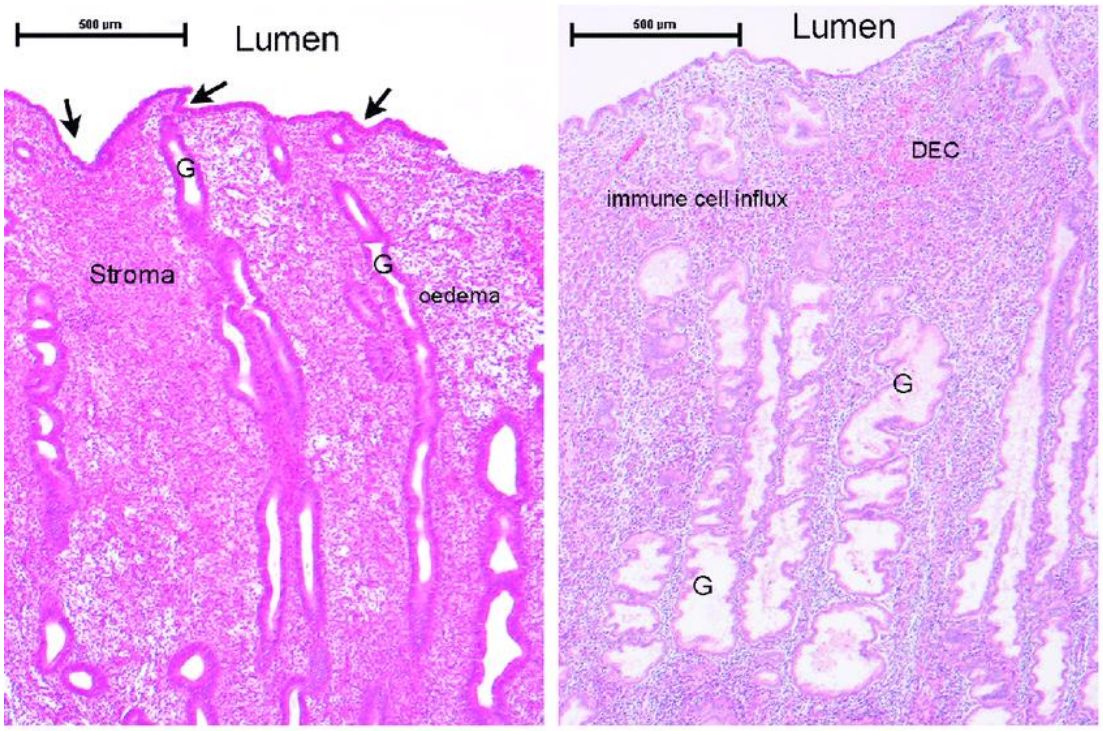
Το ενδομήτριο είναι το εσωτερικό στρώμα της μήτρας και λειτουργεί για να αποτρέψει τις προσκολλήσεις μεταξύ των απέναντι τοιχωμάτων του μυομητρίου, διατηρώντας έτσι την ευρυχωρία της κοιλότητας της μήτρας. Κατά τη διάρκεια του εμμηνορροϊκού κύκλου, το ενδομήτριο αναπτύσσεται σε ένα παχύ στρώμα αδενικού ιστού πλούσιο σε αιμοφόρα αγγεία. Αυτό αντιπροσωπεύει ένα βέλτιστο περιβάλλον για την εμφύτευση βλαστοκύστης κατά την άφιξή του στη μήτρα. Το ενδομήτριο είναι κεντρικό, ηχογενές (ανιχνεύσιμο χρησιμοποιώντας σαρωτές υπερήχων) και έχει μέσο πάχος 6,7 mm (Emera et al., 2012).

1.2 Κυκλικές μεταβολές του ενδομήτριου

Η ενδομήτρια επένδυση υφίσταται κυκλική αναγέννηση. Με τον εμμηνορροϊκό κύκλο, το ενδομήτριο πολλαπλασιάζεται αρχικά υπό την επίδραση των οιστρογόνων. Ωστόσο, μόλις εμφανιστεί ωορρηξία, η ωοθήκη (συγκεκριμένα το *corpus luteum*) θα παράγει πολύ μεγαλύτερες ποσότητες προγεστερόνης. Αυτό αλλάζει το πολλαπλασιαστικό μοτίβο του ενδομήτριου σε εκκριτική επένδυση. Τελικά, η εκκριτική επένδυση παρέχει ένα φιλόξενο περιβάλλον για μία ή περισσότερες βλαστοκύστες. Κατά τη γονιμοποίηση, το ωάριο μπορεί να εμφυτευτεί στο τοίχωμα της μήτρας και να δώσει ανατροφοδότηση στο σώμα με ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (HCG). Η HCG παρέχει συνεχή ανατροφοδότηση καθ 'όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης διατηρώντας το ωχρό σώμα, το οποίο θα συνεχίσει τον ρόλο του στην απελευθέρωση προγεστερόνης και οιστρογόνου. Η ενδομήτρια επένδυση απορροφάται ξανά (οιστρικός κύκλος) ή καταστρέφεται (εμμηνορροϊκός κύκλος). Στην τελευταία περίπτωση, η διαδικασία απόρριψης περιλαμβάνει τη διάσπαση της επένδυσης, το σχίσιμο των μικρών συνδετικών αιμοφόρων αγγείων και την απώλεια του ιστού και του αίματος που το είχε σχηματίσει μέσω του κόλπου. Ολόκληρη η διαδικασία λαμβάνει χώρα σε διάστημα αρκετών ημερών. Η εμμηνόρροια μπορεί να συνοδεύεται από μια σειρά συστολών της μήτρας. Αυτά βοηθούν στην αποβολή του ενδομήτριου της εμμήνου ρύσεως (Wingerd, 2014).

Σε περίπτωση εμφύτευσης, ωστόσο, η ενδομήτρια επένδυση δεν απορροφάται ούτε απορρίπτεται. Αντ 'αυτού, παραμένει ως *decidua* (ανάπτυξη του φθαρτού). Το *decidua* γίνεται μέρος του πλακούντα. Παρέχει υποστήριξη και προστασία για την κύηση. Εάν υπάρχει ανεπαρκής διέγερση της επένδυσης, λόγω έλλειψης ορμονών, το ενδομήτριο παραμένει λεπτό και αδρανές. Στους ανθρώπους, αυτό θα οδηγήσει σε αμηνόρροια ή απουσία περιόδου. Μετά την εμμηνόπαυση, η επένδυση περιγράφεται συχνά ως ατροφική. Αντίθετα, το ενδομήτριο που εκτίθεται χρονικά σε οιστρογόνα, αλλά όχι σε προγεστερόνη, μπορεί να γίνει υπερπλαστικό. Η μακροχρόνια χρήση από του στόματος αντισυλληπτικών μπορεί επίσης να προκαλέσει ατροφία του ενδομήτριου. Στους ανθρώπους, ο κύκλος οικοδόμησης και απόρριψης της ενδομητριακής επένδυσης διαρκεί κατά μέσο όρο 28 ημέρες. Διάφοροι παράγοντες, όπως οι εποχές, το κλίμα και το άγχος, μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξή του. Το ίδιο το

ενδομήτριο παράγει ορισμένες ορμόνες σε διαφορετικά στάδια του κύκλου και αυτό επηρεάζει άλλα μέρη του αναπαραγωγικού συστήματος (Βαβίλης & Μπόντης, 2017).



Εικόνα 1. Ιστολογία του ανθρώπινου ενδομήτριου κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου

(Πηγή: Gibson et al.,2018)

Οι κυκλικές μεταβολές του ενδομήτριου μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δυο φάσεις: παραγωγική φάση, εκκριτική φάση. Στις περισσότερες γυναίκες με κύκλους κανονικού μήκους (δηλαδή 28 ημερών), η εμμηνορροϊκή περίοδος διαρκεί 4 ± 1 ημέρες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, η επένδυση του ενδομήτριου υφίσταται ταχεία εκφυλισμό και αναγέννηση. Και τα δύο φαινόμενα είναι πιθανώς ανεξάρτητα από την ορμονική επίδραση, καθώς τα επίπεδα της οιστραδιόλης και της προγεστερόνης είναι χαμηλά. Στην αρχή της παραγωγικής φάσης, το ενδομήτριο είναι λεπτό (πάχους 1-2mm) (Mahajan & Sharma, 2016).

Η παραγωγική φάση εμφανίζεται από την ημέρα 1 έως την ημέρα 14 του εμμηνορροϊκού κύκλου, με βάση τη μέση διάρκεια των 28 ημερών. Η μεταβλητότητα στο μήκος του εμμηνορροϊκού κύκλου συμβαίνει λόγω διακυμάνσεων στο μήκος της ωοθυλακικής φάσης. Η κύρια ορμόνη κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης είναι τα

οιστρογόνα, συγκεκριμένα η 17-βήτα-οιστραδιόλη. Η αύξηση αυτής της ορμόνης συμβαίνει από την υπερβολική ρύθμιση των υποδοχέων FSH εντός του θυλακίου στην αρχή του κύκλου. Ωστόσο, καθώς η ωοθυλακική φάση προχωρά στο τέλος, οι αυξημένες ποσότητες 17-β-οιστραδιόλης θα παρέχουν αρνητική ανάδραση στην πρόσθια υπόφυση. Ο σκοπός αυτής της φάσης είναι η ανάπτυξη του ενδομήτριου στρώματος της μήτρας. Η 17-β-οιστραδιόλη το επιτυγχάνει αυξάνοντας την ανάπτυξη του ενδομήτριου στρώματος της μήτρας, διεγείροντας αυξημένες ποσότητες στρωμάτων και αδένων και αυξάνοντας το βάθος των αρτηριών που τροφοδοτούν το ενδομήτριο, τις σπειροειδείς αρτηρίες (Ugwumadu, 2014).

Τις ημέρες του κύκλου 28 και 1, το ενδομήτριο είναι παχύ, κόκκινο και μαλακό. Το στρώμα κάτω από το επιφανειακό επιθήλιο περιέχει λίμνες αίματος, κατακερματισμένα στρωματικά κύτταρα και φλεγμονώδες εξίδρωμα. Αυτά γίνονται γρήγορα γενικευμένα, με αποτέλεσμα μια τραχιά, εύθρυπτη, αιμορραγική επιφάνεια. Όταν φαίνεται σε διατομή, το λειτουργικό στρώμα του ενδομήτριου καταλαμβάνει τα άνω δύο τρίτα ολόκληρου του πάχους. Την 2η ημέρα του κύκλου, το λειτουργικό στρώμα αποδιοργανώνεται, και περιέχει προκαθορισμένα στρωματικά κύτταρα αναμεμιγμένα με επιθηλιακά αδενικά κύτταρα. Και τα δύο κυτταρικά συστήματα υφίστανται εκτεταμένο αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο που ξεκίνησε από μια ταχεία μείωση του κυκλοφορούντος οιστρογόνου και της προγεστερόνης τις προηγούμενες ημέρες. Αυτά τα συστηματικά επαγόμενα γεγονότα διαχέονται σε ολόκληρο τον ενδομήτριο βλεννογόνο των περιοχών του σώματος και του βυθού. Το ισθμικό ενδομήτριο δεν είναι σημαντικά ευαίσθητο σε κυκλικά ορμονικά ερεθίσματα. Το εμμηνορροϊκό υγρό αποτελείται από ιστό αναμεμιγμένο με ένα βαρύ πολυμορφοπυρηνικό εξίδρωμα, ερυθρά αιμοσφαίρια και πρωτεολυτικά ένζυμα. Ένα από τα τελευταία είναι η πλασμίνη πρωτεάσης του αίματος, η οποία αποτρέπει την πήξη του εμμηνορροϊκού αίματος. Οι ενεργοποιητές πλασμινογόνου, οι οποίοι μετατρέπουν το πλασμινογόνο σε πλασμίνη, βρίσκονται και απελευθερώνονται από εκφυλισμένο ενδομήτριο αγγειακό ενδοθήλιο (Altmäe et al., 2017).

Κατά τη διάρκεια των ημερών του κύκλου 1 και 2, η σύνθεση του πυρηνικού δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) είναι σχεδόν σε μηδενικό επίπεδο στο εκκριτικό λειτουργικό στρώμα του ενδομήτριου. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι τα κυτταρικά συστατικά του λειτουργικού στρώματος υφίστανται μη αναστρέψιμο κυτταρικό

τραυματισμό πριν αποβληθούν κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως. Κατά τις ημέρες κύκλου 2 και 3, η λειτουργική στιβάδα σταδιακά διασπάται από την υποκείμενη βασική στιβάδα, με αποτέλεσμα ένα λεπτό, απογυμνωμένο βασικό στρώμα με μια οδοντωτή επιφάνεια πάνω στην οποία ανοίγουν τα υπολείμματα βασικού αδένα. Ξεκινώντας την ημέρα 2 και για τις επόμενες 2 ημέρες, ο πολλαπλασιασμός του επιθηλίου των βασικών αδένων ξεκινά στις περιοχές μετουσίωσης. Η επιφάνεια του ενδομήτριου επανα-επιθηλιοποιείται καθώς το υπολειπόμενο αδενικό επιθήλιο απλώνεται πάνω από την απογυμνωμένη επιφάνεια. Μια άλλη πηγή επιφανειακού επιθηλίου είναι το επιφανειακό επιθήλιο των περιφερειακών περιοχών της ενδομητριακής κοιλότητας, όπως το κάτω τμήμα της μήτρας, τα οποία παραμένουν άθικτα κατά τη διάρκεια της εμμηνορροϊκής περιόδου. Η επακόλουθη ανάπτυξη των ενδοαναστολών μεταξύ των συγκλίνων επιθηλιακών πολλαπλασιασμών οδηγεί τελικά σε πλήρη ανασυγκρότηση ενός νέου επιφανειακού επιθηλίου κατά την ημέρα του κύκλου 5. Η πλήρης επανεπιθηλίωση της επιφάνειας συμπίπτει με την παύση της αιμορραγίας (Garry et al, 2010).

Μελέτες ανίχνευσης DNA έδειξαν ότι η αυξημένη σύνθεση DNA περιορίζεται στο βασικό στρώμα του σώματος και του βυθού της μήτρας και του παρακείμενου ισθμικού και περιτοναϊκού-ενδομητρικού βλεννογόνου του ενδομήτριου, τα οποία παραμένουν ανέπαφα κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως. Αυτή η αύξηση συμβαίνει μόνο μετά από πλήρη απογύμνωση του βασικού στρώματος κατά την ημέρα του κύκλου 3. Το μετεμμηνορροϊκό ενδομήτριο επιδιορθώνεται με κυτταρική μετανάστευση και αναπαραγωγή επιφανειακών επιφανειακών κυττάρων (Critchley et al, 2020).

Μετά την αρχική επιθηλιακή εξάπλωση, η διαίρεση των κυττάρων και η μετανάστευση λειτουργούν ταυτόχρονα έως ότου μια συρροή επιφανειακή στοιβάδα αναγεννηθεί κατά την ημέρα του κύκλου 5. Η ξαφνική αύξηση της σύνθεσης νουκλεϊκών οξέων και μια πολύ σύντομη φάση σύνθεσης DNA των αναγεννητικών κυττάρων οδηγεί σε επιταχυνόμενη εναλλαγή ιστών. Αυτά τα χαρακτηριστικά της μετανάστευσης και της επιταχυνόμενης εναλλαγής ιστών εξηγούν τη θεαματικά γρήγορη ικανότητα επούλωσης τραυμάτων του ανθρώπινου ενδομήτριου. Οι μηχανισμοί πρόκλησης πολλαπλασιασμού του ενδομήτριου στο τέλος της εμμήνου ρύσεως δεν φαίνεται να απαιτούν οιστραδιόλη. Πράγματι, κατά τις ημέρες 3 και 4 του

κύκλου, παρά την αυξημένη δραστικότητα του DNA, τα επίπεδα των οιστρογόνων και των υποδοχέων προγεστερόνης στο πλάσμα είναι χαμηλά και αμετάβλητα από τις προεμμηνορροϊκές τιμές (Garry et al, 2010).

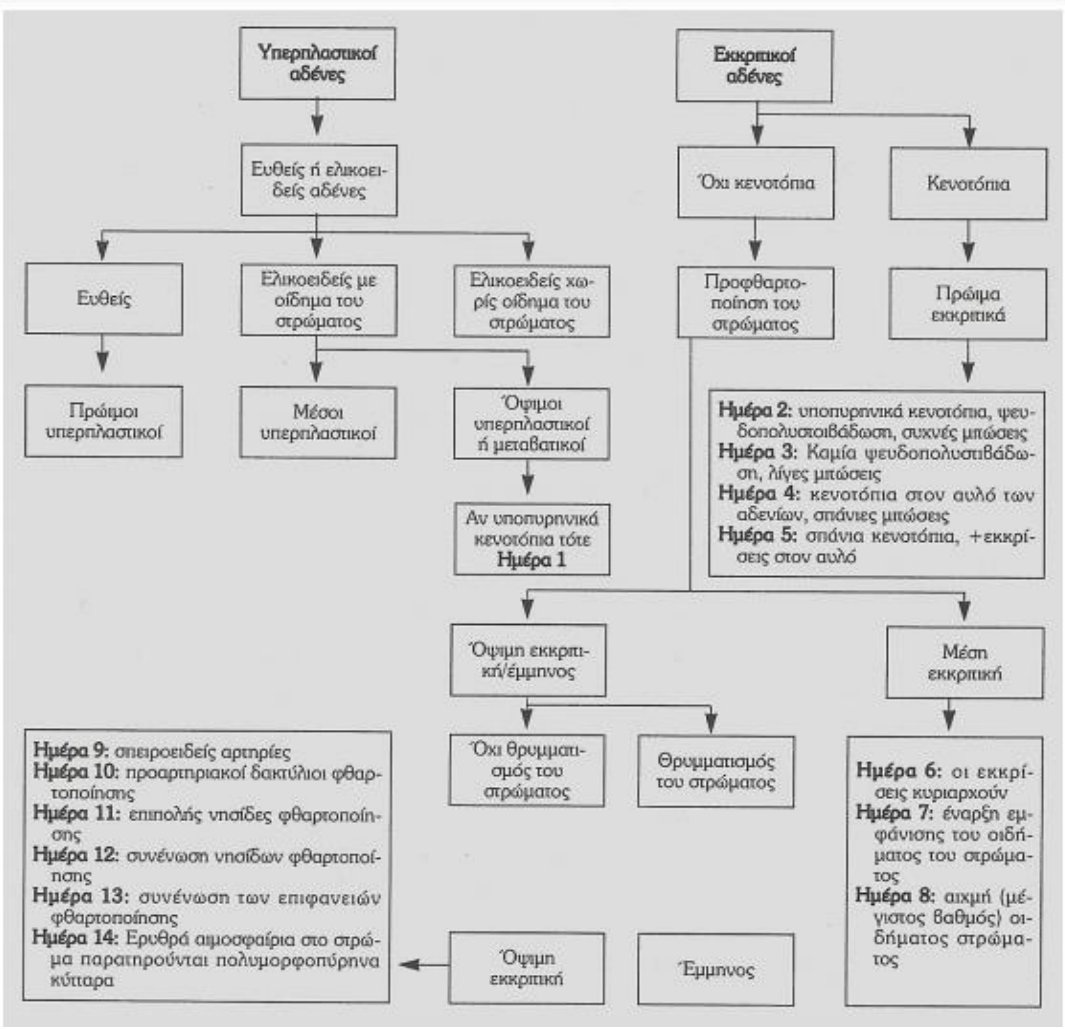
Κατά την εκκριτική φάση, το ενδομήτριο που προκαλείται από οιστραδιόλη βρίσκεται υπό προγεσταγόνο διέγερση και υφίσταται εκκριτική διαφοροποίηση. Εμφανίζονται μικρά, κυλινδρικά κενά που καταλαμβάνουν μερικά από τα κύτταρα στο λειτουργικό στρώμα. Η εκκριτική φάση εμφανίζεται από την ημέρα 14 έως την 28η ημέρα του κύκλου. Η προγεστερόνη που διεγείρεται από την ωχρινοποιητική ορμόνη είναι η κυρίαρχη ορμόνη κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης για την προετοιμασία του ωχρού σώματος και του ενδομήτριου για πιθανή γονιμοποίηση εμφύτευσης ωαρίων (Alvergne & Högqvist Tabor, 2018).

Οι αδένες εμπλέκονται σε ενδοκυτταρική αλλά όχι ακόμη σε ενεργή εξωκυτταρική έκκριση γλυκοπρωτεϊνών. Στις ημέρες κύκλου 19 και 20, τα ενδοκυτταρικά εκκριτικά προϊόντα εξωθούνται στον αδενικό χώρο. Αυτό χαρακτηρίζεται από προεξοχές και ενδεχομένως απόσπαση του τμήματος των κυττάρων που περιέχουν γλυκοπρωτεΐνες. Η εξώθηση του πλάσματος από το κυκλοφορούν αίμα στον βλεννογόνο του ενδομήτριου συμβάλλει επίσης στα εκκριτικά υγρά της μήτρας. Η αιχμή των ενδοαγγειακών εκκρίσεων στην ημέρα κύκλου 21, συμπίπτει με το χρόνο εμφύτευσης της ελεύθερης βλαστοκύστης εάν η γονιμοποίηση έχει λάβει χώρα σε αυτόν τον κύκλο. Η σύνθεση νουκλεϊνικού οξέος από κύτταρα αδένων παύει καθώς η αποκρινική εκκριτική δραστικότητα ξεκινά με την ημέρα κύκλου 19. Η οιστραδιόλη διεγείρει την παραγωγή προσταγλανδίνης F2a, ενώ η προγεστερόνη διεγείρει τη σύνθεση τόσο της προσταγλανδίνης F2a όσο και της προσταγλανδίνη E in vitro. Η προσταγλανδίνη PGE2 προάγει πιθανώς την τριχοειδή διαπερατότητα και το στρωματικό οίδημα μέσω ισταμίνης, ενώ ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας είναι ένα ισχυρό μιτογόνο ενδοθηλιακών κυττάρων. Ο αγγειακός πολλαπλασιασμός του ενδομήτριου στη θέση εμφύτευσης σχετίζεται με την βλαστοκύστη παρά με την ισταμίνη ή την PGE2 (Alvergne & Högqvist Tabor, 2018).

Καθώς τελειώνει η εκκριτική φάση, η προγεστερόνη θα παρέχει αρνητική ανάδραση στην πρόσθια υπόφυση για μείωση των επιπέδων ορμόνης των ωοθυλακίων και ωχρινοποιητικής ορμόνης και, στη συνέχεια, των επιπέδων 17-β-οιστραδιόλης και προγεστερόνης. Το ωχρό σώμα είναι μια δομή που σχηματίζεται στις ωοθήκες στη

θέση της ρήξης των ώριμων ωοθυλακίων για την παραγωγή 17-β-οιστραδιόλης και προγεστερόνης, η οποία κυριαρχεί στο τέλος της φάσης λόγω του συστήματος αρνητικής ανάδρασης. Το ενδομήτριο προετοιμάζεται αυξάνοντας την αγγειακή παροχή και διεγείροντας περισσότερες βλεννώδεις εκκρίσεις. Αυτό επιτυγχάνεται με την προγεστερόνη που διεγείρει το ενδομήτριο για να επιβραδύνει τον πολλαπλασιασμό του ενδομήτριου, να μειώσει το πάχος της επένδυσης, να αναπτύξει πιο περίπλοκους αδένες, να συσσωρεύσει πηγές ενέργειας με τη μορφή γλυκογόνου και να παρέχει μεγαλύτερη επιφάνεια εντός των σπειροειδών αρτηριών. Κοντά στο τέλος της εκκριτικής φάσης, τα επίπεδα στο πλάσμα της 17-β-οιστραδιόλης και της προγεστερόνης παράγονται από το *corpus luteum*. Εάν εμφανιστεί εγκυμοσύνη, ένα γονιμοποιημένο ωάριο εμφυτεύεται εντός του ενδομήτριου και το ωχρό σώμα θα παραμείνει και θα διατηρήσει τα επίπεδα των ορμονών. Ωστόσο, εάν δεν εμφυτευθεί γονιμοποιημένο ωάριο, τότε το *corpus luteum* υποχωρεί και τα επίπεδα της 17-β-οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στον ορό μειώνονται γρήγορα (Detti et al, 2011).

Όταν τα επίπεδα της ορμόνης μειώνονται, το στρώμα του ενδομήτριου, όπως έχει αλλάξει καθ 'όλη τη διάρκεια του εμμηνορροϊκού κύκλου, δεν μπορεί να διατηρηθεί. Αυτό ονομάζεται εμμηνόρροια, και θεωρείται η ημέρα 0 έως την ημέρα 5 του επόμενου εμμηνορροϊκού κύκλου. Η διάρκεια των εμμήνων ποικίλλει. Διάφοροι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την ποσότητα της ροής του αίματος, όπως φάρμακα, το πάχος του ενδομήτριου κ.λπ. (Yamagutchi et al, 2021).



Εικόνα 2. Ιστολογικές μεταβολές του ενδομήτριου κατά την διάρκεια του έμμηνου κύκλου

(Πηγή: Σαμπάνη, 2014)

1.3 Παθήσεις που σχετίζονται με το ενδομήτριο

Παρακάτω παρουσιάζονται συνοπτικά, ορισμένες παθήσεις που σχετίζονται με το ενδομήτριο:

- Αδενομύωση: Η αδενομύωση είναι μια ιατρική κατάσταση κατά την οποία το ενδομήτριο αναπτύσσεται μέσα στο μυομήτριο. Στην αδενομύωση, το βασικό ενδομήτριο διεισδύει στις υπερπλαστικές μυομητρικές ίνες. Επομένως, σε αντίθεση με το λειτουργικό στρώμα, το βασικό στρώμα δεν υφίσταται τυπικές κυκλικές αλλαγές με τον εμμηνορροϊκό κύκλο. Η πάθηση εντοπίζεται τυπικά σε γυναίκες μεταξύ 35 και 50 ετών, αλλά επηρεάζει και νεότερες γυναίκες. Οι

ασθενείς με αδενομύωση συχνά παρουσιάζουν επώδυνη έμμηνο ρύση (δυσμηνόρροια), μηνορραγία ή και τα δύο. Άλλα πιθανά συμπτώματα είναι ο πόνος κατά τη σεξουαλική επαφή, ο χρόνιος πυελικός πόνος και ο ερεθισμός της ουροδόχου κύστης. Η αδενομύωση μπορεί να βρεθεί μαζί με την ενδομητρίωση, αλλά οι ασθενείς με ενδομητρίωση παρουσιάζουν ενδομητρικό ιστό ανώμαλα τοποθετημένο εξ ολοκλήρου έξω από τη μήτρα. Οι δύο καταστάσεις βρίσκονται μαζί σε πολλές περιπτώσεις, αλλά συχνά εμφανίζονται χωριστά (Struble, Reid & Bedaiwy, 2016).

- Ενδομητρίωση: Η ενδομητρίωση ορίζεται ως η παρουσία ενδομήτριων αδένων και βλαβών που μοιάζουν με στρώμα έξω από τη μήτρα. Οι βλάβες μπορεί να είναι περιτοναϊκές αλλοιώσεις, επιφανειακά εμφυτεύματα ή κύστες στις ωοθήκες ή βαθιά διηθητική νόσος. Ενώ δεν υπάρχει οριστική αιτιολογία της ενδομητρίωσης, υπάρχουν αρκετές υποθέσεις σχετικά με το πώς αναπτύσσονται οι ενδομητριωτικές βλάβες. Ένας πιθανός μηχανισμός είναι η ανάδρομη έμμηνος ρύση, ένα χαρακτηριστικό του εμμηνορροϊκού κύκλου σε γυναίκες και πρωτεύοντα θηλαστικά εκτός του ανθρώπου, που είναι μια εκροή της ενδομήτριας επένδυσης μέσω των ανοιχτών σαλπίγγων στον πυελικό χώρο. Αυτή η ανάδρομη ροή, μαζί με την πιθανή αιματογενή ή λεμφική κυκλοφορία, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τη σπορά του ενδομητρικού ιστού σε έκτοπες θέσεις. Ωστόσο, η ανάδρομη έμμηνος ρύση είναι συχνή (ίσως καθολική στις γυναίκες με έμμηνο ρύση) ενώ η ενδομητρίωση είναι πολύ λιγότερο συχνή. Επομένως, άλλοι παράγοντες, όπως το ορμονικό, το φλεγμονώδες ή το ανοσολογικό περιβάλλον μπορεί να καθορίσουν εάν οι βλάβες εναποτίθενται στο εμφύτευμα της πυελικής κοιλότητας και επιμένουν. Εναλλακτικά, οι βλάβες της ενδομητρίωσης μπορεί να προκύψουν από υπολείμματα Müllerian που δεν διαφοροποιήθηκαν σωστά ή δεν μετανάστευσαν κατά την ανάπτυξη του εμβρύου ή από κυκλοφορούντα αιμοσφαίρια που διαφοροποιούνται σε ενδομητρίωση. Η ενδομητρίωση επηρεάζει το 10-15% όλων των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας και το 70% των γυναικών με χρόνιο πυελικό πόνο. Η κλινική εικόνα της ενδομητρίωσης ποικίλλει στις γυναίκες. Οι ασθενείς συχνά παρουσιάζουν συμπτώματα όπως μεσοεμμηνορροϊκή αιμορραγία, επώδυνες περιόδους (δυσμηνόρροια), επώδυνη επαφή (δυσπαρεύνια), επώδυνη αφόδευση και

επώδυνη ούρηση. Ο πυελικός πόνος μπορεί να παρουσιαστεί πριν από την έναρξη της εμμήνου ρύσεως. Συχνά, η ενδομητρίωση μπορεί να είναι ασυμπτωματική, μόνο που έρχεται στην προσοχή του κλινικού γιατρού κατά την αξιολόγηση της υπογονιμότητας (Parasar, Ozcan & Terry, 2017).

- Υπερπλασία ενδομήτριου: Η υπερπλασία του ενδομήτριου είναι μια κατάσταση υπερβολικού πολλαπλασιασμού των κυττάρων του ενδομήτριου ή της εσωτερικής επένδυσης της μήτρας. Οι περισσότερες περιπτώσεις υπερπλασίας του ενδομήτριου οφείλονται σε υψηλά επίπεδα οιστρογόνων, σε συνδυασμό με ανεπαρκή επίπεδα ορμονών που μοιάζουν με προγεστερόνη, οι οποίες συνήθως εξουδετερώνουν τις πολλαπλασιαστικές επιδράσεις των οιστρογόνων σε αυτόν τον ιστό. Αυτό μπορεί να συμβεί σε διάφορες καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένης της παχυσαρκίας, του συνδρόμου πολυκυστικών ωοθηκών, των όγκων που παράγουν οιστρογόνα (π.χ. όγκος κοκκιωδών κυττάρων) και ορισμένων σκευασμάτων θεραπείας υποκατάστασης οιστρογόνων. Η υπερπλασία του ενδομήτριου είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη ή και τη συνύπαρξη καρκίνου του ενδομήτριου, επομένως η προσεκτική παρακολούθηση και θεραπεία των γυναικών με αυτή την πάθηση είναι απαραίτητη (Sanderson et al., 2017; Zhao et al., 2021).

- Καρκίνος του ενδομήτριου: Ο καρκίνος του ενδομήτριου είναι ο πιο συχνός γυναικολογικός όγκος στις ανεπτυγμένες χώρες και η συχνότητά του αυξάνεται. Ο πιο συχνά εμφανιζόμενος ιστολογικός υπότυπος είναι το ενδομητριοειδές αδενοκαρκίνωμα. Οι ασθενείς συχνά διαγιγνώσκονται όταν η ασθένεια εξακολουθεί να είναι περιορισμένη στη μήτρα. Η τυπική θεραπεία αποτελείται από πρωτογενή υστερεκτομή και αμφοτερόπλευρη σαλπιγγοωοθηκεκτομή, συχνά χρησιμοποιώντας ελάχιστα επεμβατικές προσεγγίσεις (λαπαροσκοπική ή ρομποτική). Η χειρουργική στρατηγική των λεμφαδένων εξαρτάται από ιστολογικούς παράγοντες (υπότυπος, βαθμός όγκου, εμπλοκή λεμφαγγειακού χώρου), το στάδιο της νόσου (συμπεριλαμβανομένης της εισβολής στο μυομήτριο), τα χαρακτηριστικά των ασθενών (ηλικία και συννοσηρότητες) και εθνικές και διεθνείς οδηγίες. Η επικουρική θεραπεία προσαρμόζεται ανάλογα με την ιστολογία και το στάδιο.

Διάφορες ταξινομήσεις χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση των κινδύνων υποτροπής και για τον καθορισμό της βέλτιστης μετεγχειρητικής αντιμετώπισης. Η πενταετής συνολική επιβίωση κυμαίνεται από 74% έως 91% σε ασθενείς χωρίς μεταστατική νόσο. Οι δοκιμές βρίσκονται σε εξέλιξη σε ασθενείς με υψηλό κίνδυνο υποτροπής (συμπεριλαμβανομένης της χημειοθεραπείας, της χημειοακτινοθεραπείας και των μοριακών στοχευμένων θεραπειών) για την αξιολόγηση των τρόπων που εξισορροπούν καλύτερα τη βελτιστοποίηση της επιβίωσης με τις χαμηλότερες αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα ζωής (Morice et al., 2016).

- Σύνδρομο Asherman: Το σύνδρομο Asherman, είναι μια επίκτητη πάθηση της μήτρας που εμφανίζεται όταν σχηματίζεται ουλώδης ιστός (συμφύσεις) μέσα στη μήτρα ή/και στον τράχηλο. Χαρακτηρίζεται από μεταβλητές ουλές μέσα στην κοιλότητα της μήτρας, όπου σε πολλές περιπτώσεις το μπροστινό και το πίσω τοίχωμα της μήτρας κολλούν μεταξύ τους. Μπορεί να είναι η αιτία διαταραχών της εμμήνου ρύσεως, υπογονιμότητας και ανωμαλιών του πλακούντα. Δεν υπάρχει καμία γνωστή αιτία του συνδρόμου. Οι παράγοντες κινδύνου μπορεί να περιλαμβάνουν μυομεκτομή, καισαρική τομή, λοιμώξεις, ηλικία, φυματίωση των γεννητικών οργάνων και παχυσαρκία (Smikle, Yarrarapu & Khetarpal, 2018).

- Λεπτό ενδομήτριο: Μπορεί να οριστεί ως πάχος ενδομήτριου μικρότερο από 7 mm. Ένα ενδομήτριο πάχος μικρότερο από 7 mm μειώνει το ποσοστό εγκυμοσύνης στην εξωσωματική γονιμοποίηση κατά μια αναλογία πιθανοτήτων περίπου 0,4 σε σύγκριση με ένα πάχος άνω των 7 mm. Εμφανίζεται συνήθως μετά την εμμηνόπαυση. Οι θεραπείες που μπορούν να βελτιώσουν το πάχος του ενδομήτριου περιλαμβάνουν βιταμίνη Ε, L-αργινίνη και κιτρική σιλδεναφίλη (Mahajan & Sharma, 2016).

Κεφάλαιο 2 - Τα Βλαστοκύτταρα

2.1 Ορισμός και ιδιότητες

Στους πολυκύτταρους οργανισμούς, τα βλαστοκύτταρα είναι αδιαφοροποίητα ή μερικώς διαφοροποιημένα κύτταρα που μπορούν να διαφοροποιηθούν σε διάφορους τύπους κυττάρων και να πολλαπλασιάζονται επ' αόριστον για να παράγουν περισσότερα από τα ίδια βλαστοκύτταρα. Βρίσκονται τόσο σε εμβρυϊκούς όσο και σε ενήλικους οργανισμούς, αλλά έχουν ελαφρώς διαφορετικές ιδιότητες στον καθένα. Συνήθως διακρίνονται από τα προγονικά κύτταρα, τα οποία δεν μπορούν να διαιρεθούν επ' αόριστον, και τα πρόδρομα ή βλαστικά κύτταρα, τα οποία συνήθως δεσμεύονται να διαφοροποιηθούν σε έναν τύπο κυττάρου (Atala & Lanza, 2012).

Στα θηλαστικά, περίπου 50-150 κύτταρα αποτελούν την εσωτερική κυτταρική μάζα κατά το στάδιο της βλαστοκύστης της εμβρυϊκής ανάπτυξης, περίπου στις ημέρες 5-14. Αυτά έχουν ικανότητα βλαστοκυττάρων. In vivo, τελικά διαφοροποιούνται σε όλους τους τύπους κυττάρων του σώματος (καθιστώντας τους πολυδύναμους). Αυτή η διαδικασία ξεκινά με τη διαφοροποίηση στα τρία βλαστικά στρώματα – το εξώδερμα, το μεσόδερμα και το ενδόδερμα. Ωστόσο, όταν απομονωθούν και καλλιεργηθούν in vitro, μπορούν να διατηρηθούν στο στάδιο των βλαστοκυττάρων και είναι γνωστά ως εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (Zakrzewski et al., 2019).

Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα βρίσκονται σε μερικές επιλεγμένες τοποθεσίες στο σώμα, όπως αυτές στο μυελό των οστών. Υπάρχουν για να αναπληρώσουν τους τύπους κυττάρων που χάνονται γρήγορα και είναι πολυδύναμα ή μονοδύναμα, που σημαίνει ότι διαφοροποιούνται μόνο σε λίγους κυτταρικούς τύπους ή σε έναν τύπο κυττάρου. Στα θηλαστικά, περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, τα οποία αναπληρώνουν το αίμα και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού, τα βασικά κύτταρα που διατηρούν το επιθήλιο του δέρματος και τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που διατηρούν τα οστά, τους χόνδρους, τους μυς και τα λιπώδη κύτταρα. Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα είναι μια μικρή μειοψηφία κυττάρων. Υπερτερούν σε μεγάλο βαθμό από τα προγονικά κύτταρα και τα τελικά

διαφοροποιημένα κύτταρα στα οποία διαφοροποιούνται (Chagastelles & Nardi, 2011).

2.2 Ιδιότητες

Ο κλασικός ορισμός ενός βλαστοκυττάρου απαιτεί να έχει δύο ιδιότητες(Zakrzewski et al., 2019):

- Αυτοανανέωση: η ικανότητα να περνά από πολυάριθμους κύκλους κυτταρικής ανάπτυξης και κυτταρικής διαίρεσης, γνωστός ως πολλαπλασιασμός κυττάρων, διατηρώντας παράλληλα την αδιαφοροποίητη κατάσταση.

- Δύναμη: η ικανότητα διαφοροποίησης σε εξειδικευμένους τύπους κυττάρων. Με την αυστηρότερη έννοια, αυτό απαιτεί τα βλαστοκύτταρα να είναι είτε παντοδύναμα είτε πολυδύναμα—για να μπορούν να δημιουργήσουν οποιονδήποτε ώριμο κυτταρικό τύπο, αν και τα πολυδύναμα ή μονοδύναμα προγονικά κύτταρα μερικές φορές αναφέρονται ως βλαστοκύτταρα. Εκτός από αυτό, θεωρείται ότι η λειτουργία των βλαστοκυττάρων ρυθμίζεται σε μηχανισμό ανάδρασης.

Δύο μηχανισμοί διασφαλίζουν ότι ένας πληθυσμός βλαστοκυττάρων διατηρείται (δεν συρρικνώνεται σε μέγεθος) (Chagastelles & Nardi, 2011):

- Ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση: ένα βλαστοκύτταρο διαιρείται σε ένα μητρικό κύτταρο, το οποίο είναι πανομοιότυπο με το αρχικό βλαστοκύτταρο, και ένα άλλο θυγατρικό κύτταρο, το οποίο διαφοροποιείται. Όταν ένα βλαστοκύτταρο αυτοανανεώνεται, διαιρείται και δεν διαταράσσει την αδιαφοροποίητη κατάσταση. Αυτή η αυτοανανέωση απαιτεί τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου καθώς και τη διατήρηση της πολυδύναμης ή της πολυδύναμης, που όλα εξαρτώνται από το βλαστοκύτταρο.

- Στοχαστική διαφοροποίηση: όταν ένα βλαστοκύτταρο αναπτύσσεται και διαιρείται σε δύο διαφοροποιημένα θυγατρικά κύτταρα, ένα άλλο βλαστοκύτταρο υφίσταται μίτωση και παράγει δύο βλαστοκύτταρα πανομοιότυπα με τα αρχικά. Τα βλαστοκύτταρα χρησιμοποιούν τελομεράση,

μια πρωτεΐνη που αποκαθιστά τα τελομερή, για να προστατεύσει το DNA τους και να επεκτείνει το όριο κυτταρικής τους διαίρεσης (το όριο Hayflick).

Η ισχύς καθορίζει το δυναμικό διαφοροποίησης (τη δυνατότητα διαφοροποίησης σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων) του βλαστοκυττάρου (Zakrzewski et al., 2019):

- Τα ολοκληρωτικά βλαστοκύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε εμβρυϊκούς και εξωεμβρυϊκούς τύπους κυττάρων. Τέτοια κύτταρα μπορούν να κατασκευάσουν έναν πλήρη, βιώσιμο οργανισμό. Αυτά τα κύτταρα παράγονται από τη σύντηξη ενός κυττάρου ωαρίου και σπέρματος. Τα κύτταρα που παράγονται από τις πρώτες λίγες διαιρέσεις του γονιμοποιημένου ωαρίου είναι επίσης παντοδύναμα.

- Τα παντοδύναμα βλαστοκύτταρα είναι απόγονοι ολοκληρωτικών κυττάρων και μπορούν να διαφοροποιηθούν σε όλα σχεδόν τα κύτταρα, δηλαδή σε κύτταρα που προέρχονται από οποιαδήποτε από τις τρεις βλαστικές στοιβάδες.

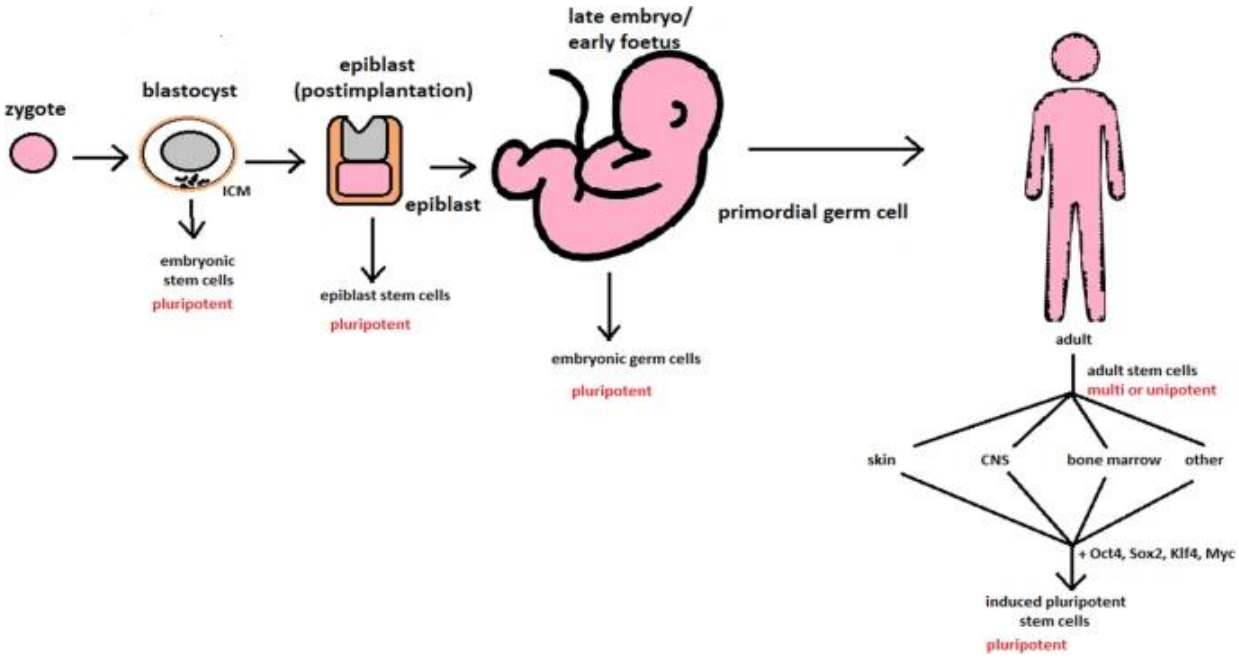
- Τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε διάφορους τύπους κυττάρων, αλλά μόνο σε αυτούς μιας στενά συγγενούς οικογένειας κυττάρων.

- Τα ολιγοδύναμα βλαστοκύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν μόνο σε λίγους κυτταρικούς τύπους, όπως λεμφοειδή ή μυελοειδή βλαστοκύτταρα.

- Τα μονοδύναμα κύτταρα μπορούν να παράγουν μόνο έναν τύπο κυττάρου, τον δικό τους, αλλά έχουν την ιδιότητα της αυτοανανέωσης, η οποία τα διακρίνει από τα μη βλαστοκύτταρα (π.χ. προγονικά κύτταρα, τα οποία δεν μπορούν να αυτοανανεωθούν).

Στην πράξη, τα βλαστοκύτταρα αναγνωρίζονται από το αν μπορούν να αναγεννήσουν τον ιστό. Για παράδειγμα, η καθοριστική δοκιμή για μυελό των οστών ή αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα (HSCs) είναι η ικανότητα μεταμόσχευσης των κυττάρων και η διάσωση ενός ατόμου χωρίς HSCs. Αυτό δείχνει ότι τα κύτταρα μπορούν να παράγουν νέα κύτταρα αίματος μακροπρόθεσμα. Θα πρέπει επίσης να είναι δυνατή η απομόνωση βλαστοκυττάρων από το μεταμοσχευμένο άτομο, τα οποία μπορούν τα ίδια να μεταμοσχευθούν σε άλλο άτομο χωρίς HSC, αποδεικνύοντας ότι το

βλαστοκύτταρο ήταν σε θέση να αυτοανανεωθεί. Οι ιδιότητες των βλαστοκυττάρων μπορούν να απεικονιστούν in vitro, χρησιμοποιώντας μεθόδους όπως κλωνογονικές δοκιμασίες, στις οποίες μεμονωμένα κύτταρα αξιολογούνται ως προς την ικανότητά τους να διαφοροποιούνται και να αυτοανανεώνονται. Τα βλαστοκύτταρα μπορούν επίσης να απομονωθούν με την κατοχή τους ενός διακριτού συνόλου δεικτών κυτταρικής επιφάνειας. Ωστόσο, οι συνθήκες in vitro καλλιέργειας μπορούν να αλλάξουν τη συμπεριφορά των κυττάρων, καθιστώντας ασαφές εάν τα κύτταρα θα συμπεριφέρονται με παρόμοιο τρόπο in vivo. Υπάρχει σημαντική συζήτηση σχετικά με το εάν ορισμένοι προτεινόμενοι πληθυσμοί ενηλίκων κυττάρων είναι πραγματικά βλαστοκύτταρα (Kolios & Moodley, 2013).



Εικόνα 3. Αλλαγές στην ισχύ των βλαστοκυττάρων στην ανάπτυξη του ανθρώπινου σώματος

(Πηγή: Zakrzewski et al., 2019)

2.3 Εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα

Τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (ESCs) είναι τα κύτταρα της εσωτερικής κυτταρικής μάζας μιας βλαστοκύστης, που σχηματίζεται πριν από την εμφύτευση στη μήτρα. Στην ανθρώπινη εμβρυϊκή ανάπτυξη το στάδιο της βλαστοκύστης επιτυγχάνεται 4-5 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση, οπότε αποτελείται από 50-150 κύτταρα. Τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα είναι πολυδύναμα και δημιουργούν κατά την ανάπτυξη όλα τα

παράγωγα των τριών βλαστικών στοιβάδων: εξώδερμα, ενδόδερμα και μεσόδερμα. Με άλλα λόγια, μπορούν να εξελιχθούν σε καθέναν από τους περισσότερους από 200 τύπους κυττάρων του ενήλικου σώματος όταν τους δοθεί επαρκής και απαραίτητη διέγερση για έναν συγκεκριμένο τύπο κυττάρων. Δεν συμβάλλουν στις εξωεμβρυϊκές μεμβράνες ή στον πλακούντα (Chagastelles & Nardi, 2011).

Κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης τα κύτταρα της εσωτερικής κυτταρικής μάζας διαιρούνται συνεχώς και γίνονται πιο εξειδικευμένα. Για παράδειγμα, ένα τμήμα του εξωδερμίου στο ραχιαίο τμήμα του εμβρύου ειδικεύεται ως «νευρεκτόδερμα», το οποίο θα γίνει το μελλοντικό κεντρικό νευρικό σύστημα. Αργότερα στην ανάπτυξη, η νευροποίηση προκαλεί το νευρεκτόδερμα να σχηματίσει τον νευρικό σωλήνα. Στο στάδιο του νευρικού σωλήνα, το πρόσθιο τμήμα υφίσταται εγκεφαλοποίηση για να δημιουργήσει ή να διαμορφώσει τη βασική μορφή του εγκεφάλου (Rakic, 2009).

Τα νευρικά βλαστοκύτταρα αυτοανανεώνονται και κάποια στιγμή μεταβαίνουν σε ακτινωτά νευρογλοιακά προγονικά κύτταρα (RGPs). Τα πρώιμα σχηματισμένα ακτινωτά νευρογλοιακά προγονικά κύτταρα αυτοανανεώνονται με συμμετρική διαίρεση για να σχηματίσουν μια ομάδα δεξαμενής προγονικών κυττάρων. Αυτά τα κύτταρα μεταβαίνουν σε μια νευρογενή κατάσταση και αρχίζουν να διαιρούνται ασύμμετρα για να παράγουν μια μεγάλη ποικιλία πολλών διαφορετικών τύπων νευρώνων, καθένας με μοναδική γονιδιακή έκφραση, μορφολογικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά. Η διαδικασία δημιουργίας νευρώνων από ακτινογλοιακά κύτταρα ονομάζεται νευρογένεση. Το ακτινογλοιακό κύτταρο, έχει μια χαρακτηριστική διπολική μορφολογία με εξαιρετικά επιμήκεις διεργασίες που εκτείνονται στο πάχος του τοιχώματος του νευρικού σωλήνα. Μοιράζεται ορισμένα γλοιακά χαρακτηριστικά, κυρίως την έκφραση της γλοιακής ινιδικής όξινης πρωτεΐνης (GFAP). Το ακτινογλοιακό κύτταρο είναι το πρωταρχικό νευρικό βλαστοκύτταρο του αναπτυσσόμενου σπονδυλωτού κεντρικού νευρικού συστήματος και το κυτταρικό του σώμα βρίσκεται στην κοιλιακή ζώνη, δίπλα στο αναπτυσσόμενο κοιλιακό σύστημα. Τα νευρικά βλαστοκύτταρα είναι δεσμευμένα στις νευρωνικές σειρές (νευρώνες, αστροκύτταρα και ολιγοδενδροκύτταρα) και έτσι η ισχύς τους περιορίζεται (Ying et al., 2008).

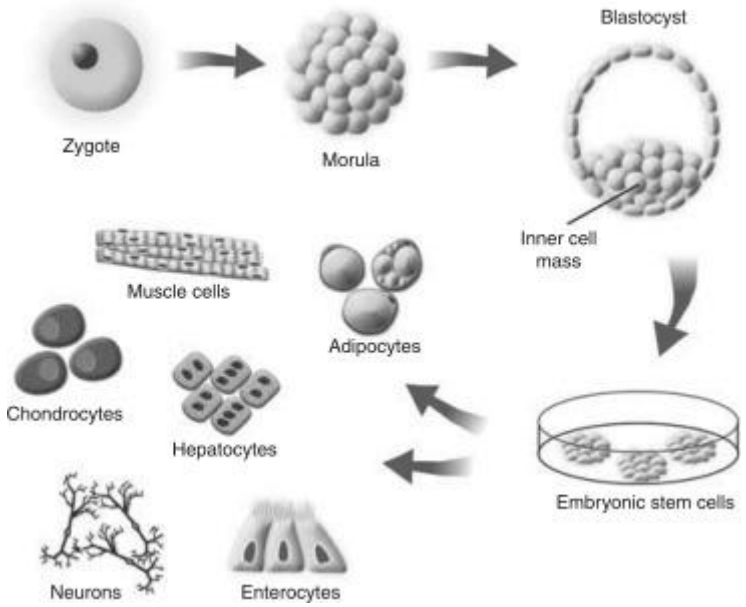
Σχεδόν όλες οι έρευνες μέχρι σήμερα έχουν κάνει χρήση εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων ποντικού (mES) ή ανθρώπινων εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων (hES) που προέρχονται από την πρώιμη εσωτερική κυτταρική μάζα. Και τα δύο έχουν τα βασικά χαρακτηριστικά των βλαστοκυττάρων, ωστόσο απαιτούν πολύ διαφορετικά περιβάλλοντα προκειμένου να διατηρηθεί μια αδιαφοροποίητη κατάσταση. Τα ανθρώπινα ESCs αναπτύσσονται σε ένα στρώμα τροφοδοσίας εμβρυϊκών ινοβλαστών ποντικού και απαιτούν την παρουσία βασικού αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών (bFGF ή FGF-2). Χωρίς βέλτιστες συνθήκες καλλιέργειας ή γενετικό χειρισμό, τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα θα διαφοροποιηθούν γρήγορα (Chagastelles & Nardi, 2011).

Ένα ανθρώπινο εμβρυϊκό βλαστοκύτταρο ορίζεται επίσης από την έκφραση αρκετών μεταγραφικών παραγόντων και πρωτεϊνών κυτταρικής επιφάνειας. Οι μεταγραφικοί παράγοντες Oct-4, Nanog και Sox2 αποτελούν το βασικό ρυθμιστικό δίκτυο που διασφαλίζει την καταστολή των γονιδίων που οδηγούν στη διαφοροποίηση και τη διατήρηση της πολυδυναμίας. Τα αντιγόνα της κυτταρικής επιφάνειας που χρησιμοποιούνται πιο συχνά για την αναγνώριση των κυττάρων hES είναι το ειδικό εμβρυϊκό αντιγόνο 3 και 4 στα γλυκολιπίδια και τα αντιγόνα θειικής κερατάνης Tra-1-60 και Tra-1-81. Ο μοριακός ορισμός ενός βλαστοκυττάρου περιλαμβάνει πολλές περισσότερες πρωτεΐνες και συνεχίζει να αποτελεί θέμα έρευνας (Adewumi et al., 2007).

Τα καλλιεργημένα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα εμφανίζουν καθορισμένα χαρακτηριστικά: είναι πολυδύναμα, ικανά να διαφοροποιούνται σε κύτταρα που προέρχονται και από τα τρία βλαστικά στρώματα. Είναι αθάνατα στην καλλιέργεια και μπορούν να διατηρηθούν για αρκετές εκατοντάδες περάσματα σε αδιαφοροποίητη κατάσταση, και διατηρούν μια φυσιολογική χρωμοσωμική σύνθεση. Ο μοριακός χαρακτηρισμός των εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων είναι καλά ανεπτυγμένος και είναι γνωστό ότι εκφράζουν επιφανειακούς δείκτες όπως CD9, CD24 και αλκαλική φωσφατάση, και αρκετά γονίδια συμπεριλαμβανομένων των Oct-4, Rex-1, SOX-2, Nanog, LIN28, Thy-1, και SSEA-3. Η έκφραση υψηλών επιπέδων τελομεράσης εξηγεί την αθανασία τους στην καλλιέργεια (Chagastelles & Nardi, 2011).

Χρησιμοποιώντας ανθρώπινα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα για την παραγωγή εξειδικευμένων κυττάρων όπως νευρικά κύτταρα ή καρδιακά κύτταρα στο

εργαστήριο, οι επιστήμονες μπορούν να αποκτήσουν πρόσβαση σε ενήλικα ανθρώπινα κύτταρα χωρίς να πάρουν ιστό από ασθενείς. Στη συνέχεια, μπορούν να μελετήσουν λεπτομερώς αυτά τα εξειδικευμένα ενήλικα κύτταρα για να προσπαθήσουν να διακρίνουν τις επιπλοκές των ασθενειών ή να μελετήσουν τις κυτταρικές αντιδράσεις στα προτεινόμενα νέα φάρμακα (Boyer et al., 2005).



Εικόνα 4. Καλλιέργεια εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων

(Πηγή: Chagastelles & Nardi, 2011)

2.4 Ενήλικα βλαστοκύτταρα

Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα, που ονομάζονται επίσης σωματικά βλαστοκύτταρα, είναι βλαστοκύτταρα που διατηρούν και επισκευάζουν τον ιστό στον οποίο βρίσκονται. Μπορούν να βρεθούν σε παιδιά, καθώς και σε ενήλικες. Υπάρχουν τρεις γνωστές προσβάσιμες πηγές αυτόλογων ενήλικων βλαστοκυττάρων στον άνθρωπο (Coughlin et al., 2017):

- Μυελός των οστών, ο οποίος απαιτεί εξαγωγή με συγκομιδή, συνήθως από οστά της πυέλου μέσω χειρουργικής επέμβασης.
- Λιπώδης ιστός (λιποκύτταρα), ο οποίος απαιτεί εξαγωγή με λιποαναρρόφηση.

- Αίμα, το οποίο απαιτεί εκχύλιση μέσω αφαίρεσης, όπου το αίμα λαμβάνεται από τον δότη (παρόμοιο με μια αιμοδοσία) και περνά μέσα από μια μηχανή που εξάγει τα βλαστοκύτταρα και επιστρέφει άλλα μέρη του αίματος στον δότη.

Τα βλαστοκύτταρα μπορούν επίσης να ληφθούν από το αίμα του ομφάλιου λώρου αμέσως μετά τη γέννηση. Από όλους τους τύπους βλαστοκυττάρων, η αυτόλογη συλλογή ενέχει τον μικρότερο κίνδυνο. Εξ ορισμού, τα αυτόλογα κύτταρα λαμβάνονται από το σώμα του ατόμου, όπως ακριβώς μπορεί κάποιος να δεσμεύσει το αίμα του για εκλεκτικές χειρουργικές επεμβάσεις (Mahla, 2016).

Τα πολυδύναμα ενήλικα βλαστοκύτταρα είναι σπάνια και γενικά μικρού αριθμού, αλλά μπορούν να βρεθούν στο αίμα του ομφάλιου λώρου και σε άλλους ιστούς. Ο μυελός των οστών είναι μια πλούσια πηγή βλαστοκυττάρων ενηλίκων, τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία πολλών παθήσεων, συμπεριλαμβανομένης της κίρρωσης του ήπατος, της χρόνιας ισχαιμίας των άκρων και της καρδιακής ανεπάρκειας τελικού σταδίου. Η ποσότητα των βλαστοκυττάρων του μυελού των οστών μειώνεται με την ηλικία και είναι μεγαλύτερη στους άνδρες παρά στις γυναίκες κατά τη διάρκεια των αναπαραγωγικών ετών. Πολλές έρευνες για τα βλαστοκύτταρα ενηλίκων μέχρι σήμερα έχουν στόχο να χαρακτηρίσουν την ισχύ τους και τις ικανότητες αυτοανανέωσης. Η βλάβη του DNA συσσωρεύεται με την ηλικία τόσο στα βλαστοκύτταρα όσο και στα κύτταρα που αποτελούν το περιβάλλον των βλαστοκυττάρων. Αυτή η συσσώρευση θεωρείται υπεύθυνη, τουλάχιστον εν μέρει, για την αύξηση της δυσλειτουργίας των βλαστοκυττάρων με τη γήρανση (Ratajczak et al., 2007; Gardner, 2002; Behrens et al., 2014).

Τα περισσότερα βλαστοκύτταρα ενηλίκων είναι περιορισμένης γενεαλογίας (πολυδύναμα) και αναφέρονται γενικά από την προέλευση των ιστών τους (μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, βλαστοκύτταρα που προέρχονται από λιπώδη κύτταρα, βλαστοκύτταρα ενδοθηλίου, κ.λπ.). Τα κύτταρα που διαφοροποιούν τα κύτταρα ανθεκτικά στο στρες είναι ένας πρόσφατα ανακαλυφθείς πολυδύναμος τύπος βλαστοκυττάρων που βρίσκεται σε πολλούς ενήλικους ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των λιπωδών ιστών, των δερματικών ινοβλαστών και του μυελού των οστών. Αν και σπάνια, τα κύτταρα αυτά είναι αναγνωρίσιμα από την έκφρασή τους του SSEA-3, δείκτη για αδιαφοροποίητα βλαστοκύτταρα και γενικούς

δείκτες μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων όπως το CD105. Όταν υποβάλλονται σε καλλιέργεια εναιωρήματος ενός κυττάρου, τα κύτταρα θα δημιουργήσουν συστάδες που είναι παρόμοια με εμβρυϊκά σώματα στη μορφολογία καθώς και στην έκφραση γονιδίων, συμπεριλαμβανομένων των κανονικών δεικτών πολυδυναμίας Oct4, Sox2 και Nanog (Kuroda et al., 2010).

Η έρευνα για τα βλαστοκύτταρα ενηλίκων έχει επικεντρωθεί στην αποκάλυψη των γενικών μοριακών μηχανισμών που ελέγχουν την αυτοανανέωση και τη διαφοροποίησή τους. Το μονοπάτι Notch είναι γνωστό στους αναπτυξιακούς βιολόγους εδώ και δεκαετίες. Ο ρόλος του στον έλεγχο του πολλαπλασιασμού των βλαστοκυττάρων έχει πλέον αποδειχθεί για πολλούς τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των αιμοποιητικών, των νευρικών και των μαστικών βλαστοκυττάρων.Επίσης, τα αναπτυξιακά μονοπάτια Wnt εμπλέκονται έντονα ως ρυθμιστές βλαστοκυττάρων.Η οικογένεια των κυτοκινών TGFβ ρυθμίζει το στέλεχος τόσο των φυσιολογικών όσο και των καρκινικών βλαστοκυττάρων (Dontu et al., 2004; Beachy, Karhadkar & Berman, 2004; Sakaki-Yumoto, Katsuno & Derynck, 2013).

Οι τύποι ενήλικων βλαστοκυττάρων είναι οι εξής:

- Αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα: Είναι βλαστοκύτταρα που μπορούν να διαφοροποιηθούν σε όλα τα κύτταρα του αίματος. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται αιματοποίηση. Τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα βρίσκονται στο μυελό των οστών και στο αίμα του ομφάλιου λώρου (Birbrair & Frenette, 2016).

- Βλαστοκύτταρα του μαστού: Τα βλαστοκύτταρα του μαστού παρέχουν την πηγή κυττάρων για την ανάπτυξη του μαστικού αδένα κατά την εφηβεία και την κύηση και παίζουν σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση του μαστού. Τα βλαστοκύτταρα του μαστού έχουν απομονωθεί από ιστό ανθρώπου και ποντικού καθώς και από κυτταρικές σειρές που προέρχονται από τον μαστικό αδένα. Μεμονωμένα τέτοια κύτταρα μπορούν να δημιουργήσουν τόσο τον αυλικό όσο και τον μυοεπιθηλιακό τύπο κυττάρων του αδένα και έχει αποδειχθεί ότι έχουν την ικανότητα να αναγεννούν ολόκληρο το όργανο σε ποντίκια (Liu, Dontu & Wicha, 2005).

- Βλαστοκύτταρα του εντέρου: Τα βλαστοκύτταρα του εντέρου διαιρούνται συνεχώς καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους και χρησιμοποιούν ένα σύνθετο γενετικό πρόγραμμα για την παραγωγή των κυττάρων που καλύπτουν την επιφάνεια του λεπτού και του παχέος εντέρου. Τα βλαστοκύτταρα του εντέρου βρίσκονται κοντά στη βάση της θέσης των βλαστοκυττάρων, που ονομάζονται κρύπτες του Lieberkuhn. Τα βλαστοκύτταρα του εντέρου είναι πιθανώς η πηγή των περισσότερων καρκίνων του λεπτού εντέρου και του παχέος εντέρου (Barker et al., 2009).

- Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα: Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα είναι στρωματικής προέλευσης και μπορεί να διαφοροποιηθούν σε διάφορους ιστούς. Έχουν απομονωθεί από τον πλακούντα, τον λιπώδη ιστό, τον πνεύμονα, τον μυελό των οστών και το αίμα, τη γέλη Wharton από τον ομφάλιο λώρο και τα δόντια (περιαγγειακή κόγχη του οδοντικού πολφού και του περιοδοντικού συνδέσμου). Είναι ελκυστικά για κλινική θεραπεία λόγω της ικανότητάς τους να διαφοροποιούνται, να παρέχουν τροφική υποστήριξη και να ρυθμίζουν την έμφυτη ανοσοαπόκριση. Αυτά τα κύτταρα έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε διάφορους τύπους κυττάρων όπως οστεοβλάστες, χονδροβλάστες, λιποκύτταρα, νευροεκδερμικά κύτταρα και ηπατοκύτταρα. Οι βιοδραστικοί μεσολαβητές που ευνοούν την τοπική κυτταρική ανάπτυξη εκκρίνονται επίσης από τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα. Παρατηρούνται επίσης αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις στο τοπικό μικροπεριβάλλον, οι οποίες προάγουν την επούλωση των ιστών. Η φλεγμονώδης απόκριση μπορεί να ρυθμιστεί από αναγεννητικά κύτταρα που προέρχονται από λιπώδη ιστό συμπεριλαμβανομένων των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων και των ρυθμιστικών Τ-λεμφοκυττάρων. Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα μεταβάλλουν έτσι το αποτέλεσμα της ανοσολογικής απόκρισης αλλάζοντας την έκκριση κυτοκίνης των δενδριτικών και των υποομάδων Τ-κυττάρων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μετάβαση από ένα προφλεγμονώδες περιβάλλον σε ένα αντιφλεγμονώδες ή ανεκτικό κυτταρικό περιβάλλον (Phinney & Prockop, 2007; Augello et al., 2007).

- Ενδοθηλιακά βλαστοκύτταρα: Τα ενδοθηλιακά βλαστοκύτταρα είναι ένας από τους τρεις τύπους πολυδύναμων βλαστοκυττάρων που βρίσκονται στο μυελό

των οστών. Είναι μια σπάνια και αμφιλεγόμενη ομάδα με την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα που επενδύουν τα αιμοφόρα αγγεία (Siddique et al., 2010).

- Νευρικά βλαστοκύτταρα: Η ύπαρξη βλαστοκυττάρων στον εγκέφαλο των ενηλίκων έχει υποτεθεί μετά την ανακάλυψη ότι η διαδικασία της νευρογένεσης, η γέννηση νέων νευρώνων, συνεχίζεται μέχρι την ενηλικίωση σε αρουραίους. Η παρουσία βλαστοκυττάρων στον εγκέφαλο των ώριμων πρωτευόντων αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1967. Έκτοτε έχει αποδειχθεί ότι δημιουργούνται νέοι νευρώνες σε ενήλικα ποντίκια, ωδικά πτηνά και πρωτεύοντα θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων. Φυσιολογικά, η νευρογένεση των ενηλίκων περιορίζεται σε δύο περιοχές του εγκεφάλου – την υποκοιλιακή ζώνη, η οποία ευθυγραμμίζει τις πλάγιες κοιλίες και την οδοντωτή έλικα του σχηματισμού του ιππόκαμπου. Αν και η δημιουργία νέων νευρώνων στον ιππόκαμπο είναι καλά εδραιωμένη, η παρουσία αληθινών αυτοανανεούμενων βλαστοκυττάρων εκεί έχει συζητηθεί. Υπό ορισμένες συνθήκες, όπως μετά από βλάβη ιστού στην ισχαιμία, μπορεί να προκληθεί νευρογένεση σε άλλες περιοχές του εγκεφάλου, συμπεριλαμβανομένου του νεοφλοιού.Τα νευρικά βλαστοκύτταρα συνήθως καλλιεργούνται in vitro ως οι λεγόμενες νευρόσφαιρες – αιωρούμενα ετερογενή συσσωματώματα κυττάρων, που περιέχουν μεγάλο ποσοστό βλαστικών κυττάρων. Μπορούν να πολλαπλασιαστούν για εκτεταμένες χρονικές περιόδους και να διαφοροποιηθούν τόσο σε νευρωνικά όσο και σε νευρογλοιακά κύτταρα και επομένως να συμπεριφέρονται ως βλαστοκύτταρα. Ωστόσο, ορισμένες πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι αυτή η συμπεριφορά προκαλείται από τις συνθήκες καλλιέργειας σε προγονικά κύτταρα, τους απογόνους της διαίρεσης των βλαστοκυττάρων που κανονικά υφίστανται αυστηρά περιορισμένο αριθμό κύκλων αντιγραφής in vivo. Επιπλέον, τα κύτταρα που προέρχονται από τη νευρόσφαιρα δεν συμπεριφέρονται ως βλαστοκύτταρα όταν μεταμοσχεύονται πίσω στον εγκέφαλο. Ακόμη, μοιράζονται πολλές ιδιότητες με τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα. Είναι αξιοσημείωτο ότι όταν εγχέονται στο αίμα, τα κύτταρα που προέρχονται από τη νευρόσφαιρα διαφοροποιούνται σε διάφορους τύπους κυττάρων του ανοσοποιητικού

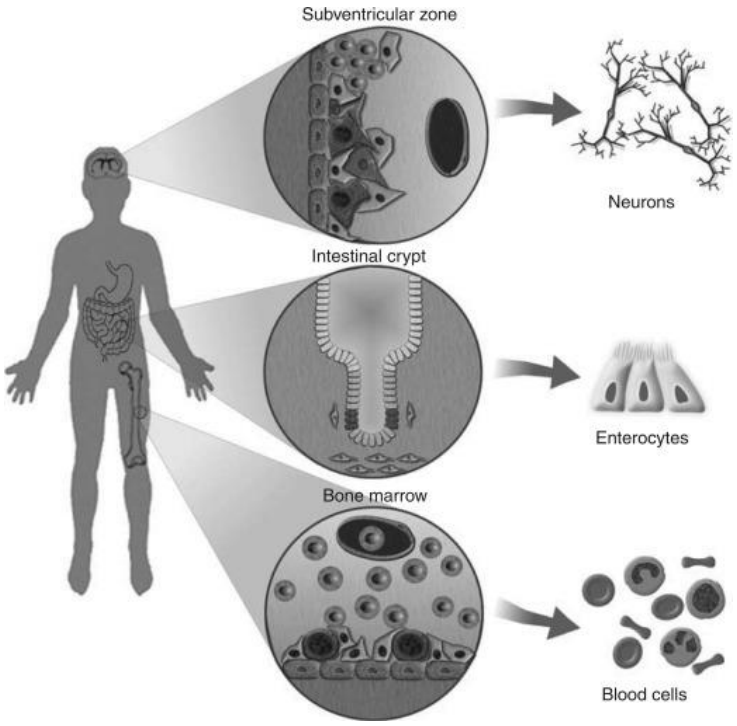
συστήματος (Beattie& Hippenmeyer, 2017; Paspala et al., 2011; Sakaguchi & Okano, 2012).

- Οσφρητικά βλαστοκύτταρα ενηλίκων: Τα οσφρητικά ενήλικα βλαστοκύτταρα έχουν συλλεχθεί με επιτυχία από τα κύτταρα του ανθρώπινου βλεννογόνου της όσφρησης, τα οποία βρίσκονται στην επένδυση της μύτης και εμπλέκονται στην αίσθηση της όσφρησης. Εάν τους δοθεί το κατάλληλο χημικό περιβάλλον, αυτά τα κύτταρα έχουν την ίδια ικανότητα με τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα να εξελιχθούν σε πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων. Τα οσφρητικά βλαστοκύτταρα έχουν τη δυνατότητα για θεραπευτικές εφαρμογές και, σε αντίθεση με τα νευρικά βλαστοκύτταρα, μπορούν να συλλεχθούν με ευκολία χωρίς βλάβη στον ασθενή. Αυτό σημαίνει ότι μπορούν να ληφθούν εύκολα από όλα τα άτομα, συμπεριλαμβανομένων των ηλικιωμένων ασθενών που μπορεί να έχουν μεγαλύτερη ανάγκη από θεραπείες με βλαστοκύτταρα (Murrell et al., 2005).

- Βλαστοκύτταρα νευρικής ακρολοφίας: Τα τριχοθυλάκια περιέχουν δύο τύπους βλαστοκυττάρων, ένα από τα οποία φαίνεται να αντιπροσωπεύει ένα υπόλοιπο των βλαστοκυττάρων της εμβρυϊκής νευρικής ακρολοφίας. Παρόμοια κύτταρα έχουν βρεθεί στη γαστρεντερική οδό, στο ισχιακό νεύρο, στην καρδιακή οδό εκροής και στα νωτιαία και συμπαθητικά γάγγλια. Αυτά τα κύτταρα μπορούν να δημιουργήσουν νευρώνες, κύτταρα Schwann, μυοϊνοβλάστες, χονδροκύτταρα και μελανοκύτταρα (Sieber-Blum & Hu, 2008).

- Κύτταρα όρχεων: Πολυδύναμα βλαστοκύτταρα με ισχυριζόμενη ισοδυναμία με εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα έχουν προέλθει από σπερματογονικά προγονικά κύτταρα που βρέθηκαν στους όρχεις εργαστηριακών ποντικιών από επιστήμονες στη Γερμανία και στις Ηνωμένες Πολιτείες, και, ένα χρόνο αργότερα, ερευνητές από τη Γερμανία και το Ηνωμένο Βασίλειο επιβεβαίωσαν την ίδια ικανότητα χρησιμοποιώντας κύτταρα από τους όρχεις των ανθρώπων. Τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα έχουν επίσης προέλθει από γεννητικά κύτταρα που βρίσκονται στους ανθρώπινους όρχεις (Phillips et al., 2010; Guo et al., 2013; de Rooij, 2009).

Οι θεραπείες με βλαστοκύτταρα ενηλίκων έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία εδώ και πολλά χρόνια για τη θεραπεία της λευχαιμίας και των σχετικών καρκίνων των οστών/αίματος μέσω μεταμοσχεύσεων μυελού των οστών. Η χρήση ενηλίκων βλαστοκυττάρων στην έρευνα και τη θεραπεία δεν είναι τόσο αμφιλεγόμενη όσο η χρήση εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων, επειδή η παραγωγή ενηλίκων βλαστοκυττάρων δεν απαιτεί την καταστροφή ενός εμβρύου. Επιπλέον, σε περιπτώσεις όπου τα βλαστοκύτταρα ενηλίκων λαμβάνονται από τον επιδιωκόμενο λήπτη (αυτομόσχευμα), ο κίνδυνος απόρριψης είναι ουσιαστικά ανύπαρκτος. Με την αυξανόμενη ζήτηση ανθρώπινων ενήλικων βλαστοκυττάρων τόσο για ερευνητικούς όσο και για κλινικούς σκοπούς (συνήθως απαιτούνται 1-5 εκατομμύρια κύτταρα ανά κιλό σωματικού βάρους ανά θεραπεία) καθίσταται υψίστης σημασίας να γεφυρωθεί το χάσμα μεταξύ της ανάγκης επέκτασης των κυττάρων in vitro και της ικανότητας αξιοποίησης των παραγόντων που υποκρύπτουν την αντιγραφική γήρανση. Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα είναι γνωστό ότι έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής in vitro και ότι εισέρχονται στην αντιγραφική γήρανση σχεδόν μη ανιχνεύσιμα κατά την έναρξη της in vitro καλλιέργειας (Oliveira, da Silva & Cabral, 2014).



Εικόνα 5. Ενήλικα βλαστοκύτταρα

(Πηγή: Chagastelles & Nardi, 2011)

2.5 Επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα

Τα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα (επίσης γνωστά ως κύτταρα iPS ή iPSC) είναι ένας τύπος πολυδύναμων βλαστοκυττάρων που μπορεί να δημιουργηθεί απευθείας από ένα σωματικό κύτταρο. Η τεχνολογία iPSC πρωτοστάτησε από το εργαστήριο του Shinya Yamanaka στο Κιότο της Ιαπωνίας, ο οποίος έδειξε το 2006 ότι η εισαγωγή τεσσάρων συγκεκριμένων γονιδίων (που ονομάζονται Myc, Oct3/4, Sox2 και Klf4), γνωστά συλλογικά ως παράγοντες Yamanaka, που κωδικοποιούν παράγοντες μεταγραφής θα μπορούσε να μετατρέψει τα σωματικά κύτταρα σε πολυδύναμα βλαστοκύτταρα. Του απονεμήθηκε το βραβείο Νόμπελ το 2012 μαζί με τον Sir John Gurdon για την ανακάλυψη ότι τα ώριμα κύτταρα μπορούν να επαναπρογραμματιστούν για να γίνουν πολυδύναμα (Mahla, 2016).

Τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα είναι πολλά υποσχόμενα στον τομέα της αναγεννητικής ιατρικής. Επειδή μπορούν να πολλαπλασιαστούν επ' αόριστον, καθώς και να δημιουργήσουν κάθε άλλο τύπο κυττάρου στο σώμα (όπως νευρώνες, καρδιά, παγκρεατικά και ηπατικά κύτταρα), αντιπροσωπεύουν μια ενιαία πηγή κυττάρων που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να αντικαταστήσει αυτά που χάθηκαν λόγω βλάβης ή ασθένειας (Kolios & Moodley, 2013).

Ο πιο γνωστός τύπος πολυδύναμων βλαστοκυττάρων είναι τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα. Ωστόσο, δεδομένου ότι η δημιουργία εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων περιλαμβάνει καταστροφή του προεμφυτευτικού σταδίου εμβρύου, υπήρξε μεγάλη διαμάχη γύρω από τη χρήση τους. Οι σειρές εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων που ταιριάζουν με τον ασθενή μπορούν τώρα να παραχθούν χρησιμοποιώντας πυρηνική μεταφορά σωματικών κυττάρων (Hockemeyer & Jaenisch, 2016).

Δεδομένου ότι τα iPSC μπορούν να προέρχονται απευθείας από ιστούς ενηλίκων, όχι μόνο παρακάμπτουν την ανάγκη για έμβρυα, αλλά μπορούν να κατασκευαστούν με τρόπο που ταιριάζει με τον ασθενή, πράγμα που σημαίνει ότι κάθε άτομο θα μπορούσε να έχει τη δική του πολυδύναμη σειρά βλαστοκυττάρων. Αυτές οι απεριόριστες προμήθειες αυτόλογων κυττάρων θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία μοσχευμάτων χωρίς τον κίνδυνο απόρριψης του ανοσοποιητικού. Ενώ η τεχνολογία iPSC δεν έχει προχωρήσει ακόμη σε ένα στάδιο όπου οι θεραπευτικές μεταμοσχεύσεις έχουν κριθεί ασφαλείς, τα iPSC χρησιμοποιούνται

εύκολα σε εξατομικευμένες προσπάθειες ανακάλυψης φαρμάκων και στην κατανόηση της ειδικής βάσης της νόσου για τον ασθενή (Kolios & Moodley, 2013).

Αν και ο Yamanaka απέδειξε ότι τα ενήλικα κύτταρα μπορούν να επαναπρογραμματιστούν σε κύτταρα iPS, εξακολουθούν να υπάρχουν προκλήσεις που σχετίζονται με αυτήν την τεχνολογία:

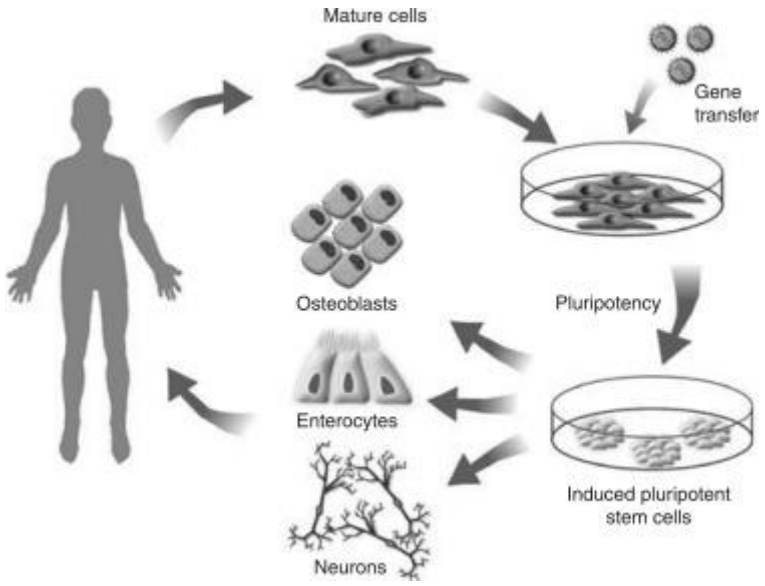
- Χαμηλή απόδοση: γενικά, η μετατροπή σε κύτταρα iPS ήταν απίστευτα χαμηλή. Για παράδειγμα, ο ρυθμός με τον οποίο τα σωματικά κύτταρα επαναπρογραμματίστηκαν σε κύτταρα iPS στην αρχική μελέτη με ποντίκια του Yamanaka ήταν 0,01–0,1% (Takahashi & Yamanaka, 2006). Το χαμηλό ποσοστό απόδοσης μπορεί να αντανακλά την ανάγκη για ακριβή χρονισμό, ισορροπία και απόλυτα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων επαναπρογραμματισμού. Μπορεί επίσης να υποδηλώνει ανάγκη για σπάνιες γενετικές και/ή επιγενετικές αλλαγές στον αρχικό πληθυσμό σωματικών κυττάρων ή στην παρατεταμένη καλλιέργεια. Ωστόσο, πρόσφατα βρέθηκε ένα μονοπάτι για αποτελεσματικό επαναπρογραμματισμό που απαιτούσε μείωση της ρύθμισης του συμπλέγματος αναδιαμόρφωσης νουκλεοσώματος και αποακετυλίωσης (NuRD). Η υπερέκφραση του Mbd3, μιας υπομονάδας του NuRD, αναστέλλει την επαγωγή των iPSC. Η εξάντληση του Mbd3, από την άλλη πλευρά, βελτιώνει την αποδοτικότητα επαναπρογραμματισμού, που οδηγεί σε ντετερμινιστικό και συγχρονισμένο επαναπρογραμματισμό κυττάρων iPS (σχεδόν 100% απόδοση εντός επτά ημερών από κύτταρα ποντικιού και ανθρώπου) (Luo et al., 2013).

- Γονιδιωματική εισαγωγή: η γονιδιωματική ενσωμάτωση των παραγόντων μεταγραφής περιορίζει τη χρησιμότητα της προσέγγισης του μεταγραφικού παράγοντα λόγω του κινδύνου εισαγωγής μεταλλάξεων στο γονιδίωμα του κυττάρου στόχου. Μια κοινή στρατηγική για την αποφυγή της γονιδιωματικής εισαγωγής ήταν η χρήση διαφορετικού φορέα για εισαγωγή. Τα πλασμίδια, οι αδενοϊοί και οι φορείς τρανσποζονίων έχουν όλα διερευνηθεί, αλλά αυτά συχνά συνοδεύονται από τη χαμηλότερη απόδοση (Selvaraj et al., 2010).

- Ογκογένεση: Ανάλογα με τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται, ο επαναπρογραμματισμός ενηλίκων κυττάρων για τη λήψη iPSC μπορεί να

εγκυμονεί σημαντικούς κινδύνους που θα μπορούσαν να περιορίσουν τη χρήση τους στον άνθρωπο. Για παράδειγμα, εάν χρησιμοποιούνται ιοί για γονιδιωματική τροποποίηση των κυττάρων, η έκφραση ογκογονιδίων (γονίδια που προκαλούν καρκίνο) μπορεί ενδεχομένως να ενεργοποιηθεί. Τον Φεβρουάριο του 2008, οι επιστήμονες ανακοίνωσαν την ανακάλυψη μιας τεχνικής που θα μπορούσε να αφαιρέσει τα ογκογονίδια μετά την επαγωγή της πολυδύναμης, αυξάνοντας έτσι την πιθανή χρήση των κυττάρων iPS σε ανθρώπινες ασθένειες. Σε μια άλλη μελέτη, ο Yamanaka ανέφερε ότι μπορεί κανείς να δημιουργήσει iPSC χωρίς το ογκογονίδιο c-Myc. Η αδρανοποίηση ή η διαγραφή του ογκοκατασταλτικού p53, που είναι βασικός ρυθμιστής του καρκίνου, αυξάνει σημαντικά την αποτελεσματικότητα επαναπρογραμματισμού. Έτσι φαίνεται να υπάρχει μια αντιστάθμιση μεταξύ της αποτελεσματικότητας επαναπρογραμματισμού και της δημιουργίας όγκου (Kolios & Moodley, 2013).

- Ατελής επαναπρογραμματισμός: ο επαναπρογραμματισμός αντιμετωπίζει επίσης την πρόκληση της πληρότητας. Αυτό είναι ιδιαίτερα δύσκολο επειδή ο επιγενετικός κώδικας σε όλο το γονιδίωμα πρέπει να επαναδιαμορφωθεί σε αυτόν του τύπου κυττάρου στόχου προκειμένου να επαναπρογραμματιστεί πλήρως ένα κύτταρο. Ωστόσο, τρεις ξεχωριστές ομάδες εντόπισαν κύτταρα iPS που προέρχονταν από εμβρυϊκούς ινοβλάστες ποντικού. Αυτά μπορούσαν να εγχυθούν σε τετραπλοειδείς βλαστοκύστεις και είχαν ως αποτέλεσμα τη γέννηση ζωντανών ποντικών. Προέρχονταν εξ ολοκλήρου από κύτταρα iPS, τερματίζοντας έτσι τη συζήτηση για την ισοδυναμία των εμβρυϊκών βλαστοκύτταρων με τα κύτταρα iPS (Zhao et al., 2009).



Εικόνα 6. Παραγωγή επαγόμενων πολυδύναμων βλαστοκυττάρων

(Πηγή: Chagastelles & Nardi, 2011)

2.6 Θεραπεία με βλαστοκύτταρα

Η θεραπεία με βλαστοκύτταρα είναι η χρήση βλαστοκυττάρων για τη θεραπεία ή την πρόληψη μιας ασθένειας ή πάθησης. Η βλαστοκυτταρική θεραπεία έχει διερευνηθεί σχεδόν σε κάθε εκφυλιστική διαταραχή. Ελπιδοφόρα αποτελέσματα από προκλινικές μελέτες και κλινικές δοκιμές έχουν ήδη περιγραφεί σε πολλές ασθένειες, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, η χρόνια μυελογενή λευχαιμία, η κίρρωση, η πνευμονική ίνωση, η καρδιακή ανεπάρκεια, η νόσος του Crohn, διαταραχές του νευρικού συστήματος κλπ. (Chagastelles & Nardi, 2011).

Η συμβολή των βλαστοκυττάρων στη σύγχρονη ιατρική είναι υψίστης σημασίας, τόσο για την ευρεία χρήση τους στη βασική έρευνα όσο και για τις ευκαιρίες που δίνουν στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών στην κλινική πράξη. Τα χαρακτηριστικά τους τα καθιστούν πολύτιμα σε ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών στις βιολογικές και ιατρικές επιστήμες. Για παράδειγμα, τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα είναι εξαιρετικά εργαλεία για την κατανόηση της ανθρώπινης ανάπτυξης και οργανογένεσης. Επιπλέον, τα βλαστοκύτταρα μπορεί να είναι σε θέση να αντικαταστήσουν τον κατεστραμμένο ιστό ή ακόμη και να αναγεννήσουν όργανα. Τα iPSC παρέχουν την ευκαιρία να δημιουργηθούν ανθρώπινα μοντέλα ασθενειών που

θα βελτιώσουν την κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών των ανθρώπινων ασθενειών και θα επέτρεπαν βελτιώσεις στη θεραπεία με βάση τα κύτταρα για εκφυλιστικές διαταραχές. Οι θεραπείες με βλαστοκύτταρα μπορεί να μειώσουν τα συμπτώματα της νόσου ή της πάθησης που αντιμετωπίζεται. Η μείωση των συμπτωμάτων μπορεί να επιτρέψει στους ασθενείς να μειώσουν τη λήψη φαρμάκου για τη νόσο ή την πάθηση. Η θεραπεία με βλαστοκύτταρα μπορεί επίσης να παρέχει γνώση στην κοινωνία για την περαιτέρω κατανόηση των βλαστοκυττάρων και μελλοντικές θεραπείες. Οι κίνδυνοι που σχετίζονται με την αναισθησία μπορούν επίσης να εξαλειφθούν με τα βλαστοκύτταρα. Επιπλέον, οι αυτόλογες θεραπείες πιστεύεται ότι είναι οι ασφαλέστερες επειδή υπάρχει πιθανώς μηδενική πιθανότητα απόρριψης της ουσίας του δότη (Kolios & Moodley, 2013).

Ωστόσο, οι θεραπείες με βλαστοκύτταρα μπορεί να απαιτούν ανοσοκαταστολή λόγω της απαίτησης για ακτινοβολία πριν από τη μεταμόσχευση για την αφαίρεση των προηγούμενων κυττάρων του ατόμου ή επειδή το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς μπορεί να στοχεύσει τα βλαστοκύτταρα. Μια προσέγγιση για να αποφευχθεί η δεύτερη πιθανότητα είναι η χρήση βλαστοκυττάρων από τον ίδιο ασθενή που υποβάλλεται σε θεραπεία. Η πολυδύναμη σε ορισμένα βλαστοκύτταρα θα μπορούσε επίσης να καταστήσει δύσκολη την απόκτηση ενός συγκεκριμένου τύπου κυττάρου. Είναι επίσης δύσκολο να ληφθεί ο ακριβής τύπος κυττάρου που απαιτείται, επειδή δεν διαφοροποιούνται όλα τα κύτταρα σε έναν πληθυσμό ομοιόμορφα. Τα αδιαφοροποίητα κύτταρα μπορούν να δημιουργήσουν ιστούς διαφορετικούς από τους επιθυμητούς τύπους. Ορισμένα βλαστοκύτταρα σχηματίζουν όγκους μετά τη μεταμόσχευση· η πολυδυναμία συνδέεται με το σχηματισμό όγκων, ειδικά σε εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα, και επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα (Kolios & Moodley, 2013). Επίσης εγείρονται ηθικές ανησυχίες σχετικά με την πρακτική χρήσης ή έρευνας εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων. Η συλλογή κυττάρων από τη βλαστοκύστη έχει ως αποτέλεσμα τον θάνατο της βλαστοκύστης. Το ενδιαφέρον είναι εάν η βλαστοκύστη πρέπει να θεωρείται ως ανθρώπινη ζωή. Η συζήτηση για αυτό το θέμα είναι κυρίως φιλοσοφική, όχι επιστημονική (Lo & Parham, 2009).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 3 - Αναγέννηση Ενδομήτριου και Βλαστοκύτταρα

3.1 Βιολογικοί μηχανισμοί αποκατάστασης του ενδομήτριου

Το ανθρώπινο ενδομήτριο είναι ένας εξαιρετικά δυναμικός ιστός που, όταν εκτίθεται σε οιστρογόνα και προγεστερόνη των ωοθηκών, υφίσταται περιοδική αποβολή, επισκευή, αναγέννηση και αναδιαμόρφωση και προετοιμάζεται για εμφύτευση εμβρύου (Evans et al., 2016). Η κατανόηση των κυκλικών φυσιολογικών και βιολογικών διεργασιών του φυσιολογικού ανθρώπινου ενδομήτριου είναι απαραίτητη για τη θεραπεία μη φυσιολογικών ενδομητρικών βλαβών και την αποκατάσταση τραυματισμένου ενδομήτριου ιστού που προκαλείται από παράγοντες όπως επαναλαμβανόμενες ενδομήτριες επεμβάσεις, λοιμώξεις και θεραπεία καρκίνου.

Το ανθρώπινο ενδομήτριο χωρίζεται σε λειτουργικά και βασικά στρώματα ανατομικά και λειτουργικά. Το λειτουργικό στρώμα που προέρχεται από το βασικό στρώμα είναι το «εύφορο έδαφος» για την εμφύτευση εμβρύου. Το ενδομήτριο αυτής της λειτουργικής στιβάδας ρυθμίζεται από ορμόνες των ωοθηκών και υφίσταται περιοδικές πολλαπλασιαστικές και εκκριτικές αλλαγές. Εάν το ωάριο δεν γονιμοποιηθεί, αυτό το στρώμα υφίσταται στη συνέχεια ισχαιμική νέκρωση και αποβολή, που έχει ως αποτέλεσμα την έμμηνο ρύση που προκαλείται από την υποχώρηση των λειτουργιών του ωχρού ωοθηκικού συστήματος καθώς και από την απόσυρση οιστρογόνων και προγεστερόνης. Αντίθετα, το ενδομήτριο της βασικής στιβάδας βρίσκεται κοντά στο μυομήτριο και παραμένει ανεπηρέαστο από τις κυκλικές αλλαγές των ορμονών των ωοθηκών (Evans et al., 2016). Αναγεννά και επιδιορθώνει την πληγή του ενδομήτριου μετά την έμμηνο ρύση και στη συνέχεια αναδομεί το λειτουργικό στρώμα.

Η έμμηνος ρύση ξεκινά μετά από απόσυρση της ορμόνης των ωοθηκών, η οποία μεσολαβείται από πολύπλοκη ενδοκρινική και παρακρινή σηματοδότηση στο τοπικό ενδομήτριο. Είναι ενδιαφέρον ότι η καταστροφή του ενδομητρικού ιστού και η επανεπιθηλιοποίηση συμβαίνουν ταυτόχρονα. Η επανεπιθηλιοποίηση ξεκινά περίπου στις 36 ώρες μετά την έναρξη της εμμήνου ρύσεως, η οποία απαιτεί περίπου 48 ώρες για να ολοκληρωθεί (Garry et al., 2009). Η υστεροσκοπική ανάλυση του ενδομήτριου κατά την έμμηνο ρύση έδειξε ότι η υποχώρηση του ενδομήτριου είναι ένα περιστατικό ζωνών, δηλαδή, περιοχές που γειτνιάζουν με το ενδομήτριο που απορρίπτεται έχουν άθικτο ενδομήτριο ιστό από τον προηγούμενο εμμηνορροϊκό κύκλο και υπάρχουν περιοχές που έχουν ολοκληρώσει την επανεπιθηλιοποίηση (Garry et al., 2009). Τα decidua στρωματικά κύτταρα (DSCs) εκφράζουν τον υποδοχέα προγεστερόνης (PR) κατά την προεμμηνορροϊκή περίοδο και ανιχνεύουν την απόσυρση προγεστερόνης, υποστηρίζοντας το ρόλο των DSCs στην απόκριση στα ενδοκρινικά σήματα και στη μετάδοση παρακρινών σημάτων κατά την έμμηνο ρύση (Evans & Salamonsen, 2014). Πειράματα in vitro έδειξαν ότι η απόσυρση της προγεστερόνης αναστέλλει την έκφραση της υπεροξειδικής δισμουτάσης στα DSCs και προάγει την παραγωγή ελεύθερου οξυγόνου. Ο τελευταίος ρυθμίζει προς τα πάνω τον πυρηνικό παράγοντα-κΒ και την κυκλοοξυγενάση-2 και την έκφραση φλεγμονωδών παραγόντων όπως η προσταγλανδίνη F2α και οι παράγοντες χημειοταξίας, και στη συνέχεια στρατολογεί φλεγμονώδη κύτταρα όπως μακροφάγα, ηωσινόφιλα και ουδετερόφιλα στο ενδομήτριο της περιόδου (Evans & Salamonsen, 2014). Αυτά τα φλεγμονώδη κύτταρα εκκρίνουν πρωτεολυτικά ένζυμα που συμβάλλουν στην καταστροφή των ιστών του ενδομητρίου ενώ προάγουν την έκφραση πρωτεασών και γονιδιακών προϊόντων που σχετίζονται με τη σύνθεση και την επισκευή της εξωκυτταρικής μήτρας, τα οποία ξεκινούν την επιδιόρθωση του ενδομητρίου. Αυτοί οι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της ακτιβίνης, του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF), της πλούσιας σε κυστεΐνη εκκριτικής πρωτεΐνης 3 και της γαλακτίνης-7, και οδών που σχετίζονται με την ανάπτυξη, όπως η οδός Wnt και η μεσεγχυματική-επιθηλιακή μετάβαση, προάγουν την επανεπιθηλιοποίηση και αναγέννηση του ενδομητρίου μετά εμμηνόρροια, αλλά δεν βασίζεται στα οιστρογόνα (Evans et al., 2015). Όταν το ενδομήτριο επανεπιθηλιωθεί πλήρως, τα οιστρογόνα χρειάζονται για να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό του ενδομήτριου επιθηλίου και των στρωματικών κυττάρων.

3.2 Βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου

Το ανθρώπινο ενδομήτριο είναι ένα εξαιρετικό μοντέλο ελεγχόμενης αναδιαμόρφωσης ιστών, απαράμιλλο σε άλλα όργανα, το οποίο μεγαλώνει περίπου 7 mm μέσα σε μία εβδομάδα σε κάθε εμμηνορροϊκό κύκλο. Με αυτόν τον ρυθμό, υπάρχει ένας πολύ γρήγορος ρυθμός αγγειογένεσης για περίπου 500 κύκλους με αυστηρά ελεγχόμενο τρόπο στη διάρκεια της ζωής μιας γυναίκας. Το ανθρώπινο ενδομήτριο, που προέρχεται από τη βλεννογονική επένδυση των συντηγμένων παραμεσονεφρικών σωλήνων κατά την εμβρυογένεση, είναι ένας δυναμικός ιστός. Αποτελείται από δύο κύριες ζώνες: τη λειτουργική και τη βασική. Τα προγονικά κύτταρα βρίσκονται στο βασικό στρώμα του ανθρώπινου ενδομήτριου. Αυτά τα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα (παροδικά κύτταρα) στη συνέχεια μετακινούνται στο λειτουργικό στρώμα και συμμετέχουν ενεργά στην αναγέννηση και την αναδιαμόρφωση του ενδομήτριου. Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου (MSCs) έχουν εντοπιστεί στο ενδομήτριο (επένδυση της μήτρας) (Verdi et al., 2014).

3.2.1 Δείκτες ανθρώπινων βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου

Τα ουσιαστικά στοιχεία που υποδεικνύουν ότι υπάρχουν πληθυσμοί ενηλίκων βλαστοκυττάρων στο ανθρώπινο ενδομήτριο υποδηλώνουν ότι θα πρέπει να είναι δυνατή η ενεργοποίηση ενδογενών ενδομητριακών βλαστοκυττάρων/προγονικών κυττάρων σε περιπτώσεις λεπτού δυσλειτουργικού ή ατροφικού ενδομήτριου. Θα πρέπει επίσης να είναι δυνατή η μεταμόσχευση ενδομήτριων βλαστικών/προγονικών κυττάρων στην κοιλότητα της μήτρας στο σύνδρομο Asherman ή σε σοβαρές περιπτώσεις ενδομήτριας προσκόλλησης ως κυτταρική θεραπεία για την αναγέννηση του ενδομήτριου. Επιπλέον, τα ενδομήτρια βλαστοκύτταρα/προγονικά κύτταρα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για εφαρμογές αναγεννητικής ιατρικής εκτός από την ανακατασκευή του ενδομήτριου (Gargett & Ye, 2012).

Έχουν αναγνωριστεί ειδικοί δείκτες ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου. Η συνέκφραση του CD146 και του υποδοχέα βήτα του αυξητικού

παράγοντα που προέρχεται από αιμοπετάλια (PDGF-Rβ) απομονώνει την πλειονότητα των κλωνογονικών στρωματικών κυττάρων (CFU), εμπλουτίζοντας τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου 8 έως 10 φορές έναντι των μη κλασματοποιημένων στρωματικών κυττάρων του ενδομητρίου. Αυτά τα κύτταρα CD146+PDGF-Rβ+ είναι πολυδύναμα, διαφοροποιούνται σε τυπικές μεσοδερματικές σειρές (λιπογόνα, μυογονικά, οστεογονικά, χονδρογονικά), έχουν τυπικό επιφανειακό φαινότυπο μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου και βρίσκονται περιαγγειακά τόσο στη λειτουργική όσο και στην βασική στιβάδα, υποδηλώνοντας ότι είναι περικύτταρα (Schwab &Gargett, 2007).

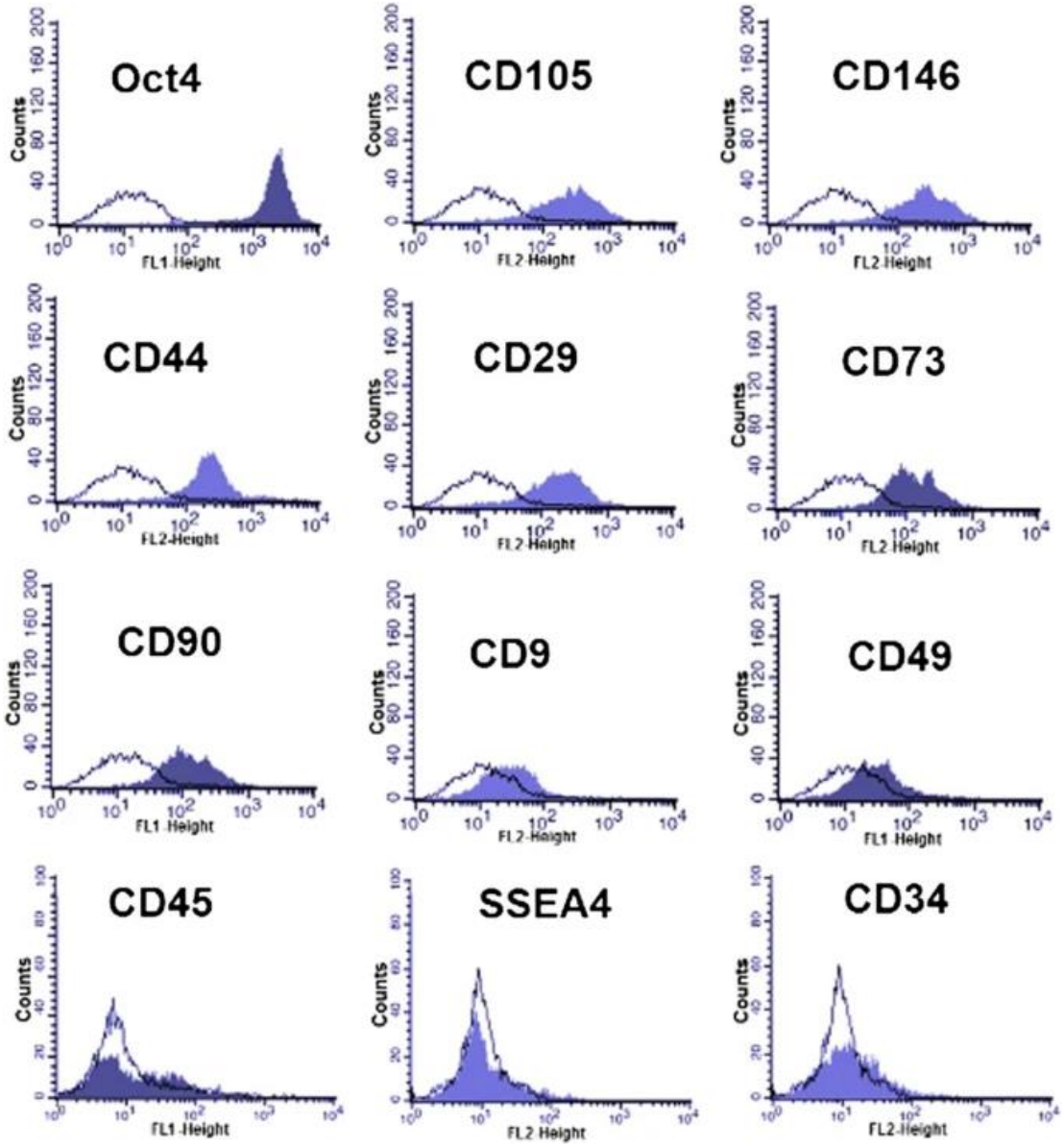
Μια ξεχωριστή μελέτη που εξέταζε το γονιδιακό προφίλ των ίδιων ανθρώπινων ενδομητρικών πληθυσμών (CD146+PDGF-Rβ+, ενδομήτριο MSC· CD146−PDGF-Rβ+, ινοβλάστες· CD146−PDGF-Rβ−, ενδοθηλιακό κύτταρο) ταξινομημένο με κυτταρομετρία ροής, επιβεβαίωσε ότι ο διπλά θετικός πληθυσμός ήταν κλωνογόνος, διαφοροποιήθηκε σε λιποκύτταρα και εντοπίστηκε περιαγγειακά (Spitzer et al., 2012). Το γονιδιακό προφίλ αυτού του πληθυσμού CD146+PDGF-Rβ+ έδειξε ότι αυτά τα κύτταρα εξέφραζαν δείκτες περικύτταρου και γονίδια που σχετίζονται με αγγειογένεση, αποκρίσεις στεροειδούς ορμόνης/υποξίας, φλεγμονή, ανοσοτροποποίηση και σηματοδοτικές οδούς που σχετίζονται με την αυτοανανέωση και τα πολυδύναμα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου (Notch, μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας-β [TGF-β], ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας [IGF], Hedgehog, συζευγμένοι με πρωτεΐνη G υποδοχείς). Περαιτέρω ανάλυση έδειξε ότι αυτός ο διπλός θετικός πληθυσμός συγκεντρωνόταν με ενδομητρικούς ινοβλάστες και ήταν διαφορετικός από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, υποδεικνύοντας ότι το γενετικό του προφίλ ήταν προγνωστικό της διαφοροποιημένης γενεαλογίας του, των στρωματικών ινοβλαστών (Spitzer et al., 2012). Το γονιδιακό προφίλ των ανθρώπινων ενδομητρικών κυττάρων CD146+PDGF-Rβ+ υποδηλώνει ότι έχουν ανοσοτροποποιητικό δυναμικό, χαμηλή ανοσογονικότητα (χαμηλή έκφραση γονιδίου MHC τάξης I) παρόμοια με κύτταρα που μοιάζουν με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου από το αίμα της περιόδου και άλλες πηγές MSC (Spitzer et al., 2012). Η περιαγγειακή τους θέση τόσο στη λειτουργική όσο και στη βασική στοιβάδα υποδεικνύει ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου αποβάλλονται στο αίμα της εμμήνου ρύσεως και μπορεί να έχουν βασικό ρόλο στην εγκατάσταση εμφυτευμάτων ενδομητρίωσης, υποδεικνύοντας την

ικανότητά τους να ανακατασκευάζουν το ενδομήτριο σε έκτοπες θέσεις (Gargett & Masuda, 2010).

Ο έλεγχος του ανθρώπινου ενδομητρικού ιστού και των κυττάρων με περιαγγειακούς δείκτες έχει ταυτοποιήσει έναν μοναδικό νέο δείκτη, τον W5C5, ο οποίος ανανεώνει τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου, με όλες τις in vitro ιδιότητες των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων. Όταν μεταμοσχεύονται κάτω από την κάψουλα του νεφρού σε ανοσοκατεσταλμένα κύτταρα W5C5+ ποντικών NOD/Scid/γ (NSG) αναδομούν τον ανθρώπινο στρωματικό ιστό. Η ανανέωση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου έχει απλοποιηθεί χρησιμοποιώντας αυτόν τον μοναδικό δείκτη W5C5, επιτρέποντας τη διαλογή με μαγνητικά σφαιρίδια, αυξάνοντας σημαντικά την απόδοση. Το ανθρώπινο ενδομήτριο είναι η μόνη πηγή μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων που προέρχεται από ιστό που μπορεί να απομονωθεί με ελάχιστη επεμβατικότητα χωρίς να απαιτείται αναισθητικό. Τα κύτταρα W5C5+ βρίσκονται στο λειτουργικό (και στο βασικό στρώμα) και μπορούν να ανακτηθούν με βιοψία ενδομητρίου, όπως έχουν αποδειχθεί κύτταρα που μοιάζουν με μεσεγχυματικά σε βιοψίες ενδομητρίου. Συνοπτικά, τα W5C5+ και CD146+PDGF-Rβ+ είναι ουσιαστικά ο ίδιος υποπληθυσμός ενδομητρικών στρωματικών κυττάρων που έχουν ιδιότητες και φαινότυπο μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων. Και τα δύο σύνολα δεικτών περιέχουν όλα τα κλωνογονικά στρωματικά κύτταρα συμπεριλαμβανομένων εκείνων που εκκινούν μεγάλους στρωματικούς κλώνους. Τα ανθρώπινα κύτταρα W5C5+ και SP ανασυνθέτουν τον ενδομήτριο στρωματικό ιστό in vivo, αν και τα κύτταρα SP παράγουν επίσης ενδοθήλιο και αδένες που υποδηλώνουν ευρύτερο δυναμικό ενός μεμονωμένου πληθυσμού βλαστοκυττάρων ενηλίκων ή ότι ένας συνδυασμός τύπων βλαστοκυττάρων/προγονικών κυττάρων αναδομεί αυτά τα συστατικά του ενδομητρικού ιστού (Masuda et al., 2012).

Η κυτταρομετρική ανάλυση ροής σημαντικών δεικτών ενδομήτριων βλαστοκυττάρων υποδεικνύεται στην παρακάτω εικόνα. Τα καλλιεργημένα βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου εκφράζουν τυπικούς δείκτες που χρησιμοποιούνται για βλαστικά κύτταρα μυελού των οστών: CD9, CD13, CD14, CD29, CD31, CD44, CD73, CD90, CD105, CD117, CD133, CD146 (Dominici et al., 2006) αλλά όχι STRO-1, CD31 (ενδοθηλιακό) και CD34 (αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα και ενδοθηλιακό) (Dimitrov

et al., 2008). Τα βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου θα μπορούσαν να καθαριστούν με βάση τη συνέκφρασή τους δύο περιαγγειακών δεικτών CD140b και CD146 (Schwab & Gargett, 2007). Κύτταρα με φαινότυπο αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (CD34 + CD45+) που συνεκφράζουν CD7 και CD56 έχουν ταυτοποιηθεί σε αιωρήματα ανθρώπινων ενδομητρικών κυττάρων και μπορεί να είναι λεμφοειδείς πρόγονοι (Lynch et al., 2007). Το Musashi-1, μια πρωτεΐνη που δεσμεύει το RNA σε νευρικά βλαστοκύτταρα και ένας δείκτης επιθηλιακών προγονικών κυττάρων που ρυθμίζει τις οδούς σηματοδότησης αυτο-ανανέωσης, έχει αναγνωριστεί στο ανθρώπινο ενδομήτριο. Το NAC1 είναι ένας καταστολέας της μεταγραφής που εμπλέκεται στην αυτο-ανανέωση και στη διατήρηση της πολυδυναμίας στα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (Wang et al., 2006). Επίσης, το NAC1 υπερεκφράζεται στο φυσιολογικό κυκλικό ενδομήτριο στην πρώιμη και στη μέση φάση πολλαπλασιασμού (Ishikawa et al., 2010). Τα MSI1 και NOTCH1, τα οποία διατηρούν τα βλαστοκύτταρα σε αδιαφοροποίητη κατάσταση, εκφράζονται σε βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου. Η μη ειδική ιστική αλκαλική φωσφατάση, επίσης ανοσοεντοπίζεται σε μια περιαγγειακή θέση στο ανθρώπινο ενδομήτριο και μπορεί να είναι χρήσιμη για την προοπτική απομόνωση των βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου (Sobiesiak et al., 2008). Η πλούσια σε λευκίνη επανάληψη που περιέχει συζευγμένο με πρωτεΐνη G υποδοχέα-5 (Lgr-5) εκφράζεται επίσης σε ανθρώπινα επιθηλιακά επιθηλιακά κύτταρα του ενδομητρίου και στρωματικά κύτταρα του ενδομητρίου. Το W5C5 είναι ένας μοναδικός δείκτης για τον καθαρισμό των βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου, ο οποίος διαφοροποιείται σε λιπογόνες, οστεογενείς, χονδρογονικές και μυογενείς κυτταρικές σειρές (Gil Sanchis et al., 2013; Masuda et al., 2012).



Εικόνα 7. Ροοκυτταρομετρική ανάλυση δεικτών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου

(Πηγή: Verdi et al., 2014)

3.2.2 Ανοσογονικότητα, δυναμικότητα και διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου

Η χρήση εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων στην αναγεννητική θεραπεία συνδέεται με πολλούς κινδύνους. Χωρίς επαρκείς διαδικασίες προσυμπτωματικού ελέγχου των εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων, οι ασθενείς θα αντιμετώπιζαν απόρριψη ιστού παρόμοια

με την απόρριψη μεταμοσχεύσεων οργάνων. Μια λύση σε αυτό το πρόβλημα είναι η δημιουργία βλαστοκυττάρων ειδικά για τον ασθενή. Σε αντίθεση με τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα, τα ενήλικα βλαστοκύτταρα δεν απορρίπτονται από το ανοσοποιητικό σύστημα (Awong et al., 2009). Το ανθρώπινο ενδομήτριο έχει μοναδικές ανοσολογικές απαιτήσεις. Στην εγκυμοσύνη, το ενδομήτριο πρέπει να ανέχεται το εισβάλλον έμβρυο, το οποίο εκφράζει τόσο πατρικά όσο και μητρικά αντιγόνα. Το 2012, ο Peron και οι συνεργάτες του απέδειξαν ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου ήταν σε θέση να καταστέλλουν τη νευρο-φλεγμονή σε ένα μοντέλο ποντικού πολλαπλής σκλήρυνσης. Αυτή η καταστολή εξαρτάται από την έκκριση αντιφλεγμονωδών κυτοκινών όπως η IL-10 και η IL-27, καθώς και από την έκφραση της ινδολεαμινο-2,3-διοξιγενάσης (Peron et al., 2012).

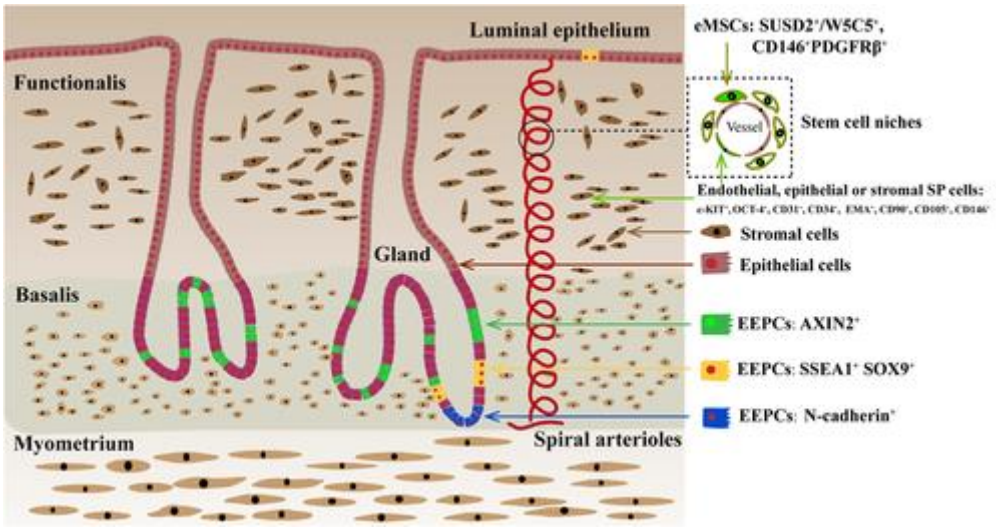
Ορισμένες μελέτες υποστηρίζουν ότι η χορήγηση βλαστοκυττάρων είναι ένας πιθανός τρόπος για την καταστολή της ανάπτυξης του όγκου. Έχει αποδειχθεί ότι τα προγονικά κύτταρα που προέρχονται από το ανθρώπινο δέρμα έχουν επιλεκτικό τροπισμό για κακοήθεις ιστούς. Επίσης πιο ενδιαφέρον είναι ότι αυτά τα κύτταρα έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την ανάπτυξη του όγκου (Pisati et al., 2007). Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου θα μπορούσαν επιλεκτικά να ενσωματωθούν στα γλοιώματα μετά από ενδοαγγειακή ή τοπική παράδοση. Η χορήγηση ERC αναστέλλει την ανάπτυξη του όγκου C6 και η χορήγησή του σχετίζεται με μειωμένη νεοαγγείωση (Han et al., 2009). Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου εκκρίνουν άμεσα ανασταλτικούς παράγοντες όγκου (Quiao et al., 2008).

Τα κύρια χαρακτηριστικά των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων είναι η ικανότητά τους για αυτο-ανανέωση, ικανότητα σχηματισμού αποικιών και διαφοροποίηση σε γενεαλογικές γραμμές που προέρχονται από το μεσόδερμα, συμπεριλαμβανομένης της λιπογενούς, χονδρογονικής και οστεογονικής διαφοροποίησης. Τα βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου που είναι στο ενδομήτριο της μήτρας από την εμβρυϊκή έως την μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο βρέθηκε να διαφοροποιούνται σε λιποκύτταρα, οστεοβλάστες και χονδροκύτταρα επίσης. Η διαμόρφωση του p38 και του c-jun μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο για τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των φυσιολογικών ανθρώπινων ενδομητριακών κυττάρων. Αυτές οι διαφοροποιήσεις μπορούν να εντοπιστούν με θετική χρώση, με Oil Red O (για

σταγονίδια λιπιδίων), von Kossa (για ασβεστοποιημένη εξωκυτταρική μήτρα) και Alcian blue (για θειικές πρωτεογλυκάνες), αντίστοιχα. Η κλωνογονικότητα των βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου δεν ποικίλλει από το πολλαπλασιαστικό έως το εκκριτικό στάδιο του εμμηνορροϊκού κύκλου ή μεταξύ ενεργού, κυκλικού και ανενεργού ενδομήτριου τόσο για τα επιθηλιακά όσο και για τα στρωματικά κύτταρα (Verdi et al., 2014).

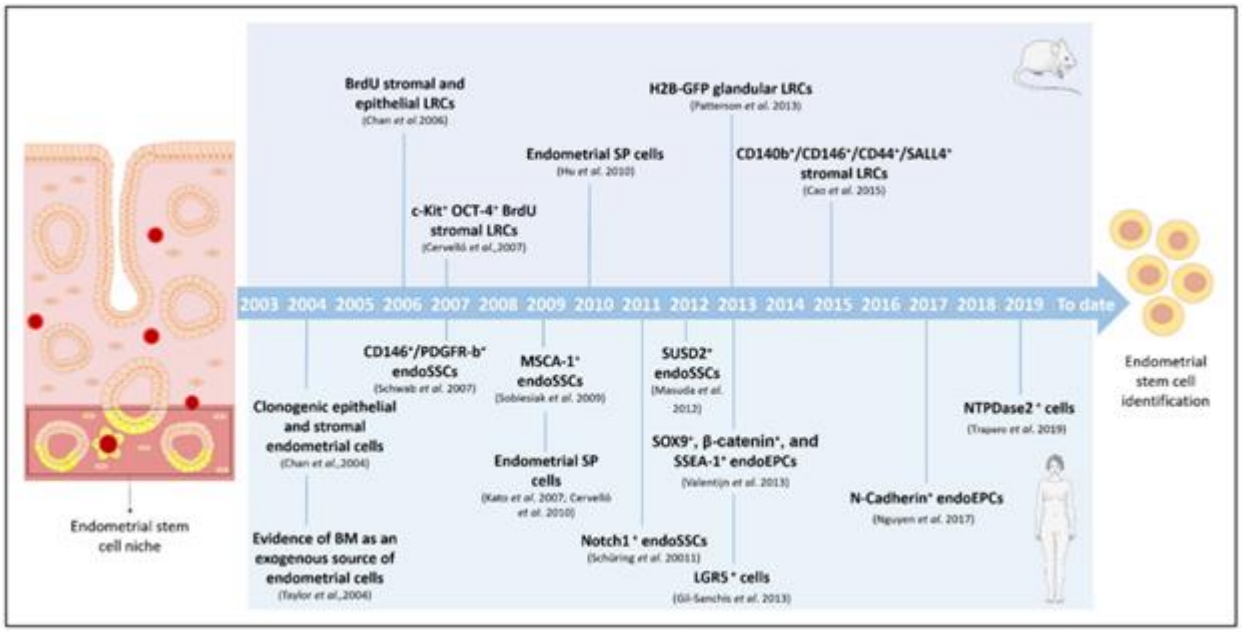
3.3 Αναγέννηση ενδομήτριου από βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου

Μελέτες έχουν προτείνει ότι τα ενδομήτρια βλαστοκύτταρα στον ενδομήτριο ιστό μπορούν να συμμετάσχουν στην αναγέννηση και επιδιόρθωση του ενδομητρίου (Chan, Schwab & Gargett, 2004; Gargett & Masuda, 2010; Santamaria et al., 2018). Επί του παρόντος, οι ερευνητές έχουν εντοπίσει έναν μικρό αριθμό ενδομήτριων βλαστοκυττάρων με ικανότητα σχηματισμού αποικιών, αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης στον ενδομήτριο ιστό, όπως τα επιθηλιακά προγονικά κύτταρα του ενδομητρίου (EEPCs), τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (eMSCs) και τα πλευρικά κύτταρα πληθυσμού (SP). Υπάρχουν αρκετοί δείκτες που εκφράζονται από ανθρώπινα EEPC και eMSC που ανανεώνουν αυτά τα κύτταρα για τα οποία έχει αναφερθεί δραστηριότητα βλαστοκυττάρων ενηλίκων και περιγράφεται στις ακόλουθες παραγράφους. Ωστόσο, δεν είναι σαφές εάν ένας ή περισσότεροι τύποι ενδομήτριων βλαστοκυττάρων εμπλέκονται στην αναγέννηση του ενδομητρικού ιστού (Lv et al., 2021).



Εικόνα 8. Ανθρώπινα βλαστοκύτταρα ενδομητρίου

(Πηγή: Lv et al., 2021)



Εικόνα 9. Ορόσημα στην αναγνώριση, απομόνωση και χαρακτηρισμό βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου

(Πηγή: Lv et al., 2021)

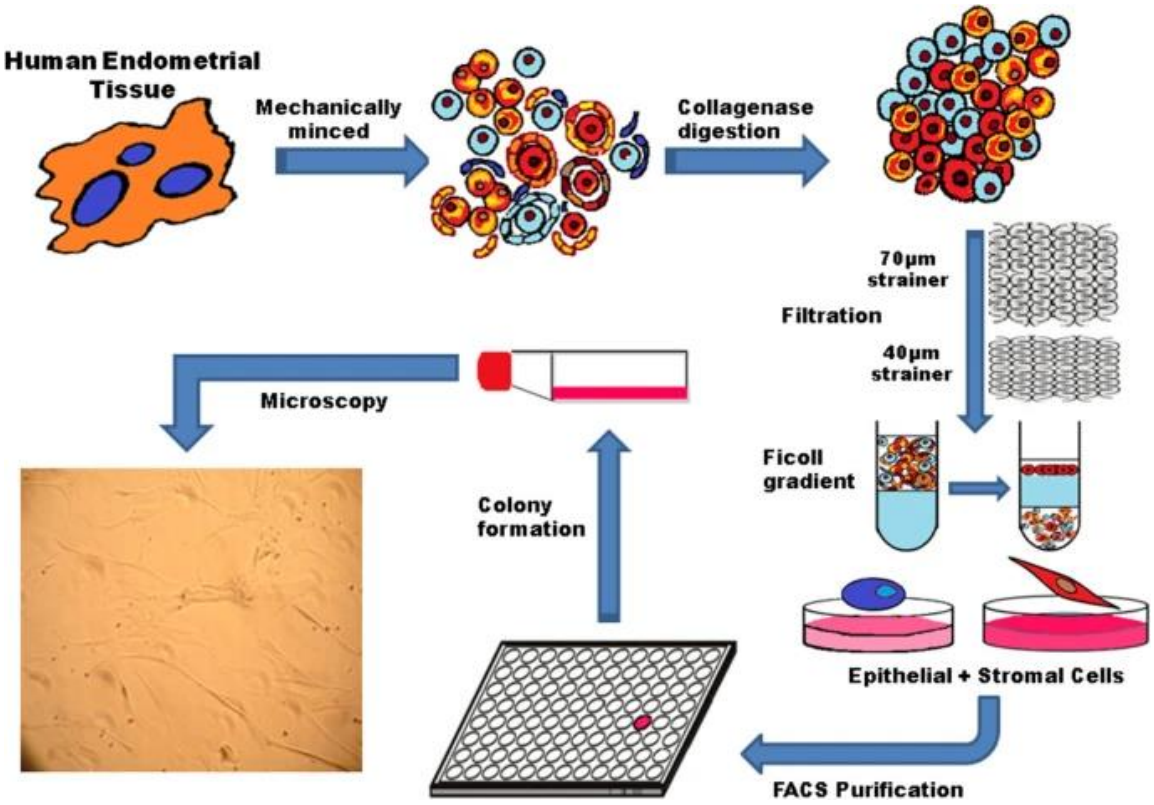
Πράγματι, η κλωνοποίηση ανθρώπινων ενδομητριακών κυττάρων επιβεβαίωσε την ύπαρξη προγονικών επιθηλιακών κυττάρων του ενδομήτριου για πρώτη φορά το 2004 (Chan, Schwab & Gargett, 2004). Υπάρχουν τρία διαφορετικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου που περιλαμβάνουν: επιθηλιακά προγονικά κύτταρα, μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου και ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα. Πρόσφατες μελέτες ανέφεραν την απομόνωση πολυδύναμων ενδομήτριων βλαστοκυττάρων από αίμα εμμήνου ρύσεως ή βιοψίες ενδομήτριου. Αυτά τα κύτταρα ονομάζονται ενδομήτρια αναγεννητικά κύτταρα (ERC) και είναι ετερογενή και έχουν μορφολογικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών θέσεων απομόνωσής τους. Τα στρωματικά κύτταρα έχουν καλλιεργηθεί από το αίμα της εμμήνου ρύσεως, υποδηλώνοντας ότι τα ενδομήτρια μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου αποβάλλονται κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως αλλά τα επιθηλιακά κύτταρα δεν έχουν ανιχνευθεί, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι πρόγονοι του επιθηλίου μπορεί να μην αποβάλλονται κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως και είναι πιο πιθανό να διαμένουν στη βάση (Gargett & Masuda, 2010; Meng et al., 2007; Patel et al., 2008; Schüring et al., 2011).

Κατά τη διάρκεια της πολλαπλασιαστικής εμμηνορροϊκής φάσης, το ενδομήτριο προετοιμάζεται για την ύπαρξη νέων βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου για την κάλυψη των νέων αιμοφόρων αγγείων. Η διακύμανση στον αριθμό των ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων και του παράγοντα-1 που προέρχεται από βλαστοκύτταρα είναι ένας καθοριστικός παράγοντας για την απελευθέρωση και την υποδοχή των βλαστοκυττάρων. Αυτά τα βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου έχουν ιδιότητες παρόμοιες με τα βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών ή του λιπώδους ιστού. Πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται σε όλο τον οιστρικό κύκλο και κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης υπό τον έλεγχο των ορμονών των ωοθηκών. Τα κλωνογόνα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου είναι υπεύθυνα για την αναγέννηση του ενδομήτριου και υπάρχουν σε περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και γυναίκες που λαμβάνουν από του στόματος αντισυλληπτικά. Η ακανόνιστη λειτουργία αυτών των βλαστοκυττάρων μπορεί να συμβάλει στην παθογένεση της ενδομητρίωσης και στην ανάπτυξη ιστού έξω από την κοιλότητα της μήτρας, προκαλώντας δυσμηνόρροια, υπογονιμότητα και καρκίνωμα του ενδομήτριου. Τα βλαστοκύτταρα που κατανέμονται εκτοπικά μέσω της λεμφαγγειακής μετάστασης μπορεί επίσης να συμβάλλουν στην παθογενετική

διαδικασία, επειδή ο υψηλός πολλαπλασιασμός τους προάγει την ταχεία κλωνική επέκταση (Elsheikh et al., 2011; Gargett, 2007; Kim et al., 2007).

Τα προγονικά κύτταρα στο ενδομήτριο έχουν υψηλό πολλαπλασιαστικό δυναμικό. Μπορούν να δημιουργήσουν 6×10^{11} κύτταρα από ένα μόνο κύτταρο, με την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε μεγάλες δομές που εκφράζουν την κυτταροκερατίνη όταν καλλιεργούνται σε Matrigel, που περιλαμβάνουν λαμινίνη, κολλαγόνο IV και θειική ηπαράνη πρωτεογλυκάνη. Τα δεδομένα δείχνουν ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα από το ενδομήτριο μπορούν να αναπτυχθούν εκτενώς τόσο in vivo όσο και in vitro (Verdi et al., 2014).

Το γεγονός ότι περίπου 600.000 υστερεκτομές πραγματοποιούνται ετησίως στις Ηνωμένες Πολιτείες δημιουργεί μια πιθανή πηγή ενδομήτριων κυττάρων. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου βρίσκονται στα επιφανειακά στρώματα που είναι προσβάσιμα με βιοψία ενδομήτριου. Πράγματι, οι βιοψίες ενδομήτριου μπορεί να αντιπροσωπεύουν μια βιώσιμη τεχνική για τη συλλογή βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου, καθώς εκτελούνται συνήθως για γυναικολογικούς σκοπούς και δεν επηρεάζουν τη λειτουργία του ενδομήτριου. Έτσι, δείγματα ενδομητρικού ιστού από γυναίκες που δεν λαμβάνουν ορμονική θεραπεία είναι κατάλληλα για απομόνωση βλαστοκυττάρων (Verdi et al., 2014).



Εικόνα 10. Απομόνωση βλαστοκυττάρων ενδομήτριου

(Πηγή: Verdi et al., 2014)

Τα βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου μπορεί να προέρχονται από εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα ή βλαστικά κύτταρα μυελού των οστών, συμπεριλαμβανομένων των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου και των ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων. Το ανθρώπινο ενδομήτριο δείχνει έκφραση των παραγόντων πολυδυναμίας Sox-2, Oct-4 και Nanog. Το Sox-2 που εντοπίζεται ταυτόχρονα με την τελομεράση, συμβάλλει στην αθανασία των εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων. Ο επαναπρογραμματισμός διαφοροποιημένων κυττάρων σε επαγόμενο πολυδύναμο βλαστοκύτταρο (iPS) γίνεται μέσω επαγωγής ή αύξησης της έκφρασης των Oct-4, Sox-2, Klf-4 και c-Myc που θα μπορούσε εύκολα να επιτευχθεί από τα βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου που ήδη εκφράζουν αυτούς τους παράγοντες. Ως αποτέλεσμα, τα κύτταρα iPS από τα βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου έχουν δημιουργηθεί ήδη 12 ημέρες μετά τη μεταγωγή αντί για τις συνήθως αναφερόμενες 4 εβδομάδες για άλλους τύπους κυττάρων. Καθώς η βιοϊατρική έρευνα για τον ασθενή ή την ασθένεια με χρήση κυττάρων iPS γίνεται πιο διαδεδομένη, το ενδομήτριο μπορεί να διαδραματίσει βασικό ρόλο ως

επαναπρογραμματιζόμενα κύτταρα σε πολυδύναμες κυτταρικές σειρές ειδικών για δότη ή ασθένεια για τον γυναικείο πληθυσμό (He, Wan & Li, 2007; Robb et al., 2009; Takahashi et al., 2007; Park et al., 2011).

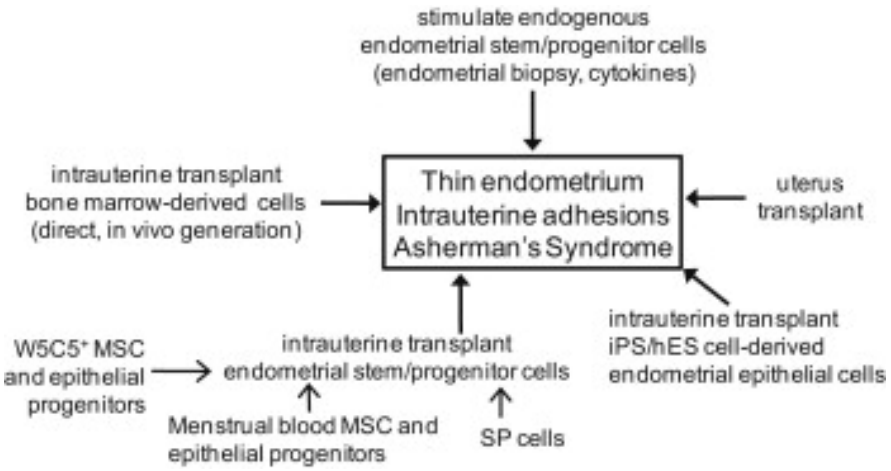
3.3.1 Ενήλικα βλαστοκύτταρα στο ανθρώπινο ενδομήτριο

Τα πρώτα στοιχεία για ενήλικα βλαστοκύτταρα στο ανθρώπινο ενδομήτριο προήλθαν από μελέτες κλωνοποίησης κυττάρων που εντόπισαν μικρούς πληθυσμούς δραστηριότητας μονάδων σχηματισμού αποικιών (CFU) σε πρόσφατα απομονωμένα και καθαρισμένα επιθηλιακά (EpCAM+) και στρωματικά (EpCAM-) κύτταρα (0,22% και 1,25%, αντίστοιχα) (Chan, Schwab &Gargett, 2004). Κλώνοι διαφορετικών μεγεθών σημειώθηκαν και για τους δύο τύπους κυττάρων. Οι μεγάλες CFU που προέρχονται από ένα μόνο κύτταρο έχουν δραστηριότητα αυτο-ανανέωσης, που αποδεικνύεται με σειριακή κλωνοποίηση in vitro, και υψηλό πολλαπλασιαστικό δυναμικό (Gargett et al., 2009). Μεμονωμένα μεγάλα επιθηλιακά CFU διαφοροποιήθηκαν σε μεγάλες δομές που μοιάζουν με κυτοκερατίνη+ όταν καλλιεργήθηκαν σε Matrigel (Becton Dickinson). Οι μεγάλες απλές στρωματικές CFU ήταν πολυδύναμες, διαφοροποιώντας σε λεία μυϊκά κύτταρα, λιποκύτταρα, οστεοβλάστες και χονδροκύτταρα όταν καλλιεργήθηκαν σε κατάλληλα μέσα επαγωγής. Οι μεγάλες στρωματικές CFU είχαν έναν τυπικό φαινότυπο μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων/στρωματικών κυττάρων (Dominici et al., 2006).Οι μικρές CFU είχαν περιορισμένη ικανότητα επέκτασης και η διαφοροποίησή τους δεν μπορούσε να εξεταστεί. Η αυτοανανέωση, η διαφοροποίηση και η υψηλή πολλαπλασιαστική ικανότητα είναι βασικές λειτουργικές ιδιότητες των ενήλικων βλαστοκυττάρων. Προέκυψε το συμπέρασμα ότι το ανθρώπινο ενδομήτριο περιείχε μικρούς πληθυσμούς επιθηλιακών προγονικών κυττάρων και κυττάρων που μοιάζουν με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (Gargett et al., 2009). Τα καλλιεργημένα στρωματικά κύτταρα του ενδομητρίου διαφοροποιούνται επίσης σε μεσοδερματικές σειρές και σειρές εξωδερμικής και ενδοδερμικής προέλευσης, υποδεικνύοντας ότι τα στρωματικά κύτταρα του ενδομητρίου έχουν σημαντική πλαστικότητα (Santamaria et al., 2011).

Ένας τρόπος αναγνώρισης της δραστηριότητας των ενηλίκων βλαστοκυττάρων είναι η εξέταση των κυττάρων πλευρικού πληθυσμού (SP), τα οποία έχουν την ικανότητα να εκρέουν γρήγορα μια ζωτική χρωστική που δεσμεύει το DNA, την Hoechst 33342. Τα κύτταρα SP σχηματίζουν έναν ξεχωριστό πλευρικό πληθυσμό χρησιμοποιώντας κυτταρομετρία ροής διπλού χρώματος. Τα κύτταρα SP (0-5%) ταυτοποιήθηκαν σε πρόσφατα απομονωμένες και βραχυπρόθεσμες καλλιέργειες ανθρώπινων ενδομητριακών κυττάρων. Το ποσοστό των SP κυττάρων ήταν εξαιρετικά μεταβλητό μεταξύ των ατόμων, αν και υψηλότεροι αριθμοί βρέθηκαν στα στάδια της εμμήνου ρύσεως και του πολλαπλασιασμού. Πρόσφατα ταξινομημένα ανθρώπινα ενδομήτρια SP κύτταρα εμφάνισαν μικρή κλωνογονική ανάπτυξη στην καλλιέργεια καθώς τα περισσότερα ήταν σε ηρεμία (φάση G0 του κυτταρικού κύκλου, 85%), χαρακτηριστικό των ενήλικων βλαστοκυττάρων. Αντίθετα, τα καλλιεργημένα κύτταρα SP ήταν κυρίως σε φάσεις G1 και G1/M/S και έδειξαν ενισχυμένη κλωνογονικότητα Τα ενδιάμεσα επίπεδα τελομεράσης εκφράζονται από πρόσφατα απομονωμένα κύτταρα SP του ενδομήτριου. Τα ανθρώπινα ενδομήτρια SP κύτταρα είναι ένας μεικτός πληθυσμός, που αποτελείται κυρίως από ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά και από επιθηλιακά και στρωματικά κύτταρα. Τόσο τα επιθηλιακά όσο και τα στρωματικά κύτταρα SP έχουν χαρακτηριστικά μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων. Η ανοσοχρώση με τον δείκτη SP ABCG2 αποκάλυψε κύτταρα ABCG2+ ως ενδοθηλιακά κύτταρα CD31+ που επενδύουν τα αιμοφόρα αγγεία τόσο στη λειτουργική όσο και στην βασική στιβάδα. Η αναγνώριση των κυττάρων SP του ενδομήτριου παρέχει περαιτέρω υποστήριξη για πληθυσμούς ενηλίκων βλαστοκυττάρων που κατοικούν στο ανθρώπινο ενδομήτριο, αλλά η ακριβής φύση αυτού του πληθυσμού παραμένει ασαφής (Cervello et al., 2010; Tsuji et al., 2008).

Η ανασύσταση ιστού in vivo με ξενομόσχευμα υποψήφιων πληθυσμών βλαστοκυττάρων ενηλίκων είναι η πιο αυστηρή απόδειξη της δραστηριότητας των βλαστοκυττάρων ενηλίκων (Gargett,2007). Μεταμόσχευση πλήρως διαχωρισμένων μη κλασματοποιημένων αιωρημάτων ανθρώπινου επιθηλίου και στρωματικών κυττάρων του ανθρώπινου ενδομητρίου ακριβώς κάτω από την νεφρική κάψουλα ποντικών NOD/Shi-scid/IL-2Rγnull (NOG) που έχουν υποβληθεί σε εκτομή ωοθηκών και με Ε-συμπλήρωμα ανακατασκεύασαν καλά οργανωμένες ενδομήτριες στιβάδες λειτουργικού ενδομήτριου δομές και CD10+CD13+ στρώμα. Το ανακατασκευασμένο ανθρώπινο ενδομήτριο ανταποκρίθηκε σε κυκλικές στεροειδείς

ορμόνες του φύλου, σχηματίζοντας αδένες και απομάκρυνε το στρώμα όταν χορηγήθηκαν E και P και μεγάλες κύστεις γεμάτες αίμα μετά από ορμονική απόσυρση, που θυμίζουν έμμηνο ρύση (Masuda et al., 2007). Σε μια μελέτη, η σύνθεση των ενδομητρικών κατασκευών ήταν κυρίως αγγειακά και μεταναστευτικά ενδοθηλιακά κύτταρα (80%), τα οποία εξέφραζαν τον υποδοχέα E-β (ERβ), με ελάσσονα ενδομήτρια στρωματικά (13%) και αδενικά (8%) συστατικά (Masuda et al., 2010). Σε μια δεύτερη μελέτη, ο ενδομήτριος ιστός ανακατασκευάστηκε από επιθηλιακά και στρωματικά κύτταρα SP, τα οποία ανοσοχρωματίστηκαν για το στρώμα (vimentin) και το επιθήλιο (CD9), αλλά όχι για το ενδοθήλιο (CD31) (Cervello et al., 2011). Αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν ότι οι υποπληθυσμοί ανθρώπινων ενδομητριακών κυττάρων μπορούν να ανακατασκευάσουν τον ενδομήτριο ιστό in vivo και θα μπορούσαν δυνητικά να ξεκινήσουν βλάβες έκτοπης ενδομητρίωσης. Η φύση των μεταμοσχευμένων κυττάρων SP πρέπει να διευκρινιστεί με πιο ισχυρούς δείκτες. Η χορήγηση του πληθυσμού SP σε ασθενείς με σύνδρομο Asherman έχει τη δυνατότητα να ανακατασκευάσει το ενδομήτριο. Είναι επίσης πιθανό ότι τα ενδογενή κύτταρα SP σε ανεπαρκές ενδομήτριο θα μπορούσαν να διεγερθούν για να αναγεννήσουν παχύ ενδομήτριο που ανταποκρίνεται στις ορμόνες. Αυτό είναι ικανό να υποστηρίξει την εμφύτευση και την ενεργοποίηση του υποψήφιου πληθυσμού βλαστοκυττάρων ενηλίκων (Gargett & Ye, 2012).



Εικόνα 11. Πιθανές θεραπείες με βάση βλαστοκύτταρα/προγονικά κύτταρα για την ανακατασκευή ανεπαρκούς ανθρώπινου ενδομητρίου

(Πηγή: Gargett & Ye, 2012)

Τα στρωματικά κύτταρα έχουν καλλιεργηθεί από αίμα εμμήνου ρύσεως με τρόπο παρόμοιο με τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών, υποδηλώνοντας ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου αποβάλλονται κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως. Τα καλλιεργημένα κύτταρα του εμμηνορροϊκού αίματος φαίνονται ινοβλαστικά, έχουν σημαντική πολλαπλασιαστική ικανότητα, διατηρώντας ωστόσο έναν σταθερό καρυότυπο. Έχουν δραστικότητα τελομεράσης και εκφράζουν την ανάστροφη μεταγραφάση της ανθρώπινης τελομεράσης (hTERT), καθώς και παρόμοιους φαινοτυπικούς δείκτες με τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου. Έχουν ευρεία ικανότητα διαφοροποίησης, παράγοντας όλες τις μεσοδερματικές σειρές συμπεριλαμβανομένων των σκελετικών και καρδιακών μυϊκών κυττάρων και των νευρικών γραμμών. Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα εμμηνορροϊκού αίματος εκφράζουν μείζον σύμπλοκο ιστοσυμβατότητας (MHC) κατηγορίας Ι αλλά όχι μόρια κατηγορίας ΙΙ, είναι χαμηλής ανοσογονικότητας όταν μεταμοσχεύονται σε ανοσοεπαρκή ποντίκια και μπορεί να έχουν ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες. Η απόρριψη των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως υποδηλώνει ότι μπορεί να έχουν βασικό ρόλο στην έναρξη ενδομήτριων βλαβών (Gargett & Ye, 2012; Ghobadi, Mehrabani & Mehrabani, 2015).

3.3.2 Ενδομήτρια επιθηλιακά προγονικά κύτταρα

Τα ενδομήτρια επιθηλιακά προγονικά κύτταρα έχουν εντοπιστεί σε αδένες της βασικής στιβάδας του ενδομητρίου, οι οποίοι αρχίζουν να επαναεπιθηλιοποιούνται εντός 48 ωρών από την έναρξη της εμμήνου ρύσεως (Evans et al., 2016). Τα πρόσφατα απομονωμένα επιθηλιακά κύτταρα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη λήψη κυττάρων/μονάδων που σχηματίζουν αποικία επιθηλιακών κυττάρων (CFUs) σε συχνότητα 1/174 (Gargett et al., 2009). Επιπλέον, τα μεγάλα επιθηλιακά CFU έχουν υψηλό πολλαπλασιαστικό δυναμικό, μπορούν να παράγουν δισεκατομμύρια κύτταρα και υφίστανται μονογραμμική διαφοροποίηση σε οργανοειδή που μοιάζουν με κυτοκερατίνη (CK)+ σε τρισδιάστατη καλλιέργεια. Επί του παρόντος, υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τις αναφορές για δείκτες βλαστοκυττάρων των

ενδομήτριων επιθηλιακών προγονικών κυττάρων. Επίσης, έχει διαπιστωθεί ότι το εμβρυϊκό αντιγόνο-1 (SSEA-1) εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στο ενδομήτριο βασικό στρώμα των προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών και τα επιθηλιακά κύτταρα SSEA-1+ έχουν υψηλότερη δραστηριότητα τελομεράσης, χαμηλότερη έκφραση ERα και PR και παράγουν τα περισσότερα δομές που μοιάζουν με αδένες σε τρισδιάστατες συνθήκες καλλιέργειας σε σύγκριση με τα επιθηλιακά κύτταρα SSEA-1 (Valentijn et al., 2013). Η κλασική οδός Wnt/β-κατενίνης είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής για τη συντήρηση και τη διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων (Waghmare & Page-McCaw, 2018). Το SOX9 και η β-κατενίνη σε αυτό το μονοπάτι εκφράζονται σε μεγάλο βαθμό στα επιθηλιακά κύτταρα SSEA-1+, γεγονός που υποδηλώνει περαιτέρω ότι το SSEA-1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αναγνώριση των ενδομήτριων επιθηλιακών προγονικών κυττάρων (Valentijn et al., 2013). Επίσης, η N-καντερίνη μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τον εντοπισμό των ενδομήτριων επιθηλιακών προγονικών κυττάρων, αν και τα επιθηλιακά κύτταρα N-καντερίνη+ εκφράζουν ERα και εκφράζουν λιγότερο SSEA-1 και SOX9 (Nguyen et al., 2017). Επιπλέον, το AXIN2, ένα μόριο σηματοδότησης Wnt, περιγράφηκε ως δείκτης βασικών κυττάρων του ανθρώπινου ενδομήτριου επιθηλίου (Nguyen et al., 2012). Τα κύτταρα Axin2+ του ενδομητρίου μπορούν να τροφοδοτήσουν την ανάπτυξη και την αναγέννηση του ενδομητρίου επιθηλίου και ότι οι μεταλλάξεις του γονιδίου Axin2 οδηγούν την καρκινογένεση του ενδομητρίου στο μοντέλο ποντικού (Syed et al., 2020). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι οι δείκτες βλαστοκυττάρων σε ενδομήτρια επιθηλιακά προγονικά κύτταρα με πρώιμες γενετικές αλλοιώσεις μπορεί να οδηγήσουν στην εμφάνιση βλαστικών κυττάρων καρκίνου του ενδομητρίου και ότι αυτοί οι δείκτες παρέχουν ένα μέσο για τον εντοπισμό κυττάρων που θα μπορούσαν να στοχευθούν για νέες θεραπείες και επιδιόρθωση του ενδομητρικού ιστού.

3.3.3 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα

Υπάρχει επίσης ένας μικρός αριθμός μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων που βρίσκονται γύρω από τα αιμοφόρα αγγεία στα λειτουργικά και βασικά στρώματα του ενδομητρίου, τα οποία μπορούν επίσης να βρεθούν στο αίμα της περιόδου (Gargett et

al., 2016). Έχει διαπιστωθεί ότι ο κυτταρικός πληθυσμός CD146+PDGFRβ (επίσης γνωστός ως CD140b+) εμπλουτισμένος με κύτταρα που σχηματίζουν αποικίες μπορεί να διαφοροποιηθεί σε λιποκύτταρα, οστεοβλάστες, ινοβλάστες και χονδροκύτταρα σε σύγκριση με τα στρωματικά κύτταρα του ενδομητρίου CD146-PDGFRβ+ (Gargett et al., 2016). Η ικανότητα κλωνοποίησης των SUSD2+CD146+ ήταν σημαντικά καλύτερη από αυτή των CD146+PDGFRβ+. Σε σύγκριση με τη διαμεσολαβούμενη από το αντίσωμα SUSD2 κυτταρομετρική ταξινόμηση ροής, ο καθαρισμός με σήμανση με αντισώματα SUSD2 οδηγεί σε λιγότερη βλάβη στα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα και υψηλότερη απόδοση, αντανακλώντας την πρακτικότητα και το πλεονέκτημα της ταξινόμησης μαγνητικών σφαιριδίων των SUSD2+ μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (Masuda et al., 2012).

Επιπλέον, το μεγαλύτερο μέρος του πληθυσμού των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων SUSD2+ περιλαμβάνει περιαγγειακά κύτταρα CD90+ (93,3%) και η ικανότητα σχηματισμού αποικιών των CD90 υψηλών μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων είναι σημαντικά ισχυρότερη από αυτή των CD90 χαμηλών μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (Schwab et al., 2008). Σε αντίθεση με τα στρωματικά κύτταρα του ενδομητρίου, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα δεν εκφράζουν την πρωτεΐνη ERα (Ulrich et al., 2014). Σε σύγκριση με τα στρωματικά κύτταρα του ενδομητρίου CD146-PDGFRβ+, τα κλωνογονικά περιαγγειακά μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα υπερεκφράζουν γονίδια που εμπλέκονται κυρίως στην αγγειογένεση, τις δράσεις των στεροειδών ορμονών, τις υποξικές αποκρίσεις, τη φλεγμονή και την ανοσολογική ρύθμιση και εμφανίζουν ενεργοποιημένο Notch, TGFβ, αυξητικό παράγοντα που μοιάζει με ινσουλίνη (IGF) και Hedgehog συζευγμένο με τη σηματοδοτική οδό του υποδοχέα της πρωτεΐνης G (Spitzer et al., 2012). Έτσι, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα SUSD2+ και CD146+PDGFRβ+ παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση των στρωματικών κυττάρων, στην αγγειογένεση στη διεπαφή μητέρας-εμβρύου και στην ανοσορύθμιση (Murakami et al., 2014).

3.3.4 Πλευρικά κύτταρα πληθυσμού

Σύμφωνα με την ικανότητα των ενήλικων αδιαφοροποίητων κυττάρων και βλαστοκυττάρων να αποκλείουν τη χρωστική ουσία που δεσμεύει το DNA, Hoechst 33342, μέσω του μεταφορέα δέσμευσης ATP, τα χαμηλού επιπέδου θετικά ενδομήτρια κύτταρα Hoechst 33342 αναγνωρίζονται ως κύτταρα πλευρικού πληθυσμού (SP). Έχει αναφερθεί ότι τα κύτταρα SP εκφράζουν πολλαπλούς τύπους κυτταρικών δεικτών, συμπεριλαμβανομένων υψηλών επιπέδων αδιαφοροποίητων δεικτών κυττάρων c-KIT και OCT-4, δεικτών ενδοθηλιακών κυττάρων CD31 και CD34, δεικτών επιθηλιακών κυττάρων EMA και δεικτών μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων CD90, CD105 και CD146 (Tsuji et al., 2008). Τα κύτταρα SP έχουν μεσαίο μήκος τελομεράσης και την ικανότητα να κλωνοποιούνται, να πολλαπλασιάζονται και να διαφοροποιούνται σε λιποκύτταρα και οστεοβλάστες υπό συνθήκες υποξίας (Cervelló et al., 2011). Παρόμοια με τα SUSD2+ μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, τα SP κύτταρα δεν εκφράζουν ERα ή PR, αλλά εκφράζουν ERβ καθώς ο πληθυσμός SP είναι κυρίως ενδοθηλιακά κύτταρα (Masuda et al., 2010). Ανιχνεύοντας κύτταρα SP του ενδομήτριου, βρέθηκε ότι μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ενδομήτρια επιθηλιακά κύτταρα, ενδομήτρια στρωματικά κύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα in vitro, και τα ενδομήτρια κύτταρα SP που εμφυτεύονται κάτω από την κάψουλα του νεφρού διαφοροποιούνται σε δομές που μοιάζουν με αδένες. Συγκεκριμένα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα που διαφοροποιούνται από τα κύτταρα SP μεταναστεύουν στο παρέγχυμα των νεφρών του ποντικού και σχηματίζουν ώριμα αιμοφόρα αγγεία, αντανακλώντας την αγγειογένεση και τις ικανότητες αναγέννησης του ενδομήτριου (Miyazaki et al., 2012). Τα κύτταρα SP εμφανίζουν τον γονότυπο, τον φαινότυπο και τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των ενήλικων βλαστοκυττάρων, τα οποία είναι τα βλαστοκύτταρα ή τα προγονικά κύτταρα του ενδομήτριου.

3.4 Δημιουργία ανθρώπινου ενδομήτριου από ανθρώπινα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα

Τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα είναι πολυδύναμα βλαστοκύτταρα που έχουν τη δυνατότητα να διαφοροποιηθούν σε οποιοδήποτε τύπο κυττάρου στο σώμα. Από την απομόνωση ανθρώπινων εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων (ESC) το 1998, πολλές έρευνες επικεντρώθηκαν στην κατεύθυνση της διαφοροποίησής τους in vitro σε κλινικά σχετικούς τύπους κυττάρων για πιθανή χρήση στην αναγεννητική ιατρική. Μια σημαντική ανησυχία για τη μεταμόσχευση ανθρώπινων παραγώγων ESC στο ανθρώπινο σώμα είναι ότι ο πληθυσμός των μεταμοσχευμένων κυττάρων μπορεί να περιλαμβάνει αδιαφοροποίητα ανθρώπινα ESC που μπορεί να διαφοροποιούνται ανεξέλεγκτα σε ανεπιθύμητους κυτταρικούς τύπους, συμπεριλαμβανομένων των όγκων. Παρά την επιτυχή εργαστηριακή επαγωγή του ανθρώπινου ESC προς ειδικούς τύπους κυττάρων, υπήρξαν μόνο δύο εγκεκριμένες από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων δοκιμές στις Ηνωμένες Πολιτείες που περιελάμβαναν μεταμόσχευση ανθρώπινων προγονικών κυττάρων ολιγοδενδροκυττάρων που προέρχονται από ESC και ανθρώπινων επιθηλιακών χρωστικών κυττάρων αμφιβληστροειδούς προερχόμενα από ESC (Schwartz et al.,2012).

Για πολλά ζωτικά όργανα στο ανθρώπινο σώμα, η μεταμόσχευση ανθρώπινων κυττάρων που προέρχονται από ESC μπορεί να είναι μια επιλογή για την αναγέννηση κατεστραμμένου ιστού, αν και η ανακάλυψη επαγόμενων πολυδύναμων βλαστοκυττάρων θα είναι πιθανότερο να είναι η πηγή πολυδύναμων ειδικών για τον ασθενή κύτταρα για την αναγεννητική ιατρική. Η χρήση των κυττάρων iPS υπερνικά τους ανοσολογικούς φραγμούς που θέτει το ανθρώπινο ESC. Τα κύτταρα iPS που παράγονται από ινοβλάστες σε γυναίκες με σύνδρομο Asherman μπορεί να παρέχουν μια οδό για τη δημιουργία ενδομητριακών επιθηλιακών και στρωματικών κυττάρων που θα μπορούσαν να μεταμοσχευθούν στην κοιλότητα της μήτρας για την ανακατασκευή του ενδομητρίου τους (Takahashi et al.,2007).

Το κρίσιμο πρώτο βήμα για την κατεύθυνση της διαφοροποίησης των πολυδύναμων κυττάρων (ανθρώπινα ESC, κύτταρα iPS) σε λειτουργικά επιθηλιακά κύτταρα ενδομητρίου που ανταποκρίνονται στις ορμόνες είναι η μίμηση των αναπτυξιακών σταδίων που οδηγούν στην ανάπτυξη του πόρου Müllerian κατά την εμβρυογένεση.

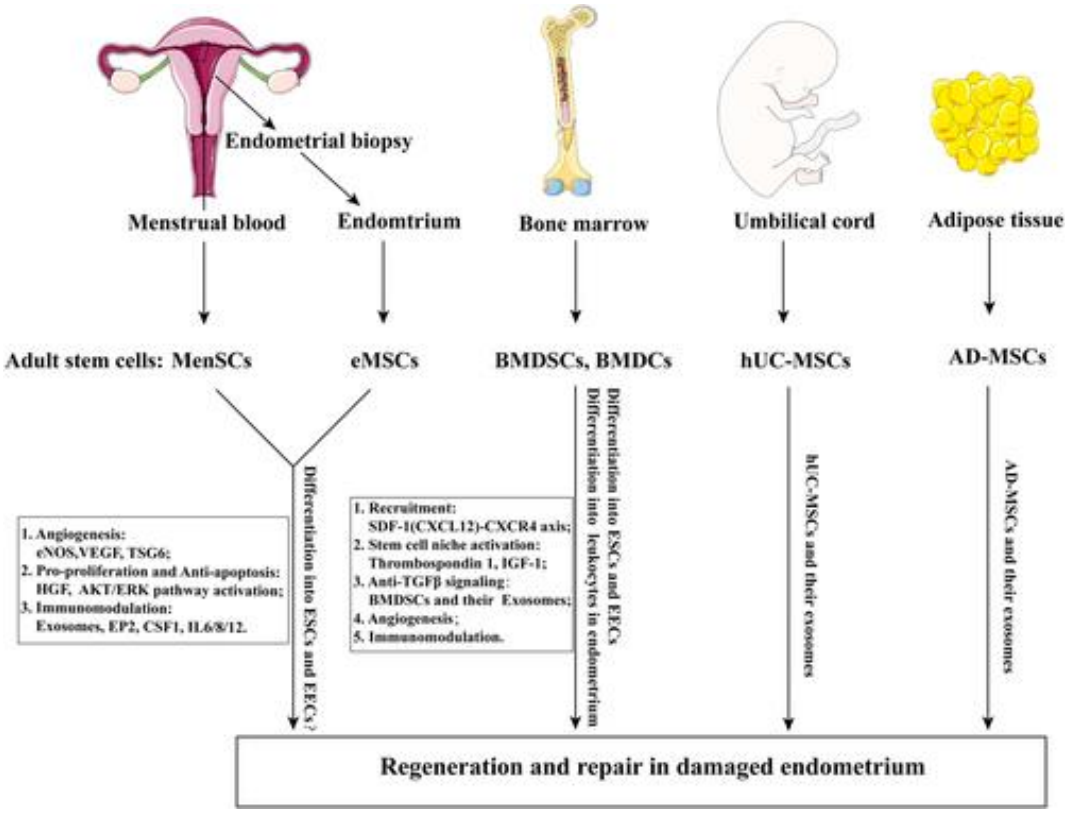
Σε μια μελέτη απόδειξης της αρχής, το ανθρώπινο επιθήλιο παρόμοια με το ενδομήτριο δημιουργήθηκε από αδιαφοροποίητα πολυδύναμα ανθρώπινα ESCs χρησιμοποιώντας μια στρατηγική διαφοροποίησης δύο σταδίων που μιμούνταν συγκεκριμένα στάδια εμβρυογένεσης και εμβρυϊκής ανάπτυξης (Ye et al.,2011). Αυτή η μελέτη αξιοποίησε τη δύναμη του ανασυνδυασμού ιστών για τη μελέτη της ικανότητας του μη διαφοροποιημένου μεσεγχύματος της νεογνικής μήτρας ποντικού να προκαλεί διαφοροποίηση του ανθρώπινου ESC στο επιθήλιο του πόρου Müllerian (Kurita, 2011).Ένα πλεονέκτημα της χρήσης του μεσεγχύματος της μήτρας του ποντικού και όχι του ανθρώπου είναι ότι μπορεί να συλλεχθεί εύκολα από νεογνά ποντίκια, καθώς σε αντίθεση με τους ανθρώπους, η διαφοροποίηση του πόρου Müllerian είναι μεταγεννητικό και όχι εμβρυϊκό γεγονός. Τα σήματα μεσεγχύματος της μήτρας ποντικού στο ανθρώπινο ενδομήτριο επιθήλιο σε ανασυνδυασμούς ιστών και δείκτες ειδικούς για το είδος μπορούν να αξιοποιηθούν για να προσδιοριστεί ο ρόλος της διαφοροποίησης του ανθρώπινου ESC που προκαλείται από το μεσεγχύμα της μήτρας σε αυτό το μοντέλο (Ye et al.,2012).

Ένα αρχικό in vitro στάδιο επαγωγής που διαφοροποιεί τα ανθρώπινα ESC χρησιμοποιώντας αυξητικούς παράγοντες (Μορφογενετική πρωτεΐνη οστών 4, BMP4 και ακτιβίνη Α) και το επαγωγικό μεσεγχύμα της μήτρας νεογνών ποντικού παρήγαγε έναν ομοιογενή πληθυσμό προδρόμων Müllerian (ενδιάμεσο μεσόδερμα). Αυτοί οι ανασυνδυασμοί ιστού στη συνέχεια ξενομοσχεύθηκαν in vivo για περαιτέρω διαφοροποίηση. Μια ολοκληρωμένη ανάλυση του ανθρώπινου επιθηλίου που προέρχεται από ESC κατά την ανάπτυξη του μοσχεύματος αποκάλυψε ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα που προέρχονται από ESC που εκφράζουν χαρακτηριστικούς δείκτες Müllerian όπως LIM homeobox 1 (LIM1), Paired box γονίδιο 2 (PAX2) και Homeobox A10 (HOXA10) και εντοπισμό κυτταροσκελετικοί δείκτες, βιμεντίνη και κυτοκερατίνη. Με την πάροδο του χρόνου τα επιθηλιακά παράγωγα κατέδειξαν χαρακτηριστικά γνωρίσματα του ώριμου ανθρώπινου ενδομητρικού επιθηλίου (CA-125, έκφραση ERα και παρουσία β-τουμπουλίνης+ βλεφαριωμένων κυττάρων). Η λειτουργική ανάλυση έδειξε ότι το ανθρώπινο επιθήλιο που προέρχεται από ESC πολλαπλασιάστηκε και εξέφρασε τη γλυκοδελίνη Α σε απόκριση στο εξωγενές Ε. Συλλογικά, το ανθρώπινο επιθήλιο που προέρχεται από ESC έμοιαζε με το ενδομήτριο επιθήλιο ανθρώπου ενηλίκου (Gargett & Ye,2012).

3.5 Αναγέννηση ενδομήτριου από ενήλικα βλαστοκύτταρα

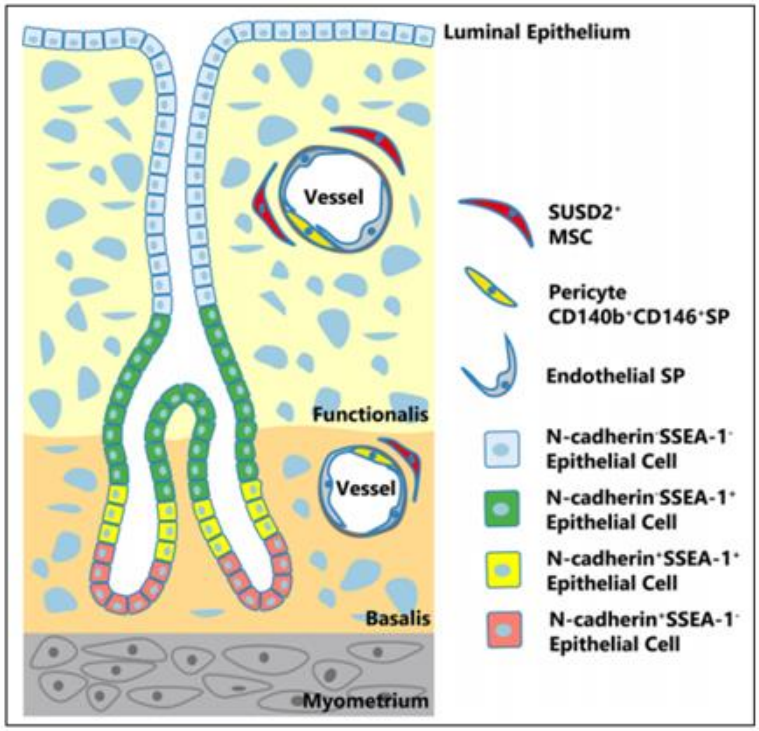
Ένας αυξανόμενος όγκος στοιχείων υποστηρίζει έναν σημαντικό ρόλο των ενήλικων βλαστοκυττάρων στην αναγέννηση και την αναδημιουργία του ενδομήτριου (Gargett et al., 2016). Ως εκ τούτου, έχουν γίνει κλινικές προσπάθειες για τη χρήση βλαστοκυττάρων ενηλίκων για τη θεραπεία AS/EA που προκαλείται από δυσλειτουργία ή υπερβολική βλάβη στο στρώμα της βασικής ενδομήτριας. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει αναφορά θεραπείας με βλαστοκύτταρα ενηλίκων για βλάβη του ενδομήτριου που εμφανίζεται σε περιπτώσεις καρκίνου του ενδομήτριου. Προτείνεται ότι οι πιθανοί μηχανισμοί των ενήλικων βλαστοκυττάρων για τη θεραπεία του καρκίνου του ενδομήτριου βασίζονται στις επιδράσεις των στρωματικών κυττάρων του ενδομήτριου. Έχει αναφερθεί ότι το ρυθμισμένο μέσο (CM) από φυσιολογικά στρωματικά κύτταρα του ενδομήτριου σε επαφή με το Matrigel μείωσε σημαντικά τον αριθμό των αποικιών των κυττάρων Ishikawa και προάγει το εκκριτικό προϊόν του επιθηλίου - γλυκοδελίνη, σε σύγκριση με το CM από στρωματικά κύτταρα που καλλιεργήθηκαν σε πλαστικό ή μη ρυθμισμένο μέσο. Αυτό υποδηλώνει ότι τα φυσιολογικά στρωματικά κύτταρα του ενδομήτριου που καλλιεργούνται στην κατάλληλη εξωκυτταρική μήτρα μπορούν να τροποποιήσουν τον κακοήθη φαινότυπο μιας καλά διαφοροποιημένης κυτταρικής σειράς καρκίνου του ενδομήτριου (Ishikawa). Μια μελέτη απέδειξε τον ρόλο της σηματοδότησης προγεστερόνης με τη μεσολάβηση των φυσιολογικών στρωματικών κυττάρων του ενδομήτριου στην αναστολή του καρκινώματος του ενδομήτριου μέσω του μοντέλου επιθηλιακής-στρωμικής ανακατασκευής (Janzen et al., 2013). Έτσι, τα φυσιολογικά στρωματικά κύτταρα του ενδομήτριου ή το παρακρινικό τους μικροπεριβάλλον με θεραπεία με προγεστερόνη μπορεί να παρέχουν ένα μέσο για μια νέα στρατηγική εξοικονόμησης γονιμότητας για ασθενείς με καρκίνο του ενδομήτριου στο μέλλον. Τα μη κλωνογόνα στρωματικά κύτταρα του ενδομήτριου και τα κλωνογονικά περιαγγειακά μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ενδομήτριου είναι σημαντικά διαφορετικά κύτταρα. Καθώς τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ενδομήτριου με διπλά θετικά CD146 και PDGFRβ αντιπροσωπεύουν το 1,5% των στρωματικών κυττάρων του ενδομήτριου και έχουν διαφοροποίηση πολλαπλών γραμμών (Schwab & Gargett, 2007), είτε τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα ενδομητρίου με ή χωρίς θεραπεία με προγεστερόνη, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία του

καρκίνου του ενδομήτριου χρειάζεται περαιτέρω μελέτη. Από την άλλη πλευρά, τα στρωματικά κύτταρα που προέρχονται από καρκίνο του ενδομήτριου (ινοβλάστες που σχετίζονται με τον καρκίνο), προάγουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων σε σύγκριση με τα στρωματικά κύτταρα που προέρχονται από φυσιολογικούς ενδομήτριους ιστούς (Subramaniam et al., 2013).



Εικόνα 12. Οι ρόλοι των ενήλικων βλαστοκυττάρων για την αναγέννηση του ενδομήτριου

(Πηγή: Lv et al., 2020)



Εικόνα 13. Εντοπισμός ανθρώπινων ενδομητριακών βλαστοκυττάρων/προγονικών κυττάρων

(Πηγή: Gao et al., 2021)

Cell types	Major resources	Cell marker	Properties
eMSC[28]	Endometrium	CD146; PDGF-Rβ(CD140b); SUSD2(W5C5); NTPDase2	Easy to collect and separate. Multipotent, highly proliferative and self-renewing. Weak immunogenicity
EPC[29]	Endometrium	SSEA-1(CD15); SOX9; N-carherin	Highly proliferative. Responsible for monthly endometrial glandular regeneration
ESP[30]	Endometrium	ABCG2	Able to efflux the Hoechst dye. Mixed population including endometrial endothelial, epithelial, and stromal cells. Abundant in proliferative and menstrual stages. High efficiency to regenerate endometrial with EMP
ERC[31]	Endometrium	OCT4; SSEA; Nanog; CXCR4	Highly proliferative and multipotent. Shed every menstrual cycle
BMDSC[32]	Bone Marrow	CD73; CD90; CD105; CD133; ΔNp63	Low quantity in bone marrow. Declined differentiation potency with age. Aggressive collection routine
UC-MSC[33]	Umbilical Cord	C105; CD73; CD90	Highly proliferative. Easy and painless collection method. Low immunogenicity
MenSC[34]	Menstrual Blood	CD9; CD29; CD44; CD73; CD90; CD105; OCT-4; CD166; MHC I; CXCR4	Non-invasive isolation. Abundant source material. Classical stem cell features
HAMSC[35]	Amniotic	CD90; CD105; CD59; CD44	Great proliferative. Easy to obtain.

eMSC, endometrial mesenchymal stem cell; EPC, epithelial progenitor cell; ESP, endometrial side populations; ERC, endometrial regenerative cells; BMDSC, Bone marrow-derived stem cell; UC-MSC, Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell; menSC, menstrual blood-derived stem cell; HAMSC, human amnion-derived mesenchymal stem cell.

Εικόνα 14. Πηγές και χαρακτηριστικά των βλαστοκυττάρων που συμβάλλουν στην αναγέννηση του ενδομήτριου

(Πηγή: Gao et al., 2021)

3.5.1 Βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως

Τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως (MenSCs) είναι μια νέα πηγή εμμηνορροϊκού υγρού. Σε σύγκριση με άλλους τύπους ενήλικων βλαστοκυττάρων, τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως είναι εύκολο να ληφθούν με μη επεμβατικό τρόπο (Meng et al., 2007). Έχουν υψηλή πολλαπλασιαστική ικανότητα, μικρό χρόνο διπλασιασμού, δυνατότητα διαφοροποίησης πολλαπλών γραμμών, χαμηλή ανοσογονικότητα και χαμηλή ογκογένεση και διατηρούν τον καρυότυπο τους ακόμη και μετά από 68 περάσματα (Lv et al., 2018). Ως εκ τούτου, τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ιδανικά αναγεννητικά κύτταρα για τη θεραπεία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος, όπως αναγέννηση ενδομήτριου σε ασθενείς με ενδομήτριες συμφύσεις, βελτίωση των λειτουργιών των ωοθηκών σε άτομα με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια και αποκατάσταση ασθενών με πρόπτωση πυελικού οργάνου. Επιπλέον, μπορούν να βοηθήσουν στη θεραπεία του εμφράγματος του μυοκαρδίου, του εγκεφαλικού, του ηπατικού τραυματισμού, της οξείας πνευμονικής βλάβης και της μυϊκής δυστροφίας Duchenne μέσω της διαφοροποίησης και των παρακρινών σημάτων τους (Lv et al., 2018), και έχουν αντικαρκινικά αποτελέσματα (π.χ. καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, καρκίνος του πνεύμονα και νευροβλάστωμα) (Chen et al., 2019).

Το 2007, ο Meng και οι συνεργάτες του(2007) αναγνώρισαν για πρώτη φορά τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως (Meng et al., 2007). Τα ανθρώπινα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως εκφράζουν κλασικούς δείκτες μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (CD29, CD73, CD90 και CD105) και ορισμένα άλλα επιφανειακά μόρια (όπως CD9, CD44, CD166 και OCT-4), αλλά δεν εκφράζουν CD19, CD34, CD45 και CD133. Εκφράζουν ασθενώς το ανθρώπινο αντιγόνο λευκοκυττάρων (HLA) ABC και δεν εκφράζουν HLA-DR, γεγονός που υποδηλώνει ότι έχουν χαμηλή ανοσογονικότητα και χαμηλό ποσοστό ανοσοαπόρριψης (Lv et al., 2018). Τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως δεν θα πρέπει να θεωρούνται ως ένα είδος μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου καθώς και τα δύο είναι διαφορετικοί αλλά σχετικοί τύποι κυττάρων. Η ταυτότητα και ο ορισμός των βλαστοκυττάρων που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως θα πρέπει να

περιλαμβάνει τα ακόλουθα τρία σημεία (Chen, Qu, et al., 2019): 1) Τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως θα πρέπει να προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως και όχι από τις βιοψίες του ενδομητρίου, 2) Τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως εκφράζουν CD9, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD166, HLA-ABC και OCT-4, ενώ είναι αρνητικά για την έκφραση των CD19, CD34, CD45, CD133 και HLA-DR., 3) Τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως μπορούν να καλλιεργηθούν και να περάσουν σε πλαστικά προσκολλημένα δοχεία και να εμφανίσουν αποτελεσματική δυνατότητα διαφοροποίησης πολλαπλών γραμμών. Ωστόσο, η υψηλή ποιότητα και η υψηλή συνοχή τους εξακολουθούν να είναι σπάνια λόγω της έλλειψης χρυσής τυποποίησης και επιλέξιμων μοριακών δεικτών. Εάν τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως δεν καθαριστούν ή δεν εμπλουτιστούν με συγκεκριμένους δείκτες, μπορεί να είναι λιγότερο συνεπή ή αποτελεσματικά από τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου που προέρχονται από βιοψία ενδομήτριου (Darzi et al., 2016). Επομένως, παράγοντες που επηρεάζουν τη βιωσιμότητα των βλαστοκυττάρων που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως, όπως η ηλικία του δότη, η χρήση αντισυλληπτικών και τα ετερογενή χαρακτηριστικά των στρωματικών κυττάρων (Lv et al., 2018), θα πρέπει να ληφθούν υπόψη σε μελλοντική έρευνα.

Σε μια μελέτη, αυτόλογα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως χρησιμοποιήθηκαν για τη διενέργεια ενδομήτριας μεταμόσχευσης μετά από in vitro επέκταση για τη θεραπεία επτά ασθενών με σοβαρές συμφύσεις της μήτρας, εκ των οποίων πέντε ασθενείς είχαν πάχυνση ενδομήτριου έως 7 mm, δύο από τους τέσσερις έμειναν επιτυχώς έγκυες μετά από εμβρυομεταφορά και μία σύλληψη φυσικά μετά τη δεύτερη αυτόλογη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως (Tan et al., 2016). Ο Zheng και οι συνεργάτες του(2018) απομόνωσαν και καλλιέργησαν OCT-4+ βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως από ασθενείς με συμφύσεις της μήτρας και υγιείς εθελοντές και διαπίστωσαν ότι η έκφραση της CK και της βιμεντίνης (VIM) σε φυσιολογικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως OCT-4+ που καλλιεργήθηκαν στην ομάδα διαφοροποίησης χρησιμοποιώντας 17β-οιστραδιόλη και κυτοκίνες ήταν σημαντικά υψηλότερη από αυτό στην ομάδα ελέγχου (Zheng et al., 2018). Στα καλλιεργημένα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το

αίμα της εμμήνου ρύσεως, 33,5 ± 1,5% κύτταρα ήταν θετικά σε δείκτη προσκόλλησης επιθηλιακών κυττάρων (EpCAM). Το EpCAM είναι ένα μόριο που εκφράζεται στο ενδομήτριο επιθήλιο (Janzen et al., 2013), επομένως τα αυξημένα CK-θετικά κύτταρα μπορεί να είναι ο πολλαπλασιασμός των EpCAM-θετικών επιθηλιακών κυττάρων υπό τη δράση των οιστρογόνων, που δεν σχετίζονται απαραίτητα με τη διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως. Επομένως, η απόδειξη ότι τα θετικά για CK ενδομήτρια επιθηλιακά κύτταρα διαφοροποιήθηκαν από τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως δεν είναι ισχυρά. Επειδή η ικανότητα σχηματισμού αποικιών των βλαστοκυττάρων που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως και της έκφρασης OCT-4 σε ασθενείς με σοβαρές ενδομήτριες συμφύσεις ήταν μειωμένη σημαντικά, η μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως από υγιείς μάρτυρες βελτίωσε την κατάσταση των ενδομήτριων συμφύσεων και αύξησε το ποσοστό εγκυμοσύνης (Zheng et al., 2018). Επιπλέον, τα εξωκυτταρικά κυστίδια που συλλέγονται από τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως συμμετέχουν σε προσαρμοστικές/έμφυτες ανοσοαποκρίσεις, ενεργοποίηση συμπληρώματος, επεξεργασία/παρουσίαση αντιγόνου και αρνητική ρύθμιση της απόπτωσης, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ανοσοτροποποιητικοί ρυθμιστές για τη θεραπεία ασθενειών που σχετίζονται με φλεγμονή (Marinaro et al., 2019). Μηχανιστικά, τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως μπορεί να προκαλέσουν μόρια που σχετίζονται με την αγγειογένεση, όπως τα eNOS, VEGFA, VEGFR1, VEGFR2 και TIE2, ενεργοποιώντας την οδό AKT/ERK για την προώθηση της επιδιόρθωσης του ενδομητρίου (Zhang et al., 2016). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως στα σφαιροειδή αύξησαν την επιβίωση των μεταμοσχευμένων κυττάρων και την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με βλαστοκύτταρα. Ο Domnina και οι συνεργάτες του(2018) διαπίστωσαν ότι τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως σε σφαιροειδή έχουν τις ιδιότητες των βλαστοκυττάρων που προέρχονται από το αίμα της εμμήνου ρύσεως σε μια μονοστιβάδα, όπως έκφραση ειδικής μορίου CD (CD73+, CD90+, CD105+, CD140b+, CD45- και CD34-), δυναμικό διαφοροποίησης (λιποκύτταρα, οστεοβλάστες και κυτταρικά κύτταρα), υψηλό ρυθμό

πολλαπλασιασμού και υψηλή αποτελεσματικότητα σχηματισμού αποικιών (Domnina et al., 2018).

3.5.2 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου συμμετέχουν στην αναγέννηση και την αναδιαμόρφωση του ενδομήτριου και είναι ένας από τους πιο πολλά υποσχόμενους υποψήφιους τύπους βλαστοκυττάρων ενηλίκων για θεραπεία με βλαστοκύτταρα. Έχουν λειτουργίες προ-αγγειογένεσης, αντιαπόπτωσης, ανοσοτροποποίησης και διατήρησης της σταθερότητας της χρωματίνης χωρίς ογκογένεση και χαμηλή ανοσογονικότητα (Masuda et al., 2012). Τα ενδομήτρια περιαγγειακά κύτταρα CD146+PDGFRβ+ έχουν τις λειτουργίες και τα χαρακτηριστικά έκφρασης του μορίου CD των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου (Schwab & Gargett, 2007). Εκφράζουν σε μεγάλο βαθμό τον αγγειογενετικό επαγωγέα κυστεΐνης 61 (CYR61) που παίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση στο κατεστραμμένο ενδομήτριο. Η υπερέκφραση του CYR61 σε περιαγγειακά κύτταρα CD146+PDGFRβ+ του ενδομήτριου σε συνδυασμό με ικριώματα κολλαγόνου, μπορεί να προάγει την αναγέννηση του ενδομήτριου και του μυομήτριου στην κατεστραμμένη μήτρα του αρουραίου, προκαλώντας νεοαγγείωση και αυξάνοντας τα ποσοστά εγκυμοσύνης (Li et al., 2019). Επιπλέον, τα εξωκυτταρικά κυστίδια που συλλέγονται από τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου συμμετέχουν σε προσαρμοστικές/έμφυτες ανοσοαποκρίσεις, ενεργοποίηση συμπληρώματος, επεξεργασία/παρουσίαση αντιγόνου και αρνητική ρύθμιση της απόπτωσης, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ανοσοτροποποιητικοί ρυθμιστές για τη θεραπεία ασθενειών που σχετίζονται με φλεγμονή (Marinaro et al., 2019).

Ο Tersoglio και οι συνεργάτες του(2020) διεξήγαγαν μια διαχρονική και σε βάθος πιλοτική μελέτη στην οποία υπογόνιμες γυναίκες που είχαν αποτύχει σε επαναλαμβανόμενη μεταμόσχευση εμβρύου υποβλήθηκαν σε υποενδομήτρια μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου. Το ενδομήτριο πάχυνε από 5,2 ± 1,24 mm πριν από τη θεραπεία σε 9,93± 0,77 mm μετά και το κλινικό ποσοστό εγκυμοσύνης έφτασε το 79,31% (23/29) (Tersoglio et al., 2020).

Επιπλέον, το ποσοστό ζώντων γεννήσεων μετά από εμβρυομεταφορά ήταν 45,45% (10/22) και το ποσοστό συνέχισης της εγκυμοσύνης ήταν 24,14% (7/29). Αυτό υποδηλώνει ότι η υποενδομήτρια μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου μπορεί να αυξήσει σημαντικά το πάχος του ενδομήτριου και να βελτιώσει σημαντικά τα αποτελέσματα της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Επιπλέον, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου διαφοροποιούνται σε μεσοδερματικές και εξωδερμικές κυτταρικές σειρές όπως κύτταρα νησιδίων που εκκρίνουν ινσουλίνη που έχουν πιθανή αξία εφαρμογής στη θεραπεία του διαβήτη (Santamaria et al., 2011). Επιπλέον, ο αναστολέας της οδού σηματοδότησης PI3K/AKT LY294002 προωθεί τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου σε ικριώματα πολυκαπρολακτόνης/κολλαγόνου σε κινητικούς νευρώνες (Ebrahimi-Barough et al., 2017).

Η γήρανση είναι ένας από τους κύριους λόγους για την αποτυχία της θεραπείας με βλαστοκύτταρα. Το οξειδωτικό στρες στο εξωκυτταρικό περιβάλλον εκκινεί τον εκκριτικό φαινότυπο που σχετίζεται με τη γήρανση και αλλάζει τα παρακρινικά χαρακτηριστικά των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου (Burova et al., 2013), γεγονός που μπορεί να είναι ο λόγος για το υψηλό ποσοστό κυτταρικής θνησιμότητας και τη δυσκολία στην ενίσχυση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου μετά τη μεταμόσχευση. Ο Cho και οι συνεργάτες του (2019) ανακάλυψαν έναν ενδογενή παράγοντα κατά της γήρανσης, τον Sonic Hedgehog (SHH). Ο SHH είναι ένας παράγοντας που επάγει τη μορφογένεση κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και η έκφραση και η δραστηριότητα της SHH στα βλαστοκύτταρα μειώνονται σημαντικά με τη γήρανση. Η εξωγενής εφαρμογή του SHH ανακουφίζει αποτελεσματικά διάφορες σχετιζόμενες με τη γήρανση μειώσεις στις λειτουργίες των ενδομητρικών βλαστοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού, της μετανάστευσης και της ενζυματικής δραστηριότητας της β-γαλακτοσιδάσης που σχετίζεται με τη γήρανση. Η βράχυνση των τελομερών είναι ένας σημαντικός μηχανισμός που οδηγεί την αντιγραφική γήρανση (de Magalhaes & Passos, 2018). Επιπλέον, αυξανόμενα στοιχεία υποστηρίζουν τον ρόλο του οξειδωτικού στρες στην επαγωγή της γήρανσης. Αναφέρεται ότι η πρωτεΐνη 3 που δεσμεύει τον αυξητικό παράγοντα τύπου ινσουλίνης (IGFBP3) επάγει την απόπτωση με τρόπο εξαρτώμενο ή ανεξάρτητο από τον IGF-1. Ο Vassilieva και οι συνεργάτες του (2020) διαπίστωσαν ότι η πρόωρη γήρανση των μεσεγχυματικών

βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες προήγαγε την έκκριση του IGFBP3 στο μέσο καλλιέργειας. Μετά την εξουδετέρωση του IGFBP3 στο μέσο καλλιέργειας, η επίδραση του IGFBP3 στην πρόκληση γήρανσης νεαρών μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου ήταν προφανώς εξασθενημένη και η ικανότητα να προάγει τον πολλαπλασιασμό ενισχύθηκε. Η εφαρμογή του συνθετικού IGFBP3 επάγει επίσης τη γήρανση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου και μειώνει την έκφραση του γονιδίου CD146/MCAM του στελέχους σε μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του ενδομήτριου (Vassilieva et al., 2020).

Η κατεύθυνση διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου είναι εξαιρετικά ευαίσθητη στο μικροπεριβάλλον. Ο Zhang και οι συνεργάτες του (2019) διαπίστωσαν ότι οι περιτοναϊκές πλύσεις από ασθενείς με ενδομητρίωση προώθησαν τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου σε μυοϊνοβλάστες, οδηγώντας σε συμφύσεις, ανατομικές ανωμαλίες και πυελικό πόνο. Η αναμόρφωση του μικροπεριβάλλοντος των βλαστοκυττάρων για την αποφυγή μη φυσιολογικής διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του ενδομήτριου είναι ένα δύσκολο πρόβλημα που πρέπει να ξεπεραστεί (Zhang et al., 2019).

3.5.3 Βλαστοκύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών και κύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών

Το 2004, αναφέρθηκε ότι ανιχνεύθηκαν ενδομήτρια κύτταρα προερχόμενα από δότη σε δείγματα ενδομήτριου από λήπτες μοσχευμάτων μυελού των οστών (Taylor, 2004). Σε δείγματα ενδομήτριου από ασθενείς με αιματολογικούς όγκους λευχαιμίας που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση μυελού των οστών, ανιχνεύθηκε ενδομήτριο που προέρχεται από δότη με αταίριαστο τύπο HLA, που αντιπροσωπεύει το 0,2%-48% και το 0,3%-52% του ενδομητρικού επιθηλίου και του στρώματος, αντίστοιχα. Ο Ikoma και οι συνεργάτες του (2009) βρέθηκαν επίσης θετικά στο χρωμόσωμα Y ενδομήτρια κύτταρα στο ενδομήτριο γυναικών ασθενών με αιματολογικούς όγκους που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση μυελού των οστών ανδρών, εκ των οποίων τα θετικά Y αδενικά επιθηλιακά και στρωματικά κύτταρα αντιπροσώπευαν 0,6%-8,4%

και 8,2%-9,8%, αντίστοιχα (Ikoma et al., 2009). Επιπλέον, πειράματα σε ποντίκια επιβεβαίωσαν επίσης ότι τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών (BMDSCs) μπορούν να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα ενδομήτριου. Ο Alawadhi και οι συνεργάτες του (2014)διαπίστωσε ότι τα κύτταρα Y+CD45- σε μια ομάδα ενδομητρικής βλάβης ήταν δύο φορές υψηλότερα από εκείνα της μη τραυματισμένης ομάδας μετά από ένεση στην ουραία φλέβα αρσενικών C57BL/6 βλαστοκυττάρων που προέρχονται από μυελό των οστών (Alawadhi et al., 2014). Τα κύτταρα Y+CD45-CK+ και τα κύτταρα Y+CD45-CK- κατέδειξαν επιθηλιακά και στρωματικά κύτταρα προερχόμενα από μυελό των οστών στο ενδομήτριο αντίστοιχα. Και η ομάδα μεταμόσχευσης είχε επίσης υψηλότερο ποσοστό εγκυμοσύνης σε σύγκριση με την ομάδα που δεν είχε μεταμοσχευθεί (90% έναντι 30%, $p = 0,0225$) (Alawadhi et al., 2014). Ομοίως, ο Cervello και οι συνάδελφοί του (2015) ανέφεραν ότι τα ανθρώπινα CD133+ βλαστοκύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών, με ενδομήτρια ή ουραία έγχυση σε ένα μοντέλο ΕΑ, θα μπορούσαν να εμβολιαστούν γύρω από τα ενδομήτρια αγγεία και να προάγουν την αναγέννηση του ενδομήτριου μέσω παρακρινών ενεργειών (Cervello et al., 2015; de Miguel-Gomez al., 2020). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τα κύτταρα του ενδομήτριου μπορούν να διαφοροποιηθούν από τα κύτταρα δότη μυελού των οστών, δηλαδή τα βλαστοκύτταρα από μη ενδομήτριες πηγές μπορούν επίσης να συμμετέχουν στην αναγέννηση του ενδομητρίου ιστού. Αλλά, η ταυτότητα των βλαστοκυττάρων από τον μυελό των οστών δεν έχει πραγματικά προσδιοριστεί. Αντίθετα, ο Ong και οι συνεργάτες του (2018) απέτυχαν να παρατηρήσουν την ικανότητα διαδιαφοροποίησης των βλαστικών κυττάρων μυελού των οστών σε χιμαιρικά μοντέλα ποντικών (Ong et al., 2018). Βρήκαν ότι τα μακροφάγα που εκφράζουν ασθενώς το CD45 ήταν άφθονα στο στρώμα, διήθησαν στα επιθηλιακά και αγγειακά διαμερίσματα και θα μπορούσαν εύκολα να θεωρηθούν εσφαλμένα ως κύτταρα ενδομήτριου που προέρχονται από μυελό των οστών.

Τα αυξανόμενα στοιχεία δείχνουν ότι η αναγέννηση του ενδομήτριου εξαρτάται επίσης, τουλάχιστον εν μέρει, από τη στρατολόγηση και τη μεταμόσχευση κυττάρων που προέρχονται από μυελό των οστών (BMDCs) και την επακόλουθη διαφοροποίησή τους σε μη αιμοποιητικά ενδομήτρια κύτταρα. Ο Gil-Sanchis και οι συνάδελφοί του (2015) ανέφεραν μια συγκριτική μελέτη μεταξύ τεσσάρων πρόσφατα απομονωμένων και τριών πληθυσμών κυττάρων που προέρχονται από μυελό των

οστών ποντικών που απομονώθηκαν σε καλλιέργεια σε αναγέννηση του ενδομήτριου σε ποντίκια μετά από μη θανατηφόρο ακτινοβολία (Gil-Sanchis et al., 2015). Βρήκαν ότι πρόσφατα απομονωμένα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα και ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα μαζί με βλαστοκύτταρα παρόμοια με υποβλάστες κυττάρων που προέρχονται από μυελό των οστών προκάλεσαν τον μεγαλύτερο βαθμό αναγέννησης, ενώ τα απομονωμένα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα από καλλιέργεια και η μεταμόσχευση πολυδύναμων προγονικών κυττάρων ενηλίκων αρνητικών OCT-4 μπορεί να έχουν αντίθετη επίδραση στην αναγέννηση του ενδομήτριου. Οι διαφορετικές συμπεριφορές μεταξύ των πρόσφατα απομονωθέντων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων και των in vitro καλλιεργημένων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων μπορούν επίσης να εξηγηθούν από την απώλεια επιφανειακών υποδοχέων (π.χ. CXCR4) κατά τη διάρκεια της κυτταρικής καλλιέργειας, η οποία είναι σημαντική για την επιστροφή των κυττάρων σε κατεστραμμένους ιστούς. Επιπλέον, τα κύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών ήταν ανιχνεύσιμα ήδη από 3 μήνες μετά τη μεταμόσχευση μυελού των οστών και ο μυελός των οστών παρέμεινε μακροπρόθεσμα συμβάλλοντας σε μη αιμοποιητικά ενδομήτρια κύτταρα (Morelli et al., 2013). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τα κύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών μπορεί να χρησιμεύσουν ως σημαντικός συνεισφέρων των βλαστοκυττάρων στο ενδομήτριο και ενδέχεται να αποκαταστήσουν τη γονιμότητα του ενδομήτριου μετά από ακτινοβόληση για ογκολογικές ενδείξεις. Επιπλέον, τα κύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών έχουν μια μη αναγνωρισμένη προηγουμένως μη αιμοποιητική φυσιολογική συνεισφορά στο στρώμα του φθαρτού, παίζοντας έτσι σημαντικό ρόλο στην εμφύτευση βλαστοκύστης και στη διατήρηση της εγκυμοσύνης. Η εγκυμοσύνη κινητοποιεί τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών στην κυκλοφορία και προκαλεί σημαντική στρατολόγηση κυττάρων που προέρχονται από μυελό των οστών ενηλίκων σε decidua, όπου μερικά διαφοροποιούνται σε μη αιμοποιητικά αποκαλυπτικά κύτταρα που εκφράζουν προλακτίνη (Tal et al., 2019). Επιπλέον, τα κύτταρα που προέρχονται από μυελό των οστών είχαν περισσότερα πλεονεκτήματα στην ενίσχυση των βλαστοκυττάρων από τα κύτταρα που προέρχονται από τη μήτρα και η στρατολόγηση των κυττάρων που προέρχονται από μυελό των οστών στο ενδομήτριο ήταν υψηλότερη όταν εγχύονταν ενδοφλέβια μέσω της ουράς σε σύγκριση με την ενδομήτρια ένεση (Liu et al., 2018).

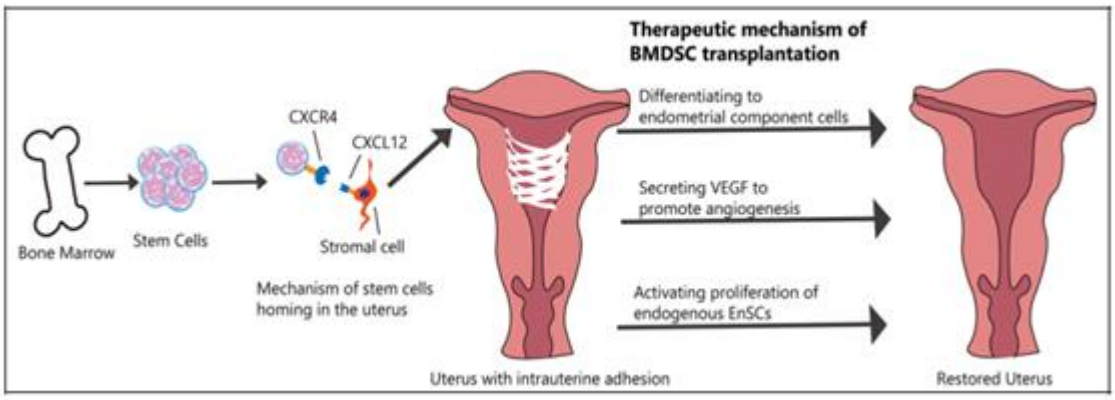
Όλα αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν τους σημαντικούς ρόλους των κυττάρων που προέρχονται από μυελό των οστών στη γονιμότητα του ενδομήτριου.

Επιπλέον, μελέτες απέδειξαν ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών (BMSCs) έχουν μεγάλες δυνατότητες στην επιδιόρθωση του κατεστραμμένου ενδομήτριου και στην ανάκτηση της λειτουργίας του ενδομήτριου. Μετά τη θεραπεία με μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών, ο ενδομήτριος ιστός σε ένα μοντέλο ΕΑ ποντικού έδειξε μια σημαντικά παχύτερη επένδυση, με αυξημένα επίπεδα αντιφλεγμονωδών κυτοκινών (όπως FGF και IL-6) και μειωμένες προφλεγμονώδεις κυτοκίνες (όπως ο TNF-α και η IL-1β) (Zhao et al., 2015). Επιπλέον, ο ηλεκτροβελονισμός και τα υλικά μηχανικής ιστών όπως τα ικριώματα κολλαγόνου μπορούν να ενισχύσουν την επίδραση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του μυελού των οστών στην αποκατάσταση του τραυματισμένου ενδομήτριου (Xia et al., 2019). Έχει αναφερθεί ότι η μετανάστευση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του μυελού των οστών στο ενδομήτριο και η διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων προάγονται από τραυματισμό ισχαιμίας/επαναιμάτωσης και αναστέλλονται από την έκθεση στον καπνό του τσιγάρου (Du et al., 2012). Τα εξωσώματα από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών συμμετέχουν επίσης στην αποκατάσταση του κατεστραμμένου ενδομητρίου. Ο TGFβ είναι ένας κύριος ρυθμιστής που οδηγεί τον ενδομήτριο τραυματισμό και προάγει το σχηματισμό ινώδους ιστού (Salma et al., 2016). Η εξωγενής εφαρμογή του TGFβ προκάλεσε ενδομήτρια επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση και αύξησε το αποπτωτικό επίπεδο του ενδομητρικού επιθηλίου (Yao et al., 2019). Τα εξωσώματα από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών ανέστρεψαν τη μεσολαβούμενη από τον TGFβ μετάβαση επιθηλίου-μεσεγχυματικού, προώθησαν τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων και μείωσαν την περιοχή του ινώδους ιστού. Ωστόσο, δεν είναι σαφές ποια συστατικά των εξωσωμάτων που προέρχονται από μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών μπορούν να επιδιορθώσουν το κατεστραμμένο ενδομήτριο.

Ο άξονας CXCL12-CXCR4 αποδείχθηκε ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη στρατολόγηση BMDC στο τοπικό ενδομήτριο και στην προώθηση της επιδιόρθωσης του ενδομήτριου με πειράματα σήμανσης κυττάρων. Ο Yi και οι συνεργάτες του (2019) διαπίστωσαν ότι το CXCL12 και τα κύτταρα από μυελό των οστών δρούσαν

συνεργικά στην αύξηση του πάχους του ενδομήτριου του κατεστραμμένου ενδομήτριου και στη βελτίωση των ποσοστών εγκυμοσύνης και των ζώντων γεννήσεων.

Επιπλέον, μια τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική δοκιμή αξιολόγησε τις επιδράσεις των αναστολέων DDP4 στη ρύθμιση των ενδομητρικών κυττάρων σε υποτροπιάζουσες αποβολές. Οι αναστολείς DDP4 αυξάνουν κυρίως τη βιοδραστικότητα CXCL12, η οποία τουλάχιστον εν μέρει εξαρτάται από τη στρατολόγηση και τη μεταμόσχευση των κυττάρων μυελού των οστών και την επακόλουθη διαφοροποίησή τους σε μη αιμοποιητική ενδομήτρια γενεαλογία, αυξάνοντας έτσι τις CFU του ενδομήτριου μέσης ωχρινικής φάσης, το πάχος του ενδομήτριου και τις γυναίκες 12 μηνών με έκβαση εγκυμοσύνης ιστορικό επαναλαμβανόμενων αποβολών (Tewary et al., 2020). Βρέθηκε ότι ο αριθμός CFU του μεσαίου ωχρινικού ενδομήτριου στην ομάδα αναστολέα DDP4 ήταν προφανώς αυξημένος και η έκφραση του DIO2 από τα γηρασμένα κύτταρα μειώθηκε σημαντικά. Επιπλέον, υπήρξε μια συνεργιστική επίδραση του ηλεκτροβελονισμού και των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του μυελού των οστών (BMSCs) στην αποκατάσταση του κατεστραμμένου ενδομήτριου των αρουραίων Sprague-Dawley. Ο δυνητικός μηχανισμός είναι ότι ο ηλεκτροβελονισμός ενεργοποιεί τον άξονα CXCL12-CXCR4 για να προωθήσει τη στρατολόγηση βλαστοκυττάρων μυελού των οστών στο ενδομήτριο και ενισχύει την παρακρινική τους σηματοδότηση (Xia et al., 2019). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν τη δυνατότητα κλινικής εφαρμογής του αναστολέα DDP4 στην αποκατάσταση του κατεστραμμένου ενδομήτριου και στη βελτίωση των αποτελεσμάτων της εγκυμοσύνης.



Εικόνα 15. Θεραπευτικά αποτελέσματα της μεταμόσχευσης βλαστοκυττάρων που προέρχονται από μυελό των οστών για ασθενείς με σύνδρομο Asherman

(Πηγή: Gao et al., 2021)

3.5.4 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα προερχόμενα από τον ομφάλιο λώρο

Τα ανθρώπινα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από τον ομφάλιο λώρο (hUC-MSCs) χρησιμοποιούνται ευρέως στην αποκατάσταση βλαβών ιστών, συμπεριλαμβανομένων εφαρμογών σε κατεστραμμένο μυοκάρδιο, ήπαρ, πνεύμονες, νεφρούς, βλεννογόνο του δέρματος και αγγειακό ενδοθήλιο, ενδομήτριο και ιστό ωοθηκών (Xin et al., 2019). Μια ομάδα από το Nanjing Drum Tower Hospital στην Κίνα διεξήγαγε μια κλινική δοκιμή με συνδυασμένη εφαρμογή hUC-MSCs και αποικοδομήσιμου ικριώματος κολλαγόνου για τη θεραπεία ασθενών με ενδομήτριες συμφύσεις (Cao et al., 2018). Αυτό το σχήμα ενίσχυσε την ικανότητα επιδιόρθωσης του ενδομήτριου και ανακούφισε τις ενδομήτριες συμφύσεις. Μια μελέτη έδειξε επίσης ότι τα εξωσώματα hUC-MSC προώθησαν τον πολλαπλασιασμό του αλλογενούς ενδομήτριου στρώματος και την επιδιόρθωση του ενδομήτριου (Lv et al., 2020), υποδηλώνοντας τη σημασία του παρακρινικού μικροπεριβάλλοντος των hUC-MSC. Αν και οι συγκεκριμένοι μηχανισμοί που εμπλέκονται δεν είναι ξεκάθαροι, τα στρωματικά κύτταρα του ενδομητρίου που διαφοροποιούνται από τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο ως απάντηση στον τραυματισμό του ενδομήτριου. Ο πολλαπλασιασμός των στρωματικών κυττάρων του ενδομήτριου και η μετάβαση μεσεγχυματικού-επιθηλίου μπορεί να ευθύνονται για τους μηχανισμούς που κρύβονται πίσω από τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που εμπλέκονται στην

αναγέννηση του ενδομητρίου (Owusu-Akyaw et al., 2019; Yin et al., 2019). Από την άλλη πλευρά, τα εξωκυτταρικά κυστίδια που προέρχονται από τα hUC-MSC μεταφέρουν το miR-302a στην τοπική περιοχή του καρκίνου του ενδομήτριου, αναστέλλουν τα σήματα της κυκλίνης D1 και AKT1 και αποτρέπουν την εξέλιξη του καρκίνου του ενδομήτριου (Li et al., 2019). Αυτές οι μελέτες δεν είναι αντιφατικές, υποδηλώνοντας ότι τα hUC-MSCs μπορούν να αποτελέσουν μια από τις θεραπείες που προστατεύουν τη γονιμότητα για τον καρκίνο του ενδομήτριου στο μέλλον, όχι μόνο αναστέλλοντας την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του ενδομήτριου άμεσα, αλλά και επιδιορθώνοντας το κατεστραμμένο ενδομήτριο μετά την πλήρη ύφεση του όγκου.

3.5.5 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από λιπώδη ιστό

Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από λιπώδη ιστό (AD-MSCs) έχουν τα πλεονεκτήματα των μεγάλων αποθεμάτων in vivo, είναι εύκολο να αποκτηθούν και έχουν την ισχυρή πολλαπλασιαστική ικανότητα και οι εφαρμογές τους στον τομέα της μηχανικής ιστών έχουν σταδιακά δείξει μεγάλες δυνατότητες, συμπεριλαμβανομένης της θεραπείας του διαβήτη, της οστεοαρθρίτιδας και της αποκατάστασης τραυματισμών νεύρων (Bydon et al., 2020). Υπάρχουν σχετικά λίγες μελέτες για AD-MSCs στην ενδομήτρια αποκατάσταση. Τα AD-MSCs και τα εξωσώματά τους προάγουν την αναγέννηση του ενδομήτριου σε αρουραίους με ενδομήτρια πρόσφυση, βελτιώνουν την ενδομήτρια δεκτικότητα και αναδιαμορφώνουν τη γονιμότητα του ενδομήτριου (Zhao et al., 2020), γεγονός που υποδεικνύει την τοπική εφαρμογή του AD-MSC τα εξωσώματα στη μήτρα μπορεί να είναι μια πολλά υποσχόμενη θεραπεία για ασθενείς με ενδομήτρια προσκόλληση. Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι το ρυθμισμένο μέσο από προεπεξεργασμένα λιπώδη βλαστικά κύτταρα του καρκίνου του ενδομήτριου (ADSCs) προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων του ενδομήτριου ενεργοποιώντας το μονοπάτι σηματοδότησης STAT3 (Chu et al., 2018), το οποίο υποδηλώνει ότι τα ADSC είναι ανεξάρτητα από το περιβάλλον του όγκου.

3.5.6 Άλλα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από ιστό

Τα ανθρώπινα αμνιακά επιθηλιακά κύτταρα έχουν τα χαρακτηριστικά των βλαστοκυττάρων. Μετά την ενδοπεριτοναϊκή ένεση ανθρώπινων αμνιακών επιθηλιακών κυττάρων, το πάχος του ενδομήτριου, ο αριθμός των αδένων και ο αριθμός των μικροαγγείων σε ποντίκια με προσκόλληση της μήτρας αυξήθηκαν σημαντικά, η περιοχή του ινώδους ιστού μειώθηκε και το ποσοστό εγκυμοσύνης βελτιώθηκε σημαντικά (Li et al., 2019).

Τα επιθηλιακά κύτταρα του στοματικού βλεννογόνου έχουν υψηλή δυνατότητα πολλαπλασιασμού in vitro και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως κύτταρα σποράς στη μηχανική ιστών. Μπορούν να αναπτυχθούν σε μια αποκυτταρωμένη και λυοφιλοποιημένη αμνιακή μεμβράνη (DL-AM) και να μειώσουν αποτελεσματικά τον βαθμό ενδομήτριας προσκόλλησης στα ποντίκια και να αποκαταστήσουν τη γονιμότητα του ενδομήτριου (Chen et al., 2019).

Επίσης, βρέθηκε ότι τα επαγόμενα από τον άνθρωπο πολυδύναμα βλαστοκύτταρα (hiPS) που καλλιεργήθηκαν in vitro διαφοροποιούνται σταδιακά σε ενδιάμεσο μεσόδερμα, επιθήλιο κοιλώματος και στον πόρο Müllerian και τελικά παράγουν ενδομήτριους στρωματικούς ινοβλάστες από μια διαδοχική σειρά ρυθμιστικών παραγόντων διαδοχικά. Σε αυτή τη διαδικασία, η οδός σηματοδότησης WNT/CTNNB1 παίζει σημαντικό ρόλο (Miyazaki et al., 2018). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τα κύτταρα hiPS μπορούν να χρησιμοποιηθούν για κυτταρική θεραπεία ασθενειών που σχετίζονται με το ενδομήτριο, όπως το σύνδρομο Asherman, η ενδομητρίωση, ο πρώιμος καρκίνος του ενδομήτριου και η στειρότητα που σχετίζεται με τη μήτρα.

Επίλογος

Η ανακάλυψη των ενδομήτριων βλαστοκυττάρων αντιπροσωπεύει μια αλλαγή παραδείγματος για τη χρήση ενηλίκων βλαστοκυττάρων, προσφέροντας μια νέα θεραπευτική εφαρμογή αναγεννητικής ιατρικής. Η θέση των ενδομήτριων βλαστοκυττάρων και ο in situ ρόλος υπογραμμίζουν αυτά τα κύτταρα ως σημαντικά για την αναγέννηση των κυττάρων και των ιστών. Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα έχουν ταυτοποιηθεί στο ανθρώπινο ενδομήτριο με βάση τις λειτουργικές τους ιδιότητες. Η ικανότητά τους να ανακατασκευάζουν ενδομήτριο ιστό in vivo υποδηλώνει την πιθανή χρήση τους για τη θεραπεία διαταραχών που σχετίζονται με ανεπαρκές ενδομήτριο. Νέα μοντέλα για τη διαφοροποίηση πολυδύναμων βλαστοκυττάρων (ανθρώπινα ESC, κύτταρα iPS) και άλλες πηγές ενηλίκων βλαστοκυττάρων σε ανθρώπινο ενδομήτριο επιθήλιο παρέχουν εναλλακτικές οδούς για την αναδόμηση του ενδομήτριου για πιθανούς θεραπευτικούς σκοπούς. Τα εμπόδια που πρέπει να ξεπεραστούν περιλαμβάνουν την επέκταση καλλιέργειας ενηλίκων βλαστοκυττάρων χωρίς διαφοροποίηση και πιθανή ανοσοκαταστολή για αλλογενή μεταμόσχευση. Υπό το πρίσμα της ικανότητάς τους να διαφοροποιούνται σε μεσεγχυματικούς ιστούς και την τάση τους να υποβάλλονται σε γενετική χειραγώγηση, τα ενδομήτρια βλαστοκύτταρα υπόσχονται σημαντικά νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις για ασθένειες στον ευρύτερο τομέα της αναγεννητικής ιατρικής.

Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από το αίμα της περιόδου, το ενδομήτριο, το μυελό των οστών και τον ομφάλιο λώρο δρουν στην αναγέννηση του κατεστραμμένου ενδομήτριου μέσω άμεσης διαφοροποίησης ή παρακρινών επιδράσεων. Αυτοί οι παρακρινείς παράγοντες που προκαλούνται από βλαστοκύτταρα θα μπορούσαν να συμμετάσχουν στον πολλαπλασιασμό του ενδομήτριου, την αγγειογένεση, την ανοσορύθμιση και να ενεργοποιήσουν τις κόγχες (niches)των βλαστοκυττάρων για να διατηρήσουν το στέλεχος.

Επί του παρόντος, τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από διάφορους ιστούς, όπως ενδομήτρια μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα, μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών και μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από τον ομφάλιο λώρο, έχουν δείξει εξαιρετικά

ευεργετικά αποτελέσματα στην αποκατάσταση του τραυματισμένου ενδομήτριου. Επιπλέον, η μηχανική ιστών με υλικά ικριώματος μπορεί να βελτιώσει αποτελεσματικά την αποτελεσματικότητα επισκευής των βλαστοκυττάρων στο κατεστραμμένο ενδομήτριο διατηρώντας τη βιωσιμότητα και τη λειτουργία των βλαστοκυττάρων. Ορισμένες συνδυαστικές θεραπείες με βλαστοκύτταρα και υλικά ικριώματος μηχανικής ιστών έχουν εισέλθει στις κλινικές δοκιμές και έχουν δείξει εξαιρετική ενδομήτρια επισκευή. Η επιτυχής εφαρμογή αυτών των βλαστοκυττάρων στη θεραπεία της ατροφίας του ενδομήτριου, των εκτεταμένων ενδομήτριων συμφύσεων και των ουλών θα βελτιώσει την έμμηνο ρύση και θα συμβάλει στην ενίσχυση της γυναικείας γονιμότητας.

Ωστόσο, εξακολουθεί να υπάρχει έλλειψη έρευνας για την αποκατάσταση του κατεστραμμένου ενδομήτριου μετά την αναστροφή ενός γυναικολογικού όγκου προς το παρόν, ειδικά για τον καρκίνο του ενδομήτριου. Κατά τη διάρκεια της θεραπείας διατήρησης της γονιμότητας, συχνές ενδομήτριες επεμβάσεις, συμπεριλαμβανομένης της διαστολής και της απόξεσης, και της βιοψίας ενδομήτριου, μπορεί να προκαλέσουν επιδιόρθωση ενδομήτριων ουλών και ενδομήτριες συμφύσεις. Σύμφωνα με αναφορές, τα ποσοστά εγκυμοσύνης μεταξύ αυτών των ασθενών είναι ακόμα πολύ χαμηλά: 41,2% σε ασθενείς με άτυπη υπερπλασία και 34,8% σε ασθενείς με καρκίνο του ενδομήτριου, για να μην αναφέρουμε το ποσοστό ζώντων γεννήσεων (Gunderson et al., 2012). Ο Inoue και οι συνάδελφοι του(2016) αξιολόγησαν τους παράγοντες που επηρέασαν την καθιέρωση κλινικών κυήσεων συγκρίνοντας μια ομάδα εγκυμοσύνης με μια ομάδα ασθενών που δεν ήταν έγκυες που έλαβαν οξική μεδροξυπρογεστερόνη (Inoue et al., 2016). Προσδιόρισαν την υποτροπή, το πάχος του ενδομήτριου κατά την ωορρηξία και την ηλικία ως τρεις παράγοντες που επηρεάζουν την εγκατάσταση εγκυμοσύνης μετά από συντηρητική θεραπεία (Inoue et al., 2016). Λόγω της έλλειψης ασφαλών και αποτελεσματικών στρατηγικών επιδιόρθωσης του ενδομήτριου, οι μέτριες ή σοβαρές ενδομήτριες συμφύσεις ή το λεπτό ενδομήτριο δεν μπορούν να υποστηρίξουν αποτελεσματικά την εμφύτευση εμβρύου. Η τρέχουσα κλινική θεραπεία της υπογονιμότητας που προκαλείται από βλάβη του ενδομήτριου είναι η θεραπεία με υψηλές δόσεις οιστρογόνων (Evans et al., 2016). Ωστόσο, αυτό το σχέδιο θεραπείας μπορεί να προκαλέσει την επανεμφάνιση του καρκίνου του ενδομήτριου ενώ επισκευάζει το ενδομήτριο. Ως εκ τούτου, υπάρχει επείγουσα ανάγκη να αναπτυχθούν ασφαλείς και αποτελεσματικές τεχνικές για την επιτυχή

αποκατάσταση του κατεστραμμένου ενδομήτριου και τη βελτίωση των αναπαραγωγικών αποτελεσμάτων χωρίς να προκληθεί επανεμφάνιση του καρκίνου.

Βιβλιογραφία

Adewumi, O., Aflatoonian, B., Ahrlund-Richter, L., et al. (2007). Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative. *Nature Biotechnology,* 25 (7), 803–816.

Alawadhi, F., Du, H., Cakmak, H., & Taylor, H. S. (2014). Bone marrow-derived stem cell (BMDSC) transplantation improves fertility in a murine model of Asherman's syndrome. *PLoS One*, 9, e96662.

Altmäe, S., Koel, M., Võsa, U., et al. (2017). Meta-signature of human endometrial receptivity: a meta-analysis and validation study of transcriptomic biomarkers. *Scientific Reports*, 7(1), 10077.

Alvergne, A., & Högqvist Tabor, V. (2018). Is Female Health Cyclical? Evolutionary Perspectives on Menstruation. *Trends in Ecology & Evolution*, 33(6), 399–414.

Atala, A., & Lanza, R. (2012). *Handbook of Stem Cells.* USA: Academic Press.

Augello, A., Tasso, R., Negrini, S.M., et al. (2007). Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 56 (4), 1175–1186.

Awong, G., Herer, E., Surh, C. D., Dick, J. E., La Motte-Mohs, R. N., & Zúñiga-Pflücker, J. C. (2009). Characterization in vitro and engraftment potential in vivo of human progenitor T cells generated from hematopoietic stem cells. *Blood*, 114(5), 972–982.

Barker, N., Ridgway, R.A., van Es, J.H., et al. (2009). Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer. *Nature*, 457 (7229), 608–611.

Beachy, P.A., Karhadkar, S.S., & Berman, D.M. (2004). Tissue repair and stem cell renewal in carcinogenesis. *Nature*, 432 (7015), 324–331.

Beattie, R., & Hippenmeyer, S. (2017). Mechanisms of radial glia progenitor cell lineage progression. *FEBS Letters*, 591 (24), 3993–4008.

Behrens, A., van Deursen, J.M., Rudolph, K.L., & Schumacher, B. (2014). Impact of genomic damage and ageing on stem cell function. *Nature Cell Biology*, 16 (3), 201–207.

Birbrair, A., & Frenette, P.S. (2016). Niche heterogeneity in the bone marrow. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1370 (1), 82–96.

Boyer, L.A., Lee, T.I., Cole, M.F., et al. (2005). Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell*, 122 (6), 947–956.

Burova, E., Borodkina, A., Shatrova, A., & Nikolsky, N. (2013). Sublethal oxidative stress induces the premature senescence of human mesenchymal stem cells derived from endometrium. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 474931.

Bydon, M., Dietz, A. B., Goncalves, S., Moinuddin, F. M., Alvi, M. A., Goyal, A., Yolcu, Y., Hunt, C. L., Garlanger, K. L., Del Fabro, A. S., Reeves, R. K., Terzic, A., Windebank, A. J., & Qu, W. (2020). CELLTOP clinical trial: First report from a phase 1 trial of autologous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in the treatment of paralysis due to traumatic spinal cord injury. *Mayo Clinic Proceedings*, 95, 406–414.

Cao, Y., Sun, H., Zhu, H., Zhu, X., Tang, X., Yan, G., Wang, J., Bai, D., Wang, J., Wang, L., Zhou, Q., Wang, H., Dai, C., Ding, L., Xu, B., Zhou, Y., Hao, J., Dai, J., & Hu, Y. (2018). Allogeneic cell therapy using umbilical cord MSCs on collagen scaffolds for patients with recurrent uterine adhesion: A phase I clinical trial. *Stem Cell Research & Therapy*, 9, 192.

Cervelló, I., Gil-Sanchis, C., Mas, A., Delgado-Rosas, F., Martínez-Conejero, J. A., Galán, A., Martínez-Romero, A., Martínez, S., Navarro, I., Ferro, J., Horcajadas, J. A., Esteban, F. J., O'Connor, J. E., Pellicer, A., & Simón, C. (2010). Human endometrial side population cells exhibit genotypic, phenotypic and functional features of somatic stem cells. *PloS One*, 5(6), e10964.

Cervello, I., Gil-Sanchis, C., Santamaria, X., Cabanillas, S., Diaz, A., Faus, A., Pellicer, A., & Simon, C. (2015). Human CD133(+) bone marrow-derived stem cells promote endometrial proliferation in a murine model of Asherman syndrome. *Fertility and Sterility*, 104, 1552–1560.

Cervelló, I., Mas, A., Gil-Sanchis, C., Peris, L., Faus, A., Saunders, P. T., Critchley, H. O., & Simón, C. (2011). Reconstruction of endometrium from human endometrial side population cell lines. *PloS One*, 6(6), e21221.

Chagastelles, P. C., & Nardi, N. B. (2011). Biology of stem cells: an overview. *Kidney International Supplements*, 1(3), 63–67.

Chan, R. W., Schwab, K. E., & Gargett, C. E. (2004). Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. *Biology of Reproduction*, 70(6), 1738–1750.

Chan, R. W., Schwab, K. E., & Gargett, C. E. (2004). Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. *Biology of Reproduction*, 70(6), 1738–1750.

Chen, L., Qu, J., Cheng, T., Chen, X., & Xiang, C. (2019). Menstrual blood-derived stem cells: Toward therapeutic mechanisms, novel strategies, and future perspectives in the treatment of diseases. *Stem Cell Research & Therapy*, 10, 406.

Chen, X., Sun, J., Li, X., Mao, L., Cui, L., & Bai, W. (2019). Transplantation of oral mucosal epithelial cells seeded on decellularized and lyophilized amniotic membrane for the regeneration of injured endometrium. *Stem Cell Research & Therapy*, 10, 107.

Cho, A., Park, S. R., Kim, S. R., Nam, S., Lim, S., Park, C. H., Lee, H. Y., & Hong, I. S. (2019). An endogenous anti-aging factor, sonic hedgehog, suppresses endometrial stem cell aging through SERPINB2. *Molecular Therapy*, 27, 1286–1298.

Chu, Y., Wang, Y., Peng, W., Xu, L., Liu, M., Li, J., Hu, X., Li, Y., Zuo, J., & Ye, Y. (2018). STAT3 activation by IL-6 from adipose-derived stem cells promotes endometrial carcinoma proliferation and metastasis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 500, 626–631.

Coughlin, R.P., Oldweiler, A., Mickelson, D.T., & Moorman, C.T. (2017). Adipose-Derived Stem Cell Transplant Technique for Degenerative Joint Disease. *Arthroscopy Techniques*, 6 (5), 1761–1766.

Cousins, F.L., Filby, C.E., & Gargett, C.E. (2022). Endometrial Stem/Progenitor Cells–Their Role in Endometrial Repair and Regeneration. *Frontiers in Reproductive Health*, https://doi.org/10.3389/frph.2021.811537.

Critchley, H., Maybin, J. A., Armstrong, G. M., & Williams, A. (2020). Physiology of the Endometrium and Regulation of Menstruation. *Physiological Reviews*, 100(3), 1149–1179.

Darzi, S., Werkmeister, J. A., Deane, J. A., & Gargett, C. E. (2016). Identification and characterization of human endometrial mesenchymal stem/stromal cells and their potential for cellular therapy. *Stem Cells Translational Medicine*, 5, 1127–1132.

de Magalhaes, J. P., & Passos, J. F. (2018). Stress, cell senescence and organismal ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, 170, 2–9.

de Rooij, D.G. (2009). The spermatogonial stem cell niche. *Microscopy Research and Technique*, 72 (8), 580–585.

Detti, L., Saed, G. M., Fletcher, N. M., Kruger, M. L., Brossoit, M., & Diamond, M. P. (2011). Endometrial morphology and modulation of hormone receptors during ovarian stimulation for assisted reproductive technology cycles. *Fertility and Sterility*, 95(3), 1037–1041.

Dimitrov, R., Timeva, T., Kyurkchiev, D., Stamenova, M., Shterev, A., Kostova, P., Zlatkov, V., Kehayov, I., & Kyurkchiev, S. (2008). Characterization of clonogenic stromal cells isolated from human endometrium. *Reproduction*, 135(4), 551–558.

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A., Prockop, D., & Horwitz, E. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315–317.

Domnina, A., Novikova, P., Obidina, J., Fridlyanskaya, I., Alekseenko, L., Kozhukharova, I., Lyublinskaya, O., Zenin, V., & Nikolsky, N. (2018). Human mesenchymal stem cells in spheroids improve fertility in model animals with damaged endometrium. *Stem Cell Research & Therapy*, 9, 50.

Dontu, G., Jackson, K.W., McNicholas, E., et al. (2004). Role of Notch signaling in cell-fate determination of human mammary stem/progenitor cells. *Breast Cancer Research*, 6 (6), 605-615.

Du, H., Naqvi, H., & Taylor, H. S. (2012). Ischemia/reperfusion injury promotes and granulocyte-colony stimulating factor inhibits migration of bone marrow-derived stem cells to endometrium. *Stem Cells and Development*, 21, 3324–3331.

Ebrahimi-Barough, S., Hoveizi, E., Yazdankhah, M., Ai, J., Khakbiz, M., Faghihi, F., Tajerian, R., & Bayat, N. (2017). Inhibitor of PI3K/Akt signaling pathway small molecule promotes motor neuron differentiation of human endometrial stem cells cultured on electrospun biocomposite polycaprolactone/collagen scaffolds. *Molecular Neurobiology*, 54, 2547–2554.

Elsheikh, E., Sylvén, C., Ericzon, B. G., Palmblad, J., & Mints, M. (2011). Cyclic variability of stromal cell-derived factor-1 and endothelial progenitor cells during the menstrual cycle. *International Journal of Molecular Medicine*, 27(2), 221–226.

Emera, D., Romero, R., & Wagner, G. (2012). The evolution of menstruation: a new model for genetic assimilation: explaining molecular origins of maternal responses to fetal invasiveness. *BioEssays*, 34(1), 26–35.

Evans, J., & Salamonsen, L. A. (2014). Decidualized human endometrial stromal cells are sensors of hormone withdrawal in the menstrual inflammatory cascade. *Biology of Reproduction*, 90, 14.

Evans, J., D'Sylva, R., Volpert, M., Jamsai, D., Merriner, D. J., Nie, G., Salamonsen, L. A., & O'Bryan, M. K. (2015). Endometrial CRISP3 is regulated throughout the mouse estrous and human menstrual cycle and facilitates adhesion and proliferation of endometrial epithelial cells. *Biology of Reproduction*, 92, 99.

Evans, J., Salamonsen, L. A., Winship, A., Menkhorst, E., Nie, G., Gargett, C. E., & Dimitriadis, E. (2016). Fertile ground: Human endometrial programming and lessons in health and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, 12, 654–667.

Gao, Y., Wu, G., Xu, Y., Zhao, D., & Zheng, L. (2021). Stem Cell-Based Therapy for Asherman Syndrome: Promises and Challenges. *Cell Transplantation*, 30, 1-13.

Garcia-Alonso, L., Handfield, L. F., Roberts, K., et al. (2021). Mapping the temporal and spatial dynamics of the human endometrium in vivo and in vitro. *Nature Genetics*, 53(12), 1698–1711.

Gardner, R.L. (2002). Stem cells: potency, plasticity and public perception. *Journal of Anatomy*, 200 (3), 277–282.

Gargett, C. E. (2007). Uterine stem cells: what is the evidence? *Human Reproduction Update*, 13(1), 87–101.

Gargett, C. E. (2007). Uterine stem cells: what is the evidence? *Human Reproduction Update*, 13(1), 87–101.

Gargett, C. E., & Masuda, H. (2010). Adult stem cells in the endometrium. *Molecular Human Reproduction*, 16(11), 818–834.

Gargett, C. E., & Masuda, H. (2010). Adult stem cells in the endometrium. *Molecular Human Reproduction*, 16(11), 818–834.

Gargett, C. E., & Ye, L. (2012). Endometrial reconstruction from stem cells. *Fertility and Sterility*, 98(1), 11–20.

Gargett, C. E., & Ye, L. (2012). Endometrial reconstruction from stem cells. *Fertility and Sterility*, 98(1), 11–20.

Gargett, C. E., Schwab, K. E., & Deane, J. A. (2016). Endometrial stem/progenitor cells: The first 10 years. *Human Reproduction Update*, 22, 137–163.

Gargett, C. E., Schwab, K. E., Zillwood, R. M., Nguyen, H. P., & Wu, D. (2009). Isolation and culture of epithelial progenitors and mesenchymal stem cells from human endometrium. *Biology of Reproduction*, 80(6), 1136–1145.

Garry, R., Hart, R., Karthigasu, K. A., & Burke, C. (2009). A re-appraisal of the morphological changes within the endometrium during menstruation: A hysteroscopic, histological and scanning electron microscopic study. *Human Reproduction*, 24, 1393–1401.

Garry, R., Hart, R., Karthigasu, K. A., & Burke, C. (2010). Structural changes in endometrial basal glands during menstruation. *International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 117(10), 1175–1185.

Ghobadi, F., Mehrabani, D., & Mehrabani, G. (2015). Regenerative potential of endometrial stem cells: a mini review. *World Journal of Plastic Surgery*, 4(1), 3–8.

Gibson, D. A., Simitsidellis, I., Collins, F., & Saunders, P. (2018). Endometrial Intracrinology: Oestrogens, Androgens and Endometrial Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3276.

Gil-Sanchis, C., Cervello, I., Khurana, S., Faus, A., Verfaillie, C., & Simon, C. (2015). Contribution of different bone marrow-derived cell types in endometrial regeneration using an irradiated murine model. *Fertility and Sterility*, 103, 1596–1605.

Gil-Sanchis, C., Cervelló, I., Mas, A., Faus, A., Pellicer, A., & Simón, C. (2013). Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 5 (Lgr5) as a putative human endometrial stem cell marker. *Molecular Human Reproduction*, 19(7), 407–414.

Gunderson, C. C., Fader, A. N., Carson, K. A., & Bristow, R. E. (2012). Oncologic and reproductive outcomes with progestin therapy in women with endometrial hyperplasia and grade 1 adenocarcinoma: A systematic review. *Gynecologic Oncology*, 125, 477–482.

Guo, Y., Hai, Y., Gong, Y., Li, Z., & He, Z. (2013). Characterization, Isolation, and Culture of Mouse and Human Spermatogonial Stem Cells. *Journal of Cellular Physiology*, 229 (4), 407–413.

Han, X., Meng, X., Yin, Z., Rogers, A., Zhong, J., Rillema, P., Jackson, J. A., Ichim, T. E., Minev, B., Carrier, E., Patel, A. N., Murphy, M. P., Min, W. P., & Riordan, N. H. (2009). Inhibition of intracranial glioma growth by endometrial regenerative cells. *Cell Cycle*, 8(4), 606–610.

He, Q., Wan, C., & Li, G. (2007). Concise review: multipotent mesenchymal stromal cells in blood. *Stem Cells*, 25(1), 69–77.

Hockemeyer, D., & Jaenisch, R. (2016). Induced Pluripotent Stem Cells Meet Genome Editing. *Cell Stem Cell*, 18 (5), 573–586.

Huang, C. C., Orvis, G. D., Wang, Y., & Behringer, R. R. (2012). Stromal-to-epithelial transition during postpartum endometrial regeneration. *PloS One*, 7(8), e44285.

Ikoma, T., Kyo, S., Maida, Y., Ozaki, S., Takakura, M., Nakao, S., & Inoue, M. (2009). Bone marrow-derived cells from male donors can compose endometrial glands in female transplant recipients. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 201, 601–608.

Inoue, O., Hamatani, T., Susumu, N., Yamagami, W., Ogawa, S., Takemoto, T., Hirasawa, A., Banno, K., Kuji, N., Tanaka, M., & Aoki, D. (2016). Factors affecting pregnancy outcomes in young women treated with fertility-preserving therapy for well-differentiated endometrial cancer or atypical endometrial hyperplasia. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14, 2.

Ishikawa, M., Nakayama, K., Yeasmin, S., Katagiri, A., Iida, K., Nakayama, N., & Miyazaki, K. (2010). NAC1, a potential stem cell pluripotency factor expression in normal endometrium, endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma. *International Journal of Oncology*, 36(5), 1097–1103.

Janzen, D. M., Cheng, D., Schafenacker, A. M., Paik, D. Y., Goldstein, A. S., Witte, O. N., Jaroszewicz, A., Pellegrini, M., & Memarzadeh, S. (2013). Estrogen and progesterone together expand murine endometrial epithelial progenitor cells. *Stem Cells*, 31, 808–822.

Kim, C. M., Oh, Y. J., Cho, S. H., Chung, D. J., Hwang, J. Y., Park, K. H., Cho, D. J., Choi, Y. M., & Lee, B. S. (2007). Increased telomerase activity and human telomerase reverse transcriptase mRNA expression in the endometrium of patients with endometriosis. *Human Reproduction*, 22(3), 843–849.

Kurita, T. (2011). Normal and abnormal epithelial differentiation in the female reproductive tract. *Differentiation*, 82(3), 117–126.

Kuroda, Y., Kitada, M., Wakao, S., et al. (2010). Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107 (19), 8639–8643.

Li, Z., Yan, G., Diao, Q., Yu, F., Li, X., Sheng, X., Liu, Y., Dai, Y., Zhou, H., Zhen, X., Hu, Y., Péault, B., Ding, L., Sun, H., & Li, H. (2019). Transplantation of human endometrial perivascular cells with elevated CYR61 expression induces angiogenesis

and promotes repair of a full-thickness uterine injury in rat. *Stem Cell Research & Therapy*, 10, 179.

Liu, S., Dontu, G., & Wicha, M.S. (2005). Mammary stem cells, self-renewal pathways, and carcinogenesis. *Breast Cancer Research*, 7 (3), 86–95.

Liu, Y., Tal, R., Pluchino, N., Mamillapalli, R., & Taylor, H. S. (2018). Systemic administration of bone marrow-derived cells leads to better uterine engraftment than use of uterine-derived cells or local injection. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22, 67–76.

Lo, B., & Parham, L. (2009). Ethical Issues in Stem Cell Research. *Endocrine Reviews*, 30 (3), 204–213.

Luo, M., Ling, T., Xie, W., et al. (2013). NuRD blocks reprogramming of mouse somatic cells into pluripotent stem cells. *Stem Cells*, 31 (7), 1278–1286.

Lv, H., Hu, Y., Cui, Z., & Jia, H. (2018). Human menstrual blood: A renewable and sustainable source of stem cells for regenerative medicine. *Stem Cell Research & Therapy*, 9, 325.

Lv, Q., Wang, L., Luo, X., & Chen, X. (2021). Adult stem cells in endometrial regeneration: Molecular insights and clinical applications. *Molecular Reproduction and Development*, 88(6), 379–394.

Lynch, L., Golden-Mason, L., Eogan, M., O'Herlihy, C., & O'Farrelly, C. (2007). Cells with haematopoietic stem cell phenotype in adult human endometrium: relevance to infertility? *Human Reproduction*, 22(4), 919–926.

Mahajan, N., & Sharma, S. (2016). The endometrium in assisted reproductive technology: How thin is thin? *Journal of Human Reproductive Sciences*, 9(1), 3–8.

Mahla, R.S. (2016). Stem Cells Applications in Regenerative Medicine and Disease Therapeutics. *International Journal of Cell Biology*, 2016, 6940283.

Marinaro, F., Gomez-Serrano, M., Jorge, I., Silla-Castro, J. C., Vazquez, J., Sanchez-Margallo, F. M., Blazquez, R., Lopez, E., Alvarez, V., & Casado, J. G. (2019). Unraveling the molecular signature of extracellular vesicles from endometrial-derived

mesenchymal stem cells: Potential modulatory effects and therapeutic applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 431.

Masuda, H., Anwar, S. S., Bühring, H. J., Rao, J. R., & Gargett, C. E. (2012). A novel marker of human endometrial mesenchymal stem-like cells. *Cell Transplantation*, 21(10), 2201–2214.

Masuda, H., Anwar, S. S., Bühring, H. J., Rao, J. R., & Gargett, C. E. (2012). A novel marker of human endometrial mesenchymal stem-like cells. *Cell Transplantation*, 21(10), 2201–2214.

Masuda, H., Maruyama, T., Hiratsu, E., Yamane, J., Iwanami, A., Nagashima, T., Ono, M., Miyoshi, H., Okano, H. J., Ito, M., Tamaoki, N., Nomura, T., Okano, H., Matsuzaki, Y., & Yoshimura, Y. (2007). Noninvasive and real-time assessment of reconstructed functional human endometrium in NOD/SCID/gamma c(null) immunodeficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(6), 1925–1930.

Masuda, H., Matsuzaki, Y., Hiratsu, E., Ono, M., Nagashima, T., Kajitani, T., Arase, T., Oda, H., Uchida, H., Asada, H., Ito, M., Yoshimura, Y., Maruyama, T., & Okano, H. (2010). Stem cell-like properties of the endometrial side population: implication in endometrial regeneration. *PloS One*, 5(4), e10387.

Meng, X., Ichim, T. E., Zhong, J., Rogers, A., Yin, Z., Jackson, J., Wang, H., Ge, W., Bogin, V., Chan, K. W., Thébaud, B., & Riordan, N. H. (2007). Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *Journal of Translational Medicine*, 5, 57.

Miyazaki, K., Maruyama, T., Masuda, H., Yamasaki, A., Uchida, S., Oda, H., Uchida, H., & Yoshimura, Y. (2012). Stem cell-like differentiation potentials of endometrial side population cells as revealed by a newly developed in vivo endometrial stem cell assay. *PLoS One*, 7, e50749.

Morelli, S. S., Rameshwar, P., & Goldsmith, L. T. (2013). Experimental evidence for bone marrow as a source of nonhematopoietic endometrial stromal and epithelial compartment cells in a murine model. *Biology of Reproduction*, 89, 7.

Morice, P., Leary, A., Creutzberg, C., Abu-Rustum, N., & Darai, E. (2016). Endometrial cancer. *The Lancet*, 387(10023), 1094-1108.

Murakami, K., Lee, Y. H., Lucas, E. S., Chan, Y. W., Durairaj, R. P., Takeda, S., Moore, J. D., Tan, B. K., Quenby, S., Chan, J. K., Gargett, C. E., & Brosens, J. J. (2014). Decidualization induces a secretome switch in perivascular niche cells of the human endometrium. *Endocrinology*, 155, 4542–4553.

Murrell, W., Féron, F., Wetzig, A., et al. (2005). Multipotent stem cells from adult olfactory mucosa. *Developmental Dynamics*, 233 (2), 496–515.

Nguyen, H. P., Sprung, C. N., & Gargett, C. E. (2012). Differential expression of Wnt signaling molecules between pre- and postmenopausal endometrial epithelial cells suggests a population of putative epithelial stem/progenitor cells reside in the basalis layer. *Endocrinology*, 153, 2870–2883.

Nguyen, H., Xiao, L., Deane, J. A., Tan, K. S., Cousins, F. L., Masuda, H., Sprung, C. N., Rosamilia, A., & Gargett, C. E. (2017). N-cadherin identifies human endometrial epithelial progenitor cells by in vitro stem cell assays. *Human Reproduction*, 32, 2254–2268.

Okada, H., Tsuzuki, T., & Murata, H. (2018). Decidualization of the human endometrium. *Reproductive Medicine and Biology*, 17(3), 220–227.

Oliveira, P.H., da Silva, C.L., & Cabral, J.M. (2014). Genomic Instability in Human Stem Cells: Current Status and Future Challenges. *Stem Cells*, 32 (11), 2824–2832.

Ong, Y. R., Cousins, F. L., Yang, X., Mushafi, A., Breault, D. T., Gargett, C. E., & Deane, J. A. (2018). Bone marrow stem cells do not contribute to endometrial cell lineages in chimeric mouse models. *Stem Cells*, 36, 91–102.

Owusu-Akyaw, A., Krishnamoorthy, K., Goldsmith, L. T., & Morelli, S. S. (2019). The role of mesenchymal-epithelial transition in endometrial function. *Human Reproduction Update*, 25, 114–133.

Parasar, P., Ozcan, P., & Terry, K. L. (2017). Endometriosis: Epidemiology, Diagnosis and Clinical Management. *Current Obstetrics and Gynecology Reports*, 6(1), 34–41.

Park, J. H., Daheron, L., Kantarci, S., Lee, B. S., & Teixeira, J. M. (2011). Human endometrial cells express elevated levels of pluripotent factors and are more amenable to reprogramming into induced pluripotent stem cells. *Endocrinology*, 152(3), 1080–1089.

Paspala, S., Murthy, T., Mahaboob, V., & Habeeb, M (2011). Pluripotent stem cells – A review of the current status in neural regeneration. *Neurology India*, 59 (4), 558–565.

Patel, A. N., Park, E., Kuzman, M., Benetti, F., Silva, F. J., & Allickson, J. G. (2008). Multipotent menstrual blood stromal stem cells: isolation, characterization, and differentiation. *Cell Transplantation*, 17(3), 303–311.

Patterson, A. L., Zhang, L., Arango, N. A., Teixeira, J., & Pru, J. K. (2013). Mesenchymal-to-epithelial transition contributes to endometrial regeneration following natural and artificial decidualization. *Stem Cells and Development*, 22(6), 964–974.

Peron, J. P., Jazedje, T., Brandão, W. N., Perin, P. M., Maluf, M., Evangelista, L. P., Halpern, S., Nisenbaum, M. G., Czeresnia, C. E., Zatz, M., Câmara, N. O., & Rizzo, L. V. (2012). Human endometrial-derived mesenchymal stem cells suppress inflammation in the central nervous system of EAE mice. *Stem Cell Reviews and Reports*, 8(3), 940–952.

Phillips, B.T., Gassei, K., & Orwig, K.E. (2010). Spermatogonial stem cell regulation and spermatogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Series B, Biological Sciences*, 365 (1546), 1663–1678.

Phinney, D.G., & Prockop, D.J. (2007). Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair--current views. *Stem Cells*, 25 (11), 2896–2902.

Pisati, F., Belicchi, M., Acerbi, F., Marchesi, C., Giussani, C., Gavina, M., Javerzat, S., Hagedorn, M., Carrabba, G., Lucini, V., Gaini, S. M., Bresolin, N., Bello, L., Bikfalvi, A., & Torrente, Y. (2007). Effect of human skin-derived stem cells on vessel architecture, tumor growth, and tumor invasion in brain tumor animal models. *Cancer Research*, 67(7), 3054–3063.

Qiao, L., Xu, Z. L., Zhao, T. J., Ye, L. H., & Zhang, X. D. (2008). Dkk-1 secreted by mesenchymal stem cells inhibits growth of breast cancer cells via depression of Wnt signalling. *Cancer Letters*, 269(1), 67–77.

Rakic, P. (2009). Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology. Nature Reviews. *Neuroscience,* 10 (10), 724–735.

Ratajczak, M.Z., Machalinski, B., Wojakowski, W., et al. (2007). A hypothesis for an embryonic origin of pluripotent Oct-4(+) stem cells in adult bone marrow and other tissues. *Leukemia*, 21 (5), 860–867.

Robb, A. O., Mills, N. L., Smith, I. B., Short, A., Tura-Ceide, O., Barclay, G. R., Blomberg, A., Critchley, H. O., Newby, D. E., & Denison, F. C. (2009). Influence of menstrual cycle on circulating endothelial progenitor cells. *Human Reproduction*, 24(3), 619–625.

Sakaguchi, M., & Okano, H (2012). Neural stem cells, adult neurogenesis, and galectin-1: From bench to bedside. *Developmental Neurobiology*, 72 (7), 1059–1067.

Sakaki-Yumoto, M., Katsuno, Y., & Derynck, R. (2013). TGF-β family signaling in stem cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1830 (2), 2280–2296.

Salma, U., Xue, M., Ali, S. M., Guan, X., Xu, B., Zhang, A., Huang, L., & Xu, D. (2016). Role of transforming growth factor-beta1 and Smads signaling pathway in intrauterine adhesion. *Mediators of Inflammation*, 2016, 4158287.

Sanderson, P. A., Critchley, H. O., Williams, A. R., Arends, M. J., & Saunders, P. T. (2017). New concepts for an old problem: the diagnosis of endometrial hyperplasia. *Human Reproduction Update*, 23(2), 232–254.

Santamaria, X., Mas, A., Cervello, I., Taylor, H., & Simon, C. (2018). Uterine stem cells: From basic research to advanced cell therapies. *Human Reproduction Update*, 24, 673–693.

Santamaria, X., Massasa, E. E., Feng, Y., Wolff, E., & Taylor, H. S. (2011). Derivation of insulin producing cells from human endometrial stromal stem cells and use in the treatment of murine diabetes. *Molecular Therapy*, 19(11), 2065–2071.

Schüring, A. N., Schulte, N., Kelsch, R., Röpke, A., Kiesel, L., & Götte, M. (2011). Characterization of endometrial mesenchymal stem-like cells obtained by endometrial biopsy during routine diagnostics. *Fertility and Sterility*, 95(1), 423–426.

Schwab, K. E., & Gargett, C. E. (2007). Co-expression of two perivascular cell markers isolates mesenchymal stem-like cells from human endometrium. *Human Reproduction*, 22(11), 2903–2911.

Schwab, K. E., Hutchinson, P., & Gargett, C. E. (2008). Identification of surface markers for prospective isolation of human endometrial stromal colony-forming cells. *Human Reproduction*, 23, 934–943.

Schwartz, S. D., Hubschman, J. P., Heilwell, G., Franco-Cardenas, V., Pan, C. K., Ostrick, R. M., Mickunas, E., Gay, R., Klimanskaya, I., & Lanza, R. (2012). Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *Lancet*, 379(9817), 713–720.

Selvaraj, V., Plane, J.M., Williams, A.J., & Deng, W. (2010). Switching cell fate: the remarkable rise of induced pluripotent stem cells and lineage reprogramming technologies. *Trends in Biotechnology*, 28 (4), 214–223.

Siddique, A., Shantsila, E., Lip, G., & Varma, C. (2010). Endothelial progenitor cells: what use for the cardiologist? *Journal of Angiogenesis Research*, 2 (6), 6.

Sieber-Blum, M., & Hu, Y. (2008). Epidermal neural crest stem cells (EPI-NCSC) and pluripotency. *Stem Cell Reviews*, 4 (4), 256–260.

Smikle, C., Yarrarapu, S.C., & Khetarpal, S. (2018). *Asherman Syndrome*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.

Sobiesiak, M., Sivasubramaniyan, K., Hermann, C., Tan, C., Orgel, M., Treml, S., Cerabona, F., de Zwart, P., Ochs, U., Müller, C. A., Gargett, C. E., Kalbacher, H., & Bühring, H. J. (2010). The mesenchymal stem cell antigen MSCA-1 is identical to tissue non-specific alkaline phosphatase. *Stem Cells and Development*, 19(5), 669–677.

Spitzer, T. L., Rojas, A., Zelenko, Z., Aghajanova, L., Erikson, D. W., Barragan, F., Meyer, M., Tamaresis, J. S., Hamilton, A. E., Irwin, J. C., & Giudice, L. C. (2012). Perivascular human endometrial mesenchymal stem cells express pathways relevant

to self-renewal, lineage specification, and functional phenotype. *Biology of Reproduction*, 86(2), 58.

Spitzer, T. L., Rojas, A., Zelenko, Z., Aghajanova, L., Erikson, D. W., Barragan, F., Meyer, M., Tamaresis, J. S., Hamilton, A. E., Irwin, J. C., & Giudice, L. C. (2012). Perivascular human endometrial mesenchymal stem cells express pathways relevant to self-renewal, lineage specification, and functional phenotype. *Biology of Reproduction*, 86, 58.

Struble, J., Reid, S., & Bedaiwy, M.A. (2016). Adenomyosis: A Clinical Review of a Challenging Gynecologic Condition. *Journal of Minimally Invasive Gynecology*, 23 (2), 164–185.

Subramaniam, K. S., Tham, S. T., Mohamed, Z., Woo, Y. L., Mat, A. N., & Chung, I. (2013). Cancer-associated fibroblasts promote proliferation of endometrial cancer cells. *PLoS On*e, 8, e68923.

Syed, S. M., Kumar, M., Ghosh, A., Tomasetig, F., Ali, A., Whan, R. M., Alterman, D., & Tanwar, P. S. (2020). Endometrial Axin2(+) cells drive epithelial homeostasis, regeneration, and cancer following oncogenic transformation. *Cell Stem Cell*, 26, 64–80.

Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126 (4), 663–676.

Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131(5), 861–872.

Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131(5), 861–872.

Tal, R., Shaikh, S., Pallavi, P., Tal, A., López-Giráldez, F., Lyu, F., Fang, Y. Y., Chinchanikar, S., Liu, Y., Kliman, H. J., Alderman, M., Pluchino, N., Kayani, J., Mamillapalli, R., Krause, D. S., & Taylor, H. S. (2019). Adult bone marrow

progenitors become decidual cells and contribute to embryo implantation and pregnancy. *PLoS Biology*, 17, e3000421.

Tan, J., Li, P., Wang, Q., Li, Y., Li, X., Zhao, D., Xu, X., & Kong, L. (2016). Autologous menstrual blood-derived stromal cells transplantation for severe Asherman's syndrome. *Human Reproduction*, 31, 2723–2729.

Taylor, H. S. (2004). Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. *Journal of the American Medical Association*, 292, 81–85.

Tersoglio, A. E., Tersoglio, S., Salatino, D. R., Castro, M., Gonzalez, A., Hinojosa, M., & Castellano, O. (2020). Regenerative therapy by endometrial mesenchymal stem cells in thin endometrium with repeated implantation failure. A novel strategy. *JBRA Assisted Reproduction*, 24, 118–127.

Tewary, S., Lucas, E. S., Fujihara, R., Kimani, P. K., Polanco, A., Brighton, P. J., Muter, J., Fishwick, K. J., Da Costa, M., Ewington, L. J., Lacey, L., Takeda, S., Brosens, J. J., & Quenby, S. (2020). Impact of sitagliptin on endometrial mesenchymal stem-like progenitor cells: A randomised, double-blind placebo-controlled feasibility trial. *EBioMedicine*, 51, 102597.

Ugwumadu, A. (2014). *Basic Sciences for Obstetrics and Gynaecology: Core Material for MRCOG.* Oxford: Oxford University Press.

Uhlén, M., Fagerberg, L., Hallström, B. M., et al. (2015). Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*, 347(6220), 1260419.

Ulrich, D., Tan, K. S., Deane, J., Schwab, K., Cheong, A., Rosamilia, A., & Gargett, C. E. (2014). Mesenchymal stem/stromal cells in post-menopausal endometrium. *Human Reproduction*, 29, 1895–1905.

Valentijn, A. J., Palial, K., Al-Lamee, H., Tempest, N., Drury, J., Von Zglinicki, T., Saretzki, G., Murray, P., Gargett, C. E., & Hapangama, D. K. (2013). SSEA-1 isolates human endometrial basal glandular epithelial cells: Phenotypic and functional characterization and implications in the pathogenesis of endometriosis. *Human Reproduction*, 28, 2695–2708.

Vassilieva, I., Kosheverova, V., Vitte, M., Kamentseva, R., Shatrova, A., Tsupkina, N., Skvortsova, E., Borodkina, A., Tolkunova, E., Nikolsky, N., & Burova, E. (2020).

Paracrine senescence of human endometrial mesenchymal stem cells: a role for the insulin-like growth factor binding protein 3. *Aging*, 12, 1987–2004.

Verdi, J., Tan, A., Shoae-Hassani, A., & Seifalian, A.M. (2014). Endometrial stem cells in regenerative medicine. *Journal of Biological Engineering*, 8, 20.

Waghmare, I., & Page-McCaw, A. (2018). Wnt signaling in stem cell maintenance and differentiation in the Drosophila germarium. *Genes*, 9, 1-12.

Wang, J., Rao, S., Chu, J., Shen, X., Levasseur, D. N., Theunissen, T. W., & Orkin, S. H. (2006). A protein interaction network for pluripotency of embryonic stem cells. *Nature*, 444(7117), 364–368.

Wingerd, B. (2014). *The Human Body: Concepts of Anatomy and Physiology* (3rd edition). USA: Jones & Bartlett Learning.

Xia, L., Meng, Q., Xi, J., Han, Q., Cheng, J., Shen, J., Xia, Y., & Shi, L. (2019). The synergistic effect of electroacupuncture and bone mesenchymal stem cell transplantation on repairing thin endometrial injury in rats. *Stem Cell Research & Therapy*, 10, 244.

Xin, L., Lin, X., Pan, Y., Zheng, X., Shi, L., Zhang, Y., Ma, L., Gao, C., & Zhang, S. (2019). A collagen scaffold loaded with human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells facilitates endometrial regeneration and restores fertility. *Acta Biomaterialia*, 92, 160–171.

Yamaguchi, M., Yoshihara, K., Suda, K., et al. (2021). Three-dimensional understanding of the morphological complexity of the human uterine endometrium. *iScience*, 24(4), 102258.

Yao, Y., Chen, R., Wang, G., Zhang, Y., & Liu, F. (2019). Exosomes derived from mesenchymal stem cells reverse EMT via TGF-beta1/Smad pathway and promote repair of damaged endometrium. *Stem Cell Research & Therapy*, 10, 225.

Ye, L., Evans, J., & Gargett, C. E. (2012). Lim1/LIM1 is expressed in developing and adult mouse and human endometrium. *Histochemistry and Cell Biology*, 137(4), 527–536.

Ye, L., Mayberry, R., Lo, C. Y., Britt, K. L., Stanley, E. G., Elefanty, A. G., & Gargett, C. E. (2011). Generation of human female reproductive tract epithelium from human embryonic stem cells. *PloS One*, 6(6), e21136.

Yi, K. W., Mamillapalli, R., Sahin, C., Song, J., Tal, R., & Taylor, H. S. (2019). Bone marrow-derived cells or C-X-C motif chemokine 12 (CXCL12) treatment improve thin endometrium in a mouse model. *Biology of Reproduction*, 100, 61–70.

Ying, Q.L., Wray, J., Nichols, J., et al. (2008). The ground state of embryonic stem cell self-renewal. *Nature*, 453 (7194), 519–523.

Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M. et al. (2019). Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Research & Therapy*, 10, 68.

Zhang, Y., Lin, X., Dai, Y., Hu, X., Zhu, H., Jiang, Y., & Zhang, S. (2016). Endometrial stem cells repair injured endometrium and induce angiogenesis via AKT and ERK pathways. *Reproduction*, 152, 389–402.

Zhang, Z., Suo, L., Chen, Y., Zhu, L., Wan, G., & Han, X. (2019). Endometriotic peritoneal fluid promotes myofibroblast differentiation of endometrial mesenchymal stem cells. *Stem Cells International*, 2019, 6183796.

Zhao, J., Hu, Y., Zhao, Y., Chen, D., Fang, T., & Ding, M. (2021). Risk factors of endometrial cancer in patients with endometrial hyperplasia: implication for clinical treatments. *BMC Women's Health*, 21(1), 312.

Zhao, J., Zhang, Q., Wang, Y., & Li, Y. (2015). Uterine infusion with bone marrow mesenchymal stem cells improves endometrium thickness in a rat model of thin endometrium. *Reproductive Sciences*, 22, 181–188.

Zhao, S., Qi, W., Zheng, J., Tian, Y., Qi, X., Kong, D., Zhang, J., & Huang, X. (2020). Exosomes derived from adipose mesenchymal stem cells restore functional endometrium in a rat model of intrauterine adhesions. *Reproductive Sciences*, 27, 1266–1275.

Zhao, X.Y., Li, W., Lv, Z., et al. (2009). iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. *Nature*, 461 (7260), 86–90.

Zheng, S. X., Wang, J., Wang, X. L., Ali, A., Wu, L. M., & Liu, Y. S. (2018). Feasibility analysis of treating severe intrauterine adhesions by transplanting menstrual blood-derived stem cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 41, 2201–2212.

Zieba, A., Sjöstedt, E., Olovsson, M., et al. (2015). The Human Endometrium-Specific Proteome Defined by Transcriptomics and Antibody-Based Profiling. *OMICS: Journal of Integrative Biology*, 19(11), 659–668.

Βαβίλης, Δ.,& Μπόντης, I.N.(2017). *Βασικές γνώσεις μαιευτικής και γυναικολογίας* (3η έκδοση). Θεσσαλονίκη: University Studio Press.

Σαμπάνη, Α.Π.(2014). *Μελέτη της έκφρασης της πρωτεΐνης RCAS1 σε φυσιολογικό ενδομήτριο, σε ενδομητρίωση ωοθηκών και σε αδενοκαρκίνωμα ωοθηκών επί εδάφους ενδομητρίωσης* [Διπλωματική εργασία]. Αθήνα: ΕΚΠΑ.