



ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ
DEMOCRITUS UNIVERSITY OF THRACE

Βλαστοκύτταρα και αιμοποίηση

Πέτρος Κολοβός

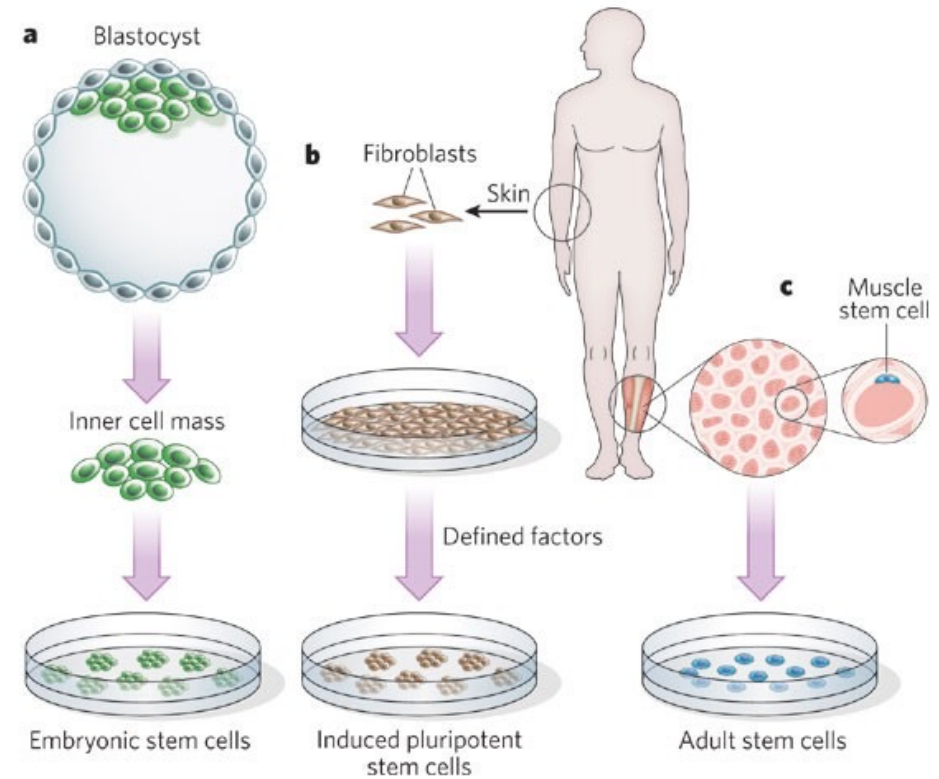


ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Είδη Βλαστοκυττάρων

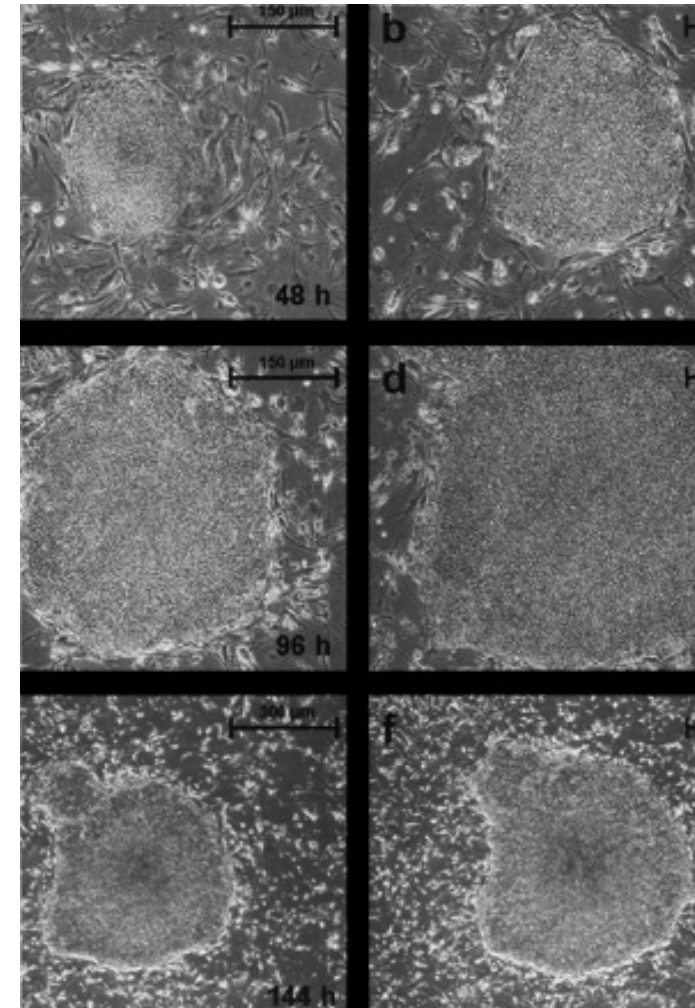
- Εμβρυικά βλαστικά κύτταρα (Embryonic stem cells)
- Ιστοειδικά βλαστικά κύτταρα (tissue specific stem cells, adult stem cells)



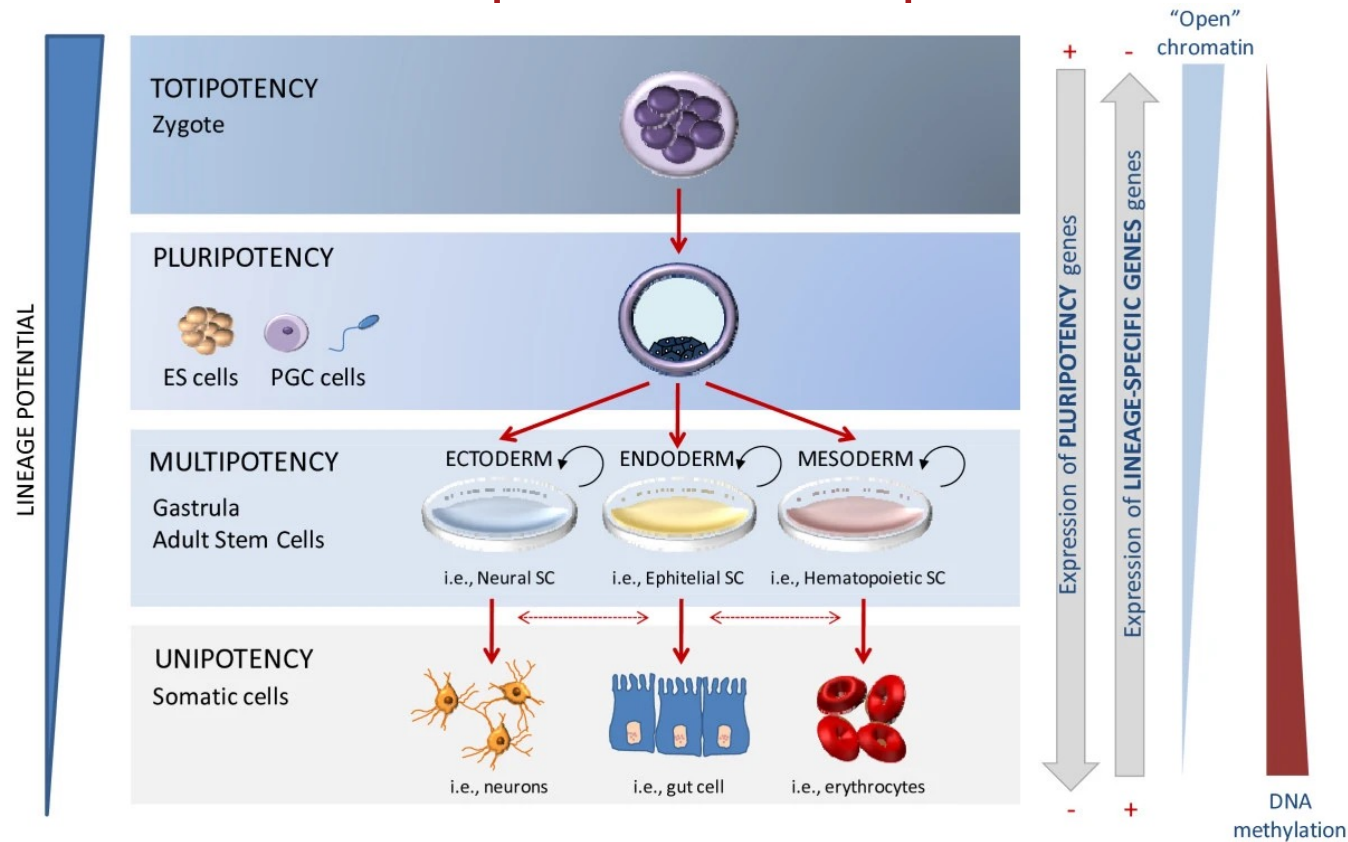
Βλαστοκύτταρα

2 βασικές ιδιότητες

- A. **πολλαπλασιάζονται** και **αυτοανανεώνονται** για μεγάλα χρονικά διαστήματα
- B. είναι **αδιαφοροποίητα**, δεν έχουν δηλαδή αναπτύξει δομές ούτε κατασκευάσει πρωτεΐνες, όπως κάνουν τα εξειδικευμένα κυτταρικά είδη



Είδη Βλαστοκυττάρων

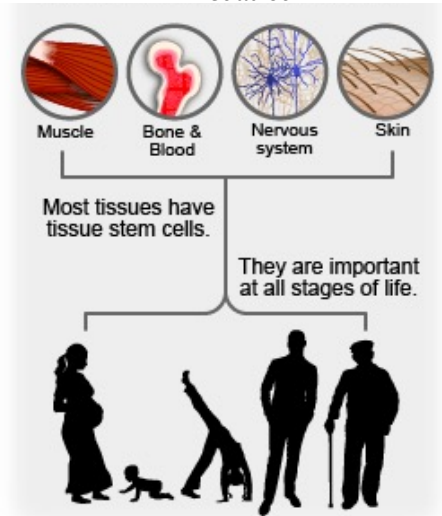


- A) Ολοδυναμα (Totipotent)
- B) Πολυδυναμα/Πλειοδύναμα (Pluripotent)
- Γ) Ολιγοδύναμα (Multipotent)
- Δ) Μονοδυναμα (Unipotent)

Πηγές Βλαστοκυττάρων

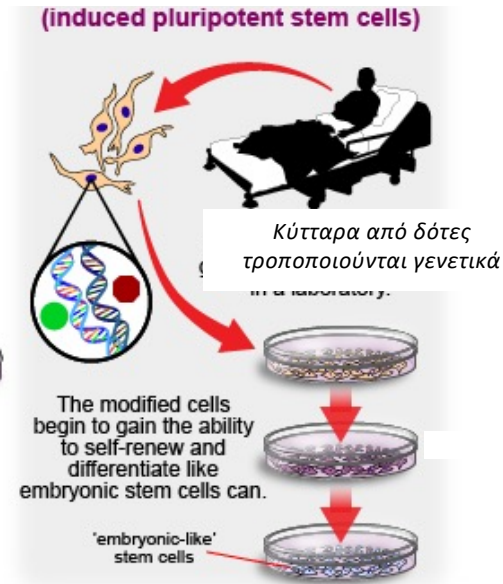
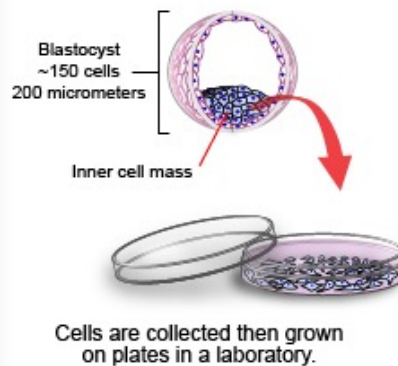
Σωματικά

Επιτρέπουν την ανάπτυξη, επούλωση και αντικατάσταση κυττάρων που πεθαίνουν



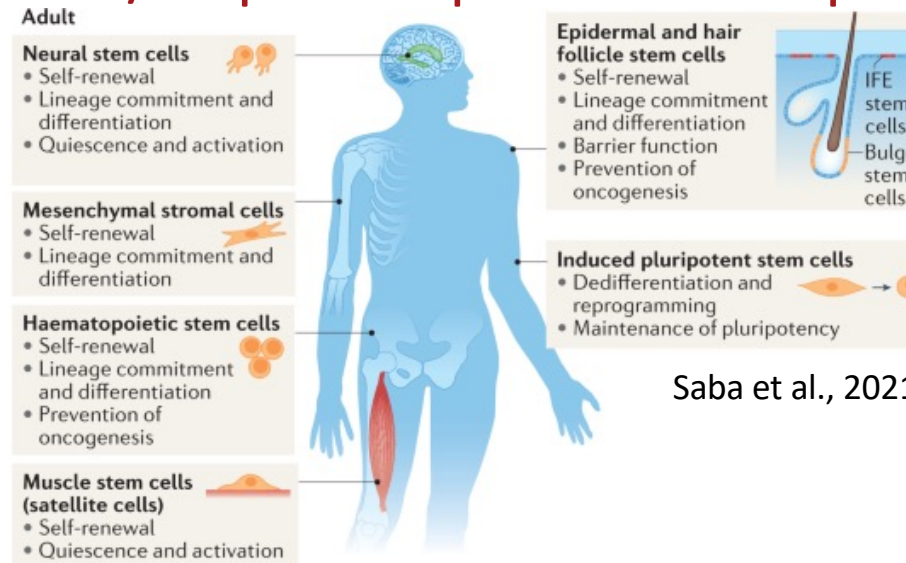
Εμβρυικά (κύτταρα ES) Επαγόμενα (κύτταρα iPS)

Τα κύτταρα προέρχονται από την βλαστική μάζα που βρίσκεται στο εσωτερικό της βλαστοκύστης



- ❑ Σωματικά
 - I. Δεν μπορούν να εξελιχθούν σε οποιονδήποτε τύπο κυττάρου του σώματος
 - II. Μπορούν να δώσουν ορισμένα είδη κυττάρων του σώματος
 - III. Πολύ δύσκολο να δημιουργηθούν στο εργαστήριο
- ❑ Εμβρυικά (ES)
 - I. Προέρχονται από την βλαστική μάζα στο εσωτερικό της βλαστοκύστης
 - II. Μπορούν να εξελιχθούν σε οποιονδήποτε τύπο κυττάρου του σώματος.
- ❑ Επαγόμενα (iPS)
 - I. Κύτταρα του σώματος εξελίσσονται σε βλαστοκύτταρα στο εργαστήριο
 - II. Μπορούν να εξελιχθούν σε οποιονδήποτε τύπο κυττάρου του σώματος.

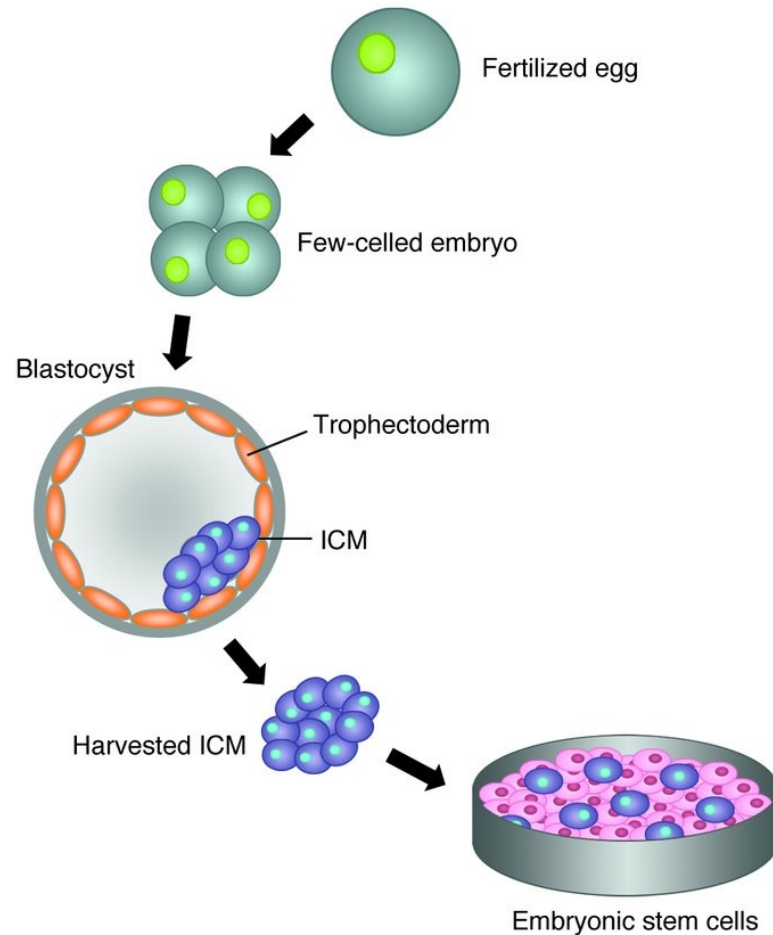
Ενήλικα/Σωματικά βλαστοκύτταρα



Τα ενήλικα/σωματικά βλαστοκύτταρα

- I. Υπάρχουν στο σώμα των ενηλίκων
- II. Περίπου 20 διαφορετικά είδη βλαστοκυττάρων, υπεύθυνα για την **ανανέωση** και **αποκατάσταση** κυττάρων που παρουσιάζουν βλάβη.
- III. Σε αντίθεση με τα εμβρυικά βλαστοκύτταρα, τα ενήλικα βλαστοκύτταρα παρουσιάζουν **ένα βαθμό εξειδίκευσης**. Π.χ. τα βλαστοκύτταρα του αίματος καταλήγουν στην παραγωγή διαφόρων τύπων κυττάρων του αίματος,
- IV. Η σύγχρονη έρευνα έχει δείξει ότι μπορούν να παράγουν **ποικιλία κυττάρων διαφορετικών τύπων**. Σε πειραματικές συνθήκες έχει επιτευχθεί κύτταρα που απομονώθηκαν από το αίμα πειραματόζων να δημιουργήσουν τελικά κύτταρα των μυών, του συκωτιού και του δέρματος.
- V. In vitro καλλιέργεια των βλαστοκυττάρων για μεγάλο χρονικό διάστημα έχει ως αποτέλεσμα την **αυθόρμητη διαφοροποίηση** τους.
- VI. Η σημερινή έρευνα επικεντρώνεται στους τρόπους με τους οποίους θα μπορούσαν να **διεγείρουν ενήλικα βλαστοκύτταρα** κάνοντάς τα περισσότερο πλειοδύναμα/πολυδύναμα (Multi/Pluripotent)

Εμβρυικά βλαστοκύτταρα (κύτταρα ES)



- Εμβρυικά (ES)
 - I. Προέρχονται από την βλαστική μάζα στο εσωτερικό της βλαστοκύστης
 - II. Μπορούν να εξελιχθούν σε οποιονδήποτε τύπο κυττάρου του σώματος.

Συλλογή βλαστοκυττάρων

- ✓ Μυελό των οστών
 - Μικρή επεμβατική ιατρική επέμβαση με την οποία λαμβάνεται μυελός των οστών από τα οστά της πυέλου.

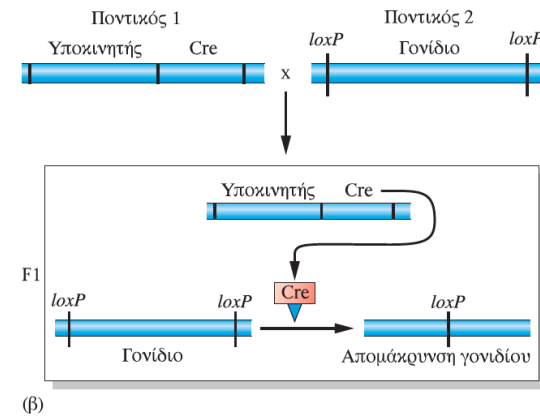
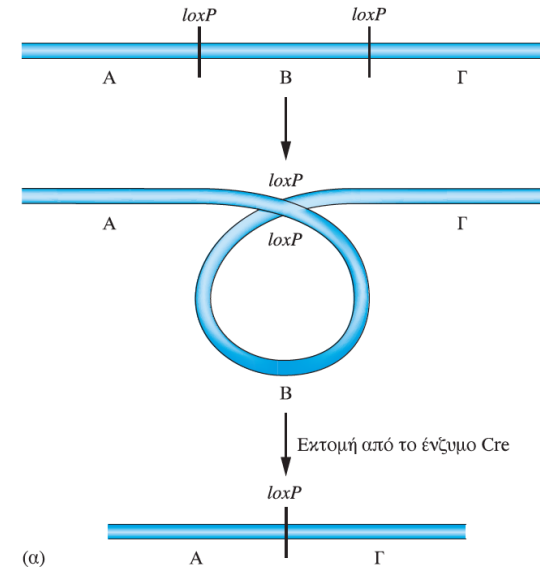
- ✓ Αίμα
 - Μερικά βλαστικά κύτταρα εμφανίζονται στο αίμα (τα περισσότερα βρίσκονται στο μυελό των οστών).
 - Τα βλαστικά κύτταρα διαχωρίζονται από το αίμα (FACS).

- ✓ Ομφάλιο λώρο ενός νεογέννητου μωρού
 - Η καλύτερη πηγή!!!!

Κλασικά πειράματα με βλαστοκύτταρα

Σύστημα Cre-lox

- Στοχευμένη αδρανοποίηση ενός γονιδίου σε συγκεκριμένο κυτταρικό τύπο
- Σχεδιασμός χαρτών πεπρωμένου
- Ιστοειδική ενεργοποίηση ενός διαγονιδίου



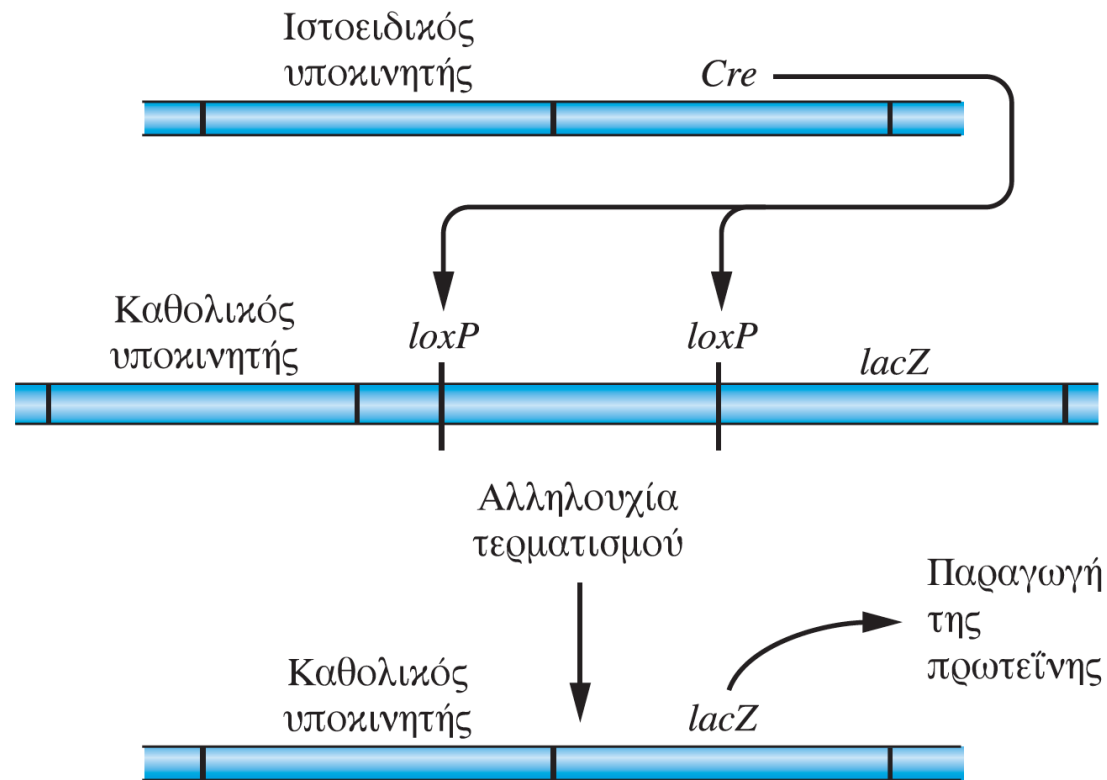
Βασικές Αρχές Βιολογίας Ανάπτυξης



Κλασικά πειράματα με βλαστοκύτταρα

Η ενεργοποίηση του υποκινητή που καθοδηγεί την έκφραση του Cre έχει ως αποτέλεσμα τη μόνιμη σήμανση των κυττάρων.

- Mx1-Cre
- Tie2-Cre
- HSC-SCL-Cre-ERT



Επαγόμενα (iPS) βλαστοκύτταρα

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012
Sir John B. Gurdon, Shinya Yamanaka

Share this:      768

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012

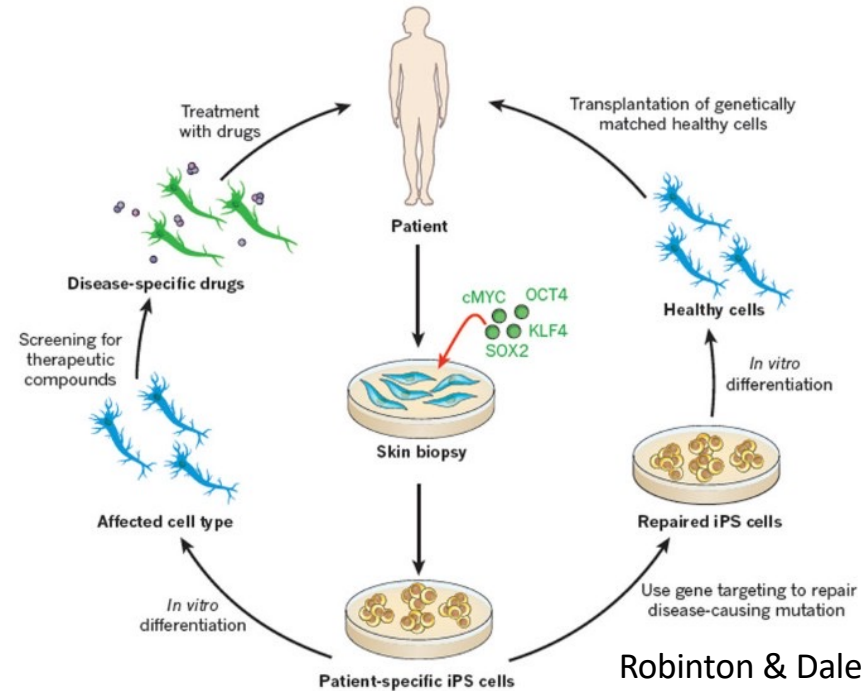


Photo: U. Montan
Sir John B. Gurdon
Prize share: 1/2



Photo: U. Montan
Shinya Yamanaka
Prize share: 1/2

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012 was awarded jointly to Sir John B. Gurdon and Shinya Yamanaka "for the discovery that mature cells can be reprogrammed to become pluripotent"

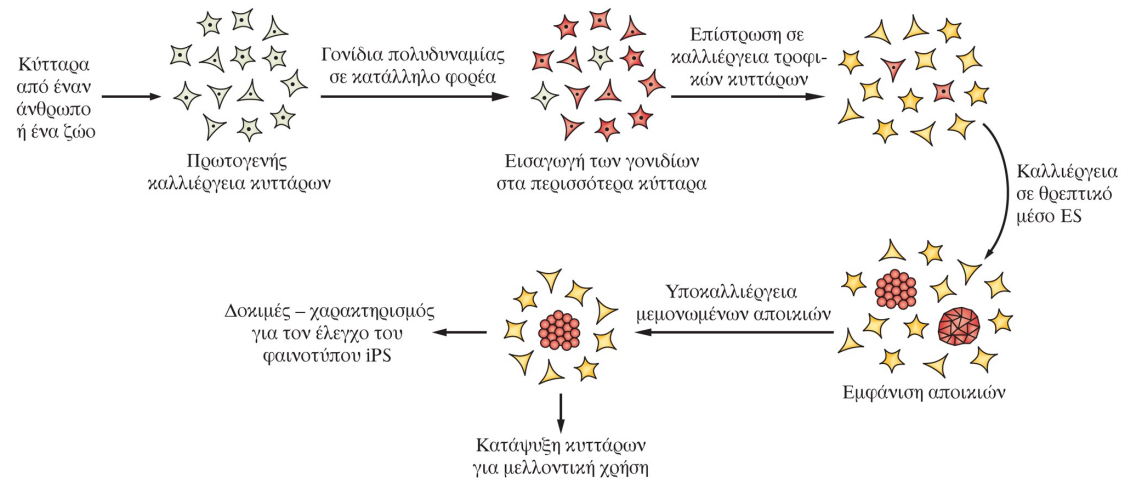


Με την **υπερέκφραση** ενός «κουαρτέτου» μεταγραφικών παραγόντων OCT4, SOX2, KLF4 και c-MYC δημιούργησαν από ινοβλάστες δέρματος ποντικού, πολυδύναμα stem κύτταρα τα οποία εκπληρούν **όλα τα κριτήρια ορισμού των εμβρυϊκών stem κυττάρων**

Τα παραχθέντα iPS κύτταρα είναι παρόμοια με τα ανθρώπινα εμβρυϊκά stem κύτταρα σε πολλές παραμέτρους (π.χ δείκτες επιφανείας, γονιδιακή έκφραση). **Δεν πρόκειται όμως για πανομοιότυπα κύτταρα**, καθώς αναλύσεις με DNA μικροσυστοιχίες ανίχνευσαν διαφορές

Επαγόμενα (iPS) βλαστοκύτταρα

- Πέρα από τα Oct4, Klf4, Nanog, Myc μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλα γονίδια
- Ιδιότητες που χαρακτηρίζουν εάν μια σειρά είναι iPS
 - ✓ Συγκεκριμένο πρότυπο γονιδιακής έκφρασης.
 - ✓ Συγκεκριμένους επιφανειακούς δείκτες.
 - ✓ Υψηλή ενεργότητα αλκαλικής φωσφατάσης.
 - ✓ Συγκεκριμένη μορφολογία αποικιών.
 - ✓ Απουσία μεθυλίωσης του DNA στις αλληλουχίες των υποκινητών των ενδογενών γονιδίων πολυδυναμίας.
 - ✓ Ικανότητα σχηματισμού εμβρυοειδών σωμάτων ικανών να διαφοροποιηθούν σε παράγωγα και τριών βλαστικών δερμάτων.
 - ✓ Φυσιολογικό καρυότυπο.
 - ✓ Ανενεργά ιικά γονίδια.

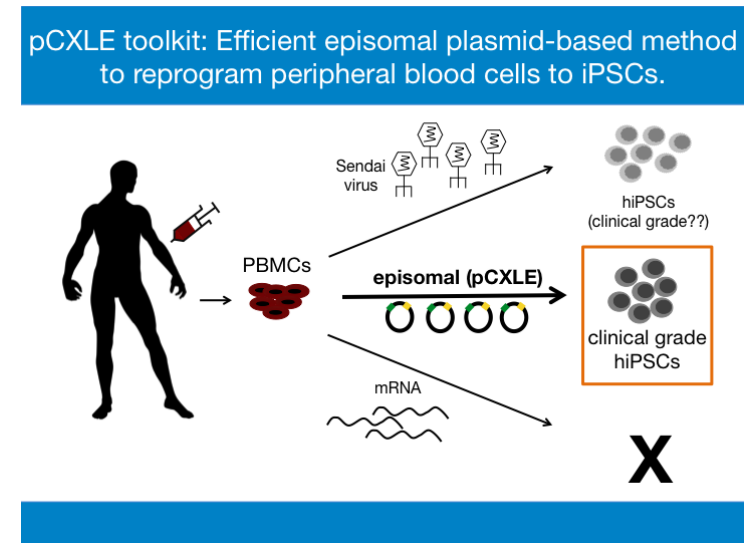


Γιατί τα iPS βλαστοκύτταρα δεν χρησιμοποιούνται στην θεραπεία;

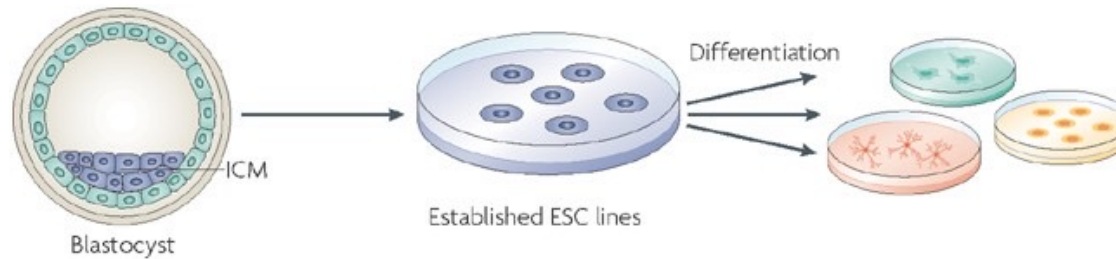
- Για την δημιουργία των iPS χρησιμοποιούνται ρετροϊκοί ή λεντοϊκοί φορείς.
- Οι ιοί αυτοί αντιγράφουν αντίστροφα το RNA σε DNA και ενσωματώνονται στο γενετικό υλικό του δέκτη
- Έτσι τα iPS έχουν αντίγραφο του γενετικού υλικού του ιού.
- Οι ενθέσεις γονιδίων στο γονιδίωμα είναι δυνατόν να δημιουργήσουν μεταλλάξεις (π.χ. ακατάλληλη ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση γονιδίων)
- Τα ανενεργά γονίδια παραγόντων πολυδυναμίας (π.χ. Myc) μπορούν να επανεργοποιηθούν και να δημιουργήσουν όγκους.

- Για να χρησιμοποιηθούν τα iPS κλινικά, πρέπει να χρησιμοποιηθούν μέθοδοι που δεν περιλαμβάνουν την ένθεση γενετικού υλικού, όπως τα επισώματα:

- ✓ Κυκλικά μόρια DNA που φέρουν μια θέση έναρξης της αντιγραφής, σπανίως ενσωματώνονται στο γονιδίωμα και χάνονται μετά από μερικές κυτταρικές διαιρέσεις



Θεραπεία με βλαστοκύτταρα



Hynes, 2008

Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Τα βλαστοκύτταρα, κάτω από κατάλληλες συνθήκες μπορούν να ωριμάσουν σε κύτταρα άλλου, διαφορετικού ιστού και να λειτουργήσουν ως ολοδύναμα και όχι απλά ως πολυδύναμα. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται **πλαστικότητα (plasticity)** και αποτελεί τη βάση της κυτταρικής θεραπείας.

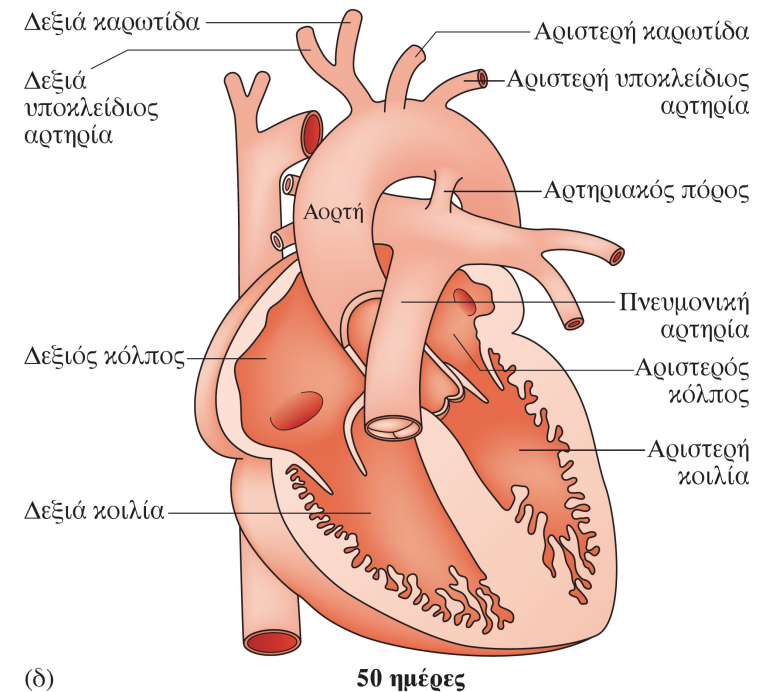
Επιτυχής χρήση βλαστοκυττάρων έχει παρατηρηθεί και στους τομείς της:

- Γαστρεντερολογίας (περίπτωση νόσου του Crohn)
- Γυναικολογίας και Αναπαραγωγικής Ιατρικής (περίπτωση συνδρόμου Asherman)
- Ορθοπαιδικής (σε κατάγματα και αλλοιώσεις του χόνδρου των αρθρώσεων)
- Ρευματολογίας (περιπτώσεις ρευματοειδούς αρθρίτιδας)
- Πλαστικής Χειρουργικής (για την επούλωση πληγών και εγκαυμάτων και όχι μόνον!)

Καρδιά

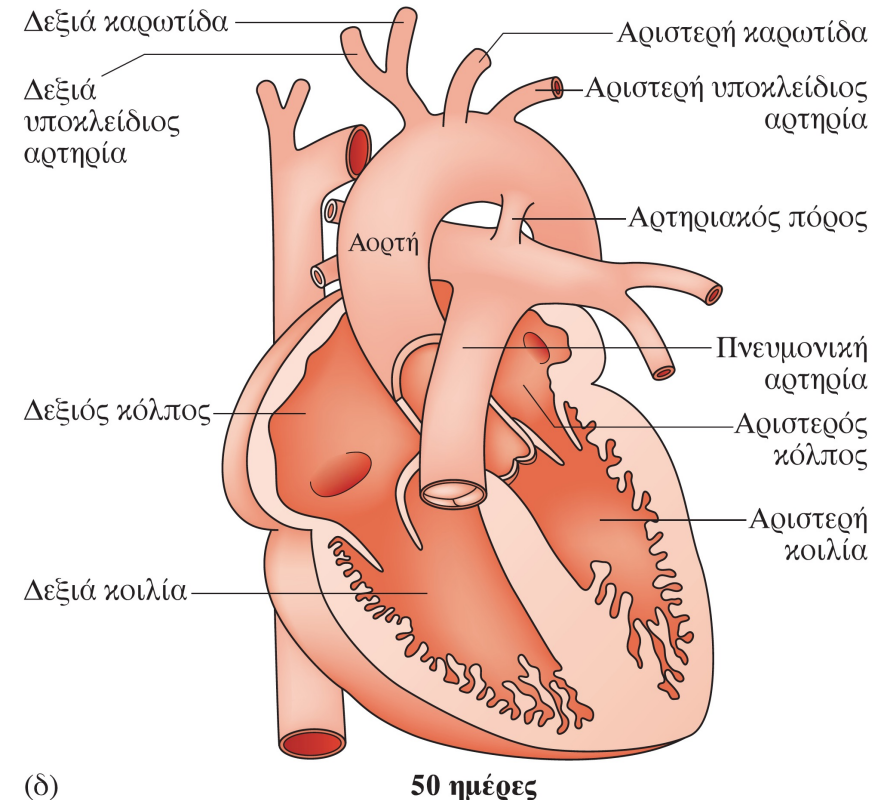
Η ανάπτυξη της καρδιάς στις διάφορες τάξεις των σπονδυλωτών πραγματοποιείται με παρόμοιο τρόπο, αν και η τελική δομή του οργάνου διαφέρει. Τα πτηνά και τα θηλαστικά έχουν τετράχωρη καρδιά με διπλή κυκλοφορία

1. Με κάθε παλμό της καρδιάς το αποξυγονωμένο αίμα από τις φλέβες εισέρχεται στον δεξιό κόλπο και ρέει στην δεξιά κοιλία
2. Η κοιλία συσπάται και ωθεί το αίμα στους πνεύμονες διαμέσου της πνευμονικής αρτηρίας
3. Στον ίδιο χρόνο, οξυγονωμένο αίμα επιστρέφει από τους πνεύμονες διαμέσου των πνευμονικών φλεβών στον αριστερό κόλπο, στην συνέχεια στην αριστερή κοιλία και από εκεί προς όλο το σώμα διαμέσου της αορτής



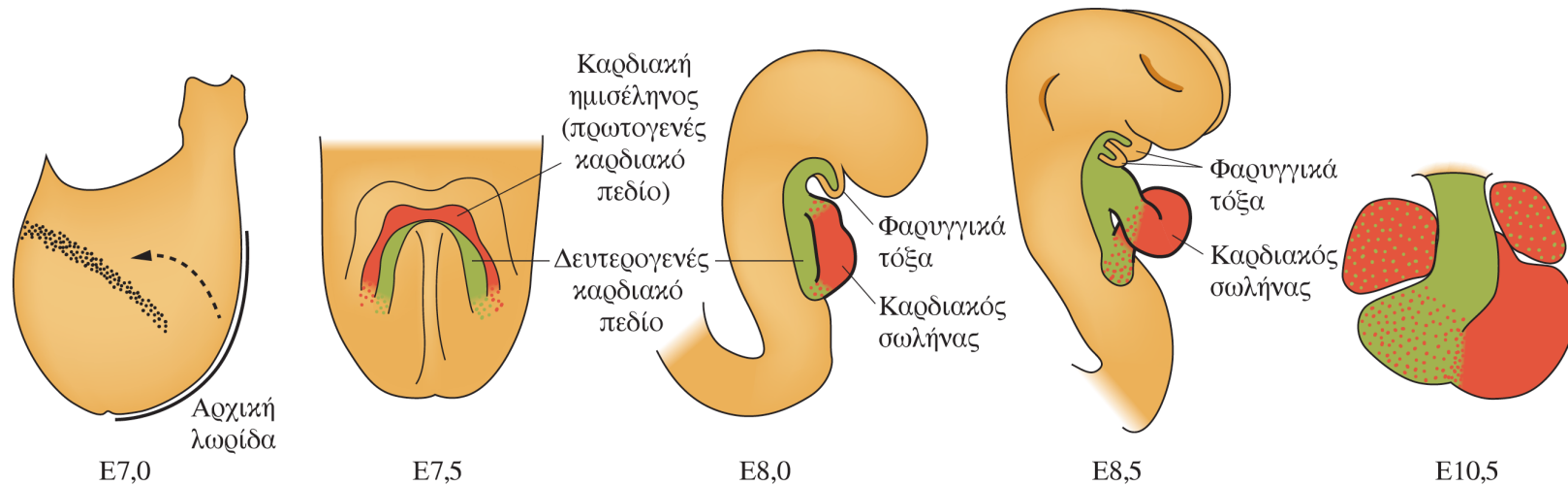
Καρδιά στα έμβρυα

- ✓ Η διπλή κυκλοφορία δεν λειτουργεί μέχρι να ωριμάσουν οι πνεύμονες.
- ✓ Το κυκλοφορικό τίθεται σε λειτουργία την στιγμή της γέννησης
- ✓ Το κύριο όργανο ανταλλαγής αερίων είναι ο πλακούντας, από τον οποίο το αίμα πάει στον δεξιό κόλπο μέσω της ομφαλικής φλέβας.
- ✓ Το αίμα διέρχεται το ωοειδές τμήμα (foramen ovale), μια οπή στο μεσολπικό διάφραγμα, και από εκεί στην αριστερή κοιλία και την συστηματική κυκλοφορία
- ✓ Επίσης αίμα εξέρχεται από την δεξιά κοιλία στην κυκλοφορία, μέσω μιας σύνδεσης ανάμεσα στην πνευμονική αρτηρία και την αορτή, η οποία ονομάζεται αρτηριακός πόρος (ductus arteriosus)
- ✓ Μερικές μέρες μετά την γέννηση, τόσο το ωοειδές τμήμα όσο και ο αρτηριακός πόρος, κλείνουν, ώστε να εμποδίζουν την ροή υγρών από τον δεξιό κόλπο στον αριστερό και αναγκάζοντας το αίμα που εξέρχεται από την δεξιά κοιλία να προωθηθεί στους πνεύμονες



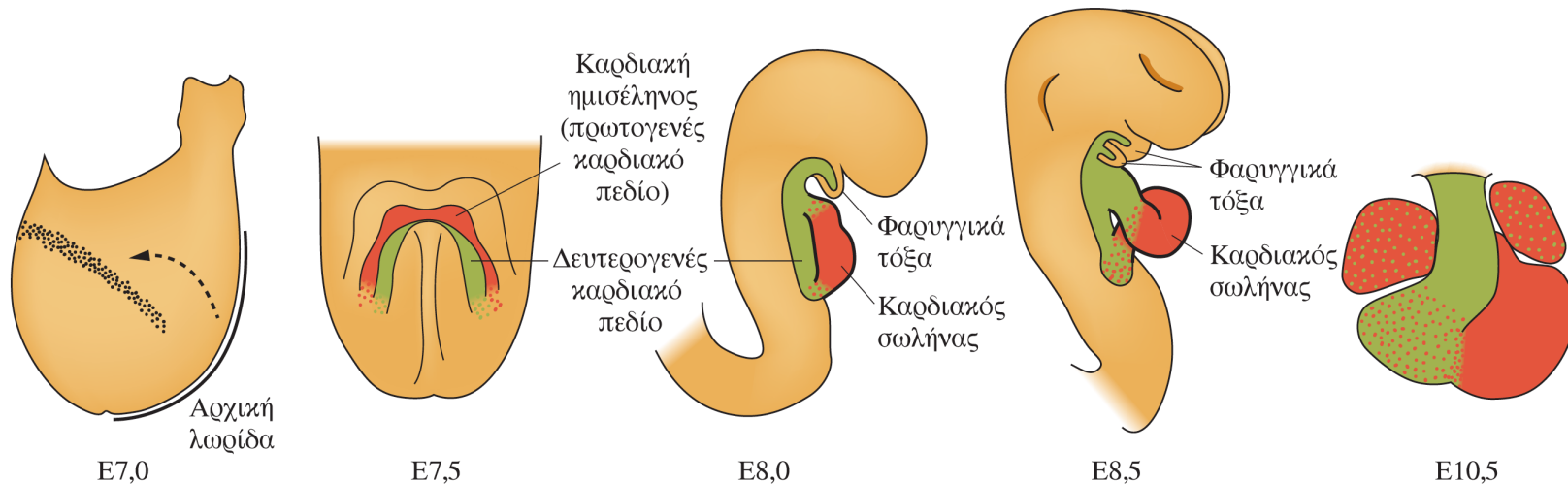
Σχηματισμός καρδιακού σωλήνα

- Καρδιογενικό μεσόδερμα προέρχεται από την επιβλάστη
- Κύτταρα από το καρδιογενικό μεσόδερμα διασχίζουν το εμπρόσθιο 1/3 της αρχικής λωρίδας σχηματίζοντας δύο πλευρικές περιοχές, οι οποίες στη συνέχεια μετακινούνται προς τα εμπρός δημιουργώντας δύο επιμήκεις λωρίδες εκατέρωθεν του εμβρυικού άξονα.
- Το οπίσθιο τμήμα σχηματίζει το περικάρδιο στις στεφανιαίες αρτηρίες
- Στο έμβρυο του ποντικού, κύτταρα από τις πλευρικές περιοχές μεταναστεύουν μέσω της αρχικής λωρίδας και σχηματίζουν την καρδιακή ημισέληνο.
- Οι δύο πλευρές συντήκονται στο μεσοκοιλιακό τμήμα και σχηματίζουν τον καρδιακό σωλήνα



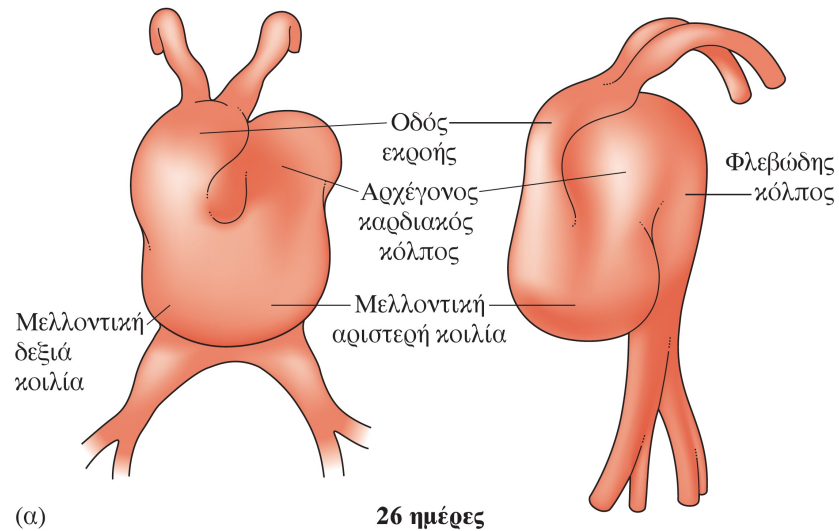
Σχηματισμός καρδιακού σωλήνα

- Γονίδια που εντοπίζονται στην καρδιακή ημισέληνο είναι: *Nkx2.5*, *Gata4-6*, *Mef2c*, *Tbx5*
- *Nkx2.5* σημαντικό για τον σχηματισμό της καρδιάς:
 - Στο ποντίκι όλες οι κυτταρικές στοιβάδες του καρδιακού σωλήνα εκφράζουν το *Nkx2.5*
 - Ποντίκι με αδρανοποιητικές μεταλλάξεις του *Nkx2.5* διαθέτει καρδιά, όμως η ανάπτυξή της είναι ατελής
 - Στο *Xenopus* η υπερέκφραση του *Nkx2.5* αυξάνει το μέγεθος της καρδιάς



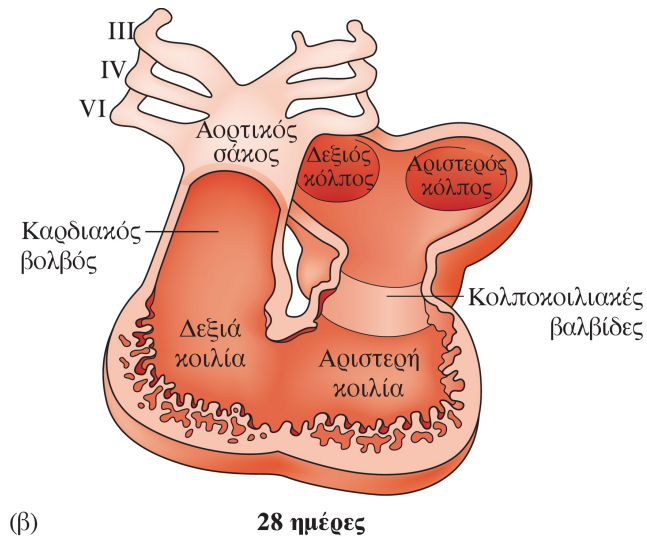
Ανάπτυξη των διαφραγμάτων

- Ο σχηματισμός της αγκύλης του καρδιακού σωλήνα οδηγεί στη μετακίνηση των καρδιακών κόλπων στο εμπρόσθιο τμήμα και των κοιλιών στο οπίσθιο.
- Τα σημεία εισόδου των φλεβών μετακινούνται στην δεξιά πλευρά του κόλπου.
- Η πνευμονική φλέβα δημιουργείται στην αριστερή πλευρά του καρδιακού κόλπου.



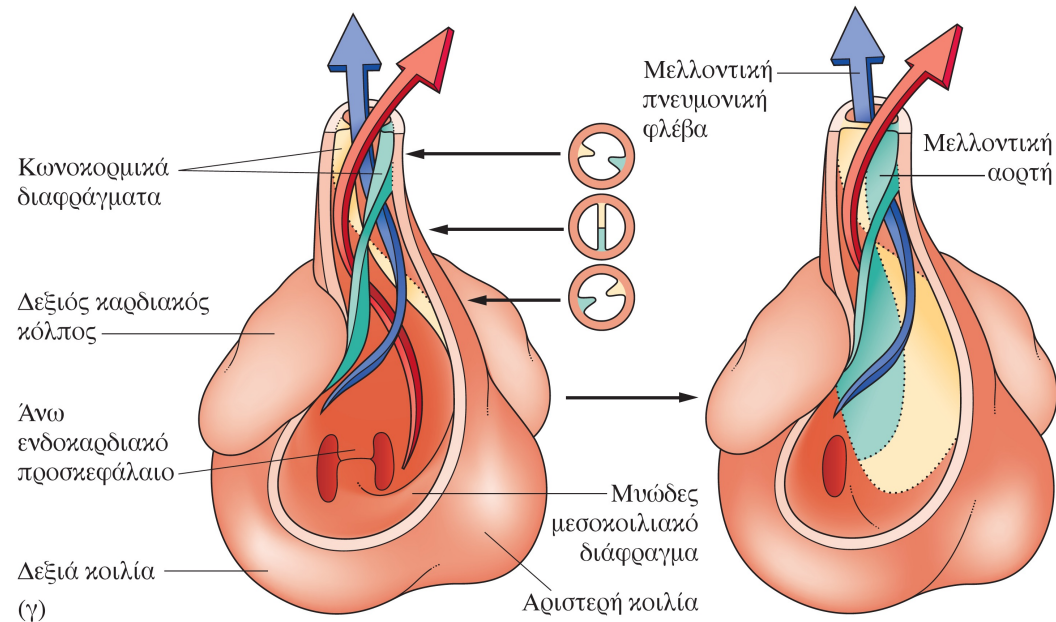
Ανάπτυξη των διαφραγμάτων

- Ο αρχέγονος κόλπος συνδέεται με την μελλοντική αριστερή κοιλία
- Η μελλοντική δεξιά κοιλία φέρει ολόκληρη την οδό εκροής.

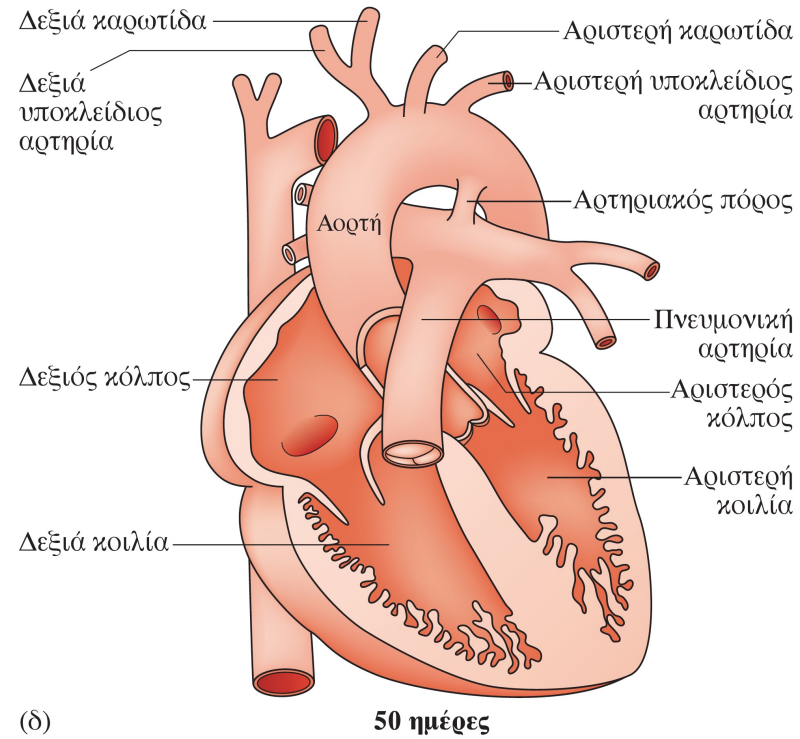


Ανάπτυξη των διαφραγμάτων

- Κατά την περίοδο σχηματισμού του ενδιάμεσου διαφράγματος, ευθυγραμμίζεται ο δεξιός και ο αριστερός κόλπος με την αντίστοιχη κοιλία
- Το μυώδες κοιλιακό διάφραγμα αναπτύσσεται και διαχωρίζει τη δεξιά από την αριστερή πλευρά
- Ο μεταγραφικός παράγοντας Tbx5 εκφράζεται στην αριστερή κοιλία, ενώ ο Tbx20 στην δεξιά



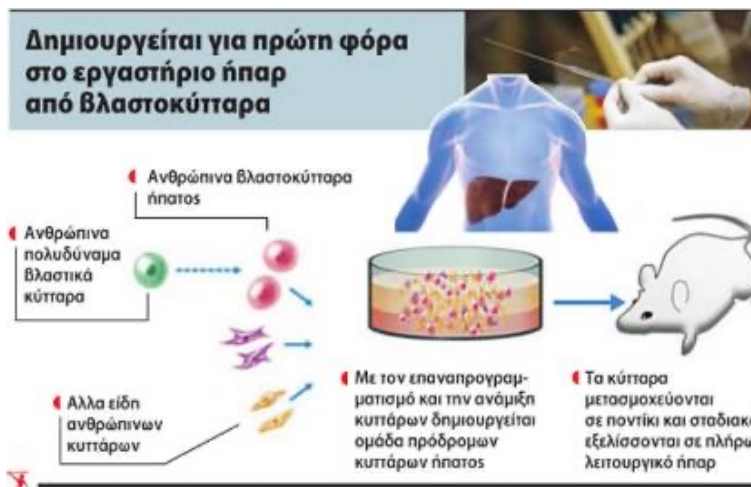
Ανθρώπινη καρδιά εμβρύου



Συγγενείς ανωμαλίες της καρδιάς

- Στοχευμένη αδρανοποίηση γονιδίων στα ποντίκια (ομόζυγα) είναι θανατηφόρα
- Ετερόζυγα ποντίκια είναι φυσιολογικά
- Στον άνθρωπο οι περισσότερες ανωμαλίες είναι ετερόζυγες
 - Η μισή γονιδιακή έκφραση είναι αρκετή να δώσει μια βιώσιμη καρδιά αλλά με ανωμαλίες
- Τετραλογία του Fallot
 - Μετάλλαξη του Nkx2.5
 - Μετατόπιση της αορτής προς τη δεξιά κοιλία
 - Στένωση πνευμονικής αρτηρίας
 - Οπή στο κοιλιακό διάφραγμα
 - Διόγκωση της δεξιάς κοιλίας

Τα βλαστοκύτταρα στο αίμα



ΚΑΙΡΟΣ | ΙΝΦΟΠΟΛΗ | ΑΓΕΛΕΙΣ | ΖΩΔΙΑ | LIVE Η ΚΙΝΗΣΗ

Αναζήτηση

OUT LOUD

Πλειστηριαμοί και μειοδοσίες

ΠΡΟΤΟΘΗΜΑ **ΘΕΜΑ.gr** www.protothema.gr

ΠΡΟΤΟΣΕΛΙΔΑ | WEBTV | ΕΚΔΟΣΗ ΚΥΡΙΑΚΗΣ | BLOGS | 9 °C

ΕΛΛΑΔΑ | ΠΟΛΙΤΙΚΗ | ΟΙΚΟΝΟΜΙΑ | ΚΟΣΜΟΣ | ΣΠΟΡ | CAR + SPEED | PEOPLE | ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΣ | ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ | ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ | ENGLISH | ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΑ

ΘΕΜΑ 104 | 6 Fm ΠΑΤΗΣΤΕ ΕΔΩ

ΗΤΑΝ ΔΙΚΑΙΟ, ΕΓΙΝΕ ΓΡΑΨΗ... ΚΟΙ ΒΑΡΕΣ ΔΟΥΚΑ, ΠΙΕΡΡΟΣ

ON AIR

PROTOTHEMA **Υγεία**

Ύφεση στη συλλογή βλαστοκυττάρων την τελευταία πενταετία

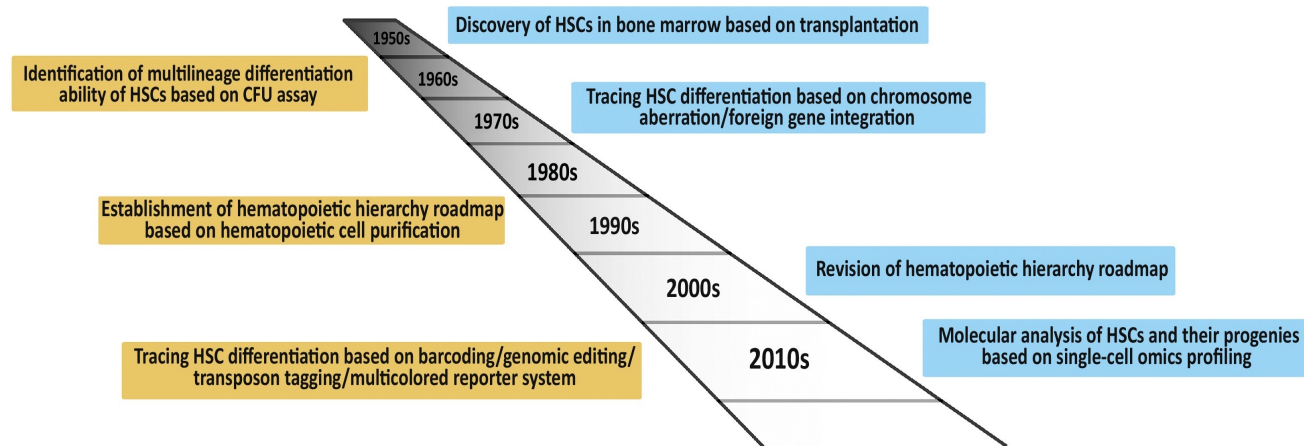
Νέα δεδομένα στη θεραπεία της λευχαιμίας με βλαστοκύτταρα

Σοφία Νέτα • 14/05/2014 • 08:34

Λευχαιμία -Βλαστοκύτταρα και μυελός οστών απο δότη αποτελεσματικότερα στη θεραπεία

Αιμοποίηση

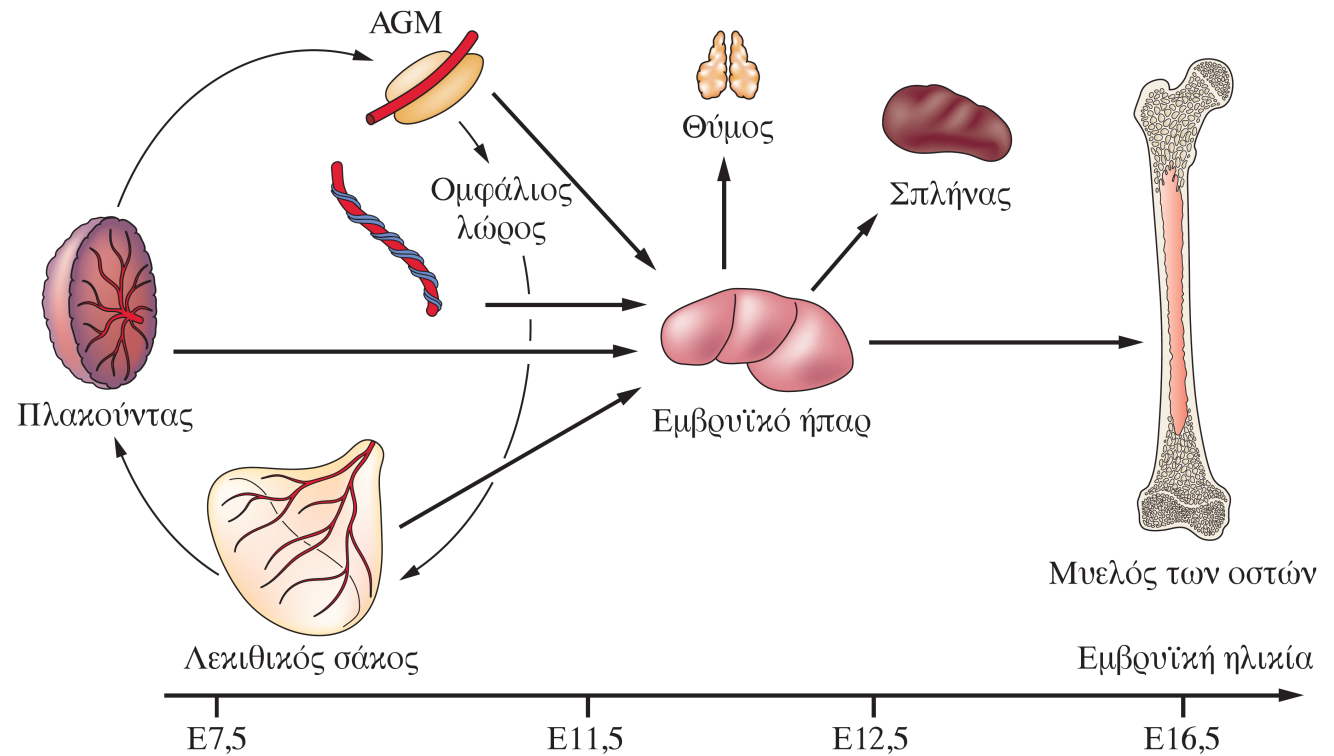
Αιμοποίηση καλείται το σύνολο των διεργασιών που επιτελούνται κατά την συνεχή αναπαραγωγή, ωρίμανση και διαφοροποίηση των κυττάρων του αίματος (γένεση ώριμων κυττάρων από τα αρχέγονα πολυδύναμα αιμοποιητικά κύτταρα στο μυελό των οστών).



Trends in Cell Biology

Αιμοποιητικά όργανα κατά την ανάπτυξη του ανθρώπου

- ✓ Λεκιθικός ασκός
- ✓ Πλακούντας
- ✓ Μυελός των οστών
- ✓ Ήπαρ
- ✓ Σπλήνας
- ✓ Θύμος αδένας
- ✓ Λεμφαδένες
- ✓ Άλλα περιφερικά λεμφικά όργανα



Μοντέλα Φυσιολογικής Αιμοποίησης

Στοχαστικό Μοντέλο: είναι εντελώς τυχαίο αν ένα κύτταρο θα διαφοροποιηθεί ή θα αυτοδιπλασιαστεί

Deterministic model: Η τύχη του κυττάρου καθορίζεται από μεταγραφικούς παράγοντες, κυτταροκίνες και άλλους διαλυτούς εξωκυττάριους παράγοντες

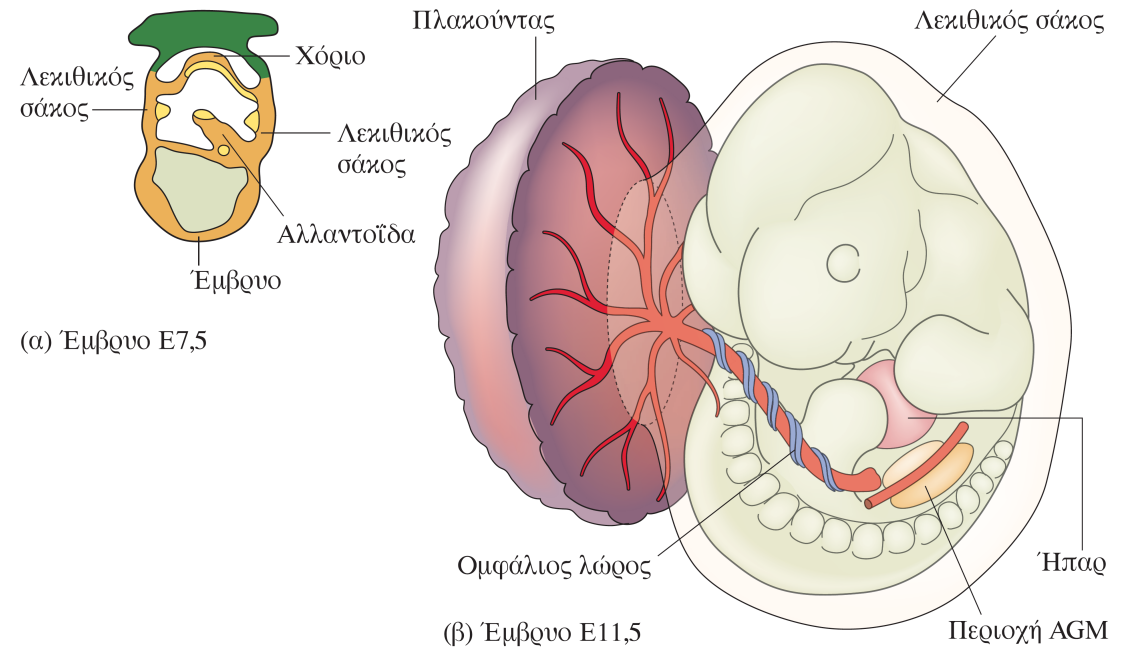
Αιμοποίηση

2 κύματα :

- “Πρωτογενές” (Primitive) κύμα (E7.5)
- “Οριστικό” (Definitive) κύμα (E10)

Το συκώτι είναι η κύρια πηγή της αιμοποίησης (E12)

Στους ενήλικες, ο μυελός των οστών είναι η κύρια πηγή της αιμοποίησης



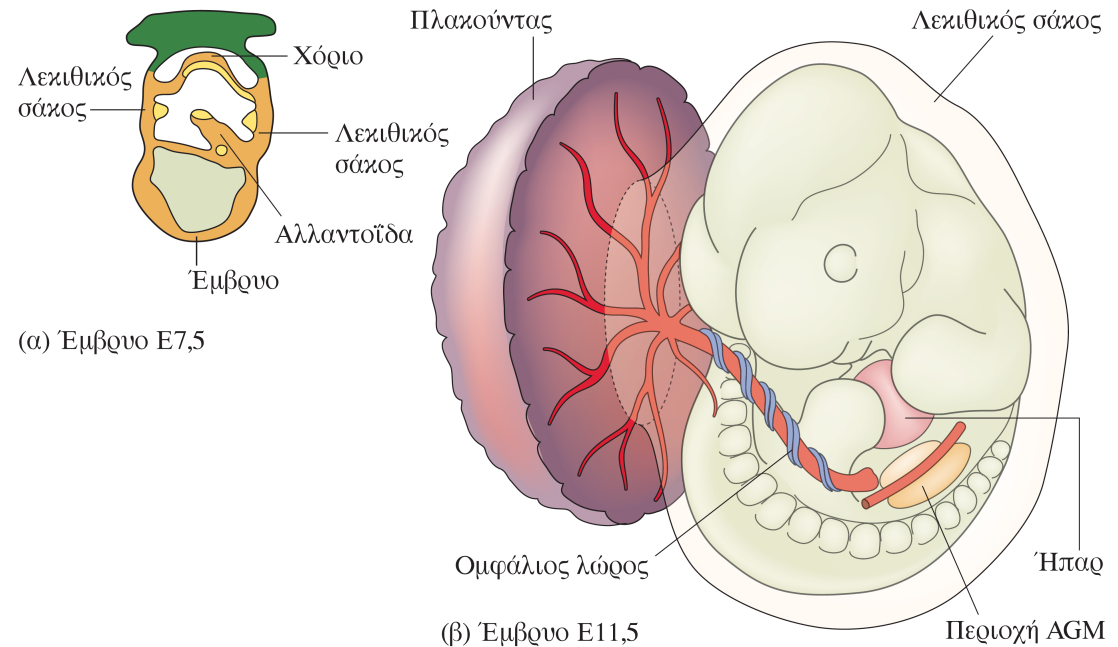
Βασικές Αρχές Βιολογίας Ανάπτυξης



Πρωτογενής αιμοποίηση

“Πρωτογενές” (Primitive) κύμα αιμοποίησης (E7.5)

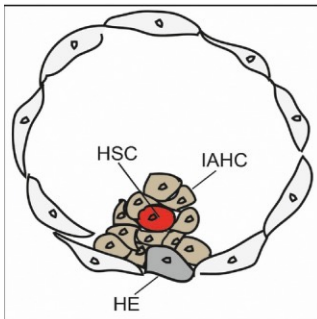
- Τα κύτταρα αίματος εμφανίζονται στο λεκιθικό σάκο του εμβρύου του ποντικού (E7.5)
 - Σχηματίζονται κυρίως ερυθροκύτταρα (με πυρήνα), μεγακαρυοκύτταρα και μακροφάγα.
 - Ο σκοπός είναι η παραγωγή αρκετών ερυθροκυττάρων για την παροχή οξυγόνου στο αναπτυσσόμενο έμβρυο.
 - Από την E8.5, πολλά αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα εμφανίζονται στον λεκιθικό σάκο. Όμως πειράματα μεταφοράς των κυττάρων αυτών σε ποντίκια χωρίς ενεργό αιμοποιητικό σύστημα (ραδιενεργά ποντίκια), δεν οδήγησε σε επαναδημιουργία του αιμοποιητικού συστήματός (βασική ιδιότητα των HSC).
- ✓ Δεν υπάρχουν HSC στην πρωτογενή αιμοποίηση



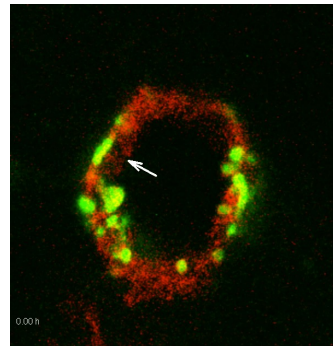
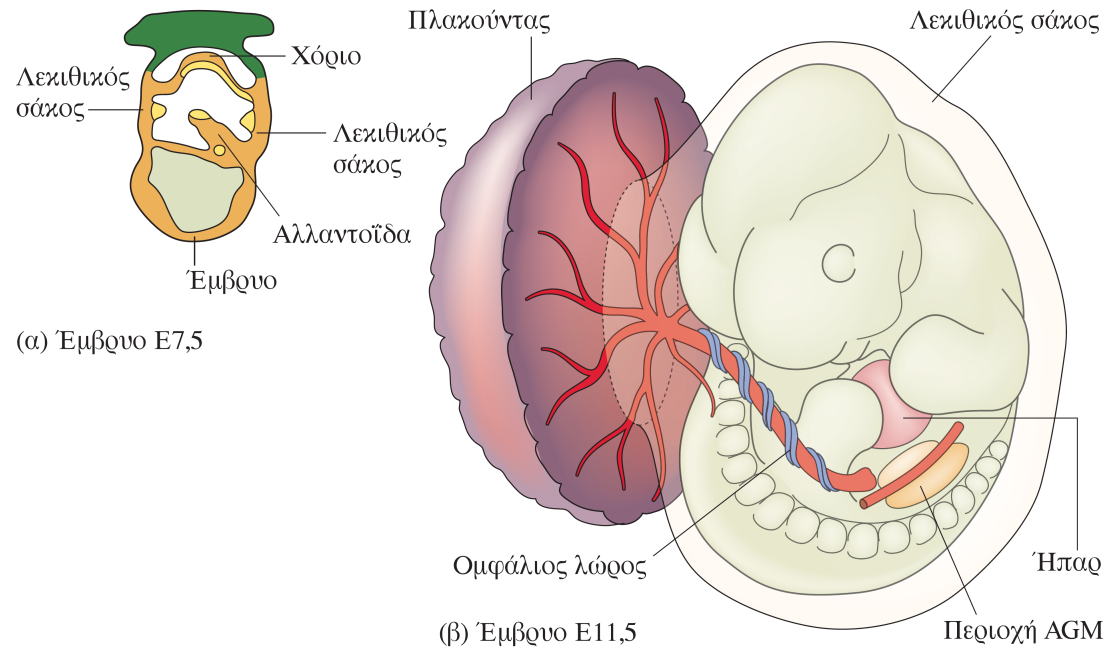
Οριστική αιμοποίηση

“Οριστικό” (Definitive) κύμα αιμοποίησης (E10.5)

- Το πρώτο οριστικό αιμοποιητικό βλαστοκύτταρο (HSC), εμφανίζεται στην αορτή-γονάδα-μεσонеφρός (AGM; E10.5).
- HSC έχουν εντοπιστεί στην ομφάλια/vitelline αρτηρία.
- Στις αρτηρίες τα HSCs σχηματίζουν τα intra-aortic hematoroietic clusters (IAHCs), τα οποία προέρχονται από αιμοποιητικό ενδοθήλιο (hemogenic endothelium).
- Στην συνέχεια, τα HSCs μεταναστεύουν στο συκώτι (E12) και πολλαπλασιάζονται.
- Το συκώτι είναι η κύρια πηγή HSCs (E14) στα έμβρυα και ο μυελός των οστών στους ενήλικες.



Kauts et al, 2016

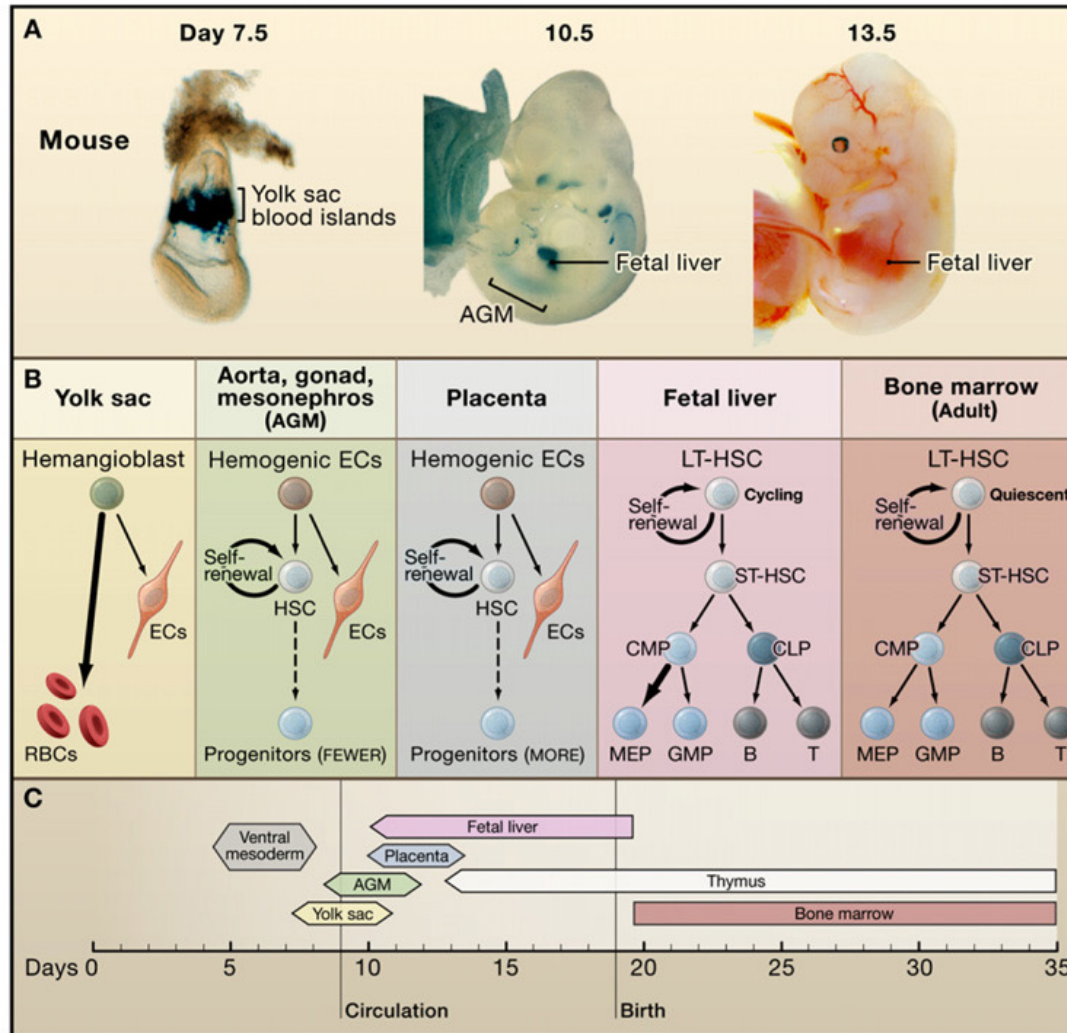


Boisset et al, 2010
Ly-6A GFP CD31

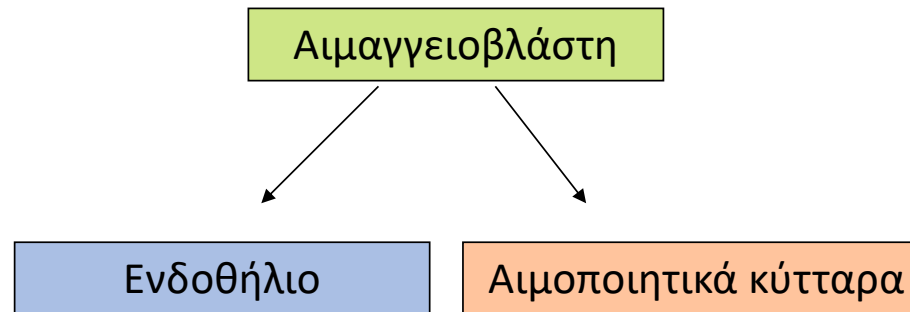
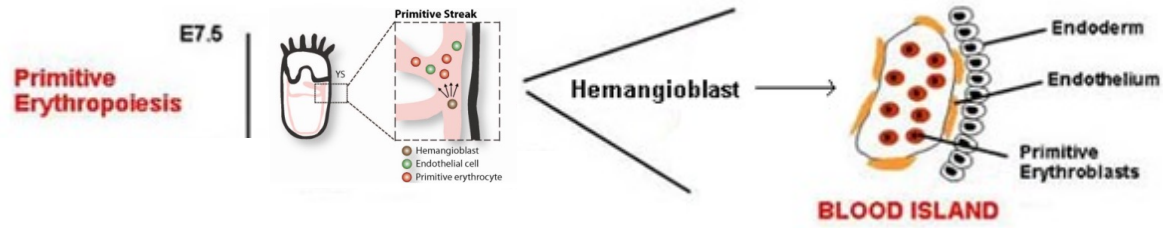
Βασικές Αρχές Βιολογίας
Ανάπτυξης



Αιμοποίηση

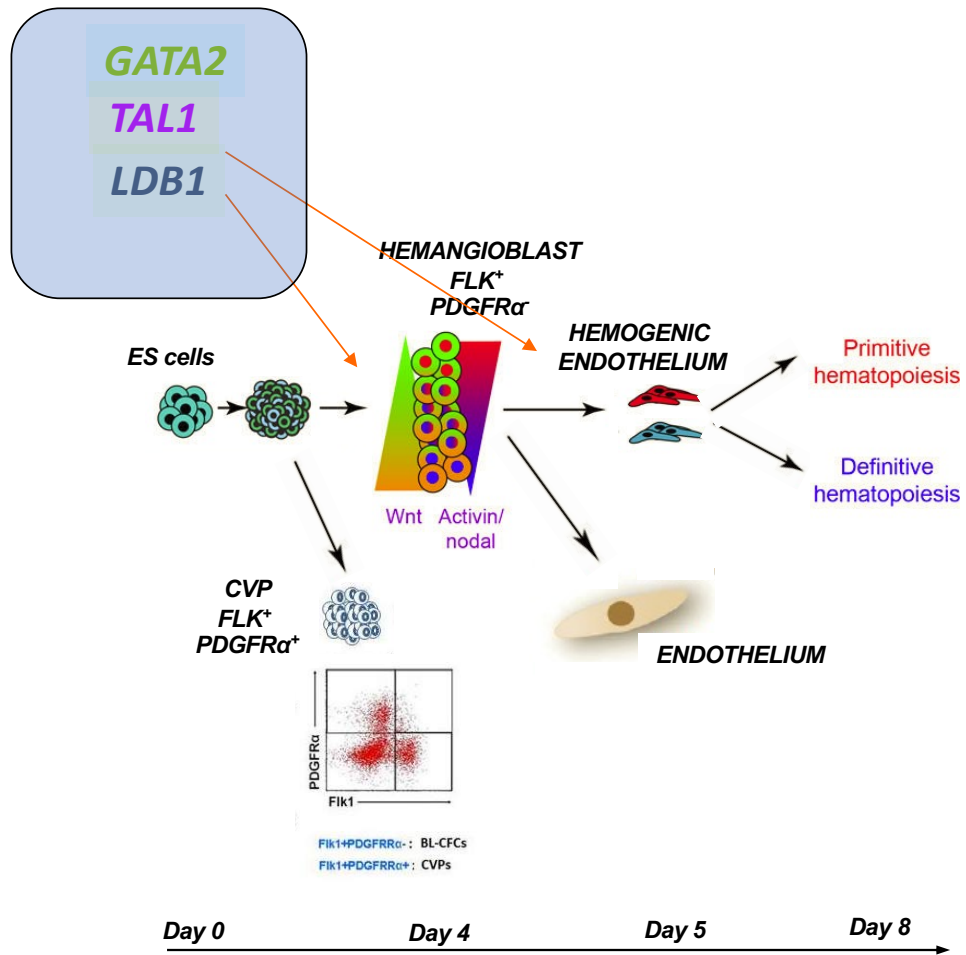


Αιμοποίηση

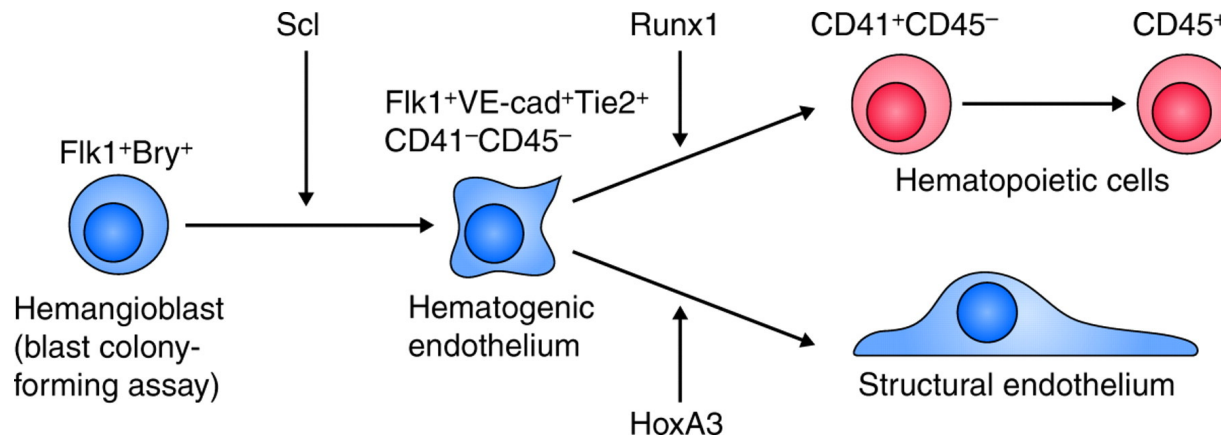


Sabin et al., 1920

Παραγωγή αιμαγγειοβλάστη από mES κύτταρα



Μεταγραφικοί παράγοντες στην αιμοποίηση

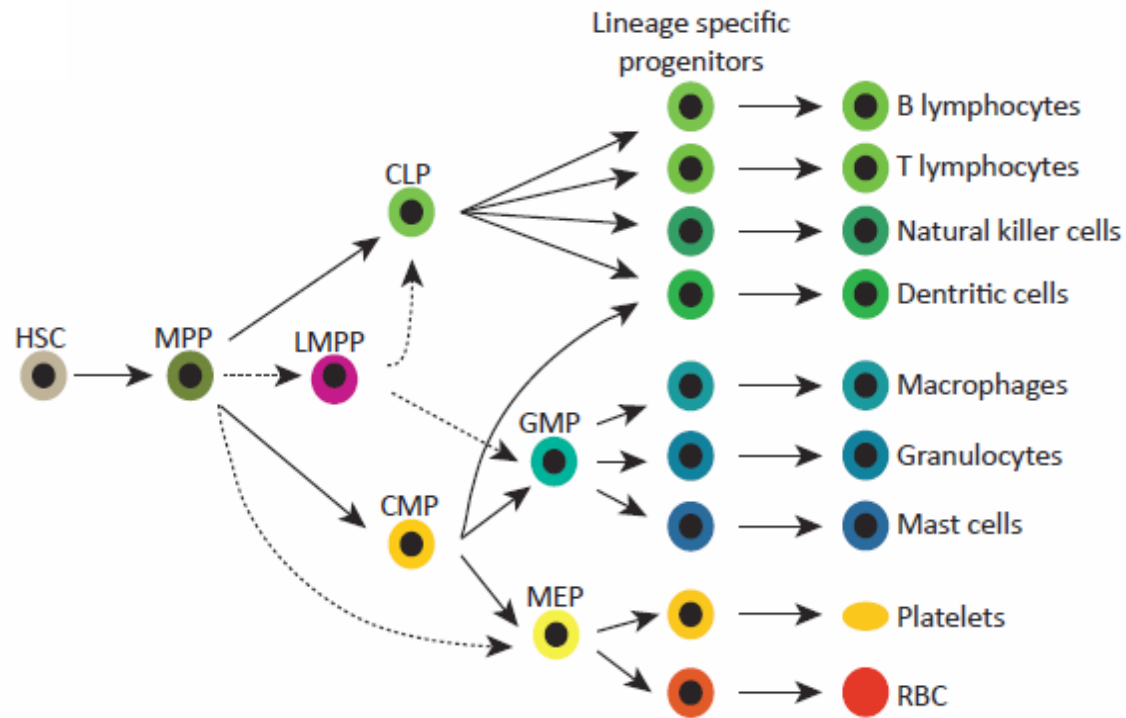


Το αίμα αποτελείται από

- Ερυθροκύτταρα
- Λευκά αιμοσφαίρια
 - i. Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα
 - ii. Ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα
 - iii. Βασεόφιλα πολυμορφοπύρρηνα
 - iv. Λεμφοκύτταρα
 - v. Μονοκύτταρα
- Μεγακαρυοκύτταρα
- Λεμφοκύτταρα
- Αιμοπετάλια
- Πλάσμα

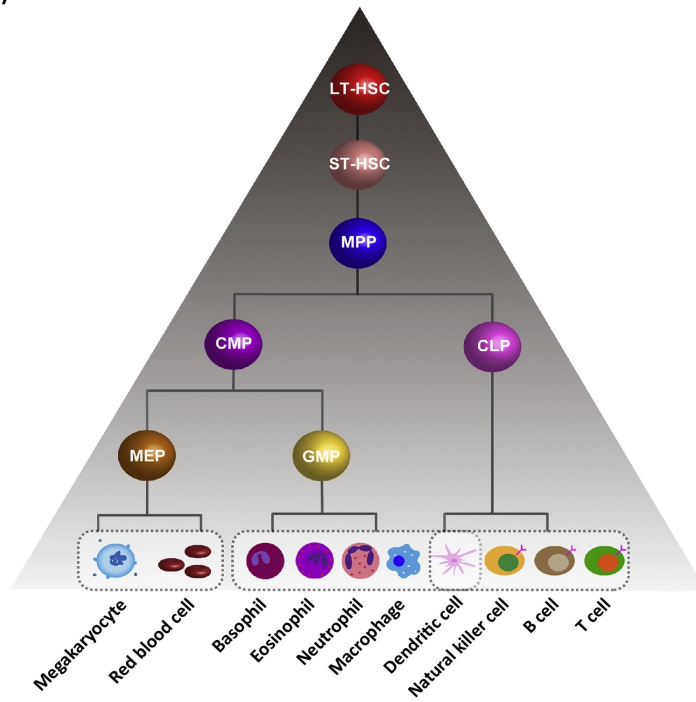
Όλα τα κύτταρα του αίματος προέρχονται από το **αρχέγονο πολυδύναμο αιμοποιητικό κύτταρο (pluripotent stem cell)**

Ιεραρχικό δέντρο αιμοποίησης

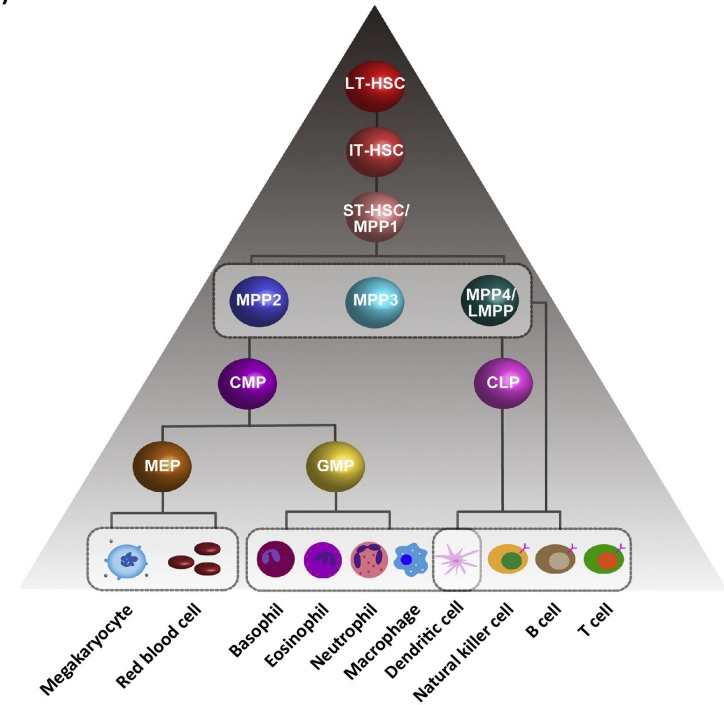


Ιεραρχικό δέντρο αιμοποίησης

(A)



(B)

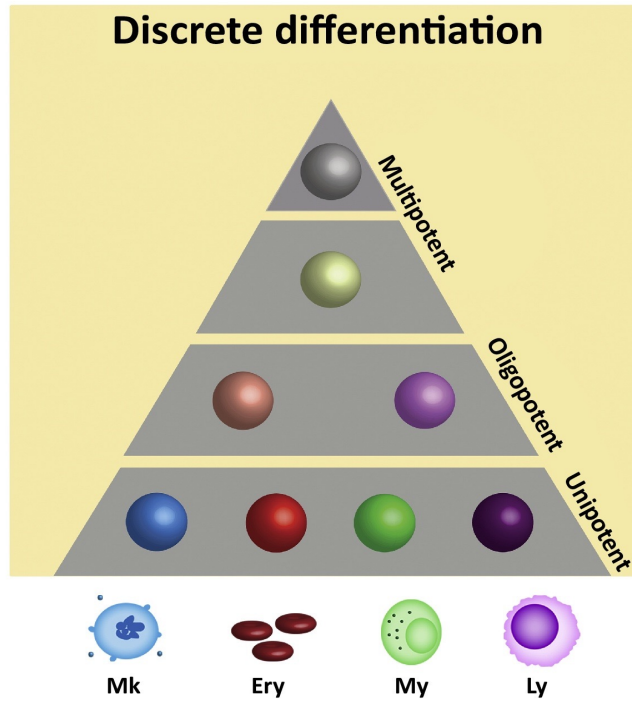


Trends in Cell Biology

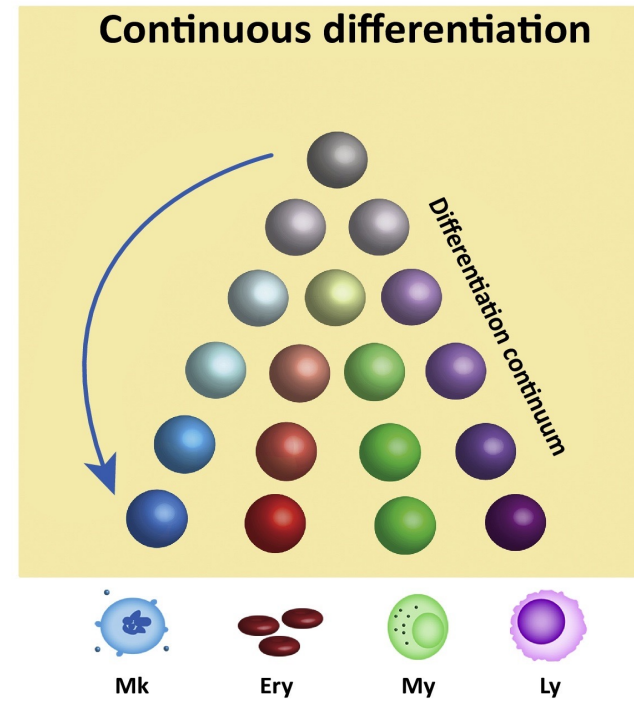
Zhang et al., 2018

Αιμοποίηση

(A)



(B)



Trends in Cell Biology

Καθορισμός της τύχης των αιμοποιητικών κυττάρων

Πρόκειται για συνδυασμό μεμονωμένων τυχαίων γεγονότων, όπως **ποιο κύτταρο** βρέθηκε τη συγκεκριμένη στιγμή στο μικροπεριβάλλον του μυελού, **τι υποδοχέας** θα εκφραστεί στο κύτταρο και ποιος **αυξητικός παράγων** θα υπάρχει την ίδια στιγμή εκεί.

Στην πραγματικότητα, το σύνολο των μηχανισμών αυτών μπαίνει στα πλαίσια μιας αλληλουχίας γεγονότων, η οποία καθορίζεται από τις εκάστοτε **ανάγκες για αιμοποίηση του οργανισμού και επομένως δεν μπορεί να θεωρηθεί τυχαία.**

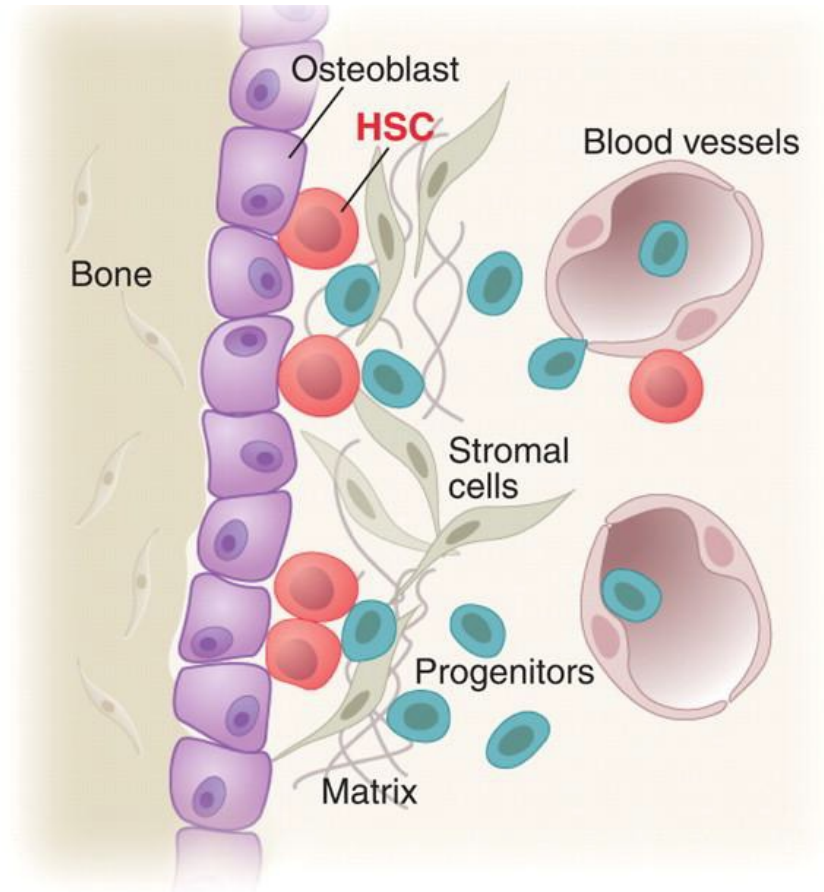
Αιμοποιητικό μικροπεριβάλλον είναι το σύνολο των κυτταρικών πληθυσμών και της θεμέλιας ουσίας, που αναπτύσσονται στον μυελό και επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά την αιμοποιητική διαδικασία

Αιμοποίηση στο μυελό των οστών

Αιμοποιητικές φωλεές (niches): ένα τρισδιάστατο πλέγμα από ινίδια, αγγεία και κύτταρα, που συγκρατούνται μεταξύ τους με μια άμορφη πρωτεϊνούχα ουσία και σχηματίζουν βροχίδες. Βρίσκεται στον μυελό των οστών.

Η **αιμοποιητική “φωλεά”** αποτελεί το μικροπεριβάλλον που περιβάλλει τα αρχέγονα πολυδύναμα αιμοποιητικά κύτταρα. Δηλαδή αποτελεί τη συνισταμένη όλων των παραγόντων, (κυτταρικών και μοριακών) που αλληλεπιδρούν και ρυθμίζουν τα αρχέγονα πολυδύναμα αιμοποιητικά κύτταρα

Κατάλληλα διαμορφωμένο **μικροπεριβάλλον** κοντά στο ενδόστεο, όπου η αλληλεπίδραση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων και των υποστηρικτικών κυττάρων (οστεοβλάστες κλπ) που μέσω υποδοχέων και άλλων διαλυτών παραγόντων, καθορίζουν την κατάσταση ηρεμίας ή πολλαπλασιασμού των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων



Καθορισμός της κατεύθυνσης διαφοροποίησης των αιμοποιητικών κυττάρων

Ενδογενές **κυτταρικό πρόγραμμα** και παρουσία συγκεκριμένων υποδοχέων

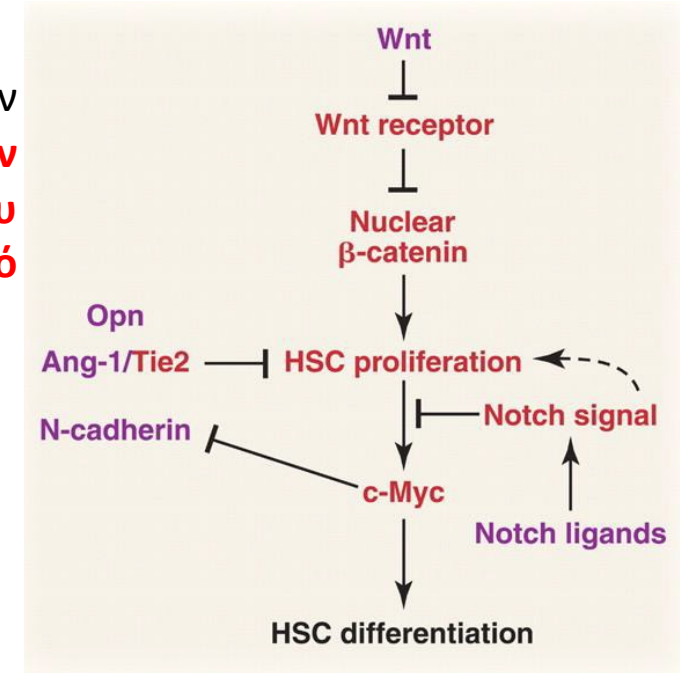
Ρύθμιση της διαφοροποίησης, του πολλαπλασιασμού και της ωρίμανσης των αρχέγονων κυττάρων στο μυελό εξαρτάται από ένα **σύνολο αλληλεπιδράσεων των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων** και **του μικροπεριβάλλοντος του μυελού**, τους **αυξητικούς παράγοντες** που δρουν προαγωγικά, το **εσωτερικό κυτταρικό πρόγραμμα** και από τις **ανάγκες του οργανισμού**

Τρεις κύριες ομάδες αυξητικών παραγόντων

1. παράγοντες διέγερσης των αποικιών (colony stimulating factors)
2. ερυθροποιητίνη και η θρομβοποιητίνη
3. ιντερλευκίνες

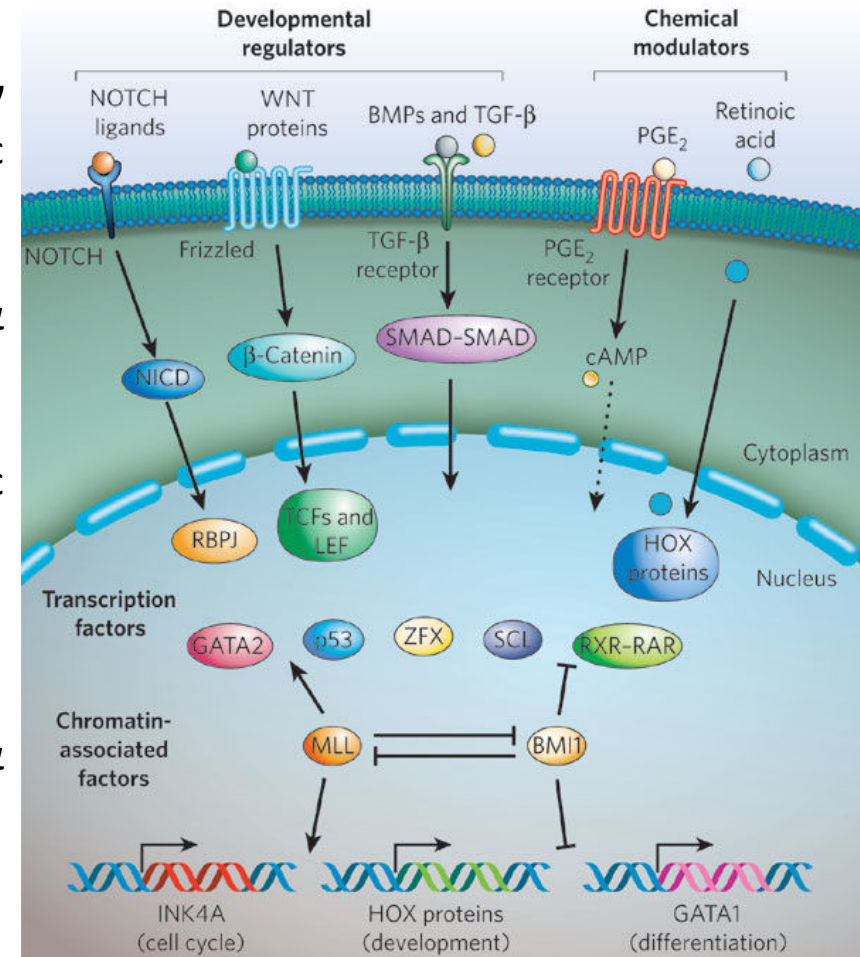
Άλλοι παράγοντες έχουν **ανασταλτική δράση** της αιμοποίησης (ιντερφερόνες, παράγοντες νέκρωσης των όγκων και άλλα βιομόρια)

Συμπερασματικά η ρύθμιση της αιμοποίησης λειτουργεί ως ένα πολύπλοκο αλλά αποτελεσματικό δίκτυο επικοινωνίας ανάμεσα στα αιμοποιητικά και τα κύτταρα του στρώματος, είτε με άμεση επαφή μέσω **επιφανειακών υποδοχέων, είτε μέσω κυτταροκινών.**



Ρύθμιση των HSCs

- Wnt, Bmp, Notch επάγουν την μετακίνηση των μεταγραφικών παραγόντων στον πυρήνα, όπου είτε **ενεργοποιούν** είτε **κατασταλούν** γονίδια απαραίτητα για διάφορες διαδικασίες
- TGF-β/Wnt είναι απαραίτητα για την **αυτοανανέωση των HSC** μετά από μεταμόσχευση και όχι μόνο
- Το retinoic acid, μετατοπίζεται στον πυρήνα όπου προσδένεται σε υποδοχείς ορμονών **και ρυθμίζει την γονιδιακή ρύθμιση**
- Notch διατηρεί την ικανότητα των HSCs να είναι **πολυδύναμα**
- Σε κάθε διαίρεση ένα από τα θυγατρικά HSC παραμένει σε ηρεμία και ένα διαφοροποιείται.



Ιδιότητες των HSCs

- **Αυτοανανέωση** προς ίδιας πολυδυναμίας αρχέγονα κύτταρα
- **Πολλαπλασιασμός** σε απάντηση ερεθισμάτων του αιμοποιητικού μικροπεριβάλλοντος
- **Διαφοροποίηση** σε προγονικά κύτταρα τα οποία προορίζονται για συγκεκριμένη κυτταρική σειρά
- Ικανότητα να **επαναφέρουν την αιμοποίηση** (πχ μετά από μεταμόσχευση ή μυελική απλασία)
- Αποτελούν στόχο εξωγενών βλαπτικών ερεθισμάτων για δημιουργία κλωνικής αιμοποίησης
- Ικανότητα να παραμένουν σε **ηρεμία** (quiescence phase)
- Αυξημένη **αντοχή** στο οξειδωτικό stress
- **Πλαστικότητα** – στροφή προς άλλη κατεύθυνση διαφοροποίησης

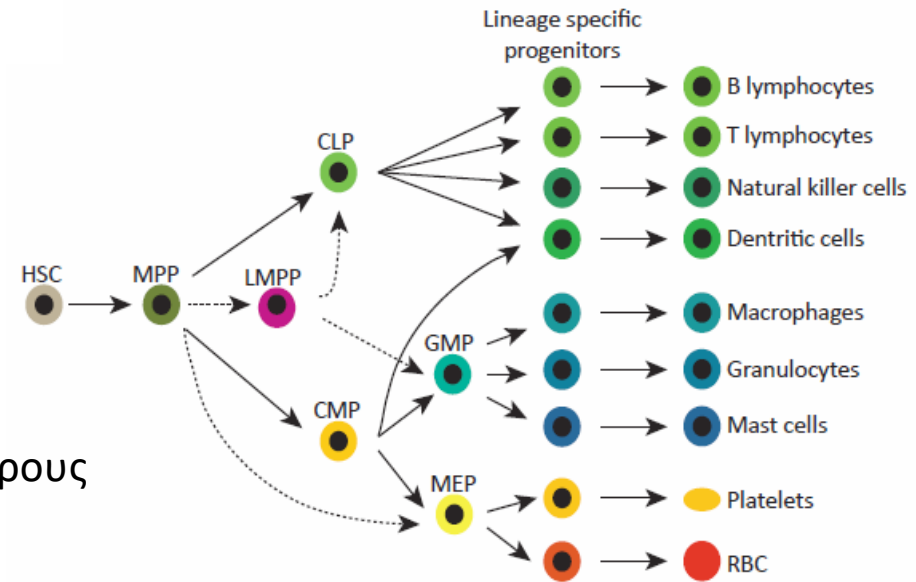
Ιδιότητες των HSCs

- Μικρή δεξαμενή ($1-2 \times 10^6$ / άτομο)
- Αντοχή σε βλαπτικά ερεθίσματα
- Τεράστιες δυνατότητες ωρίμανσης ($>10^{11}$ κύτταρα/ημέρα)

Ιδιότητες των δεσμευμένων προγονικών κυττάρων

MPP, CLP, CMP, GMP, MEP

- **Περιορισμένη** πολλαπλασιαστική ικανότητα
- **Μειωμένη** ικανότητα αυτοανανέωσης
- **Ολιγοδυναμία/μονοδυναμία** διαφοροποίησης
- Ανταποκρίνονται σε διαφορετικούς, συνήθως λιγότερους αυξητικούς παράγοντες
- **Ελαττωμένη αντοχή** σε βλαπτικούς/ανασταλτικούς παράγοντες του αιμοποιητικού μικροπεριβάλλοντος
- **Μη αναστρέψιμη διαφοροποίηση** προς κάποια(-ες) σειρές
- Δεν έχουν ικανότητα να επαναφέρουν πλήρως την αιμοποίηση (πχ μετά από βλαπτικό «τραύμα» του μυελού ή μεταμόσχευση)



Καθορισμός της κατεύθυνσης της διαφοροποίησης

- Παρουσία συγκεκριμένων **υποδοχέων**
- **Ανάγκες** του οργανισμού
- **Αλληλεπιδράσεις** αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων με το μικροπεριβάλλον του μυελού

Λευκά αιμοσφαίρια

- **Ουδετερόφιλα** και **Μονοκύτταρα**

Είναι ιδιαίτερος τύπος λευκών αιμοσφαιρίων («φαγοκύτταρα») που μπορούν με την φαγοκυττάρωση να εξοντώσουν συγκεκριμένο επικίνδυνο εισβολέα που εισέρχεται στο σώμα, όπως βακτήρια και μύκητες.

- **Ηωσινόφιλα** και **Βασεόφιλα** πολυμορφοπύρηνα

Ανταποκρίνονται στα αλλεργιογόνα ή τα παράσιτα

- **Λεμφοκύτταρα**

Βρίσκονται στους λεμφαδένες, τον σπλήνα και το λεμφικό σύστημα. Περιλαμβάνουν τα Τ λεμφοκύτταρα (Τ κύτταρα), τα Β λεμφοκύτταρα (Β κύτταρα) και τους φυσικούς φονείς (NK) και αποτελούν την άμυνα του οργανισμού απέναντι σε ορισμένα βακτήρια και ιούς

Ουδετερόφιλα

Ουδετερόφιλα

- ✓ 10-14 ημέρες για να σχηματιστούν από τα αιμοποιητικά κύτταρα
- ✓ Μέσος χρόνος ζωής στο αίμα: 6-10hrs
- ✓ Αμοιβαδοειδής κίνηση
- ✓ Χημειοταξία:
- ✓ Διάφορες ουσίες τραβούν προς το μέρος τους τα ουδετερόφιλα
- ✓ Φαγοκυττάρωση

Μονοκύτταρα

Μονοκύτταρα

- ✓ Μονοπύρηνο
- ✓ Αντιβακτηριακή δράση
- ✓ Συμμετέχει στην ανοσολογική αντίδραση
- ✓ Ωριμάζει σε μακροφάγο
- ✓ Αυξημένα μονοκύτταρα
 - Ρικέτσιες
 - Κάποιες βακτηριακές λοιμώξεις
 - Ελονοσία, τύφος, φυματίωση

Χαμηλά μονοκύτταρα

- Λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων

Ηωσινόφιλα

Ηωσινόφιλα

- ✓ Πυρήνας έχει δύο λοβούς
- ✓ Αύξηση σε:
 - Αλλεργικές αντιδράσεις
 - Υπερευαισθησία σε φάρμακα
 - Παράσιτα (παρασιτική λοίμωξη)
- ✓ Καταστέλλεται από την κορτιζόνη

Βασεόφιλα

Βασεόφιλα

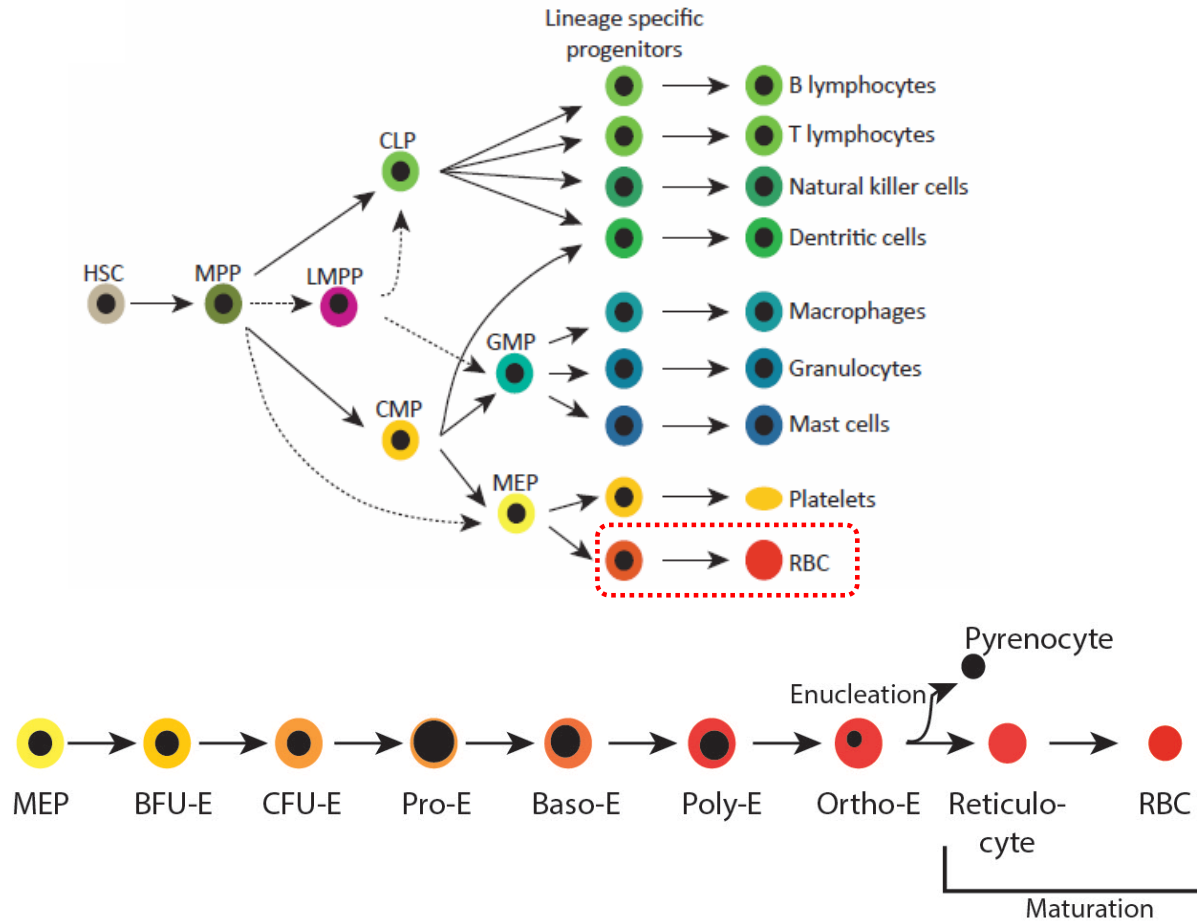
- ✓ Περιέχει ισταμίνη και ηπαρίνη
- ✓ Έχει αντιφλεγμονώδη δράση
- ✓ Παίζει σπουδαίο ρόλο στη τοπική φλεγμονώδη αντίδραση
- ✓ Σπάνια αυξημένα - εκτός και αν συνοδεύουν κάποιο μυελοϋπερπλαστικό σύνδρομο
- ✓ Πολύ αυξημένα στη Χρόνια Ουδετεροφιλική Λευχαιμία

Λεμφοκύτταρα

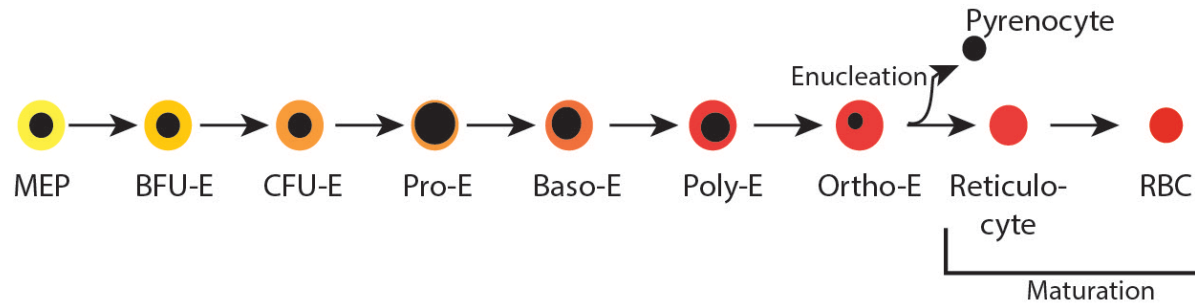
Λεμφοκύτταρα

- ✓ 3 είδη λεμφοκυττάρων:
 - Β κύτταρα: Β κύτταρα παράγουν αντισώματα για τους παθογόνους οργανισμούς και τους καταστρέφει
- Τ κύτταρα:
 - CD4+(helper) που οργανώνουν την ανοσολογική απάντηση
 - CD8+(cytotoxic) που καταστρέφουν τα κύτταρα που έχουν μολυνθεί από τους ιούς
- ✓ Φυσικοί φονείς (Natural killer cells) που καταστρέφουν κύτταρα του οργανισμού τα οποία έχουν μολυνθεί από ιούς.
- ✓ Λεμφοκυττάρωση
 - Συνήθως σε λοιμώξεις στα παιδιά
 - Ιογενείς Λοιμώξεις (ηπατίτιδες, CMV, EBV, κλπ..)
 - Φυματίωση
 - Βρουκέλλωση
 - Λεμφώματα με διήθηση μυελού, κλπ...

Ερυθροποίηση



Ερυθροποίηση

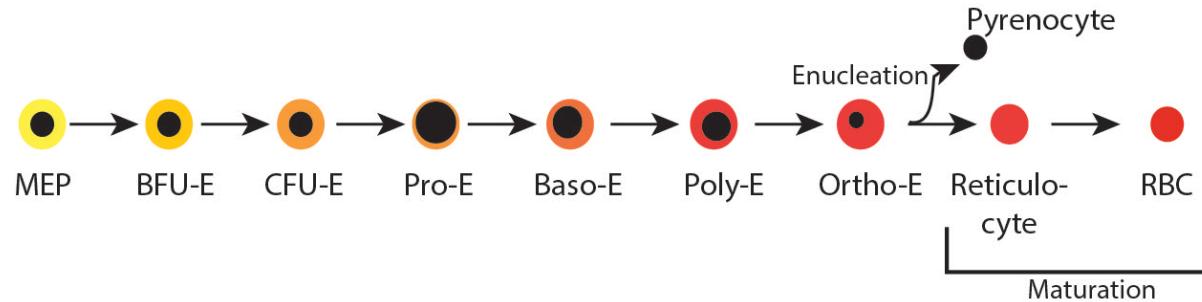


Ερυθροποίηση είναι η διαδικασία παραγωγής ωρίμων ερυθροκυττάρων στο μυελό των οστών:

- Διεγείρει τη διαφοροποίηση του αρχέγονου πολυδύναμου μητρικού κυττάρου (CFU-E) προς κύτταρα της ερυθρής σειράς
- Το πρώτο αναγνωρίσιμο κύτταρο της ερυθρής σειράς στο ΜΟ είναι η ερυθροβλάστη (βασεόφιλη, διάμεση, οξεόφιλη)
- Ωριμάζει προς ώριμο ερυθροκύτταρο (Ελάττωση του μεγέθους του κυττάρου, εξαφάνιση πυρήνα, αύξηση περιεκτικότητας σε Hb)

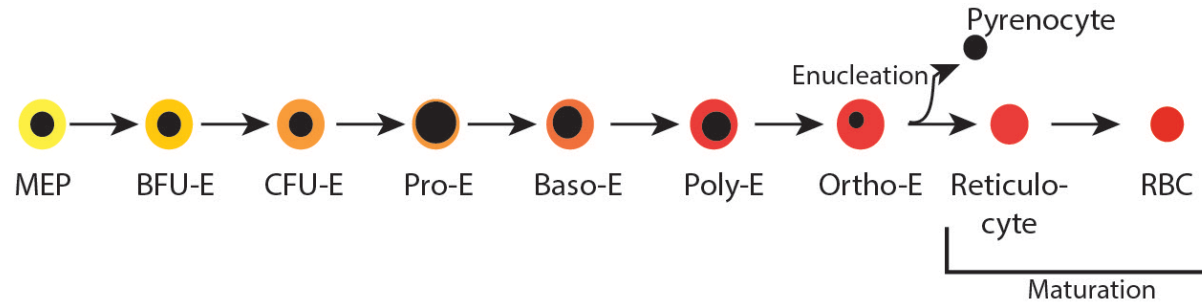
Το σύνολο των κυττάρων που μετέχουν σε αυτήν από το πρώτο "δεσμευμένο" προς την ερυθροποίηση αρχέγονο κύτταρο ως τα ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια, αποτελούν την **ερυθρά σειρά**.

Κύτταρα ερυθροποίησης



- Προγονικά κύτταρα (μη αναγνωρίσιμα – ταυτοποιήσιμα κύτταρα)
 - ✓ BFU-E
 - ✓ CFU-E
- Πρόδρομα κύτταρα (αναγνωρίσιμα ερυθροποιητικά κύτταρα)
 - ✓ Προερυθροβλάστη
 - ✓ Βασεόφιλα
 - ✓ Πολυχρωματόφιλα
 - ✓ Ορθοχρωματικά
- Ώριμα κύτταρα
 - ✓ Οξύφιλος ερυθροβλάστη, Δικτυοερυθροκύτταρα, Ερυθροκύτταρα

Κύτταρα ερυθροποίησης



- **Διαιρούνται μία φορά**
 - ✓ Προερυθροβλάστη
 - ✓ Βασεόφιλα
 - ✓ Πολυχρωματόφιλα
- **Δεν διαιρούνται, αλλά ωριμάζουν**
 - ✓ Οξύφιλος ερυθροβλάστη, Δικτυοερυθροκύτταρα, Ερυθροκύτταρα

Σκοπός ερυθροποίησης

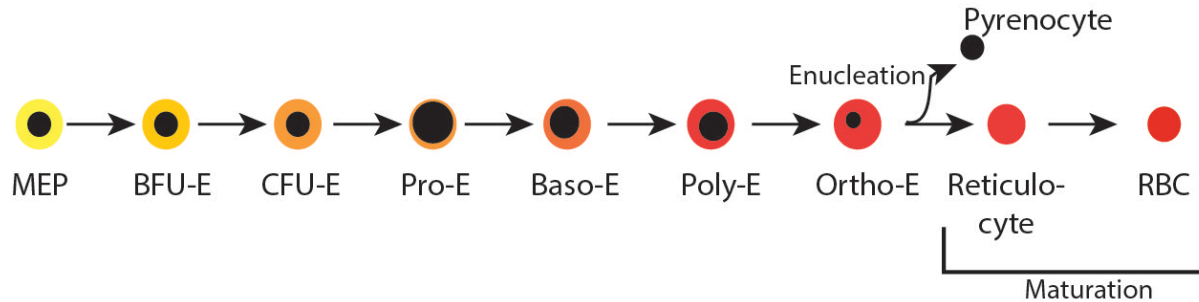
Η παραγωγή **ερυθροκυττάρων** που θα μεταφέρουν το **οξυγόνο** από τους πνεύμονες σε όλο το σώμα και το διοξείδιο του άνθρακα στην αντίθετη κατεύθυνση

Επίσης, μεταφέρουν θρεπτικές ουσίες, ορμόνες, ένζυμα, βιταμίνες στα όργανα στόχους

Χαρακτηριστικά ερυθροκυττάρων

- ✓ Απύρρηνα, περιέχουν αιμοσφαιρίνη (ζωηρό ερυθρό χρώμα)
- ✓ Σχήμα αμφίκοιλο
- ✓ Βασική αποστολή: μεταφορά O_2 στους ιστούς
- ✓ Σε ~20 sec τα ερυθρά διανύουν ένα “πλήρη κύκλο” στην κυκλοφορία του αίματος
- ✓ Ζουν ~100–120 ημέρες
- ✓ Απαραίτητες ουσίες για την ερυθροποίηση ο σίδηρος, το φυλλικό οξύ και η βιταμίνη B12

Χαρακτηριστικά της ωρίμανσης της ερυθροποίησης

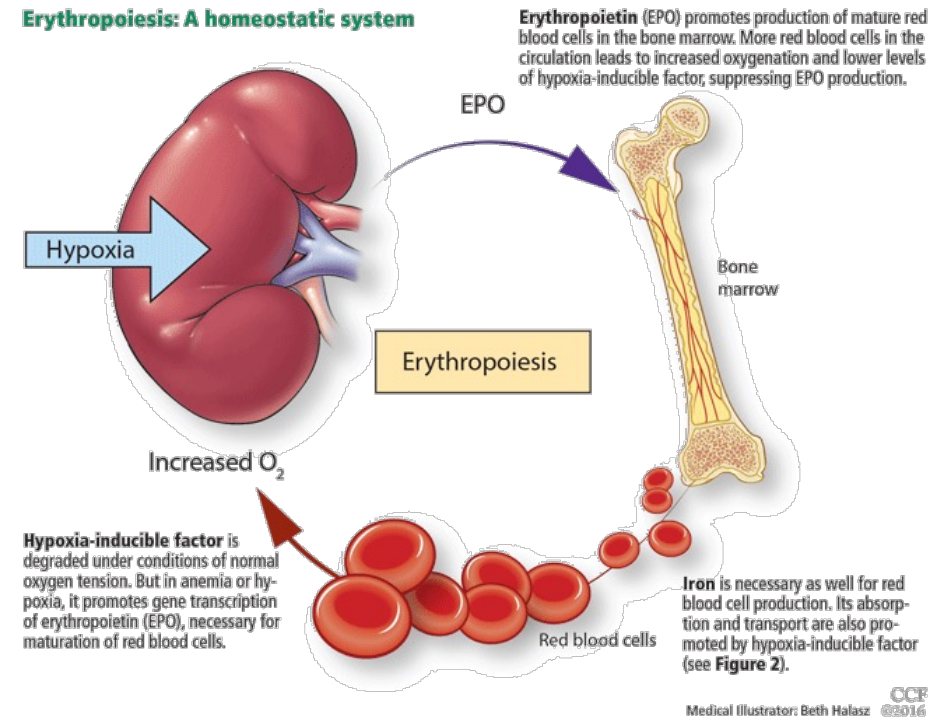


- ✓ Σταδιακή **ελάττωση του μεγέθους του κυττάρου**
- ✓ Σταδιακή **μείωση του μεγέθους του πυρήνα και αποβολή του** από τα Ορθοχρωματικά
- ✓ **Μείωση της σύνθεσης του RNA** και μείωση του ποσού του RNA που περιέχει το κύτταρο, από τη βασεόφιλη ερυθροβλάστη και μετά. Το ώριμο ερυθρό δεν έχει RNA
- ✓ **Μείωση του ποσού του DNA**, αφού η σύνθεση DNA σταματά στο στάδιο της πολυχρωματόφιλης ερυθροβλάστης. Στο στάδιο μετάπτωσης σε ορθοχρωματική ερυθροβλάστη σταματούν και οι κυτταρικές διαιρέσεις.
- ✓ Σταδιακή **ελάττωση της έκφρασης του υποδοχέα της Epo**
- ✓ Προοδευτική **αύξηση του ποσού της αιμοσφαιρίνης**
- ✓ Σταθερή έκφραση CD71 (υποδοχέα τρανσφερρίνης)

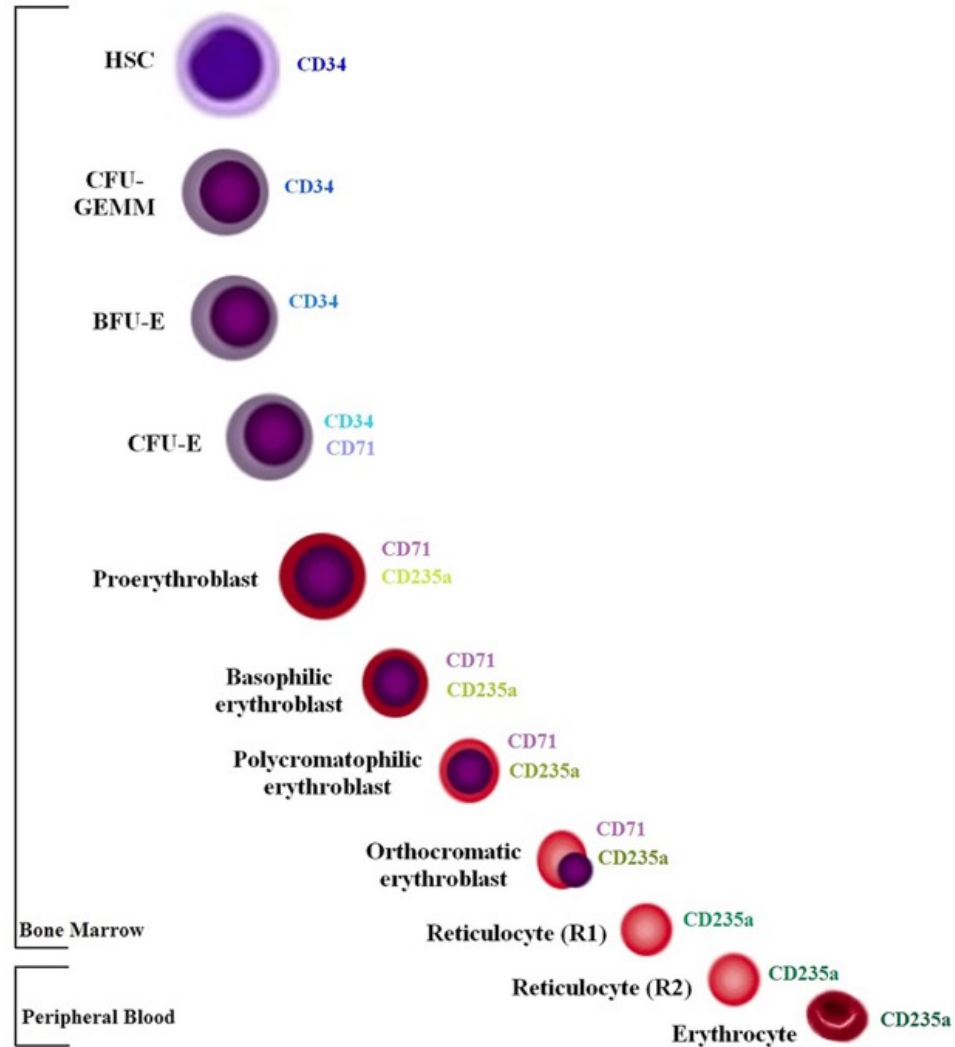
Ερυθροποιητίνη (EPO)

- Η ερυθροποιητίνη (Epo) παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της **ερυθροποίησης**.
- Παράγεται κατά 90% στους νεφρούς και κατά 10% στο ήπαρ και τον μυελό των οστών.
- Μείωση του **οξυγόνου**, αυξάνει την έκφραση του γονιδίου που μεταφράζει την Epo και οδηγεί σε αύξηση παραγωγής **ερυθροκυττάρων**

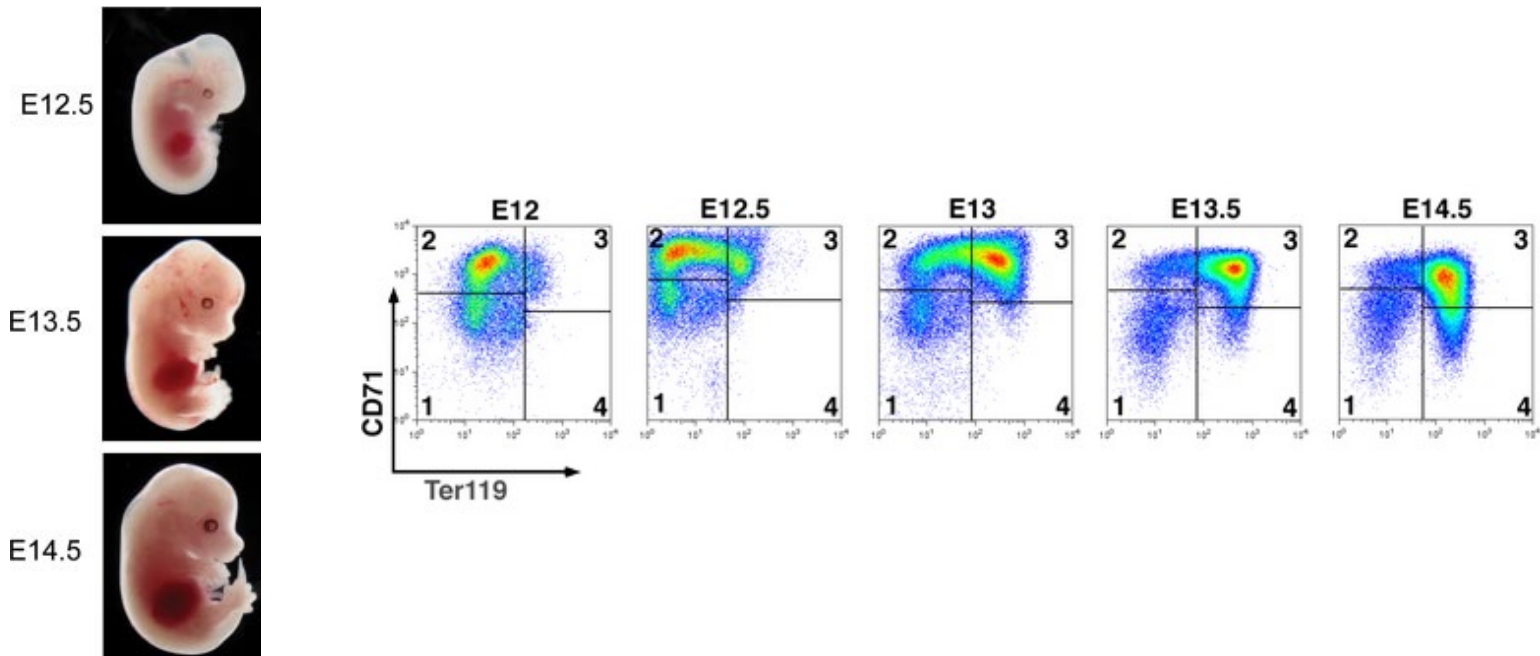
Erythropoiesis: A homeostatic system



CD71/Ter119(Cd235a) κατά την ερυθροποίηση



FACS σε κύτταρα συκωτιού εμβρύων ποντικών

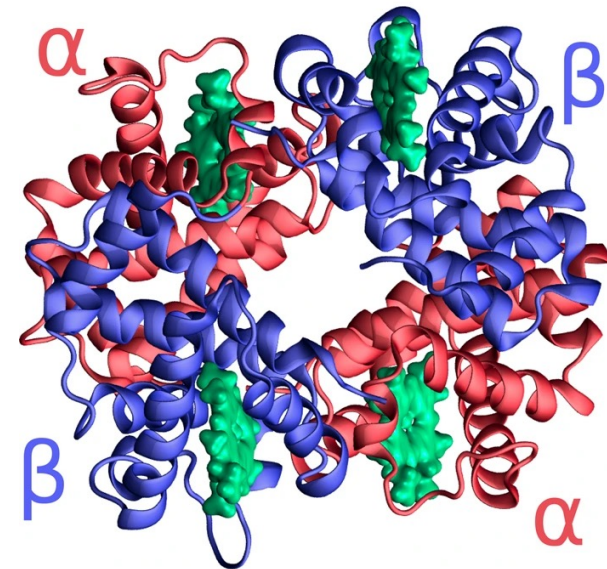


Song et al., 2008
Socolovsky et al 2007

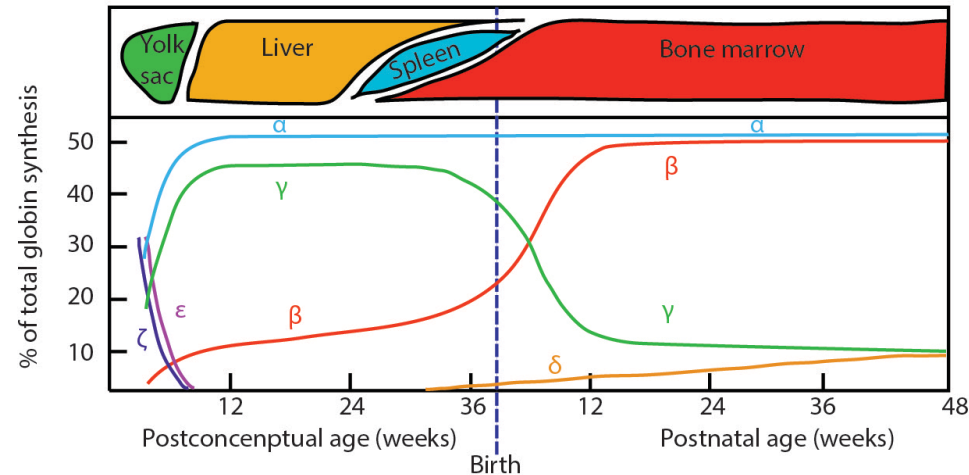
Αιμοσφαιρίνη (Hb)

Η **αιμοσφαιρίνη** είναι η πρωτεΐνη του αίματος που προσδένει το **οξυγόνο**

- Ένα μόριο Hb αποτελείται από 2 ζεύγη πολυπεπτιδικών αλυσίδων (σύμπλεγμα 4 αλυσίδων)
- Τύποι αλυσίδων
 - α , ζ , και θ [ομάδα (cluster) – α αλυσίδων]
 - β , γ , δ και ϵ [ομάδα (cluster) – β αλυσίδων]
- Αλυσίδες: εμφανίζονται διαδοχικά κατά την οντογένεση
- Εμβρυϊκές αιμοσφαιρίνες: ($\zeta_2\epsilon_2$)
- Εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη (Fetal) (HbF = $\alpha_2\gamma_2$)
- Αιμοσφαιρίνη ενήλικα (Adult) (HbA1 = $\alpha_2\beta_2$)
- Αιμοσφαιρίνη ενήλικα (Adult) (HbA2 = $\alpha_2\delta_2$)

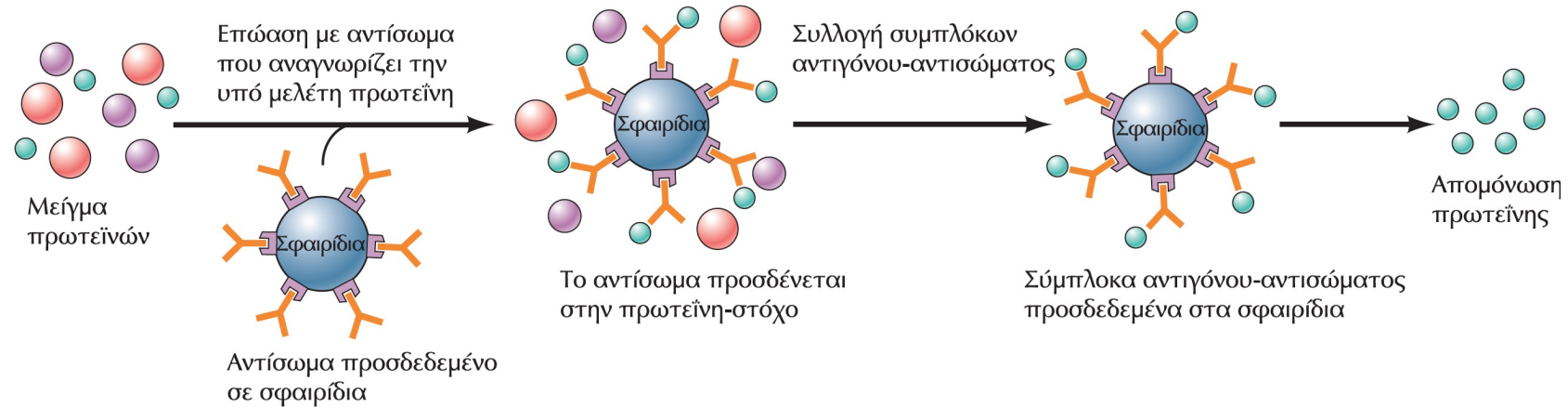


Αιμοσφαιρίνη (Hb)



- ✓ Στο συκώτι του εμβρύου υπάρχει η **Εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη (Fetal) (HbF = $\alpha_2\gamma_2$)** η οποία μεταφέρει **οξυγόνο** από το μητρικό αίμα στο έμβρυο
- ✓ Λίγο μετά την γέννηση, η **γ αλυσίδα αντικαθίσταται από την β**, που εκφράζεται στο συκώτι των ενηλίκων (HbA1 = $\alpha_2\beta_2$)
 - **Hemoglobin switch**
- ✓ Στους ενήλικες έχουμε:
 - 1% HbF
 - 97% HbA1
 - 2% HbA2

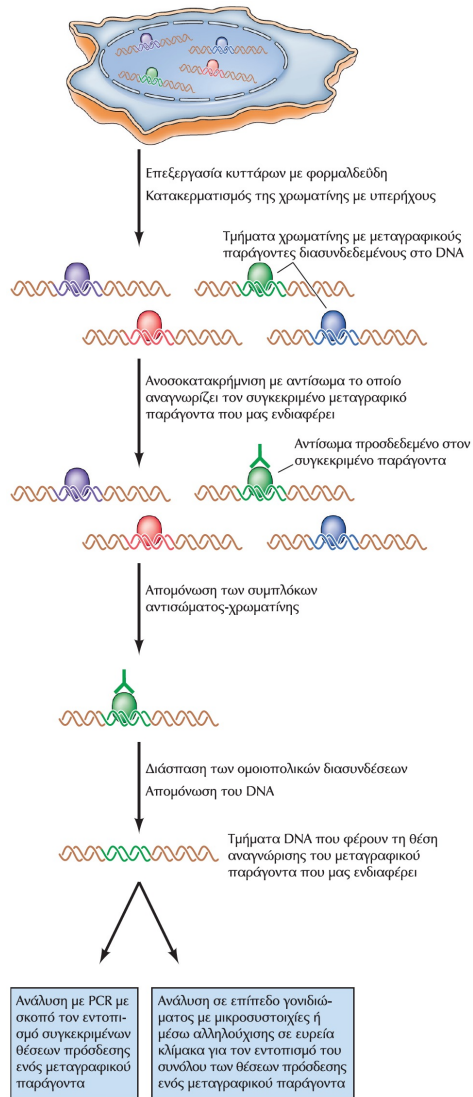
ChIP-seq



ΕΙΚΟΝΑ 5.11 Ανοσοκατακρήμνιση. Ένα μείγμα κυτταρικών πρωτεϊνών επωάζεται με ένα αντίσωμα που είναι προσδεμένο σε σφαιρίδια. Το αντίσωμα σχηματίζει σύμπλοκο με την πρωτεΐνη-αντιγόνο που αναγνωρίζει (υπο-δεικνύεται με πράσινο χρώμα). Τα σφαιρίδια συλλέγονται και έτσι απομονώνονται τα σύμπλοκα αντιγόνου-αντισώματος, από τα οποία κατόπιν απομονώνεται η πρωτεΐνη-στόχος του αντισώματος.



ChIP-Seq -Ανοσοκατακρήμνιση χρωματίνης

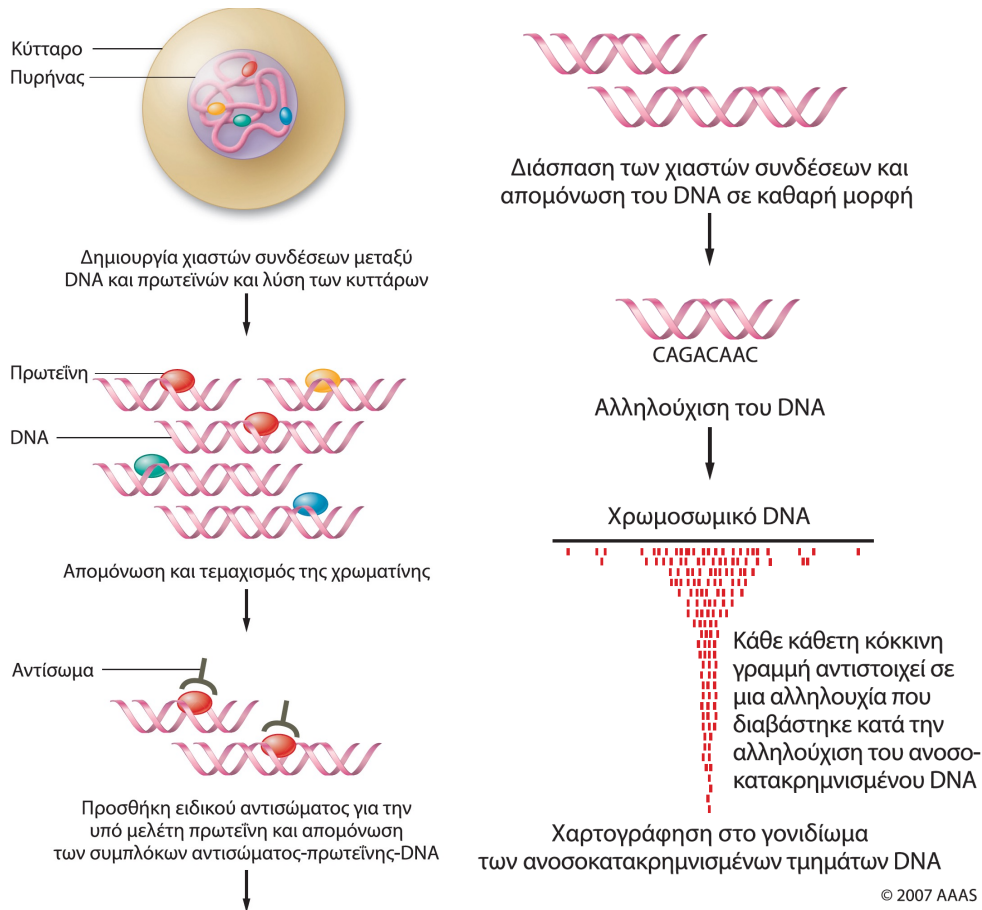


Αρχικά, τα κύτταρα υφίστανται επεξεργασία με φορμαλδεΐδη, η οποία προκαλεί την ομοιοπολική διασύνδεση των πρωτεϊνών με τις αλληλουχίες του DNA στις οποίες βρίσκονται συνδεδεμένες in vivo. Κατόπιν, απομονώνεται η χρωματίνη και εκτίθεται σε υπερήχους, προκειμένου να τεμαχιστεί σε μικρά κομμάτια μέσου μεγέθους 500 ζευγών βάσεων. Τα κομμάτια αυτά της χρωματίνης επωάζονται με κάποιο αντίσωμα το οποίο αναγνωρίζει έναν συγκεκριμένο μεταγραφικό παράγοντα (ή άλλη πρωτεΐνη). Όσα από αυτά προσδέονται στο αντίσωμα απομονώνονται με ανοσοκατακρήμνιση, όπως περιγράφηκε στην Εικόνα 5.11. Στη συνέχεια, οι ομοιοπολικές διασυνδέσεις που προκάλεσε η φορμαλδεΐδη διασπώνται και το απομονωμένο DNA που περιέχει τις θέσεις πρόσδεσης του υπό έλεγχο μεταγραφικού παράγοντα in vivo καθαρίζεται. Κατόπιν, το απομονωμένο DNA είναι δυνατόν να αναλυθεί με PCR προκειμένου να διαπιστωθεί αν μια συγκεκριμένη γονιδιωματική αλληλουχία είναι παρούσα και κατά συνέπεια αποτελεί θέση πρόσδεσης του υπό εξέταση μεταγραφικού παράγοντα. Είναι επίσης δυνατόν να ληφθούν αποτελέσματα σε επίπεδο γονιδιώματος. Για τον σκοπό αυτό, το ανοσοκατακρημνισμένο DNA αναλύεται με αλληλούχιση σε ευρεία κλίμακα ή χρησιμοποιείται ως ιχνηθέτης και υβριδίζεται σε κατάλληλες μικροσυστοιχίες προκειμένου να εντοπιστούν στο σύνολό τους οι θέσεις πρόσδεσης ενός μεταγραφικού παράγοντα in vivo.

Το κύτταρο



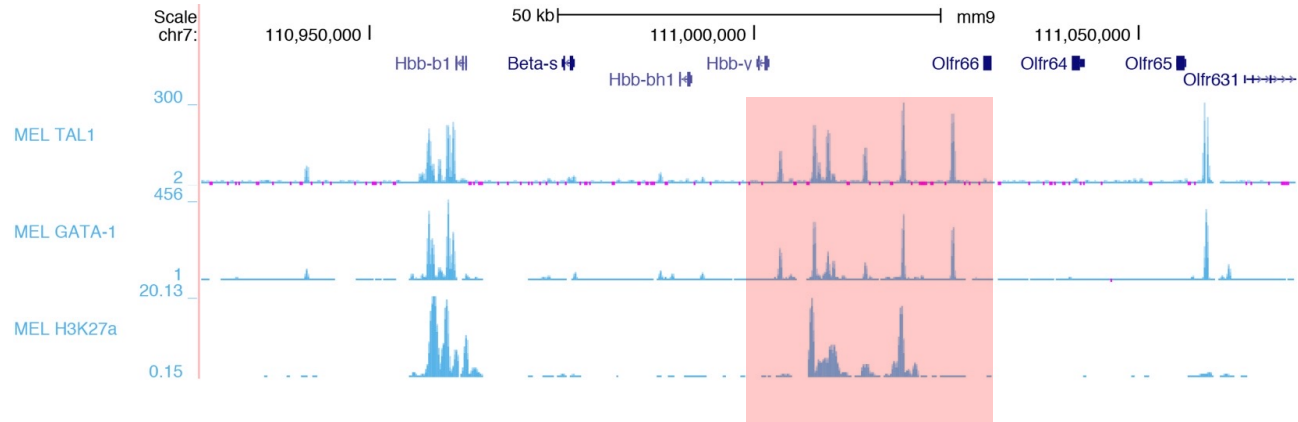
Η μέθοδος ChIP-Seq μας επιτρέπει να προσδιορίσουμε τις γονιδιωματικές θέσεις τις οποίες αναγνωρίζει μια γνωστή πρωτεΐνη πρόσδεσης σε DNA



Αρχικά οι ιστοί ή τα καλλιεργούμενα κύτταρα υφίστανται κατεργασία με φορμαλδεΐδη που δημιουργεί χιαστές συνδέσεις ανάμεσα στο DNA και στις πρωτεΐνες οι οποίες βρίσκονται σε στενή επαφή με αυτό τη χρονική στιγμή που προστίθεται η φορμαλδεΐδη. Η χρωματίνη στη συνέχεια εκχυλίζεται από τα κύτταρα και διασπάται σε μικρά τμήματα. Κατόπιν προστίθεται στο μείγμα ένα αντίσωμα το οποίο αναγνωρίζει την υπό μελέτη πρωτεΐνη πρόσδεσης σε DNA. Ακολουθεί ανοσοκατακρήμνιση του συμπλόκου αντισώματος-πρωτεΐνης-DNA, διάσπαση των χιαστών συνδέσεων, απομόνωση του DNA και αλληλούχισή του. Τέλος, με βάση τις αλληλουχίες τους, χαρτογρα-φούνται στο γονιδίωμα τα τμήματα DNA που ανοσοκατακρημνίστηκαν και έτσι προσδιορίζονται οι θέσεις πρόσδεσης της υπό μελέτη πρωτεΐνης στο γονιδίωμα.



Γονίδια globin (Hbb)



Prof Frank Grosveld



Prof Stewart Orkin

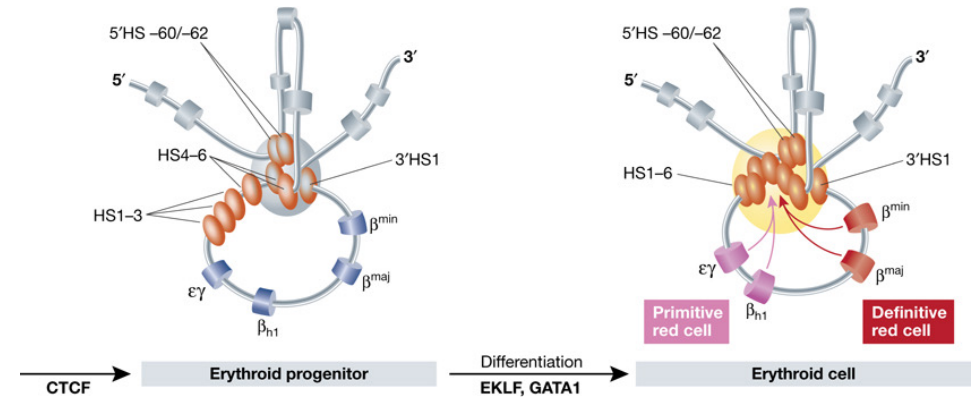
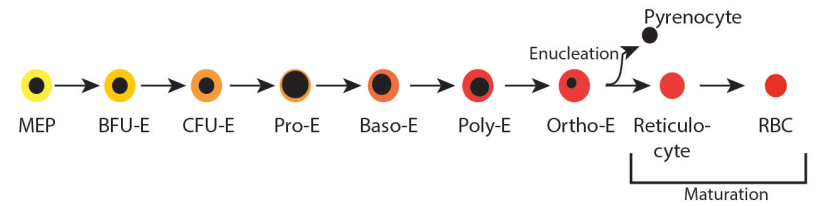
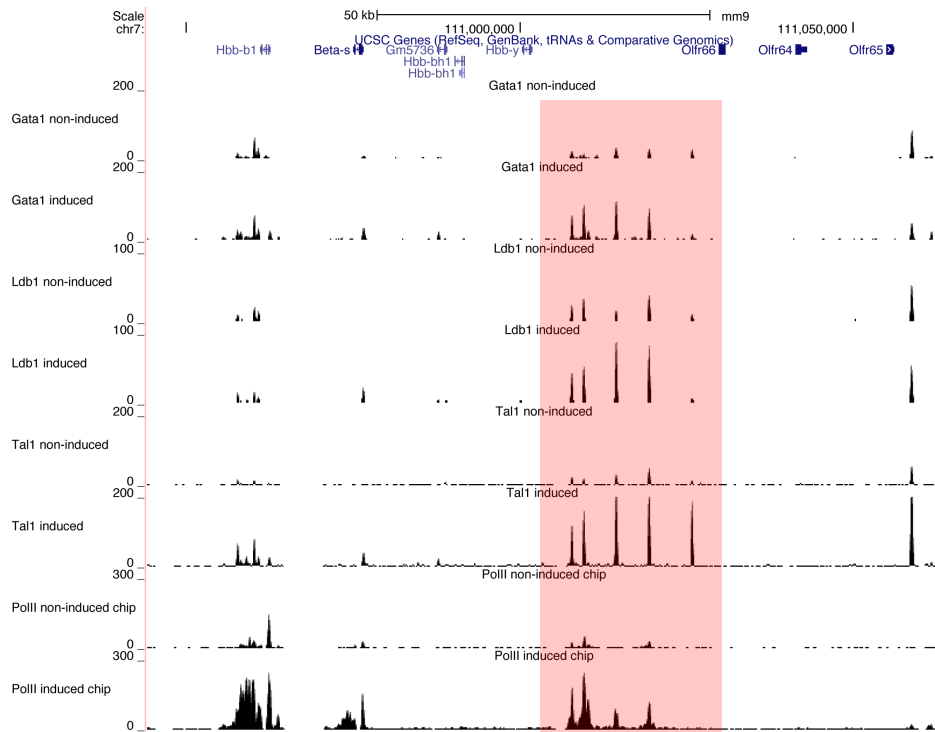
Αρχιτεκτονική του γονιδιώματος στην κατανόηση του γονιδιακού ελέγχου



Πως ρυθμίζονται τα γονίδια globin (Hbb);



MEL NI MEL IN



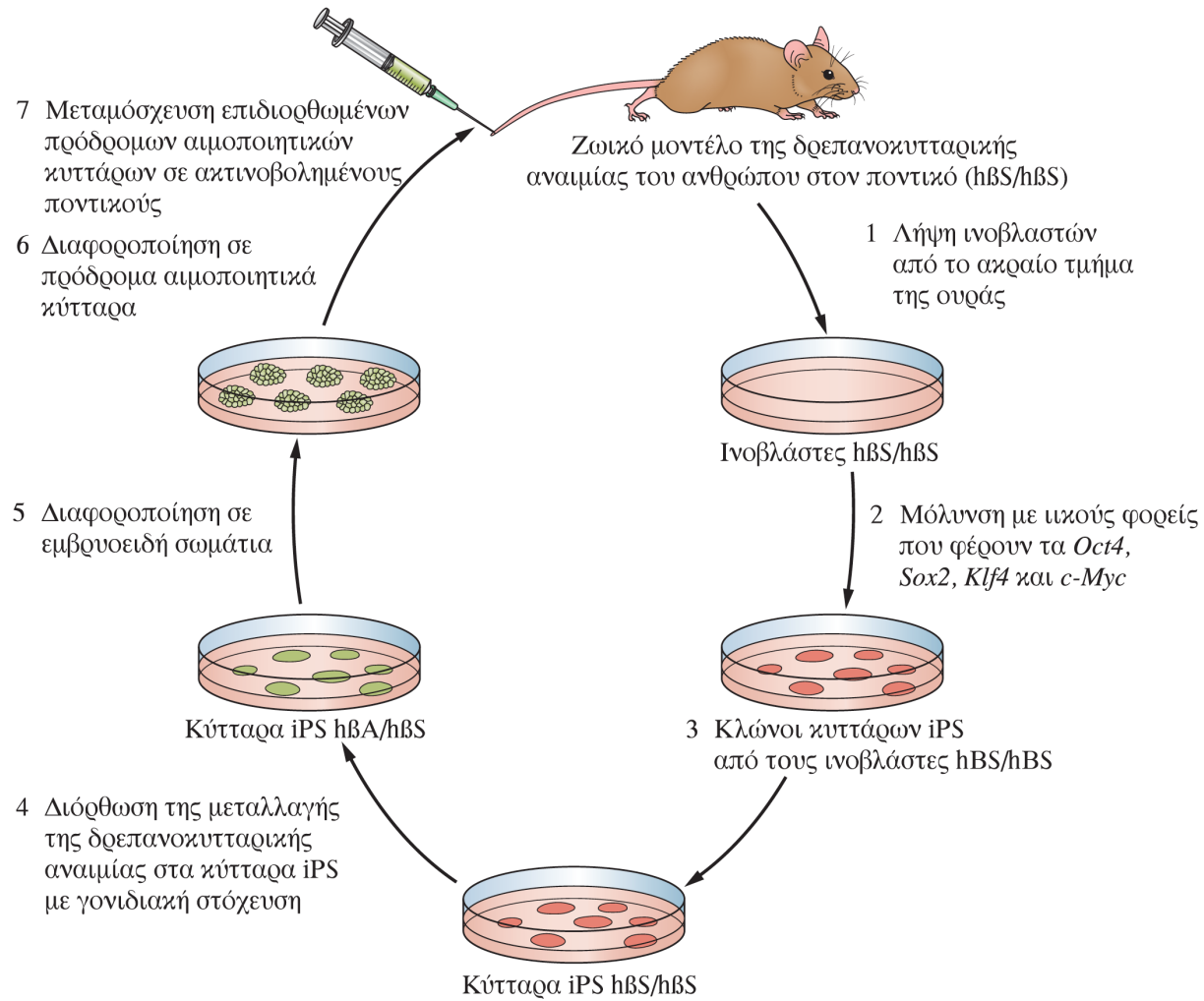
Αιμοσφαιρινοπάθειες

- Η σωστή ρύθμιση των γονιδίων Hbb και Hba είναι σημαντική
- Η μεσογειακή αναιμία ή θαλασσαιμία είναι μια κληρονομική αυτοσωμική υπολειπόμενη νόσος.
- Εντοπίζεται κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου Θάλασσας
 - Γιατί?? -> Ελονοσία
- Οφείλεται στην έλλειψη ή στην μετάλλαξη στα γονίδια Hbb, Hba

Αναιμία

- Απώλεια αίματος
- Απλασία του μυελού των οστών
- Έλλειψη βιταμίνης B12
- Αιμόλυση των ερυθροκυττάρων

Αιμοσφαιρινοπάθειες/Θεραπεία?



Αιμοσφαιρινοπάθειες/Θεραπεία?

- Hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH)
 - ✓ Πλεονέκτημα όταν έχουν μεσογειακή αναιμία ή θαλασσαιμία
- Ενεργοποίηση της Εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (Fetal) (HbF = $\alpha_2\gamma_2$)
 - Μεγάλη έρευνα για τον σκοπό αυτό

Αιμοσφαιρινοπάθειες/Θεραπεία?

Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Thalassemia and Sickle Cell Anemia

Guido Lucarelli, Antonella Isgro, Pietro Sodani, and Javid Gaziev

International Center for Transplantation in Thalassemia and Sickle Cell Anemia–Mediterranean
Institute of Hematology, Policlinic of the University of Rome Tor Vergata, Tor Vergata, Italy

Correspondence: g.lucarelli@fondazioneime.org

Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel

Emanuele Angelucci,¹ Susanne Matthes-Martin,² Donatella Baronciani,³ Françoise Bernaudin,⁴ Sonia Bonanomi,⁵ Maria Domenica Cappellini,⁶ Jean-Hugues Dalle,⁷ Paolo Di Bartolomeo,⁸ Cristina Díaz de Heredia,⁹ Roswitha Dickerhoff,¹⁰ Claudio Giardini,¹¹ Eliane Gluckman,¹² Ayad Achmed Hussein,¹³ Naynesh Kamani,¹⁴ Milen Minkov,² Franco Locatelli,¹⁵ Vanderson Rocha,¹⁶ Petr Sedlacek,¹⁷ Frans Smiers,¹⁸ Isabelle Thuret,¹⁹ Isaac Yaniv,²⁰ Marina Cavazzana,^{21,22,23,24} and Christina Peters,^{2,25} on behalf of the EBMT Inborn Error and EBMT Paediatric Working Parties

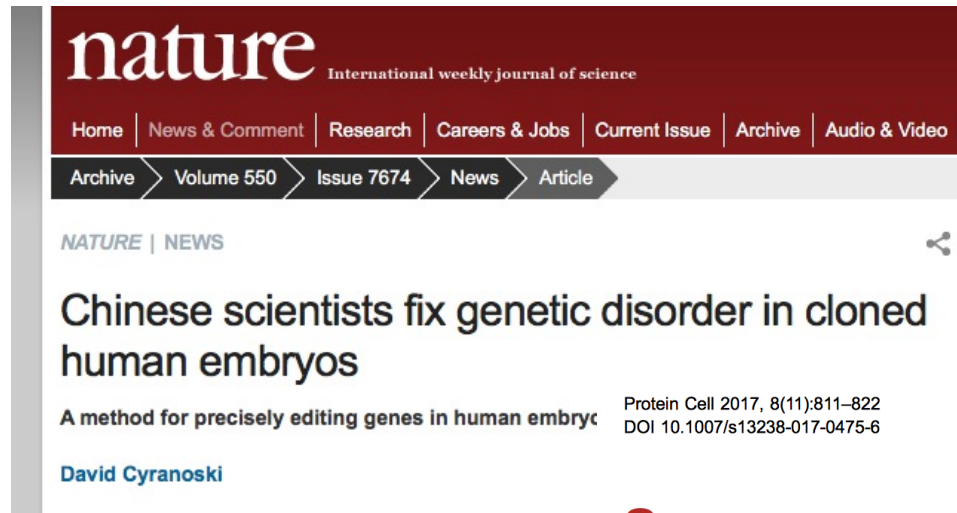
The NEW ENGLAND JOURNAL of MED

BRIEF REPORT

Gene Therapy in a Patient with Sickle Cell Disease

Jean-Antoine Ribeil, M.D., Ph.D., Salima Hacein-Bey-Abina, Pharm.D., Ph.D.,
Emmanuel Payen, Ph.D., Alessandra Magnani, M.D., Ph.D.,
Michaela Semeraro, M.D., Ph.D., Elisa Magrin, Ph.D., Laure Caccavelli, Ph.D.,
Benedicte Neven, M.D., Ph.D., Philippe Bourget, Pharm.D., Ph.D.,
Wassim El Nemer, Ph.D., Pablo Bartolucci, M.D., Ph.D., Leslie Weber, M.Sc.,
Hervé Puy, M.D., Ph.D., Jean-François Meritet, Ph.D., David Grevent, M.D.,
Yves Beuzard, M.D., Stany Chrétien, Ph.D., Thibaud Lefebvre, M.D.,
Robert W. Ross, M.D., Olivier Negre, Ph.D., Gabor Veres, Ph.D.,
Laura Sandler, M.P.H., Sandeep Soni, M.D., Mariane de Montalembert, M.D., Ph.D.,
Stéphane Blanche, M.D., Philippe Leboulch, M.D., and Marina Cavazzana, M.D., Ph.D.

Αιμοσφαιρινοπάθειες/Θεραπεία?



nature International weekly journal of science

Home | News & Comment | Research | Careers & Jobs | Current Issue | Archive | Audio & Video

Archive > Volume 550 > Issue 7674 > News > Article

NATURE | NEWS

Chinese scientists fix genetic disorder in cloned human embryos

A method for precisely editing genes in human embryo

Protein Cell 2017, 8(11):811–822
DOI 10.1007/s13238-017-0475-6

David Cyranoski



Protein & Cell

SHORT ARTICLE

Correction of β -thalassemia mutant by base editor in human embryos

Puping Liang^{1,2}, Chenhui Ding², Hongwei Sun¹, Xiaowei Xie¹, Yanwen Xu², Xiya Zhang¹, Ying Sun¹, Yuanyan Xiong¹, Wenbin Ma¹, Yongxiang Liu², Yali Wang², Jianpei Fang³, Dan Liu⁴, Zhou Songyang^{1,2,4}, Canquan Zhou², Junjiu Huang^{1,2}

ARTICLE

DOI: 10.1038/s41467-017-00479-7 OPEN

Editing an α -globin enhancer in primary human hematopoietic stem cells as a treatment for β -thalassemia

Sachith Mettananda^{1,2}, Chris A. Fisher¹, Deborah Hay¹, Mohsin Badat¹, Lynn Quek¹, Kevin Clark³, Philip Hublitz³, Damien Downes¹, Jon Kerry¹, Matthew Gosden¹, Jelena Telenius¹, Jackie A. Sloane-Stanley¹, Paula Faustino^{4,5}, Andreia Coelho⁴, Jessica Doondee⁴, Batchimeg Usukhbayar¹, Paul Sopp³, Jacqueline A. Sharpe¹, Jim R. Hughes¹, Paresh Vyas^{1,6}, Richard J. Gibbons¹ & Douglas R. Higgs^{1,6}

Λευχαιμίες

- Οξεία μυελογενής λευχαιμία (acute myeloid leukemia, AML)
- Χρόνια μυελογενής λευχαιμία (chronic myeloid leukemia, CML)
- Οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (acute lymphoblastic leukaemia, ALL)
- Χρόνια λεμφογενής λευχαιμία (chronic lymphocytic leukaemia, CLL)

Λευχαιμίες

- **Οξεία μυελογενής λευχαιμία (acute myeloid leukemia, AML)**
 - Επηρεάζει το αίμα και τον μυελό των οστων
 - Αυξημένα λευκά αιμοσφαίρια που αποικίζουν τον μυελό των οστων και αποτρέπουν την παραγωγή αίματος
 - Πιο συχνά σε ενήλικες από ότι στα παιδιά, και πιο συχνά στους άνδρες από τις γυναίκες.
 - Η AML αντιμετωπίζεται με χημειοθεραπεία.
 - Το ποσοστό πενταετούς επιβίωσης είναι 40%, εκτός από την APL (οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία), που είναι πάνω από 90%.
 - Οι υπότυποι της AML περιλαμβάνουν την οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία, την οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία, και την οξεία μεγακαρυοβλαστική λευχαιμία.

Διάφορες κατηγορίες AML

Table 1. Proposed Genomic Classification of Acute Myeloid Leukemia (AML).

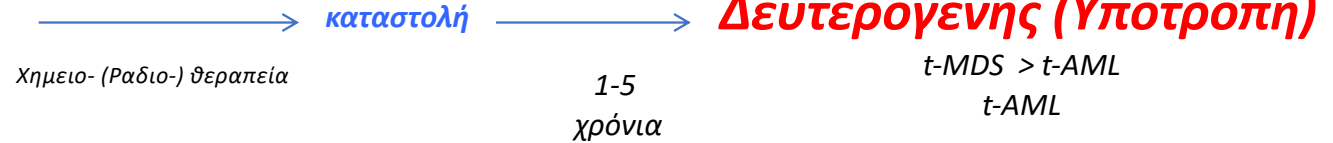
Genomic Subgroup	Frequency in the Study Cohort (N=1540)	Most Frequently Mutated Genes*
	no. of patients (%)	gene (%)
AML with <i>NPM1</i> mutation	418 (27)	<i>NPM1</i> (100), <i>DNMT3A</i> (54), <i>FLT3</i> ^{ITD} (39), <i>NRAS</i> (19), <i>TET2</i> (16), <i>PTPN11</i> (15)
AML with mutated chromatin, RNA-splicing genes, or both†	275 (18)	<i>RUNX1</i> (39), <i>MLL</i> ^{PTD} (25), <i>SRSF2</i> (22), <i>DNMT3A</i> (20), <i>ASXL1</i> (17), <i>STAG2</i> (16), <i>NRAS</i> (16), <i>TET2</i> (15), <i>FLT3</i> ^{ITD} (15)
AML with <i>TP53</i> mutations, chromosomal aneuploidy, or both‡	199 (13)	Complex karyotype (68), -5/5q (47), -7/7q (44), <i>TP53</i> (44), -17/17p (31), -12/12p (17), +8/8q (16)
AML with inv(16)(p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i>	81 (5)	inv(16) (100), <i>NRAS</i> (53), +8/8q (16), +22 (16), <i>KIT</i> (15), <i>FLT3</i> ^{TKD} (15)
AML with biallelic <i>CEBPA</i> mutations	66 (4)	<i>CEBPA</i> ^{biallelic} (100), <i>NRAS</i> (30), <i>WT1</i> (21), <i>GATA2</i> (20)
AML with t(15;17)(q22;q12); <i>PML-RARA</i>	60 (4)	t(15;17) (100), <i>FLT3</i> ^{ITD} (35), <i>WT1</i> (17)
AML with t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	60 (4)	t(8;21) (100), <i>KIT</i> (38), -Y (33), -9q (18)
AML with <i>MLL</i> fusion genes; t(x;11)(x;q23)§	44 (3)	t(x;11q23) (100), <i>NRAS</i> (23)
AML with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); <i>GATA2</i> , <i>MECOM(EVI1)</i>	20 (1)	inv(3) (100), -7 (85), <i>KRAS</i> (30), <i>NRAS</i> (30), <i>PTPN11</i> (30), <i>ETV6</i> (15), <i>PHF6</i> (15), <i>SF3B1</i> (15)
AML with <i>IDH2</i> ^{R172} mutations and no other class-defining lesions	18 (1)	<i>IDH2</i> ^{R172} (100), <i>DNMT3A</i> (67), +8/8q (17)
AML with t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i>	15 (1)	t(6;9) (100), <i>FLT3</i> ^{ITD} (80), <i>KRAS</i> (20)
AML with driver mutations but no detected class-defining lesions	166 (11)	<i>FLT3</i> ^{ITD} (39), <i>DNMT3A</i> (16)
AML with no detected driver mutations	62 (4)	
AML meeting criteria for ≥2 genomic subgroups	56 (4)	

Η θεραπεία δεν είναι πάντα αθώα

Πρωτογενής

Καρκίνος

Στήθους, Ωοθήκες,
Λέμφωμα,
Λευχαιμία
....



- TP53 μεταλλάξεις (~30%)
- Ch5 ή Ch7 (70 - 90%)
- Μειωμένη απόκριση στην χημειοθεραπεία

>> Άσχημη πρόγνωση

Καρκίνος σε καταστολή: 28-50 %
(cf. de novo AML: 55-80%)

Λευχαιμίες

- **Χρόνια μυελογενής λευχαιμία (chronic myeloid leukemia, CML)**
 - Επηρεάζει το αίμα και τον μυελο των οστων
 - Αυξημένος αριθμός ανώριμων λευκοκυττάρων στο περιφερικό αίμα
 - Λόγω ανωριμότητας δεν μπορούν να πολεμήσουν λοιμωξεις
 - Συχνά επηρεάζει τους ενήλικες άνω των 55 ετών. Μερικές φορές παρουσιάζεται σε νεότερους ενήλικες, αλλά σχεδόν ποτέ δεν επηρεάζει τα παιδιά.
 - Τα δύο τρίτα των επηρεαζόμενων ανθρώπων είναι άνδρες. Το ποσοστό πενταετούς επιβίωσης είναι 75%.
 - Είναι ανίατη, αλλά υπάρχουν πολλές αποτελεσματικές θεραπείες. Ένας υπότυπος η Β-κυττάρων χρόνια προλεμφοκυτταρική λευχαιμία είναι μια πιο επιθετική ασθένεια.

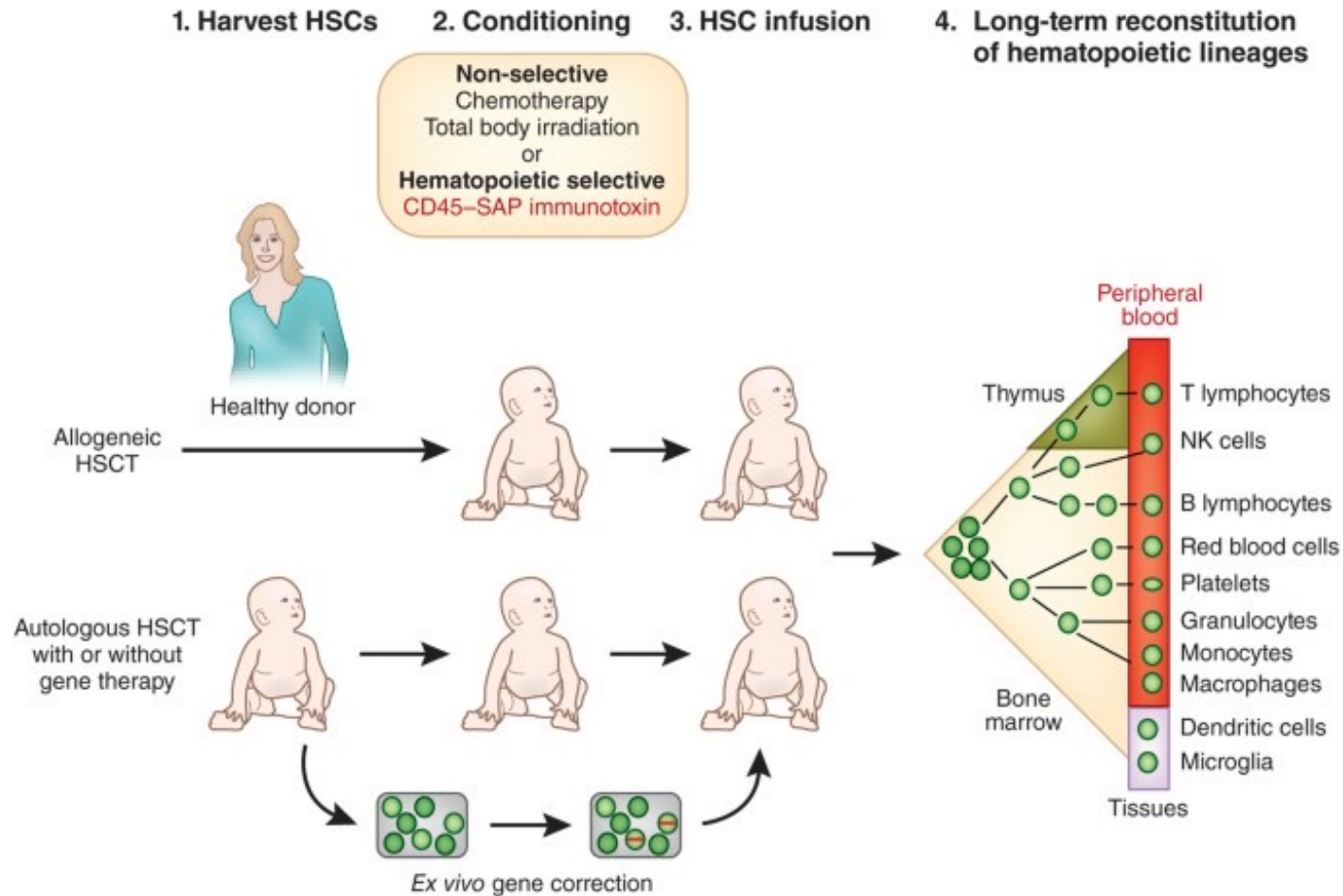
Λευχαιμίες

- **Οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (acute lymphoblastic leukaemia, ALL)**
 - Αυξημένος αριθμός ανώριμων λευκοκυττάρων γνωστά ως λεμφοβλάστες
 - Αποικίζουν τον μυελό των οστών και αποτρέπουν την παραγωγή αίματος
 - Λόγω ανωριμότητας δεν μπορούν να πολεμήσουν λοιμώξεις
 - Αυτή η ασθένεια επηρεάζει και τους ενήλικες, ιδιαίτερα, εκείνους ηλικίας 65 ετών και άνω.
 - Οι θεραπείες περιλαμβάνουν χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία.
 - Τα ποσοστά επιβίωσης διαφέρουν ανάλογα με την ηλικία: 85% στα παιδιά και 50% στους ενήλικες.

Λευχαιμίες

- **Χρόνια λεμφογενής λευχαιμία (chronic lymphocytic leukaemia, CLL)**
 - Αργός αναπτυσσόμενος καρκίνος
 - Επηρεάζει τα β-λεμφοκύτταρα
 - Αποτελεί την πιο συχνή λευχαιμία στους ενήλικες, και την πιο σημαντική στη Δυτική Ευρώπη, φτάνοντας το 30% όλων των λευχαιμιών.
 - Εμφανίζεται κυρίως στους πιο ηλικιωμένους, με το 85% των περιστατικών να διαγιγνώσκονται σε άτομα άνω των 55 ετών, με διάμεση ηλικία αυτή των 72 ετών.
 - Μόλις το 2% των ασθενών είναι κάτω των 40 ετών.
 - Παρατηρείται επικράτηση των αρρένων σε αναλογία 2:1.
 - Στην Ελλάδα, εκτιμάται ότι διαγιγνώσκονται περισσότερα από 300 νέα περιστατικά το χρόνο.

Θεραπεία με βλαστοκύτταρα

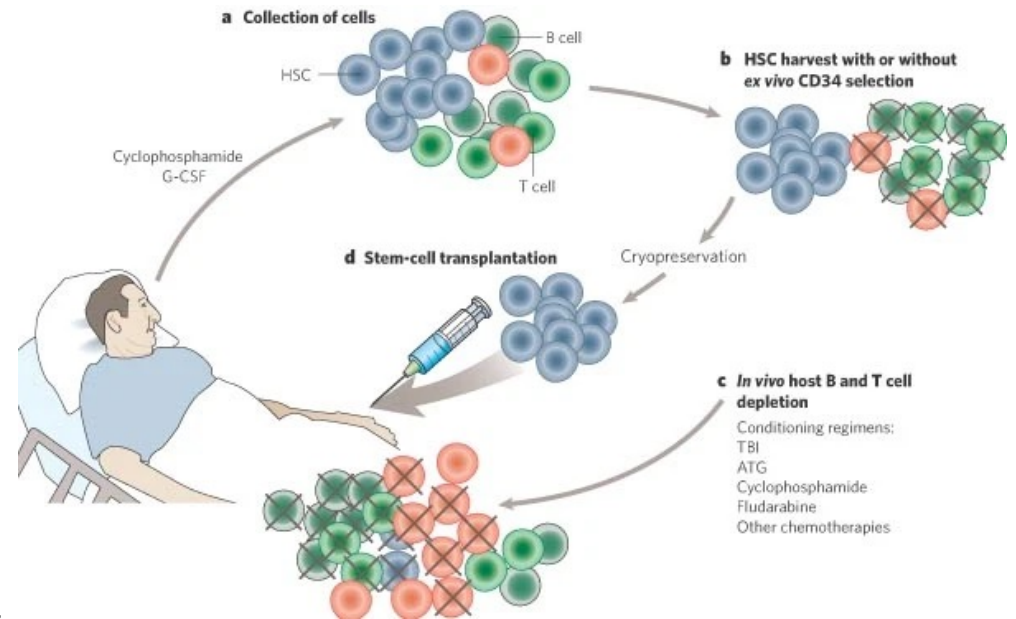


- Αυτόλογη μεταμόσχευση
- Ετερόλογη μεταμόσχευση

Θεραπεία με βλαστοκύτταρα

☐ Αυτόλογη μεταμόσχευση

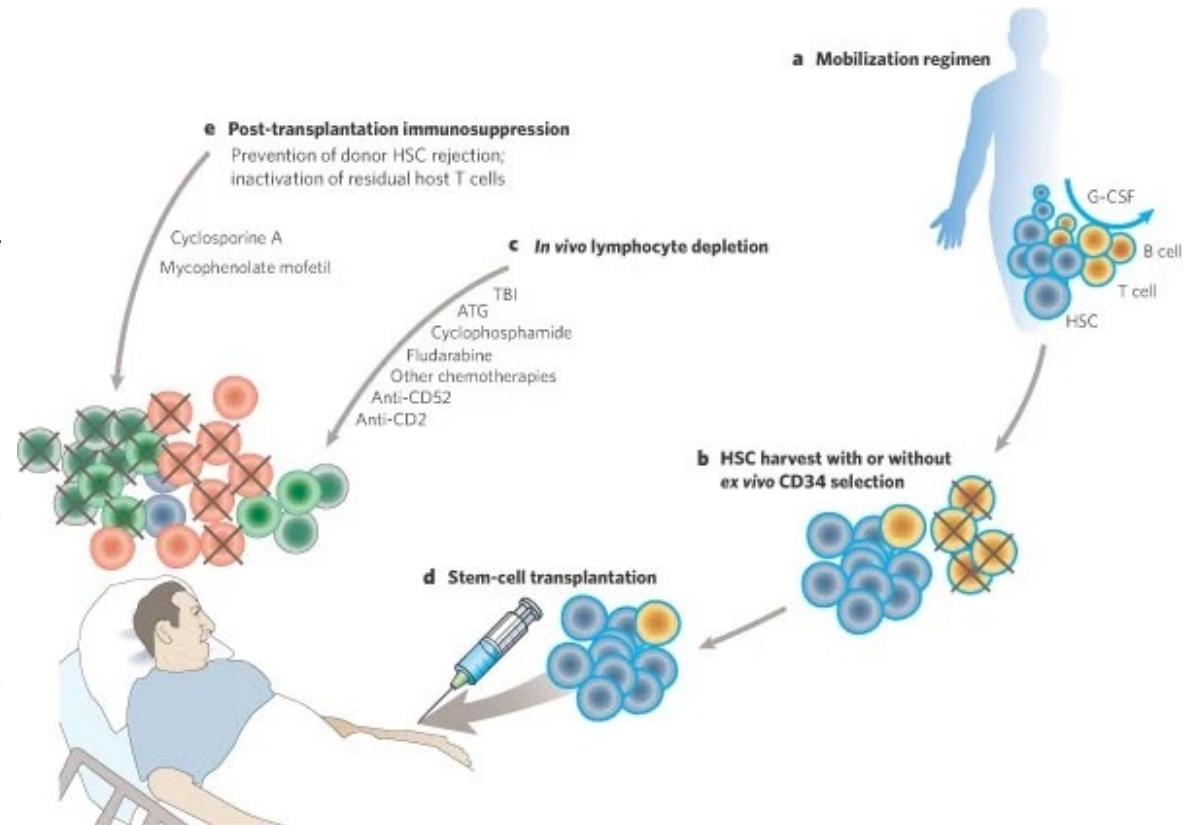
- ✓ Τα βλαστικά κύτταρα προέρχονται από τον ίδιο τον οργανισμό που λαμβάνει την μεταμόσχευση.
- ✓ Συλλέγονται από τον ασθενή όταν είναι ελεύθερος από οποιοδήποτε σύμπτωμα ασθένειας (ή η νόσος του είναι σε ύφεση), μετά τη συμβατική χημειοθεραπεία ή άλλη θεραπεία.
- ✓ Τα βλαστικά κύτταρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν αμέσως μετά τη συλλογή.
- ✓ Μπορούν επίσης να καταψυχθούν, αποθηκευτούν και να χρησιμοποιηθούν στο μέλλον εάν χρειαστεί.
- ✓ Η αυτόλογη μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων ονομάζεται επίσης υποστηρικτική θεραπεία βλαστικών κυττάρων, μιας και τα βλαστικά κύτταρα προέρχονται από τον ίδιο οργανισμό.



Θεραπεία με βλαστοκύτταρα

☐ Ετερόλογη μεταμόσχευση

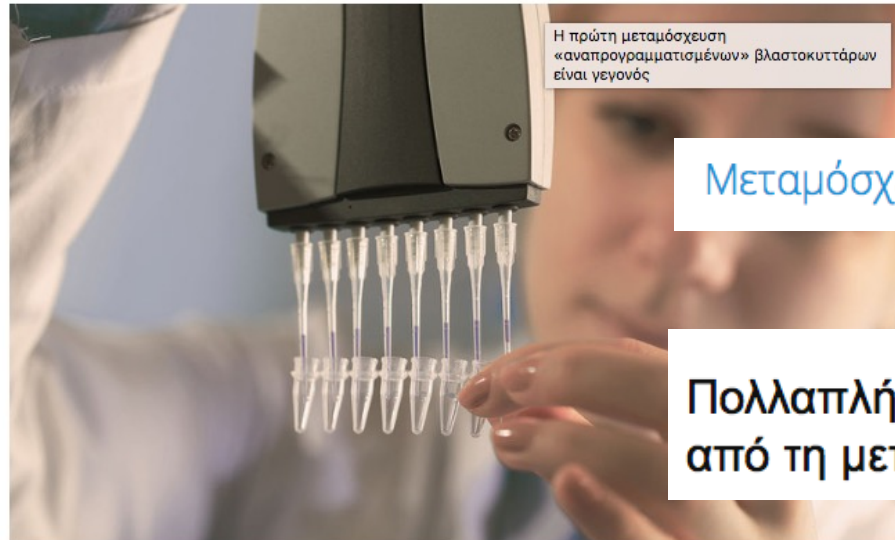
- ✓ Τα βλαστικά κύτταρα που χρησιμοποιούνται για τη μεταμόσχευση προέρχεται από κάποιον άλλο οργανισμό - ενός δότη.
- ✓ Στενός συγγενής, όπως αδελφός ή αδελφή, όπου υπάρχει μεγάλη πιθανότητα συμβατότητας.
- ✓ Οι μη συγγενείς δότες πρέπει να ταυτοποιούνται με τους ασθενείς που χρειάζονται μεταμόσχευση.



Η πρώτη μεταμόσχευση «αναπρογραμματισμένων» βλαστοκυττάρων είναι γεγονός

30/03/2017 20:15

Like 0 Share



Η πρώτη μεταμόσχευση «αναπρογραμματισμένων» βλαστοκυττάρων είναι γεγονός

Μεταμόσχευση Οφθαλμικών Βλαστοκυττάρων

Πολλαπλή σκλήρυνση: Οφέλη και κίνδυνοι από τη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων

Ένας ηλικιωμένος Ιάπωνας έγινε ο πρώτος άνθρωπος στον κόσμο στον οποίο εμφυτεύθηκαν αναπρογραμματισμένα βλαστικά κύτταρα, όχι δικά του αλλά προερχόμενα από δωρητή, προκειμένου να θεραπευτεί η εκφύλιση της ωχράς κηλίδας στα μάτια του.

Πρώτη απόπειρα μεταμόσχευσης βλαστοκυττάρων σε αναπτυσσόμενα έμβρυα

Κίνδυνοι σε μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων

- Οι λοιμώξεις
 - Εντατική χημειοθεραπεία -> χαμηλή ανοσία -> λοιμώξεις.
- Αιμορραγία ως αποτέλεσμα του χαμηλού επιπέδου των αιμοπεταλίων μετά τη χημειοθεραπεία.
- Σε περίπτωση ετερόλογης μεταμόσχευσης υπάρχει κάποιος κίνδυνος η ταυτοποίηση του αίματος του δότη με του ασθενή να μην είναι τέλεια, και τα κύτταρα του δότη να αντιδράσουν με τα κύτταρα του ασθενούς.
 - Αντίδραση μοσχεύματος έναντι ξενιστή -> πολύ σοβαρή κατάσταση.
- Σπάνια, τα μεταμοσχευμένα βλαστικά κύτταρα αποτυγχάνουν να λειτουργήσουν.
- Υπάρχει κίνδυνος βραχυπρόθεσμων και μακροπρόθεσμων παρενεργειών από την έντονη χημειοθεραπεία (και / ή ακτινοθεραπεία).

Βλαστοκύτταρα και μεταμοσχεύσεις υπό το φως της Βιοηθικής

➤ Βιοηθική

