



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)

**Η ΘΕΣΗ ΤΩΝ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ  
ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΥΕΛΙΚΟΥ  
ΕΛΑΦΟΥΣ ΣΤΙΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ**

ΛΟΥΚΟΠΟΥΛΟΣ ΘΕΜΙΣΤΟΚΛΗΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΑΓΓΕΛΙΔΗΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2021





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ (ΒΒΕ)»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ (ΜΔΕ)

**Η ΘΕΣΗ ΤΩΝ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ  
ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΥΕΛΙΚΟΥ  
ΕΛΑΦΟΥΣ ΣΤΙΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ**

ΛΟΥΚΟΠΟΥΛΟΣ ΘΕΜΙΣΤΟΚΛΗΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΑΓΓΕΛΙΔΗΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2021

«Η έγκριση της Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

**Η ΘΕΣΗ ΤΩΝ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΩΝ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΗ  
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΠΥΕΛΙΚΟΥ ΕΛΑΦΟΥΣ ΣΤΙΣ  
ΓΥΝΑΙΚΕΣ**

**Λουκόπουλος Θεμιστοκλής**

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗΣ 31/05/2021

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- 1. Αγγελίδης Χαράλαμπος**, Καθηγητής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (επιβλέπων)
- 2. Βεζυράκη Πατρόνα**, Καθηγήτρια του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (μέλος)
- 3. Σύρρου Μαρίκα**, Καθηγήτρια του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (μέλος)

## Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών “Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες” του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κατά το 3<sup>ο</sup> εξάμηνο των σπουδών μου, το ακαδημαϊκό έτος 2020-2021.

Κίνητρό μου για την ενασχόληση με την αντιμετώπιση των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους αποτέλεσε η ιδιότητά μου ως ειδικευόμενος ιατρός στην Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Οι τρέχουσες θεραπείες για την εν λόγω νόσο δεν είναι απόλυτα αποτελεσματικές και δε στερούνται επιπλοκών. Αντίθετα, παρόλο που η εφαρμογή των βλαστικών κυττάρων για την αντιμετώπιση αυτών των διαταραχών βρίσκεται ακόμα σε αρχικό στάδιο, αναμένεται να αποτελέσουν ένα χρήσιμο εργαλείο στο άμεσο μέλλον.

Στην εργασία αυτή πραγματοποιείται λεπτομερής εξήγηση των πτυχών που περιλαμβάνει ο όρος “δυσλειτουργία του πυελικού εδάφους” και αναλύονται τα βλαστικά κύτταρα και οι ιδιότητές τους, με επιπλέον εμβάθυνση στα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα και στον τρόπο που συνεισφέρουν στην αντιμετώπιση της νόσου που μελετάται. Στη συνέχεια, παρουσιάζεται μια πληθώρα σύγχρονων προκλινικών μελετών και τα αποτελέσματά τους. Τέλος, διερευνάται η δυνατότητα χρήσης ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων για την αντιμετώπιση των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους και παρατίθενται οι σημαντικότερες κλινικές μελέτες στις οποίες έχει πραγματοποιηθεί αυτό το εγχείρημα.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις πιο ειλικρινείς μου ευχαριστίες στον Επιβλέποντα Καθηγητή κ. Χαράλαμπο Αγγελίδη, Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και Διευθυντή του μεταπτυχιακού προγράμματος “Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες” και τα μέλη της τριμελούς επιτροπής κα Πατρώνα Βεζυράκη, Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και κα Σύρρου Μαρίκα, Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για τη διάθεση του χρόνου τους και της γνώσης τους τόσο για την παρούσα εργασία όσο και κατά τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Κούκλη Παναγιώτη, Επίκουρο Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την ανάθεση αυτής της διπλωματικής εργασίας και την πολύτιμη βοήθεια που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της εκπόνησής της.

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Πέσχο Δημήτριο, Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων τόσο για τις πολύτιμες συμβουλές και παρατηρήσεις του πάνω στην παρούσα εργασία, όσο και για όλη τη συνεισφορά του από τα πρώτα έτη της φοίτησής μου στην Ιατρική Σχολή έως σήμερα.

Τέλος, ευχαριστώ όλους τους καθηγητές που συμμετείχαν στο πρόγραμμα σπουδών του προγράμματος “Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες”, η πλειονότητα των οποίων έχουν αποτελέσει καθηγητές μου από το προπτυχιακό επίπεδο, κατά τη διάρκεια των σπουδών μου στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Δίχως τις γνώσεις που μου παρείχαν όλα αυτά τα χρόνια η συγγραφή του παρόντος έργου δε θα ήταν εφικτή.



## Περιεχόμενα

Πρόλογος .....	1
Κεφάλαιο 1: Δυσλειτουργία πνευλικού εδάφους .....	7
Ορισμός.....	7
Ανατομία και λειτουργία .....	7
Εκδηλώσεις.....	9
Αιτιολογία.....	11
Επιδημιολογία.....	13
Παθοφυσιολογία .....	14
Διάγνωση .....	14
Θεραπεία.....	15
Τροποποίηση του τρόπου ζωής: .....	17
Φαρμακευτική αγωγή: .....	17
Μη επεμβατικοί χειρισμοί: .....	17
Επεμβατικές διαδικασίες: .....	18
Χειρουργική αντιμετώπιση:.....	18
Νεότερες θεραπείες.....	19
Κεφάλαιο 2: Βλαστικά κύτταρα .....	21
Ιστορική αναδρομή.....	21
Ορισμός και Ταξινόμηση.....	22
Ταξινόμηση με βάση την προέλευση.....	22
Ταξινόμηση με βάση το δυναμικό διαφοροποίησης.....	25
Κεφάλαιο 3: Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs).....	29
Ορισμός και γενικά στοιχεία.....	29
Προέλευση .....	30
Μυελός των οστών.....	30
Λιπώδης ιστός.....	32
Οδοντικός πολφός.....	34
Περιγεννητικοί ιστοί.....	35
Αμνιακό υγρό και πλακούντας .....	36
Περιφερικό αίμα .....	37



Ενδομήτριο .....	38
Δέρμα .....	38
Μύες.....	39
Κεφάλαιο 4: Ιδιότητες των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων.....	41
Μετανάστευση .....	41
Μηχανισμός δράσης .....	41
Επισκευή ιστών.....	43
Μηχανισμός δράσης .....	44
Ανοσοτροποποίηση.....	45
Αυτόλογα vs Αλλογενή MSCs.....	46
Μηχανισμός δράσης .....	46
Έλεγχος κυτταρικού θανάτου .....	50
Τροποποίηση του κυτταρικού θανάτου από τα MSCs .....	50
Μηχανισμός δράσης .....	51
Κεφάλαιο 5: Εφαρμογή των MSCs στην Δυσλειτουργία του Πνευλικού Εδάφους .....	55
Ανάγκη για χρήση νέων μεθόδων.....	55
Πηγές MSCs στη θεραπεία της PFD .....	55
MSCs του μυελού των οστών.....	55
MSCs του λιπώδους ιστού.....	56
MSCs του μυϊκού ιστού.....	57
MSCs του ενδομητρίου.....	57
MSCs των περιγεννητικών ιστών .....	58
Ο Ρόλος των MSCs στη θεραπεία της PFD.....	59
Μετανάστευση στην περιοχή της βλάβης.....	59
Παρακρινείς επιδράσεις.....	60
Κεφάλαιο 6: Προκλινικές μελέτες της εφαρμογής των MSCs στις διαταραχές του πνευλικού εδάφους.....	65
Θεραπεία των PFDs μέσω της μηχανικής των ιστών βασιζόμενης σε MSCs .....	73
Θεραπεία των PFDs με προϊόντα έκκρισης των MSCs.....	75
Κεφάλαιο 7: Είναι εφικτή η χρήση ανθρώπινων MSCs σε κλινικές εφαρμογές των PFDs;.....	78

Κεφάλαιο 8: Κλινικές μελέτες της εφαρμογής των MSCs στις διαταραχές του πνευλικού εδάφους .....	79
Υλικά και μέθοδοι.....	85
Περίληψη .....	87
Abstract .....	89
Βιβλιογραφία .....	91



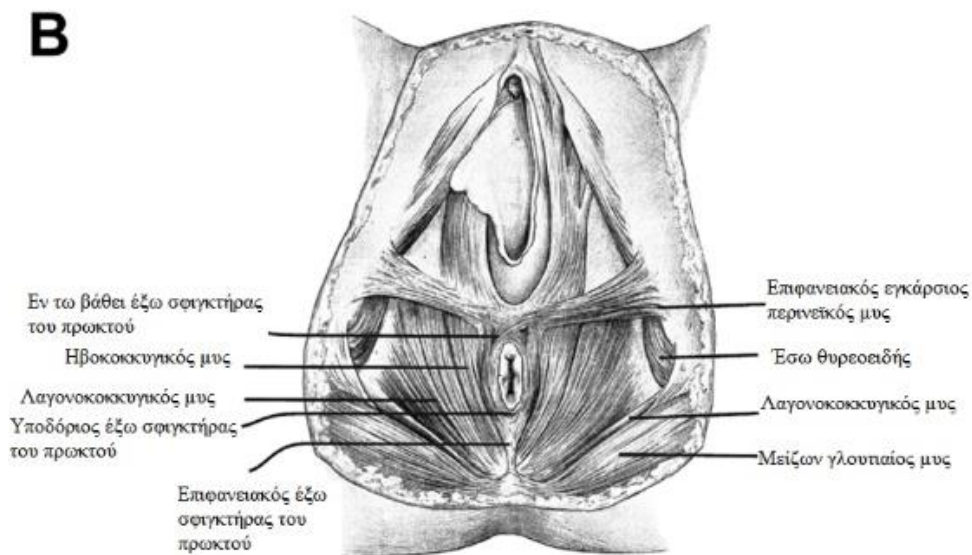
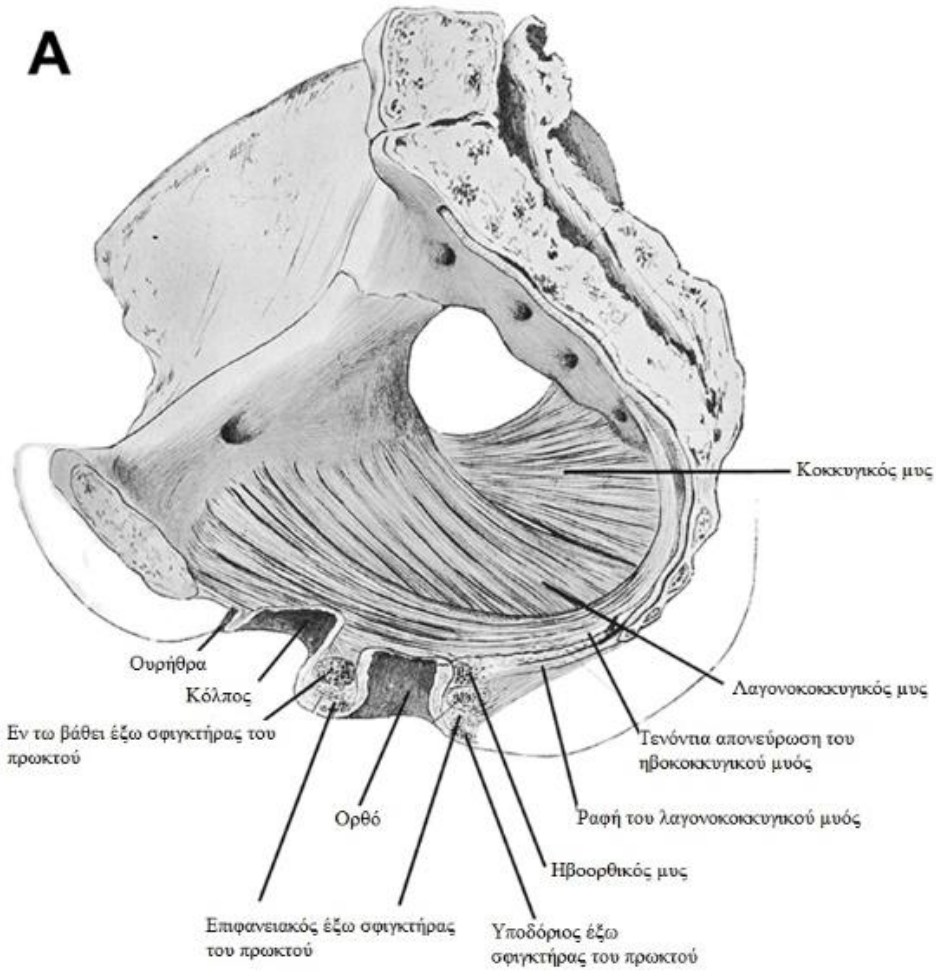
## Κεφάλαιο 1: Δυσλειτουργία πυελικού εδάφους

### Ορισμός

Η δυσλειτουργία του πυελικού εδάφους αναφέρεται σε ένα ευρύ σύμπλεγμα συμπτωμάτων και ανατομικών αλλαγών σχετιζόμενων με το πυελικό μυϊκό σύστημα. Η διαταραγμένη λειτουργία αντιστοιχίζεται είτε σε αυξημένη δραστηριότητα, δηλαδή υπερτονία, είτε σε μειωμένη δραστηριότητα, δηλαδή υποτονία των πυελικών μυών. Οι κλινικές πτυχές της πάθησης μπορεί να είναι γυναικολογικές, ουρολογικές, ορθοπρωκτικές και συχνά είναι αλληλένδετες. Ένας άλλος τρόπος διαμερισματοποίησης της νόσου είναι: Πρόσθια όταν εμπλέκονται η ουρήθρα ή η κύστη, μέση όταν περιλαμβάνει την μήτρα ή τον κόλπο και οπίσθια όταν τα όργανα που επηρεάζονται είναι η μήτρα ή το ορθό (Grimes, et al, 2020).

### Ανατομία και λειτουργία

Το πυελικό έδαφος δέχεται ολόκληρη την ενδοκοιλιακή πίεση και για τον λόγο αυτόν είναι ειδικά κατασκευασμένο διαθέτοντας σχήμα χωνοειδές ή μεγάλης κούπας. Σχηματίζεται από το πυελικό διάφραγμα, το οποίο αποτελείται από τον κοκκυγικό (ισχιοκοκκυγικό) μυ, τους ανελκτήρες μυς του πρωκτού και τις περιτονίες που καλύπτουν τις άνω και τις κάτω επιφάνειές τους. Οι μύες αυτοί έχουν σχήμα πεπλατυσμένο, κλείνοντας το πυελικό στόμιο από κάτω και αφήνοντας οπές από τις οποίες διέρχονται η ουρήθρα, ο κόλπος και το ορθό. Η μεγαλύτερη και πλέον σημαντική μοίρα του πυελικού εδάφους είναι ο ανελκτήρας μυς του πρωκτού, που αποτελείται από τρεις μοίρες, δύσκολα διαχωριζόμενες μεταξύ τους: τον ηβοορθικό μυ, τον ηβοκοκκυγικό μυ και τον λαγονοκοκκυγικό μυ (Εικόνα 1). Η νεύρωση των δομών του πυελικού εδάφους εξασφαλίζεται πρωτίστως από τα ιερά νεύρα S3 και S4. Η κύρια αιματική παροχή προέρχεται από πλευρικούς κλάδους της έσω λαγόνιας αρτηρίας. Ο ανελκτήρας μυς του πρωκτού σχηματίζει ένα δυναμικό έδαφος για την υποστήριξη των κοιλιοπυελικών σπλάγχων. Βρίσκεται σε τονική σύσπαση τον περισσότερο χρόνο ώστε να υποστηρίζει τα κοιλιοπυελικά σπλάγχνα και να βοηθά στην εγκράτεια των ούρων και των κοπράνων. Συσπάται ενεργά κατά τη διάρκεια δραστηριοτήτων, όπως σε μια



Εικόνα 1. A) Οι μύες του πυελικού εδάφους όπως απεικονίζονται σε οβελιαία τομή. B) Οι μύες του πυελικού εδάφους όπως απεικονίζονται από την επιφάνεια του περινέου (Raizada, et al, 2008).

βίαη εκπνοή, στον βήχα, στον πταρμό, στον έμετο και στη σταθεροποίηση του κορμού κατά τη διάρκεια ισχυρών κινήσεων των άνω άκρων, αυξάνοντας την υποστήριξη των σπλάγγων κατά τη διάρκεια της αυξημένης ενδοκοιλιακής πίεσης και δευτερογενώς συμβάλλει στην αύξηση της πίεσεως βοηθώντας την εξώθηση. Συγκεκριμένα, η ηβοορθική μοίρα, η οποία ελέγχεται εκούσια, συσπάται ενεργά διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της εγκράτειας των κοπράνων αμέσως μετά την πλήρωση του ορθού ή κατά τη διάρκεια μιας περίστασης, όταν το ορθό είναι γεμάτο και ο ακούσιος έσω σφιγκτήρας μυς αναστέλλεται.

Κατά την ούρηση ή την αφόδευση ο ανελκτήρας μυς του πρωκτού πρέπει να χαλαρώσει. Η αυξημένη ενδοκοιλιακή πίεση για την αφόδευση χορηγείται από τη σύσπαση των μυών του θωρακικού διαφράγματος και των μυών του προσθιοπλάγιου κοιλιακού τοιχώματος. Συνεργικά, οι μοίρες του ανελκτήρος μυός του πρωκτού ανυψώνουν το πυελικό έδαφος μετά τη χαλάρωσή τους και την επακόλουθη κάθοδο του πυελικού διαφράγματος, η οποία γίνεται κατά τη διάρκεια της ούρησης ή της αφόδευσης (Λώλης, et al, 2010), (Moore, et al, 2013).

Συμπερασματικά, οι μύες του πυελικού εδάφους είναι υπεύθυνοι για τρεις λειτουργίες:

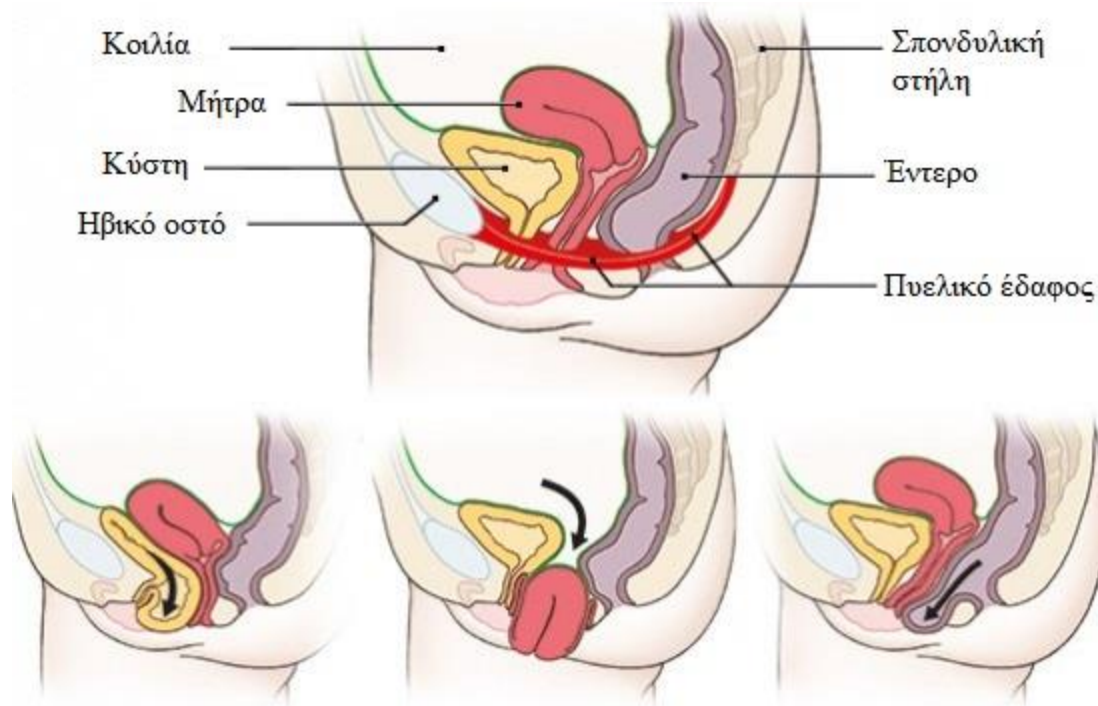
- Υποστήριξη των πυελικών οργάνων- ουροδόχος κύστη, ουρήθρα, κόλπος και μήτρα (θήλεις), προστάτης (άρρηνες), πρωκτός και ορθό, καθώς και γενική στήριξη στο ενδοκοιλιακό περιεχόμενο.
- Συνεισφορά στην εγκράτεια των ούρων και των κοπράνων.
- Συμμετοχή στις σεξουαλικές λειτουργίες της διέγερσης και του οργασμού (Handa, et al, 2008).

## Εκδηλώσεις

Μια ευρεία ποικιλία εκδηλώσεων από διάφορα συστήματα αποδίδεται στη δυσλειτουργία του πυελικού εδάφους. Εμφανίζονται ως αποτέλεσμα υπερτονικότητας, υποτονικότητας, μείωσης ή απώλειας πυελικής υποστήριξης ή ως συνδυασμός αυτών.

- Ουρολογικές:
  - Δυσκολία ούρησης: Διστακτικότητα κατά την έναρξη, καθυστέρηση έναρξης της ούρησης.

- Κυστεοκήλη: Προβολή ή πρόπτωση της ουροδόχου κύστης στον κόλπο.
- Ουρηθροκήλη: Πρόπτωση της ουρήθρας στον κόλπο.
- Ακράτεια ούρων: Ακούσια απώλεια ούρων.
- Γυναικολογικές:
  - Δυσπαρευνία: Άλγος κατά τη διάρκεια ή μετά τη σεξουαλική επαφή.
  - Πρόπτωση μήτρας: Κάθοδος της μήτρας στον κόλπο (μερική πρόπτωση) ή ακόμα και προεξέχουσα μήτρα πέραν της εισόδου του κόλπου (ολική πρόπτωση).
  - Πρόπτωση κόλπου: Προεξοχή του κόλπου πέραν της εισόδου του κόλπου.
  - Εντεροκήλη: Προβολή ή πρόπτωση του εντέρου στον κόλπο.
  - Ορθοκήλη: Προβολή ή πρόπτωση του ορθού στον κόλπο.
- Ορθοκολικές:
  - Δυσκοιλιότητα: Παράδοξη συστολή ή ανεπαρκής χαλάρωση των μυών του πυελικού εδάφους κατά τη διάρκεια προσπάθειας αφόδευσης (δυσλειτουργική αφόδευση).
  - Ακράτεια κοπράνων: Ακούσια απώλεια κοπράνων.
  - Πρόπτωση ορθού: Κάθοδος του ορθού εγγύς του πρωκτού ή πέραν αυτού (Skardoon, et al, 2017) (Εικόνα 2).
- Γενικές:
  - Πυελικός πόνος: Χρόνιος πόνος διάρκειας μεγαλύτερης των τριών με έξι μηνών, μη σχετιζόμενος με άλλη καθορισμένη παθολογική κατάσταση.
  - Σπασμός ανελκτήρα: Χρόνιος πόνος προκαλούμενος από αδυναμία πλήρους χαλάρωσης του ανελκτήρα μυός του πρωκτού.
  - Παροδική πρωκταλγία: Σύντομος πόνος διάρκειας λίγων δευτερολέπτων σχετιζόμενος συχνά με τον ανελκτήρα μυ του πρωκτού.
  - Κάθοδος περινέου: Προβολή του περινέου πέραν της εξόδου της οστέινης πυέλου (Grimes, et al, 2020).



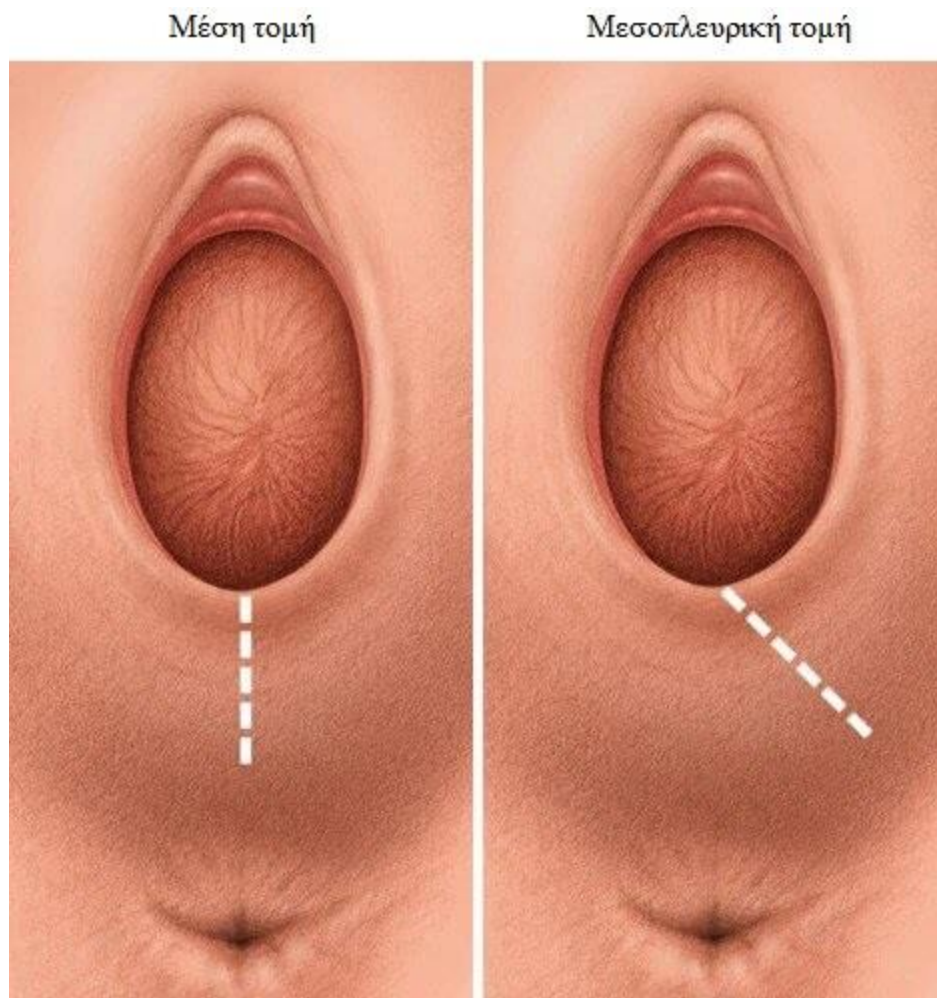
Εικόνα 2. Πάνω: Φυσιολογική θέση οργάνων στην κοιλιά. Κάτω: Αριστερά: Πρόπτωση κύστης, Μέση: Πρόπτωση μήτρας, Δεξιά: Ορθοκήλη (Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG); 2006-. Pelvic organ prolapse: Overview. 2018 Aug 23).

## Αιτιολογία

Οι αιτίες της δυσλειτουργίας του πυελικού εδάφους δεν είναι ακόμη επαρκώς κατανοητές. Μη ειδικά γεγονότα ή υποκείμενοι παράγοντες έχουν γενικά ταυτοποιηθεί ως αιτιολογία αλλά πολλαπλοί παράγοντες είναι υπό συζήτηση. Συμπτώματα υπερτονικότητας, όπως δυσκολία αφόδευσης μπορεί να σχετίζονται με κακές τεχνικές εκμάθησης κένωσης. Συνήθεις προσπάθειες αποφυγής ούρησης ή αφόδευσης μπορεί να οφείλονται σε παράγοντες του τρόπου ζωής και συχνά η δυσλειτουργική αφόδευση εμφανίζεται ήδη από την παιδική ηλικία.

Χειρουργικοί ή μαιευτικοί τραυματισμοί, όπως η περινεοτομή (Hallock, et al, 2016) (Quoc Huy, et al, 2019) κατά τον κολπικό τοκετό μπορεί να οδηγήσουν σε μυϊκό πόνο και υπερτονικότητα του πυελικού εδάφους (Memon, et al, 2013) (Εικόνα 3).





Εικόνα 3. Αριστερά: Περινεοτομή με μέση τομή. Δεξιά: Περινεοτομή με μεσοπλευρική τομή. (Mayo Clinic. Episiotomy: When it's needed, when it's not. 2020 August 25).

Το σύμπτωμα του χρόνιου πυελικού πόνου παρατηρείται συχνά σε γυναίκες που έχουν υποστεί σεξουαλική κακοποίηση (Cichowski, et al, 2013) και εμφανίζεται μεγαλύτερη συσχέτιση όταν συμβαίνει στην ενήλικη ζωή παρά στην παιδική ηλικία (As-Sanie, et al, 2014). Παράγοντες που επιδεινώνουν τον χρόνιο πόνο είναι η κακή στάση σώματος και βάδισης, όπως και η σκελετική ασυμμετρία (Tu, et al, 2008). Η δυσπαρευνία οφειλόμενη σε ατροφική κολπίτιδα ή η αιτιοδυνία μπορεί να συμβάλλουν στην αυξημένη συστολή των μυών με αποτέλεσμα τον πυελικό πόνο. Η εκφυλιστική νευρομυϊκή νόσος, ο τραυματισμός των νωτιαίων νεύρων ή του κάτω μέρους της ράχης μπορεί να προκαλέσουν δυσλειτουργία του πυελικού εδάφους. Επιπλέον, στην εμφάνισή της συμβάλλουν το σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου, η ενδομητρίωση και η διάμεση κυστίτιδα (Faubion, et al, 2012).

Μυοχαλαρωτικά, ναρκωτικά,  $\alpha$ -αναστολείς, αναστολείς διαύλων ασβεστίου και η μεθυλντόπα αυξάνουν τη χαλάρωση των λείων και των γραμμωτών μυών οδηγώντας πιθανόν σε ακράτεια. Αντιϊσταμινικά και αντιχολινεργικά φάρμακα οδηγούν επιπροσθέτως σε κατακράτηση ούρων και δυσουρικά συμπτώματα. Επιπλέον παράγοντες που συμμετέχουν στη δημιουργία δυσλειτουργίας πυελικού εδάφους αποτελούν η αυξημένη ηλικία, η παχυσαρκία, η τεκνοποίηση και η υστερεκτομή (Good, et al, 2019).

## Επιδημιολογία

Παρά τις δυσκολίες μέτρησης και ταξινόμησης των διαταραχών του πυελικού εδάφους, σύγχρονες μελέτες έχουν προσδώσει σημαντικά ακριβείς εκτιμήσεις για τη συχνότητα αυτών των παθολογικών καταστάσεων. Οι διαταραχές αυτές είναι πολύ συχνές και πρόσφατα δεδομένα αποδεικνύουν ότι είναι ακόμα συχνότερες σχετικά με το παρελθόν και σε αυτό πιθανόν συμβάλλει η άμεση συσχέτισή τους με την αύξηση του προσδόκιμου ζωής (Hallock, et al, 2016). Σχεδόν 1 στις 4 γυναίκες θα εμφανίσει τουλάχιστον μία διαταραχή πυελικού εδάφους, ενώ το ποσοστό αυτό διπλασιάζεται για τις γυναίκες που έχουν τεκνοποιήσει και αυξάνεται ακόμα παραπάνω στις ηλικίες των 80 ετών και άνω. Μέχρι την ηλικία των 80 ετών υπολογίζεται πως 1 στις 5 γυναίκες θα υποστεί εγχείρηση για επιδιόρθωση της πρόπτωσης πυελικών οργάνων (Wu, et al, 2014). Ορισμένες φορές μπορεί να εντοπίζονται περισσότερες από μία πτυχώσεις της πάθησης σε μια γυναίκα καθώς σύμφωνα με έρευνες, μεταξύ των γυναικών άνω των 40 ετών με συμπτώματα μιας διαταραχής πυελικού εδάφους, το 16% αυτών εμφανίζει και μια δεύτερη διαταραχή. Συγκεκριμένα, συχνότερη είναι η συνύπαρξη ακράτειας ούρων και κοπράνων με 9% ενώ στο 7% ανιχνεύονται ταυτόχρονα ακράτεια ούρων και πρόπτωση πυελικών οργάνων (Hallock, et al, 2016).

Η σεξουαλική δυσλειτουργία ταυτοποιείται ως πρόβλημα στο 19% των γυναικών και εμφανίζεται με συμπτώματα μειωμένης διέγερσης, μείωσης συχνότητας οργασμού και αυξημένης δυσπαρευνίας (Grimes, et al, 2020). Το αντίστοιχο ποσοστό στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας ανέρχεται στο 40% (McCool-Myers, et al, 2018). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως παρότι περισσότερο από το 65% των γυναικών άνω των 40 παραπονιέται για τουλάχιστον ένα

σύμπτωμα σεξουαλικής δυσλειτουργίας (Li-Yun-Fong, et al, 2017) δεν έχει βρεθεί άμεση συσχέτιση με τις διαταραχές του πυελικού εδάφους (Li-Yun-Fong, et al, 2017), (Thomas, et al, 2019).

## Παθοφυσιολογία

Ο ακριβής μηχανισμός δημιουργίας της νόσου δεν είναι γνωστός. Η μηχανική εξήγηση της πρόπτωσης πυελικών οργάνων σχετίζεται με τη διεύρυνση του χάσματος του ανελκτήρα μυός του πρωκτού και την χαλάρωση του πυελικού εδάφους και κάθοδο προς την ηβοκοκκυγική γραμμή. Για τις αλλαγές αυτές ευθύνονται η παχυσαρκία, η εμμηνόπαυση, η κύηση και ο τοκετός. Σχετικά με την παχυσαρκία, λόγω αύξησης της ενδοκοιλιακής πίεσης και αυξημένης προσπάθειας κατά την κένωση παρατηρείται αυξημένη πιθανότητα πρόπτωσης των πυελικών οργάνων. Όσον αφορά τον τοκετό, τόσο η κολπική οδός όσο και η καισαρική τομή φαίνεται να επηρεάζουν εξίσου την πρόγνωση καθώς η χαλαρότητα του πυελικού εδάφους σχετίζεται κυρίως με ανωμαλίες κολλαγόνου οι οποίες είναι είτε κληρονομικές είτε επίκτητες λόγω των ορμονών που παράγονται κατά την κύηση (Lal, et al, 2003).

## Διάγνωση

Η εκτίμηση ασθενών με διαταραχές πυελικού εδάφους κατευθύνεται με βάση τα παρόντα συμπτώματα. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, είναι συχνή η συνύπαρξη περισσότερων της μιας παθολογικών καταστάσεων, γι' αυτό η προσέγγιση οφείλει να είναι πολυτομεακή. Πολλά είδη διαγνωστικών εξετάσεων είναι διαθέσιμα αλλά καμιά από αυτές δεν είναι απόλυτα διαγνωστική:

- Ουροδυναμικός έλεγχος: Μέτρηση των λειτουργικών πτυχών του περιφερικού ουροποιητικού συστήματος περιλαμβάνοντας την αποθήκευση των ούρων και την κένωση της ουροδόχου κύστης.
- Κυστεοσκοπία: Οπτική απεικόνιση της κύστης και της ουρήθρας.
- Ανορθική μανομετρία: Μέτρηση μήκους πρωκτικού καναλιού στην ηρεμία και κατά την προσπάθεια κένωσης. Μπορεί επίσης να εκτιμηθεί η νευρολογική λειτουργία με την

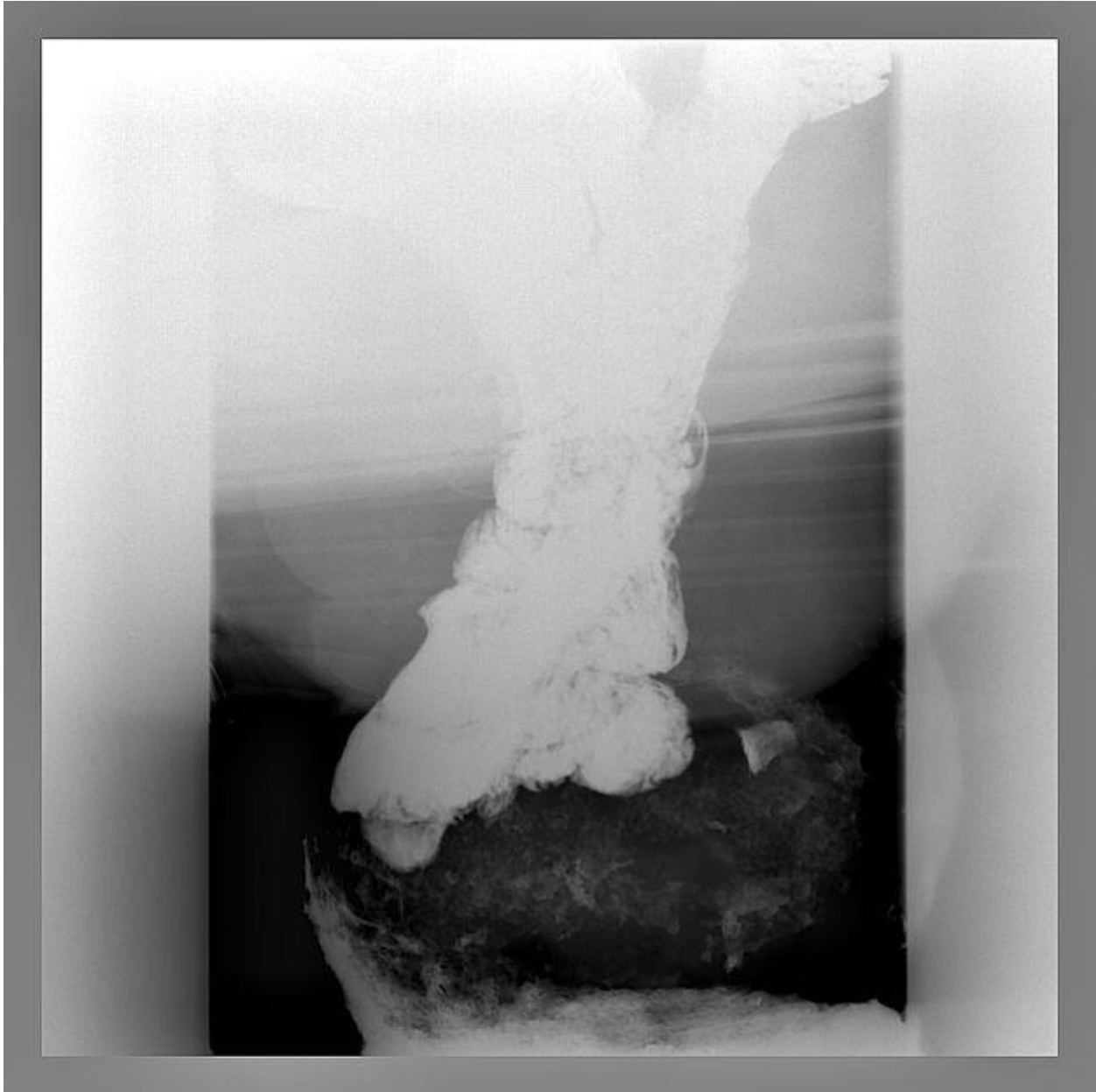
παρατήρηση του ανασταλτικού ορθοπρωκτικού αντανακλαστικού και η αίσθηση κένωσης με εμφύσηση με μπαλόνι.

- Αποβολή μπαλονιού: Μέτρηση του χρόνου κένωσης γεμάτου μπαλονιού 50cc προσαρτημένου σε καθετήρα.
- Ηλεκτρομυογραφία: Μέτρηση με ηλεκτρόδια της δραστηριότητας του έξω σφιγκτήρα κατά τη διάρκεια συστολής και χαλάρωσης.
- Ενδοπρωκτική υπερηχογραφία: Αξιολόγηση της δομικής ακεραιότητας του συμπλέγματος του πρωκτικού σφιγκτήρα προς αποκλεισμό τραυματισμού που συμβάλλει στην ακράτεια κοπράνων.
- Πρωκτογραφία (Αφοδευματογράφημα): Αποτελεί την εξέταση εκλογής για την εκτίμηση της δυσλειτουργίας του πυελικού εδάφους. Πραγματοποιείται πλήρωση του ορθού με σκιαγραφικό και λήψη εικόνων κατά τη διάρκεια προσπάθειας διατήρησης εγκράτειας και κένωσης ενώ ο ασθενής είναι καθήμενος σε ειδική καρέκλα. Παρέχει ασφαλή εκτίμηση για πρόπτωση ορθού, ορθοκήλη, εντεροκήλη, πρόπτωση περινέου, και αξιολόγηση της ανορθικής γωνίας σε κατά την συστολή ή την κένωση (Εικόνα 4).
- Δυναμική Μαγνητική τομογραφία: Ο ασθενής εκκενώνει λιπαντική γέλη που έχει ενσταλαχθεί εντός του ορθού.
- Επιπλέον εξετάσεις για την αξιολόγηση των υπολοίπων πηγών πυελικού πόνου:
  - Ενδοσκόπηση (σιγμοειδοσκόπηση, κολονοσκόπηση).
  - Αξονική τομογραφία κοιλιάς και πυέλου.
  - Μαγνητική τομογραφία πυέλου για την εκτίμηση της ανατομικής ακεραιότητας.
  - Υπέρηχος πυέλου προς εκτίμηση της μήτρας και των ωοθηκών (Grimes, et al, 2020).

## Θεραπεία

Η αντιμετώπιση των διαταραχών του πυελικού εδάφους έχει σημειώσει ταχεία πρόοδο την τελευταία δεκαετία. Σε κάθε ασθενή παρέχεται βοήθεια ανάλογα με τη συγκεκριμένη διαταραχή που πάσχει, ωστόσο λόγω της συχνής συνύπαρξης περισσότερων των μιας παθολογικών καταστάσεων η αντιμετώπιση οφείλει να είναι σφαιρική. Ιδιαίτερα όταν πρόκειται για ασθενείς

με ιστορικό σεξουαλικής ή συναισθηματικής κακοποίησης απαιτείται επιπλέον προσοχή και συνεργασία πολλών ειδικοτήτων με στόχο την παροχή του ιδανικού αποτελέσματος.



*Εικόνα 4. Η πρωκτογραφία είναι μια ακτινοσκοπική τεχνική που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση των διαταραχών του πνελικού εδάφους (Radiopaedia.org/ Evacuation proctography, Dr Vikas Shah, Dr Matt A. Morgan, et al, 2020).*

### Τροποποίηση του τρόπου ζωής:

- Δίαιτα: Αποφυγή αλκοόλ, καφεΐνης, όξινων φαγητών/ποτών συμπεριλαμβανομένων των εσπεριδοειδών και της τομάτας, ζάχαρης, τεχνητών γλυκαντικών, πικάντικων φαγητών και καπνίσματος μειώνει τη συχνότητα ούρησης και έχει ευεργετικά αποτελέσματα στην ακράτεια ούρων (Good, et al, 2019).
- Απώλεια βάρους κατά 3% ως 5% μπορεί να μειώσει τα επεισόδια ακράτειας ούρων κατά περίπου 50% (Aoki, et al, 2017).
- Ασκήσεις Kegel: Ενδυνάμωση του πυελικού εδάφους.

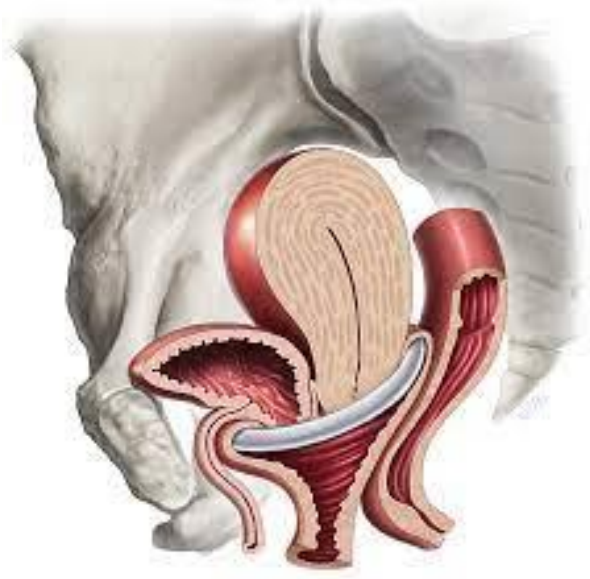
### Φαρμακευτική αγωγή:

- Τοπική χρήση οιστρογόνων κολπικά σε περιπτώσεις δυσπαρευνίας και κολπικής ατροφίας.
- Αντιχολινεργικά για την υπερδραστήρια κύστη.
- B<sub>3</sub> αγωνιστές για την υπερδραστήρια κύστη.

### Μη επεμβατικοί χειρισμοί:

- Νάρθηκας υποστήριξης του πρόσθιου ή του οπίσθιου τμήματος του κόλπου ή του περινέου για τη διευκόλυνση της αφόδευσης.
- Κολπικοί πεσσοί: Αντιμετώπιση ακράτειας ούρων και πρόπτωσης πυελικών οργάνων μέσω του κόλπου (Εικόνα 5).
- Φυσικοθεραπεία.
- Βιοανάδραση: Νευρομυϊκή τεχνική που αποσκοπεί στην κατάλληλη εκπαίδευση του πυελικού εδάφους κατά τη συστολή και τη χαλάρωση. Ενδοπρωκτικά, ενδοκολπικά ή επιφανειακά ηλεκτρόδια παρέχουν στους ασθενείς οπτικά ή ακουστικά αποτελέσματα κατά την εκτέλεση ασκήσεων ενδυνάμωσης και χαλάρωσης. Βελτιώνει την εγκράτεια και την χαλάρωση κατά την κένωση ούρων και κοπράνων και μειώνει την ένταση των συμπτωμάτων της πρόπτωσης πυελικών οργάνων.





Εικόνα 5. Κολπικός πεσσός για την πρόπτωση των πυελικών οργάνων (International Urogynecological Association 2018).

#### Επεμβατικές διαδικασίες:

- Ενδοκυστική ένεση αλλαντοτοξίνης Α μέσω κυστεοσκόπησης σε περιπτώσεις υπερδραστήριας κύστης.
- Διέγερση ιερού νεύρου προς αντιμετώπιση ακράτειας ούρων και κοπράνων.
- Διαχείριση πόνου με ένεση σημείου ενεργοποίησης ή βελονισμό (Hong, et al, 2019).

#### Χειρουργική αντιμετώπιση:

- Ακράτεια ούρων: Τοποθέτηση ταινιών ακράτειας ή -σε βαρύτερες περιπτώσεις- τεχνητού σφιγκτήρα.
- Ακράτεια κοπράνων: Αλληλεπικαλυπτόμενη πρωκτική σφιγκτηροπλαστική. Αποτελεί τη θεραπεία εκλογής, ιδιαίτερα σε νέες γυναίκες παρά τη μείωση της αποτελεσματικότητας με τον χρόνο.
- Κυστεοκήλη: Κολποσύνθεση (οπίσθια επισκευή).
- Πρόπτωση μήτρας: Υστερεκτομή και ιερομητρική κολποανάρτηση.
- Πρόπτωση κόλπου: Ιεροκολποπηξία.

- Εντεροκήλη: Επισκευή της ορθοκολπικής περιτονίας και εξάλειψη του χώρου του Douglas.
- Ορθοκήλη: Οπίσθια κολπορραφή ή διαπρωκτική επισκευή.
- Πρόπτωση ορθού: Ορθοπηξία (οπίσθια ή πρόσθια) ή περινεϊκή εκτομή (Grimes, et al, 2020).

## Νεότερες θεραπείες

Οι παραπάνω θεραπευτικές επιλογές είναι αυτές που εφαρμόζονται ευρέως στην κλινική πρακτική και μπορούν να χωριστούν αδρά σε δύο κατηγορίες: Τις μη επεμβατικές και τις επεμβατικές τεχνικές. Οι μεν πρώτες δύνανται να προσφέρουν ανακούφιση των συμπτωμάτων και συνιστώνται ως πρώτη επιλογή στις νεοδιαγνωσθείσες περιπτώσεις, ωστόσο δεν προσφέρουν ανατομική αποκατάσταση του πυελικού εδάφους. Οι επεμβατικές τεχνικές από την άλλη πλευρά συνιστώνται σε ασθενείς στους οποίους έχουν αποτύχει οι συντηρητικές επιλογές και έχουν το μειονέκτημα των σημαντικών επιπλοκών που συνοδεύουν κάθε χειρουργική επέμβαση (Morling, et al, 2017), (Glazener, et al, 2017).

Οι ανωτέρω περιορισμοί στις τρέχουσες πρακτικές αντιμετώπισης των νόσων αυτών καθιστούν αναγκαία την έρευνα για την ανάπτυξη νέων θεραπειών. Η αποκατάσταση των δομών του πυελικού εδάφους και η βελτίωση της λειτουργίας του πυελικού εδάφους μέσω της κυτταρικής θεραπείας απασχολούν έντονα τους ερευνητές τα τελευταία χρόνια. Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα, όντας ένας εντατικά μελετημένος πληθυσμός βλαστικών κυττάρων στο πεδίο της αναγεννητικής ιατρικής υπόσχονται ευεργετικά αποτελέσματα στην ενίσχυση της επισκευής των ιστών, ενώ έχουν ήδη αποδείξει τη χρησιμότητά τους σε ένα μεγάλο εύρος ασθενειών όπως στην αντίδραση του μοσχεύματος έναντι του ξενιστή (Graft Versus Host Disease, GVHD) (Le blanc, et al, 2008), στην καρδιακή νόσο (Hare, et al, 2012) και την πολλαπλή σκλήρυνση (Karussis, et al, 2010).

Η αποτελεσματικότητα των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων στην αντιμετώπιση των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους αναγνωρίζεται σε μεγάλο μέρος της βιβλιογραφίας, τόσο σε προκλινικό επίπεδο όσο και σε μικρό αριθμό κλινικών μελετών, και παρόλο που οι περισσότερες από αυτές βρίσκονται σε προκαταρκτικό στάδιο, παρατηρούνται θετικά



αποτελέσματα και ανακούφιση συμπτωμάτων τόσο σε ζωικά μοντέλα όσο και σε ανθρώπους (Sima, et al, 2020).

## Κεφάλαιο 2: Βλαστικά κύτταρα

### Ιστορική αναδρομή

Το έναυσμα για τη μελέτη των βλαστικών κυττάρων θα δοθεί τη δεκαετία του 1960 με την ανακάλυψη ενός σπάνιου τύπου όγκου που ονομάζεται τερατοκαρκίνωμα. Ο όγκος αυτός περιέχει κύτταρα με τις ιδιότητες της πολυδυναμίας και της αυτό-ανανέωσης (Kleinsmith, et al, 1964). Πολυδυναμία ονομάζεται η ικανότητα ενός κυττάρου να παράγει όλους τους τύπους κυττάρων ενός οργανισμού ενώ η αυτό-ανανέωση σημαίνει την παραγωγή πανομοιότυπων θυγατρικών κυττάρων με σύγχρονη διατήρηση της δυνατότητας διαφοροποίησης. Αυτές οι δύο έννοιες αποτελούν τα θεμελιώδη χαρακτηριστικά των βλαστικών κυττάρων. Από τη μελέτη αυτών των κυττάρων κατά την καλλιέργειά τους σε ειδικές συνθήκες αποδεικνύεται πως μπορούν να πολλαπλασιάζονται *ex vivo* δίχως να διαφοροποιούνται.

Το 1981 ο Sir Martin Evans και οι συνεργάτες του ανακαλύπτουν πως κύτταρα μυός που απομονώνονται από τα πρωταρχικά εμβρυϊκά στάδια και εκτίθενται στις ίδιες συνθήκες καλλιέργειας με τα κύτταρα του τερατοκαρκινώματος μπορούν να αναστέλλουν την πρόοδο της ανάπτυξής τους και να συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται ενώ παραμένουν πολυδύναμα (Evans, et al, 1981). Τα κύτταρα αυτά είναι τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα (Embryonic Stem cells, ESCs).

Η ιστορία της έρευνας των ανθρώπινων βλαστικών κυττάρων ξεκινά το 1998, όταν οι James Thomson και John Gearhart και οι συνεργάτες τους επιτυγχάνουν να απομονώσουν ανθρώπινα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα (Human Embryonic Stem Cells, HESCs) και να τα καλλιεργήσουν στο εργαστήριο (Thomson, et al, 1998) (Gearhart, et al, 1998).

Το 2006 ο Yamanaka και οι συνεργάτες του εφευρίσκουν έναν τρόπο δημιουργίας κυττάρων με ιδιότητες ESCs χρησιμοποιώντας κύτταρα ενηλίκου, αποφεύγοντας με αυτόν τον τρόπο την καταστροφή ενός εμβρύου και παρακάμπτοντας τα ηθικά διλήμματα (Yamanaka, et al, 2006). Αυτή η ανακάλυψη θα του χαρίσει το 2012 το βραβείο Nobel Φυσιολογίας και Ιατρικής.

Το 2007 οι Mario Capecchi, Sir Martin Evans και Oliver Smithies θα μοιραστούν το βραβείο Nobel Φυσιολογίας και Ιατρικής για τις ‘‘Ανακαλύψεις των αρχών εισαγωγής συγκεκριμένων

γονιδιακών τροποποιήσεων σε μύες με τη χρήση εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων”(Nobelprize.org).

Το 2010 είναι το έτος που ένας άνθρωπος με κάκωση σπονδυλικής στήλης θα γίνει ο πρώτος παραλήπτης θεραπείας βασισμένης στα HESCs συμμετέχοντας στην κλινική δοκιμή Geron (clinicaltrials.gov NCT01217008).

Μέχρι το 2020 τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα έχουν χρησιμοποιηθεί σε ένα μεγάλο εύρος ασθενειών του ανθρώπου, οι οποίες θα αναφερθούν στη συνέχεια του παρόντος έργου. Το ασφαλές προφίλ που χαρακτηρίζει τις θεραπείες αυτές έχει επιτρέψει την πραγματοποίηση περισσότερων από 1000 κλινικών δοκιμών συμπορευόμενων με τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration, FDA). Πάνω από 10.000 ασθενείς έχουν συμμετάσχει σε ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές και πάνω από 10 εξ αυτών έχουν προχωρήσει στη Φάση 3 (Mesenchymal stem cells search at [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) and [celltrials.org/public-cells-data/msc-trials](http://celltrials.org/public-cells-data/msc-trials)).

## Ορισμός και Ταξινόμηση

Τα βλαστικά κύτταρα διαθέτουν μοναδικά χαρακτηριστικά. Είναι αδιαφοροποίητα κύτταρα που μπορούν να αναπαράγουν τον εαυτό τους ξανά και ξανά μέσω ασύμμετρης κυτταρικής διαφοροποίησης και να παράγουν νέα θυγατρικά κύτταρα με τα χαρακτηριστικά του αρχικού κυττάρου και την ικανότητα διαφοροποίησης σε κάθε τύπο κυττάρου. Οι δύο αυτές ιδιότητες ονομάζονται αντίστοιχα αυτοανανέωση και πολυδυναμία. Υπάρχουν ποικίλα είδη βλαστικών κυττάρων και μπορούν να ταξινομηθούν είτε ανάλογα με την προέλευση είτε με βάση το δυναμικό διαφοροποίησής τους.

### Ταξινόμηση με βάση την προέλευση

- Εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα (ESCs): Είναι πλειοδύναμα (pluripotent), αυτοανανεούμενα κύτταρα που μπορεί να προέρχονται από αμφότερες τις βλαστοκύστες του μυός και του ανθρώπου. Λαμβάνονται στα πολύ αρχικά στάδια της ανάπτυξης του εμβρύου (embryo), 4-5 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση (Lerou, et al, 2011). Μπορούν να

αποθηκευτούν σε καλλιέργεια με τη μορφή αδιαφοροποίητων κυτταρικών γραμμών και με διέγερση με κατάλληλους παράγοντες να διαφοροποιηθούν σε οποιονδήποτε τύπο κυττάρου. Συγκεκριμένα, έχουν το δυναμικό να παράγουν κύτταρα του ενδοδέρματος, του μεσοδέρματος, του εξωδέρματος και επιπλέον κάθε τύπο σωματικού κυττάρου. Αυτά τα κύτταρα, λοιπόν, αποτελούν ένα πολύ σημαντικό εργαλείο στην έρευνα για τη θεραπεία ανάπλασης ιστών.

- Εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα από έμβρυα μεγαλύτερα των 8 εβδομάδων (fetus): Τα κύτταρα αυτά είναι ικανά να διαφοροποιούνται σε δύο τύπους κυττάρων: πλειοδύναμα και αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα. Από ιστούς τέτοιων εμβρύων έχουν απομονωθεί βλαστικά κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας, αιμοποιητικά και κύτταρα των παγκρεατικών νησιδίων (νησίδια Langerhans) (Alta Charro, et al, 2019).
- Βλαστικά κύτταρα ενηλίκων (Adult stem cells, ASCs): Είναι όλα τα βλαστικά κύτταρα που λαμβάνονται από ώριμους ιστούς. Ανευρίσκονται στους ιστούς ενός πλήρως ανεπτυγμένου παιδιού ή ενήλικα και μπορούν να παράγουν μόνο έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών τύπων. Διαθέτουν περιορισμένο δυναμικό διαφοροποίησης σε σύγκριση με τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα, εξαιτίας του πιο προηγμένου σταδίου ανάπτυξης που βρίσκονται. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην επισκευή και την αναγέννηση των ιστών και λαμβάνουν το όνομά τους ανάλογα με τον ιστό προέλευσής τους. Ο μυελός των οστών αποτελεί την πιο άφθονη πηγή ενήλικων βλαστικών κυττάρων.
  - Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα: Αποτελούν έναν διαφορετικό πληθυσμό κυττάρων με την ικανότητα διαφοροποίησης σε ποικίλους σωματικούς κυτταρικούς τύπους. Αρχικά περιεγράφηκαν ως κύτταρα όμοια σε εμφάνιση με ινοβλάστες που μπορούν να διαφοροποιηθούν σε οστεοκύτταρα, χονδροκύτταρα, λιποκύτταρα ή κύτταρα των τενόντων και των μυών. Πρώτα απομονώθηκαν από τον μυελό των οστών και διακρίθηκαν εύκολα από τα αιμοποιητικά κύτταρα χάρη στη χαρακτηριστική τους προσκόλληση σε πλαστική επιφάνεια. Επίσης, ανευρίσκονται και συλλέγονται από τον λιπώδη ιστό και τις αρθρώσεις (Han Y, et al, 2019).
  - Αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα: Διαθέτουν τη δυνατότητα αυτοανανέωσης και την ικανότητα παραγωγής διαφοροποιημένων κυττάρων από όλες τις αιμοποιητικές κυτταρικές γραμμές. Συνεπώς, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για

την πλήρη θεραπεία αιματολογικών νοσημάτων και κατόπιν χημειοθεραπείας εναντίον κακοήθων νόσων (El Barky, et al, 2019).

- Νευρικά βλαστικά κύτταρα: Αποτελούν πολυδύναμα και αυτοανανεούμενα κύτταρα που ανευρίσκονται στο μοριακό μικροπεριβάλλον του ενήλικου εγκεφάλου των θηλαστικών. Μπορούν στο μέλλον να συμβάλλουν στην κυτταρική θεραπεία των εγκεφαλικών νόσων (Xinyu Zhao, et al, 2018).
- Γαστρεντερικά βλαστικά κύτταρα: Τα κύτταρα της γαστρεντερικής οδού εδρεύουν σε έναν θάκο εντός των εντερικών κρυπτών και των γαστρικών αδένων. Ο μηχανισμός και η κατεύθυνση διάχυσής τους στον γαστρεντερικό βλεννογόνο παραμένει αμφιλεγόμενος, όπως και η φύση των κυττάρων αυτών (Pirvulet, et al, 2015).
- Επιδερμικά βλαστικά κύτταρα: Η επιδερμίδα των θηλαστικών αποτελεί έναν ταχέως αναγεννητικό ιστό, που περιέχει τρία είδη κερατινοκυττάρων, με διαφορετικό δυναμικό διαφοροποίησης το καθένα: Επιδερμικά βλαστικά κύτταρα, παροδικά ενισχυμένα κύτταρα (Transiently Amplified Cells, TA cells) και τελικώς διαφοροποιημένα κύτταρα. Τα επιδερμικά βλαστικά κύτταρα διαθέτουν απεριόριστο δυναμικό διαφοροποίησης. Εγκαθίστανται στον βασικό υμένα και συμμετέχουν αξιοσημείωτα στη διατήρηση της ομοιοστασίας και την κυτταρική αναγέννηση του φυσιολογικού δέρματος, την επούλωση πληγών, καθώς και το σχηματισμό νεοπλασμάτων. Τα κύτταρα TA, πρόγονοι των προαναφερθέντων, υφίστανται τελική διαφοροποίηση μετά από 3-5 διαιρέσεις. Κατόπιν, εγκαταλείπουν τη βασική μεμβράνη και μετακινούνται στην επιφάνεια του ιστού, όπου παράγουν πλακώδη κύτταρα και αποβάλλονται περιοδικά (El Barky, et al, 2019).
- Ηπατικά βλαστικά κύτταρα: Το ήπαρ διαθέτει ισχυρή αναγεννητική ικανότητα χρησιμοποιώντας διαφορετικούς τρόπους αναγέννησης ανάλογα με τον τύπο και την έκταση της βλάβης. Τα ώριμα ηπατικά κύτταρα μπορούν να πολλαπλασιάζονται, ώστε να αντικαθιστούν τον ιστό που υφίσταται βλάβη επιτρέποντας την ανάκτηση της λειτουργίας του παρεγχύματος. Ωστόσο, η χρόνια ηπατική βλάβη πυροδοτεί την δράση ενός διαμερίσματος δυνητικών βλαστικών

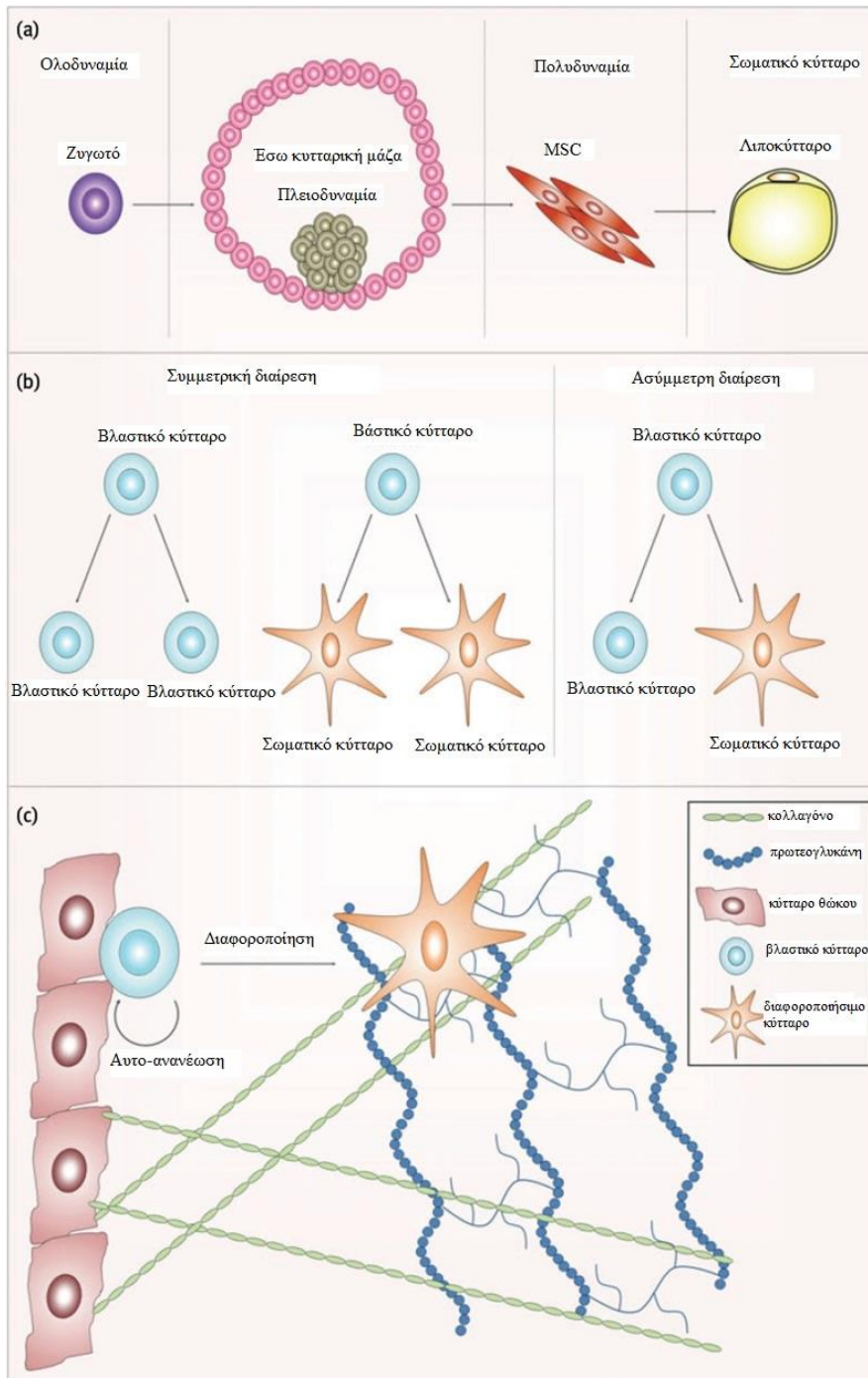
κυττάρων που εδράζονται στους μικρότερους κλάδους του ενδοηπατικού χοληφόρου δέντρου (Alisson, et al, 2007).

- Παγκρεατικά βλαστικά κύτταρα: Τα ινσουλινοπαραγωγά κύτταρα του παγκρέατος προέρχονται από πρόδρομα πλειοδύναμα κύτταρα. Τα β-κύτταρα ανανεώνονται κάθε 40-50 ημέρες μέσω των διαδικασιών της απόπτωσης, του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των νησιδιακών κυττάρων, που προέρχονται από τα πρόδρομα επιθηλιακά κύτταρα και ανευρίσκονται στους παγκρεατικούς πόρους. Είναι φανερό πως η δημιουργία τέτοιων κυττάρων in vitro θα μπορούσε να αποτελέσει μια νέα πηγή θεραπείας για τους ανθρώπους που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη (Pagliuca, et al, 2014).

### Ταξινόμηση με βάση το δυναμικό διαφοροποίησης

- Ολοδύναμα βλαστικά κύτταρα (Totipotent stem cells): Η ολοδυναμία σημαίνει την πλήρη ικανότητα παραγωγής όλων των ειδών κυττάρων, τόσο του εμβρύου όσο και του εξωεμβρυϊκού χώρου. Ένα μόνο κύτταρο είναι ικανό να διαχωριστεί και να διαφοροποιηθεί σε κάθε τύπο κυττάρου ενός οργανισμού και να παράγει γόνιμους απογόνους. Το ωοκύτταρο και το σπερματοζωάριο είναι τα πιο καλά διαφοροποιημένα κύτταρα στο ανθρώπινο σώμα και μπορούν να σχηματίσουν κάθε ιστό του σώματος (Cauffman, et al, 2009).
- Πλειοδύναμα βλαστικά κύτταρα (Pluripotent Stem Cells): Πλειοδυναμία ονομάζεται η δυνατότητα των κυττάρων να σχηματίζουν οποιονδήποτε κυτταρικό τύπο του οργανισμού, όχι όμως εξωεμβρυϊκούς ιστούς. Προέρχονται από έμβρυα μυός και είναι ικανά να διαφοροποιούνται σε μια μεγάλη ποικιλία ιστικών τύπων ενηλίκων, συμπεριλαμβανομένων των εμβρυοειδών σωματίων και των τερατωμάτων, ενώ ορισμένα μπορούν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη χιμαιρικών ποντικών. Υπάρχουν πολλές αναγνωριστικές διαφορές μεταξύ των πλειοδύναμων κυτταρικών τύπων όπως η μορφολογία τους, η έκφραση γονιδίων και οι απαιτήσεις σε αυξητικούς παράγοντες.
- Πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (Multipotent stem cells): Η πολυδυναμία αναφέρεται στα κύτταρα που μπορούν να δώσουν γένεση σε όλα τα κύτταρα του ιστού ή του οργάνου από το οποίο προέρχονται.

- Μονοδύναμα βλαστικά κύτταρα (Unipotent stem cells): Ανευρίσκονται σε ιστούς ενηλίκων και παράγουν έναν περιορισμένο αριθμό κυτταρικών τύπων. Μπορούν να επισκευάζουν κατεστραμμένους ιστούς αντικαθιστώντας συγκεκριμένα κύτταρα.
- Ολιγοδύναμα βλαστικά κύτταρα (Oligopotent stem cells): Η ολιγοδυναμία χαρακτηρίζει τα κύτταρα που μπορούν να διαφοροποιηθούν μόνο σε λίγους κυτταρικούς τύπους, όπως συμβαίνει με τα λεμφοειδή ή τα μυελοειδή βλαστικά κύτταρα (El Barky, et al, 2019) (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Σχηματική αναπαράσταση των ιδιοτήτων των βλαστικών κυττάρων. a) Το δυναμικό διαφοροποίησης ενός βλαστικού κυττάρου ορίζει τη δραστηριότητά του. b) Η ισορροπία μεταξύ συμμετρικών και ασύμμετρων κυτταρικών διαιρέσεων ρυθμίζει την αυτό-ανανέωση των βλαστικών κυττάρων. c) Σχηματική αναπαράσταση του θώκου των βλαστικών κυττάρων περιλαμβάνοντας κυτταρικά (στρωματικά κύτταρα) και μη κυτταρικά στοιχεία (πρωτεΐνες του εξωκυττάριου στρώματος) (Steger, et al, 2015).





## Κεφάλαιο 3: Μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs)

### Ορισμός και γενικά στοιχεία

Οι όροι “MSC” ή “MSCs” έχουν καθιερωθεί ως τα ακρωνύμια που περιγράφουν ένα κύτταρο ή έναν κυτταρικό πληθυσμό πολυδύναμων/προγονικών κυττάρων που συχνά αναφέρονται ως μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα, πολυδύναμα στρωματικά κύτταρα, μεσεγχυματικά στρωματικά κύτταρα και μεσεγχυματικά προγονικά κύτταρα. Για τον καλύτερο χαρακτηρισμό των κυττάρων αυτών, η Διεθνής Κοινότητα Κυτταρικής Θεραπείας δημοσίευσε το 2006 τον ακόλουθο ορισμό, που περιλαμβάνει 3 απαραίτητες προϋποθέσεις για να οριστεί ένα μεσεγχυματικό βλαστικό κύτταρο:

1. Πρέπει να προσκολλάται σε πλαστική επιφάνεια κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες καλλιέργειας
2. Πρέπει να εκφράζει συγκεκριμένους επιφανειακούς δείκτες, όπως CD73, CD90 και CD105 και να στερείται έκφρασης άλλων δεικτών, όπως CD45, CD34, CD14, CD11b, CD90alpha, CD19 ΚΑΙ το HLA-DR μόριο επιφανείας
3. Πρέπει να έχει τη δυνατότητα διαφοροποίησης σε οστεοβλάστες, λιποκύτταρα και χονδροβλάστες κάτω από κατάλληλες συνθήκες *in vitro* (Dominici, et al, 2006).

Τα MSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν σε σημαντικές κυτταρικές σειρές κάτω από καθορισμένες συνθήκες *in vitro* και σε περιορισμένες περιπτώσεις μετά από εμφύτευση *in vivo*.

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα έχουν απομονωθεί και περιγραφεί εδώ και περίπου 30 χρόνια και το επιστημονικό ενδιαφέρον γύρω από αυτά γίνεται ολοένα και μεγαλύτερο, καθώς διαθέτουν ξεχωριστές ιδιότητες, που τα καθιστούν δυνητικά αποτελεσματική θεραπεία για ποικίλες παθήσεις του ανθρώπου. Τα τελευταία έτη έχει γίνει σημαντική πρόοδος στην κατανόηση των MSCs και έχουν τεθεί ισχυρά θεμέλια για τη μελλοντική επιστημονική έρευνα και τις κλινικές τους εφαρμογές. Η ανάπτυξη νέων μεθόδων για την κατανόηση και την περεταίρω αξιοποίηση του δυναμικού των MSCs μέσω της ενδοκυτταρικής και διακυτταρικής σηματοδότησης, της βιοϊατρικής μηχανικής, των μεθόδων χορήγησης θεραπείας και της επιλογής ασθενών πρόκειται να παρέχουν σημαντική πρόοδο τόσο στο ερευνητικό πεδίο όσο και στην κλινική πράξη κατά τη διάρκεια των επόμενων ετών.

Η μελέτη του ολοένα και ταχύτερα αναπτυσσόμενου πεδίου των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων μας διδάσκει βασική ανθρώπινη κυτταρική βιολογία καθώς επίσης και πώς να χρησιμοποιούμε αυτόν τον τύπο κυττάρων για κυτταρική θεραπεία σε ένα μεγάλο εύρος κλινικών εφαρμογών. Η έρευνα αυτή παρέχει αποδεδειγμένα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα για το μέλλον, ωστόσο πολλά σημαντικά ερωτήματα παραμένουν ακόμη αναπάντητα (Pittenger, et al, 2019).

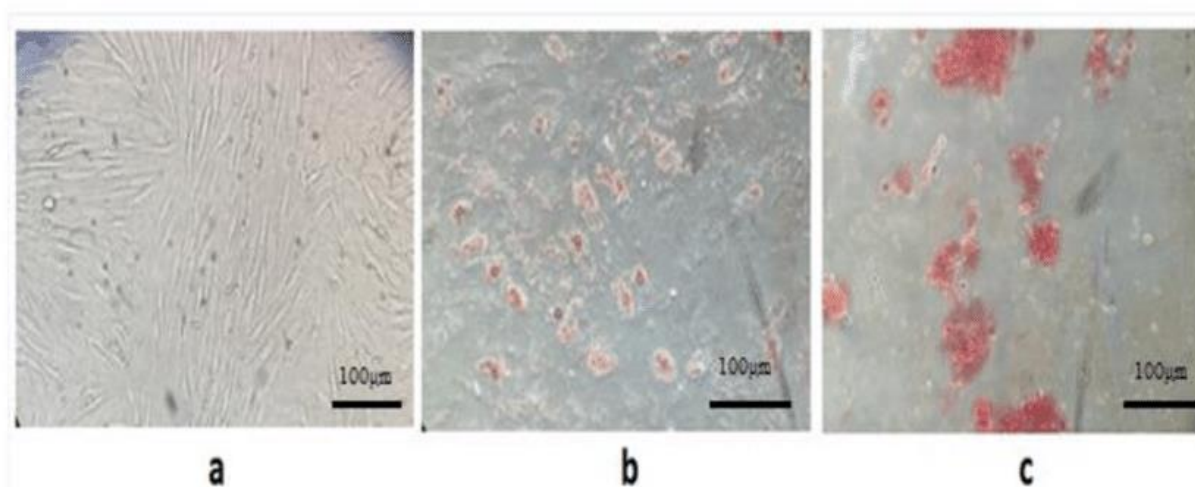
## Προέλευση

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα μπορούν να ανιχνευθούν σχεδόν σε όλους τους ιστούς και συνήθως εδράζονται στον περιαγγειακό θώκο. Αρχικά, ανακαλύφθηκαν στον μυελό των οστών και αυτή η πηγή θεωρείται η ιδανικότερη για κλινική έρευνα (Friedenstein, et al, 1976). Οι υπόλοιπες κύριες πηγές MSCs μπορούν να διαχωριστούν σε ιστούς ενηλίκων, που είναι το περιφερικό αίμα (Cong Cao, et al, 2005) και ο λιπώδης ιστός (Fraser, et al, 2006), και σε νεογενικούς - περιγεννητικούς ιστούς, που περιλαμβάνουν τον πλακούντα, τον ομφάλιο λώρο και το αίμα του ομφάλιου λώρου. Επιπλέον, ανευρίσκονται στη Βαρθώνειο γέλη (Wharton's jelly) και στο αμνιακό υγρό, στους πνεύμονες, στην καρδιά, στον οδοντικό πολφό, στις αρθρώσεις και το αρθρικό υγρό, στο ενδομήτριο, στο δέρμα και στους μύες (Berebichez-Fridman, et al, 2018). Παρότι όμοια μεταξύ τους, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από τις παραπάνω πηγές κατέχουν ξεχωριστά χαρακτηριστικά, πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα συμπεριλαμβανομένων των ικανοτήτων πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης, γεγονός που επηρεάζει την εφαρμοστικότητα τους.

## Μυελός των οστών

Αποτελεί την πρώτη χρονικά πηγή που παρατηρήθηκαν MSCs (Friedenstein, et al, 1976) και μέχρι σήμερα είναι η κύρια πηγή πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων. Ωστόσο, η απομόνωσή τους απαιτεί μια επεμβατική και επίπονη διαδικασία που περιλαμβάνει χρήση αναισθησίας και ενέχει τον κίνδυνο λοίμωξης. Επιπλέον, η αποδοτικότητα των κυττάρων, η μακροζωία και το δυναμικό διαφοροποίησης μειώνεται ανάλογα με την ηλικία του δότη (Friedman, et al, 2017). Συγκριτικά με άλλες πηγές, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που απομονώνονται από τον μυελό των

οστών (Bone-Marrow, BM) χαρακτηρίζονται από μακρύτερη περίοδο διπλασιασμού (μέσος χρόνος διπλασιασμού 40 ώρες), φτάνουν ωρίτερα στη γήρανση και συγκροτούν μόλις το 0.01-0.001% των εμπύρηνων μυελικών κυττάρων (Cheng HY, et al, 2014). Παρόλα αυτά διαθέτουν το πλεονέκτημα του σχετικά σύντομου χρόνου καλλιέργειας (Cagliani, et al, 2017). Επίσης σημαντικό είναι το γεγονός πως είναι το καλύτερα μελετημένο είδος μεσεγγυματικών βλαστικών κυττάρων, με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλειά τους να είναι αποδεδειγμένες σε πλήθος ερευνών (Moll, et al, 2020) (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Μικροσκοπικές εικόνες ανθρώπινων μεσεγγυματικών κυττάρων απομονωμένων από τον μυελό των οστών. a) Απεικόνιση hMSCs σε σχήμα ατράκτου προσομοιάζοντας ινοβλάστες, εκτεινόμενα σε αντίθετες κατευθύνσεις από ένα μικρό κυτταρικό σώμα. b) hMSCs σε χρώση Oil Red O. c) Δοκιμασία οστεογονικής διαφοροποίησης. Η χρώση αλιζαρίνης απεικονίζει την εναπόθεση οξαλικού ασβεστίου στα διαφοροποιημένα hMSCs. (Isolation, differentiation, and characterization of mesenchymal stem cells from human bone marrow - Scientific Figure on ResearchGate, Baghaei, et al, 2017).

Τα MSCs του μυελού των οστών έχουν χρησιμοποιηθεί σε ερευνητικό αλλά και κλινικό επίπεδο σε μια πληθώρα εφαρμογών:

- Δημιουργία παγκρεατικών κυττάρων in vitro.
- Θεραπεία ορθοπαιδικών παθήσεων που χαρακτηρίζονται από μεγάλα ελλείμματα οστών συμπεριλαμβανομένων της επισκευής του αρθρικού χόνδρου, στην οστεοαρθρίτιδα, στην ρευματοειδή αρθρίτιδα, σε τραυματισμούς του στροφικού πετάλου του ώμου και της σπονδυλικής στήλης.
- Είναι δυνητικά αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση εμφράγματος του μυοκαρδίου, στην αντίδραση μοσχεύματος εναντίον ξενιστή, στον συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο και στην πολλαπλή σκλήρυνση (Majka, et al, 2017).

- ο Μπορούν να βελτιώσουν την κίρρωση του ήπατος και την ηπατική ανεπάρκεια που προκαλείται από τη χρόνια ηπατίτιδα Β (Houlihan, et al, 2011).

Τα BM-MSCs έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε λιποκύτταρα, αστροκύτταρα, καρδιομυοκύτταρα, χονδροκύτταρα, ηπατοκύτταρα, μεσαγγειακά κύτταρα, μυϊκά κύτταρα, νευρώνες, οστεοβλάστες, στρωματικά κύτταρα και κύτταρα εμβρυϊκού ιστού (Berebichez-Fridman, et al, 2018).

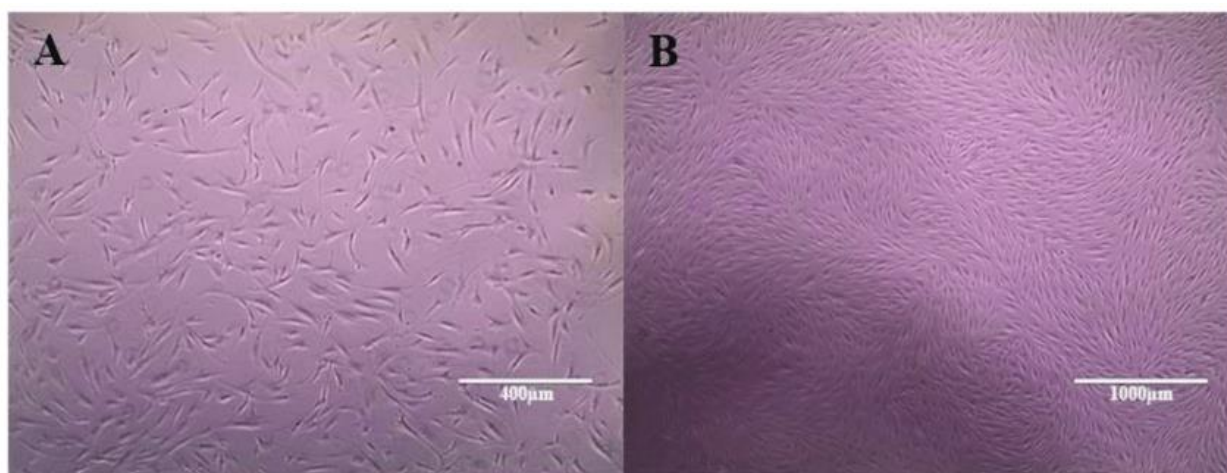
### Λιπώδης ιστός

Το κύριο πλεονέκτημα της χρησιμοποίησης του λιπώδους ιστού (Adipose Tissue, AT) ως πηγή μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων είναι η ευκολία απομόνωσης, καθώς ο υποδόριος λιπώδης ιστός ανευρίσκεται άφθονος στο σώμα και λαμβάνεται ως υποπροϊόν κοσμητικών ή θεραπευτικών διεργασιών λιποαναρρόφησης. Εκτιμάται πως το 98-100% των κυττάρων που λαμβάνονται από τον λιπώδη ιστό είναι βιώσιμα (Choudhery, et al, 2014).

Τα μορφολογικά, φαινοτυπικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά τους είναι παρόμοια με των κυττάρων που λαμβάνονται από τον μυελό των οστών (Choudhery, et al, 2014). Τα AT-MSCs πολλαπλασιάζονται αποτελεσματικά *in vitro* και διαθέτουν υψηλό δυναμικό διαφοροποίησης. Το στρωματικό αγγειακό κλάσμα (stromal vascular fraction, SVF) του λιπώδους ιστού παράγει περισσότερα στρωματικά στοιχεία σε σύγκριση με τον μυελό των οστών γεγονός που τον καθιστά μια πιο πρακτική πηγή αυτόλογων MSCs για χρήση στο πεδίο της μηχανικής των ιστών. Ενδεικτικά, η απομόνωση μεσεγχυματικών κυττάρων από τον λιπώδη ιστό είναι 500 φορές μεγαλύτερη συγκριτικά με τον μυελό των οστών (5.000 κύτταρα μπορούν να ληφθούν από 1g λιπώδους ιστού). Ωστόσο, ένας περιορισμός είναι πως συγκεκριμένα χαρακτηριστικά του δότη, όπως η ηλικία, μπορεί να επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων που προέρχονται από τον λιπώδη ιστό, ιδιαίτερα τις οστεοβλαστικές και τις χονδροβλαστικές σειρές, χωρίς ιδιαίτερη επίδραση στις λιπογενετικές κυτταρικές σειρές (Berebichez-Fridman, et al, 2018).

Πέραν των ιδιοτήτων της αυτοανανέωσης και της πολυδυναμίας, τα AT-MSCs εκκρίνουν αρκετές κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες με αντιφλεγμονώδεις, αντιαποπτωτικές και ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες. Παραδείγματα τέτοιων παραγόντων αποτελούν ο αγγειακός

ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (vascular endothelial growth factor, VEGF), ο ηπατοκυτταρικός αυξητικός παράγοντας και ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας (insulin-like growth factor, IGF-1), εκ των οποίων όλοι εμπλέκονται στις διαδικασίες αγγειογένεσης και επισκευής των ιστών. Χάρη στα χαρακτηριστικά αυτά, τα συγκεκριμένα κύτταρα καθίστανται πρώτα σε υποψηφιότητα για την αντιμετώπιση της ισχαιμικής νόσου (Liras, et al, 2010) (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Μεσεγχυματικά κύτταρα προερχόμενα από λιπώδη ιστό. Μορφολογία προσκολλημένη και δίκην ινοβλαστών. Φωτογραφίες από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σε μεγέθυνση A) 10x και B) 4x. (Characterization of Crystalline Phase of TiO<sub>2</sub> Nanocrystals, Cytotoxicity and Cell Internalization Analysis on Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells. Duarte, et al, 2020).

Επιπλέον, χάρη στην ανοσοτροποποιητική δράση τους, τα μεσεγχυματικά κύτταρα του λιπώδους ιστού είναι μια εξαιρετική πηγή μεσεγχυματικών κυττάρων για αλλογενείς μεταμοσχεύσεις. Καθώς δεν εκφράζουν τα αντιγόνα για το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας τύπου II (major histocompatibility complex type II, MHC-II), ο κίνδυνος απόρριψης μοσχεύματος ελαχιστοποιείται (Cagliani, et al, 2017). Τα AT-MSCs ρυθμίζουν τη λειτουργία των T κυττάρων προάγοντας την επαγωγή των καταστολέων των T κυττάρων και αναστέλλοντας την παραγωγή κυτταροτοξικών T κυττάρων, κυττάρων φυσικών φονέων (natural killer cells) και προφλεγμονωδών κυτοκινών. Επιπροσθέτως, τα κύτταρα αυτά εκκρίνουν διαλυτούς παράγοντες, όπως ιντερλευκίνη 10 (interleukin 10, IL-10), μεταμορφωτικό αυξητικό παράγοντα β (transforming growth factor-b, TGF-b) και προσταγλανδίνη E<sub>2</sub>, λειτουργούν δηλαδή ως ανοσοκατασταλτικά (Cagliani, et al, 2017), (Liras, et al, 2010).

Τα μεσεγχυματικά κύτταρα του λιπώδους ιστού μπορεί να είναι χρήσιμα στην αναγέννηση του μυοκαρδίου (Majka, et al, 2017). Επίσης, έχουν χρησιμοποιηθεί για δερματολογικούς και αισθητικούς σκοπούς καθώς βελτιώνουν την επούλωση μέσω ενίσχυσης της έκκρισης κολλαγόνου τύπου III και φιμπρονεκτίνης. Ακόμα, έχουν δοκιμαστεί επιτυχώς για τη μείωση ρυτίδων, τη λεύκανση δέρματος -μέσω αναστολής σύνθεσης μελανίνης- και ως αντιοξειδωτικά και για την προαγωγή της αύξησης μαλλιών (Yang Ja, et al, 2010).

Επιπρόσθετες κλινικές εφαρμογές αυτών των κυττάρων αποτελούν η αναγέννηση σκελετικών μυών μετά από τραυματισμό, οι βλάβες μηνίσκων, τενόντων και στροφικού πετάλου και η αναγέννηση περιφερικών νεύρων.

Τα AT-MSCs δίνουν γένεση σε λιποκύτταρα, χονδροκύτταρα, οστεοκύτταρα και μυϊκά κύτταρα (Berebichez-Fridman, et al, 2018).

### Οδοντικός πολφός

Τα προερχόμενα από τον οδοντικό πολφό μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (dental pulp-derived MSCs, DP-MSCs) διαφοροποιούνται σε οδοντοβλάστες και παράγουν οδοντίνη. Αυτά τα κύτταρα λαμβάνονται από τον οδοντικό πολφό του τρίτου γομφίου και εξάγονται μέσω ενζυματικής διαδικασίας. Τα DP-MSCs είναι εύκολα να αποθηκευτούν με κρυοσυντήρηση και -παρομοίως με τα AT-MSCs- διαθέτουν ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες (Kushnerev, et al, 2016).

Προέρχονται από τη νευρική ακρολοφία, συνεπώς πέραν της ιδιότητάς τους να διαφοροποιούνται προς οστεοβλάστες, χονδροβλάστες και λιποκύτταρα, μπορούν επίσης να παράγουν νευρολογικές κυτταρικές σειρές. Επιπλέον, όταν καλλιεργούνται σε τρισδιάστατο ικρίωμα οδοντίνης είναι ικανά να διαφοροποιούνται προς επιθηλιακά κύτταρα του κερατοειδούς, μελανοκύτταρα και επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (induced pluripotent stem cells, iPSCs), γεγονός που τα καθιστά εξαιρετικά χρήσιμα στην έρευνα στο πεδίο της αναγεννητικής ιατρικής.

Τις πλέον υποσχόμενες κλινικές εφαρμογές αυτής της πηγής βλαστικών κυττάρων συνιστούν η θεραπεία μεταβολικών νόσων και ηπατικών νόσων με υψηλό δείκτη θνησιμότητας όπως η κίρρωση και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Επίσης, έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναγέννηση οστών. Όταν καλλιεργούνται σε υδρογέλη, μπορούν ταυτόχρονα να διαφοροποιούνται σε οδοντοβλαστικές και οστεοβλαστικές κυτταρικές σειρές.



Ένας ειδικός τύπος DP-MSCs, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από περιακρορριζικές κύστες, χρήζουν ιδιαίτερης αναφοράς χάρη στο εκτενές πολλαπλασιαστικό δυναμικό τους, το προφίλ δεικτών κυτταρικής επιφανείας και την ικανότητά τους να διαφοροποιούνται σε ποικίλους κυτταρικούς τύπους, όπως οστεοβλάστες, λιποκύτταρα και νευρώνες. Έχουν χρησιμοποιηθεί στο πεδίο αναγέννησης οστών και χάρη στη νευρική τους πλαστικότητα υπόσχονται μια δυνητικά αξιόλογη επιλογή για τη θεραπεία των νευροεκφυλιστικών νόσων στο μέλλον. Απομονώνονται εύκολα από τις χειρουργικά αφαιρεμένες περιακρορριζικές κύστες.

### Περιγεννητικοί ιστοί

Το αίμα από τον ομφάλιο λώρο (umbilical cord blood, UCB) παρουσιάζει τα πλεονεκτήματα της τεράστιας αφθονίας, της μεγάλης διαθεσιμότητας δοτών και την ευκολία συλλογής μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων από αυτό. Τα UCB-MSCs είναι λιγότερο ώριμα από άλλους τύπους ενήλικων βλαστικών κυττάρων και δεν προκαλούν ισχυρή ανοσολογική απάντηση κατά την αλλογενή μεταμόσχευση. Μπορούν να αποθηκευτούν με κρυοσυντήρηση σε μεγάλες ποσότητες και να χρησιμοποιηθούν μεταγενέστερα για καλλιέργεια και έρευνα και έχουν χρόνο διπλασιασμού παρόμοιο με τα BM-MSCs (περίπου 40 ώρες). Μπορούν να διαφοροποιηθούν προς οστεοβλάστες, χονδροβλάστες, λιποκύτταρα και μυοβλάστες.

Τα μεσεγχυματικά κύτταρα που προέρχονται από αίμα του ομφάλιου λώρου έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε ανθρώπους για τη θεραπεία της νόσου μοσχεύματος εναντίων ξενιστή (Graft Versus Host Disease, GVHD) και για τον συστηματικό ερυθματώδη λύκο (Cagliani, et al, 2017). Επιπλέον, έχουν χρησιμοποιηθεί σε ζωικά μοντέλα σε περιπτώσεις βλάβης, έλλειψης ή διατομής του ισχιακού νεύρου με καλά αποτελέσματα (Berebichez-Fridman, et al, 2018).

Η Βαρθώνειος γέλη (Wharton's jelly) είναι ακόμη μια πολλά υποσχόμενη πηγή βλαστικών κυττάρων. Τα προερχόμενα από αυτήν μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα διαθέτουν ιδιότητες διαφορετικές σε σχέση με αυτά που προέρχονται από άλλες πηγές καθώς παρουσιάζουν ένα υψηλότερο πολλαπλασιαστικό δυναμικό, ανεξάρτητο από τις συνθήκες καλλιέργειας (Alves da Silva, et al, 2015).



Όσον αφορά τις κλινικές τους εφαρμογές, τα WJ-MSCs έχουν δείξει πως είναι ασφαλή και ευεργετικά στη θεραπεία του εμφράγματος του μυοκαρδίου, επηρεάζοντας θετικά το μέγεθος του εμφράγματος και τη λειτουργία της αριστερής κοιλίας (Majka, et al, 2017). Επιπροσθέτως, έχουν την ικανότητα διαφοροποίησης προς χονδροβλάστες δίχως την ανάγκη για αυξητικούς παράγοντες, με υψηλή συγκέντρωση γλυκοζαμινογλυκανών και έκφραση γονιδίων σχετιζόμενων με τον χόνδρο, γεγονός που τα κατατάσσει ως μια μελλοντική επιλογή για τη θεραπεία με αναγέννηση αρθρικού χόνδρου (Alves da Silva, et al, 2015).

### Αμνιακό υγρό και πλακούντας

Σύμφωνα με ανοσοφαινοτυπικές αναλύσεις, ο φαινότυπος καλλιεργούμενων κυττάρων που λαμβάνονται από το αμνιακό υγρό (amniotic fluid, AF) είναι συναφής με αυτόν των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων που προέρχονται από τον μυελό των οστών (Koike, et al, 2014). Τα μεσεγχυματικά κύτταρα που προέρχονται από το αμνιακό υγρό παρουσιάζουν υψηλό δυναμικό αυτοανέωσης και χρόνο διπλασιασμού 36 ώρες και έχουν την ικανότητα να διατηρούν φυσιολογικό καρύοτυπο ακόμα και μετά από αρκετές διαιρέσεις. Είναι ενδιαφέρον πως εκφράζουν δείκτες τυπικούς για τα αδιαφοροποίητα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα, αποδεικνύοντας πως τα AF-MSCs διατηρούν μια μεγαλύτερη δύναμη διαφοροποίησης από τα περισσότερα βλαστικά κύτταρα ενηλίκου (Joo, et al, 2012).

Τα μεσεγχυματικά κύτταρα από το αμνιακό υγρό έχουν μελετηθεί σε έρευνες με ζωικά μοντέλα και έχουν ποικίλες κλινικές εφαρμογές που συμπεριλαμβάνουν τον σχηματισμό ουροδόχου κύστης από AF-MSCs που διαφοροποιούνται σε μυϊκά κύτταρα, τη θεραπεία νευρικών βλαβών, τον σχηματισμό αιμοφόρων αγγείων και καρδιακών βαλβίδων και την αναγέννηση του διαφράγματος, των νεφρών, των οστών, των πνευμόνων, της καρδιάς και των χόνδρων (Piripino, et al, 2013). Επιπλέον, όπως και τα UCB-MSCs, έχουν επιτυχώς μεταμοσχευθεί σε ζωικά μοντέλα σε περιπτώσεις βλαβών του ισχιακού νεύρου παρουσιάζοντας ελπιδοφόρα αποτελέσματα (Berebichez-Fridman, et al, 2018).

Το άμνιο περιέχει μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από εσωτερική κυτταρική μάζα της βλαστοκύστης. Τα κύτταρα αυτά, πέραν του ότι δεν εκφράζουν HLA τάξης II, διαθέτουν επιπλέον ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες.

Άλλα μέρη του πλακούντα, όπως ο βασικός φθαρτός και το λαχνωτό όριο, περιέχουν επίσης μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά μετά από καλλιέργεια παρουσιάζουν παρεμφερή χαρακτηριστικά με κύτταρα που προέρχονται από το άμνιο. Επίσης, εκφράζουν δείκτες εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων και είναι ικανά να διαφοροποιούνται σε μια πληθώρα κυτταρικών σειρών, όπως ηπατικές, παγκρεατικές και νευρικές. Τα μεσεγχυματικά κύτταρα αυτής της πηγής έχουν δείξει πως είναι ικανά να βελτιώνουν την πνευμονική λειτουργία και να μειώνουν την πνευμονική ίνωση σε ζωικά μοντέλα. Έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση παθήσεων του δέρματος και του οφθαλμού (Piripo, et al, 2014). Επιπλέον κλινικές εφαρμογές των μεσεγχυματικών κυττάρων του πλακούντα αποτελούν ο σχηματισμός καρδιακού ιστού και η θεραπεία πνευμονικών βλαβών προκαλούμενων από μπλεομυκίνη, βλάβες χόνδρου, φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, μυϊκή δυστροφία Duchenne, ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, φλεγμονές και σακχαρώδης διαβήτης.

Ένα από τα κύρια οφέλη που παρέχουν τα παραπάνω κύτταρα είναι η εύκολη απομόνωσή τους μετά τον τοκετό, δίχως να απαιτείται μια ειδική διαδικασία. Επίσης, πλεονεκτήματά τους είναι το υψηλό πολλαπλασιαστικό δυναμικό και η πλαστικότητα τους (Piripo, et al, 2014).

## Περιφερικό αίμα

Τα βλαστικά κύτταρα του περιφερικού αίματος απομονώνονται με τη βοήθεια παραγόντων διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων που επιτρέπουν την απελευθέρωσή τους στην κυκλοφορία. (granulocyte-colony stimulating factors, granulocyte-CSF) (Berebichez-Fridman, et al, 2017). Τα κύτταρα αυτά συλλέγονται εύκολα και είναι παρόμοια με τα BM-MSCs καθώς μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μεσεγχυματικές κυτταρικές σειρές και διαθέτουν υψηλή ικανότητα προσκόλλησης σε πλαστικά τρυβλία καλλιέργειας και εκφράζουν χαρακτηριστικούς μεσεγχυματικούς δείκτες επιφανείας. Ωστόσο, έχουν χρόνο διπλασιασμού 95 ώρες, μεγαλύτερο δηλαδή από τα μεσεγχυματικά κύτταρα των υπόλοιπων πηγών. Έχουν μικρότερη ικανότητα διαφοροποίησης προς κύτταρα χόνδρου και οστού από τα BM-MSCs αλλά το δυναμικό διαφοροποίησής τους προς λιπώδη κύτταρα είναι μεγαλύτερο.

## Ενδομήτριο

Το ανθρώπινο ενδομήτριο αναγεννιέται από τη βασική μεμβράνη και για τον λόγο αυτόν περιέχει μικρούς πληθυσμούς επιθηλιακών και στρωματικών κυττάρων που εμφανίζουν κλωνογονικότητα. Αυτά τα κύτταρα, μπορούν να διαφοροποιούνται *in vitro* σε αντίθεση με τα υπόλοιπα κύτταρα μη ενδομητριάκων γυναικολογικών ιστών (Verdi, et al, 2014).

Υπάρχουν τρεις τύποι ενδομητριάκων βλαστικών κυττάρων (endometrial stem cells, EnSCs): Επιθηλιακά προγονικά κύτταρα, μεσεγχυματικά κύτταρα και ενδοθηλιακά προγονικά κύτταρα. Τα βλαστικά κύτταρα του ενδομητρίου μπορούν να απομονωθούν από το εμμηνορρυσιακό αίμα ή με βιοψία ενδομητρίου χωρίς την ανάγκη επεμβατικής διαδικασίας. Διαθέτουν πολύ υψηλό πολλαπλασιαστικό δυναμικό, μικρό χρόνο διπλασιασμού (36 ώρες) και μπορούν να διατηρούν σταθερό καρυότυπο για περισσότερες από 40 γενεές.

Τα EnSCs διαθέτουν ιδιότητες παρόμοιες με τα μεσεγχυματικά κύτταρα που προέρχονται από τον μυελό των οστών ή τον λιπώδη ιστό και μπορούν να διαφοροποιηθούν σε λιποκύτταρα, χονδροκύτταρα, οστεοβλάστες, λεία μυϊκά κύτταρα και ηπατοκύτταρα (Verdi, et al, 2014). Βρίσκονται υπό έρευνα σε ζωικά μοντέλα για νόσους όπως η μυϊκή δυστροφία Duchenne, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, η αναγέννηση μυών μέσω μεταμόσχευσης σε περιοχές με ατροφικές μυϊκές ίνες και η ισχαιμία των άκρων.

## Δέρμα

Τα μεσεγχυματικά κύτταρα του δέρματος (skin-derived mesenchymal stem cells, S-MSCs) συλλέγονται με βιοψία δέρματος και όταν καλλιεργούνται μπορούν να διαφοροποιηθούν σε νευρώνες, κύτταρα γλοίας και κύτταρα λείων μυϊκών ινών (Al-Nbaheen, et al, 2013). Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα αυτής της πηγής είναι το εξαιρετικά υψηλό πολλαπλασιαστικό δυναμικό, το οποίο είναι μεγαλύτερο και από τα AT-SCs. Μπορούν να απομονωθούν από ποικίλες περιοχές του δέρματος όπως η επιδερμίδα, τα τριχοθυλάκια, οι σμηγματογόνοι αδένες και ο υποδόριος λιπώδης ιστός. Καθένας από αυτούς τους τύπους κυττάρων εκφράζει διαφορετικούς δείκτες (Niezgoda, et al, 2017).

Μια σημαντική λειτουργία των S-MSCs είναι η αναγέννηση του δέρματος μετά από σοβαρή δερματική βλάβη, όπως εγκαύματα, χρόνια έλκη και πληγές μεγάλου βάθους. Μπορούν ακόμη να

χρησιμοποιηθούν ως αντιγηραντική θεραπεία και σε περιπτώσεις λεύκης, αλωπεκίας και μελανώματος. Άλλες δυνητικές κλινικές εφαρμογές στις οποίες μπορεί να συμβάλλουν αποτελούν τα τραύματα της σπονδυλικής στήλης, η αναγέννηση αιμοποιητικών κυττάρων μετά από ακτινοθεραπεία και η ανακατασκευή της ουροδόχου κύστης (Niezgoda, et al, 2017). Αδιαφοροποίητα βλαστικά κύτταρα από τα τριχοθυλάκια έχουν δοκιμαστεί σε μοντέλα μυών για περιπτώσεις διατομής ισχιακού ή κνημιαίου νεύρου παρουσιάζοντας ελπιδοφόρα αποτελέσματα (Berebichez-Fridman, et al, 2017).

## Μύες

Οι σκελετικοί μύες και τα οστά μοιράζονται κοινή μεσοδερματική προέλευση και παρουσιάζουν αναγεννητικές ικανότητες χάρη στην παρουσία ενδογενών μυϊκών κυττάρων, δορυφορικών κυττάρων και σκελετικών μυϊκών κυττάρων (Abou-Khalil, et al, 2015). Τα δορυφορικά κύτταρα έχουν περιορισμένο δυναμικό διαφοροποίησης καθώς μπορούν να παράγουν μόνο μυϊκές κυτταρικές σειρές, ενώ τα μεσεγχυματικά κύτταρα που προέρχονται από τον μυϊκό ιστό (muscle-derived mesenchymal stem cells, M-MSCs) είναι ικανά να διαφοροποιούνται σε πολλαπλές κυτταρικές σειρές όπως οστεοβλάστες, μυοβλάστες και χονδροβλάστες.

Η πλέον σημαντική και εκτενώς μελετημένη κλινική εφαρμογή των M-MSCs είναι η θεραπεία της μυϊκής δυστροφίας (Jackson, et al, 2010). Ωστόσο, διαθέτουν πολλές ακόμα κλινικές εφαρμογές όπως η αναγέννηση περιφερικών νεύρων με κυριότερο παράδειγμα τη θεραπεία μετά από τραυματισμό του ισχιακού νεύρου. Επίσης, έχουν χρησιμοποιηθεί για την αναγέννηση σκελετικών και του καρδιακού μυός αλλά και την αύξηση της επούλωσης μετά από τραυματισμό οποιουδήποτε μυός μέσω δημιουργίας νέων μυϊκών κυττάρων αλλά και αύξησης της αγγειογένεσης (Hass, et al, 2011). Επιπλέον δυνητικές κλινικές εφαρμογές των μυϊκών μεσεγχυματικών κυττάρων συμπεριλαμβάνουν της αναγέννηση των αιμοφόρων αγγείων, τη θεραπεία της ακράτειας ούρων και την επισκευή του κολπικού ιστού (Jackson, et al, 2010).



## Κεφάλαιο 4: Ιδιότητες των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων

Όλα τα είδη βλαστικών κυττάρων διαθέτουν τις ιδιότητες της αυτοανανέωσης και της πολυδυναμίας. Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα διαθέτουν ακόμα ορισμένες βιολογικές ιδιότητες οι οποίες τους χαρίζουν έναν πολλά υποσχόμενο ρόλο στην κλινική πράξη. Αρχικά, έχουν την ικανότητα της μετανάστευσης (homing), δηλαδή απαντώντας σε κατάλληλο ερέθισμα να εγκαταλείπουν τον θάκο και μέσω της κυκλοφορίας να μεταφέρονται προς μια διαφορετική περιοχή όπως για παράδειγμα προς μια φλεγμονή (El barky, et al, 2017). Επιπλέον, μπορούν να εκκρίνουν μια πληθώρα βιοενεργών μορίων ικανών να πυροδοτούν την επανόρθωση των τραυματισμένων κυττάρων και ιστών και να αναστέλλουν τη φλεγμονή (Wang, et al, 2012). Επίσης, σημαντική είναι η ανοσολογική λειτουργία των MSCs καθώς όταν καλλιεργούνται in vitro μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ανοσοκατασταλτικοί ή ανοσοτροποποιητικοί παράγοντες (Hass, et al, 2011) (Εικόνα 9). Τέλος εκτός από τις παραπάνω ιδιότητες οι οποίες τα τελευταία χρόνια αξιοποιούνται ευρέως στην κλινική πρακτική, νεότερες έρευνες αποδεικνύουν την επίδραση των MSCs στη λειτουργία και την επιβίωση των κυττάρων, τροποποιώντας τα μονοπάτια του κυτταρικού θανάτου (Naji, et al, 2019).

### Μετανάστευση

Η εκμετάλλευση της ικανότητας των μεσεγχυματικών κυττάρων να μεταναστεύουν σε ιστό έξωθεν του θάκου στον οποίο βρίσκονται αρχικά βασίζεται στη φυσιολογική διαδικασία που συμβαίνει κατά τον τραυματισμό ενός ιστού. Τα MSCs του ίδιου του οργανισμού απελευθερώνονται στην κυκλοφορία, κατευθύνονται στην περιοχή της φλεγμονής και εκκρίνουν βιολογικούς παράγοντες δημιουργώντας ένα κατάλληλο μικροπεριβάλλον το οποίο προάγει την αναγέννηση.

### Μηχανισμός δράσης

Με τον ίδιο τρόπο δρουν και τα αλλογενή MSCs όταν μεταμοσχευθούν στον παραλήπτη οργανισμό. Δρουν σαν μια αποθήκη παραγόντων, η οποία κατόπιν κατάλληλου ερεθίσματος

έλκεται από μια φλεγμαίνουσα περιοχή του οργανισμού και κάτω από ειδικές μικροπεριβαλλοντικές συνθήκες εισέρχονται στο πρόγραμμα διαφοροποίησής τους. Όταν εγκατασταθούν στο κατάλληλο σημείο δημιουργούνται συνθήκες αναγέννησης του τραυματισμένου ιστού εκκρίνοντας αυτούς τους παράγοντες ενώ επίσης ασκούν ισχυρή ανοσορρυθμιστική, αγγειογενετική και αντιαποπτωτική επίδραση (Le Blanc, et al, 2012).

Περιπτώσεις που έχουν αναφερθεί σε προκλινικό επίπεδο αφορούν την επισκευή χόνδρου και μυών, την αναγέννηση της καρδιάς, τη μετανάστευση προς τον εγκέφαλο και την παρεγκεφαλίδα και προς τα οστά όπου διαφοροποιούνται προς οστεοβλάστες συντελώντας στην αναγέννηση μετά από τραυματισμό (El Barky, et al, 2017). Η μετανάστευση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων εξαρτάται από πολλαπλά σήματα τα οποία είναι αυξητικοί παράγοντες ή χυμοκίνες που εκκρίνονται από τα τραυματισμένα κύτταρα. Πιο συγκεκριμένα, βρίσκεται υπό τον έλεγχο αυξητικών παραγόντων που βασίζονται στη δράση ενός υποδοχέα τυροσινικής κινάσης, όπως ο προερχόμενος από τα αιμοπετάλια αυξητικός παράγοντας (platelet-derived growth factor, PDGF) ή ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) και χυμοκίνες όπως οι CCR2, CCR3, CCR4 και CCR5 (Wang, et al, 2012).

Ο μηχανισμός της μετανάστευσης των MSCs μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες, ανάλογα με την περιοχή που εγγέονται τα αλλογενή μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα. Στην περίπτωση που τα κύτταρα αυτά μεταμοσχεύονται τοπικά στον ιστό στόχο λαμβάνει χώρα μη συστηματική μετανάστευση και τα MSCs κατευθύνονται προς την περιοχή του τραύματος αποκρινόμενα σε σήματα αυξημένης συγκέντρωσης χυμοκινών. Αντίθετα, όταν χορηγούνται ενδογενώς στην κυκλοφορία του αίματος συμβαίνει συστηματική μετανάστευση. Κατά τη διαδικασία αυτήν, τα MSCs υφίστανται μια διαδικασία πέντε βημάτων ώστε να εξέλθουν της κυκλοφορίας και να εγκατασταθούν στην περιοχή της φλεγμονής:

- Πρόσδεση και κύλιση: Αρχικά, οι σελεκτίνες που εκφράζονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα διευκολύνουν την πρόσδεση. Τα MSCs εκφράζουν CD44 το οποίο προσδένεται στις σελεκτίνες και προκαλεί την έναρξη της κύλισης των κυττάρων κατά μήκος του αγγειακού τοιχώματος.
- Ενεργοποίηση: Στο δεύτερο βήμα συμμετέχουν υποδοχείς χυμοκίνης συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες, ως απάντηση σε σήματα φλεγμονής. Σημαντική είναι η έκφραση του αυξητικού παράγοντα των στρωματικών κυττάρων (stromal cell-derived factor, SDF-1) ο οποίος

αποτελεί τον σύνδεσμο για τον υποδοχέα χυμοκίνης CXCR4 ο οποίος παράγεται από τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα.

- Σύλληψη: Το στάδιο αυτό καταλύεται από ιντεγκρίνες. Τα MSCs εκφράζουν την VLA-4 (ιντεγκρίνη  $\alpha 4\beta 1$ ) η οποία καθίσταται ενεργή ως απάντηση σε χυμοκίνες όπως η SDF-1.
- Διαπίδυση: Τα MSCs πρέπει να ταξιδέψουν διακυτταρικά μέσω τη ενδοθηλιακής κυτταρικής στιβάδας και της βασικής μεμβράνης. Για να το επιτύχουν, απαραίτητη είναι η έκκριση μεταλλοπρωτεϊνών (matrix metalloproteinases, MMPs) ώστε να διαλύσουν την ενδοθηλιακή βασική μεμβράνη.
- Μετανάστευση: Τέλος, μεταναστεύουν μέσω της ενδιάμεσης στιβάδας στην περιοχή της φλεγμονής. Αυτή η διεργασία καθοδηγείται από χημειοτακτικά σήματα που απελευθερώνονται ως απάντηση στον ιστικό τραυματισμό (Ullah, et al, 2019).

## Επισκευή ιστών

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα παρουσιάζουν εξαιρετικό ενδιαφέρον, τόσο σε ερευνητικό όσο και σε κλινικό επίπεδο, χάρη στην δυνητικά τεράστια συμμετοχή τους στη μηχανική των ιστών. Η ευκολία απομόνωσης και χειρισμού τους καθώς επίσης και το μεγάλο δυναμικό διαφοροποίησης σχεδόν κάθε ιστό του σώματος είναι οι παράγοντες που τα καθιστούν μια τόσο ελκυστική επιλογή. Συγκεκριμένα, αυτά τα πολυδύναμα κύτταρα έχει βρεθεί πως μπορούν να διαφοροποιούνται προς κύτταρα χόνδρου, οστού λίπους, μυός, τένοντα, δέρματος, αίματος, και νευρικού ιστού. Τα MSCs είναι εξ ορισμού αδιαφοροποίητα κύτταρα με σημαντικές ικανότητες αυτοανανέωσης. Είναι ικανά, λοιπόν, να πολλαπλασιάζονται παράγοντας θυγατρικές κυτταρικές γραμμές χρήσιμες για στην αναγέννηση των ιστών. Μερικοί ακόμα λόγοι που τα καθιστούν τόσο ισχυρά όπλα στο πεδίο της μηχανικής των ιστών είναι η εύκολη προσβασιμότητα, η μεγάλη επεκτασιμότητα και η *in vivo* και *in vitro* ετερογένειά τους, επιτρέποντας τη χρήση τους σε μια τεράστια ποικιλία παθολογικών καταστάσεων.

Ενώ τα MSCs διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη των ιστών, έχουν επιπλέον ζωτική σημασία στην επισκευή ιστών και οργάνων. Η πιο ευρέως μελετημένη χρήση τους περιλαμβάνει την αναγέννηση χόνδρου, οστού, λίπους, μυός, τένοντα, δέρματος, αιμοποιητικών και νευρικών κυττάρων (Yu Han, et al, 2019), (Rosenbaum, et al, 2008).



## Μηχανισμός δράσης

Όπως συμβαίνει φυσιολογικά σε κάθε οργανισμό, οι ιστοί πραγματοποιούν σε τακτά χρονικά διαστήματα ανανέωση και αντικατάσταση των κυττάρων των οποίων ο χρόνος ημίσειας ζωής κυμαίνεται από λίγες ώρες ως αρκετές ημέρες ή μήνες, ακόμα και δεκαετίες σε σπάνιες περιπτώσεις που αφορούν νευρώνες του εγκεφάλου, χονδροκύτταρα και καρδιομυοκύτταρα όπου ο χρόνος ημιζωής είναι περίπου 50 έτη. Όταν ένας ιστός υποστεί μια βλάβη από τραύμα ή ασθένεια αυτή η αναγεννητική διαδικασία πρέπει να επιταχύνεται, ωστόσο αυτή η ικανότητα μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας του οργανισμού (Pittenger, et al, 2019).

Τον ρόλο αυτόν διαδραματίζουν τα βλαστικά κύτταρα, τα οποία μπορούν να μεταναστεύουν στον ιστό που υπέστη τη βλάβη, να διαφοροποιούνται προς τον κατάλληλο κυτταρικό τύπο και να πολλαπλασιάζονται επιτρέποντας την αντικατάσταση των κατεστραμμένων κυττάρων. Με τον ίδιο τρόπο δρουν και τα αλλογενή μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα όταν μεταμοσχεύονται με σκοπό την επισκευή ενός τραυματισμένου ιστού.

Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί πως μετά τη χορήγηση μιας συγκεκριμένης δόσης MSCs μόνο μια μικρή ποσότητα αυτών εγκαθίσταται και επιβιώνει παραμένοντας ανιχνεύσιμη μετά από μερικές ημέρες και συγκεκριμένα το ποσοστό αυτό είναι μικρότερο του 1%. Επιπροσθέτως, για την επισκευή μιας βλάβης συγκεκριμένου μεγέθους, η δόση των MSCs που χρειάζεται να μεταμοσχευθούν ώστε να επιτευχθεί πλήρης αναγέννηση είναι θεαματικά μικρότερη από τον συνολικό αριθμό των κυττάρων που έχουν καταστραφεί. Τα πορίσματα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα πως τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα δεν επιδρούν μονάχα άμεσα αντικαθιστώντας κατεστραμμένα κύτταρα αλλά έχουν και έναν έμμεσο ρόλο, ακόμα πιο σημαντικό: μπορούν να ενισχύουν τη διαδικασία εκκρίνοντας βιονεργά μόρια τα οποία επιταχύνουν την επούλωση και μειώνουν τη φλεγμονή (Pittenger, et al, 2019). Ειδικότερα, τα MSCs μπορούν να εκκρίνουν βιοενεργούς παράγοντες όπως αυξητικοί παράγοντες, κυτοκίνες και χυμοκίνες οι οποίοι ασκούν σπουδαία επίδραση στην δυναμική των κυττάρων. Έτσι, η χορήγηση μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων με σκοπό την επισκευή των ιστών προκαλεί επιπλέον αύξηση της αναγεννητικής τους δράση χάρη στην έκκριση παρακρινών παραγόντων. Δύο ακόμη μηχανισμοί που συμμετέχουν στη βελτίωση της διαδικασίας είναι η μεταφορά μιτοχονδρίων μέσω μικροσωληνίσκων ή μικροκυστιδίων και η μεταφορά εξωσωμάτων και μικροκυστιδίων που περιέχουν RNA και άλλα μόρια (Spees, et al, 2016).

Η χρήση των MSCs στην επανορθωτική ιατρική και τη μηχανική των ιστών απαιτεί το σχεδιασμό βιοσυμβατών κριωμάτων, η κλινική χρήση των οποίων πρέπει να παρέχει όσο το δυνατόν λιγότερες παρενέργειες, χωρίς να προκαλεί ανοσολογική απάντηση, διαθέτοντας υψηλή επισκευαστική ικανότητα, χωρίς να επιφέρει σημαντικές επιπλοκές. Χάρη στην υψηλή ικανότητα εξάπλωσης, το μεγάλο δυναμικό διαφοροποίησης και του κυρίαρχου ανοσοτροποποιητικού τους ρόλου, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα αποτελούν ιδανικό εργαλείο χρήσης για αυτόν τον σκοπό. Τα κύτταρα αυτά ασκούν αντιφλεγμονώδη και ανοσοκατασταλτική δράση μέσω της ενεργοποίησης των T-κατασταλτικών λεμφοκυττάρων και της έκκρισης μεγάλου αριθμού ανοσοτροποποιητικών παραγόντων. Από την άλλη πλευρά, μπορούν να εντοπίζουν την περιοχή που έχει υποστεί τραυματισμό, να εμφυτεύονται εκεί και να επιταχύνουν τη διαδικασία αναγέννησης μέσω έκκρισης βιοενεργών παραγόντων (Dehghanifard, et al, 2013).

## Ανοσοτροποποίηση

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα ξεκίνησαν αρχικά να διερευνώνται ως μια πολλά υποσχόμενη θεραπεία στην αναγεννητική ιατρική χάρη στην ικανότητα της αυτοανανέωσης και του υψηλού δυναμικού διαφοροποίησης. Ωστόσο, η συνεισφορά τους ως ανοσοτροποποιητικός παράγοντας φαίνεται να είναι ακόμα μεγαλύτερη (Wang, et al, 2016). Η ικανότητά τους να τροποποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα αναγνωρίστηκε αρχικά το 2000 όταν ανακαλύφθηκε πως τα MSCs διαθέτουν μοναδικά ανοσολογικά χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν την παραμονή και επιβίωσή τους σε ένα ξενογενές περιβάλλον (Liechty, et al, 2000). Το εύρημα αυτό επιβεβαιώθηκε στη συνέχεια από μια μεγάλη πληθώρα μελετών τόσο σε ζωικά μοντέλα όσο και από αναφορές περιπτώσεων σε ανθρώπους όπου φάνηκε πως τα *in vitro* καλλιεργούμενα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονταν από τον μυελό των οστών είναι ανοσοκατασταλτικά και ανοσοτροποποιητικά (Uccelli, et al, 2008). Οι ιδιότητες αυτές δεν περιορίζονται μόνο στα BM-MSCs αλλά ανευρίσκονται και σε άλλες πηγές MSCs και ιδιαίτερα σε εμβρυϊκές πηγές (Gotherstrom, et al, 2004), (Chang, et al, 2006). Έτσι, τα MSCs συγκεντρώνουν πλέον μεγαλύτερο ενδιαφέρον στην έρευνα κατά ανοσολογικών και φλεγμονωδών νοσημάτων παρά για την κυτταρική θεραπεία αντικατάστασης ή την αναγέννηση ιστών καθώς στην πρώτη περίπτωση η πρακτικά πολύ δύσκολη εγκατάσταση των εξωγενών κυττάρων στο νέο περιβάλλον δεν είναι απαραίτητη (Wang, et al, 2016).

## Αυτόλογα vs Αλλογενή MSCs

Οι πρώτες έρευνες στις οποίες αξιοποιήθηκε η γνώση περί ανοσοτροποποιητικής ικανότητας των MSCs περιλάμβαναν αυτόλογα κύτταρα και παρότι είχαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα, δύο λόγοι οδήγησαν στη δοκιμή αλλογενών μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων:

Πρώτον, το ιλιγγιώδες κόστος παραγωγής αυτόλογων MSCs, καθώς για κάθε ασθενή που θα μεταμοσχευόταν θα έπρεπε τα κύτταρα που λαμβάνονται να καλλιεργούνται σε εξαιρετικά ασφαλείς συνθήκες καθ' όλη τη διαδικασία πριν την έγχυση ώστε να είναι βέβαιο ότι δε θα προκύψει κάποια ιογενής ή βακτηριακή λοίμωξη.

Δεύτερον, πολλοί ασθενείς στο παρελθόν, οι οποίοι θεραπεύονταν για κάποια κακοήθεια του αιμοποιητικού συστήματος και ως εκ τούτου διέθεταν ελαττωμένα νούμερα MSCs του μυελού των οστών δεν υπήρχε η δυνατότητα να επιτευχθεί επάρκεια αυτόλογων MSCs στο χρονικό διάστημα που απαιτούνταν ώστε να λάβουν τη θεραπευτική δόση. Για την υπερπήδηση αυτού του προβλήματος είχαν χρησιμοποιηθεί αλλογενή MSCs τα οποία απομονώθηκαν από έναν ανοσολογικά συμβατό δότη, ένα μέλος της οικογένειας. Αυτοί οι δότες δεν ήταν ανοσολογικά πανομοιότυποι με τους ασθενείς και για τον λόγο αυτόν τα αποτελέσματα αναμένονταν να χαρακτηρίζονται από αυξημένα ποσοστά αντίδρασης του μοσχεύματος κατά του ξενιστή. Ωστόσο, τα ποσοστά αυτά ήταν μικρότερα συγκριτικά με τις θεραπείες που περιλάμβαναν αυτόλογα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα.

Αυτή η απρόσμενη παρατήρηση, σε συνδυασμό με τη μείωση του κόστους καθιέρωσε τα αλλογενή MSCs πρώτα στις επιλογές των επιστημόνων για την έρευνα στις φλεγμονώδεις και ανοσολογικές παθήσεις (Pittenger, et al, 2019).

## Μηχανισμός δράσης

Η ανοσολογική λειτουργία των MSCs παρουσιάζει διττή φύση: Πρώτον, είναι ανοσοτροποποιητικά/ανοσοκατασταλτικά. Δεύτερον, είναι ‘‘ανοσοπρονομιούχα’’. Ο πρώτος όρος αναφέρεται στη δράση τους στη ρύθμιση του φλεγμονώδους μικροπεριβάλλοντος και την αλληλεπίδραση με τα ανοσοκύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των T-λεμφοκυττάρων, των B-λεμφοκυττάρων, των δενδριτικών κυττάρων (Dendritic cells, DC) και των κυττάρων φυσικών φονέων (natural killer cells, NK cells). Χαρακτηρίζονται επίσης ως ανοσοπρονομιούχα καθώς

είναι ικανά να προστατεύονται από τους ανοσοποιητικούς αμυντικούς μηχανισμούς του οργανισμού στον οποίο μεταμοσχεύονται. Η δράση αυτή οφείλεται στη χαμηλή έκφραση των συμπλεγμάτων μείζονος ιστοσυμβατότητας MHC 1 και MHC 2 παρέχοντας σημαντική αυτοπροστασία στα MSCs όταν αυτά βρίσκονται σε ξένο περιβάλλον εκτός του θώκου (Hass, et al, 2011).

Οι υποκείμενοι μηχανισμοί της ανοσολογικής λειτουργίας των MSCs είναι πρωτίστως συνδεδεμένοι με την παρακρινή τους δράση και οφείλονται στην έκκριση βιοενεργών παραγόντων, όπως χυμοκίνες και κυτοκίνες, επηρεάζοντας τόσο το ενδογενές όσο και το προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα (Zhou, et al, 2019). Πολλοί παράγοντες έχουν ταυτοποιηθεί πως συμβάλλουν σε αυτήν τη διαδικασία. Τέτοιοι είναι: Ιντερλευκίνες (Interleukine, IL), όπως IL-1, IL6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-11, IL12, IL14 και IL-15, ο ανασταλτικός παράγοντας της λευχαιμίας (leukemia inhibitory factor, LIF), ο παράγοντας διέγερσης των αποικιών των κοκκιοκυττάρων (granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), ο παράγοντας διέγερσης των αποικιών των κοκκιοκυττάρων και των μακροφάγων (granulocyte macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), ο παράγοντας βλαστοκυττάρων (stem cell factor, SCF), ο παράγοντας διέγερσης των αποικιών των μακροφάγων (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF), οι χυμοκίνες CCL2, CXCL1, CXCL2, CXCL6, ο αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β (transforming growth factor beta, TGF-β), ο ενδοθηλιακός αγγειακός αυξητικός παράγοντας (vascular endothelial growth factor (VEGF) και ο αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (fibroblast growth factor-2, FGF-2). Πιο αναλυτικά, τα MSCs ασκούν τη δράση τους στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος ως ακολούθως:

### *Μακροφάγα*

Τα μακροφάγα είναι κύτταρα τελεστές του ενδογενούς ανοσοποιητικού συστήματος, ζωτικής σημασίας για την αντιμετώπιση των παθογόνων κατά την έναρξη και τη συνέχεια της ανοσολογικής απάντησης. Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα επηρεάζουν την ωρίμανση, τη μετανάστευση και τη λειτουργικότητα των μακροφάγων απελευθερώνοντας διαλυτούς παράγοντες, με αποτέλεσμα την τροποποίηση της δύναμης και της διάρκειας της ανοσολογικής απάντησης. Συνολικά, μέσω απελευθέρωσης μεγάλης ποσότητας κυτοκινών οδηγούν στη μετατροπή του φλεγμονώδους M1 φαινοτύπου των μακροφάγων προς τον αντιφλεγμονώδη

φαινότυπο M2, επιτυγχάνοντας έτσι τον ρόλο τους στις ανοσορυθμιστικές και τις αντιφλεγμονώδεις παθήσεις (Abumaree, et al, 2013).

### *Δενδριτικά κύτταρα*

Τα δενδριτικά κύτταρα είναι τα κύρια αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος των θηλαστικών. Τα MSCs αναστέλλουν την έκφραση του CD83, μειώνουν την παραγωγή της ιντερλευκίνης 12 και επεμβαίνουν στη διαδικασία ενδοκυττάρωσης κατά την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων. Επιπροσθέτως, αποτρέπουν πλήρως την παραγωγή ανώριμων δενδριτικών κυττάρων από μονοκύτταρα μέσω της IL-6, του M-CSF και άλλων διαλυτών παραγόντων και εμποδίζουν τη μετανάστευσή τους μέσω του CCL19 (Chiesa, et al, 2011).

### *Ουδετερόφιλα*

Τα ουδετερόφιλα αποτελούν βραχείας ζωής κύτταρα τελεστές του ενδογενούς ανοσοποιητικού συστήματος ενώ επίσης διαδραματίζουν πρωταρχικό ρόλο στην ενεργοποίηση, τον προσανατολισμό και την έκφραση της προσαρμοστικής ανοσολογικής απάντησης. Όταν συγκαλλιεργούνται με μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα, προστατεύονται από την απόπτωση χάρη στην έκφραση της ιντερλευκίνης 6, η οποία παράγεται από τα MSCs και εμπλέκεται στο σηματοδοτικό μονοπάτι STAT3. Επιπλέον, επηρεάζουν την κινητικότητα και τη διείσδυση των ουδετερόφιλων και καταστέλλουν την ανεξέλεγκτη ενεργοποίησή τους μέσω αυξημένης παραγωγής της δισμουτάσης του σουπεροξειδίου (superoxide dismutase, SOD3), (Jiang, et al, 2016).

### *Κύτταρα φυσικοί φονείς*

Τα κύτταρα φυσικοί φονείς αποτελούν τα κύρια εκτελεστικά κύτταρα του ενδογενούς ανοσοποιητικού συστήματος και είναι επιφορτισμένα με το ρόλο της εξόντωσης των καρκινικών και των μολυσμένων από ιό κυττάρων. Τα MSCs αναστέλλουν τον επαγόμενο από την ιντερλευκίνη 2 πολλαπλασιασμό των ανενεργών κυττάρων φυσικών φονέων. Επίσης, αποτρέπουν την κυτταρολυτική τους επίδραση και είναι ικανά να αλλάζουν τον φαινότυπο των κυττάρων αυτών και να καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό και την έκκριση κυτοκινών μέσω έκκρισης

διαλυτών παραγόντων συμπεριλαμβανομένων του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα TGF-β1 και της προσταγλανδίνης E2 (Björkström, et al, 2016).

### *T-λεμφοκύτταρα*

Τα T-λεμφοκύτταρα αποτελούν τους πρωταρχικούς κυτταρικούς τελεστές του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη αντιγονική ειδικότητα και στην ανοσοποιητική μνήμη. Όταν συγκαλλιεργούνται με MSCs παρουσιάζουν μειωμένο πολλαπλασιασμό ακόμα και χωρίς διακυτταρική επαφή, αποδεικνύοντας πως οι κατασταλτικές επιδράσεις των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων οφείλονται στην απελευθέρωση διαλυτών βιοενεργών μορίων. Τα κυριότερα από αυτά τα μόρια είναι ο ηπατοκυτταρικός αυξητικός παράγοντας (Hepatocyte growth factor, HGF), η ιντερλευκίνη 10 και ο TGF-β1, τα οποία εμπλέκονται στην ανοσοκατασταλτική δράση των MSCs in vitro (Duffy, et al, 2011).

### *B-λεμφοκύτταρα*

Τα B-λεμφοκύτταρα είναι ένας ακόμη μείζων κυτταρικός τύπος που εμπλέκεται στην προσαρμοστική ανοσολογική απάντηση, δρώντας ως αντιγονοπαρουσιαστικά και ως παραγωγί ανοσοσφαιρινών. Παράγουν σήμερα, εκκρίνουν κυτοκίνες, επηρεάζουν τη δομή του λεμφικού ιστού και συμμετέχουν στην οργάνωση της αρχιτεκτονικής του σπλήνα, προκαλώντας ταυτόχρονα επιδράσεις σε άλλα ανοσοκύτταρα. Μέσω διακυτταρικών αλληλεπιδράσεων, τα MSCs διευκολύνουν τη φωσφορυλίωση και του AKT και αναστέλλουν τη συνδεδεμένη με την κασπάση 3 απόπτωση των περιφερικών CD19<sup>+</sup> B-κυττάρων, που εξαρτάται από την αυξημένη έκφραση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (Healy, et al, 2015). Εκτός από την άμεση επικοινωνία, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από τον λιπώδη ιστό ευνοούν τη χημειοταξία και την κινητικότητα των B-λεμφοκυττάρων μέσω έκκρισης χημειοτακτικών παραγόντων (Barrio, et al, 2014).

### *Ο ρόλος των εξωκυτταρικών κυστιδίων*

Όπως αναφέρθηκε στην αρχή της παραγράφου, η ανοσολογική λειτουργία των MSCs είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τα παρακρινή σήματα. Ωστόσο, οι τροποποιητικές επιδράσεις τους στο ανοσοποιητικό σύστημα υποστηρίζονται επίσης μερικώς από τα εκκρινόμενα εξωκυτταρικά κυστίδια (extracellular vesicles, EVs). Στα κυστίδια αυτά συμπεριλαμβάνονται τα μικροκυστίδια

και τα εξωσώματα, τα οποία αποτελούν έναν ετερογενή πληθυσμό ενθυλακωμένων σε λιπιδιακή μεμβράνη νανοσωματιδίων που μεταφέρουν ποικίλα βιομόρια όπως RNAs (mRNAs και miRNAs) και πρωτεΐνες (μεμβρανικούς υποδοχείς, ένζυμα, κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες. Έτσι, διαδραματίζουν κρίσιμους ρόλους στις διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις μέσω τοπικής ή απομακρυσμένης μεταφοράς των βιοενεργών τους φορτίων από τα γονικά κύτταρα προς τα κύτταρα παραλήπτες. Αφού τα εξωκυτταρικά κυστίδια είναι εμπλουτισμένα με περιεχόμενο από τα γονικά μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα, έχουν χαρακτηριστικά ανοσορύθμισης. Με άλλα λόγια, τα MSCs παρουσιάζουν ανοσορυθμιστική ικανότητα εξαρτώμενη από την απελευθέρωση εξωκυτταρικών κυστιδίων (Morrison, et al, 2017) (Εικόνα 3).

### Έλεγχος κυτταρικού θανάτου

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (regulated cell death, RCD) είναι μια βασική βιολογική διαδικασία ελέγχου της μοίρας των κυττάρων τόσο στις ασθένειες όσο και κατά την υγιή κατάσταση (Linkemann, et al, 2014). Οι κύριες μορφές της διαδικασίας αυτής είναι η απόπτωση, η νεκρόπτωση και η πυρόπτωση. Κατά την απόπτωση οι κύριοι τελεστές είναι οι κασπάσες 3,6 και 7 ενώ οι άλλες δύο περιπτώσεις εξαρτώνται από κινάσες πολλών ειδών και την πρωτεΐνη gasdermin d (GSDMD), αντιστοίχως (Galuzzi, et al, 2018). Ο ανεξέλεγκτος RCD στις ασθένειες ενισχύει την ιστική καταστροφή και την φλεγμονή οδηγώντας δυνητικά σε μόνιμη οργανική δυσλειτουργία, για αυτό πολλές φορές συνδέεται με ανεπιθύμητες επιδράσεις όπως την επιδείνωση εκφυλιστικών και φλεγμονωδών νοσημάτων. Από την άλλη πλευρά, κύτταρα ανθεκτικά στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο μπορεί να συμμετέχουν στην ανάπτυξη όγκων. Σε αμφότερες τις περιπτώσεις, τα μονοπάτια κυτταρικού θανάτου αποτελούν θεραπευτικούς στόχους μεγάλης ποικιλίας ασθενειών (Safa, et al, 2018).

### Τροποποίηση του κυτταρικού θανάτου από τα MSCs

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα είναι ικανά να προάγουν την κυτταρική διάσωση και επιβίωση των ενήλικων βλαστικών και σωματικών κυττάρων καταστέλλοντας σε πρώιμα στάδια τα σηματοδοτικά μονοπάτια του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου μέσω πολύπλευρων δράσεων, τόσο in vivo όσο και in vitro (Crompton, et al, 2017). Η ικανότητα των MSCs να



τροποποιούν τις διαδικασίες του RCD μπορούν να βοηθήσουν άμεσα στον περιορισμό της βλάβης που προκαλείται σε όργανα που νοσούν και έμμεσα στον περιορισμό της απελευθέρωσης επιβλαβών παραγόντων που εκλύονται από τα κύτταρα που πεθαίνουν, αποφεύγοντας έτσι την ενίσχυση της φλεγμονής, την πρόσθετη καταστροφή των ιστών και την απώλεια της λειτουργίας των οργάνων (Linkermann, et al, 2014).

Τα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα τροποποιούν τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο σε τρίτα κύτταρα, ιδιαίτερα σε αυτά που επηρεάζονται από την απόπτωση, τη νεκρόπτωση και την πυρόπτωση. Είναι ευαίσθητα σε κυτταρικές αλληλεπιδράσεις με ενήλικα βλαστικά κύτταρα, προγονικά ή σωματικά όπως αιμοποιητικά κύτταρα ή καρδιομυοβλάστες, κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα, καρδιομυοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, μακροφάγα και νευρώνες, ευνοώντας την επιβίωσή τους.

Δε φαίνεται πως επηρεάζουν τη διαδικασία όταν αυτή αφορά στα ίδια κύτταρα ωστόσο, θεωρητικά η πιθανότητα αυτή δεν αποκλείεται καθώς πιθανότατα επικαλύπτεται και συγχέεται με τις υπόλοιπες βιολογικές ιδιότητές τους, δηλαδή την τροφική λειτουργία και την ανοσοκατασταλτικότητα (Mahrouf-Yorgov, et al, 2017).

## Μηχανισμός δράσης

Η ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου από τα MSCs επιτυγχάνεται μέσω διαφορετικών τρόπων δράσης, οι οποίοι περιλαμβάνουν:

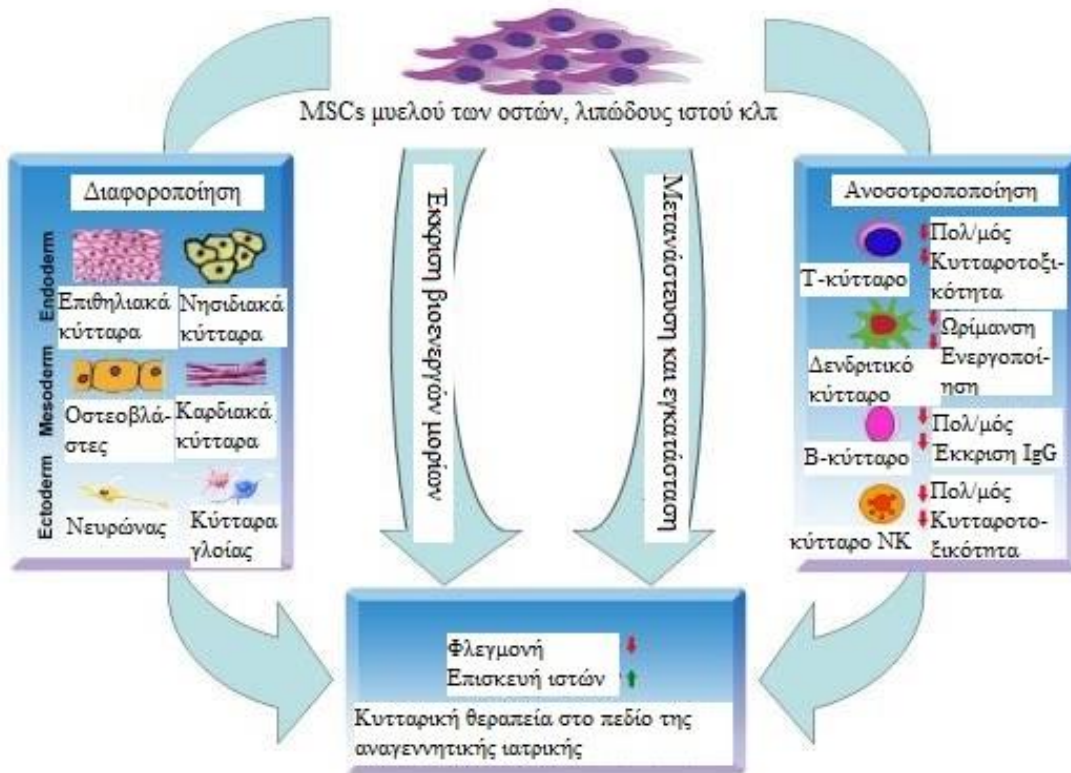
- Έκκριση παρακρινών παραγόντων: Τα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα εκκρίνουν μόρια που βελτιώνουν τις συνθήκες φλεγμονής. Τέτοιοι παράγοντες είναι χυμοκίνες, κυτοκίνες και αυξητικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία διαφοροποίησης ενδογενών προγονικών κυττάρων επηρεάζοντας την ανοσολογική απάντηση. Ως αποτέλεσμα προκαλείται και η έμμεση τροποποίηση του κυτταρικού θανάτου μέσω βελτίωσης της κυτταρικής επιβίωσης και της ανανέωσης των τραυματισμένων ή νοσούντων ιστών (Naji, et al, 2019).
- Ανταλλαγή ιόντων ασβεστίου μέσω χασματικών συνδέσεων κοννεξίνης: Η ενδοκυτταρική επικοινωνία μέσω συνδέσεων κοννεξίνης είναι σημαντική σε μια πληθώρα βιολογικών διαδικασιών, διευκολύνοντας τη μεταφορά ιόντων και μικρών μορίων και επηρεάζοντας



κατά αυτόν τον τρόπο την κυτταρική επιβίωση. Έχει αποδειχθεί πως τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα, ιδιαίτερα μέσω της κοννεξίνης 43 μειώνουν την απόπτωση και τη νεκρόπτωση ποικίλων ειδών κυττάρων ευνοώντας την κυτταρική επιβίωση (Fu, et al, 2017).

- Μεταφορά μιτοχονδρίων μέσω σηραγγών νανοσωλήνων (tunneling nanotubes, TNTs): Τα MSCs είναι ικανά να προάγουν τη διάσωση σωματικών κυττάρων με το μηχανισμό μεταφοράς μιτοχονδρίων μέσω TNTs. Τα TNTs υποστηρίζουν την ταχεία μεταφορά κυτταρικών υλικών συμπεριλαμβανομένων μεγάλων οργανιδίων από ένα κύτταρο δότη προς ένα κύτταρο παραλήπτη. Μέσω αυτών των δομών, παράγοντες επιβίωσης μεταφέρονται από τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα προς σωματικά κύτταρα αναστέλλοντας τον κυτταρικό θάνατο (Gerdes, et al, 2008),(Naji, et al, 2019).
- Μεταφορά βιοενεργών microRNAs (miRNAs) και πρωτεϊνών μέσω εξωκυτταρικών κυστιδίων: Τα εξωκυτταρικά κυστίδια (extracellular vesicles, EV) που απελευθερώνονται από τα MSCs περιέχουν βιολογικά υλικά τα οποία μεταφέρονται σε κύτταρα-στόχους τροποποιώντας τις βιολογικές τους ιδιότητες. Με αυτή τη διαδικασία πραγματοποιείται ένα μεγάλο μέρος της διακυτταρικής επικοινωνίας των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων με τα ενήλικα βλαστικά και σωματικά κύτταρα, τόσο τοπικά όσο και συστηματικά. Τα EVs που παράγονται από τα MSCs περιέχουν βιοενεργά μόρια όπως miRNAs, ειδικές πρωτεΐνες και ένζυμα. Τα κύτταρα παραλήπτες οδηγούνται στην βελτίωση του μεταβολισμού τους και την παράταση του χρόνου ζωής τους (Yuan, et al, 2017).

Η τροποποίηση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου φαίνεται να είναι μια πολλά υποσχόμενη ιδιότητα των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων για το μέλλον. Επιτυγχάνεται μέσω των παραπάνω τρόπων, οι οποίοι συντελούν δρώντας συνεργικά στην επιμήκυνση της ζωής των ενήλικων βλαστικών και σωματικών κυττάρων μειώνοντας την καταστροφή των ιστών και περιορίζοντας την ανάπτυξη φλεγμονής (Naji, et al, 2016).



Εικόνα 9. Σχηματική απεικόνιση των βιολογικών ιδιοτήτων των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων που σχετίζονται με τις θεραπευτικές επιδράσεις τους (Wang, et al, 2012).



## Κεφάλαιο 5: Εφαρμογή των MSCs στην Δυσλειτουργία του Πυελικού Εδάφους

### Ανάγκη για χρήση νέων μεθόδων

Οι διαταραχές του πυελικού εδάφους είναι μια συχνή εκφυλιστική πάθηση μεταξύ των γυναικών που μπορούν να επηρεάζουν αρνητικά την ποιότητα ζωής σε κάθε ηλικία (Jundt, et al, 2015) . Καθώς οι υπάρχουσες θεραπείες -συντηρητικές και χειρουργικές- περιορίζονται από τα υψηλά ποσοστά υποτροπών και επιπλοκών η αναζήτηση μιας νέας ιδανικής θεραπείας στην αποκατάσταση της λειτουργίας του πυελικού εδάφους αποτελεί ένα μείζον ζήτημα (Morling, et al, 2017).

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα είναι καλά μελετημένα ως προς την ασφάλεια στη χρήση τους και τις θεραπευτικές τους ικανότητες. Χαρακτηριζόμενα από τις ιδιότητες της αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης σε πολλά είδη κυττάρων καθώς και από το ανοσοτροποποιητικό δυναμικό τους αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη επιλογή για αυτή την ομάδα ασθενειών (Pittenger, et al, 2019). Μια πληθώρα προκλινικών και λιγότερες κλινικές μελέτες έχουν αφιερωθεί στην έρευνα για την βασιζόμενη στα MSCs θεραπεία της PFD με τα αποτελέσματα να είναι θετικά, περιλαμβάνοντας ανακούφιση συμπτωμάτων ακράτειας ούρων ή κοπράνων, βελτίωση των βιολογικών ιδιοτήτων των εμφυτευμένων πλεγμάτων και προαγωγή της επισκευής των τραυματισμένων ιστών (Sima, et al, 2020).

Παρόλα αυτά, οφείλεται να επισημανθεί ότι αυτό το είδος θεραπείας είναι προς το παρόν σε μεγάλο βαθμό σε ερευνητικό επίπεδο και απαιτείται ακόμα μεγαλύτερο πλήθος ερευνών πριν την απρόσκοπτη και ευρεία εφαρμογή τους στην καθημερινή κλινική πρακτική.

### Πηγές MSCs στη θεραπεία της PFD

#### MSCs του μυελού των οστών

Παρότι τα μεσεγχυματικά κύτταρα του μυελού των οστών έχουν αποτελέσει το gold standard για την έρευνα ως προς τις ιδιότητες και τη θεραπευτική τους δράση, η εφαρμογή τους στις διαταραχές

του πυελικού εδάφους παρουσιάζει περιορισμούς. Είναι αποδεδειγμένο πως διαθέτουν τόσο εξαιρετικό δυναμικό διαφοροποίησης όσο και ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες, ωστόσο η παρουσία τους στον μυελό των οστών είναι σχετικά σπάνια (περίπου 1 ανά 10.000 κύτταρα) και επιπλέον ο παραδοσιακός τρόπος συλλογής τους αποτελεί μια επίπονη διαδικασία για τους ασθενείς. Συνεπώς, αυτός ο κυτταρικός πληθυσμός υστερεί συγκριτικά με τους παρακάτω (Kozłowska, et al, 2019).

### MSCs του λιπώδους ιστού

Η πρώτη χρήση μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων προερχόμενων από τον λιπώδη ιστό (adipose tissue derived stem cells, ADSCs) για την αντιμετώπιση της δυσλειτουργίας του πυελικού εδάφους πραγματοποιήθηκε το 2010 κατά την έρευνα για την ακράτεια ούρων από προσπάθεια (stress urinary incontinence, SUI). Μετά την τεχνητή δημιουργία SUI σε επίμυες με κολπική διαστολή με μπαλόνι μετά τον τοκετό και αμφοτερόπλευρη ωοθηκεκτομή. Στους επίμυες χορηγήθηκαν ενδοφλεβίως και ενδοουρηθρικά ADSCs που είχαν απομονωθεί από το περιωθητικό λίπος. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η εν λόγω τεχνική είναι ευεργετική τόσο στη θεραπεία όσο και στην πρόληψη της SUI σε προκλινικό επίπεδο (Lin, et, al, 2010). Από τότε, ένας μεγάλος αριθμός προκλινικών και κλινικών μελετών έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με την χρησιμότητα των ADSCs στη θεραπεία της PFD. Όπως και τα BMSCs διαθέτουν εξαιρετικές βιολογικές ιδιότητες για τη μηχανική των ιστών και την αναγεννητική ιατρική. Αντιθέτως, δεν εμφανίζουν το μειονέκτημα της δύσκολης απομόνωσης καθώς συλλέγονται εύκολα και ανώδυνα. Έχει αναφερθεί συλλογή τους μέχρι και από το κοιλιακό λίπος ασθενούς κατόπιν λιποαναρρόφησης. Η συνολική επεμβατική διαδικασία διαρκεί λιγότερο από 3 ώρες, ο τραυματισμός της περιοχής είναι μηδαμινός και τα ADSCs ανευρίσκονται σε μεγάλη αφθονία στον ανθρώπινο λιπώδη ιστό (Gotoh, et al, 2014). Ως αποτέλεσμα των παραπάνω ευεργετικών ιδιοτήτων, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα που προέρχονται από τον λιπώδη ιστό έχουν αποτελέσει μια κορυφαία επιλογή στην έρευνα για τη θεραπεία των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους (Sima, et al, 2020).

## MSCs του μυϊκού ιστού

Τα κύτταρα αυτά (muscle-derived stem cells, MDSCs) λαμβάνονται μέσω βιοψίας των μυών. Είναι ετερογενείς πληθυσμοί βλαστικών και προγονικών κυττάρων που ανευρίσκονται σε όλους τους σκελετικούς μύες. Εκτός από τα δορυφόρα κύτταρα που είναι γνωστά για την ικανότητά αναγέννησης μυϊκών ινών υπάρχουν και μη-δορυφόρα κύτταρα με ευρύ δυναμικό διαφοροποίησης τα οποία ανήκουν στην κατηγορία των MSCs καθώς εκφράζουν ειδικούς δείκτες (Klimeczak, et al, 2018). Τα MDSCs έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά και καλώς ανεκτά στις περισσότερες κλινικές μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν για τη θεραπεία της SUI χορηγούμενα ενδοουρηθρικά. Επίσης, είναι υποψήφια της μηχανικής των ιστών για τη θεραπεία της πρόπτωσης πυελικών οργάνων (Pelvic Organs Prolapse, POP) καθώς είναι ικανά να προάγουν την κολπική επισκευή με ικρίωματα επισκευής ιστών σε μοντέλα επίμυων (Ho, et al, 2008). Ωστόσο, η επεμβατική διαδικασία συλλογής τους συχνά προκαλεί σημαντικό πόνο και νοσηρότητα και το πρόβλημα αυτό μειώνει την αξιοποίησή τους στην ερευνητική και κλινική πρακτική.

## MSCs του ενδομητρίου

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα του ενδομητρίου (endometrial mesenchymal stem cells, eMSCs) απομονώνονται από το ανθρώπινο ενδομήτριο το οποίο είναι ένας έντονα αναγεννητικός ιστός καθώς υπόκειται σε περισσότερους από 400 κύκλους ανάπτυξης κατά τα αναπαραγωγικά έτη της γυναίκας. Το ενήλικο ανθρώπινο ενδομήτριο περιέχει μια μικρή ποσότητα επιθηλιακών αρχέγονων και μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων τα οποία παρέχουν μια έτοιμη πηγή διαθέσιμων MSCs για τις κυτταρικές θεραπείες (Gargett, et al, 2009). Συνδυαζόμενα με νέα βιοϋλικά παρέχουν καλά αποτελέσματα στην επιδιόρθωση δερματικών πληγών και στις κήλες της κοιλιακής χώρας σε ζωικά μοντέλα (Mukherjee, et al, 2019), (Paul, et al, 2019) αποδεικνύοντας πως αποτελούν μια καλή επιλογή θεραπείας μηχανικής των ιστών σε συνεργασία με τα πλέγματα στη θεραπεία της πρόπτωσης των πυελικών οργάνων. Στην αυξημένη πιθανότητα ευρείας χρήσης τους στο μέλλον συμβάλλει η εύκολη απομόνωση τους μέσω ενδομητρίων βιοψιών που πραγματοποιούνται σε συνθήκες εξωτερικού ιατρείου, ενώ επίσης μπορούν να συλλεχθούν από μετεμμηνοπαυσιακό ενδομήτριο (Ulrich, et al, 2014).

## MSCs των περιγεννητικών ιστών

Επιπλέον των προαναφερθέντων πηγών βλαστικών κυττάρων που έχουν ερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό για τη θεραπεία των διαταραχών του πυελικού εδάφους, υπάρχουν και ορισμένες ακόμα πηγές για τις οποίες δεν υπάρχει μεγάλο πλήθος αναφορών αλλά αποτελούν εναλλακτική περίπτωση για το μέλλον.

- Μεσεγχυματικά κύτταρα του ομφάλιου λώρου (Umbilical cord-derived MSCs, UC-MSCs): Προέρχονται από διάφορα μέρη του ομφάλιου λώρου και ιδιαίτερα από τη γέλη του Wharton, μια δομή που ανευρίσκεται πλησίον του αγγειακού συστήματος του ομφάλιου λώρου. Έχει παρατηρηθεί η εφαρμοστικότητα τους στην κυτταρική θεραπεία καθώς μπορούν να συμβάλλουν στην επισκευή του κοιλιακού τοιχώματος σε επίμυες μέσω της μηχανικής των ιστών (Ding, et al, 2018).
- Μεσεγχυματικά κύτταρα του αίματος του ομφάλιου λώρου (Umbilical cord blood-derived MSCs, UCB-MSCs): Συλλέγονται από το αίμα του ομφάλιου λώρου δίχως την απαίτηση επεμβατικών διαδικασιών και αναμένεται να αποτελέσουν σημαντικό βοήθημα στην αναγεννητική ιατρική στο μέλλον. Κατόπιν διουρηθρικής έγχυσής τους σε γυναίκες με διαγνωσμένη ακράτεια ούρων από προσπάθεια φάνηκαν αποτελεσματικά στην ανακούφιση του συμπτώματος, όπως αποδείχθηκε μετά από ουροδυναμική μελέτη (Lee, et al, 2010).
- Μεσεγχυματικά κύτταρα του πλακούντα ((Placenta-derived MSCs): Είναι κατάλληλα για αλλογενή μεταμόσχευση καθώς χαρακτηρίζονται σε μεγάλο βαθμό από ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες και χαμηλή ανοσογονικότητα. Τα προεχόμενα από τον φθαρτό MSCs μπορούν να παράγουν κυτταρικές σειρές και από τις τρεις εμβρυϊκές στιβάδες και θεωρούνται ως μια δυνητική πηγή μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων για τη θεραπεία των διαταραχών του πυελικού εδάφους (Macias, et al, 2010).
- Μεσεγχυματικά κύτταρα των ούρων (Urinary-derived stem cells): Αποτελούν έναν υποπληθυσμό κυττάρων που απομονώνονται από τα ούρα του ανθρώπου και διαθέτουν ιδιότητες όπως κλωνογονικότητα, αυτοανανέωση και πολυδυναμία. Η συλλογή τους δεν απαιτεί επεμβατική διαδικασία καθώς εκμαιεύονται από τα δείγματα ούρων. Συνεπώς θεωρούνται ως μια δυνητική πηγή MSCs για μελλοντική χρήση στην ανακατασκευή των ουρογεννητικών δομών (Bharadwaj, et al, 2013).

Τα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα, ανάλογα με την πηγή από την οποία εξάγονται εμφανίζουν σημαντικές διαφορές στη διαθεσιμότητά τους, τα χαρακτηριστικά τους, το αναγεννητικό δυναμικό τους και την ευκολία συλλογής τους. Παρότι κάθε μια από τις παραπάνω κατηγορίες μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο στην κλινική πρακτική στο μέλλον για την αντιμετώπιση των διαταραχών του πυελικού εδάφους, προς το παρόν τα ADSCs είναι τα πιο εκτενώς ερευνημένα. Ωστόσο, οι μελέτες που έχουν γίνει είναι στην πλειονότητά τους σε προκλινικό επίπεδο ενώ οι λίγες σε αριθμό κλινικές δοκιμές που έχουν περάσει στις φάσεις II και III βρίσκονται ακόμη σε προκαταρκτικά στάδια. Είναι λοιπόν φανερό, πως απαιτείται περισσότερος χρόνος και επιπλέον κλινικές δοκιμές προτού τα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα καθιερωθούν στην καθημερινή κλινική πράξη για τη θεραπεία των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους.

## Ο Ρόλος των MSCs στη θεραπεία της PFD

### Μετανάστευση στην περιοχή της βλάβης

Τα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα είναι ικανά να μεταναστεύουν και να εγκαθίστανται σε μια περιοχή βλάβης κατόπιν έγχυσής τους στον οργανισμό. Το χαρακτηριστικό αυτό αποδίδεται διεθνώς με τον όρο ‘homing’. Αφού μεταμοσχευθούν στον οργανισμό ξενιστή, εισέρχονται στο αγγειακό σύστημα του ιστού και κατά μήκος του ενδοθηλίου μετακινούνται προς άλλους ιστούς. Η διαδικασία αυτή μπορεί να συμβαίνει είτε με το μηχανισμό προσκόλλησης που χρησιμοποιούν και τα λευκά αιμοσφαίρια είτε παθητικά, όντας παγιδευμένα στον αυλό των μικρών αιμοφόρων αγγείων να ακολουθούν τη ροή του αίματος (Karp, et al, 2009). Τα κύρια μόρια που χρησιμοποιούν για τη μετακίνηση μέσω των άνωθεν μηχανισμών είναι παράγοντες προσκόλλησης, όπως υποδοχείς χυμοκινών και ιντεγκρίνες (Wynn, et al, 2004).

Οι τρέχουσες θεραπείες των διαταραχών του πυελικού εδάφους με μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα, βασίζονται κυρίως στην περιουρηθρική χορήγηση των MSCs. Ωστόσο, ανεξάρτητα από την οδό χορήγησης, είναι αδύνατο να επιτευχθεί η ακριβής μεταφορά των MSCs στο ειδικό σημείο της βλάβης. Λαμβάνοντας ακόμα υπόψιν ότι οι βλάβες των ιστών του πυελικού εδάφους είναι συχνά εκτεταμένες, η ικανότητα ‘homing’ αποδεικνύεται ζωτικής σημασίας για την εφαρμογή των MSCs στην αντιμετώπιση της PFD.



Μέσα από προκλινικές δοκιμές σε μοντέλα επίμυων, έχει αποδειχθεί πως τα ενδοφλεβίως χορηγούμενα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα διαμοιράζονται στα πυελικά όργανα μετά από επαγωγή τεχνητού τραυματισμού κατά τον τοκετό, συνιστώντας πως η ενδοφλέβια χορήγηση MSCs μπορεί να αποτελέσει μια αποτελεσματική μορφή κυτταρικής θεραπείας (Cruz, et al, 2012).

Σε νεότερη μελέτη, μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα μεταμοσχεύτηκαν συστηματικά ή τοπικά σε επίμυες που είχαν υποστεί κολπικό τραυματισμό ώστε να εξεταστεί η εγκατάσταση, η επιβίωση, η διαφοροποίηση και η αγγειογενετική ικανότητα των MSCs. Το αποτέλεσμα, τόσο για τη συστηματική όσο και για την τοπική μεταμόσχευση ήταν η προαγωγή της αγγειογένεσης στον ξενιστή. Η εγκατάσταση μετά από την τοπική έγχυση ήταν λιγότερο αποτελεσματική συγκριτικά με την συστηματική μεταμόσχευση σε όλα τα χρονικά σημεία ελέγχου αποδεικνύοντας πως τα συστηματικώς χορηγούμενα MSCs είναι ικανά να προάγουν την επισκευή των ιστών μέσω μετανάστευσης στο σημείο της βλάβης (Menachem-Zidon, et al, 2019).

## Παρακρινείς επιδράσεις

Αρχικά, ο μηχανισμός που θεωρούταν ότι ευθύνεται για τις ιδιότητες των MSCs σχετικά με την ιστική επισκευή ήταν η ικανότητά τους για διαφοροποίηση και κυτταρική αντικατάσταση. Ωστόσο, ολοένα και μεγαλύτερος αριθμός μελετών αποδεικνύει πως τα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα εντοπίζονται *in vivo* μόνο για ένα σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη μεταμόσχευση. Αντιθέτως, οι επιδράσεις τους μπορούν να διαρκούν για περισσότερο. Επιπλέον, είναι σπάνια η ανίχνευση μεταμοσχευθέντων MSCs που να εγκαθίστανται σε έναν ιστό και να διαφοροποιούνται προς επιθυμητές κυτταρικές γραμμές. Το συμπέρασμα των παραπάνω παρατηρήσεων έγκειται στο γεγονός πως οι παρατηρούμενες θεραπευτικές δράσεις των μεσεγγυματικών βλαστικών κυττάρων που μεταμοσχεύονται στο πλαίσιο κυτταρικών θεραπειών βασίζεται πρωτίστως στις παρακρινείς επιδράσεις τους, οι οποίες επιτυγχάνονται μέσω παραγωγής εξωσωμάτων και έκκρισης τροφικών και ανοσορυθμιστικών παραγόντων κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών μετά την έγχυση (Gill, et al, 2018) . Όπως αναφέρεται λεπτομερώς στο αντίστοιχο κεφάλαιο, τα MSCs εκκρίνουν ένα μεγάλο εύρος πρωτεϊνών, πεπτιδίων, RNA, ορμονών και χημικών ουσιών μέσω εξωκυτταρικών κυστιδίων όπως τα εξωσώματα και τα μικροκυστίδια (Keshtkar, et al, 2018). Η παραγωγή τέτοιων ουσιών έχει αποδειχθεί μέσω μιας πληθώρας προκλινικών μελετών πως επιφέρουν αξιοσημείωτα θεραπευτικά αποτελέσματα. Για τον λόγο αυτό, η ακυτταρική θεραπεία η οποία αξιοποιεί τα

παρακρινή παράγωγα των MSCs για την προαγωγή της επισκευής των ιστών είναι αυξανόμενα ελκυστική στο πεδίο της αναγεννητικής ιατρικής και ακόμα περισσότερες μελέτες αναμένεται να πραγματοποιηθούν στη διάρκεια των επόμενων ετών (Phinney, et al, 2017).

Οι παρακρινείς επιδράσεις των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων συνοψίζονται σε τροφικές, δηλαδή προαγωγή της κυτταρικής επιβίωσης, και ανοσοτροποποιητικές.

### *Τροφικές ιδιότητες των MSCs*

Τα MSCs μπορούν να εκκρίνουν μια μεγάλη ποικιλία παραγόντων που υποστηρίζουν την κυτταρική επιβίωση, συμπεριλαμβανομένων αυξητικών παραγόντων, κυτοκινών και μορίων της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Συνολικά, οι εκκρινόμενες αυτές ουσίες έχουν την ικανότητα να παρέχουν επιβίωση σε κύτταρα που έχουν υποστεί βλάβη, να μειώνουν την καταστροφή των ιστών και να επιταχύνουν την ιστική ανακατασκευή. Οι λειτουργίες αυτές είναι ανταποκρίνονται πλήρως στον φυσιολογικό ρόλο των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων in vivo ως δικτυωτά κύτταρα που υποστηρίζουν των θώκο των αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων και ως αγγειακά περικύτταρα που υποστηρίζουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Spees, et al, 2016).

Συγκεκριμένα στη θεραπεία των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα μέσω των παρακρινών επιδράσεών τους διαδραματίζουν καίριο ρόλο στην αναγέννηση των ιστών μέσω της προαγωγής της επιβίωσης των μυϊκών κυττάρων (Dissaranan, et al, 2014), ενισχύοντας την αγγειογένεση και τροποποιώντας τον μεταβολισμό του κολλαγόνου (Liu, et al, 2018). Οι διαταραχές στον μεταβολισμό του κολλαγόνου είναι ένας από τους πλέον βασικούς παθογενετικούς μηχανισμούς της πρόπτωσης πυελικών οργάνων και τα MSCs μπορούν να επηρεάσουν θετικά την εξέλιξη της νόσου βελτιώνοντας μέσω παρακρινούς επίδρασης τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των ινοβλαστών.

Μια σύγχρονη προκλινική μελέτη (Hu, et al, 2016) ενισχύει την άποψη περί ευεργετικής επίδρασης των MSCs στον μεταβολισμό του κολλαγόνου. Ο Li Hu και οι συνεργάτες του διερεύνησαν την επίδραση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων που προέρχονται από τον λιπώδη ιστό ως προς δύο μείζονα προβλήματα της θεραπείας των τραυμάτων των μαλακών ιστών: τον παρατεταμένο χρόνο επούλωσης και τη δημιουργία ουλής. Ορμώμενος από την πληθώρα μελετών που υποστηρίζει τον σημαντικό ρόλο των ASCs στην αναγέννηση των ιστών και τη συμβολή των εξωσωμάτων που εκκρίνονται από τα βλαστικά κύτταρα και συμβάλλουν στην

παρακρινή σηματοδότηση, χορήγησε εξωσώματα προερχόμενα από ASCs σε μύες μελετώντας την επούλωση δερματικών πληγών. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα εξωσώματα είναι ικανά να διεγείρουν τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και να αυξάνουν τη σύνθεση του κολλαγόνου κατά τρόπο δόσοεξαρτώμενο, μέσω αύξησης της έκφρασης των γονιδίων της N-κανταχερίνης, της κυκλίνης-1, του PCNA και των κολλαγόνου I και III. Με πειράματα *in vivo* παρακολούθησης της διαδικασίας οι ερευνητές παρατήρησαν πως τα εξωσώματα των ASCs είναι ικανά να κατευθύνονται στην περιοχή της τομής του δέρματος του μυός και να αυξάνουν σε σημαντικό βαθμό την επούλωση της δερματικής πληγής. Η ιστολογική ανάλυση έδειξε αυξημένη παραγωγή κολλαγόνου I και III κατά τα αρχικά στάδια της επούλωσης, ενώ σε μεταγενέστερα στάδια παρατηρήθηκε πως τα η έγχυση εξωσωμάτων μπορεί να αναστέλλει την έκφραση του κολλαγόνου, μειώνοντας κατά αυτόν τον τρόπο τον σχηματισμό ουλών. Συμπερασματικά, τα εξωσώματα που προέρχονται από μεσεγχυματικά κύτταρα του λιπώδους ιστού φαίνεται πως είναι ικανά να διευκολύνουν την επούλωση δερματικών πληγών και ο μηχανισμός αποδίδεται στην βελτιστοποίηση των χαρακτηριστικών των ινοβλαστών.

Τέλος, χάρη στις παραπάνω ιδιότητες τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα αποτελούν μια δυναμική επιλογή καινοτόμου θεραπείας για τις ινωτικές νόσους. Μελέτες αποδεικνύουν πως μεσεγχυματικά κύτταρα του μυελού των οστών μπορούν να δράσουν μειώνοντας την επαγόμενη από τον παράγοντα TGF- $\beta$  διαφοροποίηση των μυϊκών ινοβλαστών και την εναπόθεση κολλαγόνου κατά τη διάρκεια ίνωσης των νεφρών, των πνευμόνων, του ήπατος, της καρδιάς, του δέρματος και του μυελού των οστών (El Agha, et al, 2017), (Huuskjes, et al, 2015).

#### *Ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες των MSCs*

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα ασκούν πλειοτροπικές επιδράσεις στο ανοσολογικό σύστημα. Όπως έχει αναφερθεί στο αντίστοιχο κεφάλαιο, είναι ανοσοτροποποιητικά και ανοσοκατασταλτικά, ενώ επίσης μπορούν να χαρακτηριστούν και ως ανοσοπρονομιούχα καθώς αποτελέσματα ερευνών έχουν δείξει πως αποτυγχάνουν να ενεργοποιήσουν την πολλαπλασιαστική αντίδραση των λεμφοκυττάρων κατόπιν αλλογενούς μεταμόσχευσης (Tse, et al 2003), (Le blanc, et al, 2003). Οι ικανότητες αυτές είναι συνυφασμένες με το περιβάλλον που βρίσκονται και επάγονται από τους παράγοντες φλεγμονής στους οποίους τα MSCs εκτίθενται. Χάρη σε αυτά τα χαρακτηριστικά τα MSCs έχουν χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία νόσων όπως η αντίδραση μοσχεύματος εναντίον του ξενιστή, στη σήψη και σε ορισμένες αυτοάνοσες ασθένειες.

Ειδικότερα, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα δρουν τόσο στο προσαρμοστικό όσο και στο ενδογενές ανοσοποιητικό σύστημα μειώνοντας την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των T και των B λεμφοκυττάρων, καταστέλλοντας την ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων, αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό και την κυτταροτοξικότητα των κυττάρων φυσικών φονέων, επάγοντας την πόλωση των των M2 μακροφάγων και αυξάνοντας τον αριθμό των ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων (Le blanc, et al, 2012),(Li, et al, 2017). Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στις άνωθεν διαδικασίες βασίζονται στις παρακρινείς επιδράσεις των MSCs, εκκρίνοντας προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως IL-6, IL-10, TGF-b, PGE2 (Miao, et al, 2016).

Εν προκειμένω, οι ανοσορυθμιστικές ιδιότητες των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην τροποποίηση της αντίδρασης ξένου σώματος (foreign body response, FBR) κατά τη θεραπεία της πρόπτωσης πυελικών οργάνων με συνδυασμό MSCs και βιοϋλικών. Η FBR είναι η αντίδραση τελευταίου σταδίου των διαδικασιών της φλεγμονώδους απάντησης και της επούλωσης της πληγής ακολουθώντας την εμφύτευση του ιατρικού βιοϋλικού και ουσιαστικά ορίζει την απόρριψη ή την ενσωμάτωση του εμφυτευόμενου βιοϋλικού (Anderson, et al, 2008).

Τα κατασκευασμένα από συνθετικό προπυλένιο πλέγματα, τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως στην επανορθωτική χειρουργική για την πρόπτωση πυελικών οργάνων, έχουν κατηγορηθεί για πυροδότηση έντονης αντίδρασης ξένου σώματος με αποτέλεσμα την έκθεση ή την διάβρωση του πλέγματος. Πλέον, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα έχουν αποδείξει πως είναι ικανά να καταστέλλουν την FBR και να αυξάνουν τη βιοσυμβατότητα των πλεγμάτων σε ζωικά μοντέλα, χάρη στην επίδρασή τους στα ανοσολογικά κύτταρα και ιδιαίτερα στα μακροφάγα (Ulrich, et al, 2014), (Mukherjee, et al, 2019). Συνεπώς, οι ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες των MSCs μπορούν να συμβάλλουν καθοριστικά στη μείωση των χειρουργικών επιπλοκών της πρόπτωσης των πυελικών οργάνων.



## Κεφάλαιο 6: Προκλινικές μελέτες της εφαρμογής των MSCs στις διαταραχές του πυελικού εδάφους

Τα τελευταία χρόνια τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα έχουν έντονα ερευνηθεί ως καινοτόμος θεραπεία για την αντιμετώπιση των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους. Υπάρχει μια μεγάλη πληθώρα μελετών που συμπεριλαμβάνουν ποικίλα ζωικά μοντέλα, κυτταρικές πηγές, τρόπους χορήγησης των MSCs και διαφορετικά συστήματα αξιολόγησης. Η μεταμόσχευση MSCs είναι η πλέον μελετημένη θεραπευτική στρατηγική στο εν λόγω πεδίο με κυριότερη εφαρμογή την θεραπεία της ακράτειας ούρων από προσπάθεια, για την οποία ασθένεια υπάρχει ένα μακρό ιστορικό εφαρμογής για ερευνητικούς σκοπούς. Ταυτόχρονα με την ολοένα και μεγαλύτερη εξέλιξη της αναγεννητικής ιατρικής, η μηχανική των ιστών βασισόμενη σε MSCs, τα προερχόμενα από MSCs εξωσώματα και τα υπόλοιπα προϊόντα έκκρισης των MSCs θα εγκαθίστανται ακόμη ισχυρότερα ως νέες επιλογές θεραπείας των PFDs.

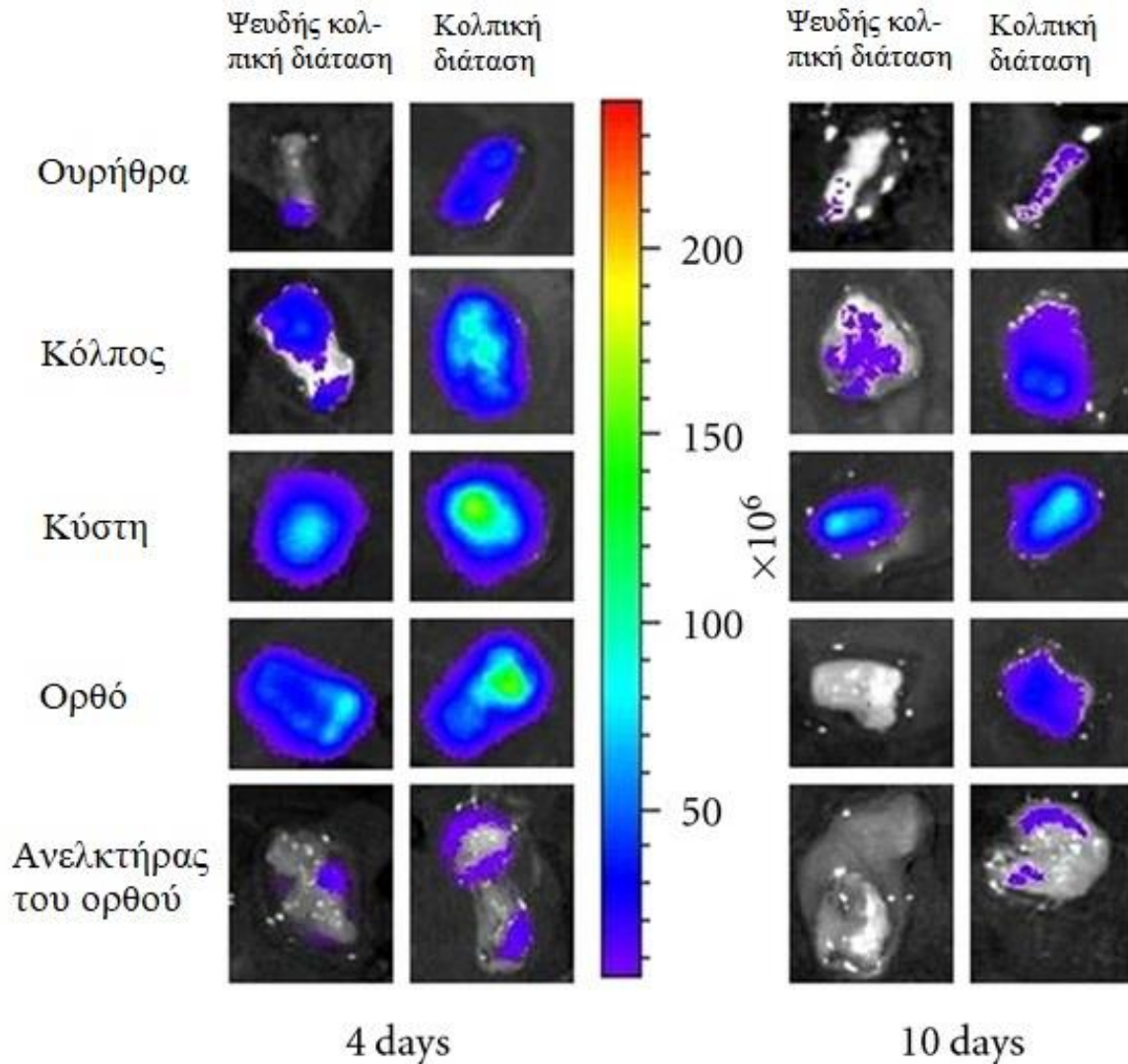
Ήδη την εποχή αυτή, είναι κοινώς αποδεκτό και αποδεδειγμένο μέσα από προκλινικές μελέτες ότι η μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων αποτελεί μια δυνητική θεραπευτική στρατηγική για την ακράτεια ούρων και κοπράνων (Sima, et al, 2020).

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, η πρώτη εφαρμογή μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων για τη θεραπεία της ακράτειας ούρων από προσπάθεια πραγματοποιήθηκε από τον Lin και τους συνεργάτες του το 2010 (Lin, et al, 2010). Στην έρευνα αυτή, 4 εβδομάδες μετά από τεχνητή πρόκληση ανωμαλίας στην κένωση ούρων και μεταμόσχευση ADSCs σε επίμυες αξιολογήθηκε μέσω κυστεομετρίας πως το 80% της ομάδας ελέγχου έπασχε από δυσλειτουργία κένωσης ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στην ομάδα που είχε χορηγηθεί θεραπεία ήταν μόλις 33%. Επιπλέον, στους επίμυες του δεύτερου γκρουπ στους οποίους επήλθε ίαση μετά τη θεραπεία παρατηρήθηκε σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα λείων μυϊκών ινών και ελαστίνης συγκριτικά με αυτούς που παρέμειναν με διαταραχή κένωσης, τόσο από την ομάδα ελέγχου όσο και από το 33% του δεύτερου γκρουπ στους οποίους δε λειτούργησε η θεραπεία. Τα ευρήματα αυτά συνιστούν πως τα μεταμοσχευόμενα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα του λιπώδους ιστού είναι ικανά να βελτιώσουν την ουρηθρική λειτουργία και η μετανάστευση των ADSCs προς την τραυματισμένη ουρήθρα αποτελεί έναν από τους παράγοντες χάρη στους οποίους μετριάζεται η δυσλειτουργία κένωσης. Είναι αξιοσημείωτο πως στην συγκεκριμένη έρευνα τα σημασμένα

MSCS παρέμειναν ανιχνεύσιμα στον συνδετικό ιστό μέχρι και 4 εβδομάδες μετά τη μεταμόσχευση.

Ωστόσο, μεταγενέστερες δοκιμές υποστηρίζουν ότι τα MSCs επιβίωσαν μόνο για ένα μικρό χρονικό διάστημα εντός του οργανισμού που μεταμοσχεύθηκαν, σε αντίθεση με τις αναγεννητικές επιδράσεις τους οι οποίες διήρκησαν για αρκετά μεγαλύτερο χρονικό διάστημα συνεχίζοντας να προσφέρουν όφελος στην επισκευή των ιστών. Συγκεντρωτικά, ένας μεγάλος αριθμός ερευνών αποδεικνύουν τις ευεργετικές επιδράσεις των MSCs στην ακράτεια ούρων και υποστηρίζουν τη μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων ως μια νέα θεραπεία που προσφέρει αποκατάσταση της λειτουργίας και των ανατομικών δομών του ουροποιητικού συστήματος. Παρόλα αυτά η χρονική διάρκεια που τα MSCs δύνανται να επιβιώσουν *in situ* μετά την έγχυση παραμένει ένα αμφιλεγόμενο ζήτημα καθώς διαφορετικές μελέτες αναφέρουν διαφορετικούς χρόνους επιβίωσης (Sima, et al, 2020).

Το 2012, ο Cruz και οι συνεργάτες του αξιολόγησαν το βαθμό διασποράς των ενδοφλεβίως χορηγούμενων MSCs στα πυελικά όργανα μετά από προσομοίωση τραυματισμού κατά τον τοκετό σε μοντέλα επίμυος. Θηλυκά πειραματόζωα υπέστησαν είτε κολπική διάταση είτε ψευδή κολπική διάταση, σχηματίζοντας έτσι την ομάδα ελέγχου. Στη συνέχεια, όλοι οι επίμυες έλαβαν δόση  $2 \times 10^6$  σημασμένων με πράσινη φθορίζουσα χρωστική MSCs, ενδοφλεβίως μία ώρα μετά τον τραυματισμό. Ακολούθως, με απεικόνιση φθορισμού σε 4 ή σε 10 ημέρες διαπιστώθηκε πως στα πυελικά όργανα μπορούσαν να απεικονιστούν τα θετικά στη χρωστική κύτταρα. Σημαντικά περισσότερα κύτταρα μετανάστευσαν προς την ουρήθρα, τον κόλπο το ορθό και τον ανελκτήρα μυ του πρωκτού 4 ημέρες μετά στους επίμυες που είχαν υποστεί τον τεχνητό τραυματισμό παρά στην ομάδα ελέγχου. Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα ήταν παρόντα και στις 10 ημέρες μετά τη χορήγηση ωστόσο η ένταση της χρωστικής είχε παρουσιάσει εμφανή μείωση. Η μελέτη αυτή παρέχει επιστημονική απόδειξη πως η ενδοφλέβια χορήγηση MSCs μπορεί να αποτελέσει μια αποτελεσματική επιλογή κυτταρικής θεραπείας που διευκολύνει την ιστική επισκευή μετά από τραυματισμό και συνεισφέρει στην αποκατάσταση της ακράτειας προσπαθείας (Cruz, et al, 2012) (Εικόνα 10).



Εικόνα 10. Παραδείγματα από *in vivo* φθορισσκοπικές εικόνες των σημασμένων μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων 4 και 10 ημέρες μετά την κολπική διάταση ή την ψευδή κολπική διάταση. Η χρωματιστή κλίμακα αντιπροσωπεύει τη συνολική ροή φθορισμού. (Cruz, et al, 2012).

Μια ακόμη μελέτη που αξιολόγησε τον δυνητικό ρόλο των ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων στη βελτίωση της ουρικής ακράτειας μετά από περιγεννητικό τραυματισμό διερεύνησε επίσης τη μοίρα των χορηγούμενων MSCs (Sadeghi, et al, 2016). Κατά την έρευνα αυτή hMSCs χορηγήθηκαν περιουρηθρικά ή συστηματικά σε επίμυες αμέσως μετά από τεχνητή κολπική διάταση. Η πίεση του σημείου διαρροής (leak-point pressure, LPP) μετρήθηκε μετά από 4, 10 και 14 ημέρες, επίσης πραγματοποιήθηκε μορφολογική αξιολόγηση της ουρήθρας. Επίσης, μελετήθηκε η μοίρα των περιουρηθρικά μεταμοσχευθέντων hMSCs, η βιοδιανομή τους και η *in*

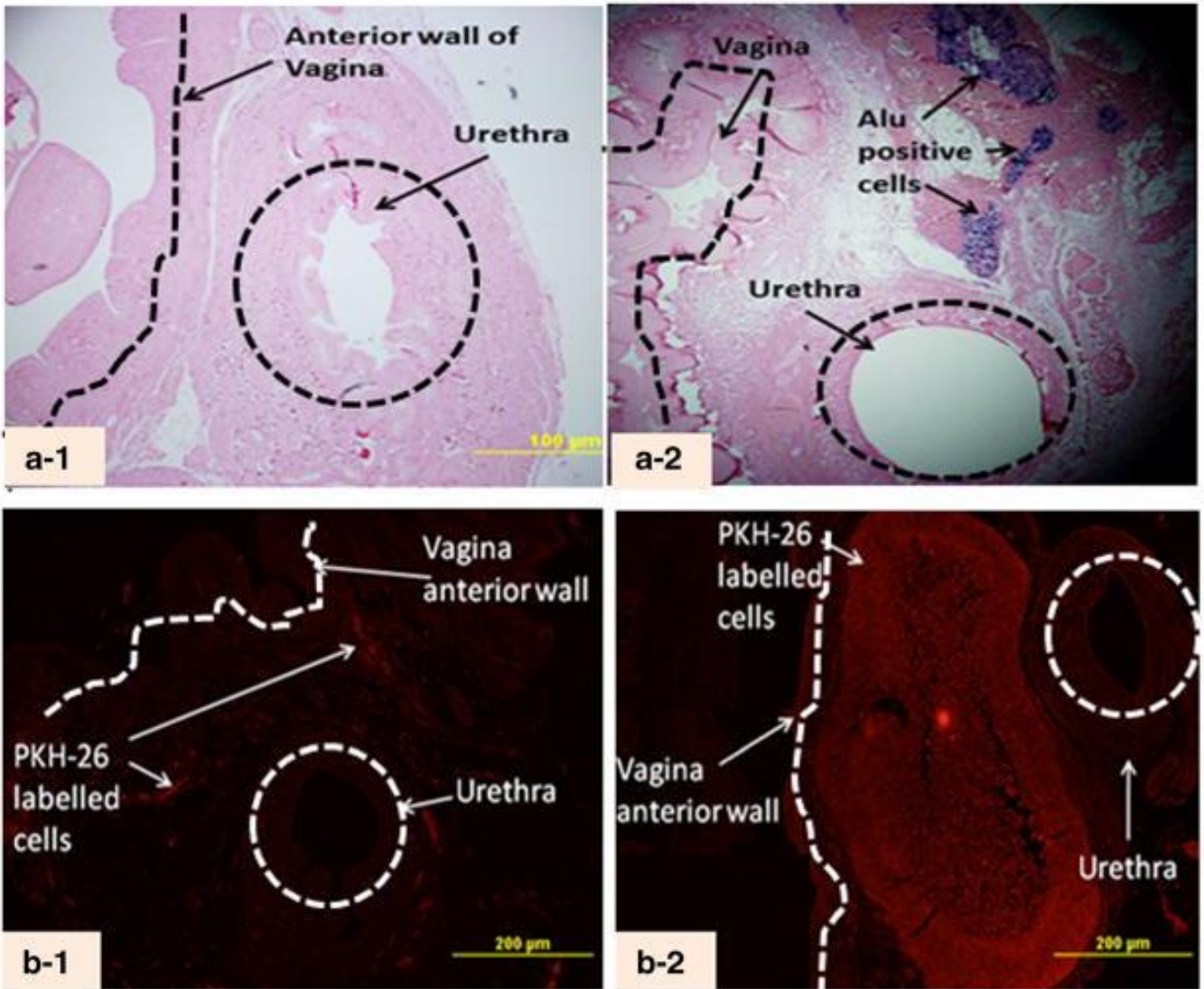


νίνο βιωσιμότητά τους χρησιμοποιώντας γονιδιωματικές αλληλουχίες Alu<sup>1</sup>, σήμανση με PKH26 ή σήμανση έκφρασης λουσιφεράσης σε διαφορετικά γκρουπ αντίστοιχα. Ως αποτέλεσμα, η ομάδα ελέγχου που υπέστη κολπική διάσταση και δεν θεραπεύτηκε με hMSCs χαρακτηριζόταν από μικρότερη LPP συγκριτικά με τους επίμυες που δεν υπέστησαν κολπική διάσταση. Αντίθετα, η LPP στην ομάδα που έλαβε συστηματικά τη δόση των hMSCs ήταν συγκρίσιμη με την ομάδα που δεν υπέστη κολπική διάσταση στις 4, 10 και 14 ημέρες. Η ομάδα που έλαβε το εικονικό φάρμακο μετά από τον τραυματισμό εμφάνισε επίσης εκτεταμένη αιμορραγία του ουρηθρικού ιστού. Το ποσοστό έκτασης συνδετικού ιστού προς την έκταση ουρηθρικής περιοχής και η αγγειακή πυκνότητα ήταν μεγαλύτερα κατά την τοπική χορήγηση hMSCs συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου στην οποία χορηγήθηκε η εικονική θεραπεία. Δεν ανιχνεύθηκαν πυρήνες θετικοί στις alu αλληλουχίες σε καμία ουρήθρα μετά από 4, 10 και 14 ημέρες, ενώ PKH26 σημασμένα κύτταρα ανευρέθηκαν σε όλες τις ουρήθρες 2 και 24 ώρες αργότερα. Η μελέτη φωταύγειας έδειξε αυξημένη έκφραση λουσιφεράσης από τη μέρα 0 προς τη μέρα 1 ακολούθως της χορήγησης των hMSCs (Εικόνα 11).

Συμπερασματικά, τα ανθρώπινα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα φάνηκε να αποκαθιστούν τον μηχανισμό εγκράτειας σε επίμυες με κολπική διάσταση, σε αντίθεση με την εικονική θεραπεία που δεν απέδωσε κανένα ευεργετικό αποτέλεσμα. Τα hMSCs παρέμειναν στο σημείο της περιουρηθρικής ένεσης για χρονικό διάστημα μικρότερο των 7 ημερών ωστόσο τα αποτελέσματα διήρκησαν περισσότερο. Φαίνεται λοιπόν πως η περιουρηθρική θεραπεία βελτίωσε την αγγειακή λειτουργία, τον συνδετικό ιστό και την αιμορραγική εικόνα της περιουρηθρικής περιοχής μετά από τον οξύ τραυματισμό του κόλπου.

---

<sup>1</sup> Οι επαναληπτικές μη κωδικοποιούμενες αλληλουχίες του DNA του ανθρώπου αποτελούνται κατά τα 2/3 από σύνθετες επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες που διανέμονται κατά μήκος του γονιδιώματος. Οι αλληλουχίες αυτές διαιρούνται σε βραχυπρόθεσμες και μακροπρόθεσμες αλληλουχίες που ονομάζονται SINES και LINES. Τα στοιχεία Alu ανήκουν στην κατηγορία SINEs (short interspersed elements), ανευρίσκονται σε περισσότερα από 1×10<sup>6</sup> αντίγραφα στο ανθρώπινο γονιδίωμα και είναι ειδικά για τα πρωτεύοντα θηλαστικά (Deininger, et al, 2011).



Εικόνα 11. Η μοίρα των περιουρηθρικά εγχυόμενων hMSCs. (Sadeghi, et al, 2016).

Πρόσφατα, η μελέτη του Menachem-Zidon και των συνεργατών του αξιολόγησε την επιβίωση, τη διαφοροποίηση και τις αγγειογενετικές επιδράσεις των μεταμοσχευόμενων MSCs σε μοντέλα επίμοι που έχει προκληθεί τραυματισμός μέσω κολπικής τομής (Menachem-Zidon, et al, 2019). Σημαντικά ενδιαφέροντα ήταν η παρατήρηση πως τα συστηματικά χορηγούμενα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα σημασμένα με πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη μετανάστευσαν στην περιοχή του κολπικού τραυματισμού και επιβίωσαν για τουλάχιστον 30 ημέρες. Επιπλέον, τα μεταμοσχευόμενα κύτταρα απέκτησαν έναν ενδοθηλιακό φαινότυπο *in vivo* και ήταν ανιχνεύσιμα μεταξύ των τριχοειδών δομών. Αποκλείοντας την ύπαρξη σύντηξης μεταξύ των μεταμοσχευμένων κυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων του ξενιστή, οι συγγραφείς συμπέραναν ότι τα

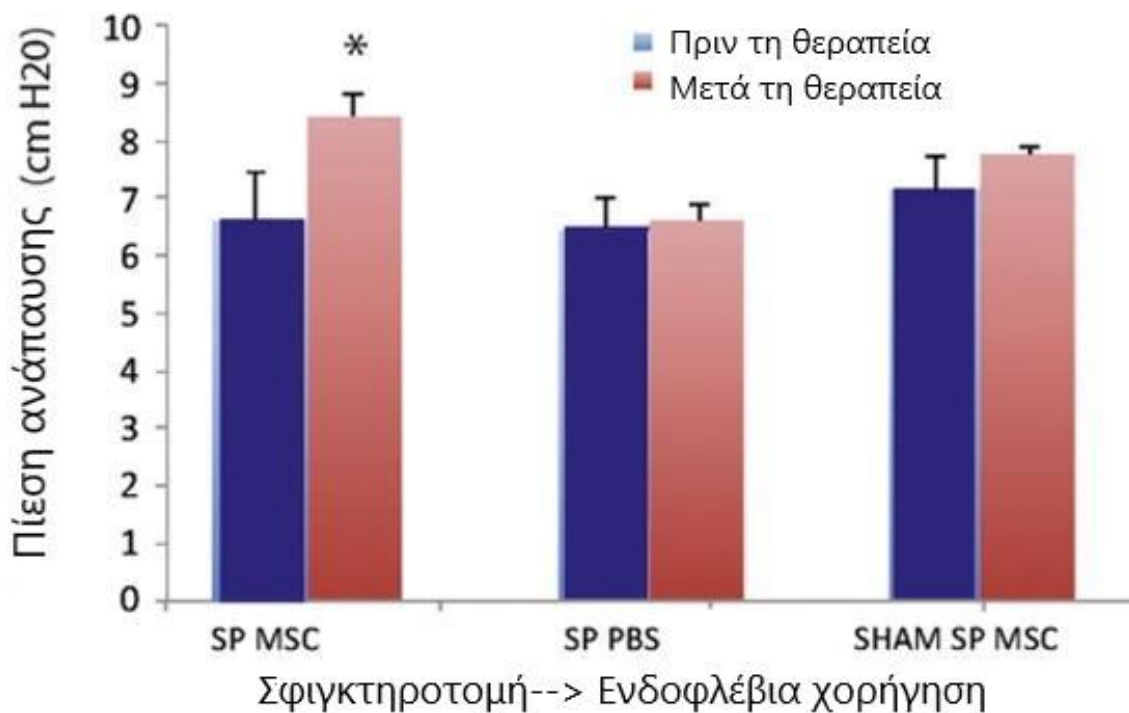
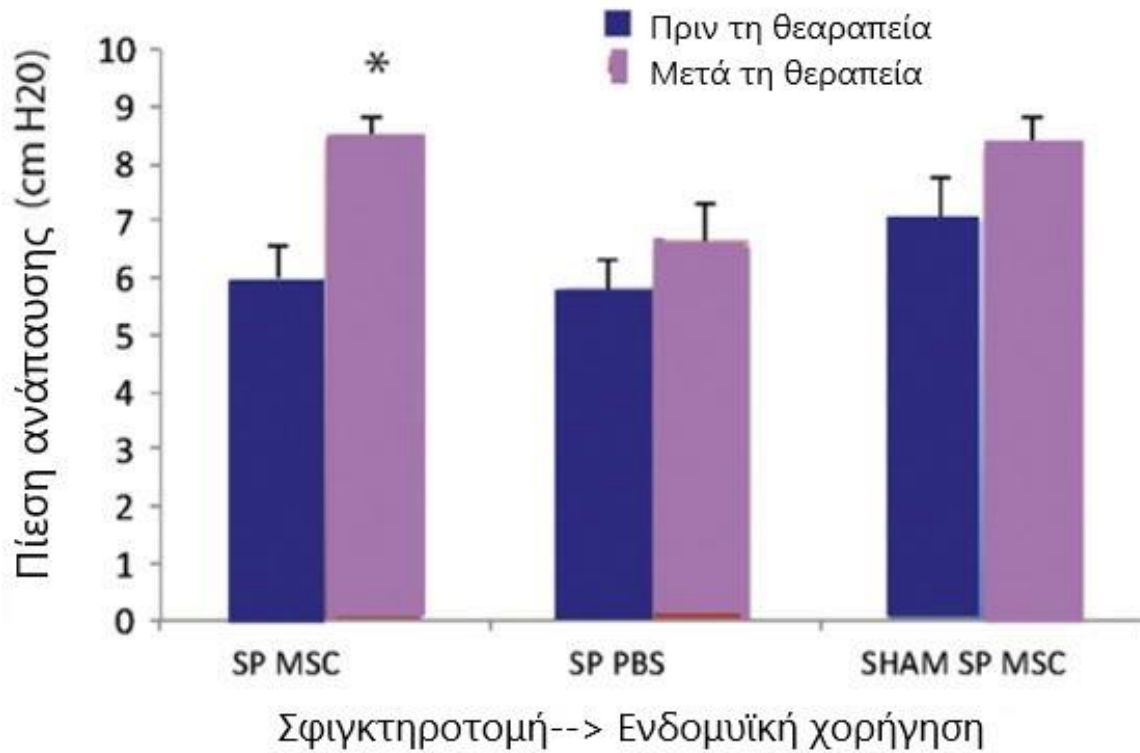
εξωγενώς χορηγούμενα MSCs διαφοροποιήθηκαν *in situ* σε ενδοθηλιακά κύτταρα. Ωστόσο, η μελέτη αυτή δεν εξηγεί για ποιον λόγο η μακρά επιβίωση και ο ενδοθηλιακός φαινότυπος παρατηρήθηκαν μόνο στους επίμυες που υπέστησαν συστηματική χορήγηση MSCs και όχι σε αυτούς που χορηγήθηκαν τοπικά. Αν τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα είναι ικανά να εγχέονται και να διαφοροποιούνται σε διαφορετικά ιστικά κύτταρα παραμένει αμφιλεγόμενο και απαιτείται η διεξαγωγή περισσότερων μελετών που θα διερευνήσουν τη μοίρα των μεταμοσχευόμενων MSCs *in vivo*.

Πέραν των ερευνών στο πεδίο της ακράτειας ούρων, η μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων έχει επίσης μελετηθεί για την ακράτεια κοπράνων. Μια σημαντική μελέτη πραγματοποιήθηκε το 2013 με σκοπό την αξιολόγηση της ανάκτησης της λειτουργίας του πρωκτικού σφιγκτήρα μετά από τραυματισμό με τη χρήση MSCs. 70 θηλυκοί επίμυες υπέστησαν σφιγκτηροτομή ώστε να μοντελοποιώντας την περινεοτομία ή καταστροφή του αιδοϊκού νεύρου μοντελοποιώντας τους νευρικούς τραυματισμούς κατά τον τοκετό, ενώ οι ομάδες ελέγχου υπέστησαν ψευδώς τις παραπάνω διαδικασίες. Οι πιέσεις στον σφιγκτήρα του πρωκτού και το ηλεκτρομυογράφημα καταγράφηκαν αμέσως μετά τον τραυματισμό και 10 ημέρες μετά τη λήψη της θεραπείας. 24 ώρες μετά τον τραυματισμό κάθε πειραματόζωο έλαβε είτε 0.2 ml αλατούχου διαλύματος είτε δόση  $2 \times 10^6$  MSCs σημασμένα με πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη με τη μορφή εναιωρήματος σε 0.2 ml αλατούχου διαλύματος. Η χορήγηση πραγματοποιήθηκε είτε ενδοφλεβίως (IV) στην ουραία φλέβα είτε ενδομυϊκά (IM) στον σφιγκτήρα του πρωκτού. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα χορηγούμενα ενδοφλεβίως MSCs οδήγησαν σε σημαντική αύξηση της πίεσης ανάπαυσης του πρωκτικού σφιγκτήρα και της μέγιστης πίεσης, ενώ επίσης παρατηρήθηκε αύξηση του εύρους και της συχνότητας στο ηλεκτρομυογράφημα του πρωκτικού σφιγκτήρα 10 ημέρες μετά τον τραυματισμό. Τα MSCs που χορηγήθηκαν ενδομυϊκά μετά από σφιγκτηροτομή απέφεραν σημαντική αύξηση στην πίεση ανάπαυσης του πρωκτικού σφιγκτήρα και στη συχνότητα του ηλεκτρομυογραφήματος αλλά όχι στο εύρος. Δεν υπήρξε καμία βελτίωση στην πίεση ή στην εικόνα του ηλεκτρομυογραφήματος στους επίμυες που έλαβαν MSCs αφού πρώτα είχαν υποστεί κάκωση του αιδοϊκού νεύρου. Τα σημασμένα με πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη δεν ανευρέθηκαν πλησίον του έξω πρωκτικού σφιγκτήρα στα πειραματόζωα που θεραπεύτηκαν με μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα μετά από σφιγκτηροτομή. Συμπερασματικά, η παραπάνω μελέτη αποδεικνύει πως η θεραπεία με MSCs μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική βελτίωση των πρωκτικών πιέσεων κατόπιν σφιγκτηροτομής αλλά όχι μετά από κάκωση του

αιδοϊκού νεύρου, προτείνοντας πως τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ώστε να διευκολύνουν την αποκατάσταση μετά από τραυματισμό του πρωκτικού σφιγκτήρα (Salcedo, et al, 2013) (Εικόνα 12).

Έπειτα, οι ερευνητές μελέτησαν περαιτέρω τις αναγεννητικές ιδιότητες των MSCs στους τραυματισμένους πρωκτικούς σφιγκτήρες συγκρίνοντας τις πιέσεις μετά από ενδομυϊκή ή ενδοφλέβια χορήγηση MSCs. Η πίεση στον πρωκτικό σφιγκτήρα αυξήθηκε και με τις δύο οδούς χορήγησης και η αύξηση διήρκησε για 5 εβδομάδες. Επίσης, και στις δύο θεραπευόμενες ομάδες παρατηρήθηκε λιγότερη ίνωση και περισσότερη εναπόθεση κολλαγόνου, με το γκρουπ που έλαβε την ενδοφλέβια δόση να παρουσιάζει τα καλύτερα αποτελέσματα σχετικά με τη δημιουργία ουλής (Salcedo, et al, 2014). Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν και σε ακόμα πιο σύγχρονη μελέτη του 2018 που ακολούθησε παρόμοιες μεθόδους και ζωικά μοντέλα και παρουσίασε αύξηση της πίεσης του σφιγκτήρα του πρωκτού μετά από μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων. Στην ίδια έρευνα ανακαλύφθηκε ένας κατάλληλος μεταφορέας για τα MSCs, η υδρογέλη πολυακρυλαμιδίου Bulcamid, καθώς η ουσία αυτή ενσωματώνεται αποτελεσματικά στον ιστό και μόνο μια μικρή αντίδραση ξένου σώματος παρατηρήθηκε στην ομάδα που έλαβε την γέλη σε συνδυασμό με MSCs (Kuismanen, et al, 2018).

Μία ακόμη πρόσφατη ενδιαφέρουσα μελέτη ερεύνησε τον συνδυασμό του laser και των ανθρώπινων βλαστικών κυττάρων του λιπώδους ιστού στην επισκευή του πρωκτικού σφιγκτήρα κατόπιν τραυματισμού. Με δεδομένο πως τόσο το laser όσο και τα hADSCs διαθέτουν αναγεννητικές ικανότητες, οι ερευνητές δοκίμασαν την συνδυαστική θεραπεία σε κουνέλια τα οποία αρχικά υπέστησαν σφιγκτηροτομή. Τα πειραματόζωα χωρίστηκαν σε ισόποσες ομάδες ελέγχου, θεραπευόμενων μόνο με laser, θεραπευόμενων μόνο με hADSCs και αυτά που έλαβαν και τις δύο θεραπείες. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε έπειτα από 90 ημέρες μέσω μανομετρίας,



Εικόνα 12. Οι πιέσεις του πρωκτικού σφιγκτήρα στα πειραματόζωα 10 ημέρες μετά την σφιγκτηροτομή (SP) ή την ψευδή σφιγκτηροτομή (Sham SP). Η πίεση ανάπαυσης στα πειραματόζωα που θεραπεύτηκαν με ενδομυϊκή ή ενδοφλέβια έγχυση μεσεγχυματικών κυττάρων αποδεικνύει μια σημαντική διαφορά συγκριτικά με την ομάδα που θεραπεύτηκε με εικονικό φάρμακο αλατούχου διαλύματος. (Salcedo, et al, 2016)

ηλεκτρομυογραφίας, εκτίμησης της ποσότητας κολλαγόνου στον σφιγκτήρα και μέτρηση του  $\alpha$ -actin, της βαριάς αλυσίδας της μυοσίνης (myosin heavy chain, MHC), της  $\alpha$ -ακτίνης των σκελετικών μυών (skeletal muscle  $\alpha$ -actin, ACTA1), του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA) και των επιπέδων της βιμεντίνης. Ως αποτέλεσμα, η ομάδα που έλαβε τη συνδυαστική θεραπεία εμφάνισε υψηλότερη πίεση ανάπαυσης από όλα τα υπόλοιπα γκρουπ. Η μέγιστη πίεση κατά την προσπάθεια βελτιώθηκε σε όλες τις ομάδες συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, δίχως στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Η συνδυαστική θεραπεία, επέφερε επίσης τα καλύτερα αποτελέσματα αναφορικά με την αύξηση της ACTA1, της MHC, του VEGFA και του  $\alpha$ -actin. Από την παραπάνω μελέτη εξάγεται το συμπέρασμα ότι ο συνδυασμός laser και χορήγησης hADSCs φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικός από τη θεραπεία με την κάθε μέθοδο χωριστά, προάγοντας την μυογένεση, την αγγειογένεση και τη λειτουργική αποκατάσταση μετά από πρωκτική σφιγκτηροτομή (Sarveazad, et al, 2019)

Εκτός από την αποτελεσματικότητα, η ασφάλεια της θεραπείας βασισμένης σε μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα είναι εξίσου σημαντική. Παρά τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα των μεταμοσχευμένων MSCs σε μοντέλα επίμυων δεν υπάρχει ακόμη στη βιβλιογραφία επάρκεια αποδείξεων για την μακροπρόθεσμη ασφάλεια. Σε μελέτη που δοκίμασε το δοσοεξαρτώμενο προφίλ ασφάλειας της θεραπείας με πρόδρομα κύτταρα σκελετικού μυός σε ζωικό μοντέλο κυνός με αφαίρεση του πρωκτικού σφιγκτήρα δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες σχετικά με τα ιστολογικά χαρακτηριστικά οι αριθμοί των κυττάρων του αίματος δε διαταράχθηκαν και οι δείκτες λειτουργίας του ήπατος και των νεφρών δεν παρουσίασαν μεταβολές 9 μήνες μετά την έγχυση  $25-100 \times 10^6$  κυττάρων ανά ml. Το εν λόγω χρονικό διάστημα αναλογεί πιθανόν σε 2-3 έτη follow up σε ανθρώπους (Williams, et al, 2015).

### Θεραπεία των PFDs μέσω της μηχανικής των ιστών βασισμένης σε MSCs

Θεραπείες βασισμένες στην μηχανική των ιστών που συνδυάζουν μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα με νέα υλικά ή πλέγματα έχουν αξιολογηθεί σε αρκετές μελέτες για την αντιμετώπιση των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους και ιδιαίτερα στην πρόπτωση των πυελικών οργάνων. Η νόσος αυτή έγκειται στην δημιουργία κήλης από τα πυελικά όργανα, που προβάλλουν στον

κόλπο. Έτσι, η εμφύτευση πλεγμάτων μπορεί να αντισταθμίσει την ανεπάρκεια ή την έλλειψη αυτόλογων ιστών, να μειώσει τη νοσηρότητα και να βελτιώσει την μακροπρόθεσμη αποτελεσματικότητα. Συχνά, τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα και τα πλέγματα δρουν συνεργατικά και αλληλεπιδρούν αυξάνοντας την τελική αποτελεσματικότητα ως συνδυασμός. Τα πλέγματα παρέχουν μηχανική και δομική υποστήριξη στους πυελικούς ιστούς ενώ επίσης λειτουργούν ως ικρίωμα στο οποίο τα MSCs μπορούν να προσκολληθούν. Ταυτόχρονα, τα MSCs παρουσιάζοντας ανοσοτροποποιητικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες συμβάλλουν στην καταστολή της εκτενούς αντίδρασης ξένου σώματος που συχνά συμβαίνει μετά την τοποθέτηση ενός πλέγματος. Συνεπώς, η μηχανική των ιστών αποτελεί μια νέα προοπτική στο πεδίο της επισκευής του πυελικού εδάφους όταν η ενίσχυση των μαλακών ιστών καθίσταται αναγκαία (Sima, et al, 2020).

Τα τελευταία χρόνια, παρατηρείται διαρκώς αυξανόμενο ενδιαφέρον στην εφαρμογή μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων που προέρχονται από το ενδομήτριο στην επισκευή του πυελικού εδάφους με τη μέθοδο της ιστικής μηχανικής (Edwards, et al, 2015). Τα eMSCs έχουν παρουσιάσει εξαιρετικές ρυθμιστικές ιδιότητες στην αναδιαμόρφωση του εξωκυττάρου στρώματος και στις αντιδράσεις φλεγμονής, ωστόσο οι μηχανισμοί δεν έχουν διαλευκανθεί πλήρως.

Ο Darzi και οι συνεργάτες του διεξήγαγαν το 2018 μία μελέτη προκειμένου να κατανοήσουν τον ανοσορυθμιστικό μηχανισμό με τον οποίο τα eMSCs επιδρούν στα μακροφάγα (Darzi, et al, 2018). Οι ερευνητές εμφύτευσαν μικτά πλέγματα πολυαμίδης/ζελατίνης, εμπλουτισμένα με σημασμένα eMSCs σε υποδόρια κοιλιακά τραύματα μοντέλων μυών. Τα πειραματόζωα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν είτε ανοσοεπαρκή είτε ανοσοκατασταλμένα. Χρησιμοποιήθηκε διπλή χρώση ανοσοφθορισμού προκειμένου να ποσοτικοποιηθούν τα M1 και M2 μακροφάγα. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα μεταμοσχευμένα κύτταρα ανιχνεύθηκαν γύρω από το πλέγμα των ανοσοκατασταλμένων μυών αλλά όχι στα ανοσοϊκανά πειραματόζωα στις 3 και 7 ημέρες μετά την έγχυση. Και στις δύο ομάδες η αναλογία M2/M1 ήταν υψηλότερη και η έκφραση των M2 μακροφάγων ήταν μεγαλύτερη στις ομάδες που έλαβαν συνδυαστική θεραπεία με eMSCs/πλέγμα συγκριτικά με την ομάδα που έλαβε μόνο το πλέγμα χωρίς την ταυτόχρονη χορήγηση των κυττάρων. Επίσης, η φλεγμονώδης κυτοκίνη IL-1 $\beta$  και ο παράγοντας TNF- $\alpha$  ήταν μειωμένα στην ομάδα που έλαβε τη διπλή θεραπεία συγκριτικά με την ομάδα στην οποία εμφυτεύθηκε μόνο το πλέγμα. Οι ανοσορυθμιστικές δράσεις που παρουσιάστηκαν ήταν καθυστερημένες και



ασθενέστερες στους ανοσοκατασταλαμένους μύες σε σύγκριση με τους ανοσοεπαρκείς. Είναι προφανές πως τα eMSCs επέδρασαν στο ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή μέσω παρακρινών μηχανισμών καθώς παρότι ταχέως μετά την εμφύτευση κατέστησαν μη ανιχνεύσιμα η αντιφλεγμονώδης δράση τους διήρκησε ως και 30 ημέρες.

## Θεραπεία των PFDs με προϊόντα έκκρισης των MSCs

Το εύρος των ρυθμιστικών και τροφικών παραγόντων που εκκρίνονται από τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα, περιλαμβάνοντας τα εξωσώματα, τις κυτοκίνες και τις χυμοκίνες, ορίζεται ευρέως ως ‘‘έκκρίτωμα των MSCs’’. Μετά τη διαπίστωση της εκκριτικής λειτουργίας των MSCs η οποία είναι ακόμα ισχυρότερη της ικανότητάς τους για διαφοροποίηση, πολλές μελέτες αξιοποίησαν το εκκρίτωμα των MSCs για την αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών όπως η ακράτεια ούρων από προσπάθεια, η νεφρική νόσος, η δυσλειτουργία κύστης η στυτική δυσλειτουργία (Sun, et al, 2019), η ισχαιμική καρδιακή νόσος (Ranganath, et al, 2012), ακόμα και για την πανδημία που πλήττει την εποχή μας εξαιτίας του ιού Covid-19 (Deffune, et al, 2020). Η νέα αυτή μορφή θεραπείας βασιζόμενη σε MSCs, γνωστή ως ακυτταρική θεραπεία δύναται να παρέχει θεραπευτικά πλεονεκτήματα δίχως την ανάγκη μεταμόσχευσης ζώντων κυττάρων τυποποιώντας τη διαδικασία και μειώνοντας τους κινδύνους. Χάρη σε αυτά τα πλεονεκτήματα, τα τελευταία χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες οι οποίες ερευνούν τα τις θεραπευτικές επιδράσεις του εκκριτώματος των MSCs στις δυσλειτουργίες του πυελικού εδάφους.

Ο Liu και οι συνεργάτες του, το 2018, αξιολόγησαν τις επιδράσεις των εξωσωμάτων προερχόμενων από ανθρώπινα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα στο μεταβολισμό του κολλαγόνου σε καλλιεργούμενους ινοβλάστες από μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που έπασχαν ή όχι από ακράτεια ούρων από προσπάθεια. Τα εξωσώματα παρασκευάστηκαν από τα MSCs με υπερφυγοκέντρηση και επιβεβαιώθηκαν με ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης και την τεχνική της ανοσοαποτύπωσης κατά Western (Western blot analysis). Μετά από 6 ώρες καλλιέργειας, η έκφραση του κολλαγόνου τύπου I και των ιστικών αναστολέων μεταλλοπρωτεϊνολυσών ( tissue metalloproteinase inhibitor, TMP) 1 και 2, ενώ η έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνολυσών MMP-1 και MMP-2 μειώθηκε στους κολλικούς ινοβλάστες που θεραπεύτηκαν με εξωσώματα. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα εξωσώματα αύξησαν την περιεκτικότητα σε κολλαγόνο I



αυξάνοντας τη σύνθεση του κολλαγόνου και μειώνοντας την αποδόμησή του στους κολπικούς ινοβλάστες γυναικών που έπασχαν από ακράτεια ούρων από προσπάθεια (Liu, et al, 2018).

Παρόμοια έρευνα μελέτησε τη θεραπευτική δυναμική των προερχόμενων από ανθρώπινα ADSCs εξωσωμάτων στην ακράτεια ούρων από προσπάθεια, τόσο in vivo όσο και in vitro (Ni, et al, 2018). Η απομόνωση των εξωσωμάτων πραγματοποιήθηκε με διαδικασία παρόμοια της προαναφερθείσας μελέτης και στα μοντέλα επίμυος που χρησιμοποιήθηκαν εγκαταστάθηκε ακράτεια ούρων από προσπάθεια μέσω διατομής του αιδοϊκού νεύρου και κολπική διαστολή. Κατόπιν χορηγήθηκαν ADSCs και εξωσώματα των ADSCs. Τα αποτελέσματα in vitro έδειξαν πως τα εξωσώματα είναι ικανά να ενισχύουν την ανάπτυξη των μυϊκών κυττάρων και των κυττάρων γραμμών Schwann κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Στα in vivo πειράματα φάνηκε πως η ομάδα επίμυων που έλαβαν τα εξωσώματα είχε μεγαλύτερη χωρητικότητα κύστης και αυξημένο σημείο πίεσης διαρροής από την ομάδα ελέγχου. Επίσης, διέθετε μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε ραβδωτές μυϊκές ίνες και περιφερικές νευρικές ίνες στην ουρήθρα. Για την εξήγηση της ευεργετικής δράσης των εξωσωμάτων στην ακράτεια ούρων από προσπάθεια, οι ερευνητές διεξήγαγαν πρωτεομική ανάλυση και διαπίστωσαν πως τα προερχόμενα από ADSCs εξωσώματα περιέχουν μια μεγάλη ποικιλία πρωτεϊνών σχετιζόμενων με την αναγέννηση των σκελετικών μυών και των νευρικών ινών. Ωστόσο, οι ακριβείς μηχανισμοί που υποστηρίζουν το φαινόμενο παραμένουν άγνωστοι.

Σε παρόμοια μελέτη που επίσης διερεύνησε τις θεραπευτικές επιδράσεις των εξωσωμάτων σε ζωικά μοντέλα επίμυων με SUI, βρέθηκε πως τα θετικά αποτελέσματα στην αναγέννηση των σκελετικών μυών συσχετίζονται με τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνικών κινασών ρυθμιζόμενων από εξωκυτταρικά σήματα (extracellular-regulated protein kinases, ERK) στα δορυφόρα κύτταρα. Στην έρευνα αυτή χρησιμοποιήθηκαν βλαστικά κύτταρα προερχόμενα από ούρα και διερευνήθηκε η συνεισφορά τους στην ουρική ακράτεια μέσω ανακατασκευής του τραυματισμένου ηβοκοκκυγικού μυός. Η ιστολογική ανάλυση αποκάλυψε πως η ίνωση και η μορφολογία ήταν παρόμοια με τον φυσιολογικό ηβοκοκκυγικό μυ μετά από 8 εβδομάδες από την έγχυση των εξωσωμάτων. Επιπλέον, μετά την χορήγηση των εξωσωμάτων, η ενεργοποίηση, ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων αυξήθηκαν και η φωσφορυλίωση των ERK ενισχύθηκε. Αντίθετα, σε αναστολή των ERK οι ευεργετικές επιδράσεις της θεραπείας εξαφανίστηκαν. Τα αποτελέσματα της μελέτης εκπέμπουν τους λειτουργικούς ρόλους των εξωσωμάτων στην φωσφορυλίωση των ERK στα δορυφόρα κύτταρα και προάγουν

έναν νέο θεραπευτικό παράγοντα για την αναγέννηση των σκελετικών μυών παρέχοντας τη βάση για εκτενέστερη έρευνα στην ακυτταρική αντιμετώπιση της ακράτειας ούρων από προσπάθεια (Wu, et al, 2019).

Συνοψίζοντας, η θεραπεία των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους με MSCs έχει δοκιμαστεί σε μοντέλα μικρών ζώων επιδεικνύοντας σημαντική βελτίωση των συμπτωμάτων. Στις μελέτες αυτές χρησιμοποιήθηκαν κυρίως επίμυες, στους οποίους προκλήθηκε κατά βάση τραυματισμός του σφιγκτήρα, κολπική διάσταση, καταστροφή του αιδοϊκού νεύρου ή κολπική εντομή. Τέτοια μικρά ζωικά μοντέλα δεν είναι πλήρως ικανοποιητικά καθώς μιμούνται μονάχα σε μερικό βαθμό τους μηχανισμούς ή τα συμπτώματα της ασθένειας. Δεν υπάρχει ένα ιδανικό ζωικό μοντέλο για τη μελέτη των PFDs προς το παρόν, για αυτό η χρήση πειραματόζωων θα πρέπει να διευρυνθεί περαιτέρω στο μέλλον. Οι μέθοδοι μεταμόσχευσης που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η περιουρηθρική έγχυση, η οποία έλαβε χώρα σε όλες τις προκλινικές δοκιμές και η ενδοφλέβια έγχυση, η οποία χρησιμοποιήθηκε σε ορισμένες μελέτες για να αξιολογηθεί η μεταναστευτική ικανότητα των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων και να συγκριθούν αυτές οι δύο μέθοδοι μεταξύ τους.

Επιπροσθέτως, είναι σημαντικό να επισημανθεί το γεγονός ότι ορισμένες από τις προκλινικές μελέτες ανέφεραν συγκρουόμενα αποτελέσματα αναφορικά με τον χρόνο επιβίωσης και το *in vivo* δυναμικό διαφοροποίησης των MSCs. Οι ασυμφωνίες στα αποτελέσματα των ερευνών μπορεί να εξηγούνται από τις μικρές διαφορές στις κυτταρικές πηγές, στις συνθήκες καλλιέργειας και στις χορηγούμενες δόσεις, οι οποίες επηρεάζουν τις λειτουργίες των μεταμοσχευθέντων κυττάρων, άρα και την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Επομένως, θα είναι σημαντικό επίτευγμα για την επιστήμη του μέλλοντος η δημιουργία ενός τυποποιημένου πρωτοκόλλου σχετικά με τη βασιζόμενη σε μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα θεραπεία των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους (Sima, et al, 2020).

## Κεφάλαιο 7: Είναι εφικτή η χρήση ανθρώπινων MSCs σε κλινικές εφαρμογές των PFDs;

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα αποτελούν την πλέον καλά μελετημένη πηγή κυττάρων για την κυτταρική θεραπεία των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους. Αυτό οφείλεται στην ύπαρξη πλούσιων πηγών, την εύκολη απομόνωσή τους και τις πλειοτροπικές τους επιδράσεις. Όπως αναγνωρίζεται στις προκλινικές έρευνες που παρατίθενται στο προηγούμενο κεφάλαιο, τα MSCs, οι εκκρίσεις που παράγουν και τα πλέγματα εμπλουτισμένα με MSCs διαθέτουν μια ισχυρή ικανότητα ιστικής αναγέννησης και ανοσολογικής τροποποίησης.

Επιπλέον, ορισμένες κλινικές δοκιμές -οι οποίες αναλύονται παρακάτω- υποστηρίζουν τα προκλινικά ευρήματα δείχνοντας πως τα MSCs δρουν εκκρίνοντας μια μεγάλη ποικιλία βιοενεργών μορίων βελτιώνοντας κατά αυτόν τον τρόπο τις λειτουργίες των κυττάρων-στόχων και ρυθμίζοντας την ανοσολογική απάντηση.

Σημαντικός επιπρόσθετος παράγοντας που επιτρέπει τη χρήση ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων σε κλινικές δοκιμές είναι το ασφαλές προφίλ που τα χαρακτηρίζει, καθώς σε καμία από τις μελέτες της βιβλιογραφίας οι οποίες αναλύονται στο επόμενο κεφάλαιο δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές ανεπιθύμητες παρενέργειες.

Τα ευρήματα αυτά είναι σίγουρα ενθαρρυντικά και υπέρ της χρήσης hMSCs στην αντιμετώπιση των PFDs. Ωστόσο, μέχρι την απρόσκοπτη εφαρμογή της θεραπείας αυτής απαιτείται η εκπλήρωση σημαντικών προϋποθέσεων. Αρχικά, απαιτείται επιπλέον έρευνα με σκοπό την βέλτιστη κατανόηση της φύσης των μεσεγχυματικών κυττάρων καθώς διαφορετικές πηγές εκφράζουν συχνά διαφορετικούς βιοδείκτες και διαθέτουν ξεχωριστές ιδιότητες. Δεύτερον, με δεδομένο ότι οι σύγχρονες έρευνες χρησιμοποιούν ετερογενείς διαδικασίες απομόνωσης, καλλιέργειας και μεταμόσχευσης των κυττάρων, η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της θεραπείας σε ανθρώπους δεν είναι ακόμη στον μέγιστο δυνατό βαθμό. Κρίνεται απαραίτητη η δημιουργία ενός τυποποιημένου πρωτοκόλλου το οποίο θα συνεισφέρει στην διενέργεια πιο αξιόπιστων κλινικών δοκιμών. Έτσι, μελλοντικές τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές με μεγάλο αριθμό συμμετεχόντων θα μπορούσαν να εκτιμήσουν ασφαλέστερα τη χρήση ανθρώπινων MSCs στη θεραπεία των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους (Sima, et al, 2020).

## Κεφάλαιο 8: Κλινικές μελέτες της εφαρμογής των MSCs στις διαταραχές του πυελικού εδάφους

Όπως διαπιστώνεται από το προηγούμενο κεφάλαιο, η θεραπευτική αξία των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων στην αντιμετώπιση των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους διαφαίνεται από μια μεγάλη πληθώρα προκλινικών μελετών. Σε συνδυασμό με το καλό προφίλ ασφαλείας που τα χαρακτηρίζει, ήταν επόμενο η έρευνα να επεκταθεί και σε κλινικό επίπεδο. Στις μέρες μας, μόνο λίγες κλινικές δοκιμές έχουν πραγματοποιηθεί, οι οποίες αφορούν την ακράτεια ούρων από προσπάθεια (stress urinary incontinence, SUI) και την ακράτεια κοπράνων (fecal incontinence, FI). Οι περισσότερες εξ αυτών βρίσκονται στις φάσεις II/III και περιλαμβάνουν μικρό αριθμό συμμετεχόντων.

Στη διερεύνηση της θεραπείας για την SUI έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως αυτόλογα MSCs προερχόμενα από μυϊκά κύτταρα (autologous muscle derived cells, AMDCs) και έχουν αποδειχθεί καλώς ανεκτά και σε ορισμένες περιπτώσεις αρκετά αποτελεσματικά. Τα AMDCs που έχουν χρησιμοποιηθεί σε αυτές τις κλινικές δοκιμές δεν είναι ένας απλός πληθυσμός κυττάρων αλλά ένα μείγμα ινοβλαστών και μυογονικών κυττάρων που ταυτοποιούνται μέσω έκφρασης ειδικών δεικτών των σκελετικών μυϊκών κυττάρων (Sima, et al, 2020).

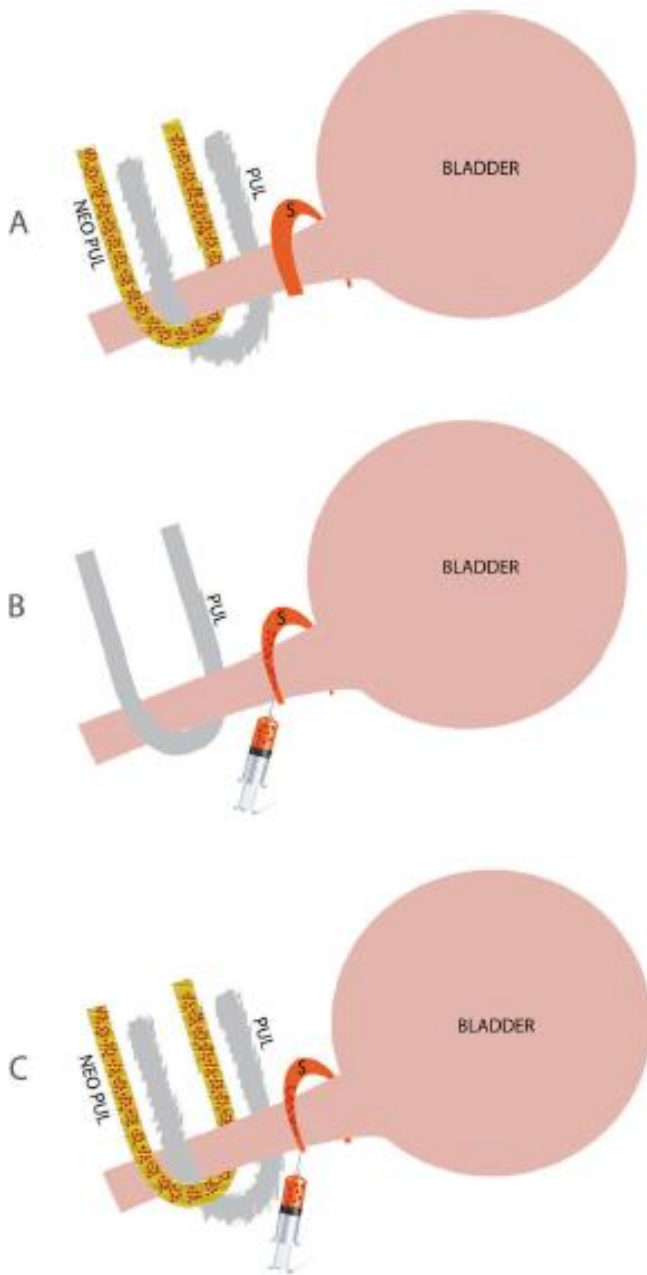
Η πρώτη μελέτη με ενθαρρυντικά αποτελέσματα περιλάμβανε 12 γυναίκες που είχαν παρουσιάσει σοβαρή ακράτεια ούρων προσπαθείας και είχαν πρότινος υποβληθεί σε χειρουργική αντιμετώπιση, δίχως επιτυχία. Στις ασθενείς πραγματοποιήθηκαν ενδοσφιγκτηριακές ενέσεις αυτόλογων προγονικών μυϊκών κυττάρων που απομονώθηκαν από βιοψία του δελτοειδούς μυός. Αρχικά, αξιολογήθηκε η ασφάλεια της θεραπείας μετά από 3 μήνες και αργότερα η αποτελεσματικότητα και οι πιθανές παρενέργειες, 12 μήνες μετά την έγχυση. Όσον αφορά την ασφάλεια, καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε ανάμεσα στις γυναίκες που έλαβαν τη θεραπεία συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Σχετικά με την αποτελεσματικότητα, 3 από τις 12 γυναίκες ήταν στεγνές μετά από 12 μήνες, ενώ 7 άλλες παρουσίασαν βελτίωση στη δοκιμασία πάνας (pad test) αλλά όχι πλήρη ίαση. 2 από τις γυναίκες είχαν ελαφρώς χειρότερη εικόνα εξαιτίας της θεραπείας. Συνολικά η ποιότητα ζωής βελτιώθηκε σε μισές από τις συμμετέχουσες. Συμπερασματικά, η κυτταρική θεραπεία για τις σοβαρές περιπτώσεις ακράτειας προσπαθείας φαίνεται να αποτελεί μια ελάχιστα επεμβατική, εφικτή και ασφαλή διαδικασία που δύναται να

βελτιώσει την κατάσταση του ουροποιητικού συστήματος ως μια θεραπεία δεύτερης γραμμής, συνεπικουρώντας την χειρουργική θεραπεία (Sèbe, et al, 2011).

Ακόμα πιο ενθαρρυντικά ήταν τα αποτελέσματα μελέτης με follow up 2 ετών, στην οποία χρησιμοποιήθηκαν παρόμοιες μέθοδοι για την αξιολόγηση της ασφάλειας και της λειτουργικότητας των AMDCs στη θεραπεία γυναικών με ακράτεια ούρων προσπαθείας. Τα κύτταρα χορηγήθηκαν διουρηθρικά σε δόση  $0.6-25 \times 10^6$  στον ουρηθρικό ραβδωτό σφιγκτήρα των γυναικών κάτω από τοπική αναισθησία, στις θέσεις της 9<sup>ης</sup>, της 12<sup>ης</sup> και της 3<sup>ης</sup> ώρας υπό ενδοσκοπική καθοδήγηση. Τα αρχικά αποτελέσματα της θεραπείας της SUI με AMDCs επέδειξαν ασφάλεια και εφαρμοστικότητα. Το διετές follow up της θεραπείας αποκάλυψε βαθμό επιτυχίας 75%, με το 50% των ασθενών να επιτυγχάνουν πλήρη βελτίωση των συμπτωμάτων και 25% μερική, σύμφωνα με τη δοκιμασία του βήχα (stress test) και ειδικά ερωτηματολόγια (Stangel-Wojcikiewicz, et al, 2014). Η αξιολόγηση της θεραπείας συνεχίστηκε και στα 4 έτη μετά τη χορήγηση με νέα αξιολόγηση των συμπτωμάτων μέσω ερωτηματολογίων αποδεικνύοντας αναβάθμιση σε σημαντικό βαθμό της ποιότητας ζωής και της ψυχολογικής κατάστασης των γυναικών. Μέρος των ασθενών που παρουσίασε βελτίωση είχαν λάβει μικρή δόση, αποδεικνύοντας πως η χορήγηση μικρού αριθμού κυττάρων δεν αποκλείει υποχρεωτικά την επίτευξη των επιθυμητών αποτελεσμάτων και κάνοντας τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μεθόδου ακόμα πιο ενθαρρυντικά (Stangel-Wojcikiewicz, et al, 2016) (Εικόνα 13).

Παρότι ακόμα και μικρές δόσεις μεταμοσχευόμενων AMDCs μπορούν να επιτύχουν ευεργετικά αποτελέσματα, ο καθορισμός της βέλτιστης δόσης είναι σημαντικός. Έτσι, ο Carr και οι συνεργάτες του χορήγησαν ενδοσφιγκτηριακά δόσεις από  $1 \times 10^6$  ως  $128 \times 10^6$  κυττάρων σε 38 γυναίκες πάσχουσες από ακράτεια προσπαθείας που δεν είχε βελτιωθεί με συντηρητική θεραπεία για 12 ή περισσότερους μήνες. Τα κύτταρα λήφθηκαν με βιοψίες του τετρακέφαλου μηριαίου μυός και η δόση επαναλήφθηκε έπειτα από 3 μήνες. Η αξιολόγηση έγινε στους 1, 3, 6 και 12 μήνες μέσω δοκιμασίας πάνας, καταγραφής του αριθμού των επεισοδίων ακράτειας και ερωτηματολόγια για την ποιότητα ζωής. Οι επιπλοκές φάνηκαν περιορισμένες σε ελάσσονος σημασίας γεγονότα όπως πόνος ή δημιουργία μώλωπα στα σημεία της βιοψίας ή/και της έγχυσης. Οι ασθενείς που έλαβαν υψηλότερες δόσεις θεραπείας παρουσίασαν αυξημένο όφελος στη δοκιμασία της πάνας, και μεγαλύτερη μείωση στα αναφερόμενα επεισόδια ακράτειας. Από την παραπάνω μελέτη προκύπτει πως η έγχυση αυτόλογων μυοβλαστικών κυττάρων φαίνεται ασφαλής σε ένα μεγάλο εύρος δόσης, χωρίς να επιφέρει σημαντικές παρενέργειες. Επιπροσθέτως, υπόσχεται ανακούφιση

των συμπτωμάτων της SUI και βελτίωση της ποιότητας ζωής και η συνεισφορά αυξάνεται όσο αυξάνεται η χορηγηθείσα δόση (Carr, et al, 2013). Τα αποτελέσματα αυτά ενισχύονται από αντίστοιχη, ακόμα μεγαλύτερη μελέτη που περιλαμβάνει 80 ασθενείς η οποία συμπεραίνει εξίσου την ασφάλεια αλλά και την δοσοεξαρτώμενη αποτελεσματικότητα της θεραπείας (Peters, et al, 2014).



Εικόνα 13. Στοχευμένη θεραπεία για την ακράτεια ούρων από προσπάθεια: Εμφύτευση κατασκευασμένου με μηχανική των ιστών ηβουρηθρικού συνδέσμου (NEO-PUL) (A), εμφύτευση κυττάρων στον ουρηθρικό σφιγκτήρα (S) (B) ή εφαρμογή και των δύο μεθόδων (C). (Stangel-Wojcikiewicz, et al, 2014).

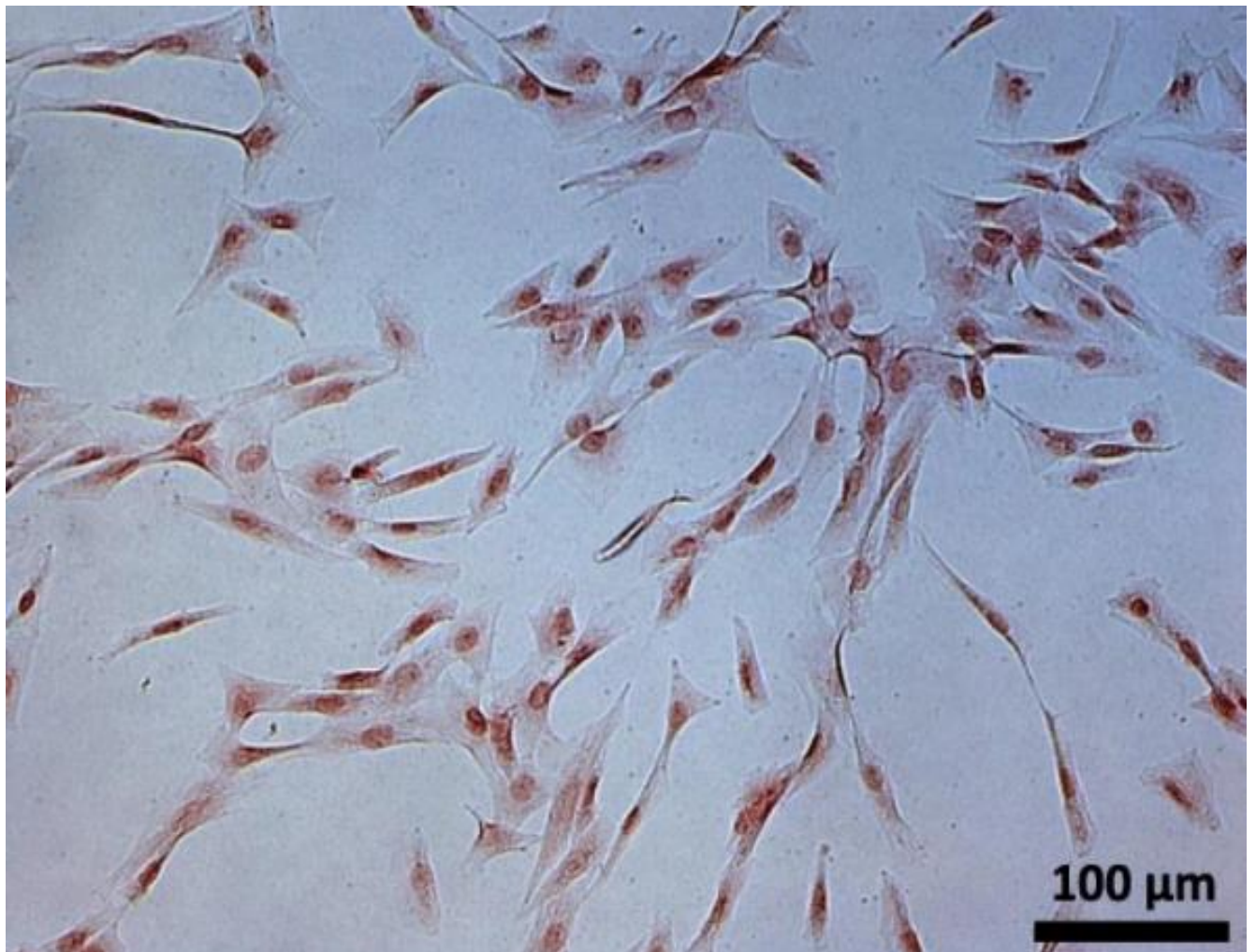
Η μεγαλύτερη κλινική δοκιμή για τη διερεύνηση της κυτταρικής θεραπείας στην αντιμετώπιση της SUI έλαβε χώρα το 2018. Είναι μια τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη κλινική δοκιμή με σκοπό να εκτιμήσει την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των αυτόλογων προερχόμενων από μυς κυττάρων για την επισκευή των σφιγκτήρων του ουροποιητικού συστήματος σε γυναίκες με ακράτεια ούρων από προσπάθεια. Η μελέτη αξιολόγησε τη συχνότητα των επεισοδίων ακράτειας, τη δοκιμασία πάνας στο σπίτι και εκτός και την ποιότητα ζωής. Έπειτα από 12 μήνες, τα αποτελέσματα μεταξύ της ομάδας που έλαβε τη θεραπεία και της ομάδας ελέγχου ήταν παρόμοια συνιστώντας μια υψηλή επίδραση placebo. Χρησιμοποιώντας αυστηρότερα κριτήρια, το ποσοστό βελτίωσης των ασθενών που έλαβαν την εικονική θεραπεία μειώθηκε συγκριτικά με τις γυναίκες στις οποίες χορηγήθηκε κυτταρική θεραπεία όσον αφορά τη συχνότητα επεισοδίων ακράτειας, ωστόσο η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Αντίθετα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αύξηση της ποιότητας ζωής, αποτέλεσμα που παρέχει ελπίδες για ακόμα μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σε μελλοντικές κλινικές δοκιμές (Jankowski, et al, 2018).

Εκτός από τα κύτταρα που προέρχονται από τους μύες, τα προερχόμενα από τον λιπώδη ιστό μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί σε κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία της ουρικής ακράτειας προσπαθείας. Ο Kuismannen και οι συνεργάτες του χορήγησαν σε 5 ασθενείς με διαγνωσμένη SUI, ASCs σε συνδυασμό με γέλη βοδινού κολλαγόνου. Τα κύτταρα απομονώθηκαν από το υποδόριο λίπος, καλλιεργήθηκαν για 3 εβδομάδες και στη συνέχεια το μείγμα χορηγήθηκε διουρηθρικά με τη βοήθεια κυστεοσκόπησης. Η αξιολόγηση έγινε σε 3, 6 και 12 μήνες μετά την έγχυση. Έπειτα από ένα έτος 3 ασθενείς παρουσίασαν αρνητική δοκιμασία βήχα και οι 2 εξ αυτών ήταν ικανοποιημένοι με τη θεραπεία χωρίς να επιζητούν περαιτέρω αντιμετώπιση για την ακράτεια. (Kuismannen, et al 2014). Παρομοίως, ακόμα μια πρόσφατη μελέτη που ακολούθησε αντίστοιχες μεθόδους παρουσίασε σημαντική βελτίωση της νόσου, χωρίς αναφορά σημαντικών ανεπιθύμητων ενεργειών, ενισχύοντας έτσι ακόμα περισσότερο το προφίλ ασφαλείας και την δυνητική αποτελεσματικότητα των ASCs στην αντιμετώπιση της SUI (Arjmand, et al, 2017).

Επιπρόσθετα της ουρικής ακράτειας, η θεραπεία με μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα έχει διερευνηθεί και για την αντιμετώπιση της ακράτειας κοπράνων, επιδεικνύοντας εξίσου πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα. Η ομάδα του Frudinger αρχικά μελέτησε σε μια πρόιμη πιλοτική δοκιμή που περιλαμβάνει 10 γυναίκες μια νέα προσέγγιση θεραπείας της FI που οφείλεται σε



μειωτικό τραυματισμό, περιλαμβάνοντας την καθοδηγούμενη από υπέρηχο έγχυση αυτόλογων κυττάρων που προέρχονται από σκελετικούς μυς στον έξω πρωκτικό σφιγκτήρα και παρατήρησαν σημαντική βελτίωση (Frundiger, et al, 2010). Αργότερα, η έρευνα επεκτάθηκε σε ένα μεγαλύτερο γκρουπ ασθενών: άνδρες και γυναίκες που πάσχουν από ακράτεια κοπράνων εξαιτίας καταστροφής ή ατροφίας του έξω σφιγκτήρα του πρωκτού. Τα εγχεόμενα AMDCs βρέθηκε πως μειώνουν την εβδομαδιαία συχνότητα επεισοδίων ακράτειας κατά 50% σε περίπου 80% ανδρών και γυναικών, επιτυγχάνοντας έναν μεγάλο βαθμό ικανοποίησης των ασθενών. Ωστόσο, πρέπει να υπογραμμιστεί πως οι ερευνητές δεν παρατήρησαν φυσιολογικές μεταβολές μέσω ορθοπρωκτικής μανομετρίας ή υπερηχογραφίας (Frundiger, et al, 2018) (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Ανοσοϊστοχημική χρώση της πρωτεΐνης Myf5 στα προερχόμενα από σκελετικούς μυς κύτταρα που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη της ακράτειας κοπράνων. (Frundiger, et al, 2018).



Οι ανωτέρω κλινικές δοκιμές, παρότι δεν επιβεβαίωσαν πλήρως την αποτελεσματικότητα που είχε επιδείξει η μεταμόσχευση των MSCs κατά τις προκλινικές δοκιμές, ενισχύουν την κυτταρική θεραπεία ως μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική επιλογή για την ακράτεια ούρων και κοπράνων καθώς αποδεικνύεται ασφαλής και μπορεί να βελτιώνει τη λειτουργία του ουρηθρικού ή του πρωκτικού σφιγκτήρα. Φυσικά, απαιτούνται ακόμα περισσότερες μελέτες που θα περιλαμβάνουν μεγαλύτερο αριθμό ασθενών προκειμένου να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα για την χρήση της βασιζόμενης σε μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα θεραπείας κατά των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους.

## Υλικά και μέθοδοι

Στόχο της παρούσης εργασίας αποτελεί η ανάδειξη της χρησιμότητας των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων στη θεραπεία των διαταραχών του πυελικού εδάφους. Για την εκπλήρωση του σκοπού αυτού χρησιμοποιήθηκαν έγκυρα επιστημονικά άρθρα που αναζητήθηκαν μέσω των μηχανών αναζήτησης pubmed, medline και του αρχείου κλινικών δοκιμών clinicaltrials.gov. Οι αναζητήσεις που πραγματοποιήθηκαν είχαν ως κριτήριο τη δημοσίευσή τους εντός των τελευταίων 5 ετών και περιείχαν τους όρους:

- Pelvic floor dysfunction (485 αποτελέσματα)
- Pelvic floor muscles AND anatomy (144 αποτελέσματα)
- Pelvic floor muscles AND function (418 αποτελέσματα)
- Pelvic floor dysfunction AND symptoms (328 αποτελέσματα)
- Pelvic floor dysfunction AND epidemiology (66 αποτελέσματα)
- Pelvic floor dysfunction AND pathophysiology (230 αποτελέσματα)
- Pelvic floor dysfunction AND diagnosis (245 αποτελέσματα)
- Pelvic floor dysfunction AND therapy (246 αποτελέσματα)
- Stem cells (81.006 αποτελέσματα)
- Stem cells AND classification (956 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells (20.020 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND definition (173 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND bone marrow (5.900 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND adipose tissue (2.169 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND dental pulp (382 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND perinatal tissues (59 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND amniotic fluid (95 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND placenta (321 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND peripheral circulation (80 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND endometrium (137 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND skin (683 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND muscles (1.252 αποτελέσματα)

- Mesenchymal stem cells AND features (1.201 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND migration (2.408 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND tissue repair (2.684 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND immunomodulation (1.298 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND cell death (1.800 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND pelvic floor dysfunction (8 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND pelvic floor dysfunction AND tissue engineering (3 αποτελέσματα)
- Mesenchymal stem cells AND pelvic floor dysfunction AND mesenchymal stem cells secretome (8 αποτελέσματα)
- Human mesenchymal stem cells AND pelvic floor dysfunction (7 αποτελέσματα)

Τα άρθρα που χρησιμοποιήθηκαν επιλέχθηκαν με κριτήριο την ηλικία δημοσίευσης. Κάθε κεφάλαιο βασίστηκε ως επί το πλείστον σε μελέτες της τελευταίας πενταετίας ενώ χρησιμοποιήθηκαν συμπληρωματικά παλιότερες έρευνες για την επίτευξη της ολοκληρωμένης και λεπτομερούς περιγραφής κάθε ζητήματος, στις περιπτώσεις που αυτό ήταν απαραίτητο.

## Περίληψη

Ο όρος “δυσλειτουργία του πυελικού εδάφους” αναφέρεται στο σύνολο των διαταραχών που σχετίζονται με το πυελικό μυϊκό σύστημα. Η επίπτωση των νόσων αυτών στις γυναίκες παρουσιάζει αυξητική τάση στη σύγχρονη εποχή, επιδρώντας αρνητικά στην ποιότητα ζωής τους. Η τρέχουσα αντιμετώπιση έγκειται σε μη επεμβατικές τεχνικές, οι οποίες συχνά αδυνατούν να δώσουν οριστική λύση στο πρόβλημα και σε επεμβατικές τεχνικές, οι οποίες δε στερούνται επιπλοκών. Είναι, λοιπόν, σαφές πως η ανάπτυξη καινοτόμων θεραπειών βασιζόμενων στα βλαστικά κύτταρα δύναται να αποτελέσει ακρογωνιαίο λίθο στην αντιμετώπιση της πάθησης. Τα βλαστικά κύτταρα είναι αδιαφοροποίητα κύτταρα που χαρακτηρίζονται από τις ιδιότητες της αυτοανανέωσης και της πολυδυναμίας και μπορεί να προέρχονται είτε από το έμβρυο και τους εμβρυϊκούς ιστούς είτε από τους ιστούς των ενηλίκων. Ανάλογα με το δυναμικό διαφοροποίησής τους ταξινομούνται σε ολοδύναμα, πλειοδύναμα, πολυδύναμα, ολιγοδύναμα και μονοδύναμα. Η καλύτερα μελετημένη κατηγορία βλαστικών κυττάρων για τις εφαρμογές της αναγεννητικής ιατρικής είναι τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα, τα οποία είναι αποτελεσματικά στη θεραπεία πολλών νόσων λόγω των ιδιοτήτων της μετανάστευσης, της επισκευής των ιστών, της ανοσοτροποποίησης και του ελέγχου του κυτταρικού θανάτου. Συγκεκριμένα, στην παρούσα εργασία τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα αποτελούν τον πληθυσμό που μελετάται για την αντιμετώπιση των δυσλειτουργιών του πυελικού εδάφους, επιδρώντας άμεσα κατόπιν μετανάστευσης στην περιοχή της βλάβης ή ασκώντας παρακρινώς τροφικές και ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες. Μέχρι σήμερα έχει διεξαχθεί μια πληθώρα προκλινικών μελετών για τη θεραπεία της νόσου μέσω της μηχανικής των ιστών ή μέσω των προϊόντων έκκρισης και τα αποτελέσματα αποδεικνύουν την ισχυρή ικανότητα ιστικής αναγέννησης και ανοσολογικής τροποποίησης που διαθέτουν τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα. Φυσικά, τα μικρά ζωικά μοντέλα που χρησιμοποιούνται στις προκλινικές δοκιμές μιμούνται μονάχα σε μερικό βαθμό τα συμπτώματα της ασθένειας, για αυτό οι κλινικές δοκιμές είναι απαραίτητες για εγκυρότερα συμπεράσματα. Η χρήση ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων σε δοκιμές είναι εφικτή χάρη στο ασφαλές προφίλ που τα χαρακτηρίζει, τις πολλές πηγές που ανευρίσκονται και την εύκολη απομόνωσή τους. Παρότι λίγες σε αριθμό, οι υπάρχουσες κλινικές μελέτες ενισχύουν την αποτελεσματικότητα της κυτταρικής θεραπείας με χρήση μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων για τις διαταραχές του πυελικού εδάφους και ανοίγουν τον δρόμο για τη διεξαγωγή

ακόμα περισσότερων μελετών στο μέλλον. Η οριστική θεραπεία της νόσου βασιζόμενη στην αναγεννητική ιατρική θα αποτελέσει σημαντικό επίτευγμα της επιστήμης καθώς θα βελτιώσει την ποιότητα ζωής μεγάλου αριθμού ασθενών αποφεύγοντας τις επιπλοκές που συνοδεύουν κάθε χειρουργική επέμβαση.

## Abstract

The term ‘pelvic floor dysfunction’ refers to all the disorders which are associated with the pelvic floor muscle system. The incidence of these diseases in women is constantly increasing during the last years and is leading to decreased quality of life. The current treatments can be categorized to non-invasive techniques -which often fail to provide a definitive solution- and invasive techniques -which may lead to postoperative complications. It is therefore clear that the development of innovative stem-cell based therapies can be a cornerstone in the treatment of the disease. Stem cells are undifferentiated cells characterized by two unique characteristics: self-renewal capacity and pluripotency and can be derived either from the embryo and fetal tissues or from the adult tissues. Depending on their potential for differentiation, they are classified into totipotent, pluripotent, multipotent, oligopotent and unipotent. The most investigated population of stem cells used for applications in regenerative medicine are mesenchymal stem cells, which are effective in treating many diseases thanks to their properties of migration, tissue repair, immunomodulation and cell death control. Specifically, in the present study, mesenchymal stem cells are the population studied for the treatment of pelvic floor dysfunction since they can act directly to the area of the lesion through migration or indirectly thanks to the paracrine signaling which leads to nutritional and immunomodulatory effects. Up to date, a massive number of preclinical studies have been performed to investigate the treatment of pelvic floor dysfunction through tissue engineering or secretion products and the results demonstrate the strong ability of tissue regeneration and immune modifications possessed by mesenchymal stem cells. Of course, the small animal models used in preclinical trials only partially mimic the symptoms of the disease, which is why clinical trials are necessary for more valid conclusions. The use of human mesenchymal stem cells in clinical testing is possible thanks to their safe profile, the many sources that can be found and the ease of isolation. Although few, existing clinical trials are enhancing the effectiveness of cell therapy using mesenchymal stem cells for pelvic floor disorders and paving the way for even more studies in the future. The definitive treatment of the disease based on regenerative medicine will be an important achievement of science as it will improve the quality of life of a large number of patients, avoiding the after-surgery discomforts and complications.



## Βιβλιογραφία

- ❖ Abou-Khalil R, Yang F, Lieu S, Julien A, Perry J, Pereira C, Relaix F, Mclau T, Marcucio R, Colnot C. Role of muscle stem cells during skeletal regeneration. *Stem Cells*. 2015 May;33(5):1501-11.
- ❖ Abumaree, M.H.; Al Jumah, M.A.; Kalionis, B.; Jawdat, D.; Al Khaldi, A.; Abomaray, F.M.; Fatani, A.S.; Chamley, L.W.; Knawy, B.A. Human Placental Mesenchymal Stem Cells (pMSCs) Play a Role as Immune Suppressive Cells by Shifting Macrophage Differentiation from Inflammatory M1 to Anti-inflammatory M2 Macrophages. *Stem Cell Rev. Rep.* 2013, 9, 620–641..
- ❖ Alison MR, Choong C, Lim S. Application of liver stem cells for cell therapy. *Semin Cell Dev Biol.* 2007 Dec;18(6):819-26.
- ❖ Al-Nbaheen M, Vishnubalaji R, Ali D, Bouslimi A, Al-Jassir F, Megges M, Prigione A, Adjaye J, Kassem M, Aldahmash A. Human stromal (mesenchymal) stem cells from bone marrow, adipose tissue and skin exhibit differences in molecular phenotype and differentiation potential. *Stem Cell Rev Rep.* 2013 Feb;9(1):32-43.
- ❖ Alves da Silva ML, Costa-Pinto AR, Martins A, Correlo VM, Sol P, Bhattacharya M, Faria S, Reis RL, Neves NM. Conditioned medium as a strategy for human stem cells chondrogenic differentiation. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015 Jun;9(6):714-23.
- ❖ Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Semin Immunol.* 2008;20(2):86–100.
- ❖ Aoki Y, Brown HW, Brubaker L, Cornu JN, Daly JO, Cartwright R. Urinary incontinence in women. *Nat Rev Dis Primers.* 2017 Nov 16;3:17097.
- ❖ Arjmand B, Safavi M, Heidari R, Aghayan H, T Bazargani S, Dehghani S, Goodarzi P, Mohammadi-Jahani F, Heidari F, Payab M, Pourmand G. Concomitant Transurethral and Transvaginal-Periurethral Injection of Autologous Adipose Derived Stem Cells for Treatment of Female Stress Urinary Incontinence: A Phase One Clinical Trial. *Acta Med Iran.* 2017 Jun;55(6):368-374.
- ❖ As-Sanie S, Clevenger LA, Geisser ME, Williams DA, Roth RS. History of abuse and its relationship to pain experience and depression in women with chronic pelvic pain. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;210(4):317.e1-317.e8.



- ❖ Barrio, L.; Cuevas, V.D.; Menta, R.; Mancheño-Corvo, P.; delaRosa, O.; Dalemans, W.; Lombardo, E.; Carrasco, Y.R. Human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells promote B-cell motility and chemoattraction. *Cytotherapy* 2014, 16, 1692–1699.
- ❖ Ben Menachem-Zidon O, et al. Systemically transplanted mesenchymal stem cells induce vascular-like structure formation in a rat model of vaginal injury. *PLoS ONE*. 2019;14(6):e0218081.
- ❖ Ben Menachem-Zidon O, et al. Systemically transplanted mesenchymal stem cells induce vascular-like structure formation in a rat model of vaginal injury. *PLoS ONE*. 2019;14(6):e0218081.
- ❖ Berebichez-Fridman R, Gómez-García R, Granados-Montiel J, et al. The Holy Grail of Orthopedic Surgery: Mesenchymal Stem Cells-Their Current Uses and Potential Applications. *Stem Cells International*. 2017 ;2017:2638305
- ❖ Berebichez-Fridman R, Montero-Olvera PR. Sources and Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells: State-of-the-art review. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2018;18(3):e264-e277. doi:10.18295/squmj.2018.18.03.002
- ❖ Bharadwaj S, et al. Multipotential differentiation of human urinederived stem cells: potential for therapeutic applications in urology. *Stem Cells*. 2013;31(9):1840–56.
- ❖ Björkström, N.K.; Ljunggren, H.-G.; Michaëlsson, J. Emerging insights into natural killer cells in human peripheral tissues. *Nat. Rev. Immunol*. 2016, 16, 310.
- ❖ Cagliani J, Grande D, Molmenti EP, Miller EJ, Rilo HLR. Immunomodulation by Mesenchymal Stromal Cells and Their Clinical Applications. *J Stem Cell Regen Biol*. 2017;3(2):10.15436/2471-0598.17.022.
- ❖ Cao C, Dong Y, Dong Y. [Study on culture and in vitro osteogenesis of blood-derived human mesenchymal stem cells]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2005 Aug;19(8):642-7. Chinese.
- ❖ Carr LK, Robert M, Kultgen PL, Herschorn S, Birch C, Murphy M, Chancellor MB. Autologous muscle derived cell therapy for stress urinary incontinence: a prospective, dose ranging study. *J Urol*. 2013 Feb;189(2):595-601.
- ❖ Cauffman G, De Rycke M, Sermon K, Liebaers I, Van de Velde H. Markers that define stemness in ESC are unable to identify the totipotent cells in human preimplantation

embryos. *Hum Reprod.* 2009 Jan;24(1):63-70. doi: 10.1093/humrep/den351. Epub 2008 Sep 29.

- ❖ Chang CJ, Yen ML, Chen YC, Chien CC, Huang HI, Bai CH, Yen BL. Placenta-derived multipotent cells exhibit immunosuppressive properties that are enhanced in the presence of interferon-gamma. *Stem Cells.* 2006;24(11):2466–77.
- ❖ Cheng HY, Ghetu N, Wallace CG, Wei FC, Liao SK (2014) The Impact of Mesenchymal Stem Cell Source on Proliferation, Differentiation, Immunomodulation and Therapeutic Efficacy. *J Stem Cell Res Ther* 4: 237.
- ❖ Chiesa, S.; Morbelli, S.; Morando, S.; Massollo, M.; Marini, C.; Bertoni, A.; Frassoni, F.; Bartolomé, S.T.; Sambuceti, G.; Traggiai, E.; et al. Mesenchymal stem cells impair in vivo T-cell priming by dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011, 108, 17384–17389.
- ❖ Choudhery MS, Badowski M, Muise A, Pierce J, Harris DT. Donor age negatively impacts adipose tissue-derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation. *J Transl Med.* 2014 Jan 7;12:8.
- ❖ Cichowski SB, Dunivan GC, Komesu YM, Rogers RG. Sexual abuse history and pelvic floor disorders in women. *South Med J.* 2013;106(12):675-678.
- ❖ Crompton E, et al. Extracellular vesicles of bone marrow stromal cells rescue chronic lymphocytic leukemia B cells from apoptosis, enhance their migration and induce gene expression modifications. *Haematologica.* 2017; 102:1594–604.
- ❖ Cruz M, Dissaranan C, Cotleur A, Kiedrowski M, Penn M, Damaser M. Pelvic organ distribution of mesenchymal stem cells injected intravenously after simulated childbirth injury in female rats. *Obstet Gynecol Int.* 2012;2012:612946.
- ❖ Cruz M, et al. Pelvic organ distribution of mesenchymal stem cells injected intravenously after simulated childbirth injury in female rats. *Obstet Gynecol Int.* 2012;2012:612946.
- ❖ Darzi, S., Deane, J.A., Nold, C.A. et al. Endometrial Mesenchymal Stem/Stromal Cells Modulate the Macrophage Response to Implanted Polyamide/Gelatin Composite Mesh in Immunocompromised and Immunocompetent Mice. *Sci Rep* 8, 6554 (2018)
- ❖ Deffune E, Prudenciatti A, Moroz A. Mesenchymal stem cell (MSc) secretome: A possible therapeutic strategy for intensive-care COVID-19 patients. *Med Hypotheses.* 2020 Sep;142:109769.

- ❖ Dehghanifard A, Shahjahani M, Soleimani M, Saki N. The emerging role of mesenchymal stem cells in tissue engineering. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2013;7(1):46-47.
- ❖ Deininger P. Alu elements: know the SINEs. *Genome Biol.* 2011;12(12):236. Published 2011 Dec 28.
- ❖ Ding J, et al. Induction of human umbilical cord mesenchymal stem cells into tissue-forming cells in a murine model: implications for pelvic floor reconstruction. *Cell Tissue Res.* 2018;372(3):535–47.
- ❖ Dissaranan C, et al. Rat mesenchymal stem cell secretome promotes elastogenesis and facilitates recovery from simulated childbirth injury. *Cell Transplant.* 2014;23(11):1395–406.
- ❖ Dominici M, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8:315–7.
- ❖ Du\_y, M.M.; Ritter, T.; Ceredig, R.; Gri\_n, M.D. Mesenchymal stem cell e\_ects on T-cell e\_ector pathways. *Stem Cell Res. Ther.* 2011, 2, 34.
- ❖ Edwards SL, et al. Temporal changes in the biomechanical properties of endometrial mesenchymal stem cell seeded scaffolds in a rat model. *Acta Biomater.* 2015;13:286–94.
- ❖ El Agha E, Kramann R, Schneider RK, Li X, Seeger W, Humphreys BD, Bellusci S. Mesenchymal Stem Cells in Fibrotic Disease. *Cell Stem Cell.* 2017 Aug 3;21(2):166-177.
- ❖ El Barky, Amira & Ali, Ehab & Mohamed, Tarek. (2017). *Stem Cells, Classifications and their Clinical Applications.* 1. 001-007.
- ❖ El Barky, Amira & Ali, Ehab & Mohamed, Tarek. (2017). *Stem Cells, Classifications and their Clinical Applications.* 1. 001-007. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature.* 1981 Jul 9;292(5819):154-6.
- ❖ Faubion SS, Shuster LT, Bharucha AE. Recognition and management of nonrelaxing pelvic floor dysfunction. *Mayo Clin Proc.* 2012;87(2):187-193.
- ❖ Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Hedrick MH. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotechnol.* 2006 Apr;24(4):150-4.
- ❖ Friedenstein AJ, Gorskaja UF, Kulagina NN (1976) Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 4: 267–274.

- ❖ Frudinger A, Kölle D, Schwaiger W, Pfeifer J, Paede J, Halligan S. Muscle-derived cell injection to treat anal incontinence due to obstetric trauma: pilot study with 1 year follow-up. *Gut*. 2010;59:55–61.
- ❖ Frudinger, A., Marksteiner, R., Pfeifer, J. et al. Skeletal muscle-derived cell implantation for the treatment of sphincter-related faecal incontinence. *Stem Cell Res Ther* 9, 233 (2018).
- ❖ Fu J. Cx43 expressed on bone marrow stromal cells plays an essential role in multiple myeloma cell survival and drug resistance. *Arch Med Sci*. 2017; 13:236–45.
- ❖ Galluzzi L, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the nomenclature committee on cell death 2018. *Cell Death Differ*. 2018;25: 486–541.
- ❖ Gargett CE, et al. Isolation and culture of epithelial progenitors and mesenchymal stem cells from human endometrium. *Biol Reprod*. 2009;80(6):1136–45.
- ❖ Gearhart J. New potential for human embryonic stem cells. *Science*. 1998 Nov 6;282(5391):1061-2.
- ❖ Gerdes HH, Carvalho RN. Intercellular transfer mediated by tunneling nanotubes. *Curr Opin Cell Biol*. 2008;20:470–5.
- ❖ Gill BC, Sun DZ, Damaser MS. Stem cells for urinary incontinence: functional differentiation or cytokine effects? *Urology*. 2018;117:9–17.
- ❖ Glazener CM, et al. Mesh, graft, or standard repair for women having primary transvaginal anterior or posterior compartment prolapse surgery: two parallel-group, multicentre, randomised, controlled trials (PROSPECT). *Lancet*. 2017;389(10067):381–92.
- ❖ Good MM, Solomon ER. Pelvic Floor Disorders. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2019 Sep;46(3):527-540.
- ❖ Gotherstrom C, Ringden O, Tammik C, Zetterberg E, Westgren M, Le Blanc K. Immunologic properties of human fetal mesenchymal stem cells. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190(1):239–45.
- ❖ Gotoh M, et al. Regenerative treatment of male stress urinary incontinence by periurethral injection of autologous adiposederived regenerative cells: 1-year outcomes in 11 patients. *Int J Urol*. 2014;21(3):294–300.
- ❖ Grimes WR, Stratton M. Pelvic Floor Dysfunction. 2020 Jun 28. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan–. PMID: 32644672.

- ❖ Hallock JL, Handa VL. The Epidemiology of Pelvic Floor Disorders and Childbirth: An Update. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2016;43(1):1-13.
- ❖ Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells.* 2019;8(8):886. Published 2019 Aug 13.
- ❖ Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells.* 2019;8(8):886. Published 2019 Aug 13.
- ❖ Handa VL, Cundiff G, Chang HH, Helzlsouer KJ. Female sexual function and pelvic floor disorders. *Obstet Gynecol.* 2008;111(5):1045-1052.
- ❖ Hare JM, et al. Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: the POSEIDON randomized trial. *JAMA.* 2012;308(22):2369–79.
- ❖ Hass R, Kasper C, Böhm S, Jacobs R. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal.* 2011 May 14;9:12.
- ❖ Healy, M.E.; Bergin, R.; Mahon, B.P.; English, K. Mesenchymal Stromal Cells Protect Against Caspase 3-Mediated Apoptosis of CD19+ Peripheral B Cells Through Contact-Dependent Upregulation of VEGF. *Stem Cells Dev.* 2015, 24, 2391–2402
- ❖ Ho MH, et al. Stimulating vaginal repair in rats through skeletal muscle–derived stem cells seeded on small intestinal submucosal scaffolds. *Obstet Gynecol.* 2009;114(2):300–9.
- ❖ Hong MK, Ding DC. Current treatments for female pelvic floor dysfunctions. *Gynecol Minim Invasive Ther* 2019;8:143-8.
- ❖ Houlihan DD, Hopkins LJ, Suresh SX, Armstrong MJ, Newsome PN. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology.* 2011 Nov;54(5):1891-2; author reply 1892.
- ❖ Hu L, et al. Exosomes derived from human adipose mesenchymal stem cells accelerates cutaneous wound healing via optimizing the characteristics of fibroblasts. *Sci Rep.* 2016;6:32993.
- ❖ Huuskes BM, Wise AF, Cox AJ, Lim EX, Payne NL, Kelly DJ, Samuel CS, Ricardo SD. Combination therapy of mesenchymal stem cells and serelaxin effectively attenuates renal fibrosis in obstructive nephropathy. *FASEB J.* 2015 Feb;29(2):540-53.

- ❖ Jackson WM, Nesti LJ, Tuan RS. Potential therapeutic applications of muscle-derived mesenchymal stem and progenitor cells. *Expert Opin Biol Ther.* 2010;10(4):505-517.
- ❖ Jankowski RJ, Tu LM, Carlson C, Robert M, Carlson K, Quinlan D, Eisenhardt A, Chen M, Snyder S, Pruchnic R, Chancellor M, Dmochowski R, Kaufman MR, Carr L. A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial evaluating the safety and efficacy of autologous muscle derived cells in female subjects with stress urinary incontinence. *Int Urol Nephrol.* 2018 Dec;50(12):2153-2165.
- ❖ Jankowski RJ, Tu LM, Carlson C, Robert M, Carlson K, Quinlan D, Eisenhardt A, Chen M, Snyder S, Pruchnic R, Chancellor M, Dmochowski R, Kaufman MR, Carr L. A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial evaluating the safety and efficacy of autologous muscle derived cells in female subjects with stress urinary incontinence. *Int Urol Nephrol.* 2018 Dec;50(12):2153-2165.
- ❖ Jiang, D.; Muschhammer, J.; Qi, Y.; Kügler, A.; de Vries, J.C.; Sa\_arzadeh, M.; Sindrilaru, A.; Beken, S.V.; Wlaschek, M.; Kluth, M.A.; et al. Suppression of Neutrophil-Mediated Tissue Damage—A Novel Skill of Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells* 2016, 34, 2393–2406.
- ❖ Joo S, Ko IK, Atala A, Yoo JJ, Lee SJ. Amniotic fluid-derived stem cells in regenerative medicine research. *Arch Pharm Res.* 2012 Feb;35(2):271-80. doi: 10.1007/s12272-012-0207-7. Epub 2012 Feb 28. PMID: 22370781.
- ❖ Jundt K, Peschers U, Kentenich H. The investigation and treatment of female pelvic floor dysfunction. *Dtsch Arztebl Int.* 2015;112(33-34):564-574. doi:10.3238/arztebl.2015.0564
- ❖ Karp JM, Leng Teo GS. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details. *Cell Stem Cell.* 2009;4(3):206–16.
- ❖ Karussis D, et al. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol.* 2010;67(10):1187–94.
- ❖ Keith L. Moore, Arthur F. Dalley, Anne M.R. Agur, Κλινική Ανατομία, 6η Αγγλική Έκδοση, 2η Ελληνική Έκδοση, Λευκωσία, Broken Hills Publishers LTD, 2013, σελ.385-390.
- ❖ Keshtkar S, Azarpira N, Ghahremani MH. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):63.

- ❖ Kleinsmith LJ, Pierce GB Jr. Multipotentiality of single embryonal carcinoma cells. *Cancer Res.* 1964 Oct;24:1544-51.
- ❖ Klimczak A, Kozłowska U, Kurpisz M. Muscle stem/progenitor cells and mesenchymal stem cells of bone marrow origin for skeletal muscle regeneration in muscular dystrophies. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2018;66(5):341–54.
- ❖ Koike C, Zhou K, Takeda Y, Fathy M, Okabe M, Yoshida T, Nakamura Y, Kato Y, Nikaido T. Characterization of amniotic stem cells. *Cell Reprogram.* 2014 Aug;16(4):298-305.
- ❖ Kozłowska U, et al. Similarities and differences between mesenchymal stem/progenitor cells derived from various human tissues. *World J Stem Cells.* 2019;11(6):347–74.
- ❖ Kuismanen K, et al. Functional outcome of human adipose stem cell injections in rat anal sphincter acute injury model. *Stem Cells Transl Med.* 2018;7(3):295–304.
- ❖ Kuismanen K, Sartoneva R, Haimi S, Mannerström B, Tomás E, Miettinen S, Nieminen K. Autologous adipose stem cells in treatment of female stress urinary incontinence: results of a pilot study. *Stem Cells Transl Med.* 2014 Aug;3(8):936-41. doi: 10.5966/sctm.2013-0197. Epub 2014 Jul 1. PMID: 24985079; PMCID: PMC4116246.
- ❖ Kushnerev E, Shawcross SG, Sothirachagan S, Carley F, Brahma A, Yates JM, Hillarby MC. Regeneration of Corneal Epithelium With Dental Pulp Stem Cells Using a Contact Lens Delivery System. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Oct 1;57(13):5192-5199.
- ❖ Lal M, H Mann C, Callender R, Radley S. Does cesarean delivery prevent anal incontinence? *Obstet Gynecol.* 2003 Feb;101(2):305-12. doi: 10.1016/s0029-7844(02)02716-3. PMID: 12576254.
- ❖ Le Blanc K, et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol.* 2003;31(10):890–6.
- ❖ Le Blanc K, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet.* 2008;371(9624):1579–86.
- ❖ Le Blanc K., Mougiakakos D. Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2012;12:383–396.
- ❖ Lee CN, et al. Human cord blood stem cell therapy for treatment of stress urinary incontinence. *J Korean Med Sci.* 2010;25(6):813–6.
- ❖ Lerou P. Embryonic stem cell derivation from human embryos. *Methods Mol Biol.* 2011;767:31-5.

- ❖ Li N, Hua J. Interactions between mesenchymal stem cells and the immune system. *Cell Mol Life Sci.* 2017;74(13):2345–60.
- ❖ Liao, Shuen-Kuei & Cheng, Hui & Ghetu, Nicolae & Wallace, Christopher & Wei, Fu-Chan. (2014). The Impact of Mesenchymal Stem Cell Source on Proliferation, Differentiation, Immunomodulation and Therapeutic Efficacy. *Journal of Stem Cell Research and Therapy.* 4. 10.4172/2157-7633.1000237.
- ❖ Liechty KW, MacKenzie TC, Shaaban AF, Radu A, Moseley AM, Deans R, Marshak DR, Flake AW. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med.* 2000 Nov;6(11):1282-6.
- ❖ Lin G, et al. Treatment of stress urinary incontinence with adipose tissue-derived stem cells. *Cytotherapy.* 2010;12(1):88–95.
- ❖ Linkermann A, Stockwell BR, Krautwald S, Anders HJ. Regulated cell death and inflammation: an auto amplification loop causes organ failure. *Nat Rev Immunol.* 2014;14:759–67.
- ❖ Liras A. Future research and therapeutic applications of human stem cells: general, regulatory, and bioethical aspects. *J Transl Med.* 2010 Dec 10;8:131. doi: 10.1186/1479-5876-8-131. PMID: 21143967; PMCID: PMC3014893.
- ❖ Liu X, et al. Exosomes secreted by adipose-derived mesenchymal stem cells regulate type I collagen metabolism in fibroblasts from women with stress urinary incontinence. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):159.
- ❖ Liu X, et al. Exosomes secreted by adipose-derived mesenchymal stem cells regulate type I collagen metabolism in fibroblasts from women with stress urinary incontinence. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):159.
- ❖ Li-Yun-Fong RJ, Larouche M, Hyakutake M, Koenig N, Lovatt C, Geoffrion R, Brotto LA, Lee T, Cundiff GW. Is Pelvic Floor Dysfunction an Independent Threat to Sexual Function? A Cross-Sectional Study in Women With Pelvic Floor Dysfunction. *J Sex Med.* 2017 Feb;14(2):226-237.
- ❖ Macias MI, et al. Isolation and characterization of true mesenchymal stem cells derived from human term decidua capable of multilineage differentiation into all 3 embryonic layers. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;203(5):495.e9–23.



- ❖ Mahrouf-Yorgov M, et al. Mesenchymal stem cells sense mitochondria released from damaged cells as danger signals to activate their rescue properties. *Cell Death Differ.* 2017;24:1224–38.
- ❖ Majka M, Sułkowski M, Badyra B, Musiałek P. Concise Review: Mesenchymal Stem Cells in Cardiovascular Regeneration: Emerging Research Directions and Clinical Applications. *Stem Cells Transl Med.* 2017 Oct;6(10):1859-1867.
- ❖ McCool-Myers M, Theurich M, Zuelke A, Knuettel H, Apfelbacher C. Predictors of female sexual dysfunction: a systematic review and qualitative analysis through gender inequality paradigms. *BMC Womens Health.* 2018 Jun 22;18(1):108.
- ❖ Memon HU, Handa VL. Vaginal childbirth and pelvic floor disorders. *Womens Health (Lond).* 2013;9(3):265-277.
- ❖ mesh in immunocompromised and immunocompetent mice. *Sci Rep.* 2018;8(1):6554.
- ❖ Miao CM, et al. Bone marrow stromal cells attenuate LPS-induced mouse acute liver injury via the prostaglandin E 2-dependent repression of the NLRP3 inflammasome in Kupffer cells. *Immunol Lett.* 2016;179:102–13.
- ❖ MLA style: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2007. *NobelPrize.org.* Nobel Media AB 2020. Sat. 28 Nov 2020.
- ❖ Moll G, Hoogduijn MJ, Ankrum JA. Editorial: Safety, Efficacy and Mechanisms of Action of Mesenchymal Stem Cell Therapies. *Front Immunol.* 2020;11:243. Published 2020 Feb 18.
- ❖ Morling JR, et al. Adverse events after first, single, mesh and non-mesh surgical procedures for stress urinary incontinence and pelvic organ prolapse in Scotland, 1997-2016: a population-based cohort study. *Lancet.* 2017;389(10069):629–40.
- ❖ Morrison, T.J.; Jackson, M.V.; Cunningham, E.K.; Kissenpfennig, A.; McAuley, D.F.; O’Kane, C.M.; Krasnodembskaya, A.D. Mesenchymal Stromal Cells Modulate Macrophages in Clinically Relevant Lung Injury Models by Extracellular Vesicle Mitochondrial Transfer. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017, 196, 1275–1286.
- ❖ Mukherjee S, et al. Blended nanostructured degradable mesh with endometrial mesenchymal stem cells promotes tissue integration and anti-inflammatory response in vivo for pelvic floor application. *Biomacromol.* 2019;20(1):454–68.

- ❖ Mukherjee S, et al. Mesenchymal stem cell-based bioengineered constructs: foreign body response, cross-talk with macrophages and impact of biomaterial design strategies for pelvic floor disorders. *Interface Focus*. 2019;9(4):20180089.
- ❖ Naji A, et al. Rationale for determining the functional potency of mesenchymal stem cells in preventing regulated cell death for therapeutic use. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6:713–9.
- ❖ Naji, A., Favier, B., Deschaseaux, F. et al. Mesenchymal stem/stromal cell function in modulating cell death. *Stem Cell Res Ther* 10, 56 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1158-4>
- ❖ Ni J, et al. Therapeutic potential of human adipose-derived stem cell exosomes in stress urinary incontinence—an in vitro and in vivo study. *Cell Physiol Biochem*. 2018;48(4):1710–22.
- ❖ Niezgoda A, Niezgoda P, Nowowiejska L, Białecka A, Męcińska-Jundziłł K, Adamska U, Czajkowski R. Properties of skin stem cells and their potential clinical applications in modern dermatology. *Eur J Dermatol*. 2017 Jun 1;27(3):227-236.
- ❖ Pagliuca FW, Millman JR, Gürtler M, Segel M, Van Dervort A, Ryu JH, Peterson QP, Greiner D, Melton DA. Generation of functional human pancreatic  $\beta$  cells in vitro. *Cell*. 2014 Oct 9;159(2):428-39.
- ❖ Paul K, et al. 3D bioprinted endometrial stem cells on melt electrospun poly epsilon-caprolactone mesh for pelvic floor application promote anti-inflammatory responses in mice. *Acta Biomater*. 2019;97:162–76.
- ❖ Peters KM, Dmochowski RR, Carr LK, Robert M, Kaufman MR, Sirls LT, Herschorn S, Birch C, Kultgen PL, Chancellor MB. Autologous muscle derived cells for treatment of stress urinary incontinence in women. *J Urol*. 2014 Aug;192(2):469-76.
- ❖ Phinney DG, Pittenger MF. Concise review: mSC-Derived exosomes for cell-free therapy. *Stem Cells*. 2017;35(4):851–8.
- ❖ Pipino C, Shangaris P, Resca E, Zia S, Deprest J, Sebire NJ, David AL, Guillot PV, De Coppi P. Placenta as a reservoir of stem cells: an underutilized resource? *Br Med Bull*. 2013;105:43-68.
- ❖ Pirvulet V. Gastrointestinal stem cell up-to-date. *J Med Life*. 2015;8(2):245-249.

- ❖ Pittenger, M.F., Discher, D.E., Péault, B.M. et al. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *npj Regen Med* 4, 22 (2019).
- ❖ Quoc Huy NV, Phuc An LS, Phuong LS, Tam LM. Pelvic Floor and Sexual Dysfunction After Vaginal Birth With Episiotomy in Vietnamese Women. *Sex Med.* 2019;7(4):514-521.
- ❖ Raizada V, Mittal RK. Pelvic floor anatomy and applied physiology. *Gastroenterol Clin North Am.* 2008;37(3):493-vii.
- ❖ Ranganath SH, et al. Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for the treatment of cardiovascular disease. *Cell Stem Cell.* 2012;10(3):244–58.
- ❖ Rosenbaum AJ, Grande DA, Dines JS. The use of mesenchymal stem cells in tissue engineering: A global assessment. *Organogenesis.* 2008;4(1):23-27.
- ❖ Sadeghi Z, et al. Mesenchymal stem cell therapy in a rat model of birth-trauma injury: functional improvements and biodistribution. *Int Urogynecol J.* 2016;27(2):291–300.
- ❖ Safa AR. Resistance to cell death and its modulation in cancer stem cells. *Crit Rev Oncog.* 2016;21:203–19.
- ❖ Salcedo L, et al. Functional outcome after anal sphincter injury and treatment with mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl Med.* 2014;3(6):760–7.
- ❖ Salcedo L, Mayorga M, Damaser M, Balog B, Butler R, Penn M, Zutshi M. Mesenchymal stem cells can improve anal pressures after anal sphincter injury. *Stem Cell Res.* 2013 Jan;10(1):95-102.
- ❖ Sarveazad, A., Babahajian, A., Yari, A. et al. Combination of laser and human adipose-derived stem cells in repair of rabbit anal sphincter injury: a new therapeutic approach. *Stem Cell Res Ther* 10, 367 (2019).
- ❖ Sèbe P, Doucet C, Cornu JN, Ciofu C, Costa P, de Medina SG, Pinset C, Haab F. Intrasphincteric injections of autologous muscular cells in women with refractory stress urinary incontinence: a prospective study. *Int Urogynecol J.* 2011 Feb;22(2):183-9.
- ❖ Sima, Y., Chen, Y. MSC-based therapy in female pelvic floor disorders. *Cell Biosci* 10, 104 (2020).
- ❖ Skardoon GR, Khera AJ, Emmanuel AV, Burgell RE. Review article: dyssynergic defaecation and biofeedback therapy in the pathophysiology and management of functional constipation. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017 Aug;46(4):410-423.

- ❖ Spees JL, Lee RH, Gregory CA. Mechanisms of mesenchymal stem/ stromal cell function. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7(1):125.
- ❖ Stangel-Wojcikiewicz K, Piwowar M, Jach R, Majka M, Basta A. Quality of life assessment in female patients 2 and 4 years after muscle-derived cell transplants for stress urinary incontinence treatment. *Ginekol Pol.* 2016;87(3):183-9.
- ❖ Stangel-Wojcikiewicz K, Jarocho D, Piwowar M, Jach R, Uhl T, Basta A, Majka M. Autologous muscle-derived cells for the treatment of female stress urinary incontinence: a 2-year follow-up of a Polish investigation. *Neurourol Urodyn.* 2014 Mar;33(3):324-30.
- ❖ Steger M, Abagnale G, Bremus-Köbberling E, et al. Nanoscale biofunctionalization of polymer surfaces by laser treatment for controlled cellular differentiation. In: König K, Ostendorf A, editors. *Optically Induced Nanostructures: Biomedical and Technical Applications.* Berlin: De Gruyter; 2015 Jun 23. Chapter 2.
- ❖ Stem Cell Scientists Answer the Question, "Why Is It Important to You to Support Fetal Tissue Research?". *Stem Cell Reports.* 2019;12(2):186-190.
- ❖ Sun DZ, Abelson B, Babbar P, Damaser MS. Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for regenerative urology. *Nat Rev Urol.* 2019 Jun;16(6):363-375.
- ❖ Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006 Aug 25;126(4):663-76
- ❖ Thomas GP, Maeda Y, Vaizey CJ. A review of the effect of faecal incontinence and constipation on sexual function. *Int J Colorectal Dis.* 2019 Mar;34(3):387-391
- ❖ Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science.* 1998 Nov 6;282(5391):1145-7.
- ❖ Tse WT, et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation.* 2003;75(3):389–97.
- ❖ Tu FF, Holt J, Gonzales J, Fitzgerald CM. Physical therapy evaluation of patients with chronic pelvic pain: a controlled study. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Mar;198(3):272.e1-7.
- ❖ Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2008 Sep;8(9):726-36.
- ❖ Ullah M, Liu DD, Thakor AS. Mesenchymal Stromal Cell Homing: Mechanisms and Strategies for Improvement. *iScience.* 2019;15:421-438.

- ❖ Ulrich D, et al. Human endometrial mesenchymal stem cells modulate the tissue response and mechanical behavior of polyamide mesh implants for pelvic organ prolapse repair. *Tissue Eng Part A*. 2014;20(3–4):785–98.
- ❖ Ulrich D, et al. Mesenchymal stem/stromal cells in post-menopausal endometrium. *Hum Reprod*. 2014;29(9):1895–905.
- ❖ Verdi J, Tan A, Shoaie-Hassani A, Seifalian AM. Endometrial stem cells in regenerative medicine. *J Biol Eng*. 2014 Aug 1;8:20.
- ❖ Wang S, Qu X, Zhao RC. Clinical applications of mesenchymal stem cells. *J Hematol Oncol*. 2012 Apr 30;5:19.
- ❖ Williams JK, et al. The dose-effect safety profile of skeletal muscle precursor cell therapy in a dog model of intrinsic urinary sphincter deficiency. *Stem Cells Transl Med*. 2015;4(3):286–94.
- ❖ Wu JM, Matthews CA, Conover MM, Pate V, Jonsson Funk M. Lifetime risk of stress urinary incontinence or pelvic organ prolapse surgery. *Obstet Gynecol*. 2014 Jun;123(6):1201-6.
- ❖ Wu R, et al. Exosomes secreted by urine-derived stem cells improve stress urinary incontinence by promoting repair of pubococcygeus muscle injury in rats. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):80.
- ❖ Wynn RF, et al. A small proportion of mesenchymal stem cells strongly expresses functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow. *Blood*. 2004;104(9):2643–5.
- ❖ Yang JA, Chung HM, Won CH, Sung JH. Potential application of adipose-derived stem cells and their secretory factors to skin: discussion from both clinical and industrial viewpoints. *Expert Opin Biol Ther*. 2010 Apr;10(4):495-503.
- ❖ Yuan X, et al. Extracellular vesicles from human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stromal cells (hiPSC-MSCs) protect against renal ischemia/reperfusion injury via delivering specificity protein (SP1) and transcriptional activating of sphingosine kinase 1 and inhibiting necroptosis. *Cell Death Dis*. 2017;8:3200.
- ❖ Zhao X, Moore DL. Neural stem cells: developmental mechanisms and disease modeling. *Cell Tissue Res*. 2018;371(1):1-6.

- ❖ Zhou Y, Yamamoto Y, Xiao Z, Ochiya T. The Immunomodulatory Functions of Mesenchymal Stromal/Stem Cells Mediated via Paracrine Activity. *J Clin Med*. 2019 Jul 12;8(7):1025.
- ❖ Λώλης Δημήτριος, Γυναικολογία Και Μαιευτική, Γ' έκδοση, Αθήνα, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Παριζιάνου, 2010, σελ. 51-53.