

**Χρήση καρδιομυοκυττάρων προερχόμενων από
διαφοροποίηση πολυδύναμων εμβρυονικών και επαγόμενων
πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων σε προκλινικές και
κλινικές μελέτες.**

υπό

Μαρία Σαράντη

Μεταπτυχιακή Εργασία

**υποβληθείσα για την εκπλήρωση των προϋποθέσεων
απονομής του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης
«Βασικές Βιοατρικές Επιστήμες» του Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων**

2022

© Μαρία Σαράντη

**Χρήση καρδιομυοκυττάρων προερχόμενων από
διαφοροποίηση πολυδύναμων εμβρυονικών και επαγόμενων
πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων σε προκλινικές και
κλινικές μελέτες.**

υπό

Μαρία Σαράντη

Μεταπτυχιακή Εργασία
υποβληθείσα για την εκπλήρωση των προϋποθέσεων
απονομής του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης
«Βασικές Βιοατρικές Επιστήμες» του Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων

2022

© Μαρία Σαράντη

«Η έγκριση του 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).»

Όνοματεπώνυμο:

Μαρία Ρ. Σαράντη

Τίτλος ΜΔΕ:

**«Χρήση καρδιομυοκυττάρων προερχόμενων από διαφοροποίηση
πολυδύναμων εμβρυονικών και επαγόμενων πολυδύναμων βλαστικών
κυττάρων σε προκλινικές και κλινικές μελέτες»**

Ημερομηνία Παρουσίασης :

26 Μαΐου 2022

Εξεταστική Επιτροπή:

- 1. Παναγιώτης Κούκλης (Επιβλέπων)**
- 2. Χαράλαμπος Αγγελίδης**
- 3. Βασιλική Γαλάνη**

Η διαδικασία επικυρώνεται από:

Τη διευθύντρια του ΠΜΣ ΒΒΕ: Πατρόνα Βεζυράκη

Την Πρόεδρο του Τμήματος: Άννα Μπατιστάτου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί το επιστέγασμα των σπουδών μου στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα των «Βασικών Βιολογικών Επιστημών» της Σχολής της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και δράττοντας την ευκαιρία θα ήθελα να ευχαριστήσω το σύνολο των καθηγητών που συμμετείχαν στην πορεία μου αυτή. Πιο ειδικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα μου, επίκουρο καθηγητή, κ. Παναγιώτη Κούκλη, για τη συνεισφορά του τόσο στην επιλογή του θέματος της διπλωματικής εργασίας όσο και για τη συνεχή του καθοδήγηση και υποστήριξη κατά τη διάρκεια της συγγραφής της. Επίσης ευχαριστώ θερμά τα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, τον καθηγητή κ. Χαράλαμπο Αγγελίδη και την επίκουρη καθηγήτρια, κα Βασιλική Γαλάνη, καθώς και τη διευθύντρια του ΠΜΣ ΒΒΕ, καθηγήτρια, κα Πατρώνα Βεζυράκη.

Τέλος, δε θα μπορούσα να παραβλέψω τη συναισθηματική υποστήριξη της οικογένειάς μου και των φίλων μου στη δύσκολη αλλά και συνάμα όμορφη αυτή ακαδημαϊκή πορεία, ευχαριστώντας ξεχωριστά τον καθένα και ιδίως το σύζυγό μου, Κωνσταντίνο και τα παιδιά μου, Θεοχάρη και Ρήγα.

Ιωάννινα, 2022

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	10
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	13
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	15
1. Καρδιά και καρδιακές παθήσεις.....	16
1.1 Σχηματισμός, ανατομία και λειτουργία της καρδιάς.....	16
1.2. Τύποι καρδιακών κυττάρων.....	21
1.2.1. Καρδιομυοκύτταρα και καρδιακή λειτουργία.....	21
1.2.2. Άλλοι κυτταρικοί πληθυσμοί της καρδιάς.....	31
1.3. Καρδιακές παθήσεις.....	34
1.3.1. Καρδιακή ανεπάρκεια.....	35
1.3.2. Στεφανιαία νόσος.....	37
1.3.3. Υπέρταση.....	40
1.3.4. Κολπική μαρμαρυγή.....	42
1.3.5. Βαλβιδική καρδιακή νόσος.....	43
1.3.6. Μυοκαρδιοπάθειες.....	45
1.3.7. Συγγενείς καρδιοπάθειες.....	46
1.3.8. Έμφραγμα του μυοκαρδίου.....	47
2. Βλαστικά κύτταρα.....	50
2.1. Ιστορική αναδρομή.....	50
2.2. Στάδια ανάπτυξης του εμβρύου.....	51
2.3. Τα βλαστικά κύτταρα.....	53
2.3.1. Βλαστικά κύτταρα ενήλικα (ASC).....	55
2.3.2. Εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα (ESCs).....	57
2.4. Συμμετρική και ασύμμετρη διαίρεση των βλαστικών κυττάρων.....	59
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	63
1. Θεραπεία καρδιακών παθήσεων με τη χρήση βλαστικών κυττάρων.....	64
1.1. Η φυσιολογία της καρδιακής ανάπτυξης – γενετική – σηματοδοτικά μονοπάτια.....	65
2. Προκλινικές και κλινικές μελέτες χρήσης βλαστικών κυττάρων σε καρδιακές παθήσεις.....	68
2.1. Προκλινικές και κλινικές μελέτες.....	68
2.2. Εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα (ESCs).....	70
2.2.1. Προκλινικές μελέτες.....	71

2.2.2. Κλινικές μελέτες.....	72
2.3. Βλαστικά κύτταρα προερχόμενα από το μυελό των οστών.....	73
2.3.1. Προκλινικές δοκιμές.....	73
2.3.2. Κλινικές δοκιμές.....	74
2.4. Σκελετικοί μυοβλάστες (SkM).....	74
2.4.1. Προκλινικές δοκιμές.....	75
2.4.2. Κλινικές δοκιμές.....	75
2.5. Καρδιακά προγονικά κύτταρα (CPCs).....	76
2.5.1. Προκλινικές δοκιμές.....	77
2.5.2. Κλινικές δοκιμές.....	79
2.6. Επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (iPSCs).....	80
2.6.1. Προκλινικές μελέτες.....	82
2.6.2. Κλινικές μελέτες.....	83
2.7. Εξωσώματα	85
2.7.1. Προκλινικές μελέτες.....	86
2.8. Οργανοειδή	86
ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	88
1. Σύγκριση επαγόμενων πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων και πολυδύναμων εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων.	89
2. Προοπτικές βελτίωσης των επαγόμενων πολυδύναμων κυττάρων. .	92
3. Το μέλλον της θεραπευτικής χρήσης των βλαστικών κυττάρων στις καρδιακές παθήσεις.....	93
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	95
ABSTRACT.....	96
Βιβλιογραφία	97

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιείται στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος του Τμήματος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες». Πρόκειται για μια βιβλιογραφική ανασκόπηση των προκλινικών μελετών και κλινικών δοκιμών που έχουν πραγματοποιηθεί τις τελευταίες δεκαετίες στον τομέα της χρήσης των βλαστοκυττάρων (επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα και πολυδύναμα εμβρυονικά βλαστοκύτταρα) σε διάφορες καρδιακές παθήσεις.

Η εργασία χωρίζεται σε δύο μέρη, το Γενικό και το Ειδικό Μέρος. Το Γενικό Μέρος αποτελεί το βασικό θεωρητικό υπόβαθρο, το οποίο χρειάζεται να γνωρίζει ο αναγνώστης για να κατανοήσει σε μεγαλύτερο βαθμό τα ευρήματα των προκλινικών και κλινικών δοκιμών που ακολουθούν.

Στην 1^η ενότητα του Γενικού Μέρους παρουσιάζεται η φυσιολογία και η ανατομία της ανθρώπινης καρδιάς και στη συνέχεια μερικές από τις συχνότερες καρδιακές παθήσεις που αποτελούν μία από τις συχνότερες ασθένειες σε παγκόσμιο επίπεδο, διαταράσσοντας τη φυσιολογική λειτουργία του μυοκαρδίου αλλά και του υπόλοιπου οργάνου, οδηγώντας ακόμα και στην καρδιακή ανεπάρκεια. Στη 2^η ενότητα γίνεται εκτενής αναφορά στη γενική γνώση γύρω από τα βλαστικά κύτταρα και πιο συγκεκριμένα στα είδη βλαστοκυττάρων που έχουν παρουσιάσει ικανότητες αναγέννησης του μυοκαρδίου είτε εξαιτίας της άμεσης διαφοροποίησής τους σε καρδιομυοκύτταρα είτε εξαιτίας παρακρινών αναγεννητικών δράσεων τους.

Στο Ειδικό Μέρος της εργασίας αναφέρονται αρχικά στην 1^η ενότητα οι μηχανισμοί και τα σηματοδοτικά μονοπάτια που συμβάλλουν στην εμβρυογένεση της καρδιάς και στην αναγέννησή της. Έπειτα, η 2^η ενότητα αποτελείται από την παράθεση των σημαντικότερων προκλινικών μελετών *in vitro* και *in vivo* σε ζωικά μοντέλα αλλά και των αντίστοιχων κλινικών δοκιμών σε ανθρώπους των τελευταίων δεκαετιών, της θεραπευτικής χρήσης τόσο των επαγόμενων πολυδύναμων βλαστοκυττάρων και πολυδύναμων εμβρυονικών βλαστοκυττάρων σε

καρδιακές παθήσεις όσο και άλλων τύπων βλαστικών κυττάρων, εξωσωμάτων και οργανοειδών και των ευρημάτων τους.

Η επόμενη ενότητα αφορά τη συλλογή των συμπερασμάτων από τις προκλινικές και κλινικές δοκιμές του Ειδικού Μέρους και τη συζήτηση γύρω από τις προοπτικές αλλά και τις πρακτικές δυσκολίες που αντιμετωπίζει η θεραπευτική χρήση των βλαστοκυττάρων στη θεραπεία των καρδιακών παθήσεων μέχρι και σήμερα. Τα ζητήματα αυτά αφορούν κυρίως τεχνικές δυσκολίες απομόνωσης και μεταμόσχευσης των βλαστικών κυττάρων, κενά γνώσης σε διάφορα βιολογικά, μεταβολικά και σηματοδοτικά μονοπάτια που περιορίζουν την αποτελεσματική τους δράση και σε άλλες περιπτώσεις προάγουν την ογκογένεση, καθώς και διάφορους βιοηθικούς προβληματισμούς.

Η εργασία ολοκληρώνεται με την παράθεση της ελληνικής και ξένης περίληψης και με τη βιβλιογραφική αναφορά.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

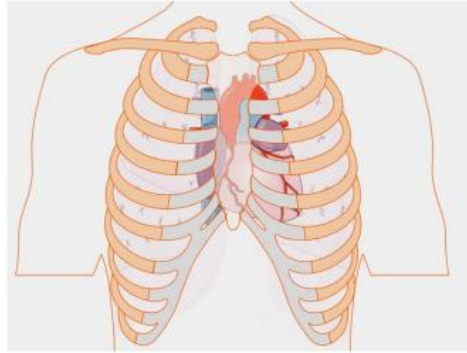
1. Καρδιά και καρδιακές παθήσεις.

1.1 Σχηματισμός, ανατομία και λειτουργία της καρδιάς.

Η καρδιά εξαιτίας της σημαντικότητας του έργου που επιτελεί για τον οργανισμό, βρίσκεται τοποθετημένη στο θωρακικό κλωβό στο ύψος του 3^{ου}-6^{ου} πλευρικού χόνδρου, ώστε να προστατεύεται από εξωτερικούς κινδύνους που θα μπορούσαν να τις προκαλέσουν κακώσεις. Πρόκειται για έναν κοίλο μυ, με σχήμα τρίπλευρης πυραμίδας, που διαδραματίζει το ρόλο μυϊκής αντλίας παραλαμβάνοντας το φλεβικό αίμα και προωθώντας το στη συστηματική κυκλοφορία. (Κωλέττης, 2015)

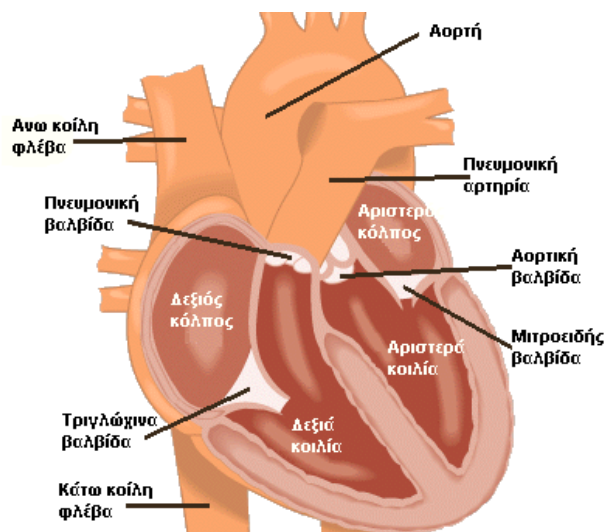
Το καρδιαγγειακό σύστημα σχηματίζεται από τα πρώτα κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη, ήδη από τη 15^η μέρα στον άνθρωπο και είναι εξελικτικά συντηρημένο σε όλα τα σπονδυλωτά. Η καρδιά καθίσταται λειτουργική από την αρχή σχεδόν του σχηματισμού της, παράλληλα με την ανάπτυξη του αγγειακού συστήματος, το οποίο της παρέχει την απαιτούμενη τροφοδοσία. Προέρχεται από κύτταρα του πρόσθιου μεσοδέρματος, τα οποία και διαφοροποιούνται σε προκαρδιακά, υπό την επιρροή επαγωγικών σημάτων που εκκρίνονται από κύτταρα του εξωδέρματος και του ενδοδέρματος. (Schleich, Abdulla, Summers, & Houyel, 2013)

Στη συνέχεια μετακινούνται στην περιοχή του κεφαλικού πόλου του εμβρύου, όπου δημιουργούν το πρωτογενές καρδιακό πεδίο από το οποίο θα προέλθουν τα καρδιομυοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά και τα λεία μυϊκά κύτταρα της καρδιάς. Έπειτα ακολουθούν σταδιακά οι γενέσεις και οι αναπτύξεις των διαφόρων θαλάμων και σχηματισμών της καρδιάς κάτω από αυστηρά καθορισμένες αναδιπλώσεις και αναδιαμορφώσεις του σχηματιζόμενου ιστού, των περαιτέρω διαφοροποιήσεων των καρδιακών κυττάρων και της επίδρασης εξωκαρδιακών κυτταρικών πληθυσμών. (Schleich, Abdulla, Summers, & Houyel, 2013)



Εικόνα 1. Η καρδιά στη θωρακική κοιλότητα. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Η καρδιακή λειτουργία συνίσταται στο μηχανικό και στο ηλεκτρικό έργο. Η παροχή του οξυγονωμένου αίματος στους ιστούς του οργανισμού αποτελεί το μηχανικό έργο και περιλαμβάνει την ταυτόχρονη εξώθηση του αίματος από τις δύο κοιλίες τόσο στην πνευμονική όσο και στη συστηματική κυκλοφορία, έχοντας ήδη πραγματοποιηθεί η μηχανική συστολή και διαστολή των κόλπων, που προηγείται αυτής των κοιλιών. (Κωλέττης, 2015)

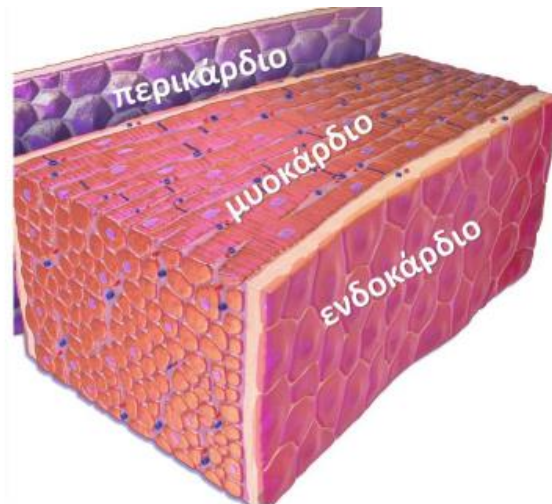


Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση της καρδιάς. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Οι δεξιές και αριστερές κοιλότητες είναι πλήρως διαχωρισμένες από το μεσοκοιλιακό και το μεσοκοιλιακό διάφραγμα και βρίσκονται συνδεδεμένες σε σειρά. Το μεσοκοιλιακό διάφραγμα αποτελείται κυρίως από τη μυϊκή μοίρα. Κάτω από την αορτική βαλβίδα βρίσκεται η μικρή

μεμβρανώδης μοίρα. Το φλεβικό αίμα δεν αναμιγνύεται με το αρτηριακό εξαιτίας του διαχωρισμού των δύο κοιλοτήτων. (Κωλέττης, 2015)

Οι κολποκοιλιακές βαλβίδες ονομάζονται τριγλώχινα και μιτροειδής και είναι αυτές που διαχωρίζουν κόλπους και κοιλίες. Αντίστοιχα η πνευμομική και αορτική βαλβίδα (μηνοειδείς βαλβίδες) διαχωρίζουν τις κοιλίες από τα μεγάλα αγγεία. Οι βαλβίδες, όπως και η εσωτερική επιφάνεια των καρδιακών κοιλοτήτων, καλύπτονται από στιβάδες ενδοθηλιακών κυττάρων και με τη σωστή λειτουργία τους αποφεύγεται η παλινδρόμηση του αίματος. (Anderson, Spicer, Hlavacek, Cook, & Backer, 2013)

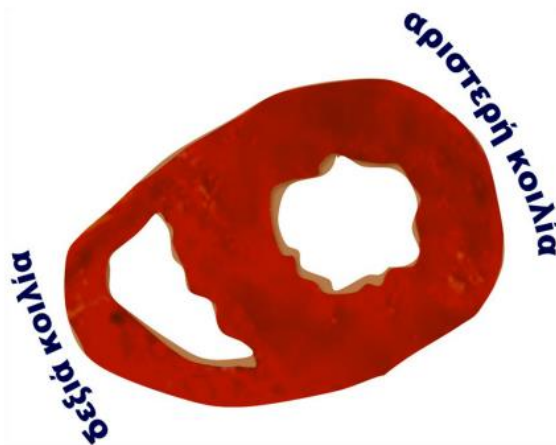


Εικόνα 3. Το τοίχωμα της καρδιάς. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Τα τοιχώματα της καρδιάς αποτελούνται από το περικάρδιο, το μυοκάρδιο και το ενδοκάρδιο (Εικόνα 3). Ανάμεσα στο ενδοκάρδιο και το μυοκάρδιο, ο υπενδοκάρδιος ιστός αποτελείται από ένα πυκνό δίκτυο ινοβλαστών, ινών κολλαγόνου, αγγείων, νεύρων και ινών του Purkinje. (Lunkenheimer, et al., 2006) Μυοκαρδιακά κύτταρα (στιβάδες) σχηματίζουν το τοίχωμα της καρδιάς, το λεγόμενο μυοκάρδιο. (Ho, 2009) Το επικάρδιο (που αναδιπλώνεται στο περίτονο περικάρδιο) αποτελεί το εξωτερικό τοίχωμα και περιβάλλεται από τους κύριους κλάδους στεφανιαίων αγγείων και των νεύρων. Η μικρή ποσότητα υγρού ανάμεσα στα δύο πέταλα δεν επιτρέπει την ανάπτυξη τριβής εξαιτίας της κίνησης της καρδιάς. (Grant, 1965)

Η άνω και κάτω κοίλη φλέβα επιστρέφουν το φλεβικό αίμα στον δεξιό κόλπο από το άνω και κάτω μέρος του σώματος. Γενικά οι δεξιές κοιλότητες αποτελούν ένα σύστημα χαμηλών πιέσεων, οπότε και το μυοκάρδιο της δεξιάς κοιλίας είναι αρκετά λεπτότερο από αυτό της αριστερής. Στη συνέχεια από την τριγλώχινα βαλβίδα το αίμα διέρχεται στην δεξιά κοιλία υπό την επίδραση της κολπικής συστολής αλλά και παθητικά. (Lunkenheimer, et al., 2006)

Η δεξιά κοιλία διαθέτει ημισεληνοειδή μορφή (ενώ η αριστερή, κυκλική) και καταλήγει στο χώρο εξόδου κωνοειδούς δομής, ο οποίος με τη σειρά του καταλήγει στην πνευμονική βαλβίδα. Τρεις θηλοειδείς μύες καταλήγουν στις γλωχίνες της τριγλώχινας βαλβίδας μέσω των τενοντίων χορδών, οι οποίοι κατά τη συστολή και τη συνοδευόμενη βράχυνσή τους εξασφαλίζουν την αποτελεσματική σύγκλειση της τριγλώχινας βαλβίδας, ώστε το αίμα να μη διαφεύγει στον δεξιό κόλπο. (Wu, et al., 2007)

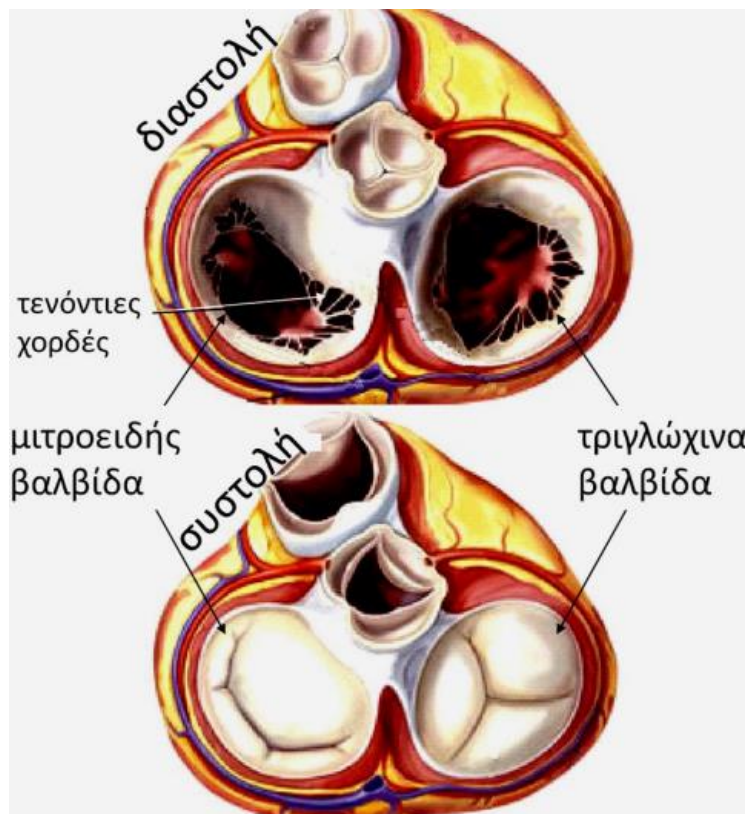


Εικόνα 4. Το σχήμα δεξιάς και αριστερής κοιλίας. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Με τη μηχανική συστολή της δεξιάς κοιλίας, το αίμα εξωθείται διαμέσου της πνευμονικής βαλβίδας στην πνευμονική αρτηρία. Κατά τη διαστολή, οι πτυχές της πνευμονικής βαλβίδας συγκλείνουν, μην επιτρέποντας την παλινδρόμηση του αίματος, εξαιτίας της μεγαλύτερης πίεσης στην πνευμονική αρτηρία από την δεξιά κοιλία. Τα τριχοειδή αγγεία της πνευμονικής κυκλοφορίας συντελούν στην ανταλλαγή των αερίων μέσω της τριχοειδο-κυψελιδικής μεμβράνης: το οξυγόνο διέρχεται στα αγγεία και το διοξείδιο του άνθρακα στις κυψελίδες. (Κωλέττης, 2015)

Έπειτα το οξυγονωμένο αίμα μεταφέρεται από τις αριστερές και δεξιές, άνω και κάτω πνευμονικές φλέβες στο οπίσθιο τμήμα του αριστερού κόλπου. Η μιτροειδής βαλβίδα μεταφέρει το αίμα από τον αριστερό κόλπο στην αριστερή κοιλία. Αντιστοίχως με το δεξιό κόλπο, η φυσιολογική κατεύθυνση της συστολής του αριστερού κόλπου οδηγεί τη ροή προς την ανοικτή μιτροειδή βαλβίδα, χωρίς το αίμα να επιστρέφει στις πνευμονικές φλέβες. (Ho & McCarthy, 2010)

Δύο θηλοειδείς μύες, (προσθιο-πλάγιος και οπισθιο-μέσος) συγκρατούν τις αντίστοιχες γλωχίνες της μιτροειδούς βαλβίδας μέσω των τενοντίων χορδών με αποτέλεσμα να προκαλείται η πλήρης σύγκλειση τους κατά τη διάρκεια της συστολής. (Axel, 2004) Το αίμα εξωθείται από τη μηχανική συστολή της αριστερής κοιλίας στην ανιούσα αορτή και στη συνέχεια στη συστηματική κυκλοφορία. Η σύγκλειση της αορτικής βαλβίδας στη διαστολή παρεμποδίζει την παλινδρόμηση του αίματος στην αριστερή κοιλία. (Lam, Ranganathan, Wigle, & Silver, 1970)



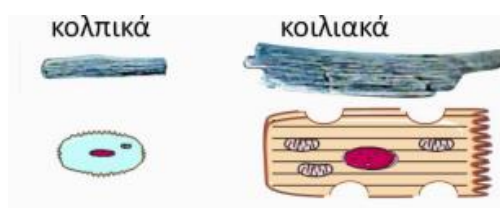
Εικόνα 5. Τριγλώχινα και μιτροειδής βαλβίδα κατά τη συστολή και διαστολή αντίστοιχα. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Η στροφή της καρδιάς (κατά τον επιμήκη άξονα της) στη συστολή συντελεί στην εξώθηση του αίματος από τις κοιλίες προς τα μεγάλα αγγεία, ενώ η αντίθετη κίνηση στη διαστολή συμβάλλει στη χάλαση και πλήρωση των κοιλιών. (Young & Cowan, 2012) Η περιστροφική αυτή κίνηση της καρδιάς πραγματοποιείται εξαιτίας της σπειροειδής διάταξης των μυοκαρδιακών ινών. (McLean & Prothero, 1992)

1.2. Τύποι καρδιακών κυττάρων.

1.2.1. Καρδιομυοκύτταρα και καρδιακή λειτουργία.

Οι κοιλίες παράγοντας μεγαλύτερο έργο κατά την καρδιακή λειτουργία σε σύγκριση με τους κόλπους αποτελούνται από παχύτερο μυοκάρδιο και παράλληλα τα μυοκαρδιακά τους κύτταρα διαθέτουν διαφορετικά χαρακτηριστικά από τα αντίστοιχα των δύο κόλπων. (Κωλέττης, 2015)



*Εικόνα 6. Δομικές διαφορές κολπικού και κοιλιακού καρδιομυοκυττάρου.
Πηγή: (Κωλέττης, 2015)*

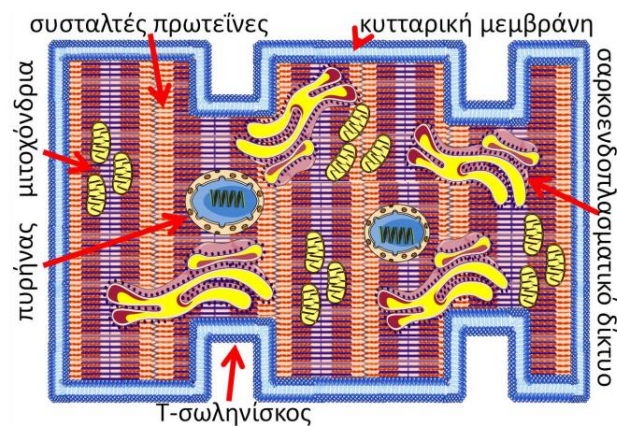
Πίνακας 1. Διαφορές καρδιομυοκυττάρων των κοιλιών και των κόλπων (Κωλέττης, 2015).

Κοιλιακά	Κολπικά
----------	---------

<i>Μήκος</i>	60-140µm	20
<i>Πλάτος</i>	20-25µm	5-6µm
<i>Σχήμα</i>	μακρόστενο	ελλειψοειδές
<i>Μιτοχόνδρια</i>	πολλά	λίγα
<i>T-σωληνίσκοι</i>	άφθονοι	σπάνιοι
<i>Χασματικές συνάψεις</i>	στο πλάι	παντού

Τα κυριότερα δομικά στοιχεία ενός καρδιομυοκυττάρου της κοιλίας (που επιτελεί και το μηχανικό έργο) είναι (Anderson, Spicer, Hlavacek, Cook, & Backer, 2013):

- 1-2 πυρήνες
- η κυτταρική μεμβράνη
- το σαρκοενδοπλασματικό δίκτυο
- οι συσταλτές πρωτεΐνες
- τα μιτοχόνδρια
- τα μυοϊνίδια



Εικόνα 7. Το καρδιομυοκύτταρο της κοιλίας. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Η κυτταρική μεμβράνη στα καρδιομυοκύτταρα εκτός από τις βασικές λειτουργίες της κυτταρικής προστασίας και της εκλεκτικής διαπερατότητας ουσιών και στοιχείων συμβάλλει άμεσα και στη διαδικασία της συστολής εξαιτίας των ιοντικών αλλαγών που λαμβάνουν χώρα κατά μήκος της. Τη διαδικασία αυτή επιταχύνουν τα πολλαπλά εκκολπώματα, που αυξάνουν σημαντικά την επιφάνεια της κυτταρικής

μεμβράνης ενισχύοντας την ηλεκτρική επικοινωνία με το κυτταρόπλασμα και τα οποία ονομάζονται T-σωληνίσκοι. (Bers & Guo, 2005)

Το σαρκομέριο αποτελείται από τις συσταλτές πρωτεΐνες ακτίνη και μυοσίνη σε παράλληλη διάταξη, ενώ πολλά σαρκομέρια μαζί σχηματίζουν το μυοϊνίδιο. Οι χασματικές συνάψεις ενώνουν τα καρδιομυοκύτταρα μεταξύ τους διαμορφώνοντας έτσι ένα σύμπλοκο τριδιάστατο δίκτυο. (Puglisi, Wang, & Bers, 2004)

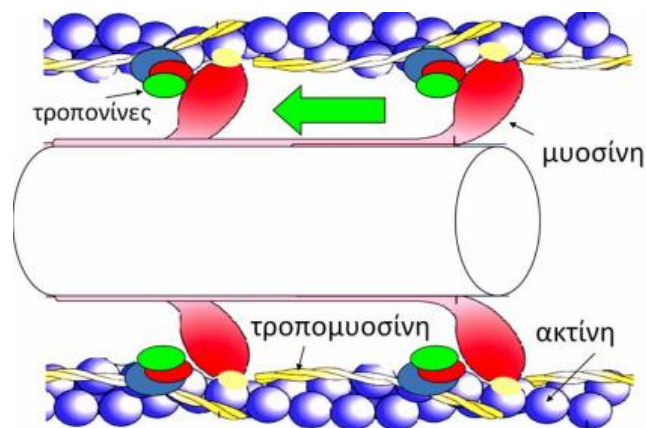
Οι τροπονίνες ρυθμίζουν τη λειτουργία ακτίνης και μυοσίνης. Δομικά η κεφαλή της μυοσίνης αποτελείται από βαριές και ελαφρές αλυσούς, με το ένα τμήμα της βαριάς αλυσούς να συνδέεται με την ακτίνη, το οποίο και περιλαμβάνει μία κρύπτη, όπου βρίσκεται η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP), που παρέχει την ενέργεια. Το άλλο τμήμα της βαριάς αλυσούς είναι επίμηκες και δύναται να αλλάζει τη διαμόρφωσή του κατά τη διάρκεια της μηχανικής συστολής. (Iaizzo, 2009)

Το σαρκοενδοπλασματικό δίκτυο περιβάλλεται από τη δική του μεμβράνη, παρόμοια με την κυτταρική, στο οποίο βρίσκονται τα ιόντα ασβεστίου, που χρησιμεύουν στην ενδοκυττάρια διεργασία της συστολής, με αποτέλεσμα να ρυθμίζονται σε αυτό οι απαραίτητες εναλλαγές χαμηλών και υψηλών ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων ελεύθερων ιόντων ασβεστίου. Διάφορες κληρονομικές και επίκτητες μεταβολές στη μεμβράνη του σαρκοενδοπλασματικού δικτύου και η επακόλουθη διαταραχή στην κυτταρική ομοιόσταση του ασβεστίου, οδηγούν σε πολλές καρδιακές παθήσεις αλλά και στην καρδιακή ανεπάρκεια. (Κωλέττης, 2015)

Η κυτταρική μεμβράνη συμβάλλει στην παροχή της ηλεκτρικής επικοινωνίας σαρκοενδοπλασματικού δικτύου και εξωκυττάρου χώρου, μέσω του εγκάρσιου σωληνώδους συστήματος της. Μια μεταβολή στο δυναμικό της κυτταρικής μεμβράνης επηρεάζει την λειτουργία των υποδοχέων στο σαρκοενδοπλασματικό δίκτυο, οδηγώντας στην απελευθέρωση ασβεστίου στο εσωτερικό του κυττάρου. Στη συστολή, η απελευθέρωση του ασβεστίου πραγματοποιείται κυρίως μέσω των υποδοχέων ρυανοδίνης και 1,4,5-τριφωσφορικής ινοσιτόλης. Στη διαστολή η επαναπρόσληψη ασβεστίου πραγματοποιείται μέσω της ATPάσης του σαρκοενδοπλασματικού δικτύου. (Bers D. , 2008)

Η μηχανική συστολή και χάλαση λαμβάνει χώρα με τη βοήθεια των συστατικών πρωτεϊνών, ακτίνης και μυοσίνης. Στην πραγματικότητα οι πρωτεΐνες αυτές δε μεταβάλλουν το μήκος τους, παρά σύρονται παράλληλα η μια πάνω στην άλλη κατά τη συστολή. Με τον τρόπο αυτό βραχύνεται το μήκος του σαρκομερίου κατά τη συστολή (καταναλώνεται ATP στα μιτοχόνδρια για την απαιτούμενη ενέργεια) και αυξάνεται κατά τη διαστολή. (Κωλέττης, 2015)

Ένα σύμπλεγμα τριών ρυθμιστικών πρωτεϊνών (τροπονίνες) βρίσκονται ανάμεσα στα σημεία πρόσδεσης ακτίνης με μυοσίνη και περιλαμβάνουν την τροπονίνη-C (συνδεδεμένη με το ασβέστιο), την τροπονίνη T (συνδεδεμένη με την τροπομυοσίνη) και την τροπονίνη I (αναστέλλει τη λειτουργία ακτίνης-μυοσίνης). Στη διαστολή η σύνδεση ακτίνης-μυοσίνης είναι πολύ ασθενής, σε αντίθεση με τη φάση της συστολής κατά την οποία οι τροπονίνες συμβάλλουν στην ισχυρή σύνδεση τους. (Bers D. , 2008)



Εικόνα 8. Πρόσδεση ακτίνης και μυοσίνης. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Η λειτουργία της καρδιάς, όπως ήδη αναφέρθηκε είναι εκτός από μηχανική και ηλεκτρική. Κάθε ηλεκτρική εκπόλωση διαδέχεται μετά 30-80 msec μία μηχανική συστολή. Σε διάφορες καρδιακές παθήσεις το χρονικό αυτό διάστημα συχνά παρατείνεται. Συνδυαστικός κρίκος των δύο αυτών λειτουργιών (ηλεκτρική εκπόλωση- μηχανική συστολή) είναι τα ιόντα ασβεστίου και οποιαδήποτε διαταραχή αυτών οδηγεί σε ιδιαίτερα σοβαρές παθολογικές καταστάσεις ακόμα και στο θάνατο. (Bers D. , 2008)

Η μεταβολή της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου συντελεί στη σύνδεση ή στην αποσύνδεση τους με την τροπονίνη-C. Τα ιόντα ασβεστίου κατά τη διαστολή, είναι αποθηκευμένα στο σαρκοενδοπλασματικό δίκτυο, οπότε η αντίστοιχη συγκέντρωση του ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα είναι πολύ μικρή και έτσι η σύνδεση ακτίνης και μυοσίνης είναι πολύ ασθενής. Αντίθετα στη συστολή, ασβέστιο απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα όπου και δύναται να ενωθεί με την τροπονίνη-C, το σύμπλεγμα της τροπονίνης μεταβάλλεται και επιτρέπει την ισχυρή σύνδεση ακτίνης-μυοσίνης, τη διολίσθηση της ακτίνης επί της μυοσίνης και τη βράχυνση του σαρκομερίου, με το ασβέστιο να ενεργοποιεί την ΑΤΡάση της μυοσίνης και την παροχή ενέργειας μέσω της διάσπασης του ΑΤΡ. Καθώς η ενδοκυττάρια συγκέντρωση ασβεστίου μειώνεται εξαιτίας της επαναπρόσληψης του στο σαρκοπλασματικό δίκτυο (επαναπόλωση καρδιομυοκυττάρου) ακτίνη και μυοσίνη αποσυνδεόνται. Εάν η διακίνηση των ιόντων ασβεστίου είναι φυσιολογική, η εναλλαγή αυτή πραγματοποιείται συνεχώς. (Bers D. , 2008)

Η ηλεκτρική λειτουργία της καρδιάς οφείλεται σε ιοντικά ρεύματα, τα οποία μεταβάλλουν το δυναμικό της μεμβράνης αλλά και του κυτταροπλάσματος των καρδιομυοκυττάρων, προκαλώντας την μηχανική τους δραστηριότητα. Η ηλεκτρική εκπόλωση ενός καρδιομυοκυττάρου είναι η μεταβολή του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης του, με αποτέλεσμα να επιτρέπεται η είσοδος ιόντων ασβεστίου μέσα σε αυτό. (Bers D. , 2008)

Τα μικρής έντασης ιοντικά ρεύματα ονομάζονται υπο-ουδικά εκπολωτικά και η αντίστοιχη μεταβολή ονομάζεται υπο-ουδική εκπόλωση. Τα υπο-ουδικά εκπολωτικά ρεύματα εξισορροπούνται από τους επαναπολωτικούς μηχανισμούς. Μεγαλύτερης έντασης ρεύμα προκαλεί εκπόλωση και ονομάζεται εκπολωτικό ρεύμα. Οι παράγοντες που ρυθμίζουν τον ουδό εκπόλωσης είναι το μέγεθος του επαναπολωτικού ρεύματος καλίου και ο αριθμός των ενεργοποιημένων διαύλων νατρίου. (Bers D. , 2008)

Επαναπόλωση ονομάζεται η επαναφορά του δυναμικού της μεμβράνης στις αρχικές τιμές, που ακολουθείται από τη μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου. (Bers D. , 2008) και (Bers

& Guo, 2005) Οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί του δυναμικού του κυττάρου ρυθμίζουν και την είσοδο και έξοδο ιόντων προς και από το κύτταρο καθώς και μέσω της μεμβράνης του σαρκοενδοπλασματικού δικτύου. Διαταραχές στη διακίνηση αυτή των ιόντων ασβεστίου προκαλούν διαταραχές στην ηλεκτρική και μηχανική λειτουργία του μυοκαρδιακού κυττάρου.

Δίαυλοι ασβεστίου ονομάζονται οι διάυλοι της κυτταρικής μεμβράνης που επιτρέπουν εκλεκτικά την είσοδο ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα και διακρίνονται σε (Grandi, Morotti, Ginsburg, Severi, & Bers, 2010):

- τύπου L, υπεύθυνοι για το μεγαλύτερο ποσοστό ιόντων ασβεστίου που εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα, ενεργοποιούνται σε θετικές τιμές του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης, ενώ η απενεργοποίησή τους εξαρτάται και από τη σύνδεση της καλμοδουλίνης στο καρβοξυλικό άκρο του διαύλου και
- τύπου T, υπεύθυνοι για ένα πολύ μικρό ποσοστό.

Η έξοδος ιόντων ασβεστίου από το σαρκοενδοπλασματικό δίκτυο στο κυτταρόπλασμα πραγματοποιείται από τους υποδοχείς ρυανοδίνης του σαρκοενδοπλασματικού δικτύου. Συναντώνται ακριβώς απέναντι από τους διαύλους ασβεστίου και στραμμένοι προς την πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα τον συγχρονισμό της λειτουργίας τους (μία λειτουργική μονάδα, που ονομάζεται διπλώνας), δηλαδή την είσοδο ασβεστίου μέσω των διαύλων και την απελευθέρωση ασβεστίου από το σαρκοενδοπλασματικό δίκτυο και την εκπόλωση του κυττάρου. (Bers D. , 2008)

Η έναρξη της μηχανικής συστολής σηματοδοτείται από την πρόσδεση ιόντων ασβεστίου με την τροπονίνη C. Η είσοδος ιόντων ασβεστίου από τον εξωκυττάριο χώρο στο κυτταρόπλασμα ενεργοποιεί την έξοδο περισσότερων ιόντων ασβεστίου από το σαρκοενδοπλασματικό δίκτυο προς αυτό, η ενδοκυττάρια συγκέντρωση ιόντων ασβεστίου αυξάνεται κατά πολύ, και έτσι πραγματοποιείται η σύνδεση του με την τροπονίνη C και η έναρξη της μηχανικής συστολής. (Bers D. , 2008) Η απελευθέρωση του ασβεστίου του σαρκοενδοπλασματικού δικτύου

εξαιτίας του εξωκυττάριου ασβεστίου ονομάζεται απελευθέρωση του ασβεστίου από το ασβέστιο. (Bers, 2002) Όταν η ενδοκυττάρια συγκέντρωση του ασβεστίου φθάσει σε επίπεδα ικανά για την έναρξη της μηχανικής συστολής, η απελευθέρωση ασβεστίου από το σαρκοενδοπλασματικό δίκτυο διακόπτεται προσφέροντας τον κατάλληλο χρόνο στους υποδοχείς ρυανοδίνης να προετοιμαστούν για την επόμενη εκπόλωση.

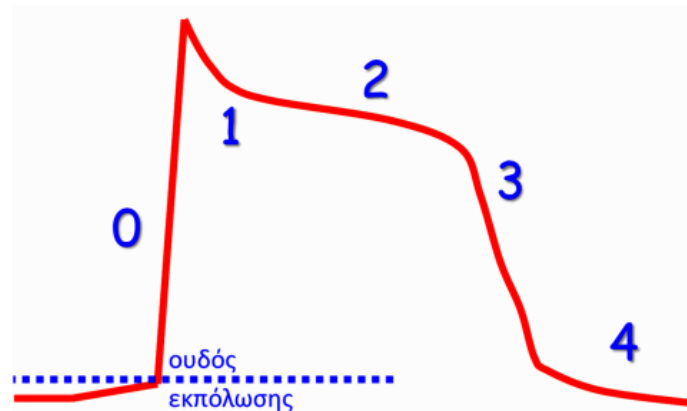
Η επάνοδος των συσταλών πρωτεϊνών σε κατάσταση ετοιμότητας για μία νέα μηχανική συστολή, ονομάζεται χάλαση και ξεκινά με τη μείωση της συγκέντρωσης των ιόντων ασβεστίου και στην αποδέσμευση των τους από την τροπονίνη-C. Διαταραχή της διαδικασίας μείωσης του ενδοκυττάριου ασβεστίου κατά τη διάρκεια της διαστολής συναντάται σε πολλές μορφές καρδιακής ανεπάρκειας και σε διαταραχές του καρδιακού ρυθμού. Παράλληλα, η παραμονή μεγάλων ποσοτήτων ιόντων ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα κατά τη διαστολή είναι ικανή να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο, μηχανισμός υπεύθυνος και για τη βλάβη επαναιμάτωσης του μυοκαρδίου σε περιπτώσεις οξέων ισχαιμικών συνδρόμων. (Κωλέττης, 2015)

Ο μεταφορέας ιόντων νατρίου/ασβεστίου ανταλλάσσει για ένα ιόν ασβεστίου που εξέρχεται από το κύτταρο, τρία ιόντα νατρίου που εισέρχονται σε αυτό. Με τον τρόπο αυτό απομακρύνεται περίπου το 1/3 της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου στον εξωκυττάριο χώρο, χωρίς να απαιτείται κατανάλωση ενέργειας για τη διαδικασία αυτή. (Κωλέττης, 2015)

Ως δυναμικό ενέργειας ονομάζουμε το σύνολο των μεταβολών του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης των μυοκαρδιακών κυττάρων σε σχέση με το χρόνο, από το δυναμικό ηρεμίας σε κατάσταση εκπόλωσης και την επαναφορά στην αρχική κατάσταση. Η διάρκεια αυτή στην άνθρωπο διαρκεί περίπου 350 msec. Η εκπόλωση και η επαναπόλωσης χωρίζονται σε 5 επιμέρους φάσεις, ως αποτέλεσμα της ενεργητικής και παθητικής μετακίνησης ιόντων και διακρίνονται στις ακόλουθες (Κωλέττης, 2015):

- Φάση 0, ταχεία εκπόλωση
- Φάση 1, πρώιμη ταχεία επαναπόλωση
- Φάση 2, φάση plateau

- Φάση 3, ταχεία επαναπόλωση είναι πιο σύνθετες και
- Φάση 4, ηλεκτρική διαστολή.



Εικόνα 9. Το δυναμικό ενέργειας των καρδιομυοκυττάρων. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Όπως παρατηρείται και από την Εικόνα 9, η κλίση της φάσης 4 είναι σχεδόν οριζόντια, οπότε τα μυοκαρδιακά κύτταρα δεν είναι ικανά να εκπολωθούν αυτόματα. Ως αποτέλεσμα είναι απαραίτητη τόσο η παραγωγή της εκπόλωσης από κάποιο κέντρο όσο και η μετάδοση της στα μυοκαρδιακά κύτταρα. Μετά την εκπόλωση του μυοκαρδίου, το ερέθισμα δεν δύναται να διατηρηθεί, αφού ο συγκεκριμένος ιστός μόλις έχει εκπολωθεί, οπότε βρίσκεται σε ανερέθιστη περίοδο. Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι είναι απαραίτητη η συνεχής παραγωγή εκπόλωσης και μάλιστα ανά τακτά χρονικά διαστήματα. (Κωλέττης, 2015)

Στην καρδιά υπεύθυνα για την πραγματοποίηση της εκπόλωσης υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι ένα σύνολο κυττάρων στον φλεβόκομβο. Ο φλεβόκομβος αποτελεί το φυσιολογικό βηματοδότη της καρδιάς και ως φυσιολογικός αυτοματισμός ορίζεται η ηλεκτρική εκπόλωση που προκαλείται εξαιτίας των μεταβολών των ιοντικών ρευμάτων κατά μήκος της μεμβράνης των κυττάρων του φλεβοκόμβου. Ο φλεβόκομβος βρίσκεται στο σημείο εκβολής της άνω κοίλης φλέβας στο δεξιό κόλπο (τελική αύλακα) και διαθέτει επιμήκης ατρακτοειδής δομή. (Κωλέττης, 2015)

Ο φλεβόκομβος αποτελείται από 2 τμήματα:

- το κεντρικό τμήμα, με τα πρωτεύοντα αυτοματικά κέντρα όπου η εκπόλωση πραγματοποιείται εξαιτίας της εισόδου ιόντων ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα
- το περιφερικό τμήμα, με τα δευτερεύοντα κέντρα όπου η εκπόλωση πραγματοποιείται κυρίως από είσοδο ιόντων νατρίου.

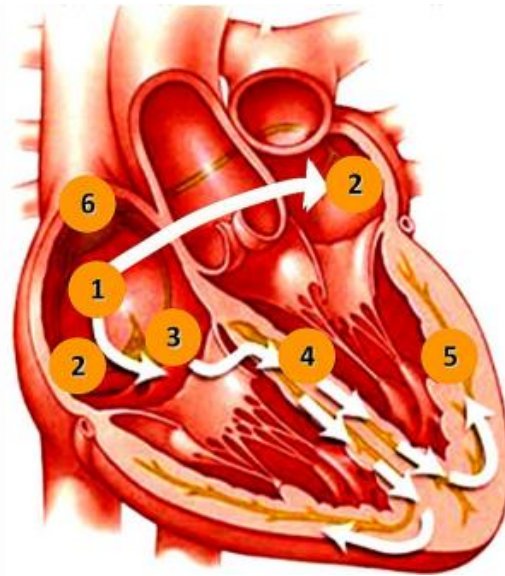


Εικόνα 10. Ο φλεβόκομβος και τα τμήματά του. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Ο φλεβόκομβος διαθέτει εγγενή συχνότητα εκπόλωσης περίπου 100/λεπτό. Το αυτόνομο νευρικό σύστημα, από το οποίο νευρώνεται σε μεγάλο βαθμό ο φλεβόκομβος τροποποιεί δραστικά τη συχνότητα αυτή εμφανίζοντας μεγάλο εύρος, 50-200/λεπτό. Ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού μεταβάλλεται και η συχνότητα της εκπόλωσης του (χρονοτρόπος δράση του φλεβόκομβου), με απώτερο σκοπό την εξοικονόμηση ενέργειας σε συνθήκες ηρεμίας (παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα), αλλά και την αύξηση της καρδιακής παροχής σε συνθήκες άσκησης (συμπαθητικό νευρικό σύστημα). (Κωλέττης, 2015)

Ως αγωγή της εκπόλωσης ορίζεται η μεταφορά της ηλεκτρικής εκπόλωσης από ένα τμήμα του μυοκαρδίου σε ένα άλλο. Συγκεκριμένα από το φλεβόκομβο συνεχίζει στους δύο κόλπους και τελικά στις κοιλίες μέσω της κολποκοιλιακής σύνδεσης και του εξειδικευμένου συστήματος αγωγής (δηλαδή το δεξιό/πρόσθιο και αριστερό/οπίσθιο σκέλος του δεματίου του). Η ταχύτητα αγωγής σε φυσιολογικές συνθήκες είναι παρόμοια τόσο στο μυοκάρδιο των κόλπων όσο και των κοιλιών είναι περίπου 0.5m/sec. Ένας

μη αγώγιμος ιστός παρεμβάλλεται μεταξύ των κόλπων και των κοιλιών και άρα η εκπόλωση των κοιλιών πραγματοποιείται μόνο μέσω της κολποκοιλιακής σύνδεσης, δηλαδή το δεμάτιο του His και τον κολποκοιλιακό κόμβο. (Iaizzo, 2009)



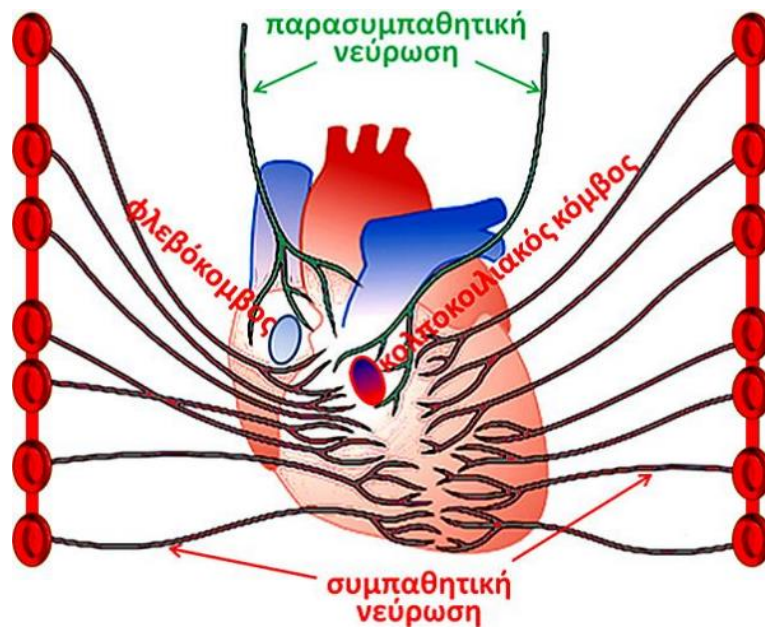
Εικόνα 11. Η αγωγή της εκπόλωσης από το φλεβόκομβο (1) στους δύο κόλπους (2) μέσω της κολποκοιλιακής σύνδεσης (3) και του εξειδικευμένου συστήματος αγωγής (4) στις δύο κοιλίες (5). Ακολουθεί επαναπόλωση και η όλη διαδικασία επαναλαμβάνεται (6). Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Ο κολποκοιλιακός κόμβος βρίσκεται στο κατώτερο-οπίσθιο τμήμα του μεσοκολπικού διαφράγματος και βασικός του ρόλος είναι η προστασία του μυοκαρδίου από υψηλή συχνότητα εκπόλωσης, διατηρώντας έτσι μία παρατεταμένη διαστολική περίοδο, με αποτέλεσμα η συχνότητα της εκπόλωσης των κοιλιών να είναι μικρότερη από αυτή των κόλπων σε περιπτώσεις κολπικής ταχυκαρδίας, πτερυγισμού ή μαρμαρυγής. Η φάση 0 του δυναμικού ενέργειας στον κολποκοιλιακό κόμβο ρυθμίζεται κατά κύριο λόγο και σε αυτή την περίπτωση από το ιοντικό ρεύμα ασβεστίου οπότε και από το αυτόνομο νευρικό σύστημα: αύξηση στον τόνο του συμπαθητικού νευρικού συστήματος αυξάνει και την ταχύτητα αγωγής. (Zaza & Rosen, 2000)

Από τον κολποκοιλιακό κόμβο και από το δεμάτιο του His, ένα δυναμικό ενέργειας εκπολώνει και τις δύο κοιλίες μέσω του συστήματος ενδοκοιλιακής αγωγής (σκέλη του δεματίου του His). Το σύστημα

ενδοκοιλιακής αγωγής είναι υπεύθυνο για τη σύγχρονη κοιλιακή εκπόλωση οπότε και τη σύγχρονη μηχανική συστολή των κοιλιών. (Zaza & Rosen, 2000)

Η καρδιά διαθέτει πλούσια αυτόνομη νεύρωση τόσο από συμπαθητικά όσο και από παρασυμπαθητικά προσαγωγά και απαγωγά νεύρα. Το αυτόνομο νευρικό σύστημα επηρεάζει μυοκάρδιο κόλπων και κοιλιών, μεταβάλλοντας την ανερέθιστη περίοδο των μυοκαρδιακών κυττάρων αλλά και την ισχύ της μηχανικής συστολής τους, προκαλεί παθολογικό αυτοματισμό στα κύτταρα αυτά και όπως έχει ήδη αναφερθεί μεταβάλλει τη συχνότητα εκπόλωσης του φλεβοκόμβου, την ταχύτητα αγωγής καθώς και την ανερέθιστη περίοδο των κυττάρων του κολποκοιλιακού κόμβου. (Palma & Benarroch, 2014)

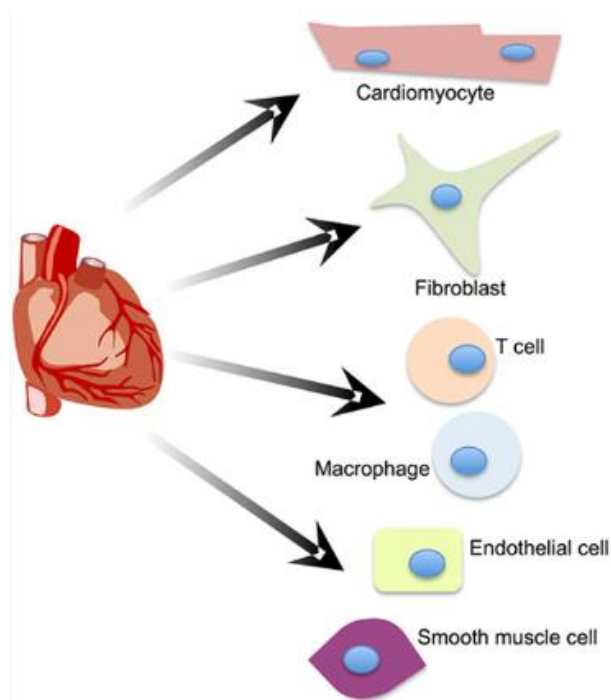


Εικόνα 12. Η αυτόνομη νεύρωση της καρδιάς. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

1.2.2. Άλλοι κυτταρικοί πληθυσμοί της καρδιάς.

Εκτός από τα καρδιομυοκύτταρα που αποτελούν περίπου το 30-40% των συνολικών κυττάρων μιας ώριμης καρδιάς, το υπόλοιπο 60-70% αποτελείται από άλλα είδη κυττάρων με την πλειονότητα αυτών να

ανήκουν στα ενδοθηλιακά κύτταρα. (Banerjee, et al., 2007) Τα περισσότερα είδη καρδιακών κυτταρικών πληθυσμών προέρχονται από το καρδιακό μεσόδερμα, ενώ από το επικάρδιο σχηματίζεται μεγάλο μέρος των ινοβλαστών και των λείων μυϊκών κυττάρων της καρδιάς. (Dettman, Denetclaw Jr, Ordahl, & Bristow, 1998)



Εικόνα 13. Οι βασικοί τύποι κυτταρικών πληθυσμών που συναντώνται στην ενήλικη καρδιά. Πηγή: <https://www.researchgate.net/>

Οι **ινοβλάστες της καρδιάς** (καρδιακοί ινοβλάστες) όπως ήδη αναφέρθηκε σχηματίζονται κατά κύριο λόγο από το επικάρδιο και σε μικρότερο ποσοστό από το ενδοκάρδιο και άλλες πηγές, εντοπίζονται μεταξύ των μυοκαρδιακών κυττάρων και αποτελούν το συνδετικό τους ιστό. Τα κύτταρα αυτά έχουν ατρακτοειδές σχήμα, εκτενές ενδοπλασματικό δίκτυο, υψηλή κοκκίωση του κυτταροπλάσματός τους, 1 πυρήνα και συνήθως 1-2 πυρηνίσκους. Εκκρίνουν ποικίλες εξωκυττάριες ουσίες, όπως κολλαγόνο και μεταλλοπρωτεΐνες και συμβάλλουν σε όλες τις βασικές λειτουργίες της καρδιάς μέσω των χασματικών συνδέσεών τους με τα καρδιομυοκύτταρα. (Camelliti, Borg, & Kohl, 2005) Αν και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην επούλωση του μυοκαρδίου, πιθανή υπερπαραγωγή εξωκυττάριων ουσιών από αυτά δύναται να οδηγήσει σε

μεσοκυτταρική ίνωση, αναδιαμόρφωση του μυοκαρδίου, ακαμψία κοιλιών ακόμη και καρδιακή ανεπάρκεια. (Frangogiannis, 2019)

Τα **ενδοθηλιακά κύτταρα** αποτελούν το μεγαλύτερο πληθυσμό των καρδιακών κυττάρων και προέρχονται από το μεσόδερμα. Παρουσιάζουν πληθυσμιακή και τοπολογική ετερογένεια, διαθέτουν πλακοειδές σχήμα και 1 πυρήνα. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο τόσο κατά την ανάπτυξη και την αγγειογένεση όσο και στην ενήλικη φάση καθώς και σε παθολογικές καταστάσεις. Επικοινωνούν και αυτά με τα μυοκαρδιοκύτταρα μέσω χασματικών συνδέσεων. Εκκρίνουν πεπτίδια και διάφορα μικρά μόρια (π.χ. NO) αλλά και ποικίλες πρωτεΐνες, ρυθμίζοντας τη δομή, τη λειτουργία αλλά και τη σύσπαση των μυοκαρδιοκυττάρων. (Meilhac & Buckingham, 2018)

Τα **λεία μυϊκά κύτταρα** της καρδιάς εντοπίζονται περιμετρικά των αγγείων που περιβάλλουν την καρδιά, ρυθμίζουν τη ροή του αίματος και προέρχονται κατά κύριο λόγο από το επικάρδιο. Το σχήμα τους είναι ατρακτοειδές, διαθέτουν 1 πυρήνα και ινίδια ακτίνης και μυοσίνης, όχι όμως σαρκομερή και συνδεόνται μεταξύ τους με ενδιάμεσες συνδέσεις. (Draeger, Amos, Ikebe, & Small, 1990)

Υπάρχουν και μερικά ακόμα κύτταρα που δεν ανήκουν άμεσα στα κυτταρικά είδη της καρδιάς αλλά διαθέτουν υποστηρικτικό και λειτουργικό ρόλο τόσο κατά τη φυσιολογική όσο και στην παθολογική κατάσταση της καρδιάς. Έτσι συναντώνται τα **μακροφάγα** που συμβάλλουν στην ανοσολογική απόκριση της καρδιάς αλλά και στην αναγέννηση του μυοκαρδίου, καθώς και άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως τα T και B λεμφοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα κ.α. Επίσης εντοπίζονται τα **τελοκύτταρα** σε διάφορες θέσεις, τα οποία σχηματίζουν ένα τρισδιάστατο σύστημα που ρυθμίζει την κυτταρική επικοινωνία μέσω συνδέσεων και κυστιδίων, ενώ θεωρείται ότι συμβάλλουν και στην αναγέννηση του μυοκαρδίου καθώς συναντώνται και σε θώκους βλαστικών κυττάρων στο επικάρδιο και τα **περικύτταρα** που φαίνεται να ρυθμίζουν τη ροή του αίματος της μικρής κυκλοφορίας αλλά τη διαπερατότητα και ομοιόσταση των αγγείων. Τέλος, συναντώνται και τα **προγονικά κύτταρα** της καρδιάς, τα οποία κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες μπορούν να διαφοροποιηθούν και στα 3 βασικά είδη καρδιακών

κυττάρων (μυοκαρδιακά, λεία μυϊκά και ενδοθηλιακά) τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. (Pinto, et al., 2016)

1.3. Καρδιακές παθήσεις.

Οι καρδιακές παθήσεις αποτελούν μέχρι και σήμερα μία από τις σοβαρότερες απειλές για τη δημόσια υγεία σε παγκόσμιο επίπεδο και παρόλες τις αξιοσημείωτες σύγχρονες θεραπευτικές εξελίξεις, η πρόγνωση των ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια παραμένει φτωχή. Οι σύγχρονες θεραπευτικές προσεγγίσεις σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια φαίνεται ότι αυξάνουν τη διάρκεια ζωής, όμως μέχρι στιγμής δεν έχει αναφερθεί κανένα δεδομένο που να αποδεικνύει ότι υπήρξαν προσπάθειες αποκατάστασης του καρδιακού ιστού. Για το λόγο αυτό, απαιτούνται καινοτόμες θεραπείες ικανές να μειώσουν το ποσοστό της θνησιμότητας, που προκαλείται από την καρδιακή ανεπάρκεια αλλά και που θα απαλείψουν την ανάγκη μεταμόσχευσης καρδιάς. (Rikhtegar, et al., 2019)

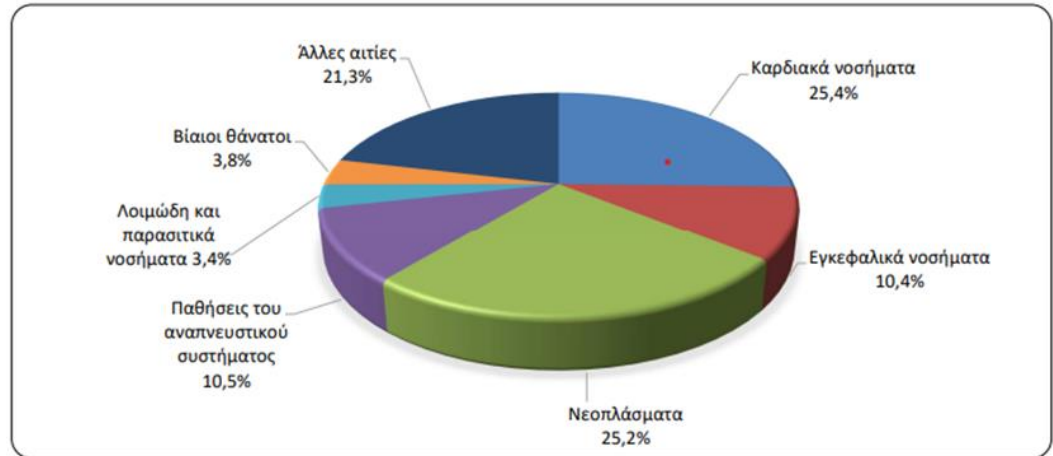
Στην Ελλάδα τα καρδιακά νοσήματα φαίνεται να αφορούν το ¼ των περιπτώσεων θανάτου για τα έτη 2014-2018 και την πρώτη αιτία θανάτου, ακολουθούμενη από τα νεοπλάσματα, όπως φαίνεται και στα στοιχεία της Ελληνικής Στατιστικής Αρχής, για το έτος 2018 (Ελληνική Στατιστική Αρχή, 2021):

Πίνακας 2. Κύριες κατηγορίες θανάτου για τα έτη 2014-2018

(Ελληνική Στατιστική Αρχή, 2021).

Έτος	2014	2015	2016	2017	2018
Σύνολο θανάτων	113.740	121.183	118.788	124.495	120.291
Καρδιακά νοσήματα	29.664	30.592	28.917	31.618	30.526
Εγκεφαλικά νοσήματα	14.279	14.445	13.779	13.797	12.574
Νεοπλάσματα	29.508	30.252	30.673	30.567	30.331
Παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος	12.751	14.835	13.809	13.847	12.668
Λοιμώδη και παρασιτικά νοσήματα	3.515	3.936	4.013	4.165	4.054
Βίαιοι θάνατοι	3.554	3.946	4.062	4.391	4.518
Άλλες αιτίες	20.469	23.177	23.535	26.110	25.620

Διάγραμμα 1. Ποσοστιαία κατανομή θανάτων ανά κατηγορία αιτιών θανάτου για το 2018 (Ελληνική Στατιστική Αρχή, 2021).



Στη συνέχεια παρουσιάζονται μερικές από τις πιο κοινές και δυνητικά σοβαρές παθήσεις της καρδιάς, που απασχολούν το μεγαλύτερο μέρος του παγκόσμιου πληθυσμού αλλά της επιστημονικής κοινότητας.

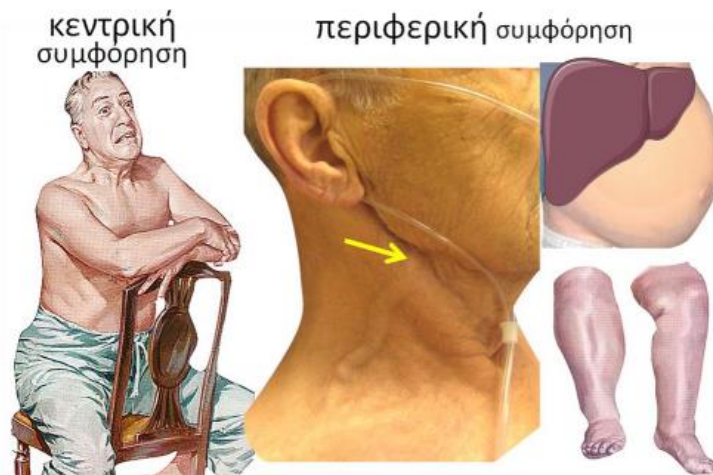
1.3.1. Καρδιακή ανεπάρκεια.

Διάφορες καρδιαγγειακές παθήσεις έχουν την ικανότητα να προσβάλλουν και να βλάψουν την καρδιά καταλήγοντας ακόμα και σε καρδιακή ανεπάρκεια. Η καρδιακή ανεπάρκεια με τη σειρά της οδηγεί στη διέγερση του θανάτου των καρδιομυοκυττάρων, στη δημιουργία ίνωσης, και στην αναδιαμόρφωση της κοιλίας. (Rikhtegar, et al., 2019)

Η καρδιακή ανεπάρκεια θεωρείται μια πολύ σοβαρή και βαριά διαταραχή, με υψηλά ποσοστά προσβολών αλλά και θανάτων παγκοσμίως, λαμβάνοντας έτσι διαστάσεις επιδημίας ιδίως στις αναπτυγμένες χώρες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί αυτό των ΗΠΑ, στην οποία η καρδιακή ανεπάρκεια αναφέρεται ότι επηρεάζει περίπου 6.000.000 άτομα, με περισσότερους από 300.000 θανάτους ετησίως, προκαλώντας κόστος περισσότερο των 40 δισεκατομμυρίων δολαρίων στις υπηρεσίες της υγειονομικής περίθαλψης, παρόλο που εκτιμάται ότι το ποσοστό των

ασθενών που απευθύνονται στα νοσοκομεία παραμένει ακόμη χαμηλό. (Rikhtegar, et al., 2019) Στην Ευρώπη καταγράφονται περίπου 13 νέα περιστατικά/10000 κατοίκους κάθε χρόνο, ηλικίας μεγαλύτερης των 65 ετών στην πλειονότητά τους. (Κωλέττης, 2015)

Ως καρδιακή ανεπάρκεια ορίζεται η παθοφυσιολογική κατάσταση, στην οποία η καρδιά και η λειτουργία της δεν ανταποκρίνονται στις μεταβολικές ανάγκες του οργανισμού και η οποία οφείλεται σε διάφορες παθήσεις της καρδιάς ή και συνδυασμό αυτών, ενώ συνοδεύεται και από αυξημένη θνητότητα. Αποτέλεσμα της καρδιακής ανεπάρκειας αποτελεί η μείωση της καρδιακής παροχής και η αύξηση της πίεσης πλήρωσης. Η καρδιακή ανεπάρκεια διακρίνεται σε χρόνια διαταραχή με πλήρη ανάπτυξη των αντιρροπιστικών μηχανισμών και στην οξεία με γρήγορη εξέλιξη, σοβαρές παθολογικές πιέσεις στις καρδιακές κοιλότητες αλλά και μειωμένη καρδιακή παροχή. Τα κύρια κλινικά συμπτώματα της καρδιακής ανεπάρκειας είναι η δύσπνοια (δυσλειτουργία των αριστερών κοιλοτήτων, πνευμονική συμφόρηση) και τα περιφερικά οιδήματα, η σφαγιτιδική πίεση, η ηπατομεγαλία και ο ασκίτης (δυσλειτουργία των δεξιών κοιλοτήτων). (Κωλέττης, 2015)



Εικόνα 14. Δύσπνοια και περιφερικά οιδήματα. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

1.3.2. Στεφανιαία νόσος.

Στη στεφανιαία νόσο μία ή και περισσότερες από τις στεφανιαίες αρτηρίες έχουν υποστεί στένωση λόγω της συσσώρευσης πλάκας χοληστερόλης (αθηρωματική πλάκα) στα τοιχώματά τους. Πιο ειδικά, με την αθηρωμάτωση των επικαρδιακών στεφανιαίων αρτηριών προκαλείται πάχυνση του τοιχώματος του εκάστοτε αγγείου και επακόλουθη στένωση του αυλού του, με συχνό κίνδυνο το σχηματισμό θρόμβου. (Κωλέττης, 2015)

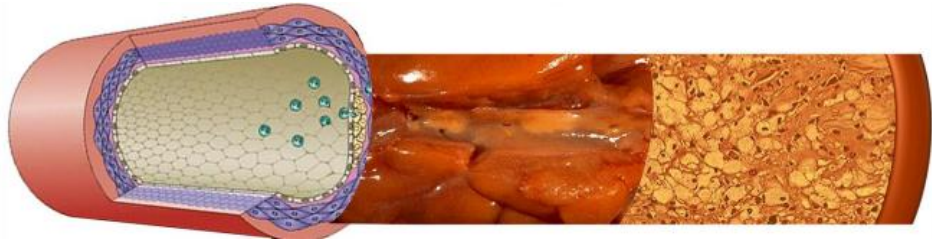


Εικόνα 15. Α. Στεφανιαία αρτηρία χωρίς θρόμβους, Β. Στεφανιαία αρτηρία με θρόμβους. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Συνέπεια αυτού του γεγονότος αποτελεί η μείωση της ποσότητας του οξυγόνου και των θρεπτικών συστατικών που καταλήγουν στον καρδιακό μυ, προκαλώντας αρκετές φορές στηθάγχη κατά την άσκηση. Με τη σειρά της η έλλειψη αυτή αναγκάζει τον καρδιακό μυ να «δουλεύει» εντονότερα για να επιτύχει την απαραίτητη διοχέτευση αίματος στον οργανισμό. Αξίζει στο σημείο αυτό να αναφερθεί ότι η αθηρωμάτωση των στεφανιαίων αρτηριών αποτελεί και θα συνεχίζει σταθερά να αποτελεί και μελλοντικά τη συχνότερη αιτία θανάτου σε παγκόσμιο επίπεδο. (Mathers & Loncar, 2006)

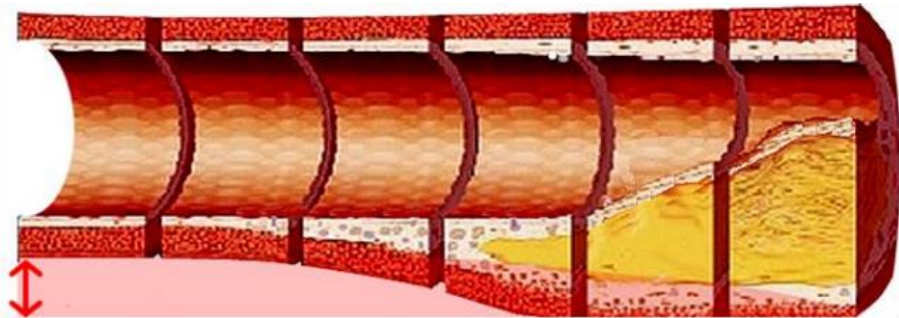
Κατά το σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας, σε αρχικό επίπεδο, η βλάβη εντοπίζεται στο ενδοθήλιο των στεφανιαίων αρτηριών και από την εναπόθεση οξειδωμένης λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας). Στη συνέχεια ενεργοποιημένα μονοκύτταρα εισβάλλουν στην υπενδοθηλιακή περιοχή, μεταπίπτουν σε μακροφάγα και τελικά στα λεγόμενα αφρώδη κύτταρα. Έπειτα οι λείες μυϊκές ίνες στο μέσο χιτώνα πολλαπλασιάζονται και διάφοροι αυξητικοί παράγοντες προκαλούν την

παραγωγή εξωκυττάριου συνδετικού ιστού. Η αθηρωματική πλάκα που σχηματίζεται αποτελείται από τον κεντρικό λιπώδη πυρήνα εστεροποιημένης χοληστερόλης σε κρυσταλλική μορφή και από μία ινώδη κάψα που τον περιβάλλει. (Stary & et al, 1994)



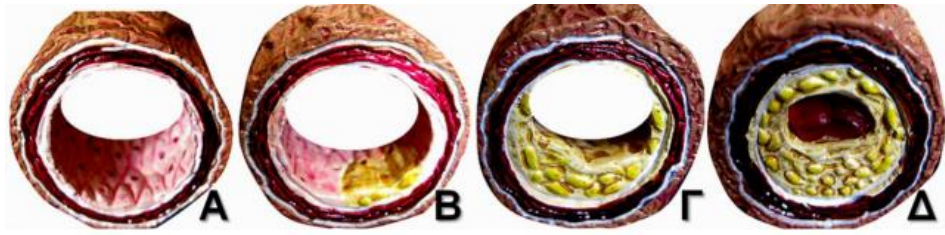
Εικόνα 16. Αφρώδη κύτταρα και λιπώδεις γραμμώσεις κατά την πρώιμη φάση της αθηρωμάτωσης. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Η αθηρωματική πλάκα καθώς αρχίζει να διογκώνεται προκαλεί διάταση του έξω χιτώνα της αρτηρίας (αγγειακή αναδιαμόρφωση ή φαινόμενο Glagov). (Κωλέττης, 2015)



Εικόνα 17. Αναδιαμόρφωση του στεφανιαίου αγγείου. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Η αθηρωμάτωση ποικίλλει στην εξέλιξή της, οπότε και μπορεί να αναπτύσσεται είτε με αργούς ρυθμούς για πολλά χρόνια χωρίς συμπτώματα, είτε να αυξάνεται γρήγορα, προκαλώντας σημαντική στένωση του αυλού της στεφανιαίας αρτηρίας και τελικά ισχαιμία, με το ρυθμό αυτό να εναλλάσσεται ακόμα και στον ίδιο ασθενή. (Κωλέττης, 2015)



Εικόνα 18. Α. Φυσιολογικό αγγείο, Β. Πρωτο-σχηματιζόμενες λιποειδείς γραμμώσεις, Γ. Αθηρωματική πλάκα, Δ. Στάδιο πιθανής θρόμβωσης. Πηγή: (Κωλέττης, 2015)

Συχνή επιπλοκή αποτελεί η ρήξη της η ινώδους κάψας της αθηρωματικής πλάκας προκαλώντας ένα οξύ στεφανιαίο σύνδρομο. Η ρήξη πραγματοποιείται συνήθως στο λεπτό και λιγότερο ανθεκτικό σημείο συμβολής της ινώδους κάψας με το φυσιολογικό ενδοθήλιο. Οι αθηρωματικές πλάκες διαχωρίζονται σε σταθερές και ευάλωτες. Οι σταθερές πλάκες είναι πλούσιες σε κολλαγόνο και λείες μυϊκές ίνες, ενώ οι ευάλωτες πλάκες διαθέτουν λεπτή ινώδη κάψα και έκκεντρο πυρήνα, που αποτελείται από μακροφάγα και αφρώδη κύτταρα. (Κωλέττης, 2015)

Οι παράγοντες που συνδέονται με την εμφάνιση της αθηρωμάτωσης περιλαμβάνουν την δυσλιπιδαιμία, διατημητική τάση, ο αγγειακός τόνος και η τοπική φλεγμονή, ενώ οι παράγοντες πρόκλησης ρήξης της αθηρωματικής πλάκας χρήζουν διερεύνησης. Αλλαγές στον τρόπο ζωής και διάφορες ιατρικές παρεμβάσεις δύναται να αποτρέψουν περαιτέρω βλάβες μέσω της μείωσης του ρυθμού εναπόθεσης της πλάκας στις αρτηρίες εμποδίζοντας με τον τρόπο αυτό μια πιθανή μελλοντική καρδιακή ανεπάρκεια. (Κωλέττης, 2015)

Μυοκαρδιακή ισχαιμία εμφανίζεται όταν δεν καλύπτονται οι ανάγκες του μυοκαρδίου σε οξυγόνο, από τη στεφανιαία ροή, μετατρέποντας το μεταβολισμό των κυττάρων του από αερόβιο σε αναερόβιο με τις επακόλουθες ηλεκτρικές και μηχανικές διαταραχές. Η μείωση της στεφανιαίας ροής δύναται να προκληθεί από διάφορους παράγοντες όπως είναι η στένωση των επικαρδιακών στεφανιαίων αρτηριών, η αύξηση των στεφανιαίων αντιστάσεων, αυξημένη ανάγκη του μυοκαρδίου σε οξυγόνο, η μειωμένη ικανότητα του αίματος να μεταφέρει οξυγόνο κ.α. (Κωλέττης, 2015)

Η φαρμακευτική αντιμετώπιση της στεφανιαίας νόσου περιλαμβάνει ουσίες που συμβάλλουν στην επιβράδυνση της εξέλιξης της νόσου και ουσίες που μειώνουν τα συμπτώματα. Στην 1^η κατηγορία ανήκουν οι στατίνες (μείωση επιπέδων χοληστερίνης στο αίμα) και τα αντιαιμοπεταλιακά που παρεμποδίζουν τη συγκέντρωση των αιμοπεταλίων και την έμφραξη των αρτηριών. Στη 2^η κατηγορία ανήκουν τα νιτρώδη (διαστολή αρτηριών) και οι β-αναστολείς (η καρδιά καταναλώνει λιγότερο οξυγόνο για την ίδια προσπάθεια), με σκοπό τη μείωση του συμπτώματος της στηθάγχης στους ασθενείς. (Κωλέττης, 2015)

1.3.3. Υπέρταση.

Υπέρταση ονομάζεται η υψηλή πίεση στα αιμοφόρα αγγεία. Η φυσιολογική τιμή της αρτηριακής πίεσης διαφέρει από ηλικία σε ηλικία (αυξάνεται με την ηλικία), αλλά ως γενικός κανόνας ισχύει ότι αρτηριακή πίεση άνω των [140 (συστολική)/80 (διαστολική)] mmHg δύναται να επιβαρύνει την καρδιακή λειτουργία, αυξάνοντας τα ανεπιθύμητα συμπτώματα, αν και σπάνια οι ασθενείς αισθάνονται ιδιαίτερες ενοχλήσεις και η ανακάλυψη της πραγματοποιείται συχνά από κάποια τυχαία μέτρηση. Η υπέρταση σε περίπτωση που δε διαχειριστεί ιατρικά είναι ικανή να οδηγήσει σε αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης αρτηριοσκλήρυνσης, καρδιακής ανεπάρκειας, καρδιακής προσβολής, αρρυθμίας, εγκεφαλικού και δυσλειτουργίας νεφρών. (Russel Sneddon, 2004)

Η καρδιακή ανεπάρκεια εξαιτίας της αυξημένης αρτηριακής πίεσης μπορεί να προκύψει μέσω δύο μηχανισμών (Russel Sneddon, 2004):

- A. Εμφάνιση στένωσης, συστολή και αυξημένης αντίστασης στα αιμοφόρα αγγεία και επακόλουθη μειωμένη ροή στον καρδιακό μυ, που μπορεί να οδηγήσει σε τραυματισμό ή εξασθένηση της καρδιάς.
- B. Αύξηση «φορτίου εργασίας» της καρδιάς αφού υποχρεώνεται να αντλήσει το αίμα πιο δυνατά από το φυσιολογικό, ώστε να διατηρηθεί η κυκλοφορία του αίματος. Ο καρδιακός μυς αυξάνει σε πάχος και σε μέγεθος για να εξισορροπήσει την πίεση, με

αποτέλεσμα την αδυναμία της καρδιάς να αντλήσει τόσο δυνατά το αίμα όσο απαιτείται , οδηγώντας με τον τρόπο αυτό σε συμπτωματική καρδιακή ανεπάρκεια.

Στους παράγοντες κινδύνου εμφάνισης υψηλής αρτηριακής πίεσης, που δεν οφείλονται στην κατανάλωση συγκεκριμένων τροφών και ποτών ή στο κάπνισμα, συγκαταλέγονται (Russel Sneddon, 2004):

- η ηλικία (πιο συχνή στους ηλικιωμένους >50 ετών)
- το φύλο (<50 ετών πιο συχνή στους άνδρες, > 50 ετών πιο συχνή στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες)
- η φυλή (πιο συχνή σε αφροαμερικανούς απ' ό,τι στους καυκάσιους)
- η παχυσαρκία (η υπέρταση και ο Δείκτης Μάζας Σώματος συνδέονται με γραμμική συσχέτιση)
- ο διαβήτης (η μία ασθένεια επηρεάζει την άλλη).

Η θεραπεία της αρτηριακής πίεσης περιλαμβάνει τόσο αλλαγές στον τρόπο ζωής (Russel Sneddon, 2004):

- περιορισμός νατρίου στη διατροφή
- μείωση κατανάλωσης ζάχαρης
- μείωση κατανάλωσης αλκοόλ
- αύξηση της σωματικής άσκησης
- διακοπή καπνίσματος
- διαχείριση χρόνιου άγχους,

όσο και φαρμακευτική προσέγγιση. Σε πρώτο στάδιο χορηγούνται φάρμακα, τα οποία μειώνουν την αρτηριακή πίεση και αν αυτή δε ρυθμιστεί χορηγούνται ανάλογα με την περίπτωση επιπλέον φάρμακα. Οι κατηγορίες φαρμάκων που χορηγούνται συχνά σε ασθενείς με υψηλή αρτηριακή πίεση είναι (Russel Sneddon, 2004):

- οι αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (αναστολείς ΜΕΑ)
- οι Β-αναστολείς
- οι αναστολείς διαύλων ασβεστίου

- οι αναστολείς των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης (ΑΥΑ) ή ο αναστολέας υποδοχέων αγγειοτενσίνης/αναστολέας νεπριλυσίνης (ARNI)
- οι ανταγωνιστές αλδοστερόνης
- τα θειαζιδικά διουρητικά.

1.3.4. Κολπική μαρμαρυγή.

Η κολπική μαρμαρυγή είναι ο μη φυσιολογικός (ακανόνιστος) καρδιακός ρυθμός ή αλλιώς η καρδιακή αρρυθμία, η οποία μπορεί να παρουσιάζεται ως ένας πολύ γρήγορος καρδιακός ρυθμός στην απεικόνιση ενός ηλεκτροκαρδιογραφήματος. Αρκετά συχνά συνδυάζεται με την καρδιακή ανεπάρκεια. Σε ορισμένους ασθενείς εμφανίζονται συμπτώματα και σε άλλους όχι. Στα συμπτώματα της κολπικής μαρμαρυγής ανήκουν η δύσπνοια, η κόπωση, το θωρακικό άλγος, η κακή ανοχή στην άσκηση, η ζάλη, το αίσθημα παλμών κ.α. (Κωλέττης, 2015)

Στην κολπική μαρμαρυγή οι κόλποι της καρδιάς χαρακτηρίζονται από ασυντόνιστη ηλεκτρική ενεργοποίηση, οδηγώντας έτσι σε μη αποτελεσματική κολπική συστολή. Οι κόλποι χάνουν τη σύσπασή τους, επιδεινώνεται η λειτουργία της αντλίας, ενώ η στασιμότητα του αίματος στους κόλπους είναι πιθανόν να συμβάλλει στη δημιουργία θρόμβων και στην εμφάνιση εγκεφαλικού επεισοδίου. Η κολπική μαρμαρυγή δύναται να είναι παροξυσμική (εμφανίζεται και έπειτα τερματίζεται αυτόματα) ή επίμονη/μόνιμη, δηλαδή συνεχής. (Κωλέττης, 2015)

Στην κολπική μαρμαρυγή οι παράγοντες που συμβάλλουν στην εμφάνιση και στην ανάπτυξη της είναι (Κωλέττης, 2015):

- η υπέρταση
- η στεφανιαία νόσος
- η καρδιακή ανεπάρκεια
- η χρόνια νεφρικής νόσος
- ο διαβήτης
- η προχωρημένη ηλικία

- το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ
- η παχυσαρκία
- η αποφρακτική άπνοια ύπνου.

Η κολπική μαρμαρυγή αντιμετωπίζεται με διάφορες προσεγγίσεις που περιλαμβάνουν (Κωλέττης, 2015):

- την αντιπηκτική αγωγή για την αραιώση του αίματος (λαμβάνοντας υπόψη την αντίστοιχη πιθανότητα εγκεφαλικού επεισοδίου ή αιμορραγίας αντίστοιχα)
- τον έλεγχο της καρδιακής συχνότητας ή του καρδιακού ρυθμού (π.χ. αντιαρρυθμικά φάρμακα ή θεραπείες υπό αναισθησία)
- τη διαχείριση των παραγόντων κινδύνου (αλλαγή στον τρόπο ζωής).

1.3.5. Βαλβιδική καρδιακή νόσος.

Η βαλβιδική καρδιακή νόσος μπορεί είναι η πάθηση που μπορεί να εμφανιστεί σε μία ή περισσότερες από τις 4 βαλβίδες της καρδιάς. Οι βαλβίδες με το πέρασμα το χρόνου και ιδίως κατά τη γήρανση μπορούν να υποστούν φυσική φθορά. Άλλοι λόγοι είναι η βακτηριακή λοίμωξη, η ρευματική καρδιοπάθεια ή συγγενείς ανωμαλίες, οδηγώντας πιθανόν και αυτή να οδηγήσει σε καρδιακή ανεπάρκεια. Μια ακόμα περίπτωση βλάβης των καρδιακών βαλβίδων αποτελεί η ίδια η καρδιακή ανεπάρκεια, το μειωμένο κλάσμα εξώθησης καθώς και η διόγκωση και η διαστολή των καρδιακών κοιλοτήτων. (Κωλέττης, 2015)

Για τη διάγνωση της βαλβιδικής καρδιακής νόσου απαιτούνται η αναλυτική αξιολόγηση του ιστορικού του ασθενούς, η κλινική εξέταση και η ακρόαση της καρδιάς με στηθοσκόπιο, το ηχοκαρδιογράφημα, ο καρδιακός μαγνητικός συντονισμός (CMR) και η υπολογιστική τομογραφία (CT) (Κωλέττης, 2015).

Οι αλλοιώσεις και στις 4 βαλβίδες δύνανται να οδηγήσουν σε 1 από τις 2 ή και στις 2 ακόλουθες παθήσεις (Κωλέττης, 2015):

1. Ανεπάρκεια ή αλλιώς παλινδρόμηση βαλβίδας: η βαλβίδα αδυνατεί να αποτρέψει την αντίστροφη ροή αίματος εξαιτίας της μη σωστής σύνδεσης των γλωχίνων
2. Στένωση βαλβίδας: μείωση του ανοίγματος της βαλβίδας και εμπόδιση επαρκούς εκροής αίματος (ιδίως κατά την άσκηση).

Από τις παθήσεις αυτές 3 τύποι τους απαντώνται πιο συχνά σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια (Κωλέττης, 2015):

- i. Ανεπάρκεια μιτροειδούς: η πιο κοινή βαλβιδική καρδιακή νόσος. Η μιτροειδής βαλβίδα αδυνατεί να κλείσει σωστά τη στιγμή που η καρδιά αντλεί αίμα από την αριστερή κοιλία στην αορτή, με αποτέλεσμα τη μη φυσιολογική διαρροή αίματος προς στον αριστερό κόλπο (παλινδρόμηση). Προκαλείται είτε από νόσο της ίδιας της μιτροειδούς βαλβίδας είτε από τη διάταση της αριστερής κοιλιακής κοιλότητας εξαιτίας της καρδιακής ανεπάρκειας. Οι ασθενείς παρουσιάζουν αυξανόμενα συμπτώματα δύσπνοιας, στηθάγχης και ταχυκαρδίας, στους οποίους και συνιστάται χειρουργική επέμβαση για την αποκατάσταση ή αντικατάσταση της μιτροειδούς βαλβίδας.
- ii. Στένωση αορτής: παρατηρείται πάχυνση του βαλβιδικού δακτυλίου ή των γλωχίνων κυρίως λόγω ασβεστοποίησης. Η αριστερή κοιλία αποβάλλει αίμα στην αορτή και έπειτα μεταφέρεται στο υπόλοιπο σώμα. Ο καρδιακός μυς αναγκάζεται να «εργαστεί» περισσότερο καταλήγοντας σε πάχυνση, όπως συμβαίνει και στην υψηλή αρτηριακή πίεση. Είναι πιο κοινή στους ηλικιωμένους με συμπτώματα τη δύσπνοια, τη στηθάγχη και τη λιποθυμία. Ανάλογα με τη σοβαρότητα της νόσου η θεραπευτική προσέγγιση περιλαμβάνει την τακτική κλινική αξιολόγηση σε ασθενείς χωρίς συμπτώματα και με ήπια – μέτρια στένωση και την τυπική αντικατάσταση της αορτικής βαλβίδας με εγχείρηση ανοικτής καρδιάς ή τη διαδερμική αντικατάσταση της σε ασθενείς με συμπτώματα και με σοβαρή βαλβιδοπάθεια.
- iii. Αορτική παλινδρόμηση: εμφανίζεται εξαιτίας της διαρροής αίματος από την αορτική βαλβίδα στην αριστερή κοιλία, η οποία

και διαστέλλεται, καρδιακός μυς αναγκάζεται και πάλι να «εργαστεί» εντονότερα για να αποβάλει περισσότερο αίμα. Τα συμπτώματα αποτελούν η δύσπνοια, η ταχυκαρδία και η στηθάγχη. Οι ασθενείς με ήπια ή μέτρια αορτική παλινδρόμηση αρκούνται στην τακτική κλινική εξέταση, ενώ ασθενείς με συμπτώματα και με σοβαρή αορτική παλινδρόμηση αλλά και σε ασθενείς χωρίς συμπτώματα μεν αλλά με μειωμένο κλάσμα εξώθησης δε, η αποκατάσταση ή αντικατάσταση της αορτικής βαλβίδας μέσω εγχείρησης ανοικτής καρδιάς ενδείκνυται.

1.3.6. Μυοκαρδιοπάθειες.

Οι παθήσεις του καρδιακού μυός (των καρδιομυοκυττάρων) ονομάζονται μυοκαρδιοπάθειες και είναι ικανές να οδηγήσουν σε καρδιακή ανεπάρκεια. Διαχωρίζονται σε πρωτογενείς στην περίπτωση που πλήττουν αποκλειστικά το μυοκάρδιο και σε δευτερογενείς όταν πλήττονται και άλλα όργανα (πολυστημική). (Κωλέττης, 2015) Σε αντίθεση με τα προβλήματα που αφορούν την παροχή αίματος στην καρδιά (στεφανιαία νόσος, ισχαιμία) προκαλούνται από γενετικές μεταλλάξεις ή από άλλες επίκτητες αιτίες όπως είναι οι λοιμώξεις, οι αυτοάνοσες ασθένειες, η κατάχρηση αλκοόλ ή ναρκωτικών, η χημειοθεραπεία, συστηματικές/αυτοάνοσες ασθένειες κ.α .

Οι μυοκαρδιοπάθειες ποικίλλουν αλλά συναντώνται κυρίως 2 τύποι αυτών (Κωλέττης, 2015):

1. Η διατακτική: ασθενείς με μειωμένη καρδιακή λειτουργία ακόμη και με καρδιακή ανεπάρκεια. Αποτελεί την 3^η πιο κοινή μυοκαρδιοπάθεια και την 1^η αιτία που οδηγεί σε μεταμόσχευση καρδιάς. Μειώνεται η συσταλικότητα της αριστερής κοιλίας, ενώ μπορεί να προκληθεί κοιλιακή και υπερκοιλιακή αρρυθμία, θρομβοεμβολισμός, ανωμαλίες στην αγωγιμότητα και θάνατος. Οφείλεται τόσο σε εξωγενείς παράγοντες (αλκοόλ, μολύνσεις κ.α.) όσο και σε γενετικούς (περίπου το 30% των περιπτώσεων).

2. Η υπερτροφική: ασθενείς με πάχυνση και σκλήρυνση του μυός της αριστερής κοιλίας, αλλά όχι διάταση. Αποτελεί μία συχνή (1:500) αυτοσωμική επικρατή κληρονομήσιμη ασθένεια, η οποία δεν προκαλεί συμπτώματα αλλά μπορεί να οδηγήσει σε αιφνίδιο θάνατο.

Άλλες λιγότερο συχνές μυοκαρδιοπάθειες είναι η περιοριστική και η αρρυθμιογενής μυοκαρδιοπάθεια. Η διάγνωση των μυοκαρδιοπαθειών οφείλει να περιλαμβάνει ένα εκτενή και εις βάθος έλεγχο για την αποκάλυψη επίκτητων αιτιών (π.χ. προηγούμενη χημειοθεραπεία), γενετική συμβουλευτική και έλεγχο, απεικόνιση, δείγματα αίματος και όπου ενδείκνυται, βιοψίες (Κωλέττης, 2015).

1.3.7. Συγγενείς καρδιοπάθειες.

Οι συγγενείς καρδιοπάθειες είναι αποτέλεσμα της παθολογικής οργανογένεσης, η οποία μεταβάλλει την αιμοδυναμική της μικρής ή και της μεγάλης κυκλοφορίας. Δηλαδή, η καρδιά δε σχηματίζεται σωστά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και η ροή του αίματος στην καρδιά ή και στα παρακείμενα αγγεία αποφράσσεται ή διαθέτει μη φυσιολογικές συνδέσεις. Συγγενείς ανωμαλίες της καρδιάς παρατηρούνται σε περίπου 7 ανά 1000 γεννήσεις. (Hoffman & Kaplan, 2002) Σε λιγότερο σοβαρές περιπτώσεις (δίπτυχη αορτική βαλβίδα, μικρές μεσοκοιλιακές ή μεσοκολπικές επικοινωνίες) η διάγνωση καθυστερεί και πραγματοποιείται σε μεγαλύτερη ηλικία. (Webb G et al, 2015)

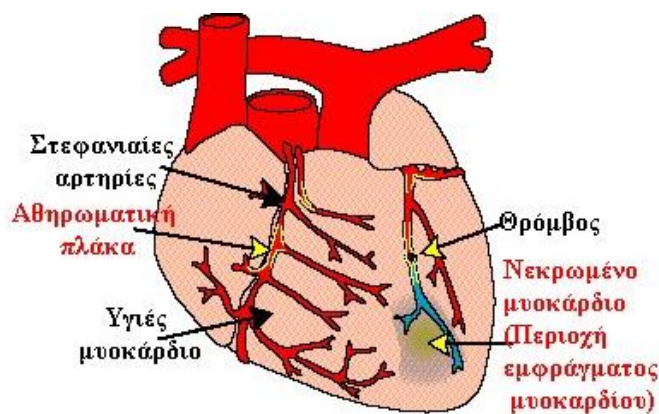
Οι αιτίες των συγγενών καρδιοπαθειών είναι πολύ-παραγοντικές (γενετικές και περιβαλλοντικές), η επίδρασή τους τοποθετείται ιδίως μεταξύ της 6^{ης} και 12^{ης} εβδομάδας της κύησης και δεν έχουν διερευνηθεί απολύτως. Κάποιες από αυτές θεωρούνται ο σακχαρώδης διαβήτης, διάφορα φάρμακα, η ακτινοβολία, το κάπνισμα και οι ιογενείς λοιμώξεις. (Webb G et al, 2015)

Οι συγγενείς καρδιοπάθειες ταξινομούνται σε τρεις κύριες κατηγορίες (Webb G et al, 2015):

- i. Μη κυανωτικές καρδιοπάθειες: δεν παρατηρείται ανάμειξη αρτηριακού και φλεβικού αίματος. Διακρίνονται σε υπερφόρτιση πίεσης και υπερφόρτιση όγκου.
- ii. Επικοινωνία χωρίς κυάνωση: υφίσταται επικοινωνία μεταξύ δεξιών και αριστερών καρδιακών κοιλοτήτων, με ροή από την συστηματική προς την πνευμονική κυκλοφορία (μεσοκολπική επικοινωνία, μεσοκοιλιακή επικοινωνία). Δεν εμφανίζεται κυάνωση, παρα μόνο μετά την αναστροφή της ροής και την ανάπτυξη του συνδρόμου Eisenmenger.
- iii. Κυανωτικές καρδιοπάθειες: περισσότερες από μία ανωμαλίες προκαλούν ροή φλεβικού αίματος προς την συστηματική κυκλοφορία (τετραλογία του Fallot).

1.3.8. Έμφραγμα του μυοκαρδίου.

Το έμφραγμα του μυοκαρδίου προκαλείται όταν σημεία της καρδιάς δε δύνανται να λάβουν την απαιτούμενη για τη λειτουργία τους ποσότητα αίματος, εξαιτίας της στένωσης ή της απόφραξης (από αθηροσκλήρωση, σπασμό ή θρόμβο), κάποιας αρτηρίας που τροφοδοτεί την καρδιά με αίμα. Η περιοχή αυτή θα υποστεί μόνιμη βλάβη (νέκρωση) λόγω της έλλειψης οξυγόνου και η έκταση της βλάβης αυτής είναι ανάλογη της αρτηρίας της οποίας έχει φραχθεί, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται ένα ή και πολλά τμήματα της καρδιάς, καθώς και να φτάνει μειωμένο αίμα στο υπόλοιπο σώμα. (Κωλέττης, 2015)



Εικόνα 19. Έμφραγμα του μυοκαρδίου. Πηγή: <https://www.kardiologos-tsiantis.gr/>

Στο έμφραγμα του μυοκαρδίου στο πρόσθιο τμήμα της καρδιάς έχει υποστεί εκτεταμένη απόφραξη ο μεγαλύτερος κλάδος της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, με αποτέλεσμα την υπόταση ή και την καρδιακή ανεπάρκεια. Όταν το έμφραγμα παρουσιάζεται στο κατώτερο τμήμα της καρδιάς, έχει υποστεί στένωση η δεξιά στεφανιαία αρτηρία προκαλώντας αρρυθμίες. Η απόφραξη της αριστερής περισπώμενης αρτηρίας προκαλεί βλάβες στο πλαγιο-οπίσθιο τμήμα της καρδιάς και το αντίστοιχο έμφραγμα. (Κωλέττης, 2015)

Τα συμπτώματα διαφέρουν από ασθενή σε ασθενή με τον πόνο να εμφανίζεται άλλοτε επικεντρωμένος στην περιοχή του στέρνου και άλλοτε να αντανακλά στο αριστερό χέρι ή ώμο, στη γνάθο και στο λαιμό. Η ένταση του πόνου μπορεί επίσης να είναι διαφορετική. Άλλα συμπτώματα μπορεί να είναι η κόπωση, η ναυτία, ο ιδρώτας, η χλωμή όψη και η δυσκολία στην αναπνοή. Κάποια από αυτά παρομοιάζουν αλλά δεν πρέπει να συγχέονται με τα συμπτώματα της στηθάγχης που παρουσιάζονται κυρίως κατά την έντονη άσκηση. (Κωλέττης, 2015)

Η έγκαιρη διάγνωση και παροχή ιατρικής και φαρμακευτικής φροντίδας είναι ικανές να προλάβουν έναν ενδεχόμενο θάνατο από έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η θεραπευτική προσέγγιση μετά από ένα τέτοιο γεγονός είναι η επιλογή συντηρητικής φαρμακευτικής αγωγής, η αγγειοπλαστική, η παράκαμψη της στεφανιαίας αρτηρίας και η ομαλή επανένταξη σε υγιεινό τρόπο ζωής (διατροφή, άσκηση, μείωση άγχους). (Κωλέττης, 2015)

Οι παράγοντες που μπορούν να συμβάλλουν στην εμφάνιση του εμφράγματος του μυοκαρδίου είναι η ηλικία (μεγαλύτερος κίνδυνος στις ηλικίες των 50-60 ετών και σε άνδρες των 30-40 ετών), το φύλο που ακολουθεί το πρότυπο της αθηροσκλήρωσης, η κληρονομικότητα, η υπέρταση, ο διαβήτης, η παχυσαρκία, το κάπνισμα και ο καθιστικός τρόπος ζωής. (Κωλέττης, 2015)

2. Βλαστικά κύτταρα

2.1. Ιστορική αναδρομή.

Ξεκινώντας με την ιστορική αναδρομή των βλαστικών κυττάρων (βλαστοκυττάρων) μεταφερόμαστε αρχικά, σχεδόν 6 δεκαετίες πίσω στο παρελθόν και στο 1963, την περίοδο κατά την οποία οι McCulloch και Till ανίχνευαν στο μυελό των οστών των ποντικών, κύτταρα που διέθεταν την ικανότητα της αυτοανανέωσης. (McCulloch & Till, 1963) Το 1976 παρατηρήθηκαν τα μεσεγγυματικά βλαστοκύτταρα στο ομφαλικό αίμα και στο μυελό των οστών και το 1981, οι Martin *et al.* καλλιεργούν τα πρώτα εμβρυικά βλαστοκύτταρα, που προέρχονταν από βλαστοκύστες ποντικού. (Mafi, Hindocha, Mafi, Griffin, & Khan, 2011) Το 1997 παρατηρείται για πρώτη φορά ανάπτυξη του καρκινικού όγκου, από καλλιέργεια των βλαστοκυττάρων. (Charbord, 2010)

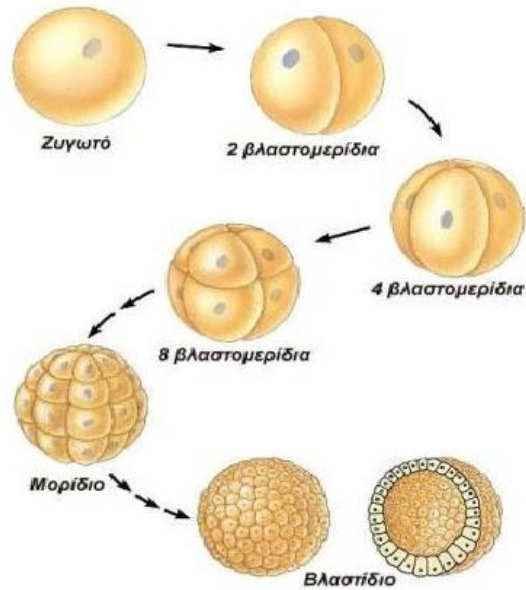
Θα περνούσαν όμως αρκετά χρόνια, μέχρι τη χρονιά που οι Martin Evans, Mario Capecchi και Oliver Smithies θα κέρδιζαν το βραβείο Νόμπελ για την έρευνα τους στα βλαστικά κύτταρα, το 2007 και αντίστοιχα το 2012, ο Shinya Yamanaka για την ανακάλυψη των iPSCs (Induced Pluripotent Stem Cells). (Mafi, Hindocha, Mafi, Griffin, & Khan, 2011)

Από τότε και μέχρι σήμερα το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας στράφηκε στην περαιτέρω μελέτη αλλά και αξιοποίηση των βλαστικών κυττάρων, με κυριότερο σκοπό την ανάπτυξη σύγχρονων θεραπευτικών προσεγγίσεων για ένα μεγάλο εύρος ασθενειών. Παρόλα τα αρχικά ενθαρρυντικά και κυρίως προκλινικά αποτελέσματα διάφορων ερευνών, η εφαρμογή σε κλινικό και ανθρώπινο επίπεδο παραμένει στάσιμη, με διάφορα βιολογικά, τεχνικά αλλά και βιοηθικά ζητήματα να στέκονται εμπόδιο στην εξέλιξη του κλάδου.

2.2. Στάδια ανάπτυξης του εμβρύου.

Η ανάπτυξη ενός εμβρύου αποτελείται από πολλά διαδοχικά στάδια, τα οποία καταλήγουν στην τελική διαμόρφωση των ιστών και των οργάνων και στην πλήρη ανάπτυξη του οργανισμού. (Behjati, Lindsay, Teichmann, & Haniffa, 2018) Η ανάπτυξη ξεκινά αμέσως μετά από τη γονιμοποίηση του ωαρίου με το σπερματοζώαριο, οπότε και η δομή της μεμβράνης του ωαρίου μεταβάλλεται ώστε να αποφευχθεί η πολυσπερμία και το μονοπάτι μεταγωγής σήματος της τριφωσφορικής ινοσιτόλης ενεργοποιείται, οδηγώντας στην άμεση αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου, που δίνει το έναυσμα για την έναρξη της 2ης μειωτικής διαίρεσης. Σχηματίζεται ο διπλοειδής πυρήνας από τη σύντηξη σπερματοζωαρίου και ωαρίου, δημιουργώντας το ζυγωτό. (Slack & Dale, 2021)

Ακολουθούν οι πρώιμες κυτταρικές διαιρέσεις (χωρίς ενδιάμεση ανάπτυξη των διαιρεμένων κυττάρων) του ζυγωτού (αυλακώσεις), στην οποία προκύπτουν τα κύτταρα που ονομάζονται βλαστομερίδια με μέγεθος μισό του μητρικού. Έπειτα από διαδοχικές διαιρέσεις σχηματίζεται το μορίδιο. Παράλληλα διαμορφώνεται μία κοιλότητα στο κέντρο, που αυξάνει με πρόσληψη νερού και σχηματίζει το βλαστόκοιλο. Πλέον το έμβρυο καλείται βλαστόδερμα ή βλαστίδιο. (Slack & Dale, 2021)



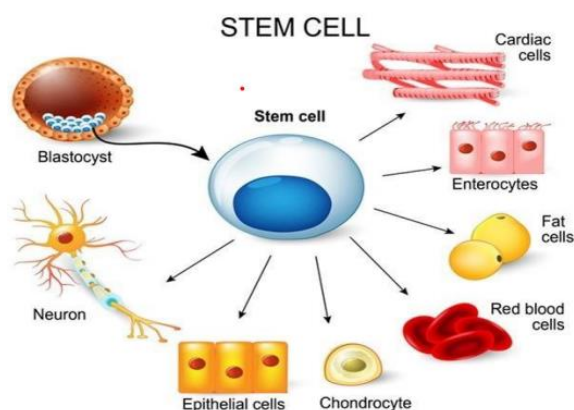
Εικόνα 20. Οι μιτωτικές διαιρέσεις του ζυγωτού κατά την αυλάκωση. Πηγή: <https://ilampos.wordpress.com/>

Στη συνέχεια το έμβryo προχωρά σε μια φάση κυτταρικών μεταναστεύσεων των ιστών, τη λεγόμενη γαστριδίωση, οπότε και το έμβryo ονομάζεται γαστρίδιο και αποτελείται από 3 διακριτές βλαστικές στιβάδες. Το εξώδερμα, (εξωτερική στιβάδα) από όπου θα προκύψουν το νευρικό σύστημα και το δέρμα, το μεσόδερμα (ενδιάμεση στιβάδα) από όπου θα προκύψουν οι μύες, ο συνδετικός ιστός, τα εκκριτικά όργανα και οι γονάδες και το ενδόδερμα (εσωτερική στιβάδα), από όπου θα προκύψουν οι επιθηλιακοί ιστοί του εντέρου και τα εσωτερικά όργανα. (Slack & Dale, 2021)

Έπειτα από το στάδιο αυτό, το έμβryo φτάνει στο σημείο που έχει οργανωθεί το γενικό πρότυπο του σώματος και κάθε κύριο τμήμα του αποτελείται από μια περιοχή δεσμευμένων κυττάρων, τα οποία δεν έχουν εξειδικευθεί ακόμη. Ακολουθούν και άλλες διαδοχικές διαιρέσεις καθώς και η διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων, οπότε και καταλήγουμε στο έμβryo και στον πλήρως ανεπτυγμένο οργανισμό. (Slack & Dale, 2021)

2.3. Τα βλαστικά κύτταρα

Βλαστικά κύτταρα ονομάζονται τα κύτταρα που είναι μεν αδιαφοροποίητα, διαθέτουν όμως την ικανότητα αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης σε ποικίλα είδη κυτταρικών σειρών. Ως αυτοανανέωση ορίζεται η ικανότητα των κυττάρων, μέσω ενός αυτορρυθμιζόμενου δικτύου μεταγραφικών παραγόντων και επιγενετικών διαδικασιών, να πολλαπλασιάζονται χωρίς όμως την απώλεια του δυναμικού διαφοροποίησης και παράλληλα χωρίς να υπόκεινται σε βιολογική γήρανση. Στην περίπτωση της αυτοανανέωσης του βλαστικού κυττάρου, η διαίρεσή του δεν οδηγεί αποκλειστικά και μόνο σε δύο όμοια θυγατρικά κύτταρα, αλλά και σε μεταξύ τους διαφοροποιημένα, συμμετρικά ή ασύμμετρα θυγατρικά κύτταρα (με το ένα τουλάχιστον να παραμένει όμοιο με το μητρικό). (Morrison & Kimble, 2006)



Εικόνα 21. Τα βλαστικά κύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε ποικίλους τύπους κυττάρων. Πηγή: <https://www.cusabio.com/>

Ως διαφοροποίηση ορίζεται η διαδικασία κατά την οποία εξειδικεύονται σταδιακά τα μη εξειδικευμένα βλαστικά κύτταρα, τόσο μέσω ενός εσωτερικού ρυθμιστικού δικτύου γονιδίων όσο και μέσω της αλληλεπίδρασης των κυττάρων αυτών με το μικροπεριβάλλον τους (εκκρινόμενες ουσίες από γειτονικά κύτταρα ή φυσική επαφή μεταξύ τους, ελευθέρως μόρια του μικροπεριβάλλοντος). Οι αλληλεπιδράσεις αυτές προκαλούν επίσης επιγενετικές μεταβολές στο κυτταρικό DNA (ικανές να

μεταδοθούν και στην επόμενη γενιά), με αποτέλεσμα τον περιορισμό της κυτταρικής του έκφρασης. (Morrison & Kimble, 2006)

Τα βλαστικά κύτταρα λαμβάνονται είτε από ενήλικους ιστούς είτε από έμβρυα σε αρχικά ή προχωρημένα στάδια ανάπτυξης, με τα μεταξύ τους χαρακτηριστικά να διαφέρουν κατά πολύ, ανάλογα με την πηγή (Πίνακας 2). Βασικές πηγές των βλαστικών κυττάρων αποτελούν (Graf & Stadtfeld, 2008):

- τα βλαστικά κύτταρα ενηλίκου, που λαμβάνονται από τους «θώκους» (niches) σε συγκεκριμένους ιστούς του ενηλίκου ατόμου (π.χ. εγκέφαλος)
- τα βλαστικά κύτταρα εμβρύων προχωρημένου σταδίου, που λαμβάνονται από αίμα ομφάλιου λώρου ή από αποβληθέντα έμβρυα
- τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα, που συλλέγονται είτε ως εναπομείναντα έπειτα από μία *in vitro* γονιμοποίηση, είτε μέσω της μεταφοράς του πυρήνα ενός φυσιολογικού σωματικού κυττάρου σε ένα γονιμοποιημένο ωάριο στο οποίο έχει αφαιρεθεί ο πυρήνας του

Πίνακας 2. Διαφορές ενήλικων και εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων. (Graf & Stadtfeld, 2008)

Ενήλικα βλαστικά κύτταρα	Εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα
Σπάνια, δύσκολη αναγνώριση, άγνωστη προέλευση, λειτουργία και φυσική πορεία δεν είναι πλήρως κατανοητές	Παρόντα παντού στο έμβρυο, γνωστή λειτουργία και φυσική πορεία
Ορίζονται από ένα πολύπλοκο σύνολο χαρακτηριστικών	Ορίζονται από τη θέση τους στο έμβρυο
Διαιρούνται μέχρι 200 ή περισσότερες σε καλλιέργεια, όχι όμως επ' αόριστο	Διαιρούνται συμμετρικά επ' άπειρο σε καλλιέργεια, χωρίς αλλαγή των χαρακτηριστικών τους

Μόνο σε κάποιους ιστούς εντοπίζονται και καλλιεργούνται απολύτως πανομοιότυπα πρόδρομα κύτταρα	Ένα μοναδικό κύτταρο μπορεί να δώσει μια αποικία γενετικάς πανομοιότυπων κυττάρων
Μερικά μόνο είναι ολιγοδύναμα	Είναι πολυδύναμα

2.3.1. Βλαστικά κύτταρα ενήλικα (Adult Stem Cells - ASCs).

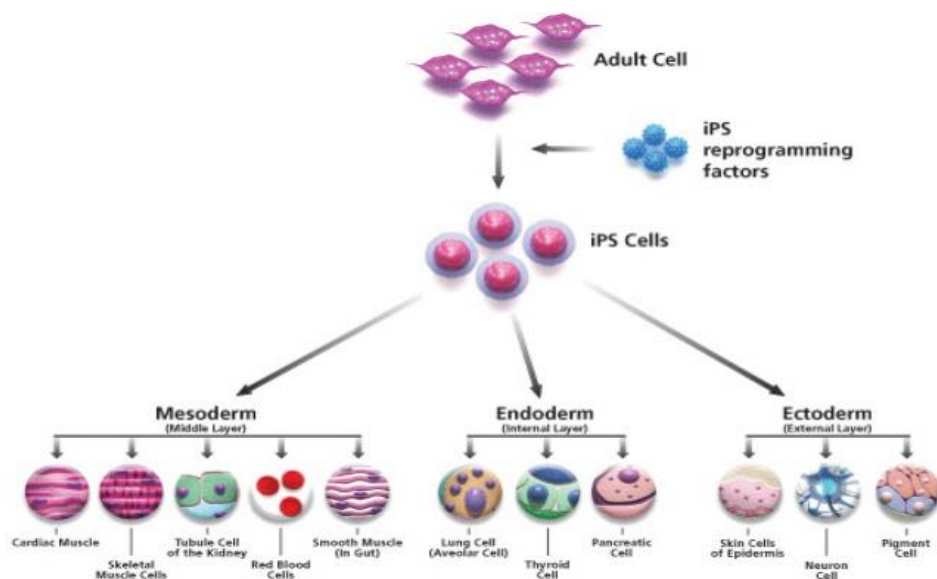
Το σώμα αποτελείται από ποικίλα διαφοροποιημένα κύτταρα, τα οποία επιτελούν διαφορετικές λειτουργίες και συγκροτούν τους ιστούς και τα όργανα. Κάποιοι από τους ιστούς αυτούς δύναται να αυτό-επιδιορθώνονται στην πορεία, σε περίπτωση που υποστούν κάποια βλάβη. Πρόκειται για μια δυνατότητα αναγέννησης και επιδιόρθωσης, η οποία βασίζεται σε εφεδρικούς πληθυσμούς βλαστικών, μερικώς εξειδικευμένων κυττάρων, που διαιρούνται μεν αργά ώστε να διατηρούν τον αριθμό τους, μπορούν όμως να πολλαπλασιαστούν έντονα για να δώσουν τις πρόδρομες μορφές των ειδικών, διαφοροποιημένων κυττάρων. Τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα εμφανίζονται σε μικρό ποσοστό στους ιστούς και για το λόγο αυτό είναι δύσκολο να απομονωθούν και να καλλιεργηθούν. (Wagers & Weissman, 2004)

Τα ενήλικα βλαστικά κύτταρα διακρίνονται ανάλογα με το αναπτυξιακό τους δυναμικό σε (Wagers & Weissman, 2004):

- Πλειοδύναμα (Multipotent), τα οποία βρίσκονται στους περισσότερους ιστούς και όργανα (εγκέφαλος, ήπαρ, αίμα, δέρμα, σκελετικοί μύες), συμβάλλουν στην αναγέννηση των ιστών και εμφανίζουν περιορισμένη ικανότητα διαφοροποίησης (διαιρείται σε δύο άλλα κύτταρα, το ένα θα παραμείνει βλαστοκύτταρο και το άλλο θα διαφοροποιηθεί για να αναγεννήσει μέρος του ιστού που καταστράφηκε)

- Ολιγοδύναμα (Oligopotent), τα οποία έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται μόνο σε περιορισμένο αριθμό κυτταρικών τύπων (πολυμορφοπύρηνια, T και B λεμφοκύτταρα, κ.α.).
- Μονοδύναμα (Unipotent), τα οποία δίνουν γένεση μόνο σε ενιαίο τύπο κυττάρων και ονομάζονται συχνά και «βλάστες» (π.χ. οστεοβλάστες).

Μια ιδιαίτερα σημαντική ανακάλυψη στον τομέα των βλαστικών κυττάρων επιτευχθεί το 2006 από τον Ιάπωνα Shinya Yamanaka (Νόμπελ Ιατρικής 2012) για τα επαγόμενα ή αναπρογραμματιζόμενα βλαστικά κύτταρα (iPSCs, Induced pluripotent stem cells). Διαθέτουν ιδιαίτερες ιδιότητες, περιλαμβάνοντας χαρακτηριστικά των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων, όπως την πολυδυναμία, χωρίς να προέρχονται όμως από έμβρυα. Ανάλογα δηλαδή με τα σήματα που θα δεχτούν από το εξωκυττάριο μικροπεριβάλλον τους θα διαφοροποιηθούν σε συγκεκριμένη κατηγορία κυττάρου. (Rikhtegar, et al., 2019)



Εικόνα 22. Τα iPSCs δύνανται να διαφοροποιηθούν σε μία πληθώρα κυττάρων ανάλογα με το ερέθισμα. Πηγή: <https://www.researchgate.net/>

Η επιτυχής εφαρμογή τους θα υπερπηδήσει τα βιοηθικά διλήμματα των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων (ESCs). Επίσης τα iPS κύτταρα από τη στιγμή που θα μπορούσαν να προέρχονται από τα ενήλικα κύτταρα του ίδιου του ασθενούς, θα ήταν δυνατό να χορηγηθούν στον ίδιο ασθενή

αποφεύγοντας τον κίνδυνο απόρριψης από το ανοσοποιητικό του σύστημα. Μειονέκτημά τους αποτελεί αυτό και των ESCs, ο πιθανός ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε καλοήθειες ή κακοήθειες όγκους. (Rikhtegar, et al., 2019)

Ένας άλλος διαχωρισμός των βλαστικών κυττάρων ενηλίκου είναι αυτός σε αιμοποιητικά και μη αιμοποιητικά/μεσεγχυματικά.

Τα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα προέρχονται κυρίως από το αίμα που κυκλοφορεί στο πλακούντα μέσω του ομφάλιου λώρου στο έμβρυο και στη συνέχεια κατά τη διάρκεια της ζωής συναντώνται κυρίως στο περιφερικό αίμα και στο μυελό των οστών και διαφοροποιούνται σε κύτταρα του αίματος και του ανοσοποιητικού συστήματος (π.χ. Τ-λεμφοκύτταρα, αιμοπετάλια). (Ding, Shyu, & Lin, 2011)

Τα μεσεγχυματικά (MSC) βλαστικά κύτταρα είναι πλειοδύναμα αρχέγονα κύτταρα που διαθέτουν την ιδιότητα του αυτό-πολλαπλασιασμού και γένεση πρόδρομων διαφοροποιημένων κυττάρων, τα οποία ίσως δύνανται να χρησιμοποιηθούν στον τομέα της αναγεννητικής ιατρικής, σε διάφορες παθήσεις, όπως για παράδειγμα στα εγκεφαλικά επεισόδια, στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου κ.ά. Η απομόνωση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων πραγματοποιούνταν αρχικά, αποκλειστικά από το μυελό των οστών. (Ding, Shyu, & Lin, 2011)

Πλέον βλαστικά κύτταρα απομονώνονται από το βλενώδη συνδετικό ιστό, που περιβάλλει τα αιμοφόρα αγγεία του ομφάλιου λώρου (Wharton's jelly). Τα βλαστικά κύτταρα αυτά υπερτερούν έναντι των αντίστοιχων ενήλικων, αφού διαθέτουν λιγότερες γενετικές ανωμαλίες και σημαντικά μεγαλύτερη αναγεννητική ικανότητα. (Fong, et al., 2011)

2.3.2. Εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα (ESCs).

Τα εμβρυονικά βλαστοκύτταρα προέρχονται από έμβρυα (από την εσωτερική κυτταρική μάζα της βλαστοκύστης, γονιμοποιημένο ωάριο περίπου 5 ημερών), τα οποία έχουν γονιμοποιηθεί *in vitro* σε μονάδες

τεχνητής γονιμοποίησης και δωρίζονται για ερευνητικούς σκοπούς με γραπτή συγκατάθεση των δωρητών. (Rippon & Bishop, 2004) Ανάλογα με το αναπτυξιακό δυναμικό τους διακρίνονται σε:

- Ολοδύναμα (Polyotent), προέρχονται από τις πρώτες κυτταρικές διαιρέσεις (μέχρι 4^η ημέρα από τη γονιμοποίηση), δύνανται να δώσουν γένεση στους όλους τους ιστούς του οργανισμού, καθώς και στους εξωμβρυϊκούς και να οδηγήσουν σε ένα λειτουργικό οργανισμό.
- Πολυδύναμα (Pluripotent), λαμβάνονται μεταξύ 5^{ης} και 7^{ης} ημέρας από τη γονιμοποίηση και διαφοροποιούνται προς όλους τους κυτταρικούς τύπους με εξειδικευμένη λειτουργία.

Επίσης ανάλογα με τη θέση στην οποία εντοπίζονται διακρίνονται επιπλέον σε εμβρυϊκά αμνιακά κύτταρα και κύτταρα του ομφάλιου λώρου, τα οποία διαθέτουν διαφορετικές ιδιότητες εξαιτίας του διαφορετικού μικροπεριβάλλοντος της θέσης τους. Τα εμβρυϊκά αμνιακά κύτταρα *in vitro* διαφοροποιούνται σε κύτταρα του ενδοδέρματος, μεσοδέρματος και εξωδέρματος, δεν εκφράζουν ενδομοριακά τελομεράσες οπότε και δε γηράσκουν ή σχηματίζουν τερατώματα μετά από μεταμόσχευση *in vivo*. (Rippon & Bishop, 2004)

Τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα διαθέτουν το χαρακτηριστικό της πολυδυναμίας, βρίσκονται δηλαδή ακόμη στη βάση της πορείας της διαφοροποίησης, που σημαίνει ότι διατηρούν την εμβρυϊκή ικανότητα να παράγουν τους περισσότερους και ίσως όλους τους κυτταρικούς τύπους. Το χαρακτηριστικό αυτό βέβαια μειώνεται με την ανάπτυξη του εμβρύου. Ένα ακόμη πλεονέκτημα των εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων αποτελεί η δυνατότητα απομόνωσης και καλλιέργειάς τους σε μεγάλους αριθμούς, προσφέροντας έναν πιθανό τρόπο απόκτησης πληθυσμών πρόδρομων κυττάρων, που θα συμβάλλουν στη θεραπευτική αναγέννηση των κατεστραμμένων ιστών. (Rippon & Bishop, 2004)

Αποτελεί γεγονός ότι η μεταμόσχευση ιστών συνδέεται με τον κίνδυνο ανοσολογικής αντίδρασης και απόρριψης. Για το λόγο αυτό ένα μεγάλο μέρος του ενδιαφέροντος που έχει προσελκύσει ο τομέας των

βλαστικών κυττάρων είναι η δημιουργία μιας πηγής εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων, γενετικά πανομοιότυπων με τον ασθενή, από τα οποία θα μπορούν να ληφθούν τα απαιτούμενα εξειδικευμένα πρόδρομα κύτταρα. Η μόνη μέθοδος για να επιτευχθεί κάτι τέτοιο και η οποία έχει αποδειχθεί αποτελεσματική σε ζωικά μοντέλα, είναι η μεταμόσχευση ενός πυρήνα σε ένα ωοκύτταρο (τεχνηκή μεταφοράς πυρήνων σωματικών κυττάρων) και η δημιουργία κυτταρικής σειράς εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων από το έμβρυο που προκύπτει. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα λαμβάνονται στο στάδιο της βλαστοκύστης των πρώιμων εμβρύων, δηλαδή κατά το στάδιο στο οποίο το έμβρυο δεν έχει ακόμη εμφυτευτεί στη μήτρα και δεν έχει σχηματίσει εξειδικευμένους ιστούς. Σε μία βλαστοκύστη περιέχονται μέχρι και 100 μη εξειδικευμένα, πολυδύναμα κύτταρα, που θα αποτελέσουν τους προγόνους όλων των κυττάρων του οργανισμού εφόσον το έμβρυο εμφυτευτεί. Μετά την εμφύτευση, δεν μετατρέπονται σε εξειδικευμένα κύτταρα μέσω της διαδικασίας της διαφοροποίησης. Στο εργαστήριο μέσω της τεχνητής διαδικασίας της αυτοανανέωσης, τα πολυδύναμα κύτταρα του εμβρύου δύναται να πολλαπλασιάζονται χωρίς να διαφοροποιούνται. Η αυτοανανέωση στηρίζεται σε ειδικά σήματα, τους αυξητικούς παράγοντες. Τα βλαστικά κύτταρα όμως απαιτούν την υποστήριξη των κυττάρων της βλαστοκύστης-δέκτη. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.4. Συμμετρική και ασύμμετρη διαίρεση των βλαστικών κυττάρων.

Όπως ήδη αναφέρθηκε τα βλαστικά κύτταρα διαθέτουν την ιδιαίτερη ικανότητα αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης και η διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ τους είναι ιδιαίτερα σημαντική, αφού από τη μία μεριά η αδιάκοπη αυτοανανέωση δύναται να προκαλέσει την ανάπτυξη όγκου, ενώ από την άλλη η συνεχής διαφοροποίηση θα μπορούσε να οδηγήσει τελικά στην εξάντληση των αποθεμάτων των βλαστικών κυττάρων. Η ισορροπία αυτή διατηρείται με τη δράση συγκεκριμένων πρωτεϊνών και μεταγραφικών παραγόντων σε ενδοκυτταρικό και

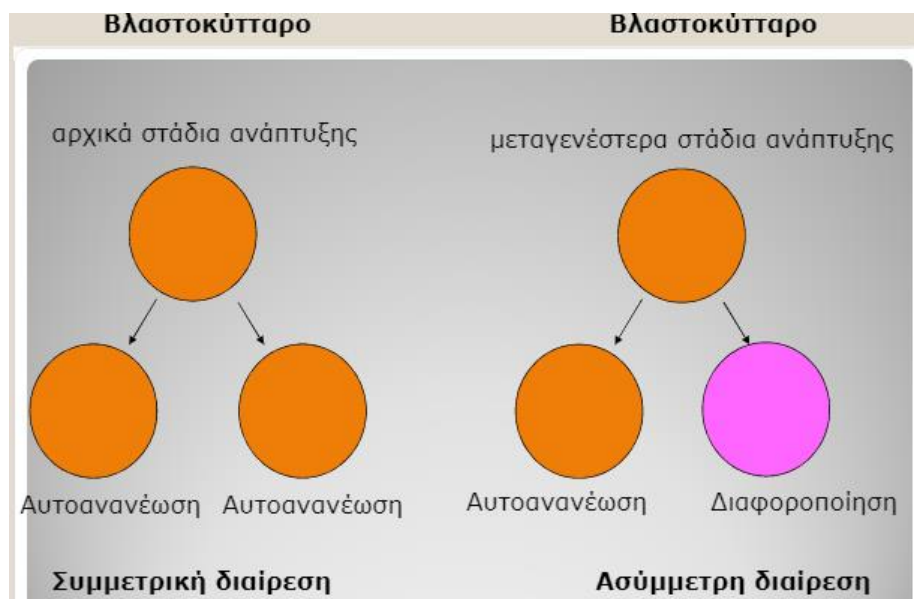
εξωκυτταρικό επίπεδο αν και έχει αποδειχθεί ότι τα βλαστικά κύτταρα εμφανίζουν φυσική ροπή στη διαφοροποίηση. (Morrison & Kimble, 2006)

Αν ένα βλαστικό κύτταρο θα αυτοανανεωθεί ή θα διαφοροποιηθεί καθορίζεται από κατάλληλα σήματα, τα οποία προέρχονται από το ίδιο το κύτταρο ή από το μικροπεριβάλλον του, δηλαδή το βλαστοκυτταρικό θώκο. Η αυτοανανέωση τους στηρίζεται στη δράση του παράγοντα LIF (Leukaemia Inhibiting Factor), ενός πρωτεϊνικού παράγοντα, που ενεργοποιεί το ενδοκυττάριο μονοπάτι Wnt και μαζί με τον Bone-morphogenic protein 4 (BMP-4), εξασφαλίζουν τη διατήρηση της αυτοανανέωσης μέσω των σηματοδοτικών μονοπατιών μεταγωγής του STAT3 και της β-κατενίνης, οδηγώντας στην ενεργοποίηση των κατάλληλων γονιδίων για την τελική παραμονή των κυττάρων στην κατάσταση της αυτοανανέωσης. (Morrison & Kimble, 2006)

Επί της ουσίας τα βλαστικά κύτταρα διαλέγουν να ακολουθήσουν κάθε φορά μία από τις ακόλουθες διαιρέσεις (Morrison & Kimble, 2006):

1. τη διαίρεση αντιγραφής (συμμετρική), στην οποία και τα δύο θυγατρικά κύτταρα θα διατηρήσουν τα χαρακτηριστικά των βλαστικών κυττάρων
2. την ασύμμετρη διαίρεση, στην οποία το ένα θυγατρικό κύτταρο θα διατηρήσει τα χαρακτηριστικά του βλαστικού κυττάρου και το άλλο θα διαφοροποιηθεί (παρατηρείται συχνά στους βλαστοκυτταρικούς θώκους).

Όσον αφορά τα βλαστικά κύτταρα του ενηλίκου, η ισορροπία μεταξύ των στρατηγικών διαίρεσης είναι ιδιαίτερα σημαντική, ελέγχεται από διάφορα αναπτυξιακά και περιβαλλοντικά ερεθίσματα, ενώ οποιοδήποτε απορρύθμισή της δύναται να οδηγήσει σε ποικίλες παθολογικές καταστάσεις, ακόμα και σε καρκινογένεση. (Wagers & Weissman, 2004)



Εικόνα 23. Η συμμετρική και η ασύμμετρη διαίρεση των βλαστικών κυττάρων. Πηγή: <https://docplayer.gr/2756491>

Το 1978 ο Schofield διατύπωσε πρώτος την άποψη ότι τα βλαστικά κύτταρα «κατοικούν» σε διακριτά, λειτουργικά και εξειδικευμένα μικροπεριβάλλοντα, τα οποία συμβάλλουν στη διατήρηση των βλαστικών κυττάρων, στη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης, στην έναρξη της ιστικής επιδιόρθωσης ακόμα και στην αποτροπή της ογκογένεσης. (Schofield, 1978) Τα μικροπεριβάλλοντα αυτά ονομάζονται θώκοι και αποτελούν μαζί με τα βλαστικά κύτταρα ένα δυναμικό σύστημα ουσιώδης σημασίας για την ομοιόσταση των ιστών. Εντυπωσιακό είναι το γεγονός ότι ο ίδιος τύπος βλαστικών κυττάρων δύναται να χρησιμοποιήσει διαφορετικούς θώκους σε διαφορετικές χρονικές περιόδους και συνθήκες. (Lo Celso & Scadden, 2011)

Οι θώκοι αποτελούνται από κύτταρα, εξωκυττάρια ουσία, διαλυτούς μεσολαβητές και τρισδιάστατους χώρους. Οι βασικές λειτουργίες των φωλεών είναι (Lo Celso & Scadden, 2011):

1. η διατήρηση και η υποστήριξη των βλαστικών κυττάρων από τα σωματικά υποστηρικτικά κύτταρα
2. η φυσική θέση αγκυροβόλησης των βλαστικών κυττάρων, με διάφορα μόρια προσκόλλησης να συμβάλλουν στην επικοινωνία μεταξύ βλαστικών κυττάρων, κυττάρων θώκου και εξωκυττάριας ουσίας

3. η παραγωγή εξωτερικών παραγόντων (hedgehog, Wnts, BMPs, FGF και Notch) που ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό και τον καθορισμό της μοίρας των βλαστικών κυττάρων (αυτοανανέωση και διαφοροποίηση)
4. ο έλεγχος από τον ίδιο το θώκο της ασύμμετρης διαίρεσης των βλαστικών κυττάρων (σε ασπόνδυλους οργανισμούς, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για τα θηλαστικά).

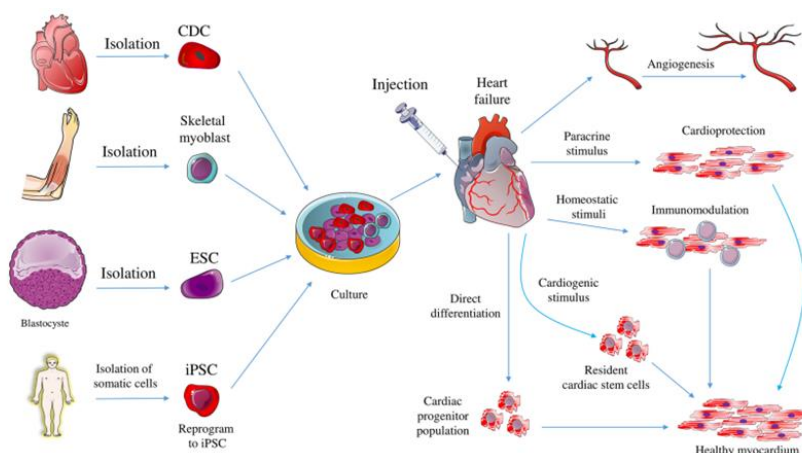
Οι θώκοι που έχουν μελετηθεί ενδελεχώς μέχρι σήμερα είναι αυτοί του αιμοποιητικού συστήματος, του δέρματος και του εντέρου. Στον οστεοβλαστικό θώκο στην επιφάνεια του οστού συναντώνται αρχικά τα βλαστικά κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος όπου παραμένουν σε κατάσταση «ηρεμίας», ενώ έπειτα από κινητοποίηση μετακινούνται σε θέσεις στον αγγειακό θώκο με σκοπό τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση. Υπάρχουν διάφορα πειραματικά δεδομένα που συνηγορούν ότι μια φαρμακολογική παρέμβαση στο θώκο μπορεί να μεταβάλει τη λειτουργία των βλαστικών κυττάρων. (Lo Celso & Scadden, 2011)

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Θεραπεία καρδιακών παθήσεων με τη χρήση βλαστικών κυττάρων.

Οι καρδιακές παθήσεις αποτελούν μέχρι και σήμερα μία από τις σοβαρότερες απειλές για τη δημόσια υγεία σε παγκόσμιο επίπεδο και παρά όλες τις αξιοσημείωτες σύγχρονες θεραπευτικές εξελίξεις, η πρόγνωση των ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια παραμένει φτωχή, με τις παρούσες θεραπευτικές προσεγγίσεις να μην εστιάζουν στο βασικό πρόβλημα της απώλειας του καρδιακού ιστού. Για το λόγο αυτό, απαιτούνται καινοτόμες θεραπείες, ικανές να μειώσουν το ποσοστό της θνησιμότητας, που προκαλείται από την καρδιακή ανεπάρκεια αλλά και που θα απαλείψουν την ανάγκη μεταμόσχευσης καρδιάς. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα τελευταία 15-20 χρόνια διάφορες νέες θεραπείες με χρήση βλαστικών κυττάρων έχουν εφαρμοστεί σε καρδιακές παθήσεις, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν με κύριο στόχο την κατανόηση των φυσικών εγγενών διαδικασιών αυτόανανέωσης του μυοκαρδίου και οι οποίες πιθανόν να μην αρκούν για την ανάκτηση του εμφραγματικού καρδιακού μυός. Επίσης αρκετές προκλινικές και κλινικές δοκιμές σε ζώα και σε ανθρώπους αντίστοιχα, είχαν σκοπό τη διερεύνηση της ικανότητας διαφόρων βλαστικών πληθυσμών να επάγουν την καρδιακή λειτουργία και να μειώνουν το μέγεθος του εμφράγματος. (Rikhtegar, et al., 2019)



Εικόνα 24. Σχηματική απεικόνιση των θεραπευτικών προσεγγίσεων μέσω της χρήσης διαφόρων πληθυσμών βλαστικών κυττάρων. Πηγή: (Rikhtegar, et al., 2019)

Πριν πραγματοποιηθεί η αναφορά στη θεραπευτικές προσεγγίσεις των βλαστικών κυττάρων στις καρδιακές παθήσεις, είναι σημαντικό να παρουσιαστεί η φυσιολογική καρδιακή ανάπτυξη και οι φυσικοί μηχανισμοί της καρδιακής αναγέννησης.

1.1. Η φυσιολογία της καρδιακής ανάπτυξης – γενετική – σηματοδοτικά μονοπάτια.

Η καρδιά, όπως ήδη αναφέρθηκε, είναι ένα από τα πρώτα όργανα που δημιουργούνται κατά την εμβρυική ανάπτυξη και προέρχεται από ένα συνδυασμό κυτταρικών σειρών. Ο τελικός σχηματισμός της καρδιάς συμβαίνει την ημέρα E55 για τον ανθρώπινο οργανισμό. Η διαδικασία αυτή καθοδηγείται από ένα σύμπλεγμα σηματοδοτικών μονοπατιών το NODAL, που περιλαμβάνει τον TGFβ παράγοντα από την οικογένεια των αυξητικών παραγόντων, τον BMP (bone morphogenic protein), τον WNT3A παράγοντα της MMTV οικογένειας και τον FGF παράγοντα της οικογένειας των αυξητικών παραγόντων ινοβλαστών. (Paige, Plonowska, Xu, & Wu, 2015)

Ακόμη στα σηματοδοτικά μονοπάτια συμμετέχουν ο t-box μεταγραφικός παραγοντας, οι MESP-1 (basic-helix-loop-helix-1) μεταγραφικοί παράγοντες του μεσοδέρματος, οι HAND1/2 (Heart and neural crest derivatives expressed 1/2), καθώς και οι NKX2,5, HOMEBOX5, GATA ISL, MEF2, TBX. Τους παράγοντες αυτούς ελέγχουν με αρνητική ανατροφοδότηση τα microRNAs (μικρά, μονήρη, μη κωδικοποιούμενα RNAs). Αρκετά microRNAs δρουν αρνητικά στη μεταγραφική έκφραση των γονιδίων για την καρδιακή γένεση και οδηγούν σε νεογνικούς θανάτους λόγω ελαττωματικών και δυσλειτουργικών βαλβίδων, αρρυθμιών και καρδιακής ανεπάρκειας. (Paige, Plonowska, Xu, & Wu, 2015)

Ο γενετικός προγραμματισμός της καρδιάς για την δημιουργία της ξεκινά με την έκφραση του MESP1 στο προκαρδιακό μεσόδερμα,

ενεργοποιώντας άλλους μεταγραφικούς παράγοντες όπως τους GATA4, NKX2-5, ISL1, TBX5, MEF2C. Μεταλλάξεις στους παράγοντες αυτούς προκαλούν τις δυσπλασίες και κατ' επέκταση δυσλειτουργία της καρδιάς. (Paige, Plonowska, Xu, & Wu, 2015)

Αμέσως μετά τη γέννηση οι ίδιοι παράγοντες, συμβάλλουν στην ωρίμανση των καρδιοκυττάρων. Παρόλα αυτά στην ενήλικη ζωή δρουν μέσω άλλων λειτουργιών. Η επαναλειτουργία τους ως εμβρυικοί παράγοντες είναι ικανή να οδηγήσει σε παθολογικές καταστάσεις της καρδιάς. (Paige, Plonowska, Xu, & Wu, 2015)

Stage	Cardiac Crescent	Linear Heart Tube	Looping Heart	Chamber Specialization/Septation
Mouse Embryo Stage	E7.5	E8.0	E9-12	E10+
Human Embryo Stage	Day 15	Day 20	Day 28-30	Day 32+
Key Regulators	GATA4 NKX2.5 MESP1/2 ISL1 BAF60C MEF2C	GATA4 NKX2.5 TBX5 TBX20 MEF2C	GATA4 NKX2.5 TBX5 MEF2C HAND1/2	GATA4 NKX2.5 TBX5 PITX2 TBX1

Εικόνα 245. Παράγοντες που εμπλέκονται στα διάφορα στάδια του σχηματισμού της καρδιάς κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη, στον ποντικό και στον άνθρωπο, αντίστοιχα. Πηγή: (Paige, Plonowska, Xu, & Wu, 2015)

1.2. Μηχανισμοί καρδιακής αναγέννησης.

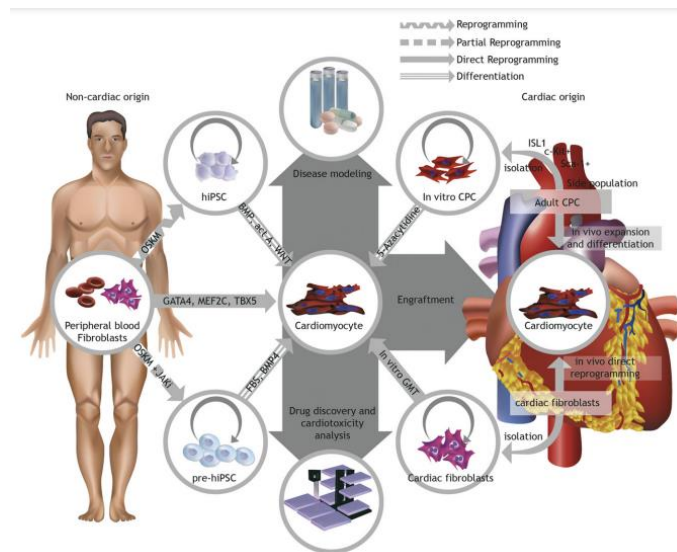
Αφού γνωρίσαμε τη φυσιολογία και την εμβρυογένεση της καρδιάς, τι συμβαίνει αλήθεια με την αναγεννητική της ικανότητα; Μελετώντας διάφορα είδη διαπιστώθηκε πως την καλύτερη αναγεννητική ικανότητα την έχουν τα καρδιακά κύτταρα του zebra fish, στο οποίο δε συμβάλλουν τα βλαστικά κύτταρα, αλλά τα υπάρχοντα καρδιοκύτταρα, που μπορούν να επιστρέψουν στην εμβρυονική τους μορφή και να επαναπρογραμματίστον. Βασική, επίσης, διαφορά του zebra fish και των θηλαστικών είναι ότι τα κύτταρα του πρώτου όντας μονοπύρηνα δεν μπορούν να ολοκληρώνουν τον κυτταρικό κύκλο και έτσι επαναπρογραμματίζονται στην ενήλικη ζωή. (Poss, 2007)

Στα ερπετά έχει διαπιστωθεί μια μικρή αναγεννητική ικανότητα της καρδιάς. Στα τρωκτικά και κυρίως σε ποντικούς έχουν πραγματοποιηθεί οι περισσότερες έρευνες, που αφορούν την αναγεννητική ικανότητα της καρδιάς, η οποία προσομοιάζει με την ανθρώπινη. Σε έμβρυα ποντικών έχει διαπιστωθεί αναγεννητική ικανότητα, η οποία μειώνεται την 4^η-7^η ημέρα μετά τη γέννηση. Σύμφωνα με πιο πρόσφατες μελέτες υφίσταται ένα αναγεννησιακό «παράθυρο» στην καρδιά των ποντικών αμέσως μετά τη γέννηση. Η απάντηση όμως σε έναν πιθανό τραυματισμό-καταστροφή των καρδιομυοκυττάρων ξεκινά με θρόμβωση, φλεγμονή, ενεργοποίηση των επικαρδιακών κυττάρων και τελικά τον πολλαπλασιασμό των καρδιομυοκυττάρων. Ο ρόλος των νευρών έχει επίσης αποδειχθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση της καρδιάς σε ποντικούς. (Uygun & Lee, 2016)

Στον άνθρωπο η καταστροφή των καρδιομυοκυττάρων, εξαιτίας διάφορων παθήσεων, οδηγεί συχνά σε καρδιακή ανεπάρκεια και μέχρι σήμερα η μόνη θεραπευτική οδός είναι η μεταμόσχευση καρδιάς, μια επέμβαση υψηλού κινδύνου, που απαιτεί επίσης και την επιτυχή εύρεση συμβατού δότη. Μέχρι και τη δεκαετία του 1990-2000, η καρδιά θεωρούνταν ως ένας πλήρως αδρανοποιημένος ιστός, αδρανής ανανεωτικά, οπότε και δημοσιεύθηκαν οι πρώτες μελέτες που αποδείκνυαν την ικανότητα ανανέωσης ενός μικρού ποσοστού ανθρώπινων καρδιομυοκυττάρων στην ενήλικη φάση. Παράλληλα, η εύρεση, στα τέλη της δεκαετίας του 2000, των λεγόμενων προγονικών κυττάρων της καρδιάς (CPCs) στο μυοκάρδιο ενηλίκων, που διέθεταν την ικανότητα ανανέωσης, έστρεψε το ενδιαφέρον της ερευνητικής κοινότητας στο ενδεχόμενο ενδογενούς ανανέωσης του καρδιακού ιστού. (Uygun & Lee, 2016)

Τα CPCs παρόλα αυτά απέδειξαν στην πορεία μη ικανοποιητική δυνατότητα αναγέννησης του μυοκαρδίου έπειτα από καταστροφή του εξαιτίας παθολογικών καταστάσεων. Όμως η χρήση εξωτερικών κυτταρικών πηγών με ικανότητες εύκολης απομόνωσης και διαφοροποίησης σε μεγάλο αριθμό καρδιομυοκυττάρων, αναθέρμανε τις ελπίδες για επιτυχή αναγέννηση του κατεστραμμένου μυοκαρδίου στην κλινική πράξη και την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Τέτοιοι κυτταρικοί πληθυσμοί θεωρούνται τα μεσεγγυματικά βλαστικά

κύτταρα του μυελού των οστών (BM-MSCs), οι μυοβλάστες, και τα επαγόμενα καρδιομυοκύτταρα κ.α. (Uygun & Lee, 2016)



Εικόνα 26. Σχηματική απεικόνιση της de novo παραγωγής καρδιομυοκυττάρων για τη θεραπεία του κατεστραμμένου μυοκαρδίου στον άνθρωπο. Πηγή: <https://www.researchgate.net/>

2. Προκλινικές και κλινικές μελέτες χρήσης βλαστικών κυττάρων σε καρδιακές παθήσεις.

2.1. Προκλινικές και κλινικές μελέτες.

Η εξέλιξη και η πρόοδος των επιστημών βασίζεται πάνω σε μελέτες και αποδείξεις-συμπεράσματα που απορρέουν από αυτές. Ιδιαίτερα στον τομέα της ιατρικής επιστήμης ακολουθείται η ιεραρχία των κλινικών δοκιμών για φάρμακα και θεραπείες.

Καταρχάς διενεργούνται προκλινικές μελέτες, οι οποίες είναι δοκιμές αγωγής χωρίς τη συμμετοχή ανθρώπων. Πραγματοποιούνται πριν τη διεξαγωγή των κλινικών δοκιμών για ένα υποψήφιο φάρμακο, εμβόλιο, ιατρική συσκευή ή διαγνωστικές εξετάσεις. Το υποψήφιο προϊόν δοκιμάζεται εκτενώς σε πειράματα *in vitro* (δοκιμαστικό σωλήνα, καλλιέργειες) και *in vivo* (έμβριους οργανισμούς). Με αυτό τον τρόπο συλλέγονται πληροφορίες για την αποτελεσματικότητα του προϊόντος

καθώς και για την τοξικότητα και την φαρμακοκινητική. (Zeng, et al., 2015)

Μετά το στάδιο αυτό, ο ερευνητής γνωρίζει αν το προϊόν έχει περαιτέρω επιστημονική αξία, ώστε να ξεκινήσουν οι κλινικές μελέτες. Ακολουθούν οι τέσσερις (4) φάσεις των κλινικών, ώστε να υπάρξει επαρκής τεκμηρίωση ότι το νέο προϊόν – θεραπεία είναι και αποτελεσματικό αλλά και ασφαλές και να εγκριθεί. (Zeng, et al., 2015)

- Φάση 1: Στην 1^η Φάση το προϊόν δοκιμάζεται σε μία μικρή ομάδα ανθρώπων (ασθενών ή υγιών εθελοντών), συνήθως σε μικρές δόσεις, χωρίς να πραγματοποιείται σύγκριση με κάποιο άλλο αντίστοιχο. Με τον τρόπο αυτό εξακριβώνεται εάν το προϊόν είναι ασφαλές (π.χ. για ένα φάρμακο μελετώνται η δόση χορήγησης, οι ανεπιθύμητες ενέργειες και η βελτίωση της νόσου).
- Φάση 2: Στη 2^η Φάση το προϊόν εφαρμόζεται σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών, μέχρι 100 περίπου. Στην περίπτωση ενός νέου φαρμάκου, αυτό πιθανόν να συγκρίνεται και με μια θεραπεία που χορηγείται ήδη στους ασθενείς, μελετάται η αποτελεσματικότητά του, η διαχείριση των ανεπιθύμητων ενεργειών και η ασφαλής δόση χορήγησης. Στο στάδιο αυτό ερευνάται αν το νέο προϊόν είναι τόσο αποτελεσματικό ώστε να δοκιμαστεί σε πολύ μεγαλύτερες ομάδες ασθενών (Φάση 3), διότι δεν έχει δοκιμαστεί ακόμα σε αρκετά άτομα ώστε να είναι σίγουρο το γεγονός ότι οι οποιεσδήποτε θετικές αλλαγές είναι αποτέλεσμα του προϊόντος και όχι απλώς τύχης.
- Φάση 3: Οι κλινικές δοκιμές στο στάδιο αυτό είναι συνήθως πολύ μεγαλύτερες περιλαμβάνοντας ακόμα και χιλιάδες ασθενείς. Το νέο προϊόν συγκρίνεται και με το αντίστοιχο καθιερωμένο ώστε να διαπιστωθούν τυχόν πλεονεκτήματά του, ενώ συλλέγονται και ισχυρότερες αποδείξεις σχετικά με τις πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες. Εάν το προϊόν κριθεί αποτελεσματικό σε σύγκριση με το αντίστοιχό του αλλά και ασφαλές, είναι πιθανό να εγκριθεί από τις ρυθμιστικές αρχές.

- Φάση 4: Οι δοκιμές της 4^{ης} φάσης πραγματοποιούνται αφού το προϊόν έχει λάβει έγκριση από τις ρυθμιστικές αρχές (άδεια κυκλοφορίας), με σκοπό να συλλεχθούν περισσότερες πληροφορίες για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του προϊόντος σε ακόμα μεγαλύτερο αριθμό ασθενών (και με πιο ιδιαίτερα χαρακτηριστικά) σε μεγαλύτερο βάθος χρόνου, στην καθημερινή κλινική πρακτική και σε συνδυασμό με άλλες διαθέσιμες θεραπείες.

Οι κλινικές δοκιμές οφείλουν να είναι αμερόληπτες και ισορροπημένες και αυτό επιτυγχάνεται μέσω της τυχαιοποίησης των ομάδων των εθελοντών που συμμετέχουν και της θεραπείας που λαμβάνουν (π.χ. παλιό, νέο ή εικονικό φάρμακο) και της τυφλοποίησης της δοκιμής (απλά τυφλοποιημένη, όταν οι εθελοντές δεν ξέρουν ποια θεραπεία λαμβάνουν και διπλά τυφλή όταν και οι ερευνητές δε γνωρίζουν ποια ομάδα λαμβάνει ποια θεραπεία). Στις κλινικές δοκιμές εκτός από τους υγιείς και ασθενείς εθελοντές (οι οποίοι είναι ελεύθεροι να αποχωρήσουν όποια στιγμή θελήσουν από τη δοκιμή), συμμετέχουν οι ερευνητές και οι ειδικοί ιατροί, το νοσηλευτικό προσωπικό και πιθανόν άλλο προσωπικό του νοσοκομείου ή του εργαστηρίου. (Zeng, et al., 2015)

2.2. Εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα (ESCs).

Τα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα (ESCs) και τα βασικά χαρακτηριστικά τους έχουν αναφερθεί αναλυτικά στο «Γενικό Μέρος» της παρούσας εργασίας. Μία σημαντική τους ιδιότητα για την αναγέννηση του μυοκαρδίου είναι η διαφοροποίησή τους σε κύτταρα και των 3 στιβάδων, το εξώδερμα, το ενδόδερμα και το μεσόδερμα δηλαδή και τα καρδιομυοκύτταρα είναι γνωστό ότι προέρχονται από το στρώμα του μεσοδέρματος. Μερικοί από τους παράγοντες που έχουν βρεθεί να

εκκρίνονται από αυτά είναι τα αντιγόνα SSEA-1, SSEA-4, TRA-1-60 και TRA1-81, οι πρωτεΐνες Fzd 1–10 και ο αυξητικός παράγοντας TDGF-1 (που εκφράζεται και στο τερατοκαρκίνωμα). (Rikhtegar, et al., 2019)

2.2.1. Προκλινικές μελέτες

Η δυνατότητα παραγωγής καρδιομυοκυττάρων από ESCs έχει κερδίσει το ενδιαφέρον για τη θεραπεία των περιπτώσεων των μυοκαρδιοπαθειών. Πολλές δοκιμές *in vitro* έχουν οδηγήσει σε αποτελεσματική παραγωγή καρδιομυοκυττάρων από τα ESCs, αν και η παραγωγή πλήρως ώριμων και «καθαρών» γενεών σε μεγάλες ποσότητες, είναι ακόμα ανέφικτη. Οι δείκτες των καρδιομυοκυττάρων κατηγοριοποιούνται σε δύο φάσεις, αυτή της πρόιμης και αυτή της όψιμης διαφοροποίησης. Μετά από 5-6 ημέρες διαφοροποίησης, οι δείκτες GATA-4, ISL1 και KDR εκφράζονται έντονα. Αργότερα κατά την 8η-9η ημέρα, τα επίπεδα έκφρασης των δεικτών NKX2-5, TBX5, MEF2C και HAND1/2 βρίσκονται σε κορύφωση, ακολουθούμενα από την αύξηση των γονιδίων TNNT2 και MYH6 την 8η-10η ημέρα. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα ανθρώπινα καρδιομυοκύτταρα, που προέρχονται από ESCs εμφανίζουν ενήλικη καρδιομυοκυτταρική μορφολογία εκφράζοντας τις πρωτεΐνες του σαρκομερίου. Σε μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Menard et al., όταν ESCs ποντικού μεταφέρθηκαν σε εμφραγμένο σημείο του μυοκαρδίου προβάτου, διαφοροποιήθηκαν σε καρδιομυοκύτταρα, βελτιώνοντας τη λειτουργία της αριστερής κοιλίας. Επίσης, έχουν χρησιμοποιηθεί ανθρώπινα καρδιομυοκύτταρα προερχόμενα από ESCs σε μοντέλα αρουραίων, που είχαν υποστεί έμφραγμα του μυοκαρδίου, τα οποία ανέστειλαν την αναδιαμόρφωση (remodeling) της αριστερής κοιλίας και προήγαγαν τη συστολική της δραστηριότητα. (Rikhtegar, et al., 2019)

Σε πειράματα με μεγαλύτερα ζωικά μοντέλα, όπως αυτά χοίρων που είχαν υποστεί αφαίρεση του δεματίου Hiss και πλήρη καταστολή του κολποκοιλιακού καρδιακού ρυθμού, τα καρδιομυοκύτταρα προερχόμενα από hESCs είχαν ευεργετική δράση και την επαναφορά του καρδιακού ρυθμού τους. (Kehat, et al., 2004) Αντίστοιχα σε πθήκους του γένους *Macaca* με έμφραγμα του μυοκαρδίου, η μεταμόσχευση ESCs που είχαν

διαφοροποιηθεί μερικώς σε προγονικά κύτταρα ήταν επιτυχής, όπως και η περαιτέρω διαφοροποίησή τους σε καρδιομυοκύτταρα στο μυοκάρδιο των πειραματόζων (Blin, et al., 2010). Επίσης, η μεταμόσχευση καρδιομυοκυττάρων προερχόμενων από hESCs σε ζωικό μοντέλο του ίδιου είδους με έμφραγμα του μυοκαρδίου, οδήγησε σε ενσωμάτωση με τα ενδογενή καρδιομυοκύτταρα, αναγέννηση της κατεστραμμένης περιοχής αλλά και εμφάνιση αρρυθμιών. (Chong, et al., 2014)

Τέλος, έχει διαπιστωθεί ότι ESCs ανθρώπου (hESCs), που εκφράζουν ROR2⁺, CD13⁺, KDR⁺, PDGFRα⁺ οδήγησαν στην παραγωγή ενδοθηλιακών κυττάρων, αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και καρδιομυοκυττάρων, *in vitro*. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.2.2. Κλινικές μελέτες

Οι κλινικές δοκιμές απέδειξαν ότι τα ESCs μειονεκτούν σε διάφορα θέματα, όπως είναι τα ηθικά ζητήματα (προέρχονται από τις βλαστοκύστες εμβρύων), η γενετική μεταβλητότητα, ο κίνδυνος απόρριψης τους από το ανοσοποιητικό, η πιθανότητα πρόκλησης αρρυθμιών και η ικανότητα ογκογένεσης. Η κλινική εφαρμογή τους έχει διακοπεί εξαιτίας αυτών των ηθικών και βιολογικών κινδύνων. Ειδικότερα, η πολυδυναμία και η αλλογενής φύση των ESCs, οδηγεί σε αρκετά συχνή εμφάνιση τερατώματος αλλά και στην απόρριψη του μοσχεύματος. (Rikhtegar, et al., 2019)

Παρόλα αυτά σε μια πρόσφατη κλινική μελέτη αξιολογήθηκε η δυνατότητα των hESCs να διαφοροποιούνται σε καρδιαγγειακά προγονικά κύτταρα σε ασθενείς με σοβαρή ισχαιμική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας. Έξι ασθενείς (με μέση ηλικία τα 66,5 έτη) έλαβαν μια διάμεση δόση 8,2 εκατομμυρίων καρδιαγγειακών προγονικών κυττάρων, που προέρχονταν από hESCs, ενσωματωμένα σε ένα επίθεμα (patch) ινώδους ιστού (ινώδες ικρίωμα), στο επικάρδιο, κατά τη διάρκεια της επέμβασης παράκαμψης της στεφανιαίας αρτηρίας (bypass). Όλοι οι ασθενείς παρουσίασαν βελτίωση, με αυξημένη συστολική δραστηριότητα της αριστερής κοιλίας, ενώ δεν ανιχνεύθηκε όγκος κατά τη διάρκεια της παρακολούθησής τους και κανένας από τους ασθενείς δεν παρουσίασε αρρυθμίες. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.3. Βλαστικά κύτταρα προερχόμενα από το μυελό των οστών.

Τα βλαστικά κύτταρα του μυελού των οστών ακριβώς επειδή απομονώνονται εύκολα και έχουν μελετηθεί εκτενώς σε έρευνες αναγέννησης διαφόρων ιστών, όπως και του μυοκαρδίου. Διακρίνονται σε αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα και μη αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα όπως είναι τα μονοπύρηνια κύτταρα του μυελού των οστών (BM-MNCs), τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα του μυελού των οστών (BM-MSCs), τα ενδοθηλιακά βλαστικά κύτταρα, τα Side Population (SP) κύτταρα και ένας μικρός αριθμός κυττάρων που είναι όμοια με τα εμβρυικά. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.3.1. Προκλινικές δοκιμές

Τα μονοπύρηνια κύτταρα του μυελού των οστών (BM-MNCs) έδειξαν γρήγορα θετικά αποτελέσματα στην αναγέννηση του μυοκαρδίου σε προκλινικές δοκιμές, ενώ χρησιμοποιήθηκαν και τα Side Population (SP) προγονικά κύτταρα του μυελού των οστών σε μοντέλα ποντικών με έμφραγμα του μυοκαρδίου που διαφοροποιήθηκαν τελικά σε καρδιομυοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα. (Rikhtegar, et al., 2019)

Η συμβολή των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων του μυελού των οστών (BM-MSCs) στην αναγέννηση κατεστραμμένου μυοκαρδίου, έχει αποδειχθεί σε διάφορες προκλινικές δοκιμές με ζωικά μοντέλα θηλαστικών. Η απευθείας μεταμόσχευσή τους στην περιεμφραγματική περιοχή οδηγεί σε ενσωμάτωση και σε διαφοροποίηση τόσο σε καρδιομυοκύτταρα όσο και σε ενδοθηλιακά κύτταρα, επιδρώντας με θετικό τρόπο στην αναγέννηση της περιοχής, με μείωση της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας, ενεργοποίηση της αγγειογένεσης και γενικότερη βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας (αύξηση κλάσματος εξώθησης). Πρέπει να τονιστεί στο σημείο αυτό ότι η ενσωμάτωση και η διαφοροποίηση των BM-MSCs δεν ανιχνεύθηκε σε όλες τις δοκιμές αν και παρουσιάστηκε βελτιωμένη καρδιακή λειτουργία, υποδεικνύοντας έτσι μια παρακρινή αγγειογενετική ικανότητα αυτών των κυττάρων. Για να βελτιωθεί η ενσωμάτωση και διαφοροποίηση των BM-MSCs σε

προκλινικές δοκιμές, χρησιμοποιήθηκαν διάφοροι μέθοδοι όπως η ταυτόχρονη μεταμόσχευση c-kit⁺ καρδιακών προγονικών κυττάρων, η ταυτόχρονη συγχορήγηση συμβαστατίνης και η υποστηρικτική δράση ικτριωμάτων και μικροσφαιριδίων για τη μεταφορά τους στο μυοκάρδιο, όλες με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.3.2. Κλινικές δοκιμές

Τα BM-MNCs πέρασαν γρήγορα και στις κλινικές δοκιμές με σκοπό την αναγέννηση του μυοκαρδίου ασθενών με έμφραγμα. Τα αποτελέσματα ήταν οριακά θετικά (και σε κάποιες περιπτώσεις οριακά αρνητικά) και ανέφεραν βελτιωμένη καρδιακή λειτουργία, αυξημένο κλάσμα εξώθησης, μείωση του τελο-συστολικού/διαστολικού όγκου και της εμφραγματικής περιοχής. Επειδή η ενσωμάτωση των BM-MNCs και η διαφοροποίησή τους δε διήρκεσαν μεγάλο χρονικό διάστημα, η βελτιωμένη καρδιακή λειτουργία αποδόθηκε στον παρακρινή τρόπο δράσης τους και στην αγγειογένεση. (Rikhtegar, et al., 2019)

Αντίστοιχα και τα BM-MSCs εφαρμόστηκαν άμεσα και σε κλινικές δοκιμές, όπως αυτές σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (PROCHYMAL, APOLLO, AMICI κ.α.), με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια (POSEIDON-DCM) και με ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια (TRIDENT, POSEIDON, MESAMI κ.α.). Τα αποτελέσματα στις περισσότερες από αυτές δεν υπήρξαν ενθαρρυντικά ως προς την αναγέννηση του μυοκαρδίου και μόνο λίγες πέρασαν στη φάση 2 των δοκιμών. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.4. Σκελετικοί μυοβλάστες (SkM)

Οι σκελετικοί μυοβλάστες (SkM) έχουν χρησιμοποιηθεί σε μια ποικιλία χρόνιων ασθενειών συμπεριλαμβανομένης και της καρδιακής ανεπάρκειας. Οι σκελετικοί μυοβλάστες αποτελούν παράγωγα προγονικών κυττάρων σκελετικών μυών (δορυφορικά κύτταρα) με αναγεννητική ικανότητα. Μετά από πιθανή βλάβη στο μυ, αυτά τα προγονικά κύτταρα υπόκεινται σε πολλαπλασιασμό, διεγείροντας την ανανέωση και τη

διάκριση σε πρωτεΐνες του σαρκομερίου, με παρόμοιο τρόπο όπως και στα καρδιομυοκύτταρα, ανοίγοντας το δρόμο για τη χρήση τους και σε μελέτες αναγέννησης του κατεστραμμένου μυοκαρδίου. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.4.1. Προκλινικές δοκιμές

Τα πρώτα πειράματα πραγματοποιήθηκαν το 1995, *in vitro*, σε καρδιακό ιστό σκύλων που είχαν υποστεί έμφραγμα, μεταμοσχεύοντας SkM, τα οποία και τελικά ενσωματώθηκαν και διαφοροποιήθηκαν σε μυϊκά κύτταρα, κάποια από τα οποία προσομοιάζαν σε καρδιομυοκύτταρα. Αργότερα πραγματοποιήθηκαν άλλες δύο μελέτες σε αρουραίους με μη ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια, που διεγείρεται μέσω της δοξορουβικίνης και σε χάμστερ με μη ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια, που διεγείρεται μέσω μετάλλαξης στο γονίδιο *CHF147*, με παρόμοια αποτελέσματα. (Rikhtegar, et al., 2019)

Σε μία άλλη προκλινική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν οι Goettingen μίνι χοίροι με χρόνια έμφραγμα, οι οποίοι χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες που έλαβαν αντίστοιχα media control, 1, 2 ή 3 δόσεις από SkMs σε διάστημα 6 εβδομάδων και παρακολούθηθηκαν συνολικά για 7 μήνες. Παρατηρήθηκε σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση στο κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας, αγγειογένεση των ιστών και μειωμένη ίνωση στην ομάδα των ζώων που έλαβαν 3 δόσεις έναντι αυτών 1 μόνο δόσης. Οι Fukushima et al. επίσης στις προκλινικές δοκιμές τους ανέφεραν ότι η έγχυση SkM είτε μέσω της ενδομυοκαρδιακής είτε μέσω της ανάδρομης ενδοστεφανιαίας οδού, βελτίωσε την καρδιακή λειτουργία δραστηριότητα και μείωσε την καρδιομυοκυτταρική υπερτροφία και ίνωση. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.4.2. Κλινικές δοκιμές

Η πρώτη αποτελεσματική μεταμόσχευση SkM σε κατεστραμμένο μυοκάρδιο ανθρώπου πραγματοποιήθηκε το 1994. Συγκεκριμένα οι SkM διαφοροποιήθηκαν σε μυϊκά κύτταρα με μυοσίνη. Επίσης παρουσιάστηκε μειωμένη μειωμένη ίνωση και αυξημένη καρδιακή δραστηριότητα, με

αυξημένο όμως και τον κίνδυνο κοιλιακής αρρυθμίας. (Rikhtegar, et al., 2019)

Οι Menasche *et al.* πραγματοποίησαν την πρώτη μεταφορά SkM σε ασθενείς με σοβαρή ισχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια. Σε αυτή τη μελέτη φάσης 1, η έγχυση των κυττάρων στο κατεστραμμένο τμήμα της αριστερής κοιλίας επέφερε μια σημαντική αύξηση της λειτουργίας της, αν και 4 στους 10 ασθενείς παρουσίασαν κοιλιακή ταχυκαρδία. (Menasché, 2007)

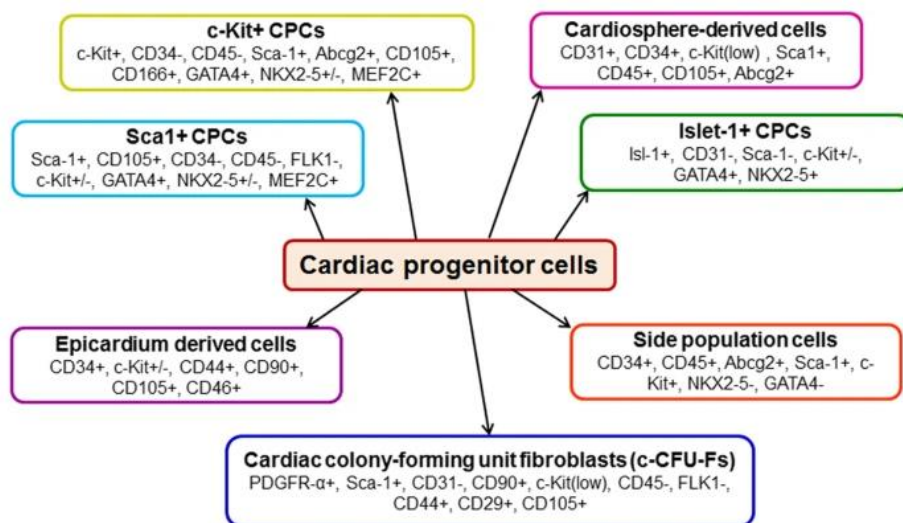
Η μακροχρόνια παρακολούθηση της φάσης 1 μιας μελέτης κοόρτης ασθενών με σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια, μετά από ενδομυοκαρδιακή ένεση SkMs, οδήγησε τόσο σε βελτίωση της κλινικής κατάστασης όσο και του κλάσματος εξώθησης της αριστερής κοιλίας, με εντυπωσιακά χαμηλή συχνότητα νοσηλειών αιτίας καρδιακής ανεπάρκειας, ενώ ο κίνδυνος αρρυθμίας ήταν δυνατό να αποφευχθεί με την αντίστοιχη φαρμακευτική θεραπεία. (Rikhtegar, et al., 2019)

Ο κίνδυνος εμφάνισης των καρδιακών αρρυθμιών και η μη αποτελεσματική στη διάρκεια του χρόνου βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας και ενσωμάτωσης των SkM στις περισσότερες από τις κλινικές, οδήγησε στην ανάγκη βελτίωσης της διαφοροποίησης των SkM σε μυοκύτταρα. Έτσι, σχετικά πρόσφατα αναπτύχθηκε μία καινοτόμος μέθοδος, (που έχει λάβει και 5ετή έγκριση από την Ιαπωνική κυβέρνηση), που θεωρείται, μάλιστα, το πρώτο φάρμακο κυτταρικής αναγεννητικής ιατρικής. Πρόκειται για την ανάπτυξη αυτόλογων μυοβλαστών σε cell-sheets *ex vivo*, και στη συνέχεια τη μεταμόσχευση αυτών σε ασθενείς που υποφέρουν από καρδιακή ανεπάρκεια, παρουσιάζοντας μειωμένη αναδιομόρφωση της αριστερής κοιλίας και μεγαλύτερη προστασία από το θάνατο, σε σύγκριση με ασθενείς που έλαβαν θεραπεία καρδιακού επανασυγχρονισμού. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.5. Καρδιακά προγονικά κύτταρα (CPCs).

Η ανίχνευση καρδιακών προγονικών κυττάρων (τόσο ενδογενής όσο και εξωγενής προέλευσης) (CPCs) και της δυνατότητά τους να ανανεώνουν τον καρδιακό ιστό έχει συζητηθεί έντονα τα τελευταία χρόνια.

Τα CPCs παρουσιάστηκαν για πρώτη φορά από τους Anversa et al. και σε πολλές αναφορές συναντώνται και ως καρδιακά βλαστικά κύτταρα (CSCs). Αν και αποτελούν πολύ μικρό ποσοστό των κυτταρικών πληθυσμών της καρδιάς (1-2%), τα ενδογενή CPCs διακρίνονται περαιτέρω σε αρκετές κυτταρικές ομάδες ανάλογα με τους παράγοντες που εκφράζουν, όπως τα c-kit⁺, τα Isl1⁺, τα SSEA⁺ και τα Sca1⁺ κύτταρα, τα προερχόμενα από το περικάρδιο κύτταρα, οι καρδιοσφαίρες, τα SP κύτταρα, κ.α. Μερικές από τις πιο σημαντικές και ενθαρρυντικές προκλινικές και κλινικές δοκιμές αυτών, παρατίθενται στη συνέχεια. (Le & Chong, 2016)



Εικόνα 27. Σχηματική απεικόνιση των κατηγοριών των ενδογενών CPCs και των αντίστοιχων παραγόντων που εκφράζουν. Πηγή: (Le & Chong, 2016)

2.5.1. Προκλινικές δοκιμές

Τα c-kit⁺ CPCs που απομονώθηκαν από την καρδιά ενήλικου αρουραίου αποδείχθηκαν ως αυτό-ανανεωτικά και πολυδύναμα, καταδεικνύοντας όλα τα χαρακτηριστικά των βλαστικών κυττάρων. Όταν εγχέονται σε κατεστραμμένους ιστούς του μυοκαρδίου, δύνανται να αποκαταστήσουν τη βλάβη στην καρδιακή δομή και δραστηριότητα. Σε καλλιέργειες διατηρούν τόσο την αυτοανανέωσή τους όσο και τη δυνατότητα διαφοροποίησης σε καρδιομυοκύτταρα, λεία μυϊκά και ενδοθηλιακά κύτταρα (είτε *in vitro* είτε *in vivo*) για μεγάλο χρονικό

διάστημα. Όμως τα αποτελέσματα *in vivo* προκλινικών δοκιμών, έδωσαν διαφορούμενα αποτελέσματα ανάμεσα στις ερευνητικές ομάδες, ανοίγοντας ένα μακρύ διάλογο των δύο πλευρών. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα Sca1⁺ κύτταρα έχουν μελετηθεί αρκετά σε συνθήκες καλλιέργειας, όπου και πολλαπλασιάζονται για μεγάλο χρονικό διάστημα. Έπειτα από έγχυσή τους σε ποντίκια με έμφραγμα του μυοκαρδίου, μεταναστεύουν στην περιοχή της βλάβης και εκεί διαφοροποιούνται τόσο σε καρδιομυοκύτταρα όσο και σε ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα, με το ποσοστό του καρδιομυοκυτταρικού πληθυσμού να είναι το μικρότερο, ενώ έχει βρεθεί να διαθέτουν και προστατευτική δράση στο μυοκάρδιο, αν μεταμοσχευθούν πριν το έμφραγμα. Η δράση και αυτών φαίνεται να οφείλεται κυρίως στην αγγειογένεση και σε παρακρινείς παράγοντες. Αξίζει να σημειωθεί όμως ότι ο παράγοντας Sca1 θεωρείται και καρκινικός δείκτης. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα κύτταρα που προέρχονται από τις καρδιοσφαίρες (CDCs) και μπορούν να απομονωθούν μέσω βιοψίας, αποτελούν έναν ανομοιογενή πληθυσμό προγονικών κυττάρων που εκφράζουν ποικίλους παράγοντες και πολλαπλασιάζονται για μεγάλο χρονικό διάστημα *in vitro*. Η μεταμόσχευσή τους σε ποντίκια με έμφραγμα του μυοκαρδίου, βελτίωσε την κοιλιακή καρδιακή λειτουργία και την αιμοδυναμική, ανέστειλε την αναδιαμόρφωση της καρδιάς και μείωσε τη βλάβη στην περιοχή. Επίσης οι Johnston et al. ανέφεραν ότι σε χοίρους με μακροχρόνιο έμφραγμα μυοκαρδίου, στους οποίους χορηγήθηκαν ανθρώπινα CDCs ενδοστεφανιαία, εμφάνισαν καρδιακή αναγέννηση, μείωση μεγέθους του εμφράγματος και της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας και βελτιωμένη καρδιακή δραστηριότητα καθώς και αιμοδυναμική. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα Is11⁺ προγονικά κύτταρα θεωρούνται άωρα προγονικά κύτταρα, που πιθανόν να αποτελούν και υποπληθυσμό των c-kit⁺ κυττάρων. Σε προκλινικό επίπεδο έχει αποδειχθεί ότι κύτταρα Is11⁺ από νεογέννητα άτομα δύνανται να διαφοροποιηθούν *in vitro* και *in vivo* σε καρδιομυοκύτταρα. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα SSEA1⁺ κύτταρα νεογέννητων αρουραίων θεωρούνται ανώριμος πληθυσμός προγονικών κυττάρων, ενώ διαθέτουν *in vitro* την

ικανότητα διαφοροποίησης σε ενδοκαρδιακά κύτταρα που συσπώνται, ενώ όταν μεταμοσχεύονται στο μυοκάρδιο αρουραίων με έμφραγμα βελτιώνουν την καρδιακή λειτουργία και αναγεννούν την προβληματική περιοχή. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τέλος, έχει ήδη αναφερθεί η ικανότητα των επικαρδιακών κυττάρων να συμβάλλουν στην αναγέννηση του μυοκαρδίου στο είδος zebra fish. Τα $Wt1^+$ επικαρδιακά κύτταρα θεωρούνται ένας μικρός προγονικός τύπος κυττάρων του επικαρδίου. Η χορήγηση θυμοσίνης-β4 σε ενήλικους αρουραίους ενεργοποίησε τη μετανάστευση των $Wt1^+$ κυττάρων στο μυοκάρδιο, όπου διαφοροποιήθηκαν σε μυοκαρδιοκύτταρα. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.5.2. Κλινικές δοκιμές

Σε κλινικό επίπεδο η πιο σημαντική δοκιμή για $c-kit^+$ κύτταρα υπήρξε η SCIPIO (Φάση 1) σε ασθενείς με ισχαιμία μυοκαρδίου. Αν και τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά (βελτίωσης λειτουργίας της αριστερής κοιλίας και μείωση της εμφραγματικής περιοχής), η δοκιμή δεν προχώρησε στη Φάση 2 και η δημοσιευμένη μελέτη της Φάσης 1 αποσύρθηκε, εξαιτίας της αμφισβήτησης της συγκεκριμένης ερευνητικής ομάδας (Anversa *et al.*) και της αξιοπιστίας της από την επιστημονική κοινότητα. (Rikhtegar, et al., 2019)

Η επιβεβαίωση της αποτελεσματικότητας των CDCs σε προκλινικό επίπεδο, οδήγησε στην περαιτέρω διερεύνηση και σε ανθρώπους με έμφραγμα του μυοκαρδίου και χρόνια ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια. Οι Makkar *et al.* πραγματοποίησαν μια τυχαιοποιημένη δοκιμή φάσης 1 με αυτόλογα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από την καρδιοσφαίρα σε ασθενείς με τρέχον έμφραγμα του μυοκαρδίου. Μετά από ένα χρόνο παρακολούθησης, υποβλήθηκαν σε θεραπεία με CDCs και εμφάνισαν μείωση κατά 42% στο μέγεθος της βλάβης. Ωστόσο, η θεραπεία με CDCs δεν κατάφερε να αντιμετωπίσει το αυξημένο κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας και ούτε να μειώσει τον όγκο αυτής, οπότε και θεωρείται ότι απαιτούνται μεγαλύτερες έρευνες φάσης II για την αξιολόγηση των θεραπευτικών ιδιοτήτων των CDCs. Επίσης, η κλινική δοκιμή ALLSTAR στοχεύει στην αναγέννηση του μυοκαρδίου μέσω

χορήγησης αλλογενών CDCs (CAP-1002) σε ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου και ισχαιμική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας . Στη μελέτη κοόρτης της φάσης 1 εντάχθηκαν 14 ασθενείς σε μια ανοιχτή, μη τυχαιοποιημένη δοκιμή με κλιμάκωση της δόσης. Η δοκιμή φάσης 2 θα είναι μια διπλά-τυφλή, τυχαιοποιημένη, με χρήση εικονικού φαρμάκου δοκιμή, που θα συγκρίνει τη μεταμόσχευση των CDCs με τη χορήγηση του εικονικού φαρμάκου σε κατανομή 2:1, σε 120 ασθενείς. Μέχρι στιγμής, τα αποτελέσματα από τη δοκιμή φάσης 1 κατέδειξαν ότι η έγχυση του αλλογενούς CAP-1002 ήταν εφικτή και ασφαλής. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τέλος, ανθρώπινα εμβρυικά βλαστικά κύτταρα, τα οποία κάτω από την επίδραση ειδικών παραγόντων διαφοροποιήθηκαν σε καρδιοειδικά και εξέφραζαν τόσο το δείκτη *Isl1* όσο και το *SSEA1* βελτίωσαν την καρδιακή λειτουργία ασθενών με έμφραγμα του μυοκαρδίου, σε κλινική δοκιμή. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.6. Επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (iPSCs).

Τα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (iPSCs) παράγονται από ενήλικα σωματικά κύτταρα μέσω μιας διαδικασίας γενετικού επαναπρογραμματισμού. Τα iPSCs έχουν – όπως ήδη έχει αναφερθεί – ιδιότητες παρόμοιες με τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα (ESCs), όπως η ικανότητα αυτόανανέωσης και η δυνατότητα διαφοροποίησης σε ποικίλους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων και των καρδιακών μυοκυττάρων . Η ικανότητα των iPSCs να διατηρούν γονιδιωματικές, μεταγραφικές, πρωτεομικές, μεταβολομικές και πρόσθετες εξατομικευμένες πληροφορίες για τον ασθενή, τα καθιστά ευαίσθητα στον τομέα της εξατομικευμένης ιατρικής. Τα ανθρώπινα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (hiPSCs) αποτελούν μια εξαιρετική προοπτική για τη μελέτη της φυσιολογίας και παθολογίας του ανθρώπου σε κυτταρικό επίπεδο και πιθανόν για την εξατομικευμένη ιατρική προσέγγιση των καρδιακών παθήσεων. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα διαφοροποιημένα καρδιακά κύτταρα που προκύπτουν μπορούν να εμφανίζουν παλμικότητα, να εκφράζουν συγκεκριμένους

μεταγραφικούς καρδιακούς παράγοντες, να έχουν συγκεκριμένη ηλεκτροφυσιολογία και να χρησιμοποιούνται ως “disease models” για τη μελέτη της παθοφυσιολογίας της καρδιάς, για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων και της ασφάλειας χορήγησης αυτών. (Rikhtegar, et al., 2019)

Η παραγωγή συγκεκριμένων “Consensus Molecular Subtypes” κυττάρων (CMS) από τα hiPSCs θα επιτρέψει επίσης μια πιο λεπτομερή αναγνώριση ασθενειών που επηρεάζουν διαφορετικά τις δύο κοιλίες της καρδιάς (π.χ. υπερτροφική καρδιομυοπάθεια, διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, αρρυθμογενής μυοκαρδιοπάθεια της δεξιάς κοιλίας). Επιπλέον, θα μπορούσαν να συμβάλλουν και στην κατασκευή βιομηχανικών βηματοδοτών ειδικών για τον κάθε ασθενή. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα iPSCs έχουν χρησιμοποιηθεί κυρίως για τη μελέτη των φαινοτύπων των καρδιακών νόσων καθώς και στον τομέα της ανακάλυψης νέων φαρμακευτικών σκευασμάτων. Είναι σταθερά σε *in vitro* συνθήκες, προέρχονται από τα κύτταρα του ασθενούς, μπορούν να δημιουργήσουν πολλαπλές μεταλλάξεις και να μελετηθούν με νέες μεθόδους όπως την *crispr/cas9*. Με τη δημιουργία μοντέλων ασθενειών έχουν μελετηθεί η τοξικότητα της δοξοριμπουκίνης (κυτταροτοξικό φάρμακο) και της σοταλόλης (β-αδρενεργικός αναστολέας). Η δημιουργία μυοκαρδιοκυττάρων από iPSCs γίνεται *in vitro* και στη συνέχεια μεταμοσχεύονται στην καρδιά νεογνικών ποντικών όπου και αναπτύσσουν το φαινότυπο ασθένειας του ασθενούς από τον οποίο προήλθαν τα κύτταρα. (Rikhtegar, et al., 2019)

Η κύρια ανησυχία σχετικά με τα hiPSCs έγκειται στην ανώριμη κατάσταση των διαφοροποιούμενων παράγωγων κυττάρων. Πολλά σηματοδοτικά μονοπάτια βρίσκονται υπό διερεύνηση ώστε να επιλεγθούν αυτά που θα τα οδηγήσουν στην τελική διαφοροποίηση (στο επίπεδο μιας ενήλικης ανθρώπινης καρδιάς). Επίσης οι παράγοντες μεταγραφής *c-Myc*, *Oct4* και *Klf4* που παράγονται από αυτά τα κύτταρα χαρακτηρίζονται και ως ογκογονίδια, τα οποία δύνανται να οδηγήσουν σε τερατώματα. Για το λόγο αυτό μελετώνται προσεγγίσεις στις οποίες η έκφραση των ανωτέρω είναι παροδική, ώστε να αποφεύγεται η ογκογένεση. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.6.1. Προκλινικές μελέτες

Τα iPSCs έχουν χρησιμοποιηθεί σε έρευνες για τις καρδιακές αρρυθμίες και τις μεταλλάξεις που τις δημιουργούν, ειδικότερα για το long Q-T σύνδρομο, με υψηλό κίνδυνο για θανατηφόρες κοιλιακές αρρυθμίες. Μεταλλάξεις στα γονίδια *KCNQ1*, *KCNH2* ΚΑΙ *SCN5A* είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία των συνδρόμων LQTS1, LQTS2, LQTS3 αντίστοιχα. Ακόμα ένα σύνδρομο το οποίο μελετήθηκε είναι το Timothy που οφείλεται σε μετάλλαξη στο γονίδιο *CACNA1C*. Στις κλινικές αυτές μελέτες χρησιμοποιήθηκαν whole-cell patch-clamp αναλύσεις για τα iPSCs και τεχνικές όπως το CRISPR/Cas9. Τα iPSCs χρησιμοποιήθηκαν επίσης για να αντιγράψουν ένα συγκεκριμένο τύπο ασθένειας από τους Moretti et al *in vitro*, που χαρακτηρίζει το σύνδρομο long Q-T. Πρόκειται για μία μετάλλαξη στο γονίδιο *KCNQ1*, η οποία κληρονομείται με αυτοσωματικό, επικρατούντα χαρακτήρα. Η ερευνητική ομάδα κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η μετάλλαξη αυτή ήταν υπεύθυνη για την παρατεταμένη κολπική και κοιλιακή διαστολή και τη μειωμένη επαναπόλωση. (Rikhtegar, et al., 2019)

Τα iPSCs χρησιμοποιήθηκαν και σε μοντέλα μυοκαρδιοθειών *in vitro* όπως το σύνδρομο LEOPARD και η υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια. Το σύνδρομο LEOPARD οφείλεται σε αυτοσωμικό επικρατές γονίδιο. Πρόκειται για μια πολυσυστηματική διαταραχή οφειλόμενη σε μετάλλαξη στο γονίδιο *PTPN11* και έχει εκδηλώσεις από το δέρμα, τους σκελετικούς μύες και το καρδιαγγειακό σύστημα. Η πιο επικίνδυνη εκδήλωση του έχει να κάνει με την υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια και που είναι απειλητική για τη ζωή. Οι Carvajal-Vergara et al. μελέτησαν καρδιομυοκύτταρα προερχόμενα από hiPSCs από ασθενή με σύνδρομο LEOPARD σε σύγκριση με τα αντίστοιχα υγιούς ατόμου. (Rikhtegar, et al., 2019)

Το 2006, οι Takahashi και Yamanaka με τη χρήση ώριμων ινοβλαστών από ποντικούς στους οποίους έχουν επαχθεί καθορισμένοι μεταγραφικοί παράγοντες γνωστοί και ως παράγοντες Yamanaka (περιλαμβάνουν: c-Myc, Sex Determining Region Y-box 2[Sox-2], Octamer-Binding Transcription Factor 3/4[OCT3/4], KruppelLike Factor 4 [Klf4]) δημιούργησαν έναν πληθυσμό iPSCs. Στη συνέχεια διαπιστώθηκε ότι αυτά τα iPSCs έχουν υπερβολική πιθανότητα να προκαλέσουν καρδιακή αναγέννηση και ότι τα καρδιομυοκύτταρα αυτά διαθέτουν τα

τυπικά χαρακτηριστικά των καρδιακών κυττάρων όπως η συσταλτικότητα, ο αυθόρμητος παλμός, και η έκφραση διαύλων ιόντων. (Rikhtegar, et al., 2019)

Οι Kawamura et al. περιέγραψαν τη μεταμόσχευση καρδιομυοκυττάρων προερχόμενων από ανθρώπινα iPSCs σε ένα μοντέλο χοίρου με έμφραγμα του μυοκαρδίου, με την ταυτόχρονη μεταμόσχευση ενός τρισδιάστατου ικρίωματος λείων μυϊκών και επιθηλιακών κυττάρων που περιείχε και τον αυξητικό παράγοντα IGF-1. Ως αποτέλεσμα αυτών, παρατηρήθηκε βελτιωμένη λειτουργία της αριστερής κοιλίας, αύξηση του μεταβολισμού του μυοκαρδίου και της πυκνότητας των αρτηριδίων και παράλληλη μείωση της βλάβης του εμφράγματος, του στρεσαρίσματος του κοιλιακού τοιχώματος, ενώ η απόπτωση δεν προκαλούσε κοιλιακές αρρυθμίες. (Rikhtegar, et al., 2019)

Έχουν παραχθεί λειτουργικά καρδιομυοκύτταρα από iPSCs προερχόμενα τόσο από ποντικούς όσο και από ανθρώπους, αν και η τελική διαφοροποίηση των iPSCs σε πλήρως ώριμα καρδιομυοκύτταρα *in vitro*, παραμένει ανεπιτυχής. Υπάρχουν ωστόσο ελπιδοφόρες *in vivo* δοκιμές σε ζωικά μοντέλα, στις οποίες παρατηρήθηκε ότι η μεταμόσχευση καρδιομυοκυττάρων που προέρχονται από iPSCs συνδέθηκε με αναπτυγμένη καρδιακή αποτελεσματικότητα, με μειωμένο μέγεθος βλάβης και με μειωμένη καρδιακή αναδιαμόρφωση. (Rikhtegar, et al., 2019)

2.6.2. Κλινικές μελέτες

Η πρώτη κλινική δοκιμή μεταμόσχευσης hiPSCs πραγματοποιήθηκε από τους Menache et al. Σε ασθενή 68 ετών, που βρισκόταν σε στάδιο NYHA III με σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια και κλάσμα εξώθησης 26%. HiPSCs τοποθετήθηκαν, σε ιώδες ικρίωμα, δημιουργώντας ένα εμφύλωμα, το οποίο μέσω χειρουργικής επέμβασης τοποθετήθηκε στην εμφραγματική περιοχή της καρδιάς του ασθενούς, ενώ ακολούθησε και αορτοστεφανιαία παράκαμψη, χωρίς μετεγχειρητικές επιπλοκές. Μετά από 3 μήνες ο ασθενής συνέχιζε χωρίς ιδιαίτερες ενοχλήσεις (NYHA I), χωρίς αρρυθμίες ή επιπλοκές από την ανοσοκαταστολή και χωρίς δημιουργία όγκων. Η ερευνητική ομάδα

συνέχισε τη μελέτη, διενεργώντας την ίδια διαδικασία σε άλλους 6 ασθενείς με πολύ καλά αποτελέσματα. (Rikhtegar, et al., 2019)

Πίνακας 3. Σύνοψη πλεονεκτημάτων και μειονεκτημάτων των βασικών βλαστικών κυτταρικών πληθυσμών που έχουν χρησιμοποιηθεί σε προκλινικές και κλινικές δοκιμές.

Τύπος κυττάρων	Προτερήματα	Μειονεκτήματα
iPSCs	<ul style="list-style-type: none"> • Πολυδύναμη διαφοροποίηση και αυτοανανέωση • ↓ Ζητήματα ηθικής • Εύκολα προσβάσιμη πηγή ιστού • Ισχυρή μυοκαρδιογονική ικανότητα 	<ul style="list-style-type: none"> • Σχηματισμός τερατώματος • Ανοσολογική απόρριψη • Περιορισμένη τεχνολογία επεξεργασίας γονιδιώματος • Πιθανή γονιδιωματική αστάθεια • Μη δοκιμασμένα εκτενώς σε κλινικό πλαίσιο
ESC s	<ul style="list-style-type: none"> • Πολυδύναμη διαφοροποίηση και αυτοανανέωση • Εύκολη δημιουργία κυτταρικών σειρών • Ενσωματώνονται ηλεκτρομαγνητικά στο μυοκάρδιο του ξενιστή 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Ζητήματα ηθικής • Μόνο αλλογενή • Σχηματισμός τερατώματος • Έλλειψη διαθεσιμότητας • Ανοσολογική απόρριψη

CPCs/CSCs	<ul style="list-style-type: none"> • Αυτόλογη μεταμόσχευση • Πολυδύναμα • Ασφάλεια σε κλινικές δοκιμές • Χαμηλός κίνδυνος ογκογένεσης • Σύντομη περίοδος καλλιέργειας (εβδομάδες) για την παραγωγή καρδιομυοκυττάρων 	<ul style="list-style-type: none"> • Περιορισμένη ποσότητα κυττάρων • Πρόσβαση από επεμβατικές βιοψίες μυοκαρδίου • Ανεπαρκής χαρακτηρισμός κυττάρων • Η δεξαμενή των βλαστοκυττάρων φαίνεται να υφίσταται γήρανση
SkMs	<ul style="list-style-type: none"> • Εύκολη λήψη από βιοψίες μυών • Αυτόλογη μεταμόσχευση • Αντίσταση στην ισχαιμία • ↓ Ζητήματα ηθικής • Χαμηλός κίνδυνος ογκογένεσης 	<ul style="list-style-type: none"> • Έλλειψη λειτουργικής διαφοροποίησης καρδιομυοκυττάρων • Κίνδυνος κοιλιακών αρρυθμιών • Χαμηλό ποσοστό μακροχρόνιας επιβίωσης • Επεμβατική διαδικασία απομόνωσης

2.7. Εξωσώματα

Τα εξωσώματα είναι πολύ μικρά κυστίδια (30-100nm), που περιβάλλονται από διπλή μεμβράνη και εκκρίνονται από ένα πλήθος

διαφορετικών κυττάρων (και από τα καρδιομυοκύτταρα και τα βλαστικά κύτταρα), τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές καταστάσεις και δύνανται να απομονωθούν από διάφορα σωματικά υγρά (αίμα, ούρα, μητρικό γάλα, σάλιο, αμνιακό υγρό). Τα εξωσώματα ή αλλιώς εξωκυτταρικά κυστίδια παράγονται και απελευθερώνονται από όλα τα κύτταρα, με σκοπό την επικοινωνία μεταξύ κυττάρων όμοιων ή διαφορετικών κυττάρων. Περιέχουν ένα εξειδικευμένο μοριακό φορτίο μεταξύ των οποίων πρωτεΐνες και microRNAs, επηρεάζοντας και ρυθμίζοντας τη λειτουργία των κυττάρων-στόχων. Σε αυτά φαίνεται να αποδίδεται η παρακρινής δράση που συναντήσαμε στα διάφορα βλαστικά κύτταρα, που χρησιμοποιούνται σε μελέτες των καρδιακών παθήσεων. (Han, et al., 2016)

2.7.1. Προκλινικές μελέτες

Εξωσώματα προερχόμενα από διάφορα iPSCs μεταμοσχεύθηκαν σε πειραματικά μοντέλα σε μυοκάρδια που έχουν υποστεί έμφραγμα. Παρατηρήθηκε μείωση της βλάβης, της φλεγμονής και της αναδιαμόρφωσης της καρδιάς καθώς και αύξηση της αγγειογένεσης και της καρδιακής λειτουργίας, επιβεβαιώνοντας τη συμβολή τους στην παρακρινή δράση των βλαστικών κυττάρων. Επίσης, σε μια μελέτη με αρουραίους παρατηρήθηκε εμφάνιση τερατωμάτων στην ομάδα που εγχύθηκαν iPSCs, ενώ αντίθετα, σε κανένα από τα ποντίκια που έλαβαν εξωσώματα προερχόμενα από iPSCs δεν παρουσιάστηκαν τερατώματα. (Han, et al., 2016)

2.8. Οργανοειδή

Η εξέλιξη της φαρμακολογία και στον καρδιολογικό τομέα, επιβάλλει την αντίστοιχη εξέλιξη των μοντέλων ασθενειών σε πιο πολύπλοκες κυτταρικές δομές, πιο κοντά στην ανθρώπινη φύση. Στο κομμάτι αυτό έρχονται να συμβάλλουν τα οργανοειδή καρδιάς, που δημιουργούνται από τα iPSCs. Τα οργανοειδή αποτελούν τρισδιάστατες «απομιμήσεις» οργάνων, που έχουν προέλθει από καλλιέργειες διαφόρων

κυττάρων όπως τα iPSCs, οι ινοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Διαθέτουν την ικανότητα μίμησης των κυτταρικών λειτουργιών των αντίστοιχων ιστών και κατ' επέκταση τη φυσιολογία και την παθοφυσιολογία αυτών. (Yin, et al., 2016)

Το πρώτο οργανοειδές αφορούσε το λεπτό έντερο και δημιουργήθηκε το 2009, και ακολούθησαν διάφορα όργανα, όπως το ήπαρ, ο εγκέφαλος και η καρδιά. Τα οργανοειδή θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορα πρωτόκολλα για να μελετηθούν οι γενετικές και μη γενετικές ασθένειες της καρδιάς. Η περαιτέρω ανάπτυξη της μηχανικής των ιστών μαζί με τα προγονικά καρδιακά (CPCs) κύτταρα και το εξωκυττάριο καρδιακό στρώμα (ECM) δίνουν ελπίδες για τη δημιουργία κριωμάτων και οργανοειδών, που θα λειτουργήσουν ως αξιόλογα μοντέλα των ασθενειών της καρδιάς. Μέχρι σήμερα τέτοιες προσπάθειες έχουν πραγματοποιηθεί για το έμφραγμα του μυοκαρδίου, το σύνδρομο Barth, διάφορες γενετικές μυοκαρδιοπάθειες και για τη μοντελοποίηση της αναγέννησης του μυοκαρδίου μετά από τραυματισμό. (Yin, et al., 2016)

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Σύγκριση επαγόμενων πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων και πολυδύναμων εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων.

Η παρούσα πτυχιακή εργασία αν και αναφέρεται σε όλους τους τύπους των βλαστικών κυττάρων που μπορούν να συμβάλλουν στην αναγέννηση του μυοκαρδίου με άμεσο και έμμεσο τρόπο, εστιάζει κυρίως στα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (iPSCs) και στα πολυδύναμα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα ή όπως αλλιώς ονομάζονται εμβρυικά βλαστικά κύτταρα (ESCs). Για το λόγο αυτό πραγματοποιείται στη συνέχεια μία σύγκριση μεταξύ των δύο αυτών τύπων βλαστικών κυττάρων.

Καταρχάς πρέπει να αναφερθεί ότι τα iPSCs εμφανίζουν αρκετά κοινά χαρακτηριστικά με τα ESCs, όπως είναι τα διάφορα γονίδια και πρωτεΐνες, τα παρεμφερή πρότυπα μεθυσίωσης, η κοινή ικανότητα διαφοροποίησης σε κύτταρα και των τριών κυτταρικών στιβάδων (εξώδερμα, μεσόδερμα, ενδόδερμα), αλλά και η κοινή δυνατότητα σχηματισμού τερατωμάτων και χιμαιρικών οργανισμών. Οι παρόμοιες αυτές ιδιότητες έχουν οδηγήσει στη σταδιακή αντικατάσταση των ESCs από τα iPSCs στο πεδίο έρευνας και της αναγεννητικής Ιατρικής. (Rikhtegar, et al., 2019)

Σημαντικό όμως πλεονέκτημα των iPSCs είναι ότι δε φέρουν κάποια από τα μειονεκτήματα που έχει η χρήση των ανθρώπινων ESCs (hESCs) όπως είναι τα ηθικά και τα θρησκευτικά διλήμματα που έρχονται στο προσκήνιο από τη χρήση τους και αυτό γιατί για την παραγωγή των τελευταίων απαιτείται η καταστροφή ανθρώπινων εμβρύων. Πρακτικά βέβαια, χρησιμοποιούνται κατά βάση hES, που προήλθαν από κυήσεις που τερματίστηκαν, πάντα μετά τη συναίνεση των άμεσα ενδιαφερόμενων. Οπότε αμέσως γίνεται φανερό ότι υφίστανται δυσκολίες εύρεσης hESC προς χρήση. Τα iPSC δεν υπόκεινται σε αυτούς τους περιορισμούς. Η παρασκευή και απομόνωσή τους είναι πιο εύκολη, αφού απαιτείται απλά η αντίστοιχη πηγή πολυδυναμίας. (Rikhtegar, et al., 2019)

Ένα ακόμη σημαντικό πλεονέκτημα των iPSCs έναντι των hESCs είναι η αποφυγή της απόρριψης των βλαστικών μοσχευμάτων, από την οποία κινδυνεύουν συχνά τα δεύτερα. Τα iPSCs έχουν ως πηγή προέλευσης τα σωματικά κύτταρα του ίδιου του λήπτη, με αποτέλεσμα το μόσχευμα να είναι συμβατό, να μην ενεργοποιείται η διαδικασία της ανοσοαπόρριψης από τον οργανισμό του ασθενή. Με τον τρόπο αυτό αποφεύγεται και το εξουθενωτικό πρόβλημα εύρεσης οργάνων και μοσχευμάτων και ο έλεγχος της ανοσοσυμβατότητας, συχνό ζήτημα και στους ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια, μειώνοντας τους χρόνους αναμονής. (Rikhtegar, et al., 2019)

Επίσης, τα iPSCs αποτελούν σημαντικό εργαλείο για την εξατομικευμένη Ιατρική, από τη στιγμή που η λήψη των σωματικών κυττάρων από τους ασθενείς, επιτρέπει τη μετατροπή τους σε iPSCs και την τελική διαφοροποίηση τους στις κυτταρικές σειρές που αφορούν την εκάστοτε νόσο. Έτσι προσφέρεται η ευκαιρία τόσο για μελέτη της εκάστοτε νόσου *in vitro*, με τον τρόπο που αυτή εμφανίζεται στον κάθε ένα ασθενή όσο και για τη διερεύνηση και τον έλεγχο νέων φαρμακευτικών προσεγγίσεων. Τα iPSCs συμβάλλουν με αυτό τον τρόπο στην πρόοδο της αναγεννητικής και εξατομικευμένης Ιατρικής.

Παρόλα αυτά συναντώνται ακόμα τεχνικά και βιολογικά προβλήματα στη χρήση τους, με αποτέλεσμα να μην μπορούν να εφαρμοστούν άμεσα στην κλινική πράξη. Ένα βασικό μειονέκτημα τους αποτελεί η χρήση ιικών φορέων (π.χ. ρετροϊών) για τη μεταφορά των απαραίτητων γονιδίων στα σωματικά κύτταρα. Αν και η χρήση των ρετροϊών είναι αρκετά βοηθητική στη διαδικασία, ελλοχεύει ο κίνδυνος απορρύθμισης της διαδικασίας μεταγραφής στα σωματικά κύτταρα και ο κίνδυνος καρκινογένεσης, μέσω της έκτοπης έκφρασης των Oct4, Sox2, Klf4, και ιδιαίτερα του πρωτο-ογκογονιδίου c-Myc, καθώς και διάφορων παρεκκλίνοντων προτύπων υπομεθυλίωσης και υπερμεθυλίωσης σε νησίδες CpG σε iPSC, συγκριτικά με τα κύτταρα από τα οποία προήλθαν και τα οποία δύνανται να μεταδίδονται με μεγάλη συχνότητα. (Moysidou, Goulielmaki, & Christodoulou, 2019)

Επίσης τα iPSCs είναι γνωστό ότι φέρουν περισσότερες μεταλλάξεις από τα κύτταρα που προήλθαν αν και ο αριθμός αυτών των μεταλλάξεων εξαρτάται τόσο από τον τρόπο παραγωγής τους όσο και από

την ίδια την κυτταρική σειρά προέλευσής τους. Για παράδειγμα, έχει αναφερθεί ότι εάν ο επαναπρογραμματισμός των κυττάρων πραγματοποιηθεί με μεταφορά πυρήνων σε ωάρια αντί να χρησιμοποιηθούν ρετροϊοί, το ποσοστό των μεταλλάξεων που θα συμβούν στα iPSCs θα είναι πολύ μικρότερο. Πρέπει τέλος να τονιστεί ότι η πολυδυναμία στην καλλιέργεια αποτελεί έτσι κι αλλιώς μια κατάσταση που ευνοεί τον έντονο πολλαπλασιασμό, ο οποίος με τη σειρά του ευνοεί τη δημιουργία *de novo* μεταλλάξεων και είναι σημαντικό οι καλλιέργειες να επανεξετάζονται, για τυχαίες μεταλλάξεις. (Moysidou, Goulielmaki, & Christodoulou, 2019)

Ένα επιπλέον σημαντικό μειονέκτημα των iPSCs, είναι το ίδιο το «set γονιδίων» που χρησιμοποιείται για τον επαναπρογραμματισμό. Το βασικό «set γονιδίων» του επαναπρογραμματισμού χρησιμοποιεί διάφορα γονίδια (όπως αυτά που εκφράζουν τους παράγοντες Sox2, Oct3/4, c-Myc και Klf4) που από τη μια συμβάλλουν στην αυτοανανέωση, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την πολυδυναμία εν γένει των iPSCs (αλλά και των ESCs), εμπλέκονται παράλληλα και στους μηχανισμούς του κυτταρικού κύκλου, της κυτταρικής απόπτωσης και του κυτταρικού ανασχηματισμού, οδηγώντας έτσι στην καρκινική ανάπτυξη. (Moysidou, Goulielmaki, & Christodoulou, 2019)

Τα ESCs και ιδίως τα hESC από την άλλη μεριά έχουν το μειονέκτημα ενός γενετικά ετερογενή κυτταρικού πληθυσμού, την άγνωστη γενετική σταθερότητα κατά τη μακροχρόνια ανάπτυξη και την ανάγκη ύπαρξης λειτουργικώς ώριμων φαινοτύπων και σε μεγάλη κλίμακα, ώστε να είναι κατάλληλες για τις διάφορες βιοφαρμακευτικές εφαρμογές. Το κυριότερό τους μειονέκτημα όπως έχει ήδη αναφερθεί αποτελούν οι εκάστοτε απαγορευτικές εθνικές νομοθεσίες και τα βιοηθικά και θρησκευτικά ζητήματα που αναστέλλουν την περαιτέρω ανάπτυξη του τομέα αυτού. (Rikhtegar, et al., 2019)

2. Προοπτικές βελτίωσης των επαγόμενων πολυδύναμων κυττάρων.

Από τα παραπάνω κρίνονται απαραίτητες οι προσπάθειες για τη βελτίωση της τεχνολογίας των iPSCs. Κάποιες τις μεθόδους αυτές ήδη βρίσκονται υπό διερεύνηση.

Αρχικά ερευνάται η επίτευξη του επαναπρογραμματισμού χωρίς τη χρήση ρετροϊών, αλλά άλλων ιών, όπως είναι οι αδενοϊοί και οι ιοί Sendai (RNA ιοί) που δεν ενσωματώνονται στο γονιδίωμα, οι πλασμιδιακοί φορείς, οι επισωματικοί πλασμιδιακοί φορείς που προέρχονται από τον ιό Epstein-Barr, τα μικρά κυκλικά μόρια DNA, και τα λιποσώματα (ως φορείς των γονιδίων-παραγόντων). Τέλος, αξίζει να αναφερθούν και τα συστήματα ρετροϊών, που φέρουν θέσεις LoxP και μετά τον επαναπρογραμματισμό των κυττάρων μπορούν να αφαιρεθούν με τη χρήση της Cre- ρεκομπινάσης, καθώς και τα συστήματα τρανσποζονίων τεχνητών βακτηριακών χρωμοσωμάτων (piggyBac transposons), τα οποία δεν αφήνουν τα μεταφερόμενα γονίδια στο γονιδίωμα των κυττάρων. (Moysidou, Goulielmaki, & Christodoulou, 2019)

Παράλληλα έχουν αναπτυχθεί και μέθοδοι οι οποίες δεν απαιτούν τη μεταφορά γονιδίων των απαραίτητων παραγόντων, αφού αυτοί ενεργοποιούνται εξωγενώς. Ένας τρόπος είναι η εισαγωγή των απαραίτητων αυτών πρωτεϊνών (Sox2, Oct3/4, c-Myc και Klf4) από τη μεμβράνη των σωματικών κυττάρων μέσω ενός τομέα πολυαργινίνης, προσκολλημένο στον καρβοξυτελικό τομέα τους. Επίσης έχουν παραχθεί iPSCs μέσω εξωγενούς χορήγησης του mRNA των παραπάνω πρωτεϊνών (RiPSC), κατάλληλα τροποποιημένο ώστε οι αντι-ιικές άμυνες του σωματικού κυττάρου να μην μπορούν να το εντοπίσουν. Το πρόβλημα και με τις εξωγενείς πρωτεΐνες και με το εξωγενές mRNA είναι ότι είναι απαραίτητη η διαρκής χορήγησή τους, ώστε να επιτευχθεί ο επαναπρογραμματισμός. (Moysidou, Goulielmaki, & Christodoulou, 2019)

Επιπροσθέτως και τα miRNAs έχουν χρησιμοποιηθεί για τον επαναπρογραμματισμό κυττάρων σε πολυδύναμη κατάσταση. Συνήθως η πολυδυναμία επάγεται, με τη βοήθεια μεταγραφικών παραγόντων, αλλά

μια ερευνητική ομάδα κατόρθωσε να επάγει πιο αποτελεσματική πολυδυναμία σε κύτταρα ποντικού και ανθρώπου, μόνο με τη χρήση miRNAs και χωρίς μεταγραφικούς παράγοντες. (Moysidou, Goulielmaki, & Christodoulou, 2019)

Άλλη μία μέθοδος επαναπρογραμματισμού σωματικών κυττάρων ποντικού πραγματοποιήθηκε με μικρομοριακά χημικά σύμπλοκα, ενώ ένα ακόμ εργαλείο που μπορεί να προωθήσει μία καλύτερη απόδοση των iPSCs είναι το σύστημα CRISPR/Cas9. Το σύστημα αυτό δύναται να τροποποιήσει γονιδιώματα και οπότε και να ανατρέψει μεταλλάξεις των iPSCs. (Moysidou, Goulielmaki, & Christodoulou, 2019)

3. Το μέλλον της θεραπευτικής χρήσης των βλαστικών κυττάρων στις καρδιακές παθήσεις.

Συνοψίζοντας τα συμπεράσματα από της ενότητας αυτής αλλά και των ευρημάτων των αντίστοιχων προκλινικών μελετών και κλινικών δοκιμών, φαίνεται η αρκετά ενθαρρυντική πιθανότητα των επαγόμενων πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων αλλά και των επαγόμενων εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων να διαφοροποιούνται σε λειτουργικά καρδιομυοκύτταρα. Μετά από την επιτυχή τους ενσωμάτωση στο μυοκάρδιο όπου μεταμοσχεύονται, συμβάλλουν στη βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας μέσω κυρίως της αναστολής της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας, της αύξησης του κλάσματος εξώθησής της, και της μείωσης της βλάβης της εμφραγματικής περιοχής που οδηγεί στη γενικότερη αναγέννηση του μυοκαρδίου. Υποβόσκει όμως ο κίνδυνος ογκογένησης και ανασολογικής απόρριψης (στην περίπτωση που αυτά δεν προέρχονται από τον ίδιο τον ασθενή). Παρόμοιες ευεργετικές ιδιότητες φαίνεται να έχουν και άλλοι τύποι βλαστικών κυττάρων, οι οποίοι όμως δε φαίνεται να κατορθώνουν να μετατρέπονται σε μεγάλο ποσοστό σε καρδιομυοκύτταρα, αλλά συμβάλλουν στη βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας μέσω έμμεσων παρακρινών διαδικασιών.

Πολλοί από τους μηχανισμούς, απομόνωσης, επαναπρογραμματισμού, πολυδυναμίας, μεταμόσχευσης, ενσωμάτωσης και αποφυγής της ογκογένεσης χρήζουν ακόμη ερευνών και δοκιμών, ώστε να αποσαφηνιστούν όλοι παράγοντες, ενδογενείς και εξωγενείς, που συμβάλλουν στην επιτυχή παραγωγή και θεραπευτική χρήση τόσο των επαγόμενων πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων όσο και των πολυδύναμων εμβρυονικών κυττάρων. Απαιτούνται ακόμα αρκετά έτη, υψηλά κόστη και διευθέτηση των ζητημάτων βιοηθικής, ώστε η κυτταρική αυτή θεραπεία να αποτελέσει κύριο μέρος της αναγεννητικής και εξατομικευμένης Ιατρικής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τις τελευταίες δεκαετίες υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για την έρευνα και τη μελέτη των βλαστικών κυττάρων και των εφαρμογών τους, αφού πρόκειται για ένα επιστημονικό πεδίο με σημαντικό αναπτυξιακό και αναγεννητικό ρόλο στη βιοϊατρική.

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία γίνεται αναφορά στα βλαστικά κύτταρα γενικά, αλλά και στην ικανότητα κάποιων από αυτά να διαφοροποιούνται σε καρδιομυοκύτταρα με αναγεννησιακές ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα παρουσιάζονται προκλινικές μελέτες και κλινικές δοκιμές, που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα για τη μετατροπή των επαγόμενων πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων, των πολυδύναμων εμβρυονικών βλαστικών κυττάρων καθώς και διαφόρων άλλων βλαστικών κυττάρων σε καρδιομυοκύτταρα, με σκοπό τη χρήση τους σε σύγχρονες θεραπευτικές προσεγγίσεις των καρδιαγγειακών νόσων.

Οι καρδιαγγειακές νόσοι παρουσιάζουν αυξανόμενη επιδημιολογική τάση σε παγκόσμιο επίπεδο, με ένα μεγάλο μέρος των ασθενών να μην ανταποκρίνεται ικανοποιητικά στις συμβατικές θεραπείες και να οδηγείται στη λύση της μεταμόσχευσης καρδιάς ακόμα και στο θάνατο. Οι καινοτόμες θεραπείες καρδιακής αναγέννησης με βλαστικά κύτταρα αν και αποτελούν σήμερα μια ελπιδοφόρα προοπτική, παρουσιάζουν ακόμη βιολογικά, τεχνικά και βιοηθικά ζητήματα.

Λέξεις-κλειδιά: αναγέννηση μυοκαρδίου, καρδιομυοκύτταρα, βλαστικά κύτταρα, επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα, πολυδύναμα εμβρυονικά βλαστικά κύτταρα, καρδιακές παθήσεις, καρδιακή ανεπάρκεια, προκλινικές μελέτες, κλινικές δοκιμές

ABSTRACT

During the last decades, there is a great interest in the research and study of stem cells and their applications, as it is a scientific field with an important developmental and regenerative role in biomedicine.

This master thesis refers to stem cells in general, but also to the ability that some of them have, to differentiate into cardiomyocytes with regenerative properties. More specifically, several pre-clinical studies and clinical trials are presented, which are concerning the conversion of induced pluripotent stem cells, pluripotent embryonic stem cells and various other stem cells into cardiomyocytes, for their use in modern therapeutic approaches to cardiovascular diseases.

Cardiovascular diseases are on the rise worldwide, with lots of patients, who are not responding to conventional therapies, have to come up with the solution of heart transplantation or even die. Today, although innovative stem cell-regeneration therapies are a promising prospect, they still have to face up biological, technical and bioethical issues.

Keywords: myocardial regeneration, cardiomyocytes, stem cells, induced pluripotent stem cells, pluripotent embryonic stem cells, heart disease, heart failure, preclinical studies, clinical trials

Βιβλιογραφία

- Anderson, R., Spicer, D., Hlavacek, A., Cook, A., & Backer, C. (2013). Wilcox's surgical anatomy of the heart. Cambridge: Cambridge University Press.
- Axel, L. (2004). Papillary muscles do not attach directly to the solid heart wall. *Circulation*;109:3145-3148.
- Banerjee, I., Fuseler, J. W., Price, R. L., Borg, K., T., & Baudino, T. A. (2007). Determination of cell types and numbers during cardiac development in the neonatal and adult rat and mouse. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 293(3), H1883-H1891.
- Behjati, S., Lindsay, S., Teichmann, S. A., & Haniffa, M. (2018). Mapping human development at single-cell resolution. *Development*, 145(3), dev152561.
- Bers, D. (2002). Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*;415:198-205.
- Bers, D. (2008). Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. *Annu Rev Physiol*;70:23-49.
- Bers, D., & Guo, T. (2005). Calcium signaling in cardiac ventricular myocytes. *Ann N Y Acad Sci*;1047:86-98.
- Blin, G., Nury, D., Stefanovic, S., Neri, T., Guillevic, O., Brinon, B., & Pucéat, M. (2010). A purified population of multipotent cardiovascular progenitors derived from primate pluripotent stem cells engrafts in postmyocardial infarcted nonhuman primates. *The Journal of clinical investigation*, 120(4), 1125-1139.
- Camelliti, P., Borg, T. K., & Kohl, P. (2005). Structural and functional characterisation of cardiac fibroblasts. *Cardiovascular research*, 65(1), 40-51.

- Charbord, P. (2010). Bone marrow mesenchymal stem cells: historical overview and concepts. *Human gene therapy*, 21(9), 1045-1056.
- Chong, J. J., Yang, X., Don, C. W., Minami, E., Liu, Y. W., Weyers, J., & Murry, C. E. (2014). Human embryonic-stem-cell-derived cardiomyocytes regenerate non-human primate hearts. *Nature*, 510(7504), 273-277.
- Dettman, R. W., Denetclaw Jr, W., Ordahl, C. P., & Bristow, J. (1998). Common epicardial origin of coronary vascular smooth muscle, perivascular fibroblasts, and intermyocardial fibroblasts in the avian heart. *Developmental biology*, 193(2), 169-181.
- Ding, D., Shyu, W., & Lin, S. (2011). Mesenchymal stem cells. *Cell transplantation*, 20(1), 5-14.
- Draeger, A., Amos, W. B., Ikebe, M., & Small, J. V. (1990). The cytoskeletal and contractile apparatus of smooth muscle: contraction bands and segmentation of the contractile elements. *The Journal of cell biology*, 111(6), 2463-2473.
- Fong, C., Chak, L., Biswas, A., Tan, J., Gauthaman, K., Chan, W., & Bongso, A. (2011). Human Wharton's jelly stem cells have unique transcriptome profiles compared to human embryonic stem cells and other mesenchymal stem cells. *Stem Cell Reviews and Reports*, 7(1), 1-16.
- Frangogiannis, N. (2019). Cardiac fibrosis: cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. *Molecular aspects of medicine*, 65, 70-99.
- Graf, T., & Stadtfeld, M. (2008). Heterogeneity of embryonic and adult stem cells. *Cell stem cell*, 3(5), 480-483.
- Grandi, E., Morotti, S., Ginsburg, K., Severi, S., & Bers, D. (2010). Interplay of voltage and Ca-dependent inactivation of L-type Ca current. *Prog Biophys Mol Biol*;103:44-50.

- Grant, R. (1965). Notes on the muscular architecture of the left ventricle. *Circulation*;32:301-308.
- Han, C., Sun, X., Liu, L., Jiang, H., Shen, Y., Xu, X., & Wang, T. (2016). Exosomes and their therapeutic potentials of stem cells. *Stem cells international*, 2016.
- Ho, S. (2009). Anatomy and myoarchitecture of the left ventricular wall in normal and in disease. *Eur J Echocardiogr*;10:iii3-7.
- Ho, S., & McCarthy, K. (2010). Anatomy of the left atrium for interventional electrophysiologists. *Pacing Clin Electrophysiol*;33:620-627.
- Hoffman, J., & Kaplan, S. (2002). The incidence of congenital heart disease. *J Am Coll Cardiol*,39:1890-1900.
- Iaizzo, P. (2009). *Handbook of cardiac anatomy, physiology and devices*. Springer.
- Kehat, I., Khimovich, L., Caspi, O., Gepstein, A., Shofti, R., Arbel, G., & ... Gepstein, L. (2004). Electromechanical integration of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Nature biotechnology*, 22(10), 1282-1289.
- Lam, J., Ranganathan, N., Wigle, E., & Silver, M. (1970). Morphology of the human mitral valve. I. Chordae tendineae: a new classification. *Circulation*;41:449-458.
- Le, T. Y., & Chong, J. J. (2016). Cardiac progenitor cells for heart repair. *Cell death discovery*, 2(1), 1-4.
- Lo Celso, C., & Scadden, D. T. (2011). The haematopoietic stem cell niche at a glance. *Journal of cell science*, 124(21), 3529-3535.
- Lunkenheimer, P., Redmann, K., Kling, N., Jiang, X., Rothaus, K., Cryer, C., . . . Anderson, R. (2006). Three-dimensional architecture of the left ventricular myocardium *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2006;288:565-578.

- Mafi, P., Hindocha, S., Mafi, R., Griffin, M., & Khan, W. (2011). Suppl 2: Adult Mesenchymal Stem Cells and Cell Surface Characterization- A Systematic Review of the Literature. *The open orthopaedics journal*, 5, 253.
- Mathers, C., & Loncar, D. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*,3:e442.
- McCulloch, E. A., & Till, J. E. (1963). Repression of colony-forming ability of C57BL hematopoietic cells transplanted into nonisologous hosts. TORONTO UNIV (ONTARIO).
- McLean, M., & Prothero, J. (1992). Determination of relative fiber orientation in heart muscle: methodological problems. *Anat Rec*;232:459-465.
- Meilhac, S. M., & Buckingham, M. E. (2018). The deployment of cell lineages that form the mammalian heart. *Nature Reviews Cardiology*, 15(11), 705-724.
- Menasché, P. (2007). Skeletal myoblasts as a therapeutic agent. *Progress in cardiovascular diseases*, 50(1), 7-17.
- Morrison, S. J., & Kimble, J. (2006). Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *nature*, 441(7097), 1068-1074.
- Moysidou, E., Goulielmaki, M., & Christodoulou, I. (2019). Induced pluripotent stem cells: Cell therapy in regenerative medicine and modeling of human disease.
- Paige, S., Plonowska, K., Xu, A., & Wu, S. (2015). Molecular regulation of cardiomyocyte differentiation. *Circulation research*, 116(2), 341-353.
- Palma, J., & Benarroch, E. (2014). Neural control of the heart: recent concepts and clinical correlations *Neurology*;83:261-271.
- Pera, M., Reubinoff, B., & Trounson, A. (2000). Human embryonic stem cells. *Journal of cell science*, 113(1), 5-10.

- Pinto, A. R., Ilinykh, A., Ivey, M. J., Kuwabara, J. T., D'antoni, M. L., Debuque, R., . . . Tallquist, M. D. (2016). Revisiting cardiac cellular composition. *Circulation research*, 118(3), 400-409.
- Poss, K. (2007). Getting to the heart of regeneration in zebrafish. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 18, No. 1, pp. 36-45). Academic Press.
- Puglisi, J., Wang, F., & Bers, D. (2004). Modeling the isolated cardiac myocyte. *Prog Biophys Mol Biol*;85:163-178.
- Rikhtegar, R., Pezeshkian, M., Dolati, S., Safaie, N., Rad, A. A., Mahdipour, M., . . . Yousefi, M. (2019). Stem cells as therapy for heart disease: iPSCs, ESCs, CSCs, and skeletal myoblasts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 304-313.
- Rippon, H., & Bishop, A. (2004). Embryonic stem cells. *Cell proliferation*, 37(1), 23-34.
- Russel Sneddon, J. (2004). *Υψηλή πίεση*. Αθήνα: Διόπτρα.
- Schleich, J. M., Abdulla, T., Summers, R., & Houyel, L. (2013). An overview of cardiac morphogenesis. *Archives of cardiovascular diseases*, 106(11), σσ. 612-623.
- Schofield, R. (1978). The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood cells*, 4(1-2), 7-25.
- Slack, J. M., & Dale, L. (2021). *Essential developmental biology*. John Wiley & Sons.
- Strydom, H., & et al. (1994). A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*,89:2462-78.
- Uygun, A., & Lee, R. (2016). Mechanisms of cardiac regeneration. *Developmental cell*, 36(4), 362-37.

- Wagers, A. J., & Weissman, I. L. (2004). Plasticity of adult stem cells. *Cell*, 116(5), 639-648.
- Webb G et al. (2015). The care of adults with congenital heart disease across the globe: Current assessment and future perspective: A position statement from the International Society for Adult Congenital Heart Disease (ISACHD). *Int J Cardiol*, 195:326-33.
- Wu, E., Wu, Y., Tang, H., Wang, J., Yang, J., Ng, M., . . . Tse, H. (2007). Study of myocardial fiber pathway using magnetic resonance diffusion tensor imaging. *Magn Reson Imaging*;25:1048-1057.
- Yin, X., Mead, B., Safaee, H., Langer, R., Karp, J., & Levy, O. (2016). Engineering stem cell organoids. *Cell stem cell*, 18(1), 25-38.
- Young, A., & Cowan, B. (2012). Evaluation of left ventricular torsion by cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson*;14:49.
- Zaza, A., & Rosen, M. (2000). An introduction to cardiac electrophysiology. Taylor & Francis.
- Zeng, X., Zhang, Y., Kwong, J., Zhang, C., Li, S., Sun, F., & ... Du, L. (2015). The methodological quality assessment tools for preclinical and clinical studies, systematic review and meta-analysis, and clinical practice guideline: a systematic review. *Journal of evidence-based medicine*, 8(1), 2-10.
- Ελληνική Στατιστική Αρχή. (2021). Αιτίες Θανάτου 2008. Δελτίο Τύπου. Αθήνα.
- Κωλέττης, Θ. (2015). Παθοφυσιολογία της καρδιάς [Προπτυχιακό εγχειρίδιο]. Αθήνα: Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις.
- <https://www.kardiologos-tsiantis.gr/>
- <https://ilampos.wordpress.com/>
- <https://www.cusabio.com/>
- <https://www.researchgate.net/>

<https://docplayer.gr/2756491>