**Βλαστικά ή αρχέγονα κύτταρα (stem cells): ρόλος, τρόποι απομόνωσης και διατήρησης, σχέση τους με τον καρκίνο και μελλοντικές θεραπευτικές προοπτικές.**

**Βλαστικά κύτταρα (Stem cells)**

Τα βλαστικά κύτταρα είναι πρωταρχικής σπουδαιότητας κύτταρα κοινά για όλους τους πολυκύτταρους οργανισμοούς που διατηρούν τη δυνατότητα ανανέωσης μέσω της κυτταροδιαίρεσης και μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ένα ευρύ φάσμα εξειδικευμένων τύπων κυττάρων. Η έρευνα στον τομέα των ανθρώπινων βλαστικών κυττάρων έγινε πιο έντονη μετά από τα συμπεράσματα των Καναδών επιστημώνων Ernest A. McCulloch και James E. Till το 1960. [1], [2]

Οι τρείς γενικές κατηγορίες stem cells που υπάρχουν στα θηλαστικά είναι: εμβρυικά stem cells, προερχόμενα από βλαστοκύστες, ενήλικα stem cells, που βρίσκονται στους ενήλικους ιστούς, και του αίματος του ομφάλιου λώρου stem cells, που βρίσκονται στον ομφάλιο λώρο. Σε ένα αναπτυσσόμενο έμβρυο, τα stem cells είναι σε θέση να διαφοροποιηθούν σε όλους τους εξειδικευμένους εμβρυικούς ιστούς. Στους ενήλικους οργανισμούς, τα stem cells και τα προγονικά κύτταρα δρούν ως σύστημα επισκευής για το σώμα, που ξαναγεμίζει με ειδικευμένα κύτταρα.

Σαν stem cells που είναι μπορούν να αυξηθούν εύκολα και να μετασχηματιστούν σε εξειδικευμένους ιστούς όπως οι μύες ή τα νεύρα κατευθείαν σε κυτταροκαλλιέργεια, έτσι λοιπόν έχει προταθεί η χρήση τους στην ιατρική θεραπευτική. Ειδικότερα, εμβρυικές γραμμές κυττάρων, αυτόλογα εμβρυικά stem cells παραγμένα κατευθείαν από θεραπευτική κλωνοποίηση, και ιδιαίτερα τα πλαστικά ενήλικα stem cells από το αίμα του ομφάλιου λώρου ή τον μυελό των οστών είναι ελπιδοφόροι υποψήφιοι.[[3]](http://en.wikipedia.org/wiki/Stem_cell#_note-2#_note-2)

**Πηγές**

Τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα έχουν βρεθεί σε πολυάριθμα κύτταρα και τύπους ιστού και μπορούν να μετασχηματιστούν ουσιαστικά σε όλα τα κύτταρα και τύπους ιστού, συμπεριλαμβανομένων των λειτουργικών ιστών.(Εικόνα 1)

Αν και είναι αλήθεια ότι ανθρώπινα ενήλικα stem cells δεν έχουν βρεθεί σε κάθε τύπο κυττάρων, έχουν βρεθεί σε πολλούς τύπους κυττάρων και ιστών όπως σε: εγκέφαλο (και το υπόλοιπο νευρικό σύστημα), μύες, αμφιβληστροειδή, πάγκρεας, μυελό των οστών και περιφερικό αίμα, κερατοειδή χιτώνας, αγγεία αίματος (ενδοθηλιακά κύτταρα), λίπος, οδοντικό πολτό, σπερματογόνια, και πλακούντα. Στην ουσία, όπου οι επιστήμονες έχουν αφιερώσει χρόνο και πόρους στον προσδιορισμό stem cells του ενήλικου ανθρώπου (και άλλων μη – εμβρυικών stem cells ), τα έχουν βρεί.[4]

Επιπλέον, σε πειράματα στα οποία χρησιμοποιούνται ζώα έχουν πρόσφατα απομονώσει πολλά επιπλέον ενήλικα stem cells και τύπους ιστού,όπως: δέρμα, συκώτι, και μαστικό αδένας. Λαμβάνοντας υπόψη τον εντυπωσιακό ρυθμό προσδιορισμού ενήλικων stem cells τα τελευταία λίγα έτη ( ο όποιος ακολούθησε απαρέκλητα τα βήματα:

(1ο ) προσδιορισμό και απομόνωση stem cells στα ζώα

(2ο ) προσδιορισμό και απομόνωση stem cells στους ανθρώπους ) ο επικείμενος προσδιορισμός και η απομόνωση ανθρώπινου ενηλίκου stem cell από αυτούς τους κυτταρούς τύπους και ιστούς είναι ιδιαίτερα πιθανός.[4]



Εικόνα 1 Πηγές βλαστικών κυττάρων και οι δυνατότητές τους [4]

**Ιδιότητες των Stem cells**

**Καθορισμός των ιδιοτήτων**

Ο αυστηρός καθορισμός ενός κυττάρου ως βλαστικό απαιτεί να έχει αυτό δύο ιδιότητες:

1. Αυτο-ανανέωση - η δυνατότητα να περάσει από πολυάριθμους κύκλους κυτταρικής διαίρεσης διατηρώντας την αδιαφοροποίητη κατάσταση.
2. Απεριόριστη δραστικότητα - η ικανότητα να διαφοροποιηθεί σε οποιοδήποτε ώριμο τύπο κυττάρων. Υπό μια ακριβή έννοια, αυτό κάνει καθένα από τα βλαστικά κύτταρα παντοδύναμα ή πολυδύναμα, αν και μερικά πολυδύναμα και/ή προγονικά κύτταρα αναφέρονται μερικές φορές ως stem cells.

Αυτές οι ιδιότητες μπορούν να διευκρινιστούν in vitro, με χρησιμοποίηση μεθόδων όπως κλωνογενικές αναλύσεις, όπου χαρακτηρίζονται οι απόγονοι του απλού κυττάρου.[5][6]

Εντούτοις, οι in vitro συνθήκες μπορούν να αλλάξουν τη συμπεριφορά των κυττάρων, και καθιστούν ασαφές το αν τα κύτταρα θα συμπεριφερθούν κατά τρόπο παρόμοιο με τις in vivo.συνθήκες Η συζήτηση γίνεται για το εάν κάποιο προτεινόμενο ενήλικο κύτταρο οι πληθυσμοί κυττάρων είναι αληθινά stem cells.

**Ορισμοί Δραστικότητας**

Τα πολυδύναμα, εμβρυικά stem cells δημιουργήθηκαν ως εσωτερικά κύτταρα μάζα μέσα σε βλαστοκύστεις. Τα stem cells μπορούν να γίνουν οποιοσδήποτε ιστός στο σώμα, αποκλείοντας τον πλακούντα. Μόνο τα κύτταρα του μοριδίου είναι παντοδύναμα, ικανά να παράγουν όλους τους ιστούς και πλακούντα.

Η δραστικότητα διευκρινίζει τη δυνατότητα διαφοροποίησης (η δυνατότητα για διαφοροποίηση σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων) των stem cells.

* Παντοδύναμα (Totipotent) stem cells (Εικόνα 2) παράγονται από την τήξη ενός ωαρίου και ενός σπέρματοζωαρίου. Τα κύτταρα που παράγονται από τα πρώτα τμήματα του γονιμοποιημένου ωαρίου είναι επίσης παντοδύναμα. Αυτά τα κύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν στους εμβρυικούς και εξωεμβρυϊκούς τύπους κυττάρων.



Εικόνα 2 [7]

* Ολοδύναμα (Pluripotent) stem cells (Εικόνα 3) είναι οι απόγονοι των παντοδύναμων κυττάρων και μπορούν να διαφοροποιηθούν στα κύτταρα που προέρχονται από τις τρείς βλαστικές στιβάδες.



Εικόνα 3 [8]

* Πολυδύναμα (Multipotent) stem cells (Εικόνα 4 )μπορούν να παραγάγουν μόνο τα κύτταρα μιας πολύ σχετικής οικογένειας κυττάρων (π.χ. αιματοποιητικά stem cells, διαφοροποιημένα σε ερυθροκύτταρα, λευκοκύτταρα, αιμοπετάλια, κτλ.).



Εικόνα 4 [9]

* Μονοδύναμα (Unipotent) stem cells (Εικόνα 5 )μπορούν να παραγάγουν μόνο έναν τύπο κυττάρων, αλλά έχουν την ικανότητα αυτοανανέωσης που τα διακρίνει από τα μή-stem cells.



Εικόνα 5 [10]

**Εμβρυϊκά stem cells**

Εμβρυικά stem cell lines (ES cell γραμμές) (Εικόνα 6 )είναι ομάδες κυττάρων που προέρχονται από εξωδερματικό ιστό από την εσωτερική μάζα κυττάρων (ICM) της βλαστοκύστης. Η βλαστοκύστη είναι ένα αρχικό στάδιο εμβρύου - περίπου 4 με 5 ημερών στους ανθρώπους αποτελούμενο από 50-150 κύτταρα. Τα ES κύτταρα είναι πολυδύναμα, και αυξάνονται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης σε όλα τα παράγωγα των τριών αρχικών [βλαστικών](http://en.wikipedia.org/wiki/Germ_layer) στιβάδων: εξώδερμα, ενδόδερμα και μεσόδερμα. Με άλλα λόγια, μπορούν να αναπτυχθούν σε κάθε μία, σε περισσότερους από 200 τύπους κυττάρων των ενηλίκων ατόμων όταν δίνεται ικανοποιητική και απαραίτητη υποκίνηση για έναν συγκεκριμένο τύπο κυττάρων. Δεν συμβάλλουν στις εξωεμβρυϊκές μεμβράνες ή τον πλακούντα



Εικόνα 6 [11]

Όταν δεν δίνεται κανένα ερέθισμα για τη διαφοροποίηση, τα ES κύτταρα θα συνεχίζουν να διαιρούνται in vitro και κάθε ένα θυγατρικό κύτταρο θα παραμένει παντοδύναμο. Τα παντοδύναμα από τα ES κύτταρα έχουν καταδειχθεί αυστηρά in vitro και in vivo, και κατά συνέπεια μπορούν να ταξινομηθούν πράγματι στα βλαστικά κύτταρα. Λόγω των μοναδικών συνδυασμένων δυνατοτήτων απεριόριστης αύξησής τους και πολυδραστικότητας, τα εμβρυικά stem cells είναι μια πιθανή πηγή για την ιατρική στην αναπαραγωγή και αντικατάσταση ιστού μετά από τον τραυματισμό ή την ασθένεια. Μέχρι σήμερα, καμία εγκεκριμένη ιατρική περίθαλψη δεν έχει παραχθεί από έρευνα στα εμβρυικά stem cells. Αυτό δεν είναι παράξενο γνωρίζοντας ότι πολλά έθνη έχουν αυτήν την περίοδο στρέψει την προσοχή τους είτε στην έρευνα των ES κυττάρων, είτε στην παραγωγή των νέων γραμμών κυττάρων ES.

Ενήλικα stem cells είναι αδιαφοροποίητα κύτταρα, βρίσκονται σε όλο το σώμα και τα οποία διαιρούνται αναπληρώνοντας τα νεκρά κύτταρα και αναδημιουργόντας χαλασμένους ιστούς. Επίσης είναι γνωστό πως σωματικά stem cells, μπορούν να βρεθούν σε παιδιά, όπως και σε ενηλίκους. Σε πολλά ενήλικα stem cells η έρευνα έχει εστιαστεί στη διευκρίνιση της ικανότητάς να διαιρεθούν ή να αυτο-ανανεωθούν κατά τρόπο αόριστο και στη δυνατότητα διαφοροποίησής τους.[12]

Πολλά ενήλικα stem cells μπορούν να ταξινομηθούν καλύτερα σαν κύτταρα προγονικά, λόγω της περιορισμένης ικανότητάς τους για κυψελοειδή διαφοροποίηση.

Εντούτοις, συγκεκριμένα πολυδύναμα ή ακόμα και μονοδύναμα ενήλικα προγονικά κύτταρα μπορούν να έχουν πιθανή χρησιμότητα στην αναπαραγωγική ιατρική. Η χρήση των ενηλίκων stem cells (Εικόνα 7 )στην έρευνα και τη θεραπεία δεν είναι αμφισβητούμενη όπως στα εμβρυικά stem cells, επειδή η παραγωγή των ενηλίκων stem cells δεν απαιτεί την καταστροφή του εμβρύου. Σε αντίθεση με την έρευνα σε εμβρυικά stem cells, η περισσότερη χρηματοδότηση της Αμερικανικής κυβέρνησης έχει παρασχεθεί για την έρευνα στα ενήλικα stem cells. Ενήλικα stem cells μπορούν να απομονωθούν από ένα δείγμα ιστού αποκτηθέν από έναν ενήλικο. Έχουν μελετηθεί κυρίως σε ανθρώπους και πειραματόζωα όπως ποντίκια και αρουραίους.



Εικόνα 7 Ενήλικα βλαστικά κύτταρα [13]

**Methods for the Isolation and Maintenance of Murine Embryonic Stem Cells**

Εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα (ES) πρωτοαπομονώθηκαν το 1980 από διάφορες ανεξάρτητες ομάδες. Αυτοί οι ερευνητές αναγνώρισαν την ολοδυναμική φύση των ES κυττάρων να διαφοροποιούνται σε άλλους τύπους κυττάρων και από τις τρείς αρχικές βλαστικές γραμμές. Ο Gossler και άλλοι. περιέγραξε τη δυνατότητα και τα πλεονεκτήματα της χρήσης ES κυττάρων στην παραγωγή διαγενετικών ζώων. Το επόμενο έτος, ο Thomas και ο Capecchi εξέθεσε τη δυνατότητα να αλλαχτεί το γονιδίωμα των ES κυττάρων με ομόλογο επανασυνδυασμό β Υ. Οι Smithies και οι συνάδελφοί του αργότερα περιέγραωαν ότι τα ES κύτταρα, τροποποιημένα με στοχοθέτηση γονιδίων όταν επανεισάγονται σε βλαστοκύστεις, θα μπορούσαν να διαβιβάσουν τη γενετική τροποποίηση στις βλαστικές γραμμές. Σήμερα, γενετική τροποποίηση του μυοειδούς γονιδιώματος με ES κυττάρων τεχνολογία είναι μια δημιουργική προσέγγιση στην κατανόηση της λειτουργίας των γονιδίων των θηλαστικών in vivo. Τα ES κύτταρα έχει αναφερθεί και σε άλλα είδη θηλαστικών (π.χ., χάμστερ, αρουραίους, βιζόν, γουρούνια, και αγελάδες), εντούτοις, μόνο σε μυοειδή ES κύτταρα έχει αναγνωριστεί επιτυχώς το γονιδίωμα σε ES κύτταρα από βλαστικές γραμμές. Πρόσφατα, ενδιαφέρον για την τεχνολογία των βλαστικών κυττάρων έχει προκείψει με την υποβολή έκθεσης της απομόνωσης πρωτευόντων και ανθρώπινων ES κυττάρων. ES κύτταρα απομονώθηκαν από εσωτερική κυτταρική μάζα (ICM) από έμβρυο σε κατάσταση βλαστοκύστης και, εάν διατηρούνται σε βέλτιστες συνθήκες, θα συνεχίσουν να αυξάνονται κατά τρόπο αόριστο σε μια αδιαφοροποίητη διπλοειδή κατάσταση. ES κύτταρα είναι ευαίσθητα σε αλλαγές του pH, και αλλαγές θερμοκρασίας, καθιστώντας επιτακτικό το να προσέχουμε αυτά τα κύτταρα καθημερινά. ES κύτταρα που δεν φροντίζονται, αυθόρμητα διαφοροποιούνται, ακόμη και με την παρουσία στρωμάτων τροφοδοτών και ανασταλτικών παραγόντων λευχαιμίας (LIF). Επιπλέον, υγιή κύτταρα αναπτυσσόμενα σε μακρά φάση είναι κρίσιμα για βέλτιστη αποδοτικότητα μετασχηματισμού σε πειράματα στοχοποίησης γονιδίων.Στοχοποιημένα μυοειδή ES κύτταρα έχουν μικρή αξία εάν χάσουν τη δυνατότητα να διαβιβάζουν τις εισαχθείσες μεταλλαγές μέσω βλαστικών γραμμών από τις προκύπτουσες χίμαιρες. Επομένως, είναι κρίσιμο ότι μυοειδή ES κύτταρα έχετε έναν κανονικό 40 XY καρυότυπο. Είναι τυποποιημένη πρακτική στο εργαστήριο να έχουμε την πλήρη καρυοτυπική ανάλυση από όλα τα στοχοθετημένα ES κύτταρα πριν από την παραγωγή των χιμαιρών. Τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται στο εργαστήριό για να είναι κατάλληλοένα ES κύτταρο κλώνος για την παραγωγή των χιμαιρών είναι ότι τουλάχιστον το 50% του χρωμοσώματος spreads analyzed πρέπει να είναι 40 XY. Στα πειράματα DBA/1LacJ ES κύτταρα ικανοποιήθηκε ή υπερέβη εκείνο το κριτήριο τουλάχιστον στο 86% των περιπτώσεων, εκτιμώντας ότι 129 strain από ES κύτταρα ικανοποιήσαν ή υπερέβησαν τα κριτήρια στο 45% των περιπτώσεων. Οι πολλές ευκαιρίες που υπάρχουν στη βιολογία των βλαστικών κυττάρων σήμερα, συνδυασμένες με την ανάγκη γιά περαιτέρω εξερεύνηση και ανάπτυξη νέων τεχνολογιών, καθιστά απαραίτητη μια σαφή διαδικασία καθορισμού των βλαστικών κυτταρικών γραμμών. Επομένως, θα παρουσιάσουμε τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται στο εργαστήριό για να αναπτυχθούν μυοειδή ES κυτταρικές γραμμές και να διατηρηθούν σε αδιαφοροποίητη κατάσταση.[14]

**Υλικά**

1. Ποντίκια για βλαστοκυστική κατάσταση εμβρύου και πρωταρχικοί εμβρυϊκοί ινοβλάστες

2. Καλλιέργειας ιστών πλαστικό και Γυαλικά

3. Μέσα και αντιδραστήρια [14]

**Μέθοδοι**

**1. Προετοιμασία των μέσων που χρησιμοποιούνται για τροφοδότες και ES κύτταρα**

**2. Προετοιμασία για επίπεδα τροφοδοτών από PEF**

**3. Προετοιμασία πιάτων ντυμένων με ζελατίνη**

**4. Λήψη εμβρύων σε κατάσταση βλαστοκύστης**

**5. Καλλιέργεια της βλαστοκύστης και επιλογή από ICM**

**6. Απομόνωση υποθετικών ES κυττάρων από ICM**

**7. Χαρακτηρισμός υποθετικών ES κυττάρων**

Είναι απαραίτητο να χαρακτηριστεί μια ES κυτταρική γραμμή για να καθοριστεί το φύλο, ο καρυότυπος, τα ολοδύναμα, και η απουσία παθογόνων. Προτιμάται να έχει μια αρσενική κυτταρική γραμμή, επειδή τα XY ES κύτταρα μπορούν να μετατρέψουν το φύλο της XX βλαστοκύστης σε μια χειμερική ανάπτυξη εμβρύου, και αυτό να καταλήξει σε χειμερικό αρσενικό που μπορεί να παραγάγει περισσότερους απόγονους από τα θηλυκά. Επιπλέον, είναι απαραίτητο να καθοριστεί ο καρυότυπος των ES κυτταρικών σειρών, επειδή μετάδοση του ES κυτταρικού γενώματος μέσω των βλαστικών σειρών από τις χίμαιρες εξαρτάται από το αν τα ES κύτταρα κατέχουν έναν κανονικό αριθμό χρωμοσωμάτων. Τέλος, η δυνατότητα να διαφοροποιηθούν σε πολλούς τύπους κυττάρων και η δυνατότητα να γίνουν οι υγιείς χίμαιρες εξαρτάται από τα κύτταρα που είναι χωρίς παθογόνα, όπως το μυκόπλασμα και οι μυοειδείς ιοί. Επομένως, είναι απαραίτητο να εξετάζουμε για μόλυνση από μυκόπλασμα και με δοκιμή μυοειδούς παραγωγής αντισωμάτων (MAP) για τα αντισώματα έναντι των μυοειδών ιών.

7.1. Προσδιορισμός φύλων για να προσδιορίσει XY ES κυτταρικές σειρές

7.2. Μυκοπλάσματος και μυοειδούς προερχόμενης από ιό δοκιμή μόλυνσης

7.3. In Vitro διαφοροποίηση (IVD)

7.4. Στοχοθέτηση γονιδίων δυνατότητα και βλαστικών σειρών μετάδοση

**8. Συντήρηση των ES κυττάρων**

8.1. Ξεπαγώνω ES κύτταρα

8.2. Καθημερινό τάϊσμα των ES κυττάρων

8.3. Υποκαλλιέργεια των ES κυττάρων

8.4. Πάγωμα των ES κυττάρων

**9. Ηλεκτρομετασχηματισμός των ES κυττάρων για τη στοχοθέτηση γονιδίων**

9.1. ES Προετοιμασία κυττάρων

9.2. Ηλεκτρομετασχηματισμός των κυττάρων ES

9.3. Αποικίες κυττάρων επιλογής ES

9.4. Επέκταση των επιλεγμένων αποικιών στις κλωνικές γραμμές κυττάρων ES

**10. Προετοιμασία των κυττάρων ES για τις συναθροίσεις ή μικροέγχυση σε έμβρυα σε κατάσταση βλαστοκύστης.**

10.1. Κούνημα ολόκληρου του πιάτου μέθοδος [14]

**Συλλογή εμβρυϊκών stem cells σε εξελισσόμενες κυήσεις**

Η συλλογή εμβρυϊκού μυελού των οστών ή εγκεφάλου είναι απίθανο να πραγματοποιηθεί ποτέ σε εξελισσόμενες κυήσεις. Τεχνικές με καθοδήγηση υπερήχου για συλλογή εμβρυϊκών ηπατικών ΗSC ή / και ΜSC για ex vivo επεξεργασία και επανεμφύτευση, έχουν αναφερθεί σε έμβρυα προβάτου, (Εικόνα 8) αλλά δε φαίνεται να είναι πραγματοποιήσιμες σε εξελισσόμενες κυήσεις. Ωστόσο, το εμβρυϊκό αίμα φαίνεται να αποτελεί μια πιο προσβάσιμη και ρεαλιστική πηγή stem cells. ΜSC συναντούνται σε εμβρυϊκό αίμα μόνο μετά τη 14η εβδομάδα της εγκυμοσύνης και η συλλογή τους σε εξελισσόμενες κυήσεις θα απαιτεί ασφαλή πρόσβαση στην πρώιμη εμβρυϊκή κυκλοφορία για απόκτηση ενός δείγματος εμβρυϊκού αίματος για το σκοπό αυτό. Τα τελευταία 15 - 20 χρόνια, σχετικά ασφαλείς τεχνικές πρόσβασης στην εμβρυϊκή κυκλοφορία, έχουν γίνει ρουτίνα για εμβρυϊκή διάγνωση και θεραπεία μετά την 16η εβδομάδα. Ενωρίτερα από στην κύηση, οι μέθοδοι περιορίζονται από το μικρό μέγεθος των εμβρυϊκών αγγείων. Παρόλα, αυτά, μία ομάδα ανέπτυξε μέθοδο λήψης δείγματος εμβρυϊκού αίματος με καθοδήγηση υπερήχου, σε εξελισσόμενη κύηση για τον κίνδυνο αιμοσφαιρινοπάθειων με ποσοστό απόρριψης μόνο 5% σε κυήσεις το ενωρίτερα 12 εβδομάδων. Πιο πρόσφατα, λεπτού διαμέτρου εμβρυοσκόπια έχουν γίνει διαθέσιμα και αυτά μπορούν να επιτρέψουν την πρώιμη λήψη δείγματος αίματος από ομφάλιο λώρο, κατω από άμεση όραση, αν και μέχρι σήμερα αυτό έχει εκτιμηθεί σε τερματιζόμενη εγκυμοσύνη.[14]



Εικόνα 8 Κατευθυνόμενη διαφοροποίηση εμβρυικών stem cells του ποντικιού [16]

**Δυνατές εφαρμογές των εμβρυϊκών stem cells**

Τα stem cells από οποιαδήποτε πηγή εντυπωσιάζουν, σαn μοντέλα αναπτυξιακής βιολογίας και για την υπόσχεση τους για τη θεραπεία ανθρώπινων ασθενειών. Η φύση των ιδιοτήτων τους είναι δυνατό να επισκοπηθεί, απομονώνοντας stem cells από το σώμα, αναπτύσσοντας αυτά κάτω από συνθήκες κυτταρικής καλλιέργειας, κατευθύνοντας τον πολλαπλασιασμό τους με αυξητικούς παράγοντες και μετά μεταμοσχεύοντας αυτά ή τους απογόνους τους σε ασθενείς όλων των ηλικιών για κλινικό κέρδος. Προς αυτήν τη κατεύθυνση, είναι δυνατό στο μέλλον να χρησιμοποιηθούν για ανακούφιση εκφυλιστικών διαταραχών, αντικατάσταση ασθενικών ή απορριφθέντων ιστών με μηχανικά υποκατάστατα, και διόρθωση γενετικών ασθενειών. Τα ΗSC έχουν ήδη αποδείξει την ικανότητα τους να παράγουν συνεχώς και κλωνικά όλους τους κυτταρικούς τύπους του αίματος και του ανοσοποιητικού συστήματος σε εμφυτευμένους δέκτες Τα ΜSC μπορούν να εφαρμοστούν θεραπευτικά για τη διόρθωση των διαταραχών μεσεγχυματικής αιτιολογίας και περαιτέρω δυνατή θεραπευτική εφαρμογή, βασίζεται στην ικανότητα τους να προάγουν τον ενοφθαλμισμό των ΗSC μετά από συμμεταμόσχευση. Εφόσον τα εμβρυϊκά stem cells μπορούν θεωρητικά να χρησιμοποιηθούν στη θέση των stem cells που προέκυψαν από ενήλικους ιστούς για περισσότερες από τις εφαρμογές, υπάρχουν μερικοί τομείς όπου αυτά μπορούν να έχουν ειδικά πλεονεκτήματα.[15]

**Ενδομήτρια μεταμόσχευση**

Η ενδομήτρια μεταμόσχευση αλλογενών stem cells αποτελεί μια νέα προσέγγιση για να αρθούν οι περιορισμοί της θεραπείας μετά τον τοκετό: που περιλαμβάνουν σοβαρή νοσηρότητα συνδεόμενη με θεραπεία και προϋπάρχουσα οργανική βλάβη που αναπτύσσεται πριν τη γέννα. Η μεταμόσχευση stem cells στην πρώιμη ενδομήτρια ζωή για διόρθωση γενετικών ελλειμάτων, έχει πολλά πλεονεκτήματα και με τη χρήση μάλλον εμβρυϊκών παρά ενηλίκων stem cells, μπορεί να προσφέρει πεισσότερα οφέλη, από τη στιγμή που τα εμβρυϊκά κύτταρα φέρουν ένα διακριτό πλεονέκτημα συναγωνισμιού σε σχέση με τα stem cells από ενήλικα. Η πρώιμη πραγματοποίηση της εμφύτευσης δότη stem cells προγενετικά, μπορεί να εμποδίσει ή να ελαττώσει ακόμη περισσότερο την παθολογία που συνδέεται με την υποκείμενη διαταραχή Κατά συνέπεια είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τη σχετική αποτελεσματικότητα της εμφύτευσης εμβρυϊκών κυττάρων από διαφορετικές πηγές εμβρυϊκών κυττάρων, που πιθανώς εξαρτάται από τις ενδογενείς διαφορές στις απαιτήσεις κυτοκινών όπως επίσης και από τα εξωγενή σήματα που διαφέρουν στο εμβρυϊκό σε σχέση με το ενήλικο μικροπεριβάλλον.

Οι αρχικοί στόχοι που επιλέχθηκαν για ενδομήτρια μεταμόσχευση stem cells ήταν τα ΗSC, όχι μόνο εξαιτίας του καλά συνιστάμενου αναπαραγωγικού και πολυδιάστατου δυναμικού, αλλά επίσης εξαιτίας των ετών κλινικής εμπειρίας σε μεταμόσχευση σε ενήλικα. Μέχρι τώρα, οι περισσότερες προσπάθειες για μεταμόσχευση ΗSC ενδομητρίως έχουν αποτύχει, επειδή το έμρυο μέσου τριμήνου είναι ανοσο-ικανό και απορρίπτει αλλογενή κύτταρα. Αυτό το πρόβλημα μπορεί να προσπεραστεί από την πρώιμη μεταμόσχευση, πριν την απώλεια της ανοχής. Παρά τις προόδους στις τεχνικές λήψεις μυελού για πρώιμη συλλογή εμβρυϊκού αίματος από εξελισσόμενες εγκυμοσύνες, η χαμηλή παραγωγή των ΗSC, στο τέλος του πρώτου τριμήνου, μαζί με την περιορισμένη ικανότητα τους προς ανάπτυξη, καθιστά την προσέγγιση αυτή προβληματική Σε αντίθεση, ενήλικα ΜSC εμφυτεύονται ευρέως σε θηλαστικά, σε μοντέλα ενδομητρικής μεταμόσχευσης και φαίνεται να έχουν μοναδικά ανοσολογικά χαρακτηριστικά, που μπορούν να επιτρέψουν εμφύτευση ανεξάρτητη από την ηλικία της κυήσεως και την άνοσο-ικανότητα. Όταν μεταμοσχευθούν ενδομητρικά σε έμβρυο προβάτου, τα εμβρυϊκά ΜSC - μολονότι σε χαμηλό επίπεδο - ενοφθαλμίζονται σε πολλαπλά οργανικά διαμερίσματα και η συμμεταμόσχευση ενήλικων ΜSC έχει δείξει να προκαλεί ενδομητρική εμφύτευση ΗSC σε μοντέλα ζώων, δείχνοντας ότι η συμμεταμόσχευση εμβρυϊκών ΜSC μπορεί επίσης να οδηγήσει σε επιταχυνόμενη αιμοποιητική εμφύτευση. Το εμβρυϊκό ήπαρ έχει ήδη χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για ενδομητρική θεραπεία εμβρύου με Χ-συνδεόμενη σοβαρή συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια.[15]

**Γονιδιακή θεραπεία**

Τα stem cells έχουν σημαντική χρησιμότητα ως φορείς γονιδιακής θεραπείας επειδή είναι αυτοανανεώσιμα, αίροντας την ανάγκη για συνεχιζόμενη χορήγηση του γονιδίου. Η ex vivo γονιδιακή θεραπεία χρησιμοποιεί αυτόλογα ΗSC, που λαμβάνονται πρώτα από έμβρυο, μετατρέπονται in vitro και μετά μεταμοσχεύονται πίσω στο έμβρυο. Αποτελέσματα από θεραπευτικές δοκιμές με γονίδια μετά τον τοκετό, αποδεικνύουν την κλινική αποτελεσματικότητα αυτής της προσέγγισης, αν και η γονιδιακή θεραπεία είναι υπό εξονυχιστική έρευνα από τη στιγμή που δύο παιδιά ανέπτυξαν λευχαιμία μετά από ex vivo γονιδιακή θεραπεία μετά τον τοκετό, πιθανώς σαν αποτέλεσμα της ικανότητας του ιού φορέα να διασπάσει ένα ογκογονίδιο. Άλλοι προβληματισμοί είναι η τρανσγονιδιακή έκφραση σε ιστούς διαφορετικούς από τον ιστό στόχο και η αθέλητη μεταφορά σε στελεχιαία σειρά (germline) κυττάρων. Τα βιολογικά πλεονεκτήματα της στόχευσης εμβρυϊκών ΜSC έναντι ΗSC για αυτόλογη γονιδιακή θεραπεία, περιλαμβάνουν την υψηλότερη αναπαραγωγική τους ικανότητα, τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα μεταμόρφωσης, το άμεσο δυναμικό ανάπτυξης, τη μειωμένη ανοσογενετικότητα, την ικανότητα να εμφυτεύονται και να διαφοροποιούνται στους περισσότερους τύπους ιστών και την ικανότητα να στοχεύονται μέσω συνδέσμων με συγκεκριμένους τύπους ιστών. Η προσέγγιση αυτή έχει το δυναμικό να θεραπεύσει ένα αρκετά μεγάλο αριθμό γενετικών παθήσεων, όπως οι βλεννοπολυσακχαριδώσεις, οι εγκεφαλικές γαγγλιοσιδώσεις, οι λευκοδυστροφΐες, η ατελής οστεογένεση και η μυϊκή δυστροφία.[15]

**Μη επεμβατική προγενετική διάγνωση**

Τα εμβρυϊκά stem cells παίρνουν στη μητρική κυκλοφορία κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και έτσι αντιπροσωπεύουν μια δυνητικά μη επεμβατική πηγή γενετικού υλικού για προγενετική διάγνωση. Η έρευνα σε αυτόν το τομέα, έχει εμποδιστεί από τη απουσία κυτταρικών τύπων αποκλειστικών στο εμβρυϊκό αίμα και την ελαττωμένη συχνότητα των εμβρυϊκών κυττάρων να κινούνται διαμέσου του πλακούντα κατά τη διάρκεια της πρώιμης εγκυμοσύνης. Το διαφορετικό εύρος των κυτταρικών τύπων που κινούνται μέσα προς τη μητρική αιματική ροή περιλαμβάνει ΗSC και ΜSC, Οι εμβυικοί αιμοποιητικοί πρόγονοι, καταδεικνύονται στη μητρική κυκλοφορία από την πρώιμη εγκυμοσύνη και μετά. Ωστόσο, είναι δύσκολο να διακριθούν από τους προγόνους της εμβρυϊκής κυκλοφορίας και οι περισσότερες ομάδες είναι στερούνται της ικανότητας να αναπτύξουν εμβρυϊκά κύτταρα επαρκή in vitro για κλινική εφαρμογή. Τα εμβιηκά ΜSC, που κυκλοφορούν ατό εμβρυϊκό αίμα πρώτου τριμήνου, έχουν προταθεί σα μια εναλλακτική κυτταρική πηγή, για μη επεμβατική προγενετική διάγνωση, επειδή φαίνεται να μην έχουν ομόλογα στο αίμα ενηλίκου και μπορούν να αναπτυχθούν κλωνικά προς μία καθαρή πηγή εμβρυϊκών κυττάρων. Ωστόσο, αν και τα εμβρυϊκά ΜSC είναι πιθανό να διασχίζουν τον πλακούντα, σύμφωνα με θεωρητικούς υπολογισμούς και τα ευρήματα της ομάδας μας, ότι εμβρυϊκά Μ50 ανιχνεύονται σε μικρό ποσοστό των δειγμάτων μητρικού αίματος, αυτά φαίνεται να κυκλοφορούν σε πολύ χαμηλούς αριθμούς, καθιστώντας κάθε εφαρμογή στο χώρο της της μη επεμβατικής προγενετικής διάγνωσης, απίθανο.[15]

**Μικροχιμαιρισμός**

Η παρουσία εμβρυϊκών κυττάρων για χρόνια σε μητρικούς ιστούς, γνωστή σαν εμβρυϊκός μικριχιμαιρισμός, έχει ενοχοποιηθεί για αυτοάνοση νόσο διαμέσου της απάντησης μοσχεύματος κατά ξενιστή. Ωστόσο, η συχνότητα του εμβρυϊκού μικροχιμαιρισμού μετά από φυσιολογική εγκυμοσύνη και ο υπεύθυνος κυτταρικός τύπος είναι άγνωστα. Μια εξήγηση για την προφανή χαμηλή συχνότητα εμβρυϊκών ΜSC στο κυκλοφορούμενο μητρικό αίμα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι ο ενοφθαλμισμός στους μητρικούς ιστούς οστικού μυελού μετά από διαπλακουντική διέλευση. Η έκφραση μορίων κυτταρικής προσκόλλησης, στερούμενων της έκφρασης αντιγόνων ΗLΑ class II, μαζί με της προσκολλητικές ικανότητες των ΜSC in vivo, δεικνύουν ότι τα ΜSC μπορούν να διασπαρούν ευρέως και να εμφυτευθούν σε σε συνδετικούς ιστούς. Τα ΜSC που προέρχονται από ενήλικο μυελό των οστών, εμφυτεύονται άμεσα στα περισσότερα όργανα σε μοντέλα ζώων και επιλεκτικά κατασκηνώνουν σε οστικό μυελό μετά από έγχυση, εφόσον τα εμβρυϊκά ΜSC εμφυτεύονται διάχυτα, μετά από ξενο-μεταμόσχευση ενδομητρικά. Τα ΜSC, κατά συνέπεια, φαίνεται να αποτελούν τον πιο πιθανό εμβρυϊκό κυτταρικό τύπο, που επιμένει στους μητρικούς ιστούς. Εμείς πρόσφατα αναγνωρίσαμε εμβρυϊκό ΜSC από άρρεν, σε μετα-αναπαραγωγικό μυελό των οστών από θήλυ, μετά από περισσότερα από 50 χρόνια από την εγκυμοσύνη, σε μια ομάδα γυναικών που είχαν γιους.[15]

**Ομφαλοπλακουντιακό αίμα (cord blood) και βλαστικά κύτταρα**

Ομφαλοπλακουντιακό αίμα (cord blood) είναι το ανθρώπινο [αίμα](http://en.wikipedia.org/wiki/Blood) από τον πλακούντα και τον ομφάλιο λώρο που είναι πλούσιο σε αιματοποιητικά [stem cells](http://en.wikipedia.org/wiki/Stem_cell). Συλλέγεται μετά από την αποσύνδεση του ομφάλιου λώρου από τα νεογέννητα, και χρησιμοποιείται ως πηγή stem cells για μεταμόσχευση. Αποθηκεύεται και από δημόσιες και από ιδιωτικές cord blood τράπεζες. Δημόσιες cord blood τράπεζες αποθηκεύουν το cord blood προς όφελος του ευρύτερου κοινού, και οι περισσότερες U.S. τράπεζες συντονίζουν το ταίριασμα του cord blood στους ασθενείς μέσω του Εθνικού Προγράμματος Δότη Μυελού (NMDP). Ιδιωτικές cord blood τράπεζες είναι κερδοσκοπικές οργανώσεις που αποθηκεύουν το cord blood για την αποκλειστική χρήση των δοτών ή συγγενών των δοτών. Δημόσιες cord blood τραπεζικές εργασίες υποστηρίζονται έντονα από την ιατρική κοινότητα. Εντούτοις, ιδιωτικές cord blood τραπεζικές εργασίες δεν συστήνονται γενικά εκτός αν υπάρχει ένα οικογενειακό ιστορικό γιά τις συγκεκριμένες γενετικές ασθένειες. Οι ιδιωτικές τραπεζικές εργασίες είναι παράνομες στη Γαλλία και την Ιταλία, και βρίσκουν αντίθετη την Ευρωπαϊκή ομάδα για την ηθική στην επιστήμη και τις νέες τεχνολογίες.[17]

**Ιδιότητες cord blood**

Τα Cord blood stem cells είναι περισσότερο πολλαπλασιαστικά και έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να ταιριάζουν με μέλη των οικογενειών από τα stem cells του μυελού των οστών. Οι πατέρες έχουν μια πιθανότητα 25% να τεριάζουν με των παιδιών τους τα cord blood stem cells. Οι αμφιθαλείς έχουν μια πιθανότητα 25% να έχουν ένα τέλειο τέριασμα στα cord blood.[17]

**Συλλογή cord blood, αποθήκευση και δαπάνες**

Υπάρχουν δύο κύριες μέθοδοι για συλλογή cord blood από την ομφαλική φλέβα :προτού να παραδοθεί ο πλακούντας (in utero) ή κατόπιν (ex utero.) Με ex utero μέθοδο συλλογής, τα cord blood συλλέγονται αφότου παραδίδεται ο πλακούντας και ο ομφαλικός λώρος αφαιρείται από το νεογέννητο. Ο πλακούντας τοποθετείται σε μια αποστειρωμένη κατασκευή υποστήριξης με τον ομφαλικό λώρο ενωμένο μέσω της υποστήριξης. Το cord blood συλλέγεται από την δύναμη της βαρύτητας και είναι μεταξύ 40-150 mL. Μια παρόμοια μέθοδος συλλογής γίνεται για την in utero, εκτός από το ότι το cord blood συλλέγεται αφότου έχει παραδοθεί το μωρό αλλά πριν από την παράδοση του πλακούντα. Μετά από τη συλλογή οι cord blood μονάδες πρέπει αμέσως να σταλθούν σε μία cord blood τράπεζα. Στις κοινές cord blood τράπεζες, αυτό το αίμα αναλύεται στη συνέχεια για μολυσματικούς παράγοντες και τον καθορισμό του τύπου του ιστού. Το Cord blood υποβάλλεται σε επεξεργασία και απαλλάσσεται από τα ερυθροκύτταρα πρίν αποθηκευτεί σε υγρό άζωτο για μελλοντική χρήση.

Σχετικό βίντεο που δείχνει την διαδικασία [18] 

(κάντε κλίκ στην εικόνα για να δείτε το βίντεο)

Οι νέοι γονείς έχουν να επιλέξουν για το νεογέννητό τους ιδιωτική cord blood τράπεζα ή κοινή cord blood τράπεζα. Το κόστος ιδιωτικών cord blood τραπεζικών εργασιών είναι περίπου $2000 για τη συλλογή και περίπου $125 ετησίως για φύλαξη από το 2006. Η δωρεά cord blood μπορεί να μην είναι δυνατή σε όλες τις περιοχές, εντούτοις η ευκαιρία να δώσει κάποιος γίνεται πιό μεγάλη. Οι cord blood τράπεζες δεν θα χρεώσουν τον δότη για τη δωρεά, αλλά η OB/GYN μπορει ακόμα να χρεώσει μια συνολική αμοιβή $100-$250, που δεν καλύπτεται συνήθως από την ασφάλεια. [17]

Σύμφωνα με την έρευνα στο περιοδικό της παιδιατρικής αιματολογίας/ ογκολογίας (1997, 19:3, 183-187), οι πιθανότητες ένα παιδί να πρέπει να χρησιμοποιήσει τα ίδια του τα stem cells στην ηλικία των είκοσι ένα για τις τρέχουσες επεξεργασίες είναι περίπου 1:2,700, και οι πιθανότητες ένα μέλος της οικογένειας να πρέπει να χρησιμοποιήσει εκείνα τα κύτταρα είναι περίπου 1:1,400. [19]

Μετά από τον πρώτο αμφιθαλής-δότη cord blood μιά μεταμόσχευση εκτελέσθηκε το 1988, στο National Institute of Health (NIH) που επιχορηγήθηκε από τον Dr. Pablo Rubinstein για να αναπτύξει τα πρώτα προγράμματα των cord blood στο New York Blood Center(NYBC)[20], προκειμένου να συσταθεί ο κατάλογος από μη εμβρυϊκές stem cells μονάδες απαραίτητες να παρέχουν ανεξάρτητα, αντιστοιχισμένα εμβόλια για τους ασθενείς. Το 2005, στο University of Toronto ο ερευνητής Peter Zandstra ανέπτυξε μια μέθοδο για να αυξήσει την παραγωγή cord blood stem cells για να επιτρέψουν τη χρήση τους στη θεραπεία των ενηλίκων καθώς επίσης και των παιδιών.[21]

**Λήψη βλαστικών κυττάρων από τον ομφάλιο λώρο**

* Η λήψη του δείγματος αίματος θα πρέπει να γίνει πριν την υστεροτοκία.
* Η όλη διαδικασία απαιτεί περίπου 10 λεπτά.
* Το δείγμα θα πρέπει πάντα να βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου από την ώρα της λήψης του μέχρι και την παράδοση του στα αργαστήρια και όχι στο ψυγείο.
* Ο χρόνος που μεσολαβεί από την λήψη του δείγματος έως και την παράδοσή του στα εργαστήρια συνίσταται να μην υπερβαίνει τις 48 ώρες.
* Σε περίπτωση δίδυμων, η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται για κάθε παιδί, με ξεχωριστή συσκευασία συλλογής και τα αντίστοιχα απαραίτητα συμπληρωμένα έντυπα για το κάθε παιδί.
* Η διαδικασία είναι ίδια για φυσιολογικό τοκετό ή με καισαρική.

**Η διαδικασία (Εικόνα 9)**

1. Αμέσως μετά την γέννηση του μωρού, πιέζουμε τον ομφάλιο λώρο με δύο λαβίδες. Η μία λαβίδα θα πρέπει να τοποθετειθεί περίπου 10 εκατοστά από το μωρό. θα πρέπει γρήγορα να σταματήσει η πλακουντιακή κυκλοφορία του αίματος διότι τα βλαστικά κύτταρα τείνουν να μεταναστεύουν πολύ γρήγορα προς την κατεύθυνση του μωρού.
2. Όπως συνηθίζετε, κόβουμε τον ομφάλιο λώρο ανάμεσα στις δυο λαβίδες και απομακρύνουμε το μωρό.
3. Αμέσως μετά, και πριν την αποκόλληση του πλακούντα, καθαρίζουμε καλά τον ομφάλιο λώρο με ένα αντισηπτικό.
4. Από την συσκευασία συλλογής της αφαιρούμε τον αποστειρωμένο ασκό λήψης του δείγματος αίματος, τον ξετυλήγουμε και τον τοποθετούμε κοντά μας για ευκολότερη λήψη.
5. Αφαιρούμε το προστατευτικό καπάκι από την βελόνα που συνδέεται με τον ασκό.
6. Με την βοήθεια της βελόνας, τρυπάμε τον ομφάλιο λώρο στην περιοχή που έχουμε προηγούμενος αποστειρώσει.
7. Υπάρχει το ενδεχόμενο να χρειασθεί να τρυπηθεί ο ομφάλιος λώρος σε περισσότερα του ενός σημεία. Σ' αυτήν την περίπτωση, αποστειρώνουμε και πάλι όλα αυτά τα σημεία με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που ακολουθήσαμε προηγουμένως. Η αποστείρωση αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την αποφυγή οποιασδήποτε μόλυνσης του δείγματος.
8. Η ελάχιστη απαιτουμένη ποσότητα δήγματος αίματος είναι 80 ml (καθαρό από τα περίπου 35ml αντιπυκτικού CPD ενώ η μέγιστη χωρητικότητα του ασκού είναι 25ml. Γενικά, όσο περισσότερο αίμα από τον ομφάλιο λώρο καταφέρουμε να συλλέξουμε μέσα στον ασκό τόσα πιό πολλά βλαστικά κύτταρα θα βρεθούν και θα απομονωθούν.
9. Όταν θα έχει ολοκληρωθεί η διαδικασία λήψης του αίματος αδειάζουμε μέσα στον ασκό, το όποιο αίμα ενδεχομένως να έχει απομένει μέσα στον σωλήνα λήψης.
10. Κόβουμε την βελόνα η οποία συνδέεται με τον ασκό και στην συνέχεια την πετάμε.
11. Δένουμε τουλάχιστον δύο κόμπους στο σωλήνα λήψης. Συμπληρωματικά, χρησιμοποιούμε και την ειδική λαβίδα (clamp) που βρίσκεται μέσα στην συσκευασία συλλογής. (Δεν χρησιμοποιούμε ράμματα).
12. Ανακινούμε καλά τον ασκό με μερικές αργές κινήσεις για να αναμιχθεί το αίμα με το αντιπηκτικό.
13. Τοποθετούμε το δείγμα μέσα σε ειδική εξωτερική συσκευασία.[22]



Εικόνα 9 [22]

**Χρήση του cord blood**

Όταν απαιτείται κρυοδιατήρηση (Εικόνα 10) του cord blood, είναι ξεπαγωμένο, πλυμένο με κρυοπροστατευτικό, και εγχυσμένο μέσω μιας φλέβας του ασθενή. Αυτό το είδος επεξεργασίας, όπου τα stem cells συλλέγονται από έναν άλλο δότη, καλείται αλλογενική επεξεργασία. Όταν τα κύτταρα συλλέγονται από τον ίδιο τον ασθενή στον οποίο θα χρησιμοποιηθούν, καλείται αυτόλογη και όταν συλλέγεται από τα συγγενικά άτομα, αναφέρεται ως συγγενική. Ξενογενική μεταφορά κυττάρων (μεταξύ διαφορετικών ειδών) είναι πολύ υπανάπτυκτη και γινεται για να υπάρχει κάποια ερευνητική δραστηριότητα.[17]



Εικόνα 10 Τα βλαστικά κύτταρα του ομφαλοπλακουντιακού αίματος φυλάσσονται, όπως άλλωστε και άλλοι βιολογικοί ιστοί, σε ειδικά δοχεία βαθιάς κατάψυξης. Οι χαμηλές θερμοκρασίες (της τάξεως των 190 βαθμών Κελσίου υπό το μηδέν) επιτυγχάνονται με τη χρήση υγρού αζώτου [22]

**Ασθένειες που αντιμετωπίζονται με cord blood stem cells**

Ξεκινώντας προς το τέλος του 1980, μετά από μία επιτυχή μεταμόσχευση αμφιθαλή δότη, cord blood stem cells χρησιμοποιήθηκαν για να αντιμετωπιστεί ένας αριθμός από γενετικές ασθένειες σχετικές με το αίμα και το ανοσοβιολογικό σύστημα, καρκίνους, και άλλες διαταραχές. Λόγω των ιατρικών ζητημάτων γύρω από τη χρησιμοποίησή κάποιων ιδίων κυττάρων, σχεδόν σε κάθε περίπτωση οι επεξεργασίες γίνονται με χρησιμοποίηση κυττάρων από άλλο δότη, στη πλειοψηφία να χρησιμοποιούνται ανεξάρτητοι δότες. Το 1993, ο Dr. Joanne Kurtzberg, από το Duke University Medical Center, εκτέλεσε τις πρώτες δύο επιτυχής μεταμοσχεύσεις ανεξάρτητου δότη cord blood [24] ένας από τους οποίους θεραπεύτηκε από οξύα λεμφοβλαστική λευχαιμία. Οι κύριες ασθένειες και αναταραχές αυτήν την περίοδο βρίσκονται απαριθμημένες στόν ιστοχώρο του National Donor Marrow Program.[17]

Αυτές αφορούν κυρίως την πλειονότητα των δυσλειτουργιών του αιμοποιητικού και ανοσοποιητικού συστήματος που αντιμετωπίζονται με μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων.

* Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία – ALL
* Οξεία Μυελογενής Λευχαιμία – AML
* Χρόνια Μυελογενής Λευχαιμία – CML
* Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία – CLL
* Παιδική Χρόνια Μυελογενής Λευχαιμία – JCML
* Παιδική Μυελομονοκυτταρική Λευχαιμία – JMML
* Χρόνια Μυελομονοκυτταρική Λευχαιμία – CMML
* Λέμφωμα Hodgkin's
* Λέμφωμα Non- Hodgkin's
* Νευροβλάστωμα
* Αμφιβληστροειδοβλάστωμα
* Λέμφωμα Burkitt
* Μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο
* Διαθλαστική Αναιμία – RA
* Αναιμία Fanconi
* Σοβαρή Απλαστική αναιμία
* Δρεπανοκυτταρική Αναιμία
* Αναιμία Blackfan – Diamond
* Αναιμία Cooley's
* Αιμογλοβινοπάθειες
* Δικτυοερυθροκυτταρική Δυσγενεσία
* Σοβαρή Συνδυαστική Ανοσοανεπάρκεια – SCID
* Σύνδρομο Omenn
* Λεμφουπερπλαστική νόσος
* Συνδρομο Kostmann
* Θρομβασθένεια Glanzmann
* Νοσος Ataxia Telangiectasia
* Σύνδρομο DiGeorge
* Σύνδρομο Chediak – Higashi
* Μυέλωμα

Οι παρακάτω αποτελούν ασθένειες για τις οποίες έχει ήδη εφαρμοστεί η μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων, αλλά δεν αποτελεί ακόμη καθιερωμένη θεραπεία.

* Σύνδρομο Hurler
* Καρκίνος του μαστού
* Σάρκωμα Ewing's
* Αδρενολευκοδυστροφία – ALD
* Νόσος Krabbe
* Ιστιοκυττάρωση Κυττάρων Langerhans
* Οστεοπέτρωση
* Σκλήρυνση κατά πλάκας
* Αιμοφαγοκυττάρωση
* Νόσος Gaucher
* Νόσος Niemann – Pick
* Σύνδρομο Hunter's
* Νόσος Tay- Sachs
* Κυτταρική Καρδιομυοπλαστία

Μελέτες διεξάγονται σε ερευνητικά κέντρα ανά τον κόσμο για τη χρήση των βλαστικών κυττάρων ως θεραπευτικό μέσο και για την αντιμετώπιση και άλλων νοσημάτων - δυσλειτουργιών. Αυτές βρίσκονται ακόμη σε πειραματικό στάδιο και η κλινική τους εφαρμογή θα αποδειχθεί μελλοντικά.

* Παιδική αρθρίτιδα
* Ρευματοειδής αρθρίτιδα
* Νόσος Crohn's
* Διαβήτης
* Σύνδρομο Evan
* Λύκος
* Νόσος Huntington's
* Νόσος Parkinson's
* Νόσος Alzheimer's
* Ανάπλαση οργάνων, όπως νεφρά και ήπαρ. [25]

**Καταγωγή βλαστικών κυττάρων**

Για να εξασφαλίσουν αυτο-ανανέωση, τα stem cells υφίστανται δύο τύπους κυτταροδιαιρέσεων. Συμμετρική διαίρεση δίνει δύο ίδια θυγατρικά κύτταρα και τα δύο προικισμένα με stem cell ιδιότητες. Ασυμμετρική διαίρεση, αφ' ετέρου, παράγει μόνο ένα stem cell και ένα κύτταρο προγονικό με περιορισμένη δυνατότητα αυτο-ανανέωσης. Προγονικά βλαστικά κύτταρα μπορούν να περάσουν από διάφορους κύκλους κυτταροδιαίρεσης πρίν από το τέλος της διαφοροποίησής τους σε ένα ώριμο κύτταρο. Είναι δυνατό ότι η μοριακή διάκριση μεταξύ των συμμετρικών και ασυμμετρικών διαιρέσεων βρίσκεται στο διαφορικό διαχωρισμό από τις πρωτεϊνες των μεμβρανών των κυττάρων (όπως οι υποδοχείς) μεταξύ των θυγατρικών κυττάρων, εντούτοις, δεν υπάρχει κανένα στοιχείο για αυτόν τον μηχανισμό.

Μια εναλλακτική θεωρία είναι ότι αυτά τα stem cells παραμένουν αδιαφοροποίητα από περιβαλλοντικά αίτια στην ιδιαίτερη θέση τους. Stem cells διαφοροποιούνται όταν φεύγουν από αυτή τη θέση ή δεν λαμβάνουν πλέον εκείνα τα σήματα. Μελέτες στη drosophila germarium έχει προσδιορίσει σήματα dpp και adherins συνδέσεις που αποτρέπουν τα germarium stem cells από τη διαφοροποίηση [26][27].

Τα σήματα που οδηγούν στον επαναπρογραμματισμό από τα κύτταρα σε μια κατάσταση ομοιάζουσα με την εμβρυική, επίσης ερευνάται. Αυτά τα μονοπάτια σήματος περιλαμβάνουν αρκετούς παράγοντες μεταγραφής συμπεριλαμβανομένου του ογκογονιδίου [c-Myc](http://en.wikipedia.org/wiki/MYC). Οι αρχικές μελέτες δείχνουν ότι ο μετασχηματισμός των κυττάρων των ποντικιών με έναν συνδυασμό από τα σήματα αντι - διαφοροποίησης μπορεί να αντιστρέψει τη διαφοροποίηση και μπορεί να επιτρέψει τα ενήλικα κύτταρα για να γίνουν πολυδύναμα.[28]

Εντούτοις, η ανάγκη να μετασχηματίσει αυτά τα κύτταρα με ένα ογκογονίδιο μπορεί να αποτρέψει τη χρήση αυτής της προσέγγισης στη θεραπεία.

**Επεξεργασίες**

Οι ιατρικοί ερευνητές θεωρούν ότι αυτή η θεραπεία με τα stem cells έχει τη δυνατότητα να αλλάξει ριζικά την αντιμετώπιση της ανθρώπινης ασθένειας. Θεραπεία με διάφορα ενήλικα stem cells υπάρχει ήδη, ιδιαίτερα για μεταμοσχεύσεις του μυελού των οστών που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση της λευχαιμίας.[29]

Στο μέλλον, ιατρικοί ερευνητές προσδοκούν να χρησιμοποιήσουν τις τεχνολογίες προερχόμενες από την έρευνα στα stem cells για να αντιμετωπίσουν μια ευρύτερη ποικιλία από ασθένειες συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου, την ασθένεια του parkinson, βλάβες στο νωτιαίο μυελό, και ζημία μυών, μεταξύ ενός αριθμού από άλλες βλάβες και καταστάσεις.[30][31]

Εντούτοις, ακόμα υπάρχει πολύ κοινωνική και επιστημονική αβεβαιότητα να περιβάλει την έρευνα των stem cells, που μπορεί ενδεχομένως να υπερνικηθεί μέσω της δημόσιας συζήτησης και της μελλοντικής έρευνας.

Stem cells, εντούτοις, χρησιμοποιούνται ήδη εκτενώς στην έρευνα, και μερικοί επιστήμονες δεν θεωρούν τη θεραπεία κυττάρων ως πρώτο στόχο της έρευνας, αλλά βλέπουν την έρευνα των stem cells σαν στόχο αντάξιο τους. [32].

**Απομόνωση βλαστικών κυττάρων**

Ολοδύναμα ανθρώπινα stem cells απομονωμένα από πρόωρα έμβρυα αντιπροσωπεύουν μια ενδεχομένως απεριόριστη πηγή για πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων για θεραπεία γονιδίων βασισμένη σε κύτταρα και ιστούς. Εντούτοις, εάν η πλήρης δυνατότητα των γραμμών κυττάρων προερχόμενα από έμβρυα δοτών πρόκειται να πραγματοποιηθεί, πρέπει να υπερνικηθεί το πρόβλημα του ταιριάσματος του ιστού του δότη με αυτό του δέκτη. Μια προσέγγιση, η οποία αποφεύγει το πρόβλημα της απόρριψης από τη μεταμόσχευση, θα ήταν να καθιερωθούν stem cells γραμμές από τα ίδια τα κύτταρά του μέσω της θεραπευτικής κλωνοποίησης. Οι πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι είναι δυνατό να μεταφερθεί ο πυρήνας από έναν ενήλικο σωματικό κύτταρο στο ωοκύτταρο που είναι απαλλαγμένο από τα μητρικά χρωμοσώματα, και να επιτευχθεί η εμβρυική ανάπτυξη υπό έλεγχο του μεταφερμένου πυρήνα. Τα Stem cells απομονομένα από ένα τέτοιο κλωνοποιημένο έμβρυο θα ήταν γενετικά ίδια με αυτά του ασθενή και δεν τίθεται κανένας κίνδυνος ανοσοαπόρριψης. Η απομόνωση των ολοδύναμων stem cells ποντικών από τους επαναπρογραμματισμένους ενήλικους πυρήνες σωματικών κυττάρων έχει μελετηθεί. Τα έμβρυα παρήχθησαν από την άμεση έγχυση από μηχανικά απομονωμένους πυρήνες σωρών κυττάρων στα ώριμα ωοκύτταρα. Εμβρυικά stem (ES) cells απομονωμένα από σωρούς- κύτταρο-παραγόμενων βλαστοκύστεων επέδειξαν τη χαρακτηριστική μορφολογία και έκφραση δεικτών συμβατικων ES cells και υποβλήθηκαν σε εκτενή διαφοροποίηση και στις τρείς εμβρυικές βλαστικές στιβάδες.(endoderm, mesoderm και ectoderm) στους όγκους, και στα χιμαιρικά έμβρυα. Τα ES cells παρουσιάστηκαν επίσης για να διαφοροποιήσουν εύκολα στους νευρώνες και το μυ σε καλλιέργειες. Τα ολοδύναμα stem cells μπορούν να προέλθουν από τους πυρήνες κατά το τέλος της διαφοροποίησης των ενήλικων σωματικών κυττάρων και προσφέρουν ένα πρότυπο σύστημα για την ανάπτυξη της θεραπείας που στηρίζεται σε αυτόλογα, ανθρώπινα ολοδύναμα stem cells. [33]

Τα stem cells του προστάτη, αρμόδια για την ανάπτυξη, ωρίμανση, και λειτουργία του προστάτη, έχουν εμπλεχτεί για την αιτιολογία σε δύο καλοήθεις υπερπλασίες του προστάτη (BPH) και προστατικούς καρκίνους (CaP). Εντούτοις, η έρευνα έχει παρακωλυθεί από την έλλειψη ενός οριστικού stem cell δείκτη. Έχει προσαρμοστεί το πρωτόκολλο για τη διαφορική λήψη Hoechst 33342 από αιμοποιητικά stem cells για να επιτρέψει την απομόνωση υποθετικών stem cells από τον προστάτη. Προστατικά επιθηλιακά κύτταρα που απομονώνονται από τον προστατικό ιστό αποκτηθέντα από τους ασθενείς με BPH μετά από την τρανσουριθρική οπισθοτομία από τον προστάτη χρωματίζονται με Hoechst 33342. Το Hoechst 33342 κόκκινο/μπλε κυτομετρικό σχεδιάγραμμα ροής σχεδιάζεται στη συνέχεια. Η Hoechst 33342 και η Pyronin Y χρησιμοποιείται για τη χρώση και καθορίζει τη θέση των κυτταρικών κύκλων.[34]

**Πρωτόκολλο για την απομόνωση πληθυσμού κυττάρων παραγόμενα από έναν ετερογενή μυ.**

Αυτό το πρωτόκολλο υιοθετείται για τον καθαρισμό ενός πληθυσμού από κύτταρα παραγόμενα από μυ - από το σκελετικό μυ C57Bl/6 ζώων. Η προκύπτουσα προετοιμασία περιλαμβάνει ένα μίγμα πολλών τύπων κυττάρων συμπεριλαμβανομένων των δορυφορικών κυττάρων (a.k.a., προγονικών κύτταρα μυών) και αιμοποιητικά κύτταρα παραγόμενα από ενεργό μυ. Αυτό το πρωτόκολλο είναι βασισμένο σε αυτό που περιγράφεται από τον Yablonka-Reuveni και άλλους με μικρές τροποποιήσεις.

**Συνοπτική περίληψη του πρωτοκόλλου:**

1. Αφαιρούμε το μυ από τα χαμηλότερα άκρα και το διάφραγμα των ζώων και μεταφέρουμε 10 cm καλλιεργούμενου ιστού σε δίσκο που περιέχει HBSS+.
2. Αφαιρούμε τα κόκκαλα και τους τένοντες από το μυ.
3. Προσεκτικά κομματιάζουμε το μυ σε ένα ελάχιστο ποσό από HBSS+.
4. Μεταφέρουμε τον κομματιασμένο μυ σε φρέσκο 50 mL κωνικό σωλήνα και υποβάλουμε σε φυγοκέντρωση 2000 rpm για 3 λεπτά.
5. Απορρίπτουμε τον υπόλοιπο. Προσθέτουμε έναν ισοδύναμο όγκο από 0.2% κολαγενάση τύπου II. Το αναμιγνείουμε καλά και το επωάζουμε σε 37ºC υδρόλουτρο για 30 λεπτά, με καλή ανάμίξη κάθε 10 λεπτά.
6. (προαιρετικά) Προσθέτουμε 15 mL Hanks+ σε σωλήνα. Περιστροφή σε 3000 rpm για 5 λεπτά. Απορρίπτουμε τον υπόλοιπο. Προσθέτουμε έναν ισοδύναμο όγκο από 0.25% τρυψίνη. Επωάζουμε σε 37ºC για 30 λεπτά σε ένα λουτρό ύδατος για 30 λεπτά, και τα ανακατεύουμε καλά κάθε 10 λεπτά.
7. Εάν πηδήξουμε το βήμα 6, γεμίζουμε τον κωνικό σωλήνα με Hanks+ για να ξεπλύνουμε την κολαγενάση και θετουμε σε περιστροφή σε 3000 rpm για 5 λεπτά. Προσθέτουμε περίπου 10 mL DMEM/HS στο σωλήνα. Εάν συνεχίσουμε με το βήμα 6, προσθέτουμε 10 mL DMEM/HS άμεσα στο σωλήνα που περιέχει την τρυπσίνη και συνεχίζουμε με το επόμενο βήμα.
8. Κονιορτοποιώ το δείγμα σε 5 υποπολλαπλάσια DMEM/HS. Μεταφέρουμε αυτό σε φρέσκο 50 mL κωνικός σωλήνας.
9. Πέρασμα του κονιορτοποιημένου το οποίο μεταφέρεται κατευθείαν σε 100 nm φίλτρο. Συλλέγουμε τα κύτταρα από τη φυγόκεντρο 3000 rpm για 5 λεπτά και τα επαναρτούμε σε 3 mL Hanks+.
10. Προετοιμάζουμε την κλίση Percoll.
11. Ήπια αναστολή επικαλύψεων κυττάρων επάνω σε Percoll κλίση. Πλύσιμο 50 mL σωλήνας με 3 mL Hanks+ και προσθέτουμε την επικάλυψη επάνω στην ίδια κλίση προκειμένου να συλλεχθεί ο μέγιστος αριθμός κυττάρων.
12. Υποβάλουμε σε φυγοκέντρωση σε 2500 rpm για 20 λεπτά με διακοπή στους 25οC.
13. Αφαιρούμε τα κύτταρα από 70%/40% Percoll διεπαφή και τα μεταφέρουμε σε φρέσκο κωνικό σωλήνα. Γεμίζουμε τον κωνικό έως το χείλος με 1x PBS προκειμένου να ξεπλύνει το Percoll. Συλλέγουμε τα κύτταρα από τη φυγοκέντριση.
14. Μετράμε τα κύτταρα με αιματοκυτόμετρο. Χαρακτηριστικές παραγωγές κυττάρικής σειράς από 1x106 σε 2x106 κύτταρα/ ποντίκι.

**Κλωνισμός και βλαστικά κύτταρα**



Εικόνα 11 [35]

Από το 1953, ήδη, οι βιολόγοι είχαν καταφέρει να δημιουργήσουν κλώνους βατράχων (από κύτταρα γυρίνων), ωστόσο ο πρώτος επιτυχής κλωνισμός ενήλικου θηλαστικού, το 1996, εξέπληξε πολλούς αναπτυξιακούς βιολόγους.

Επί αρκετές δεκαετίες, ήταν γενικά παραδεκτό ότι τα κύτταρα που έχουν διαφοροποιηθεί και εξειδικευτεί σε μία λειτουργία δεν μπορούν να «επαναπρογραμματιστούν» ώστε να χρησιμοποιηθούν για την αναδημιουργία ενός πλήρους οργανισμού ή ιστών προς μεταμόσχευση. Ο λόγος είναι ότι στα διαφοροποιημένα κύτταρα είναι ενεργά μόνο τα γονίδια που απαιτούνται για κάποιες εξειδικευμένες λειτουργίες (π.χ. παραγωγή μιας ορμόνης), ενώ τα γονίδια που περιέχουν τις «κατασκευαστικές προδιαγραφές» για την ανάπτυξη ολόκληρου του οργανισμού έχουν πάψει να εκφράζονται.

Αυτό που απέδειξε με τη δημιουργία της Ντόλι η ερευνητική ομάδα του δρ. Ίαν Γουίλμουτ στο Ινστιτούτο του Ρόσλιν ήταν ότι τα διαφοροποιημένα κύτταρα μπορούν να «συγχρονιστούν» με τον κυτταρικό κύκλο του ωαρίου και να [συγχωνευτούν](http://www.in.gr/innews/clones/clones03.htm#p) με αυτό για να δώσουν ένα βιώσιμο έμβρυο. Φαίνεται ότι το ίδιο το ωάριο περιέχει παράγοντες που «διαγράφουν» το γενετικό πρόγραμμα των κυττάρων, επαναφέροντάς τα έτσι στην αρχή της αναπτυξιακής πορείας τους.

Η διαπίστωση αυτή έχει πιθανώς μεγάλη σημασία για την εξέλιξη της ιατρικής πρακτικής, καθώς θεωρητικά επιτρέπει την δημιουργία ιστών που είναι ανοσιολογικώς απόλυτα συμβατοί με τον πάσχοντα και θα μπορούσαν να μεταμοσχευτούν σε αυτόν χωρίς την ανάγκη χορήγησης -επικίνδυνων- ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων. Τέτοια μοσχεύματα ονομάζονται αυτόλογα και μπορούν να δημιουργηθούν με πρώτη ύλη ένα δείγμα κυττάρων του ασθενούς, και ένα ωάριο από το οποίο έχει αφαιρεθεί ο πυρήνας.

Όταν τα έμβρυα που προκύπτουν βρίσκονται στο στάδιο της βλαστοκύστης (όταν αποτελούνται από λίγες δεκάδες έως εκατοντάδες κύτταρα) έχουν σχήμα κενής σφαίρας με πάχυνση στην μία πλευρά. (Εικόνα 11) Τα κύτταρα της περιοχής αυτής θα πολλαπλασιαστούν για να δώσουν ολόκληρο τον οργανισμό (τα υπόλοιπα κύτταρα του εμβρύου θα δώσουν τους εξωεμβρυϊκούς σχηματισμούς, όπως τον πλακούντα και τον ομφάλιο λώρο). Τα κύτταρα αυτά είναι ολοδύναμα, δηλαδή μπορούν να διαφοροποιηθούν προς οποιονδήποτε από τους (πάνω από 200) τύπους ιστών που αποτελούν το ανθρώπινο σώμα.

Τα αδιαφοροποίητα κύτταρα, που εξειδικεύονται ανάλογα με τις βιοχημικές συνθήκες στις οποίες αναπτύσσονται, περιγράφονται με τον γενικότερο όρο [βλαστικά κύτταρα](http://www.newscientist.com/nsplus/insight/clone/stem/everythingyou.html) και υπάρχουν σε περιορισμένους αριθμούς και στον ενήλικο οργανισμό, όπως στον μυελό των οστών και το νευρικό σύστημα.

Τα βλαστικά κύτταρα των ενηλίκων δεν είναι εξίσου «ευέλικτα» με τα εμβρυϊκά αντίστοιχά τους και είναι, στην καλύτερη περίπτωση, πολυδύναμα, δηλαδή μπορούν να δώσουν ορισμένους από τους τύπους ιστών και όχι όλους.

Εικόνα 12 Καρδιακή βαλβίδα και αγγειακά μοσχεύματα που καλλιεργήθηκαν στα εργαστήρια της Advanced Cell Sciences [35]

Τα βλαστικά κύτταρα αναμένεται να προκαλέσουν μια πραγματική επανάσταση στην Ιατρική τις επόμενες δεκαετίες, και έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί πειραματικά για την αντιμετώπιση εκφυλιστικών ασθενειών του εγκεφάλου, όπως η νόσος Πάρκινσον και Αλτσχάιμερ, για τη μερική αποκατάσταση των τραυμάτων του νωτιαίου μυελού που προκαλούν παράλυση, αλλά και για την παραγωγή καρδιακών, ηπατικών και επιθηλιακών κυττάρων προς μεταμόσχευση. (Εικόνα 12) Στις περισσότερες από τις έρευνες αυτές χρησιμοποιήθηκαν βλαστικά κύτταρα που απομονώθηκαν από έμβρυα πειραματόζωων. Σε αρκετές περιπτώσεις, οι ερευνητές δημιούργησαν έμβρυα - κλώνους και απομόνωσαν από αυτά κύτταρα, τα οποία στη συνέχεια επανεμφύτευσαν στο πειραματόζωο - δότη.

Η μελέτη των εμβρυϊκών κυττάρων επέτρεψε στους επιστήμονες να κατανοήσουν καλύτερα τους βιοχημικούς παράγοντες που καθορίζουν τη διαδικασία διαφοροποίησης και να αξιοποιήσουν με τον καλύτερο δυνατό τρόπο τα βλαστικά κύτταρα των ενηλίκων.

Τα τελευταία χρόνια, τα βλαστικά κύτταρα του μυελού των οστών έχουν αντικαταστήσει εν μέρει τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα στις πειραματικές μεθόδους καλλιέργειας ιστών. Οι ερευνητές που αντιτίθενται στη χρήση εμβρύων για ηθικούς λόγους διατείνονται ότι οι συνάδελφοί τους θα πρέπει να επικεντρωθούν στη μελέτη των βλαστικών κυττάρων από ενήλικες.

Πράγματι, κανείς δεν αποκλείει το ενδεχόμενο να υπάρξει στο μέλλον η δυνατότητα «εξαναγκασμένης» μετατροπής οποιουδήποτε τύπου ιστού του ενήλικου οργανισμού σε οποιονδήποτε άλλο. Πολλοί επιστήμονες, ωστόσο, θεωρούν ότι για την ανάπτυξη αποτελεσματικών μεθόδων καλλιέργειας αυτόλογων μοσχευμάτων είναι απολύτως απαραίτητη, προς το παρόν, η έρευνα σε ανθρώπινα έμβρυα, τα οποία μπορούν να προκύψουν και μέσω κλωνισμού.[35]

**Διαμάχη περιβάλλουσα την έρευνα στα stem cell**

Υπάρχει μια διαδεδομένη διαμάχη στην έρευνα των stem cells που προέρχεται από τις τεχνικές τις χρησιμοποιούμενες στη δημιουργία και τη χρήση των stem cells. Η έρευνα στα εμβρυικά stem cells είναι ιδιαίτερα αμφισβητούμενη επειδή, με την παρούσα κατάσταση στην τεχνολογία, η έναρξη μιας stem cell γραμμής απαιτεί την καταστροφή του ανθρώπινου εμβρύου ή/και θεραπευτική κλωνοποίηση. Οι αντίπαλοι της έρευνας υποστηρίζουν ότι αυτή η πρακτική είναι ένας ολισθηρός δρόμος για την αναπαραγωγική κλωνοποίηση και ισοδύναμος με την ενοργάνωση ενός ανθρώπου. Αντιστρόφως, ιατρικοί ερευνητές στον τομέα υποστηρίζουν ότι είναι απαραίτητο να συνεχιστεί η έρευνα στο εμβρυικό stem cell επειδή οι επακόλουθες τεχνολογίες αναμένονται να έχουν σημαντική ιατρική δυνατότητα, και ότι τα έμβρυα που χρησιμοποιούνται για την έρευνα είναι μόνο εκείνα που έτσι και αλλιώς θα καταστρέφοταν. (σαν προϊόν γονιμοποίησης invitro ). Αυτό στη συνέχεια, οδηγεί σε συγκρούσεις με τους αντιπάλους που είναι κατά της άμβλωσης, οι οποίοι υποστηρίζουν ότι ένα έμβρυο είναι ένας άνθρωπος και επομένως έχει το δικαίωμα στην αξιοπρέπεια ακόμα κι αν νόμιμα πρόκειται να καταστραφεί. Η επόμενη συζήτηση έχει προτρέψει τις αρχές σε όλον τον κόσμο να επιδιώκουν ρυθμιστικά νομικά πλαίσια λόγω του γεγονότος ότι η έρευνα στα stem cells αντιπροσωπεύει μια κοινωνική και ηθική πρόκληση.

**Καρκίνος και βλαστικά κύτταρα**

Θα περιγράψουμε τις βασικές αρχές των εννοιών της βιολογίας του καρκίνου, και θα ανασκοπήσουμε τις πρόσφατες προόδους στο ρόλο των καταστολέων στην γήρανση ,στην αύξηση των όγκων και την αναστολή αυτού του εμποδίου κατά τη διάρκεια του ξεκινήματος της αύξησης των όγκων. Στη γήρανση ο φαινότυπος μπορεί να προκληθεί από (1) γήρανση προκληθείσα από την φθορά των τελομερών στο τέλος της κυτταρικής μιτωτικής διάρκειας ζωής (MLS) και (2) επίσης από την αντιγραφή, επιταχυνόμενη γήρανση λόγω της ακούσιας ενεργοποίησης των ογκογονιδίων ή από την έκθεση των κυττάρων στανιδιοτοξίνες. Τα γονίδια p53/pRB/p16INK4A καταστολής όγκων (ογκοκατασταλτικά γονίδια) και τα σχετικά με την γήρανση σημεία ελέγχου περιλαμβάνονται στην εκτέλεση της αρχής της γήρανσης. Εντούτοις, η γήρανση ως μηχανισμός καταστολής όγκων είναι μια ελαττωματική διαδικασία και τα γηρασμένα κύτταρα με τις μεταλλαγές ή τις επιμεταλλαγές σε αυτά τα γονίδια διαφεύγουν την μιτωτική καταστροφή-προκληθέντα θάνατο των κυττάρων με το να γίνουν πολυπλοειδικά κύτταρα. Αυτά τα πολυπλοειδικά γιγαντιαίακύτταρα, προτού να πεθάνουν, δίνουν αφορμή για διάφορα κύτταρα με τα βιώσιμα γονιδιώματα μέσω της πυρηνικής βλάστησης και της ασυμμετρικής κυτταροκίνησης. Αυτός ο τρόπος κυτταροδιαίρεσης έχει κληθεί neosis και ο άμεσος neotic απόγονος κύτταρα Raju. Τα τελευταία κληρονομούν την γενωματική αστάθεια και παροδικά παρουσιάζουν τις ιδιότητες των βλαστικών κυττάρων δεδομένου ότι διαφοροποιούνται σε καρκινικά κύτταρα και την παρουσίαση εκτεταμένα, αλλά, όχι απεριόριστα MLS, στο τέλος του οποίου εισάγουν την φάση γήρανσης και μπορούν να υποβληθούν στον δευτερεύοντα/τριτεύοντα neosis για να παραγάγουν την επόμενη γενεά των κυττάρων Raju. Το Neosis επαναλαμβάνεται αρκετές φορές κατά τη διάρκεια της αύξησης των όγκων μιας μη-συγχρονισμένης διάπλασης, είναι ο τρόπος προέλευσης της ανθεκτικής αύξησης των όγκων και συμβάλλει στην ετερογένεια και τη συνοχή των καρκινικών κυττάρων. Το βασικό γεγονός κατά τη διάρκεια του neosis εμφανίζεται να είναι η παραγωγή του μιτωτικά βιώσιμου θηγατρικού γονιδιώματος μετά από την επιγενετική διαμόρφωση από το μη βιώσιμο πολυπλοειδικό γονιδίωμα του μητρικού κυττάρου neosis (NMC). Αυτό οδηγεί στην αύξηση των ανθεκτικών καρκινικών κυττάρων. Δεδομένου ότι κατά τη διάρκεια του neosis, το σημείο ελέγχου της ατράκτου δεν ενεργοποιείται, αυτό μπορεί να προκαλέσει την ανευπλοειδία. Κατά συνέπεια, τα καρκινικά κύτταρα επίσης προορίζονται για να πεθάνουν λόγω της γήρανσης, αλλά μπορούν να διαφύγουν την γήρανση λόγω των μεταλλαγών ή των επιμεταλλαγών στη διάβαση των σημείων ελέγχου της γήρανση. Η γένεση και η επαναλαμβανόμενη αναγένεση των κυττάρων Raju με το παροδικό "stemness" μέσω του neosis είναι ζωτικής σημασίας σπουδαιότητας στην προέλευση και τη συνεχή αύξηση των όγκων, μια διαδικασία που εμφανίζεται να είναι κοινή για όλους τους τύπους όγκων. Αντίθετα από την παρούσα αντιμιτωτική θεραπεία των καρκίνων, η αντι- neotic θεραπεία δεν θα προκαλούσε ανεπιθύμητες παρενέργειες. Μια λογική υπόθεση θα μπορούσε να γίνει για την προέλευση και την πρόοδο των όγκων στις οποίες το neosis διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στην πολλαπλών βημάτων καρκινογένεση στους διαφορετικούς τύπους καρκίνων και να καθοριστούν οι καρκίνοι ως ενιαία ασθένεια του ανεξέλεγκτου neosis λόγω της αποτυχίας του ελέγχου των σημείων γήρανσης.[36]

Το εντερικό επιθήλιο είναι ένας αυτοανανεούμενος ιστός που αντιπροσωπεύει ένα μοναδικό μοντέλο για τη μελέτη των διασυνδεδεμένων κυψελοειδών διαδικασιών όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση, η μετανάστευση κυττάρων και η καρκινογένεση. Αν και τα βλαστικά κύτταρα του εντέρου ακόμα δεν έχουν χαρακτηριστεί φυσικά ή και δεν έχουν απομονωθεί, τα στοιχεία κατά τη διάρκεια της προηγούμενης δεκαετίας έχουν εμπλέξει έντονα το μονοπάτι του Wnt/ βήτα catenin σήματος στη συντήρησή τους και την πρόοδο στον καρκίνο. Είναι προς μελέτη τα διαφοροποιητικά χαρακτηριστικά του εντερικού επιθηλίου σε σχέση με τη λειτουργία των βλαστικών κυττάρων, για να επεξηγηθούν οι σημαντικότερες γενετικές τροποποιήσεις που μπορούν να οδηγήσουν στον καρκίνο, και και να αποδειχθεί πώς η Wnt/ βήτα catenin σηματοδότηση ελέγχει την ομοιόσταση σε αυτόν τον ιστό.[37]

Στα stem cells του μεσεγχύματος (MSC) έχει δώθει μεγάλη προσοχή στον τομέα της μεταμόσχευσης των αιματοποιητικών stem cells επειδή όχι μόνο υποστηρίζουν την αιμοποίηση αλλά και παρουσιάζουν μια σημαντική ανοσοκατασταλτική δραστηριότητα που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αποτρέψει την ανεπιθύμητη αλλοαντιδραστικότητα. Η ανοσοκατασταλτική δραστηριότητα ασκείται κυρίως στο επίπεδο του πολλαπλασιασμού των T-κυττάρων. Τα Msc εμφανίζουν μια παρόμοια αντιπολλαπλασιαστική δραστηριότητα στα κύτταρα όγκων αιματοποιητικής και μη αιματοποιητική προέλευσης. In vitro, τα MSC παρήγαγαν μιά παροδική διακοπή των καρκινικών κυττάρων στη G1 φάση του κυτταρικού κύκλου. Αυτό συνοδεύθηκε από μια μείωση του αποπτωτικού ποσοστού ακόμα και όταν περιορίζοταν οι παράγοντες επιβίωσης. Εντούτοις, όταν εγχύθηκαν καρκινικά κύτταρα σε μη-παχύσαρκο διαβητικό –από ανοσοκατεσταλμένα ποντίκια συνδυασμένα από κοινού με ΤΑ MSC, η αύξησή τους ήταν πολύ γρηγορότερη σε σύγκριση με την ομάδα που λάμβανε μόνο τα καρκινικά κύτταρα. Για να εξηγηθεί η απόκλιση μεταξύ της in vitro και in vivo συμπεριφοράς, προτείνεται ότι αυτά τα MSC έχουν τη δυνατότητα να διαμορφώσουν έναν καρκίνο κατάλληλων stem cells σε όποια τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να συντηρήσουν τη δυνατότητα να πολλαπλασιαστούν και να στηριξουν την κακοήθη διαδικασία. Η κλινική χρήση λοιπόν των MSC στις συνθήκες στις οποίες μια κακοήθης ασθένεια περιλαμβάνεται πρέπει να αντιμετωπιστεί με ιδιαίτερη προσοχή.

**Γήρανση των stem cells**

Οι ποιοτικές και ποσοτικές επιδράσεις της γήρανσης πάνω στα stem cells δεν έχουν κατανοηθεί ικανοποιητικά, αν και πιστεύεται ότι τα stem cells από νεώτερο δότη θα πρέπει να έχουν μεγαλύτερο δυναμικό. Έτσι, πολλοί ερευνητές προτείνουν τα εμβρυϊκά stem cells που μπορούν να έχουν ένα πλεονέκτημα σε σχέση με τα stem cells ενηλίκων πάνω στις θεραπείες κυτταρικής αντικατάστασης. Όλα τα stem cells επενδύουν αρκετά σε μηχανισμούς αυτοπροστασίας και μπορούν να αναγεννηθούν, αλλά το εάν ή όχι μπορούν να ξεπεράσουν τη διάρκεια ζωής του ατόμου, αποτελεί αντικείμενο πολλών συζητήσεων. Από την άλλη μεριά, παραμένουν βιώσιμα στη διάρκεια ζωής ενός θηλαστικού, μικροί αριθμοί μπορούν να επαναποικίσουν ολόκληρο το θηλαστικό και πολλές ανίατες ασθένειες έχουν μηχανισμούς που δεν περιλαμβάνουν stem cells. Από την άλλη μεριά, τα περισσότερα stem cells, συμπεριλαμβανομένου αυτών από εμβρυϊκούς και ενήλικους ιστούς, δεν είναι αθάνατα και δείχνουν μια αύξηση αποπτωτικών μηχανισμών με την ηλικία Υπάρχουν μερικά δεδομένα από μοντέλα ποντικών, που δείχνουν ότι η αποτελεσματικότητα εποικισμού των παλαιότερων ΗSC, είναι μικρότερη από αυτήν των νεότερων ΗSC, και ότι τα ενήλικα stem cells, βρίσκονται σε συναγωνιστικό μειονέκτημα όταν μεταμοσχεύονται με εμβρυϊκά κύτταρα Παλαιότερα ΗSC παρουσιάζουν ελαττωμένη ικανότητα αυτό-πολλαπλασιασμου, μικρότερο δυναμικό ανάπτυξης και παράγουν μειωμένο αριθμό απογόνων όταν υπόκεινται σε απαιτήσεις για αιμοτιοίηση, και αυτή η ελάττωση στη λειτουργία είναι ακόμη πιο φανερή, όταν παλαιότερα δίειτι οεΐΐε υφίστανται αυξημένο stress. Όμοιες ποιοτικές επιδράσεις της γήρανσης συναντούνται με ΜSC. Στρώμα από παλαιότερο οστικό μυελό αμβλύνει τις αιμοποιητικές απαντήσεις μετά από μεταμόσχευση και αυξάνει την μετα-μοσχευτική αυτό-ανοσία.

Τα περισσότερα αν όχι όλα τα stem cells, παράγουν τελομεράση, που επιμηκύνει τα τελομερή, προστατεύει από γονιδιο-τοξική βλάβη και συσχετίζεται με κυτταρική αθανασία. Η αυτό-ανανέωση και το δυναμικό αναπαραγωγής των stem cells, πιθανώς εξαρτάται από την ικανότητα της τελομεράσης να διατηρήσει σταθερά τελομερή και σαν ένδειξη αναφέρεται ότι το μήκος των τελομερών αποτελεί το βιολογικό δείκτη της αναπαραγωγικής ιστορίας των κυττάρων. Κύτταρα από τη στελεχιαία σειρά (germline) έχουν πολύ μακριά τελομερή, που δεν κοντένουν με τη γήρανση των οργανισμών και εμβρυϊκά stem cells αναμένεται να έχουν πλεονέκτημα σε σχέση με ενήλικα stem cells από αυτήν τη ματιά. Συγκριτικές μελέτες από εμβρυϊκό ήπαρ και ΗSC από ενήλικο οστικό μυελό, έχουν επιβεβαιώσει ότι τα ΗSC εμβρυϊκού ήπατος έχουν υψηλότερη δραστηριότητα τελομεράσης και τα. ΗSC από οστικό μυελό έχουν κοντύτερα τελομερή, που ακόμη μια φορά δηλώνει ότι το δυναμικό πολλαπλασιασμού των HSC είναι περιορισμένο και ελλαττώνεται με την πάροδο της ηλικίας. [15]

**Προκλήσεις για το μέλλον**

Οι κύριες προκλήσεις που μένουν να ξεπερασθούν πριν τα εμβρυϊκά stem cells εφαρμοσθούν σε ανθρώπινη νόσο, περιλαμβάνουν τη γέννηση μεγάλων αριθμών επιθυμητών κυτταρικών τύπων σε καθαρή μορφή, ηθικές επιφυλάξεις αναφορικά με τη συλλογή και τη χρήση αμβλωτικών ιστών, έλεγχος της αποβολής από το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή, κατανόηση του κυτταρικού τύπου που απαιτείται για να διορθωθεί μια συγκεκριμένη παθολογία και του τρόπου διοχέτευσης του για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα.

Αν και μερικά παραδείγματα της θεραπευτικής χρήσης εμβρυϊκών stem cells έχουν αναφερθεί σε ασθένειες ανθρώπων και ζώων, ένας αριθμός ερωτηματικών σχετιζόμενου ν με τη βιολογία των εμβρυικών stem cells παραμένει αναπάντητος. Είναι τα stem cells που προκύπτουν από διαφορετικές πηγές εμβρυϊκού αίματος ή ιστού λειτουργικά παρόμοια. Τα εμβρυϊκά stem cells, έχουν πραγματικά μεγαλύτερο δυναμικό ανάπτυξης από τους ομολόγους τους στον ιστό ενηλίκου; Τα εμβρυϊκά ΜSC έχουν μοναδικές ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες συγκρινόμενα με τα ΜSC από ενήλικα και είναι λιγότερο ευπαθή στη γήρανση ή στην απόπτωση; Είναι τα διαφορετικά επίπεδα γονιδιακής έκφρασης ανάμεσα σε εμβρυϊκό μυελό των οστών και ήπαρ. ειδικά στα γονίδια εκείνα που σχετίζονται στενά με αιμοποιηση, η μοριακή βάση για την ερμηνεία του γεγονότος ότι διαφορετικά ΗSC από διαφορετικούς ιστούς, φέρουν διαφορετικά χαρακτηριστικά; Επιπρόσθετα, υπάρχουν διαφορετικές διαστάσεις της αλληλεπίδρασης stem cells - ιστού ξενιστή, που πρέπει να συζητηθούν: Ποιοι είναι οι μηχανισμοί εγκατάστασης που οδηγούν τα stem cells στην περιοχή βλάβης μετά από μεταμόσχευση; Τι ελέγχει τη διαφοροποίηση των εμφυτεύσιμων κυττάρων και οδηγεί τοπικούς παράγοντες σε δράση; Τελικά η χρησιμοποίηση εμβρυϊκών ιστών για οποιαδήποτε εφαρμογή δεν είναι ευρέως αποδεκτή και αποτελεί ακόμη αντικείμενο διαφωνιών Μερικές ερευνητικές ομάδες έχουν εκφράσει ανησυχία ότι τα προγράμματα ανάκτησης εμβρυϊκού ιστού, παρουσιάζουν υψηλούς κινδύνους λοίμωξης και η κλινική πρακτική της χρήσης εμβρυϊκού ιστού συχνά εμποδίζεται από περιορισμένη διαθεσιμότητα και ηθικούς προβληματισμούς.

Συμπερασματικά, τα εμβρυϊκά stem cells είναι πιο αρχέγονα από τα ενήλικα stem cells και έχουν μεγαλύτερο δυναμικό διαφοροποίησης. Τα εμβρυϊκά stem cells έχουν επίσης ένα πλεονέκτημα εμφύτευσης σε σχέση με κύτταρα από ενήλικες, εφόσον οι εμβρυϊκοί δέκτες είναι περισσότερο δεκτικοί για μοσχεύματα αλλογενών δωρητών από τους ενήλικες λήπτες. Οι μελέτες τώρα εστιάζουν στον καθορισμό του μηχανισμού της εμφύτευσης, εγκατάστασης και in vivo διαφοροποίησης των εμβρυϊκών stem cells, όπως επίσης και στην επιβεβαίωση των προτεινόμενων ανοσολογικών και αναπαραγωγικών πλεονεκτημάτων τους, σε σχέση με stem cells από ιστό ενήλικα. Κάποια εμβρυϊκά stem cells μπορούν να εξελιχθούν για να γίνουν σχεδόν τόσο τροποποιήσιμα, όσο τα κύτταρα ΕS και το δυνατόν χρήσιμα στην αναγεννησιακή ιατρική. Καινούργιες θεραπευτικές προσεγγίσεις, όπως η ενδομήτρια μεταμόσχευση εμβρυϊκών stem cells για ex vivo γονιδιακή θεραπεία, είναι πιθανά εφαρμόσιμες σε ένα μεγάλο φάσμα γενετικών παθήσεων, προ και μετά του τοκετού.[15]

**Βιβλιογραφία**

1.Becker AJ, McCulloch EA, Till JE (1963). "Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells". Nature 197: 452-4. [PMID 13970094](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=13970094).

2.Siminovitch L, McCulloch EA, Till JE (1963). "The distribution of colony-forming cells among spleen colonies". Journal of Cellular and Comparative Physiology 62: 327-36. [PMID 14086156](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=14086156).

3.Tuch B (2006). "Stem cells--a clinical update.". Aust Fam Physician 35 (9): 719-21. [PMID 16969445](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16969445).

4.Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakowa SF, Luria EA, Ruadkow IA (1974). "Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method". Exp Hematol 2 (2): 83-92. [PMID 4455512](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=4455512).

5.Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN (1976). "Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs". Exp Hematol 4 (5): 267-74. [PMID 976387](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=976387).

6.Gardner RL (2002). "Stem cells: potency, plasticity and public perception". Journal of Anatomy 200 (3): 277-82. [PMID 12033732](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=12033732).

7.Xie T, Spradling A (1998). "decapentaplegic is essential for the maintenance and division of germline stem cells in the Drosophila ovary.". Cell 94 (2): 251-60. [PMID 9695953](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=9695953).

8.Song X, Zhu C, Doan C, Xie T (2002). "Germline stem cells anchored by adherens junctions in the Drosophila ovary niches.". Science 296 (5574): 1855-7. PMID 12052957.

9.Takahashi K, Yamanaka S (2006). "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors". Cell 126 (4): 663-76. PMID 16904174.

10.Gahrton G, Björkstrand B (2000). "[Progress in haematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma](http://www.blackwell-synergy.com/doi/full/10.1046/j.1365-2796.2000.00706.x)". J Intern Med 248 (3): 185-201. PMID 10971785.

11.Lindvall O (2003). "Stem cells for cell therapy in Parkinson's disease". Pharmacol Res 47 (4): 279-87. PMID 12644384.

12.Goldman S, Windrem M (2006). "Cell replacement therapy in neurological disease". Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 361 (1473): 1463-75. PMID 16939969.

13.Wade N (2006-08-14). Some Scientists See Shift in Stem Cell Hopes. New York Times. Retrieved on [2006](http://en.wikipedia.org/wiki/2006)-[12-28](http://en.wikipedia.org/wiki/December_28).

14.Shostak S (2006). "(Re)defining stem cells". Bioessays 28 (3): 301-8. PMID 16479584

 [β] <http://www.brown.edu/Courses/BI0032/adltstem/adult-stem-cell.gif>

[γ]<http://www.stemcellresearchfoundation.org/Medical_Illustrations/MultipotentStemCells.jpg>

[δ] <http://www.scienceinafrica.co.za/pics/10_2003/stem2.jpg>

[ε] <http://www.sciencecases.org/stem_cells/Stem_cell_embryo_20x_01.jpg>

[στ] <http://fig.cox.miami.edu/~cmallery/150/devel/c7.21.9.stem.cells.jpg>

[ζ]<http://content.answers.com/main/content/wp/en/thumb/a/af/400px-StemCellsDia.png>

[η] Munsie MJ, Michalska AE, O'Brien CM, Trounson AO, Pera MF, Mountford PS, Isolation of pluripotent embryonic stem cells from reprogrammed adult mouse somatic cell nuclei, Monash Institute of Reproduction and Development, Monash University, Clayton, Victoria, Australia, PMID: 10985386.

[θ] <http://tovima.dolnet.gr/print_article.php?e=B&f=14711&m=H01&aa=1>

[ι] David A. Prentice, PhD, Testimony before the House Government Reform Subcommittee on Criminal Justice, Drug Policy and Human Resources, July 17, 2001. <http://www.stemcellresearch.org/testimony/prentice3.htm>

[κ] Bhatt RI, Brown MD, Hart CA, Gilmore P, Ramani VA, George NJ, Clarke NW, Novel method for the isolation and characterisation of the putative prostatic stem cell, Genito-Urinary Cancer Research Group, Cancer Research UK Paterson Institute for Cancer Research, Christie Hospital NHS Trust, Manchester, UK, PMID: 12879455.

[μ] Cbr Systems, Inc. (2006). [Common Misconceptions About Cord Blood Banking](http://www.cordblood.com/cord_blood_banking_with_cbr/common_misconceptions/index.asp). [Cord Blood Registry](http://www.cordblood.com/). Retrieved on [September 20](http://en.wikipedia.org/wiki/September_20), [2006](http://en.wikipedia.org/wiki/2006).

[ν] [NIH data](http://www.prnewswire.com/cgi-bin/stories.pl?ACCT=104&STORY=/www/story/12-19-2005/0004236299&EDATE=)

[ο] Raymer, Elizabeth (October 14, 2005). [New strategy will boost cord blood stem cells](http://www.news.utoronto.ca/bin6/051014-1723.asp). [University of Toronto](http://www.news.utoronto.ca/). Retrieved on [September 20](http://en.wikipedia.org/wiki/September_20), [2006](http://en.wikipedia.org/wiki/2006).

[π] [Dr. Kurtzberg Info](http://www.dukehealth.org/physicians/385F24432A328A8285256DFD006A9443)

[ρ] <http://en.wikipedia.org/wiki/Cord_blood>

[σ] <http://www.liaison.com.gr/i/gr/diseases.php>

[τ] http://www.lifecord.gr/video.asp

[φ] Pinto D, Clevers H., Wnt, stem cells and cancer in the intestine, Hubrecht Laboratory, Netherlands Institute for Developmental Biology, 3584 CT Utrecht, The Netherlands, PMID: 15715524

[χ] Rajaraman R, Guernsey DL, Rajaraman MM, Rajaraman SR., Stem cells, senescence, neosis and self-renewal in cancer, Department of Medicine, Division of Hematology, Dalhousie University, Halifax NS, B3H 1X5. R.Rajaraman@Dal.Ca., PMID: 17092342

[ψ] <http://www.cryo-save.com>

[ω] <http://www.in.gr/innews/clones/clones04.htm>

[ω1] Στεφανίδης Κ., Εμβρυϊκά Stem Cells, Σεμινάρια Α’ Μαιευτικής – Γυναικολογικής Κλινικής Παν/μίου Αθηνών, Νοσοκ. «Αλεξάνδρα».

[ω2] <http://stemcells.nih.gov/info/basics/basics3.asp>