



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ
ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ
ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΑΔΡΑΝΕΙΑΣ (QUIESCENCE)
ΣΤΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ»**

ΣΠΥΡΙΔΟΠΟΥΛΟΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τραχανά Βαρβάρα, Επίκουρος Καθηγήτρια , Επιβλέπουσα

Τσέζου Ασπασία, Καθηγήτρια, Συνεπιβλέπουσα

Παπαθανασίου Ιωάννα, Επίκουρος Καθηγήτρια, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2025



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE

POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”

MASTER’S THESIS
«GENETIC REGULATION OF QUIESCENCE IN STEM CELLS»

Vasileios Spyridopoulos

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία αποτελεί περιγραφή της βιβλιογραφικής διπλωματικής μελέτης μου, που εκπονήθηκε κατά την διάρκεια φοίτησης μου στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας «Γενετική του Ανθρώπου και Γεντική Συμβουλευτική».

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής της εργασίας ξεχωριστά. Αρχικά, την κυρία Τραχανά Βαρβάρα για την αρωγή και την στήριξή της, καθώς και τις κυρίες Τσέζου Ασπασία και Παπαθανασίου Ιωάννα για την συμβολή και την υπομονή τους.

Επιπλέον, δεν θα μπορούσα να μην αναφερθώ στην οικογένεια μου. Συγκεκριμένα, στον πατέρα μου, Σπυριδόπουλο Θεμιστοκλή, την μητέρα μου Σωτηριάδου Αλεξάνδρα και την αδερφή μου Σπυριδοπούλου Νικολέτα για την συνεχή τους παρουσία, ουσιαστικά συναισθηματική αλλά και φυσική. Δεν θα μπορούσα όμως να αποσιωπήσω και την ευρύτερη οικογένεια μου Μαυρίδου Βασιλική, Κάρμη Χρίστο, Κάρμη Νικόλα, Κάρμη Σεμέλη, Μαυρίδου Δέσποινα, Γιακουμίδη Κωνσταντίνο και Γιακουμίδη Φανή, καθώς και τους Σωτηριάδου Σιμέλα και Μπούκλα Ιωάννη που δεν σταμάτησαν στιγμή να με αγαπούν και να με στηρίζουν.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τους φίλους μου, Ζερβάκη Ζωή, Χατζηλιάδου Γεωργία, Σεφικά Σόλων, Ντάνα Γαλήνη, Αμανατίδου Άντζυ και Τομάζο Ιωάννη που αποτελούσαν για μένα μια ζεστή αγκαλιά και μία χείρα βοηθείας ανά πάσα στιγμή.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η κυτταρική αδράνεια είναι μια αναστρέψιμη κυτταρική κατάσταση κατά την οποία έχει γίνει παύση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Τα κύτταρα σε αδράνεια δεν διαιρούνται, αλλά μπορούν να εισέλθουν ξανά στον κυτταρικό κύκλο και να συνεχίσουν τον πολλαπλασιασμό τους εάν εκτεθούν σε ορισμένα σήματα από το περιβάλλον. Κύτταρα σε αδράνεια σε θηλαστικά και ανθρώπους είναι κυρίως τα ενήλικα βλαστοκύτταρα. Αυτά τα κύτταρα παρουσιάζουν βελτιωμένη αντοχή στο στρες και ενισχυμένη ικανότητα επιβίωσης. Πρόσφατες μελέτες τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* δείχνουν ότι η αδράνεια διατηρείται ενεργά μέσω συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ εγγενών και εξωγενών σημάτων. Οι υποτύποι βλαστοκυττάρων μπορούν να διατηρηθούν σε αδράνεια και στη συνέχεια να επανενεργοποιηθούν μετά από τραυματισμό ιστού για την αποκατάσταση της ομοιόστασης. Ωστόσο, η αδράνεια μπορεί να απορυθμιστεί σε παθολογικά περιβάλλοντα. Σε αυτήν την εργασία, μελετήσαμε την γενετική ρύθμιση της αδράνειας σε διάφορα είδη βλαστοκυττάρων σύμφωνα με τις πρόσφατες εξελίξεις που αποκαλύπτουν μονοπάτια ενδοκυτταρικής σηματοδότησης, μεταγραφικές αλλαγές και εξωκυτταρικά σήματα που ελέγχουν την επαγωγή και την έξοδο από την αδράνεια στα βλαστοκύτταρα του ιστού. Επίσης, μελετήσαμε τις επιπτώσεις της αδράνειας καθώς και τις φαρμακολογικές και γενετικές προσεγγίσεις που διερευνώνται είτε για να προκαλέσουν είτε να αποτρέψουν την αδράνεια ως θεραπευτική στρατηγική σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως είναι ο καρκίνος.

Λέξεις- Κλειδιά: βλαστοκύτταρα, αδράνεια, μηχανισμοί, γενετική ρύθμιση

ABSTRACT

Quiescence is a reversible cellular state in which the entry and proliferation of the cell cycle is prevented. Cells in quiescence do not divide but can re-enter the cell cycle and continue to proliferate if exposed to certain signals from the environment. Quiescent cells in mammals and humans include adult stem cells. These cells show improved stress resistance and enhanced survival. Recent studies both *in vivo* and *in vitro* show that quiescence is actively maintained through synergistic interactions between endogenous and exogenous signals. Adult stem cell subtypes can be kept quiescent and then reactivated after tissue injury to restore homeostasis. However, quiescence can be deregulated in pathological cases. In this study, we investigated the genetic regulation of quiescence in various stem cell types according to recent developments revealing intracellular signaling pathways, transcriptional changes, and extracellular signals within the stem cell niche that control induction and exit from quiescence in stem cells. We also studied the effects of quiescence as well as the pharmacological and genetic approaches that are investigated either in order to induce or prevent quiescence as a therapeutic strategy in various pathological conditions, such as cancer.

Key words: stem cells, quiescence, mechanisms, genetic regulation

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1 Εισαγωγή	7
2 Κυτταρικός κύκλος	9
3 Βλαστικά κύτταρα	11
3.1 Είδη βλαστοκυττάρων	14
3.2 Πολυδύναμα (Pluripotent) Βλαστικά Κύτταρα	20
3.3 Έλεγχος κυτταρικού κύκλου σε εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα	22
3.4 Έλεγχος κυτταρικού κύκλου σε ενήλικα βλαστικά κύτταρα	25
3.5 Ο ρόλος της φωλιάς (niche) στην ρύθμιση των βλαστικών κυττάρων	33
4 Αδράνεια στα βλαστοκύτταρα	36
4.1 Ορισμός αδράνειας	36
4.2 Λειτουργία της αδράνειας	37
4.3 Αδράνεια σε βλαστοκύτταρα ενηλίκων	39
4.4 Επίπεδα αδράνειας σε βλαστοκύτταρα ενηλίκων	41
5 Βλαστοκύτταρα και Ασθένειες	44
6 Γενετική ρύθμιση της αδράνειας σε βλαστοκύτταρα	53
6.1 Μηχανισμοί αδράνειας σε βλαστοκύτταρα	53
6.2 Παράγοντες που ρυθμίζουν την αδράνεια σε βλαστοκύτταρα	60
6.2.1 Ρύθμιση της Αδράνειας και Αντίσταση στο Στρες στα Βλαστοκύτταρα	63
6.2.2 Αντίσταση στο Στρες και Ρύθμιση των ROS	64
7 Μελλοντικά βήματα	69
7.1.1 Προκλήσεις και μελλοντικές προοπτικές	69
7.1.2 Αδράνεια των βλαστοκυττάρων και θεραπευτικές προοπτικές	70
8 Συμπεράσματα	75
9 Βιβλιογραφία	78

1 Εισαγωγή

Σε όλο το σώμα των θηλαστικών, πολλοί ιστοί περιέχουν μικρούς πληθυσμούς ενήλικων, εξειδικευμένων βλαστοκυττάρων, των οποίων η κύρια λειτουργία είναι η διατήρηση της ακεραιότητας των ιστών μέσω συνεχούς κυτταρικής ανανέωσης ή ως πηγή προγονικών κυττάρων για την επιδιόρθωση και αντικατάσταση κατεστραμμένων ιστών μετά από τραυματισμό. Εκτός από τη διατήρηση της ομοιόστασης και την αναγέννηση των ιστών, αυτά τα κύτταρα διαθέτουν αυτοανανέωση, ώστε να διατηρούν σταθερό τον πληθυσμό των βλαστοκυττάρων στον οργανισμό (Li and Clevers, 2010; Cheung and Rando, 2013).

Πολλά ιστοειδικά βλαστοκύτταρα, όπως αυτά του αίματος ή του εγκεφάλου, είναι πολυδύναμα, καθώς μπορούν να δώσουν πολλαπλούς κυτταρικούς τύπους. Αντίθετα, ιστούς όπως η επιδερμίδα και οι σκελετικοί μύες περιέχουν μονοδύναμα βλαστοκύτταρα, τα οποία παράγουν αποκλειστικά έναν κυτταρικό τύπο, εξειδικευμένο για τη διατήρηση και επιδιόρθωση του συγκεκριμένου ιστού (Li and Clevers, 2010).

Πολλά βλαστοκύτταρα παραμένουν για μεγάλες χρονικές περιόδους σε κατάσταση αδράνειας (quiescence) κατά τη διάρκεια της ζωής του οργανισμού. Ο όρος κυτταρική αδράνεια αναφέρεται σε μια αναστρέψιμη παύση του κυτταρικού κύκλου, κατά την οποία τα κύτταρα εξέρχονται από τον κυτταρικό κύκλο και εισέρχονται στη φάση G0, αλλά μπορούν να επανενεργοποιηθούν ως απόκριση σε διάφορα ερεθίσματα. Αντίθετα, τα τελικώς διαφοροποιημένα και γηρασμένα κύτταρα βρίσκονται επίσης στη φάση G0, αλλά μη αναστρέψιμα.

Ορισμένοι πληθυσμοί αδρανών βλαστοκυττάρων περιλαμβάνουν τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα (HSCs), τα βλαστοκύτταρα των τριχοθυλακίων (HFSCs), τα μυϊκά βλαστοκύτταρα (MuSCs) και τα νευρικά βλαστοκύτταρα (NSCs) (Cheshier et al., 1999; Blanpain et al., 2004; Cheung and Rando, 2013; Codega et al. 2014).

Η ισορροπία μεταξύ αδράνειας και πολλαπλασιασμού στα βλαστοκύτταρα πρέπει να ρυθμίζεται αυστηρά, καθώς διαταραχές αυτής της ισορροπίας μπορεί να οδηγήσουν είτε σε υπερβολική κυτταρική ανάπτυξη είτε σε εξασθενημένη ομοιόσταση και μειωμένη ικανότητα αναγέννησης των ιστών. Αν και η κυτταρική αδράνεια αποτελεί χαρακτηριστικό πολλών βλαστοκυτταρικών πληθυσμών, δεν είναι απαραίτητο για όλα τα βλαστοκύτταρα. Για παράδειγμα, ιστοί όπως το εντερικό επιθήλιο και η επιδερμίδα βασίζονται σε συνεχώς ανανεούμενα βλαστοκύτταρα, τα

οποία διαφοροποιούνται σε παρεγχυματικά κύτταρα που είναι απαραίτητα για τη διατήρηση του ιστού (Li and Clevers, 2010; Hsu et al., 2014).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η εντερική κρύπτη περιέχει και αδρανή βλαστοκύτταρα, γνωστά ως "κύτταρα +4", τα οποία λειτουργούν ως εφεδρικά βλαστοκύτταρα. Αυτά μπορούν να ενεργοποιηθούν σε περιπτώσεις οξείας απώλειας των ενεργών βλαστοκυττάρων στις κρύπτες, ώστε να τα αντικαταστήσουν (Tetteh et al., 2016; Jadhav et al., 2017).

Είναι πιθανό ότι ιστοί που περιέχουν βλαστοκύτταρα για τη φυσιολογική ομοιόσταση διαθέτουν επίσης έναν ξεχωριστό πληθυσμό αδρανών "αποθεματικών" βλαστοκυττάρων, τα οποία χρησιμεύουν ως δεξαμενή αναπλήρωσης των ενεργών κυττάρων σε περιπτώσεις ιστικής βλάβης ή κυτταρικού στρες.

Η παρούσα μελέτη επικεντρώνεται στην κυτταρική αδράνεια των βλαστοκυττάρων, διερευνώντας τους μηχανισμούς γενετικής ρύθμισης της αδράνειας σε αυτά τα κύτταρα, καθώς και πιθανές εφαρμογές της στην κλινική πράξη.

2 Κυτταρικός κύκλος

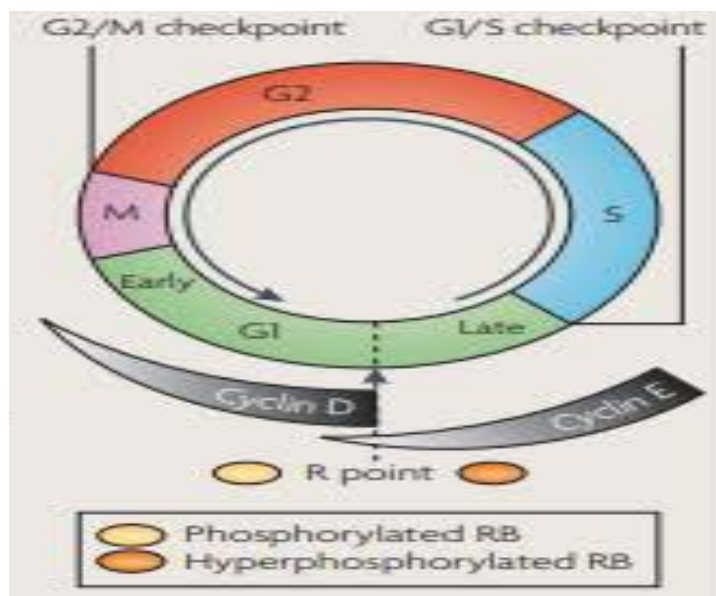
Ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός λαμβάνει χώρα μέσω μιας σειράς σταδίων που συλλογικά ονομάζονται κυτταρικός κύκλος. Κλασικά, ο κυτταρικός κύκλος έχει χωριστεί σε τέσσερις φάσεις που οργανώνονται γύρω από τη φάση σύνθεσης (S) και τη φάση του μιτωτικού διαχωρισμού (M) του γονιδιώματος με δύο ενδιάμεσες φάσεις κενού (G1 και G2) που προηγούνται των φάσεων S και M, αντίστοιχα. Η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου είναι αυστηρά ρυθμιζόμενη, ιδιαίτερα στις μεταβάσεις από τη φάση G1 στη φάση S και από τη φάση G2 στη φάση M. Αυτά τα δύο «σημεία ελέγχου» αξιολογούν τα εγγενή σήματα (για παράδειγμα, την ακεραιότητα του γονιδιώματος) και ελέγχονται από τις εξαρτώμενες από την κυκλίνη κινάσες cdk2 και cdk1, αντίστοιχα (Εικόνα 1) (Orford et al., 2008).

Εκτός από αυτά τα εγγενή σημεία ελέγχου του κυττάρου, ένας συνδυασμός εγγενών και εξωγενών σημάτων ρυθμίζει το πέρασμα από την πρώιμη στην όψιμη φάση G1 στα περισσότερα κύτταρα. Αυτή η μετάβαση ονομάζεται σημείο περιορισμού (restriction -R) και διαιρεί τη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου στην εξαρτώμενη από τα μιτογόνα, πρώιμη φάση G1, και στην ανεξάρτητη από τα μιτογόνα, όψιμη φάση G1. Γενικά, τα κύτταρα πρέπει να διεγείρονται από μιτογόνα σήματα (για παράδειγμα, διαλυτοί αυξητικοί παράγοντες) για να περάσουν τη φάση G1 και να εισέλθουν στον κυτταρικό κύκλο. Το σημείο R αντιπροσωπεύει ένα «σημείο μη επιστροφής» για το κύτταρο, μετά το οποίο το κύτταρο έχει δεσμευτεί να εισέλθει στον κυτταρικό κύκλο και τα μιτογόνα ερεθίσματα δεν απαιτούνται πλέον. Ελλείψει μιτογόνου διέγερσης, τα κύτταρα μπορούν να εξέλθουν από τον κυτταρικό κύκλο κατά τη διάρκεια της πρώιμης φάσης G1 και να εισέλθουν σε μια λανθάνουσα κατάσταση, ή αδράνεια, που ονομάζεται φάση G0 που χαρακτηρίζεται από μικρό κυτταρικό μέγεθος και χαμηλή μεταβολική δραστηριότητα (Orford et al., 2008).

Η όψιμη φάση G1 χαρακτηρίζεται από την ανεξάρτητη από μιτογόνο ενεργοποίηση της δραστηριότητας του συμπλέγματος κυκλίνης E-cdk2 και τη ταυτόχρονη υπερφωσφορυλίωση και απενεργοποίηση της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης του ρετινοβλαστώματος (RB). Η μετάβαση από τη πρώιμη στην όψιμη G1 ρυθμίζεται κυρίως από τις κυκλίνες τύπου D και τα ενζυματικά τους αντίστοιχα, cdk4 και cdk6. Τα σύμπλοκα κυκλίνης D-cdk4 και κυκλίνης D-cdk6 λειτουργούν μέσω ενζυματικών και μη ενζυματικών μηχανισμών για τη μερική απενεργοποίηση του Rb και την ενεργοποίηση της έκφρασης της κυκλίνης E. Όταν φτάσει σε ένα οριακό

επίπεδο δραστηριότητας της κυκλίνης E-cdk2, η Rb απενεργοποιείται πλήρως με υπερφωσφορυλίωση και η ενεργότητα των συμπλόκων κυκλίνης D – cdk4 και κυκλίνης D-cdk6 δεν απαιτείται πλέον για να συμβεί η μετάβαση G1/S (Orford et al., 2008).

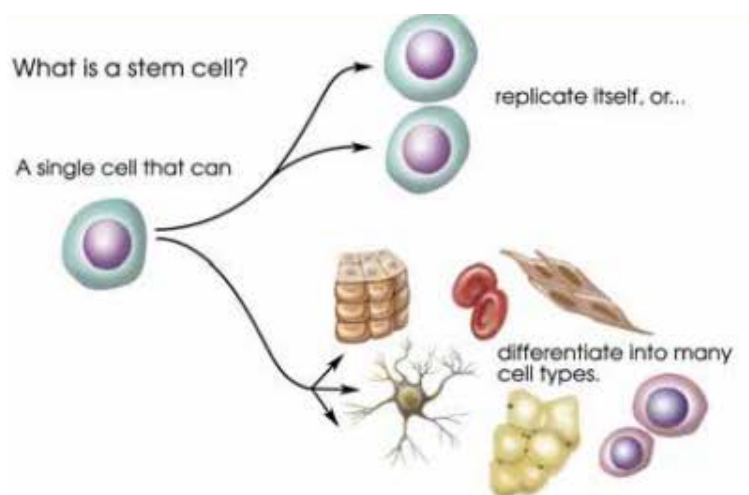
Δύο οικογένειες αναστολέων των κινασών που εξαρτώνται από κυκλίνη (CDKIs) ρυθμίζουν τη μετάβαση από τη φάση G1 στην S. Συγκεκριμένα, τα μέλη της οικογένειας Ink4 p15, p16, p18 και p19 είναι άμεσοι αναστολείς των πρώιμων συμπλοκών G1 κυκλίνης D-cdk4 και κυκλίνης D-cdk6, και τα μέλη της οικογένειας CIP/KIP (p21CIP, p27KIP1, p57KIP2) είναι άμεσοι αναστολείς των όψιμων συμπλόκων της G1 κυκλίνης E – cdk2. Αυτοί οι αναστολείς γενικά επιβραδύνουν ή εμποδίζουν τη μετάβαση από τη μία φάση στην άλλη του κυτταρικού κύκλου εμποδίζοντας τις δραστηριότητες των κινασών που εξαρτώνται από κυκλίνη. Παραδόξως, η p27 επιτρέπει τον σχηματισμό και τη σταθεροποίηση των συμπλόκων **κυκλίνης D-CDK4**, τα οποία είναι απαραίτητα για τη φωσφορυλίωση και μερική απενεργοποίηση της πρωτεΐνης Rb, διευκολύνοντας τη μετάβαση στην όψιμη G1 φάση. Παράλληλα, η p27 αναστέλλει τη δραστηριότητα των συμπλόκων **κυκλίνης E-CDK2**, αποτρέποντας την πλήρη φωσφορυλίωση του Rb και τη μετάβαση στο σημείο R. Αυτή η διττή δράση της p27 επιτρέπει τον έλεγχο της κυτταρικής διαίρεσης, διασφαλίζοντας ότι τα κύτταρα προχωρούν στον κύκλο μόνο υπό κατάλληλες συνθήκες (Orford et al., 2008).



Εικόνα 1. Παρουσίαση του κυτταρικού κύκλου (Τροποποίηση από Orford et al., 2008).

3 Βλαστικά κύτταρα

Τα βλαστοκύτταρα διαθέτουν δύο σημαντικές διακριτές ιδιότητες: αυτή της αυτοανανέωσης, καθώς και τη δυνατότητα διαφοροποίησης τους σε μια σειρά εξειδικευμένων κυτταρικών τύπων, γνωστή ως δυναμικότητα (Blanpain et al., 2004). Υπάρχουν διαφορετικοί βαθμοί δυναμικότητας, όπως είναι η μονοδυναμία (unipotency) (διαφοροποίηση σε έναν μεμονωμένο κυτταρικό τύπο), η πολυδυναμία (multipotency) (η ικανότητα να διαφοροποιηθεί σε έναν αριθμό κυτταρικών τύπων), η ολοδυναμία (pluripotency) (η ικανότητα διαφοροποίησης και προς κυτταρικούς τύπους και από τις τρεις βλαστικές στιβάδες, ενδόδερμα, μεσόδερμα και εξώδερμα), ή η παντοδυναμία (totipotency) (η ικανότητα να σχηματίσει όλους τους τύπους κυττάρων) (Kolios and Moodley, 2013).



Εικόνα 2. Βλαστικά κύτταρα (Τροποποίηση από National Academy of Science, 2004).

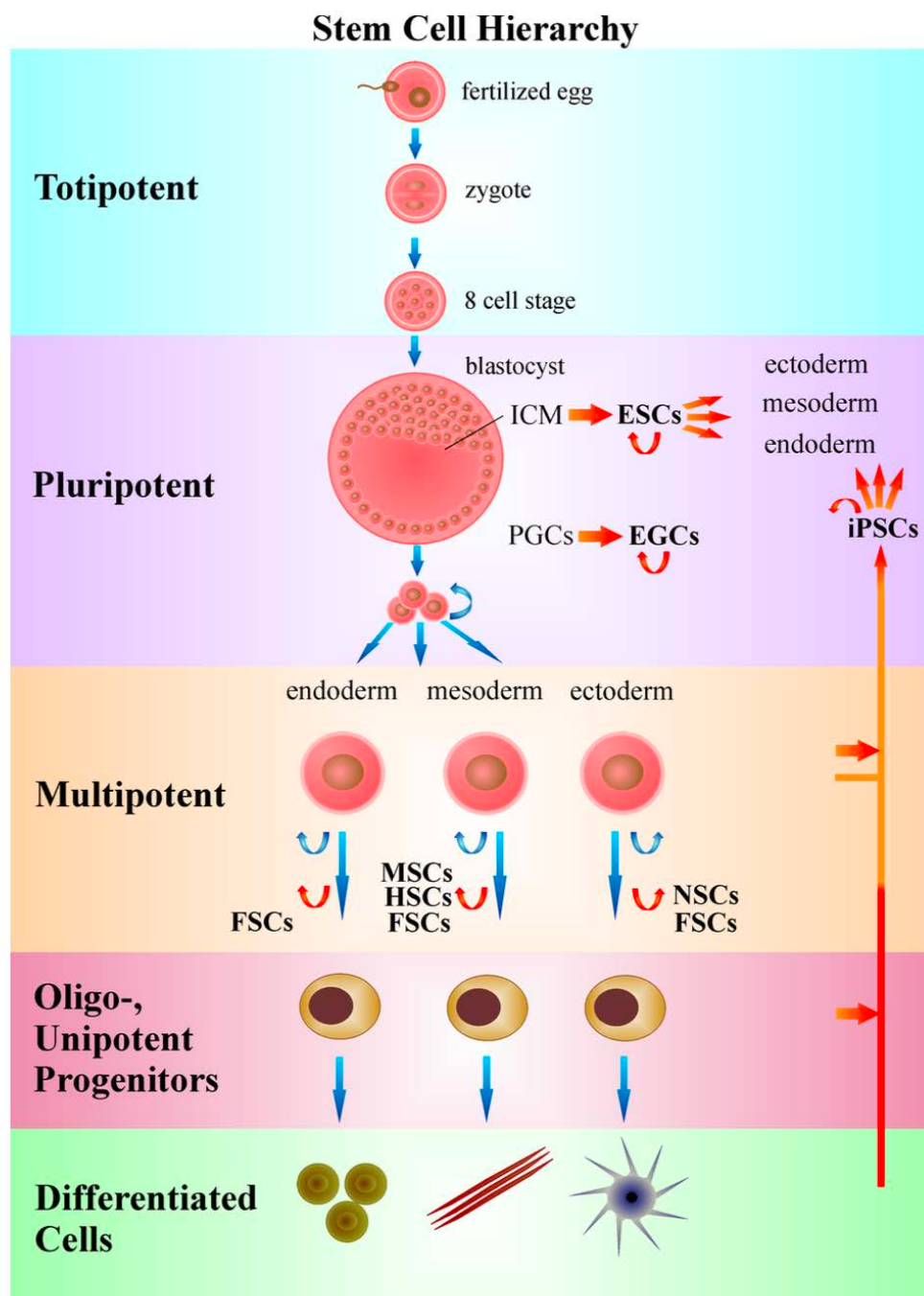
Τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (EB) είναι ολοδύναμα (pluripotent) και προέρχονται από την εσωτερική κυτταρική μάζα μιας βλαστοκύστης ενός εμβρύου (Nichols and Smith, 2012), γεγονός που καθιστά δύσκολη την απόκτηση ανθρώπινων εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων λόγω ορισμένων ηθικών φραγμών που σχετίζονται με τη δωρεά γονιμοποιημένων ωαρίων για έρευνα (Wert and Mummery, 2003). Τα EB αρχικά καλλιεργήθηκαν με ένα «στρώμα τροφοδοσίας» ινοβλαστών ποντικού

(Thomson et al., 1998, Reubinoﬀ et al., 2000) ή ινοβλαστών προερχόμενων από τον άνθρωπο (μη διαιρούμενων) (Amit et al., 2003).

Μια εναλλακτική πηγή βλαστοκυττάρων μπορεί να προκύψει από ιστό ενηλίκων όπως είναι ο μυελός των οστών, ο λιπώδης και ο εγκεφαλικός ιστός (Friedenstein et al., 1987, Meirelles et al., 2006, Bunnell et al., 2008). Αυτά τα κύτταρα αναφέρονται ως σωματικά βλαστοκύτταρα ή βλαστοκύτταρα ενηλίκων, ενώ αυτά που προέρχονται από μυελό των οστών, ονομάζονται κοινώς μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (Abdallah and Kassem, 2007). Τα τελευταία διαθέτουν ικανότητα αυτοανανέωσης και περιορισμένη ικανότητα διαφοροποίησης σε σύγκριση με τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (Blau et al., 2001). Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα είναι πολυδύναμα, γεγονός που σημαίνει ότι μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μικρό αριθμό κυτταρικών τύπων (Pittenger et al., 1999).

Τα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα προέρχονται από επιτυχή επαναπρογραμματισμό σωματικών κυττάρων προκειμένου να τους αποδοθούν και πάλι ιδιότητες που μοιάζουν με αυτές των εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων. Οι αρχικές ανακαλύψεις έγιναν από το Yamanaka και τους συνεργάτες του, οι οποίοι πέτυχαν τον επαναπρογραμματισμό κυττάρων ποντικίου (Takahashi and Yamanaka, 2006), ακολουθούμενο από επαναπρογραμματισμό ανθρώπινων κυττάρων λίγο αργότερα (Takahashi et al., 2007). Περιέργως, η ρετροϊκή παροχή των ίδιων τεσσάρων μεταγραφικών παραγόντων (Oct3/4, Sox2, Klf4 και c-Myc) τόσο σε ινοβλάστες ποντικού όσο και σε ανθρώπινους οδήγησε στη δημιουργία των επαγόμενων πολυδύναμων βλαστοκυττάρων (Takahashi and Yamanaka, 2006, Takahashi et al., 2007). Η δημιουργία ανθρώπινων επαγόμενων πολυδύναμων βλαστοκυττάρων θεωρήθηκε μια πρωτοποριακή ανακάλυψη, καθώς παρείχε τη δυνατότητα για τη δημιουργία μεγάλων ποσοτήτων αυτόλογων βλαστοκυττάρων ασθενών για την αναγεννητική ιατρική. Ωστόσο, μια προειδοποίηση για τη δημιουργία αυτών των κυττάρων είναι ότι δεν υπάρχει μέθοδος ελέγχου που να διασφαλίζει ότι έχει πραγματοποιηθεί πλήρης πυρηνικός επαναπρογραμματισμός. Τα μερικώς επαναπρογραμματισμένα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα δεν θα παρουσιάζουν όλα τα επιθυμητά χαρακτηριστικά που μοιάζουν με εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα και οι εκτροπές στον επαναπρογραμματισμό μπορεί να επηρεάσουν τη δυνατότητα διαφοροποίησης τους καθώς και υψηλότερο κίνδυνο σχηματισμού τερατώματος (Yamanaka, 2009). Πράγματι, μια μελέτη των Okita et al. ανέφερε ότι η έκφραση του c-myc θα μπορούσε να προκαλέσει σχηματισμό όγκων (Okita et al.,

2007) γεγονός που εγείρει ανησυχίες για την ασφάλεια λόγω της ανεξέλεγκτης και τυχαίας φύσης της ενσωμάτωσης του DNA στο γονιδίωμα του ξενιστή (Takahashi et al., 2007).



Εικόνα 3. Η δυναμικότητα των βλαστοκυττάρων (Forostyak, 2016).

3.1 Είδη βλαστοκυττάρων

Τα βλαστοκύτταρα έχουν απaráμιλλα χαρακτηριστικά. Πιο συγκεκριμένα, δεν είναι εξειδικευμένα κύτταρα και έχουν την ικανότητα αυτο-ανανέωσης και διαφοροποίησης αν λάβουν το κατάλληλο σήμα (Windley et al., 2005). Τα βλαστοκύτταρα έχουν την ικανότητα να αναπαράγονται ξανά και ξανά μέσω ασύμμετρης κυτταρικής διαίρεσης, μπορούν να παράγουν καινούρια κύτταρα τα οποία διατηρούν τα χαρακτηριστικά του μητρικού κυττάρου (Plancheran et al., 2009).

Τα βλαστοκύτταρα μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με την προέλευσή τους σε τέσσερις γενικούς τύπους, από έμβρυα (3-8 εβδομάδων), από έμβρυα (μεγαλύτερα από 9 εβδομάδων) από τα βρέφη και από τον ενήλικα. Επίσης, μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τη βλαστικότητα τους (stemness) και τη δυναμικότητά τους.

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΒΛΑΣΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΤΟΥΣ

Εμβρυικά βλαστικά κύτταρα (Embryonic Stem Cells (ESCs))

Εμβρυικά βλαστοκύτταρα (Embryonic stem cells): Τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα είναι ολοδύναμα (pluripotent), αυτοανανεούμενα κύτταρα που προέρχονται από βλαστοκύστες, και λαμβάνονται από τα πολύ πρώιμα στάδια ανάπτυξης του εμβρύου μετά από 4-5 ημέρες μετά τη γονιμοποίηση (Ying et al., 2003; Lerou, 2011). Μπορούν να αποθηκευτούν σε καλλιέργεια ως μη διαφοροποιημένες κυτταρικές σειρές και μπορούν να διεγερθούν ώστε να διαφοροποιηθούν σε οποιαδήποτε κυτταρική σειρά (Klimanskaya et al., 2006). Μπορούν να διαφοροποιηθούν σε εμβρυϊκές βλαστικές στοιβάδες ενδοδερμίου, μεσόδερμου και εξωδερμίου, καθώς και σε οποιοδήποτε τύπο σωματικών κυττάρων. Επομένως, μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία αναγέννησης ιστών (Zhang & Huang 2010).

Εμβρυϊκά γαμετικά βλαστοκύτταρα (Embryonic Germ Stem Cells): Τα εμβρυϊκά γαμετικά βλαστικά κύτταρα (EG) προέρχονται από αρχέγονα βλαστικά γαμετικά κύτταρα (Primordial Germline Cells - PGC) στην πρώιμη ανάπτυξη. Απομονώνονται κυρίως από τον εμβρυϊκό ιστό (Chapman et al., 1999). Τα κύτταρα που προέρχονται από PGC ήταν ολοδύναμα (pluripotent), αν και δεν ήταν δυνατό να αποδειχθεί η πολυδυναμία τους μέσω του σχηματισμού τερατωμάτων σε ποντίκια, επειδή οι κυτταρικές σειρές δεν επιβίωσαν μετά την έγχυση, πιθανώς λόγω

προβλημάτων προσαρμογής στο περιβάλλον του ξενιστή ή σε εγγενή χαρακτηριστικά των κυττάρων. (Shamblott et al., 2001).

Βλαστοκύτταρα του εμβρύου (Fetal stem cells): Τα βλαστοκύτταρα του εμβρύου είναι πρωταρχικοί τύποι κυττάρων που βρίσκονται στα όργανα των εμβρύων. Είναι πολυδύναμα (multipotent) και είναι σε θέση να διαφοροποιηθούν σε διάφορους κυτταρικούς τύπους. Τα βλαστοκύτταρα νευρικής ακρολοφίας, τα εμβρυϊκά αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα και τα κύτταρα των παγκρεατικών νησίδων έχουν απομονωθεί από έμβρυα (Beattie et al., 1997). Τα ανθρώπινα βλαστοκύτταρα του εμβρύου έχουν χρησιμοποιηθεί σε πολλούς ανθρώπους, παιδιά και ενήλικες που πάσχουν από πολύ σοβαρές ασθένειες (Kakinuma et al., 2009).

Βλαστοκύτταρα του εμβρύου θεωρούνται και τα ακόλουθα:

Βλαστοκύτταρα ομφάλιου λώρου: Το αίμα του ομφάλιου λώρου περιέχει βλαστοκύτταρα που διαφέρουν από αυτά του μυελού των οστών και του περιφερικού αίματος ενηλίκων (Rogers & Casper, 2004). Τα βλαστοκύτταρα του ομφαλοπλακουντιακού αίματος έχουν αποδειχθεί ότι είναι πολυδύναμα καθώς μπορούν να διαφοροποιηθούν σε νευρώνες και ηπατικά κύτταρα (Rogers & Casper, 2004).

Wharton's jelly: Το Wharton's jelly, η ουσία του Wharton, είναι η μήτρα του ομφάλιου λώρου, και θεωρείται πλούσια πηγή μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων. Αυτά τα κύτταρα εκφράζουν τυπικούς δείκτες βλαστοκυττάρων, μπορούν να πολλαπλασιαστούν για μεγάλο χρονικό διάστημα και μπορούν να προκληθούν για να διαφοροποιηθούν *in vitro* σε οστεοκύτταρα, χονδροκύτταρα, λιποκύτταρα, νευρικά και μυϊκά κύτταρα. (Mitchell et al., 2003).

Ενήλικα βλαστοκύτταρα (Adult stem cells)

Ενήλικα βλαστοκύτταρα είναι οποιαδήποτε βλαστοκύτταρα που λαμβάνονται από έναν ώριμο ιστό. Βρίσκονται στους ιστούς ενός πλήρως αναπτυγμένου παιδιού (ολόκληρου εμβρύου) ή ενήλικα και μπορούν να παράγουν μόνο περιορισμένο αριθμό τύπων κυττάρων. Έχουν περιορισμένο δυναμικό (multipotent-πολυδύναμα) σε σύγκριση με τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από έμβρυα λόγω του σταδίου ανάπτυξης αυτών των κυττάρων (Robinson, 2001). Παίζουν ζωτικό ρόλο στην επιδιόρθωση και στην αναγέννηση των ιστών (Gimble et al., 2007). Ο μυελός των οστών είναι μια πλούσια πηγή ενηλίκων βλαστοκυττάρων (Gao et al., 2008).

Τα κύρια ενήλικα βλαστοκύτταρα είναι τα εξής:

Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα: Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSC) είναι ένας διαφορετικός πληθυσμός κυττάρων με δυνατότητα διαφοροποίησης σε διάφορες σωματικές σειρές (multipotent-πολυδύναμα). Αρχικά περιγράφηκαν ως προσκολλημένα κύτταρα με εμφάνιση που μοιάζει με ινοβλάστες που μπορούν να διαφοροποιηθούν σε οστεοκύτταρα, χονδροκύτταρα, λιποκύτταρα, τενοντοκύτταρα και μυοκύτταρα (Deng et al., 2008). Τα MSCs μπορούν να απομονωθούν από τον μυελό των οστών και να διακριθούν εύκολα από τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα λόγω της πλαστικής προσκόλλησής τους (Zhang & Chan, 2010). Χρησιμοποιούνται στη μηχανική ιστών και την αναγεννητική ιατρική (Kim et al., 2005). Χαρακτηρίζονται από τη δυνατότητα μακροχρόνιας αποθήκευσης χωρίς σημαντική απώλεια της δυναμικότητάς τους (Parekkadan & Milwid, 2010).

Αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα: Τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα είναι κύτταρα που έχουν τη δυνατότητα αυτοανανεώσεως και την ικανότητα να δημιουργούν διαφοροποιημένα κύτταρα όλων των αιμοποιητικών γενεαλογιών (multipotent-πολυδύναμα). Ως εκ τούτου, μεταμοσχεύονται για τη θεραπεία αιματολογικών διαταραχών και μετά από υψηλές δόσεις χημειοθεραπείας κατά κακοήθων νοσημάτων (Xie et al., 2006).

Νευρικά βλαστοκύτταρα: Τα νευρικά βλαστοκύτταρα είναι πολυδύναμα και αυτοαναδιπλασιαζόμενα κύτταρα, εγκαθίστανται σε εξειδικευμένα μικροπεριβάλλοντα στον εγκέφαλο των ενηλίκων θηλαστικών. Επιπλέον, έχουν την δυνατότητα να συμβάλουν στην κυτταρική θεραπεία του εγκεφάλου, καθώς μπορούν να αντικαταστήσουν κατεστραμμένα εγκεφαλικά κύτταρα, να μεταναστεύσουν σε βλάβες, να εκκρίνουν νευροτροφικούς παράγοντες και να μειώσουν την φλεγμονή, προάγοντας εγκεφαλική αποκατάσταση. Υπάρχει πιθανότητα να παίζουν κάποιο ρόλο στην κυτταρική θεραπεία του εγκεφάλου (Imitola, 2007).

Γαστρεντερικά βλαστοκύτταρα: Τα βλαστοκύτταρα της γαστρεντερικής οδού βρίσκονται σε φωλιές (niches) στις εντερικές κρύπτες και στους γαστρικούς αδένες. Ο μηχανισμός διάχυσης των μετατρεπόμενων κλώνων γαστρεντερικών βλαστοκυττάρων, που διαφοροποιούνται σε εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, παραμένει αμφισβητούμενος λόγω της ασαφούς θέσης, φύσης και λειτουργικής δυναμικής τους στις εντερικές κρύπτες του βλεννογόνου. (McDonald et al., 2009).

Επιδερμικά βλαστοκύτταρα: Η επιδερμίδα των θηλαστικών είναι ένας ταχέως αναζωογονητικός ιστός που αποτελείται από τρεις τύπους κερατινοκυττάρων με

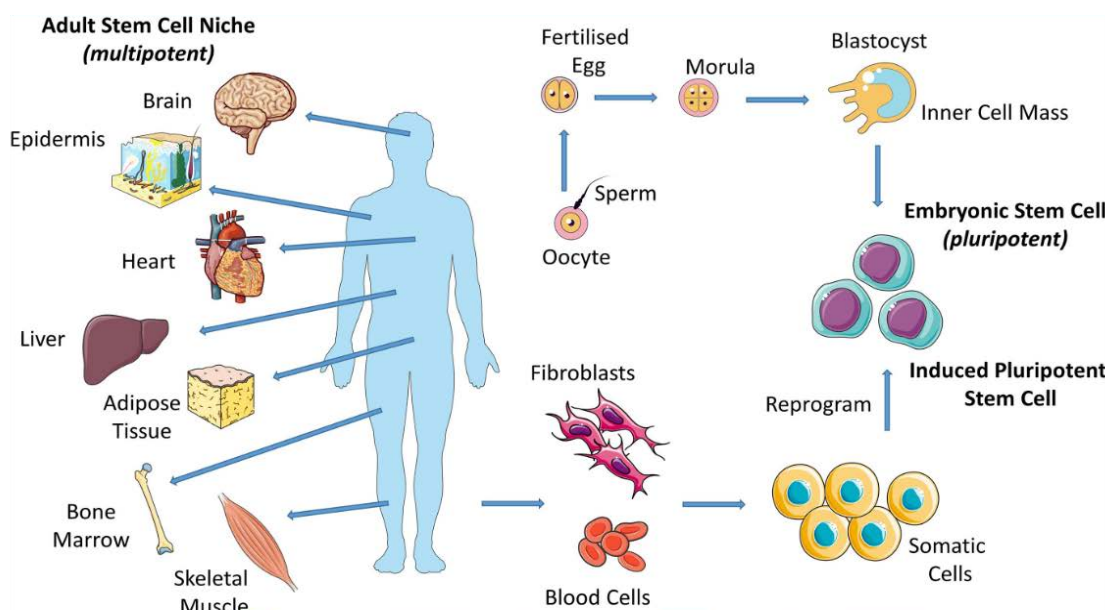
ποικίλες δυνατότητες διαφοροποίησης: επιδερμικά βλαστοκύτταρα, παροδικά ενισχυμένα κύτταρα (κύτταρα TA) και τελικώς διαφοροποιημένα κύτταρα. Τα επιδερμικά βλαστοκύτταρα έχουν μεγάλη δύναμη αυτοανανέωσης. Εγκαθίστανται στη βασική στιβάδα και είναι σημαντικά για τη διατήρηση της ομοιόστασης και της κυτταρικής αναγέννησης του φυσιολογικού δέρματος, την επούλωση πληγών αλλά και τον σχηματισμό νεοπλασμάτων, ενώ τα κύτταρα TA, απόγονοι των επιδερμικών βλαστοκυττάρων, υφίστανται τελική διαφοροποίηση μετά από 3-5 διαιρέσεις. Μετά τη διαίρεση, τα κύτταρα TA εγκαταλείπουν τη βασική στιβάδα και μετακινούνται μέσω των υπερβασικών στιβάδων προς την επιφάνεια του ιστού, όπου περιοδικά αποβάλλονται ως πλακίδια (Jia et al., 2008).

Ηπατικά βλαστοκύτταρα: Το ήπαρ διαθέτει εξαιρετική αναγεννητική ικανότητα, εφαρμόζοντας διαφορετικούς μηχανισμούς ανάλογα με τον τύπο και την έκταση της βλάβης. Τα ώριμα ηπατικά κύτταρα μπορούν να πολλαπλασιαστούν, αντικαθιστώντας τον κατεστραμμένο ιστό και αποκαθιστώντας τη λειτουργία του παρεγχύματος (Verhulst et al., 2015). Σε περίπτωση χρόνιας ηπατικής βλάβης, ενεργοποιείται ένας πληθυσμός κυττάρων με βλαστοκυτταρικές ιδιότητες που βρίσκεται στους μικρότερους κλάδους του ενδοηπατικού χοληφόρου δέντρου, προκαλώντας μια αντίδραση γνωστή ως **"αντίδραση ωοειδών κυττάρων στους πόρους"** (oval cell ductular reaction). Τα ωοειδή κύτταρα προέρχονται από τους αγωγούς του Hering, οι οποίοι λειτουργούν ως δεξαμενή αυτών των κυττάρων, ενισχύοντας τον αριθμό τους πριν διαφοροποιηθούν σε ηπατοκύτταρα.

Στο ανθρώπινο ήπαρ, η δομή του χοληφόρου δέντρου διαφέρει, καθώς οι αγωγοί του Hering εκτείνονται στο εγγύς τρίτο του λοβού. Λόγω αυτής της διαφοράς και της καλύτερης κατανόησης της λειτουργίας τους, τα ωοειδή κύτταρα αναφέρονται πλέον ως **ηπατικά προγονικά κύτταρα** (Alison et al., 2007).

Βλαστοκύτταρα παγκρέατος: Κύτταρα που παράγουν ινσουλίνη και έχουν προκύψει από πολυδύναμα βλαστοκύτταρα θα μπορούσαν να αποτελέσουν μια νέα κυτταρική πηγή τόσο για την ανακάλυψη φαρμάκων όσο και για τη θεραπεία μεταμόσχευσης κυττάρων σε άτομα με διαβήτη (Pagliuca et al., 2014).

Τα βήτα κύτταρα που εκκρίνουν ινσουλίνη ανανεώνονται κάθε 40-50 ημέρες μέσω μηχανισμών απόπτωσης, πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης νεονησιδιακών κυττάρων, τα οποία προέρχονται από προγονικά επιθηλιακά κύτταρα που βρίσκονται στους παγκρεατικούς πόρους (Zulewski et al., 2001).



Εικόνα 4. Τα ωάρια που έχουν γονιμοποιηθεί in vitro δημιουργούν έμβρυα που δημιουργούνται από τα οποία απομονώνονται εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (ESCs). Τα επαγόμενα πολυδύναμα ολοδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs) είναι ενήλικα κύτταρα που επαναπρογραμματίζονται γενετικά σε μια πολυδύναμη κατάσταση παρόμοια με τα βλαστοκύτταρα. Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα είναι αδιαφοροποίητα κύτταρα, που βρίσκονται μεταξύ εξειδικευμένων κυττάρων σε συγκεκριμένες περιοχές ιστών ενηλίκων (που ονομάζεται «θέση ή φωλιά (niche) βλαστοκυττάρων»). Τα πολυδύναμα ολοδύναμα κύτταρα (ESCs και iPSCs) δημιουργούν όλους τους τύπους κυττάρων του σώματος και τα πολυδύναμα (ενήλικα βλαστοκύτταρα) δημιουργούν όλους τους κυτταρικούς τύπους ενός συγκεκριμένου ιστού ή οργάνου (Naqvi & McNamara, 2020).

Τύποι βλαστοκυττάρων ανάλογα με την ικανότητα διαφοροποίησή τους

Τα βλαστοκύτταρα μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με το δυναμικό διαφοροποίησής τους σε παντοδύναμο (totipotent), ολοδύναμο (pluripotent), πολυδύναμο (multipotent), ολιγοδύναμο (oligopotent) και μονοδύναμο (unipotent) (Εικόνα 5).

Παντοδύναμο βλαστοκύτταρο: Παντοδυναμία σημαίνει ότι έχει τη συνολική δυνατότητα να δημιουργήσει όλους τους τύπους κυττάρων. Ακόμα, είναι η ικανότητα ενός μεμονωμένου κυττάρου να διαιρείται και να διαφοροποιείται σε όλους τους τύπους κυττάρων ενός οργανισμού και να παράγει γόνιμους απογόνους. Τα ωκύτταρα και το σπέρμα δημιουργούν το ζυγωτό το πρωτορχικό παντοδύναμο κύτταρο στο σώμα μας και τα κύτταρα που προκύπτουν από τις πρώτες διαιρέσεις αυτού είναι ικανά να

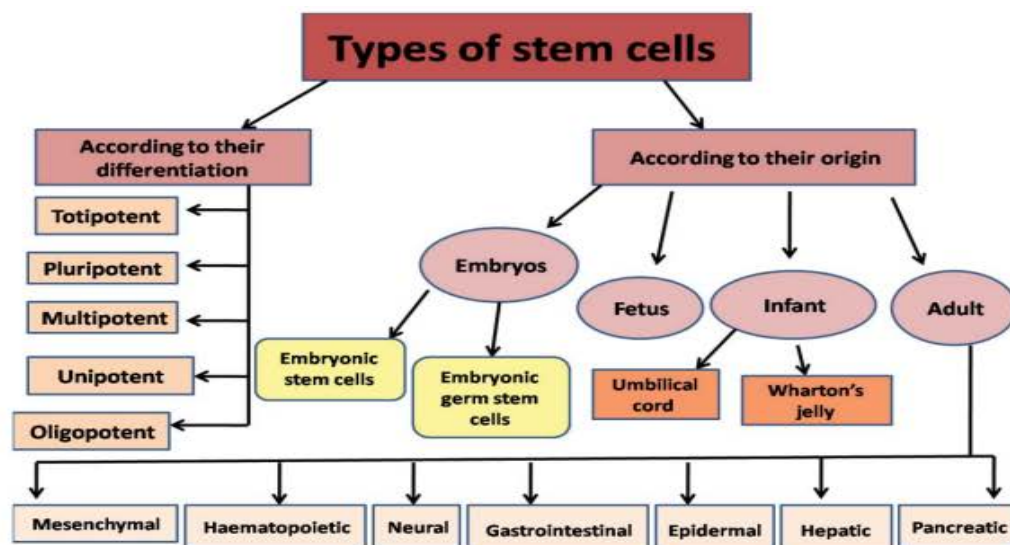
σχηματίσουν οποιονδήποτε ιστό στο έμβρυο αλλά και τους εξωεμβρυικούς ιστούς (Cauffman et al., 2009).

Ολοδύναμα βλαστοκύτταρα: Η ολοδυναμία αναφέρεται στην ικανότητα των κυττάρων να διαφοροποιούνται σε οποιονδήποτε τύπο κυττάρου στον οργανισμό. Αυτά τα κύτταρα προέρχονται από το έμβρυο, συγκεκριμένα από την εσωτερική κυτταρική μάζα της βλαστοκύστης. Έχουν την ικανότητα να εξελίσσονται σε κύτταρα διαφόρων ενήλικων ιστών, όπως αποδεικνύεται μέσω διαφορετικών πειραματικών διαδικασιών, όπως η δημιουργία εμβρυϊκών σωμάτων, η ανάπτυξη τερατωμάτων και η συμμετοχή τους στη διαμόρφωση χιμαιρικών οργανισμών σε ποντικούς. Υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των πολυδύναμων βλαστοκυττάρων, οι οποίες αφορούν τη μορφολογία τους, τα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης και τις απαιτήσεις τους σε αυξητικούς παράγοντες (Ralston & Rossant, 2010).

Πολυδύναμα βλαστοκύτταρα: Η πολυδυναμία αναφέρεται σε κύτταρα που μπορούν να δημιουργήσουν **μόνοκύτταρα** του ιστού από τον οποίο προέρχονται (Preston et al., 2003).

Ολιγοδύναμα βλαστοκύτταρα: Η ολιγοδυναμία αναφέρεται σε κύτταρα που μπορούν να διαφοροποιηθούν σε λίγους μόνο κυτταρικούς τύπους, όπως τα λεμφοειδή ή μυελοειδή βλαστοκύτταρα (Schöler, 2007).

Μονοδύναμα βλαστοκύτταρα: Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα βρίσκονται στους ιστούς των ενήλικων που παράγουν περιορισμένο αριθμό τύπων κυττάρων και μπορούν να επιδιορθώσουν τον κατεστραμμένο ιστό αντικαθιστώντας εξειδικευμένα κύτταρα. (Sage et al., 2008).

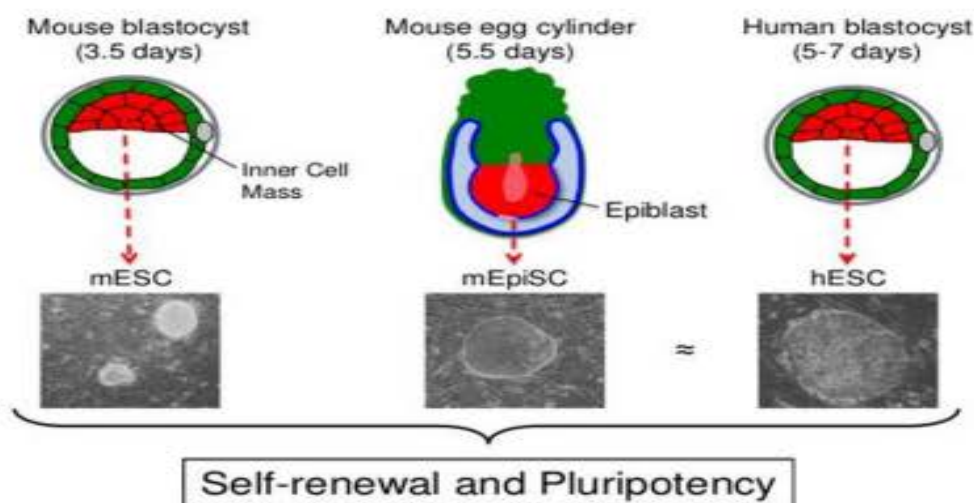


Εικόνα 5. Ταξινόμηση βλαστοκυττάρων (Τροποποίηση από Barky & Mohamed, 2017).

3.2 Πολυδύναμα (Pluripotent) Βλαστικά Κύτταρα

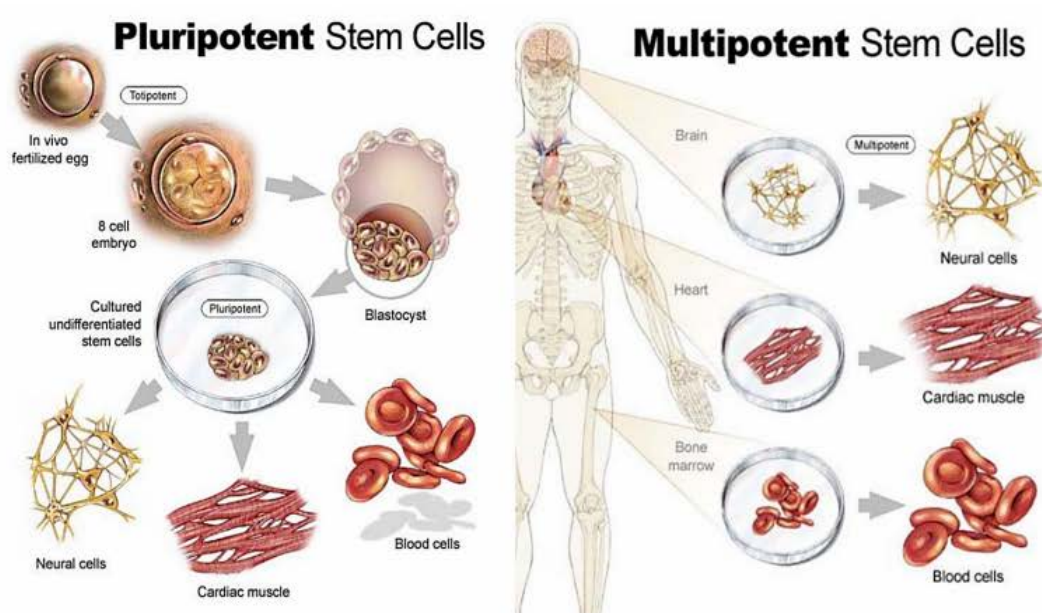
Τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα χαρακτηρίζονται τόσο από την ικανότητα αυτο-ανανέωσης επ' αόριστον όσο και από την ικανότητα διαφοροποίησης και στις τρεις βλαστικές σειρές, εξώδερμα, μεσόδερμα και ενδόδερμα, του αναπτυσσόμενου εμβρύου. Λόγω των μοναδικών ιδιοτήτων τους, τα κύτταρα αυτά διαθέτουν τεράστιες δυνατότητες χρήσης ως μοντέλα για τον έλεγχο νέων φαρμάκων ή στην αναγεννητική ιατρική, ως μέσο κυτταρικών θεραπειών και εργαλεία για τη μελέτη και την κατανόηση της πρόληψης και της θεραπείας γενετικών ανωμαλιών.

Τα πρώτα πολυδύναμα κύτταρα, τα εμβρυϊκά καρκινικά κύτταρα (embryonal carcinoma cells), προήλθαν από όγκους γαμετικών κυττάρων ποντικού και ανθρώπου (Finch and Ephrussi 1967; Kahan and Ephrussi 1970). Στη συνέχεια, η απομόνωση εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων ποντικού (mESCs) από φυσιολογικά, προεμφυτευτικά έμβρυα (E3.5) αναφέρθηκε το 1981 (Evans and Kaufman 1981; Martin 1981) και ήταν τα πρώτα φυσιολογικά πολυδύναμα κύτταρα που μπόρεσαν να καλλιεργηθούν, να διατηρούνται και να διαφοροποιούνται *in vitro*. Δεκαεπτά χρόνια αργότερα, περιγράφηκε η παραγωγή ανθρώπινων εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων (hESCs) (Thomson, et al. 1998), ακολουθούμενη από την απομόνωση βλαστικών κυττάρων επιβλάστη ποντικού (EpiSCs) (E6.5) (Brons, et al. 2007; Tesar, et al. 2007), τα οποία αντιπροσωπεύουν μια πιο διαφοροποιημένη κατάσταση από τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα ποντικού. Ως εκ τούτου, τα ανθρώπινα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα και τα βλαστικά κύτταρα επιβλάστη ποντικού χαρακτηρίζονται ως μια «αρχική» πολυδύναμη κατάσταση, ενώ τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα ποντικού παρουσιάζουν μια «βασική» πολυδύναμη κατάσταση (Nichols and Smith 2009) (Εικόνα 2).



Εικόνα 6. Απομόνωση πολυδύναμων βλαστοκυττάρων.

Η σύγκριση των δύο πολυδύναμων αυτών καταστάσεων έδειξε ότι διαφέρουν στην παραγωγή mRNA και microRNA (Tesar, et al. 2007; Jouneau, et al. 2012), στο σχηματισμό αποικιών, στην αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X καθώς και στα μονοπάτια σηματοδότησης (Nichols and Smith 2009; Xu et al. 2010). Επιπλέον, τα βλαστικά κύτταρα επιβλάστη ποντικού δεν συμβάλλουν στη δημιουργία χίμαιρας μετά την έγχυση της βλαστοκύστης, υπογραμμίζοντας μια σημαντική διάκριση μεταξύ των δύο καταστάσεων. Είναι ενδιαφέρον ότι τα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα του ποντικού και τα βλαστικά κύτταρα επιβλάστη ποντικού μπορούν να μετατραπούν αμοιβαία το ένα στο άλλο, χρησιμοποιώντας επιγενετικούς και μοριακούς παράγοντες (Chenoweth, et al. 2010). Αξίζει να σημειωθεί, αν και η μετάβαση από την αρχική στην πιο εξελιγμένη κατάσταση μπορεί να επιτευχθεί εύκολα στην καλλιέργεια, το αντίθετο είναι πιο απαιτητικό λαμβάνοντας υπόψη τους επιγενετικούς παράγοντες που πρέπει να δράσουν (Bao, et al. 2009; Guo, et al. 2009).



Εικόνα 7. Ολοδύναμα (pluripotent) και πολυδύναμα (multipotent) βλαστοκύτταρα (<http://www.stemcellresearchfoundation.org>).

3.3 Έλεγχος κυτταρικού κύκλου σε εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα

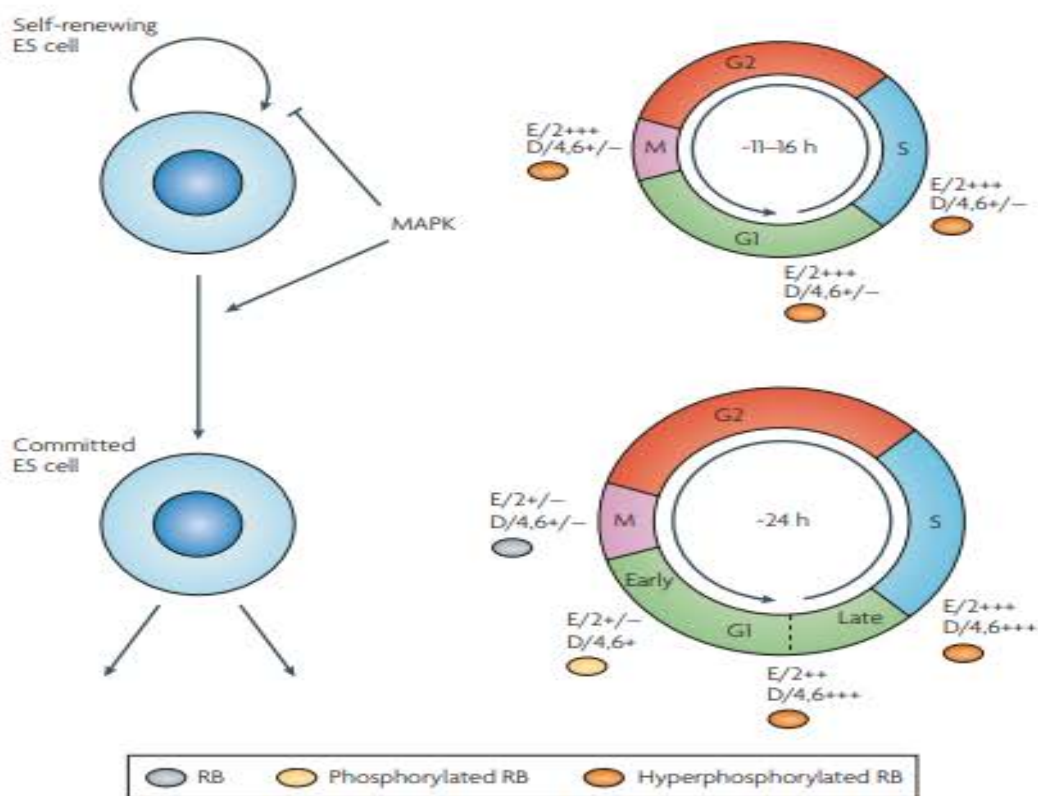
Η ανάπτυξη εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων ποντικού σε καλλιέργεια χαρακτηρίζεται από εξαιρετικά γρήγορο πολλαπλασιασμό και σύντομο κυτταρικό κύκλο (11–16 ώρες), κυρίως λόγω της μικρής διάρκειας της φάσης G1 (Savatier et al., 1994; Burdon et al., 2002; Fluckiger et al., 2006; Becker et al., 2006; Stead et al., 2006). Ενώ η δραστηριότητα της κυκλίνης E-cdk2 είναι περιοδική στα σωματικά κύτταρα, και κορυφώνεται στη μετάβαση από τη G1 στην S, τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα έχουν συστατική δραστηριότητα κυκλίνης E-cdk2 που είναι ανεξάρτητη από τη φάση του κυτταρικού κύκλου. Αυτό ουσιαστικά οδηγεί στην παράλειψη της πρώιμης φάσης G1 παρακάμπτοντας το σημείο περιορισμού που διαχωρίζει τα αρχικά στάδια της G1 από τα μετέπειτα στάδια της G1. Επιπλέον, τα κύτταρα αυτά εκφράζουν χαμηλά επίπεδα των κυκλινών τύπου D και δεν έχουν σχεδόν καμία ανιχνεύσιμη δραστηριότητα κινάσης που σχετίζεται με τη cdk4.

Η διατήρηση των κυττάρων εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων ποντικού γενικά απαιτεί τον ανασταλτικό παράγοντα λευχαιμίας (LIF). Όταν αποσύρεται ο LIF, τα κύτταρα αυτά χάνουν την ικανότητά τους να αυτοανανεώνονται και να εξειδικεύονται και να διαφοροποιούνται. Είναι ενδιαφέρον ότι η απομάκρυνση του LIF προκαλεί επίσης μια δραματική αλλαγή στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου σε αυτά τα κύτταρα. Μετά την απομάκρυνση του LIF, η έκφραση της κυκλίνης E τίθεται υπό τον έλεγχο της οικογένειας των πρωτεϊνών που σχετίζεται με την πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος (RB) και, ως εκ τούτου, απαιτεί την επαγόμενη από τη μιτογόνο δράση της κυκλίνης D-cdk4 ή των συμπλεγμάτων κυκλίνης D-cdk6 (Εικόνα 3). Αυτή η αλλαγή προκαλεί τα κύτταρα να εισέλθουν στην πρώιμη G1 φάση του κυτταρικού κύκλου.

Σηματοδότηση MAPK και διαφοροποίηση κυττάρων εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων.

Στα περισσότερα σωματικά κύτταρα, ο πολλαπλασιασμός εξαρτάται από τη σηματοδότηση της πρωτεϊνικής κινάσης ενεργοποιημένης από μιτογόνο (MAPK), η οποία διευκολύνει τη μετάβαση μέσω της πρώιμης G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου (Jirmanova et al., 2002; Meloche, & Pouyssegur, 2007). Η σηματοδότηση MAPK σε σωματικά κύτταρα, είναι επίσης ένας ισχυρός επαγωγέας της διαφοροποίησης και, με αυτόν τον τρόπο, συνδέει τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη στα σωματικά

κύτταρα (Marshall, 1995; Vaudry et al., 2002). Η απουσία της πρώιμης G1 φάσης από τα κύτταρα εμβρυικά βλαστοκύτταρα του ποντικού τους επιτρέπει να αποφεύγουν τις δράσεις ορισμένων μιτογόνων οδών σηματοδότησης που προκαλούν διαφοροποίηση και είναι ενεργές κατά τη διάρκεια της πρώιμης G1 σε άλλα κύτταρα. Για παράδειγμα, η σηματοδότηση μέσω της οδού MAPK αναστέλλει την αυτοανανέωση των κυττάρων αυτών και προάγει τη διαφοροποίησή τους (Burdon et al., 2002; Burdon et al., 1999). Η ανάπτυξη κυττάρων παρουσία αναστολέων MAPK ενισχύει αυτό το γεγονός επειδή ενισχύει την αυτοανανέωση των κυττάρων εμποδίζοντας τη διαφοροποίησή τους (Meloche et al., 2004). Καθώς η σηματοδότηση MAPK είναι ο πρωταρχικός (αν όχι και ο αποκλειστικός) μηχανισμός μέσω του οποίου επάγεται η έκφραση της κυκλίνης D, η εξάρτηση από την αυξημένη έκφραση της κυκλίνης D - και επομένως η σηματοδότηση MAPK - για να συνεχιστεί ο κυτταρικός κύκλος θα έκανε πιθανώς τα κύτταρα αυτά πιο ευάλωτα στη διαφοροποίηση που προκαλείται από τη MAPK .



Εικόνα 2. Ο κυτταρικός κύκλος στα εμβρυικά βλαστοκύτταρα. Το σημείο + αναφέρεται στη δραστηριότητα της κυκλίνης-CDK. Αναλυτικότερα, +/-, αμελητέα; +, χαμηλή; ++, ενδιάμεση; +++, υψηλή (Τροποποίηση από Orford et al., 2008).

Η RB υπερφωσφορυλιώνεται σε αυτοανανεούμενα εμβρυικά βλαστικά κύτταρα.

Περαιτέρω ενδείξεις ότι το σημείο R απουσιάζει από αυτά τα κύτταρα προέρχονται από μελέτες της RB οικογένειας πρωτεϊνών στα εμβρυικά βλαστοκύτταρα. Κατά τη διάρκεια ολόκληρου του κυτταρικού κύκλου αυτών των κυττάρων, η RB παραμένει υπερφωσφορυλιωμένη και επομένως ανενεργή (Savatier et al., 1994; Burdon et al., 2002). Επειδή η δραστηριότητα της RB είναι καθοριστικό στοιχείο του σημείου R, η απουσία της ενεργής μορφής της υποδηλώνει ότι αυτά τα κύτταρα στερούνται σημείου R, πιθανώς λόγω της συνεχούς δραστηριότητας της κυκλίνης E-cdk2.

Επιπλέον, τα κύτταρα που δεν εκφράζουν κανένα από τα τρία μέλη της οικογένειας Rb (Rb, p107 και p130) αδυνατούν να διαφοροποιηθούν σωστά και να εισέλθουν σε αδράνεια, αποσύροντας τον εαυτό τους από τον κυτταρικό κύκλο (Dannenberg et al., 2000). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι κύτταρα με μερικές ελλείψεις στα γονίδια αυτά δεν παρουσίασαν διαταραχές στη διαφοροποίηση, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα μέλη της οικογένειας RB μπορούν να αντισταθμίσουν το ένα το άλλο στη διαδικασία αυτή.

Αυτά τα δεδομένα συνδέουν άμεσα την απόκτηση του σημείου R (μέσω της απώλειας της δραστηριότητας της κυκλίνης E-cdk2 και της συσσώρευσης υποφωσφορυλιωμένης RB) με τη δυνατότητα διαφοροποίησης σε πολλαπλές κυτταρικές σειρές. Αυτό ευθυγραμμίζεται με την υπόθεση ότι η πρόωπη G1 φάση είναι το κύριο χρονικό παράθυρο κατά το οποίο τα εξωκυτταρικά ερεθίσματα (όπως οι αυξητικοί παράγοντες και τα μορφογόνα) επηρεάζουν τη μοίρα του κυττάρου, καθορίζοντας αν θα παραμείνει στον κυτταρικό κύκλο ή θα ξεκινήσει τη διαφοροποίηση (Sherr, 2000; Massagué, 2004).

Συνοπτικά, ο κυτταρικός κύκλος των εμβρυικών βλαστοκυττάρων ποντικού φαίνεται να στερείται της πρόωπης G1 φάσης που εξαρτάται από μιτογόνα, λόγω της συνεχούς δραστηριότητας της κυκλίνης E-cdk2. Με την κατάργηση της ανάγκης για επαγόμενη από MAPK έκφραση της κυκλίνης D, αυτά τα κύτταρα αποσυνδέουν την κυτταρική διαίρεση από τη διαφοροποίηση, επιτρέποντας την αποτελεσματική αυτοανανέωση in vitro.

Σύγκριση με ανθρώπινα εμβρυικά βλαστικά κύτταρα.

Αν και οι μηχανισμοί ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου στα ανθρώπινα εμβρυικά βλαστοκύτταρα (hESCs) είναι λιγότερο κατανοητοί σε σύγκριση με τα εμβρυικά βλαστοκύτταρα ποντικού (mESCs), έχουν εντοπιστεί ομοιότητες και διαφορές μεταξύ τους. Παρόλο που τα hESCs αναπτύσσονται υπό διαφορετικές συνθήκες από τα mESCs (καθώς δεν ανταποκρίνονται στον LIF), και τα δύο έχουν μειωμένη διάρκεια κυτταρικού κύκλου λόγω της περικοπής της G1 φάσης (Becker et al., 2006).

Η μοριακή ρύθμιση της G1 φάσης είναι λιγότερο κατανοητή στα hESCs και τα εμβρυικά βλαστικά κύτταρα πρωτεύοντων (pESCs) σε σύγκριση με τα mESCs. Η έκφραση των κυκλινών D2 και Cdk4 φαίνεται να αυξάνεται κατά την είσοδο στη G1, υποδηλώνοντας πιθανή εξάρτηση από τις κυκλίνες τύπου D. Ωστόσο, δεν έχει αποδειχθεί λειτουργική εξάρτηση, ενώ η έκφραση της κυκλίνης E δεν έχει αξιολογηθεί σε όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου (Becker et al., 2010).

Αντίθετα, τα pESCs μοιάζουν περισσότερο με τα mESCs, καθώς παρουσιάζουν ανεξάρτητη από τον κυτταρικό κύκλο έκφραση της κυκλίνης E, υπερφωσφορυλίωση της RB και ανεξάρτητη από MAPK εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου (Fluckiger et al., 2006).

Παρά τις διαφορές στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου μεταξύ αυτών των τριών τύπων εμβρυικών βλαστοκυττάρων, η αυτοανανέωσή τους χαρακτηρίζεται από μία περιορισμένη πρόωμη G1 φάση, γεγονός που αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό και των τριών κυτταρικών σειρών.

3.4 Έλεγχος κυτταρικού κύκλου σε ενήλικα βλαστικά κύτταρα

Σε αντίθεση με τα εμβρυικά βλαστοκύτταρα, ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα των ενήλικων βλαστοκυττάρων είναι η σχετική πολλαπλασιαστική αδράνειά τους. Τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα (ABK), τα οποία είναι ο πιο ευρέως μελετημένος πληθυσμός βλαστοκυττάρων ενηλίκων τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ποντίκια, βρίσκονται σε μεγάλο βαθμό στη φάση G0 ή G1 του κυτταρικού κύκλου και, από αυτά τα κύτταρα, η πλειονότητα έχει εξέλθει πλήρως τον κυτταρικό κύκλο. Περίπου το 75% των πιο αρχέγονων αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων με μακροχρόνιο επανεποικισμό

(longterm repopulating haematopoietic stem cells, LT-HSCs) βρίσκονται στη G0 (Cheshier et al., 1999). Είναι ενδιαφέρον ότι τα πρωτεύοντα ABK φαίνεται να είναι ακόμη πιο αδρανή από τα αντίστοιχα των ποντικών (Mahmud et al., 2001).

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι η κατάσταση αδράνειας είναι ένα λειτουργικά σημαντικό χαρακτηριστικό των ενήλικων βλαστοκυττάρων. Αυτή η άποψη έχει αναπτυχθεί σε μεγάλο βαθμό από την εμπειρία με το αιμοποιητικό σύστημα. Αν και αυτά τα κύτταρα θεωρούνται συχνά αθάνατα, η λειτουργία των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων έχει σαφώς περιορισμούς και αυτοί οι περιορισμοί συχνά επιταχύνονται από το πολλαπλασιαστικό στρες (Bell, & Van Zant, 2004). Για παράδειγμα, τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα είναι ικανά να ανασυνθέσουν το αιμοποιητικό σύστημα μετά από μεταμόσχευση. Ωστόσο, τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα σταδιακά μειώνονται και τελικά εξαντλούνται (Kamminga et al., 2006; Harrison et al., 1990).

Η σχέση μεταξύ του πολλαπλασιασμού και της αυτοανανέωσης των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων έχει διερευνηθεί περαιτέρω χρησιμοποιώντας στελέχη ποντικών που έχουν εγγενώς διαφορετική διάρκεια ζωής. Ο πολλαπλασιαστικός ρυθμός των κυττάρων αυτών στα διάφορα στελέχη ποντικών ήταν ισχυρά μη-συσχετισμένος με τη μέγιστη μακροζωία του στελέχους (de Haan et al., 1997). Επιπλέον, τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από νεαρά ζώα από στελέχη ποντικών με μικρότερη διάρκεια ζωής ανασύστησαν το αιμοποιητικό τους σύστημα πιο αποτελεσματικά από τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα που προέρχονται από νεαρά ζώα από στελέχη με μεγαλύτερη διάρκεια ζωής. Ωστόσο, τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα από ηλικιωμένα ζώα των στελεχών με μικρότερη διάρκεια ζωής έδειξαν το αντίθετο αποτέλεσμα, υποδηλώνοντας ότι τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα από ζώα με ταχύτερο κυτταρικό κύκλο μπορεί να εξαντληθούν λειτουργικά πιο γρήγορα από εκείνα σε ζώα με πιο αργό κυτταρικό κύκλο.

Ο πολλαπλασιασμός έχει ως αποτέλεσμα την εξάντληση των βλαστοκυττάρων.

Η θεωρία ότι ο αυξημένος πολλαπλασιασμός μπορεί να οδηγήσει στην εξάντληση της λειτουργίας των βλαστοκυττάρων βασίζεται σε γενετικά μοντέλα όπου τα βλαστοκύτταρα εμφανίζουν υπερβολική πολλαπλασιαστική δραστηριότητα. Στα περισσότερα από αυτά τα μοντέλα, παρατηρείται απώλεια βλαστοκυττάρων και αυξημένη ευαισθησία στην εξάντληση που προκαλείται από το στρες.

Μία από τις πρώτες μελέτες που έδειξαν ότι ο ίδιος ο πολλαπλασιασμός των βλαστοκυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε λειτουργική εξάντληση εξέτασε τον φαινότυπο των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων σε ζώα στα οποία απουσίαζε το γονίδιο p21 (επίσης γνωστό ως Cdkn1a). Το p21 είναι ένας αναστολέας κινάσης εξαρτώμενος από κυκλίνη (CDKI) που αναστέλλει τη δραστηριότητα της κυκλίνης E-cdk2 και αποτελεί βασικό στόχο του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 (Lee & Yang, 2001).

Στα ζώα χωρίς p21, η αναλογία των πρωτόγονων αιμοποιητικών κυττάρων στη G0 φάση του κυτταρικού κύκλου μειώθηκε, ενώ αυξήθηκε ο αριθμός των πολύ πρωτόγονων κυττάρων που μπορούσαν να σχηματίσουν μακροχρόνιες πολυδύναμες αποικίες στην καλλιέργεια (Cheng et al., 2000). Ωστόσο, παρά την αρχική αυτή ενίσχυση, ο μυελός των οστών στα συγκεκριμένα ζώα εξαντλήθηκε ταχύτερα σε σύγκριση με τα ζώα άγριου τύπου.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα ζώα χωρίς λειτουργικό p21 εμφάνισαν έναν λιγότερο έντονο φαινότυπο αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, αν και ορισμένες πτυχές του φαινοτύπου παρέμειναν (Van Os et al., 2007). Αυτές οι διαφορές στον φαινότυπο των ζώων p21 πιθανώς οφείλονται σε τροποποιήσεις του κυτταρικού κύκλου που σχετίζονται με το γενετικό υπόβαθρο των πληθυσμών βλαστοκυττάρων που χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες.

Τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα στα οποία δεν λειτουργούν ο ανεξάρτητος αυξητικός παράγοντας 1 (Gfi1), η φωσφατάση και το ομόλογο τενσίνης (Pten) και οι πρωτεΐνες FoxO 1, 3 και 4 εμφανίζουν παρόμοιο φαινότυπο με εκείνα στα οποία δεν λειτουργεί το p21, όσον αφορά τον κυτταρικό κύκλο και την εξάντληση. Σε νεαρά ποντίκια, τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα χωρίς Gfi1 είναι αυξημένα αριθμητικά (όπως προσδιορίζεται από τον ανοσοφαινότυπό τους) και παρουσιάζουν μεγαλύτερο πολλαπλασιαστικό δυναμικό από τα αντίστοιχα άγριου τύπου (Hock et al., 2004). Ωστόσο, σε δοκιμές ικανότητας επαναποίκισης καλλιέργειας (CRAs), τα κύτταρα αυτά απέδωσαν ανεπαρκώς, καθώς ανασυστούσαν μόνο μερικώς το περιφερικό αίμα, ακόμη και σε υψηλές δόσεις κυττάρων. Παρόλα αυτά, ελλείπει ανταγωνιστικού μυελού των οστών, κατάφεραν να ανασυνθέσουν όλες τις γενεαλογίες. Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι, ενώ τα Gfi1-ανεπαρκή αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα διατηρούν βλαστοκυτταρικό δυναμικό, είναι λιγότερο αποτελεσματικά από εκείνα του άγριου τύπου. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι τα βλαστοκύτταρα χωρίς Gfi1 εξέφρασαν το p21 σε επίπεδα

σημαντικά χαμηλότερα από τα φυσιολογικά αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, γεγονός που παρέχει έναν εύλογο μηχανισμό για τη μειωμένη διατήρησή τους (Εικόνα 4).

Το γονίδιο Pten, το οποίο κωδικοποιεί έναν αρνητικό ρυθμιστή της 3-κινάσης της φωσφατιδυλνιτροσιτόλης (PI3K), είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο που συχνά απενεργοποιείται σε ανθρώπινους όγκους (Vivanco & Sawyers, 2002). Η υπό συνθήκη διαγραφή του Pten από τα ενήλικα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα οδήγησε σε ταχεία αύξηση των ανοσοφαινοτυπικών αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων για 5-7 ημέρες, αλλά τελικά είχε ως αποτέλεσμα την εξάντλησή τους 24-39 ημέρες μετά τη διαγραφή (Yilmaz et al., 2006; Zhang et al., 2006). Επιπλέον, τα κύτταρα αυτά απέτυχαν να παρέχουν μακροπρόθεσμη ανασύσταση σε δοκιμές ικανότητας επαναποίκισης κυτταρικής καλλιέργειας (CRAs). Παραδόξως, η απώλεια του Pten προκάλεσε μυελοπολλαπλασιαστική νόσο, η οποία τελικά εξελίχθηκε σε μεταμοσχευτική λευχαιμία. Η απλούστερη ερμηνεία αυτών των δεδομένων είναι ότι το Pten είναι απαραίτητο για τη διατήρηση της αδράνειας στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα. Χωρίς αυτό, τα κύτταρα εισέρχονται σε ενεργό κυτταρικό κύκλο, προκαλώντας προσωρινή μυελοπολλαπλασιαστική νόσο, η οποία οδηγεί σε εξάντληση των βλαστοκυττάρων μέσα σε περίπου ένα μήνα. Ένα μικρό υποσύνολο αυτών των κυττάρων μπορεί να διαφύγει την εξάντληση, αποκτώντας μεταλλάξεις που οδηγούν σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και, τελικά, σε λευχαιμία. Το γεγονός ότι η διαγραφή του Pten προκαλεί πολύποδες στο έντερο υποδηλώνει ότι μπορεί επίσης να ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο στα βλαστοκύτταρα του εντέρου (He et al., 2007).

Η οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων FoxO ρυθμίζει πολλές κυτταρικές διαδικασίες, όπως τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και την αντίσταση στο κυτταρικό στρες. Αν και η απώλεια μεμονωμένων FoxO γονιδίων δεν προκάλεσε αρχικά εμφανείς αιμοποιητικές διαταραχές, οι πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι τα FoxO-ανεπαρκή ζώα ανέπτυξαν αιμοποιητικά ελαττώματα (Tothova et al., 2007). Παράλληλα, διάφορα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα ROS αποτελούν βασικούς ρυθμιστές της αδράνειας και της διατήρησης των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων. Πιο πρόσφατα, αναφέρθηκαν παρόμοια ευρήματα σε ποντίκια χωρίς λειτουργική FoxO3, στα οποία η συντήρηση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων ήταν ελαττωματική, με αυξημένα επίπεδα ROS και υπερενεργοποίηση της p38 (Miyamoto et al., 2007).

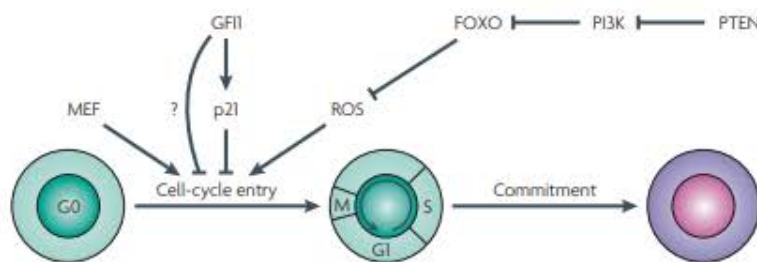
Καθώς η PI3K είναι γνωστό ότι αναστέλλει τη δραστηριότητα της FoxO, και το Pten είναι αρνητικός ρυθμιστής της PI3K, το Pten πιθανώς ρυθμίζει τη λειτουργία

των βλαστοκυττάρων ενεργοποιώντας έμμεσα την FoxO (Nakamura et al., 2000) (Εικόνα 4).

Αρνητική ρύθμιση αδράνειας.

Ένα άλλο γενετικό μοντέλο που αναδεικνύει τη σχέση μεταξύ της αδράνειας των βλαστοκυττάρων και της διατήρησης της λειτουργίας τους είναι η υπό όρους απαλοιφή (Conditional Deletion) του μεταγραφικού παράγοντα Mef (γνωστού και ως Elf4), που μοιάζει με Elf1. Η επιλεκτική διαγραφή του Mef στο αιμοποιητικό σύστημα των ενηλίκων, χωρίς να επηρεάζεται η εμβρυϊκή ανάπτυξη, επέτρεψε τη μελέτη της λειτουργίας του αποκλειστικά στα ενήλικα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα.

Μετά τη διαγραφή του Mef, παρατηρήθηκε αυξημένος αριθμός ανοσοφαινοτυπικών αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (LSK34⁺ Flk2⁺ και LSK-SP κύτταρα μυελού των οστών) και ενίσχυση της λειτουργίας τους με αυτόνομο κυτταρικό τρόπο (Lacorazza et al., 2006). Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι το Mef δρα ως αρνητικός ρυθμιστής της αδράνειας των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και ότι η απουσία του οδηγεί σε αυξημένη αδράνεια. Παραδόξως, η διαγραφή του Mef προκαλεί εξάπλωση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, πιθανώς λόγω της μειωμένης εξάντλησής τους.



Εικόνα 3. Απώλεια της αδράνειας έχει ως αποτέλεσμα της λειτουργίας στα βλαστοκύτταρα των ενηλίκων (τροποποίηση από Orford et al., 2008).

Εξάντληση βλαστοκυττάρων: εξαιρέσεις στον κανόνα.

Τα διαθέσιμα δεδομένα υποστηρίζουν ότι ο αυξημένος πολλαπλασιασμός των βλαστοκυττάρων μπορεί να είναι επιζήμιος για τη μακροπρόθεσμη λειτουργία των ενηλίκων βλαστοκυττάρων, ιδιαίτερα στην περίπτωση των **αιμοποιητικών**

βλαστοκυττάρων. Ωστόσο, υπάρχουν γενετικά μοντέλα στα οποία η αυξημένη κυτταρική διαίρεση **δεν οδηγεί** σε εξάντληση των βλαστοκυττάρων. Η προσεκτική ανάλυση αυτών των περιπτώσεων μπορεί να αποκαλύψει βασικούς μηχανισμούς που συνδέουν τον κυτταρικό κύκλο με τη λειτουργική διατήρηση των βλαστοκυττάρων.

Το γονίδιο p18^{INK4c} (γνωστό και ως cdkn2c) κωδικοποιεί έναν αναστολέα της κυκλίνης D–CDK4 και **κυκλίνης** D–CDK6, που ανήκει στην οικογένεια Ink4. Σε αντίθεση με τα p21^{–/–} πειραματόζωα, τα p18^{INK4c}–/– ζώα παρουσιάζουν **αυξημένο** αριθμό αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και ενισχυμένη λειτουργικότητα των βλαστοκυττάρων, παρά τον αυξημένο πολλαπλασιασμό τους (Yu et al., 2006). Επιπλέον, η αυξημένη λειτουργία τους διατηρήθηκε μετά από δευτερεύουσα μεταμόσχευση, γεγονός που υποδηλώνει ότι τα κύτταρα αυτά **δεν εξαντλήθηκαν** μετά από μεταμοσχευτικό στρες. Η απουσία του p18^{INK4c} επιτρέπει τη διατήρηση ή ακόμα και την επέκταση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, πιθανώς επειδή διαφορετικοί CDKI ρυθμίζουν διαφορετικά σημεία μετάβασης στον κυτταρικό κύκλο. Συγκεκριμένα, η απουσία του p18^{INK4c} μπορεί να διευκολύνει την ταχεία μετάβαση στην όψιμη G1 φάση, μειώνοντας το όριο δραστηριότητας της κυκλίνης D–CDK4, που είναι απαραίτητο για την ενεργοποίηση της κυκλίνης E–CDK2 και την προώθηση της κυτταρικής διαίρεσης.

Ένα άλλο μοντέλο στο οποίο τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα διατηρούνται παρά τον αυξημένο πολλαπλασιασμό είναι η υπερέκφραση του HoxB4. Η πρωτεΐνη HoxB4, μέλος της οικογένειας των homeobox μεταγραφικών παραγόντων, εκφράζεται σε πρωτόγονα αιμοποιητικά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των **αιμοποιητικών** βλαστοκυττάρων. Αν και ο φυσιολογικός ρόλος του στην αιμοποίηση παραμένει ασαφής, **η** επιβεβλημένη (forced) έκφρασή του οδηγεί σε έντονη επέκταση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων in vitro και in vivo τόσο σε ποντίκια όσο και σε ανθρώπους (Antonchuk et al., 2001; Antonchuk et al., 2002; Brun et al., 2004).

Η in vivo επέκταση προσδίδει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα HoxB4-υπερεκφρασμένα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα στις CRAs, επιτρέποντας πλήρη ανασύσταση των αιμοποιητικών κυττάρων μετά από μεταμόσχευση μυελού των οστών (BMT), σε αντίθεση με την μερική ανασύσταση που παρατηρείται με αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα άγριου τύπου. Το HoxB4 φαίνεται επίσης να είναι ρυθμιστής της μετάβασης από την πρωτόγονη στην οριστική αιμοποίηση, επηρεάζοντας πιθανώς την επέκταση των οριστικών αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων στο εμβρυϊκό ήπαρ (Bowles et al., 2006).

Στην κυτταροκαλλιέργεια, το HoxB4 δεν μειώνει άμεσα τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, αλλά διατηρεί έναν σταθερά αυξημένο ρυθμό πολλαπλασιασμού, αποτρέποντας την επιβράδυνση που συνήθως εμφανίζεται καθώς τα πρωτόγονα αιμοποιητικά κύτταρα καλλιεργούνται για αρκετές ημέρες (Schmittwolf et al., 2005).

Αν και λίγα γονίδια-στόχοι έχουν ταυτοποιηθεί για την οικογένεια Hox, φαίνεται ότι ρυθμιστικά γονίδια του κυτταρικού κύκλου αποτελούν συχνά άμεσους και έμμεσους στόχους της. Ιδιαίτερα, ρυθμιστές της G1 φάσης εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία (Del Bene & Wittbrodt, 2005). Το HoxB4, ειδικότερα, έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει την έκφραση των κυκλινών D2, D3 και E σε πρωτόγονα αιμοποιητικά κύτταρα, στοιχείο που συνάδει με τις επιδράσεις του στον κυτταρικό κύκλο (Satoh et al., 2004).

Αν και οι ακριβείς μηχανισμοί μέσω των οποίων τα γονίδια Hox ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη παραμένουν ασαφείς, είναι προφανές ότι επηρεάζουν **το μέγεθος** των οργάνων, πιθανώς μέσω της άμεσης και έμμεσης ρύθμισης της G1 φάσης του κυτταρικού κύκλου. Συμπερασματικά, αρκετά Hox **γονίδια**, και ειδικότερα το HoxB4, μπορούν να επεκτείνουν τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα τόσο in vitro όσο και in vivo, χωρίς να διακυβεύεται η λειτουργικότητά τους. Παρόλο που ο ακριβής μηχανισμός δράσης τους δεν είναι πλήρως κατανοητός, η ικανότητα διατήρησης ενός μικρού κυτταρικού κύκλου, σε συνδυασμό με τη διευκόλυνση της μετάβασης από **την** πρώιμη στην όψιμη G1 φάση, φαίνεται να παίζει **κρίσιμο ρόλο** σε αυτή τη διαδικασία.

Ρύθμιση της κυτταρικής τύχης μέσω του κυτταρικού κύκλου: πιθανοί μηχανισμοί.

Λόγω των περιορισμένων δεδομένων που διαθέτουμε μέχρι στιγμής, δεν είναι δυνατό να κατασκευαστεί ένα λεπτομερές μοντέλο που να απεικονίζει τη ρύθμιση της λειτουργίας των ενήλικων βλαστοκυττάρων από τις διάφορες ρυθμιστικές πρωτεΐνες του κυτταρικού κύκλου. Ωστόσο, μπορούμε να κάνουμε ορισμένες γενικές παρατηρήσεις που συνάδουν με τα επί του παρόντος δημοσιευμένα δεδομένα που περιγράφονται παραπάνω.

Πρώτον, τα περισσότερα γονίδια που ρυθμίζουν την είσοδο των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων σε αδράνεια(p21, Gfi1, Pten, Mef και Foxo) επηρεάζουν επίσης τη λειτουργία των βλαστοκυττάρων. Επειδή η G1 φάση, ιδιαίτερα η πρώιμη G1, αποτελεί ένα κρίσιμο στάδιο όπου λαμβάνονται αποφάσεις για τη μοίρα του κυττάρου(Sherr,

2000; Massague, 2004; Calegari & Huttner, 2003), τα γονίδια που εμποδίζουν την είσοδο των βλαστοκυττάρων στον κυτταρικό κύκλο συμβάλλουν στη μακροπρόθεσμη διατήρησή τους, μειώνοντας την έκθεση σε ερεθίσματα που προκαλούν εξάντληση κατά την πρώιμη G1. Αντίθετα, γονίδια που διεγείρουν την είσοδο στον κυτταρικό κύκλο αυξάνουν αυτή την έκθεση, αυξάνοντας την πιθανότητα εξάντλησης. Συγκεκριμένα, η παρατεταμένη σηματοδότηση MAPK κατά την G1 φάση μπορεί να οδηγήσει σε διαφοροποίηση, γήρανση ή απόπτωση, αντί για αυτοανανέωση των βλαστοκυττάρων (Marshall, 1995).

Δεύτερον, τα γονίδια που διευκολύνουν τη μετάβαση μέσω της φάσης G1 του κυτταρικού κύκλου, ιδιαίτερα μέσω της πρώιμης G1 φάσης, μπορεί να έχουν αντίκτυπο στην πιθανότητα συγκεκριμένων αποφάσεων για τη μοίρα του κυττάρου αλλάζοντας τον χρόνο που αφιερώνεται στην ευαίσθητη αυτή περίοδο. Για παράδειγμα, το p18 θα μπορούσε κανονικά εμποδίσει τη μετάβαση από την πρώιμη στην όψιμη G1 φάση μπλοκάροντας τη δραστηριότητα της κυκλίνης D-cdk4 και επομένως η απουσία του θα μπορούσε να αυξήσει την αυτοανανέωση των βλαστοκυττάρων διευκολύνοντας αυτή τη μετάβαση. Ομοίως, το HoxB4 μπορεί να αποτρέψει την επέκταση της G1 φάσης που συνήθως εμφανίζεται σε διαφοροποιημένα βλαστοκύτταρα, μειώνοντας έτσι την πιθανότητα διαφοροποίησης. Αντίθετα, η p21 μπορεί να ρυθμίσει τη μετάβαση από την όψιμη φάση G1 στη φάση S, οπότε η απουσία της p21 θα αύξανε τον κυτταρικό κύκλο χωρίς να επηρεάσει τη διάρκεια της πρώιμης G1. Επειδή διατηρούν μια σχετικά φυσιολογική πρώιμη φάση G1 και ανακυκλώνουν πιο ενεργά, τα κύτταρα p21^{-/-} θα εκτίθενται περισσότερο σε πρώιμα σήματα G1 που προκαλούν εξάντληση (για παράδειγμα, η MAPK).

Τρίτον, η επανείσοδος κυττάρων στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου από τη G0 μπορεί να συμβεί κοντά στο σημείο R, παρακάμπτοντας ουσιαστικά ένα τμήμα της πρώιμης G1. Αυτό θα παρείχε έναν άλλο πιθανό μηχανισμό (παρακάμπτοντας ένα τμήμα της πρώιμης G1) μέσω του οποίου η αδράνεια των βλαστοκυττάρων θα μπορούσε να ενισχύσει την αυτοανανέωση των βλαστοκυττάρων.

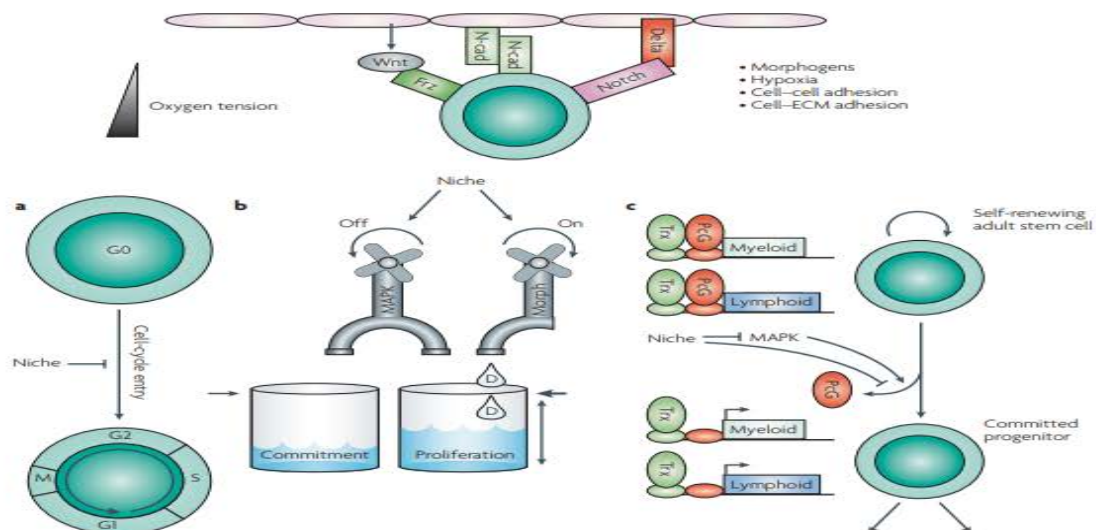
Αν και οι μηχανισμοί του κυτταρικού κύκλου διαφέρουν μεταξύ εμβρυικών και ενήλικων βλαστοκυττάρων, φαίνεται πως και οι δύο ακολουθούν διαφορετικές στρατηγικές για την αυτοανανέωση, αποφεύγοντας την πρώιμη G1 φάση. Τα εμβρυικά βλαστοκύτταρα επιτυγχάνουν αυτόν τον στόχο διατηρώντας ενεργή την κυκλίνη E-cdk2, μειώνοντας ή εξαλείφοντας την πρώιμη G1 φάση και επιταχύνοντας τον ρυθμό πολλαπλασιασμού.

Αντίθετα, τα ενήλικα βλαστοκύτταρα παραμένουν σε κατάσταση αδράνειας, με αποτέλεσμα να εισέρχονται σπάνια στην πρώιμη G1. Επιπλέον, το μικροπεριβάλλον των ενήλικων βλαστοκυττάρων μπορεί να παρέχει κρίσιμα σήματα, που διευκολύνουν τη μετάβαση στην πρώιμη G1 χωρίς να οδηγούν σε εξάντληση.

3.5 Ο ρόλος της φωλιάς (niche) στην ρύθμιση των βλαστικών κυττάρων

Με τον όρο φωλιά (niche) αναφερόμαστε σε μια συγκεκριμένη ανατομική θέση που αποτελείται από κυτταρικά και εξωκυτταρικά συστατικά που ρυθμίζει τον τρόπο με τον οποίο τα βλαστοκύτταρα συμμετέχουν στη δημιουργία, τη συντήρηση και την επισκευή των ιστών. Είναι μια βασική μονάδα της φυσιολογίας των ιστών, που ενσωματώνει σήματα που μεσολαβούν στην ισορροπημένη απόκριση των βλαστοκυττάρων στις ανάγκες των διαφόρων οργανισμών (Orford et al., 2008).

Γίνεται όλο και πιο σαφές ότι η φωλιά (niche) των ενήλικων βλαστοκυττάρων είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της λειτουργίας τους, ιδιαίτερα οι αποφάσεις για τη μοίρα των κυττάρων, όπως είναι η αυτοανανέωση και η δέσμευση (Adams, & Scadden, 2006; Scadden, 2006; Arai, & Suda, 2007). Αρκετά γενευικά μοντέλα σχετίζουν την εξειδικευμένη τοποθέτηση και την εκκένωση του μικροπεριβάλλοντος ως σημαντικούς ρυθμιστές του φαινοτύπου των βλαστοκυττάρων (Εικόνα 10).



Εικόνα 10 Ένα μοντέλο εξειδικευμένης ρύθμισης του πολλαπλασιασμού των βλαστοκυττάρων και των αποφάσεων για τη μοίρα των κυττάρων. Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα βρίσκονται σε μια συγκεκριμένη μικροπεριβαλλοντική φωλιά. Αυτή η φωλιά αποτελείται κυρίως από τους τοπικούς κυτταρικούς πληθυσμούς και τα εκκρινόμενα και δεσμευμένα στην κυτταρική επιφάνεια μόρια που δημιουργούν αυτά τα κύτταρα. Επιπλέον, η μεταβολική κατάσταση της φωλιάς (για παράδειγμα, η τάση οξυγόνου) είναι μια άλλη τοπική παράμετρος που θα επηρεάσει τη συμπεριφορά των βλαστοκυττάρων. Μεταξύ των μικροπεριβαλλοντικών συστατικών που πιστεύεται ότι είναι σημαντικοί ρυθμιστές της λειτουργίας των βλαστοκυττάρων είναι τα μορφογόνα (συμπεριλαμβανομένων των Notch, Wnt και Hedgehog), μόρια προσκόλλησης κυττάρου-κυττάρου και εξωκυτταρικής μήτρας (ECM) (για παράδειγμα, καντερίνες και ιντεγκρίνες) και η υποξία. Αυτά τα συστατικά μπορεί να επηρεάσουν την είσοδο των κυττάρων στον κυτταρικό κύκλο (a), τους μηχανισμούς πολλαπλασιαστικής διέγερσης (b) και την επιβολή αναπτυξιακού αποκλεισμού (c). (Τροποποίηση από Orford & Scadden, 2008).

Επαγωγή της αδράνειας.

Ένας πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου η θέση των βλαστοκυττάρων συμβάλλει στη διατήρηση της λειτουργίας τους είναι η επαγωγή της αδράνειας. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του πολλαπλασιασμού των βλαστοκυττάρων και της απώλειας της λειτουργικότητάς τους με την πάροδο του χρόνου. Νεότερες μελέτες παρέχουν στοιχεία που υποδεικνύουν ότι το μικροπεριβάλλον διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων.

Για παράδειγμα, η Rho GTPase Cdc42 ρυθμίζει διάφορες κυτταρικές δραστηριότητες, όπως τον πολυμερισμό της ακτίνης και την κυτταρική προσκόλληση (Yang et al., 2007). Ανάλυση των μοριακών και κυτταρικών μηχανισμών υπεύθυνων για τον φαινότυπο αυτό έδειξε ότι το βασικό ελάττωμα των κυττάρων ήταν η προσκόλλησή τους στην κυτταρική κοιλότητα. Ο μειωμένος βαθμός προσκόλλησης και μετανάστευσης συσχετίστηκε με ανώμαλη οργάνωση της ακτίνης, γεγονός που συνάδει με τη γνωστή λειτουργία του Cdc42. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι ο φαινότυπος των Cdc42^{-/-} ζώων οφείλεται κυρίως στη λανθασμένη τοποθέτηση των βλαστοκυττάρων στη βλαστοκυτταρική φωλιά.

Ο φαινότυπος των Tie2^{-/-} αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων υποδηλώνει επίσης τη σημαντική συμβολή της φωλιάς στην επαγωγή της αδράνειας. Το Tie2 (γνωστό και ως TEK) είναι ένας υποδοχέας κίνησης τυροσίνης, ο οποίος δρα ως δέκτης της οικογένειας Ang διαλυτών προσδετών. Εκφράζεται στην κυτταρική επιφάνεια των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα Tie2^{-/-} αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα παρουσιάζουν αυξημένη κυτταρική δραστηριότητα και εξαντλούνται ταχύτερα τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*.

Μελέτες των Arai et al. έδειξαν ότι το Tie2 είναι απαραίτητο για τη διατήρηση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*. Η αναστολή της αλληλεπίδρασης Tie2-Ang1 μέσω της προσθήκης της χιμαιρικής πρωτεΐνης Tie2-Fc σε συνκαλλιέργειες αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και στρωματικών κυττάρων του μυελού των οστών απέτρεψε τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα από το να εισχωρήσουν κάτω από τα στρωματικά κύτταρα, μια χαρακτηριστική συμπεριφορά των πρωτόγονων αιμοποιητικών κυττάρων που εμπλέκονται σε μακροχρόνιες αιμοποιητικές καλλιέργειες.

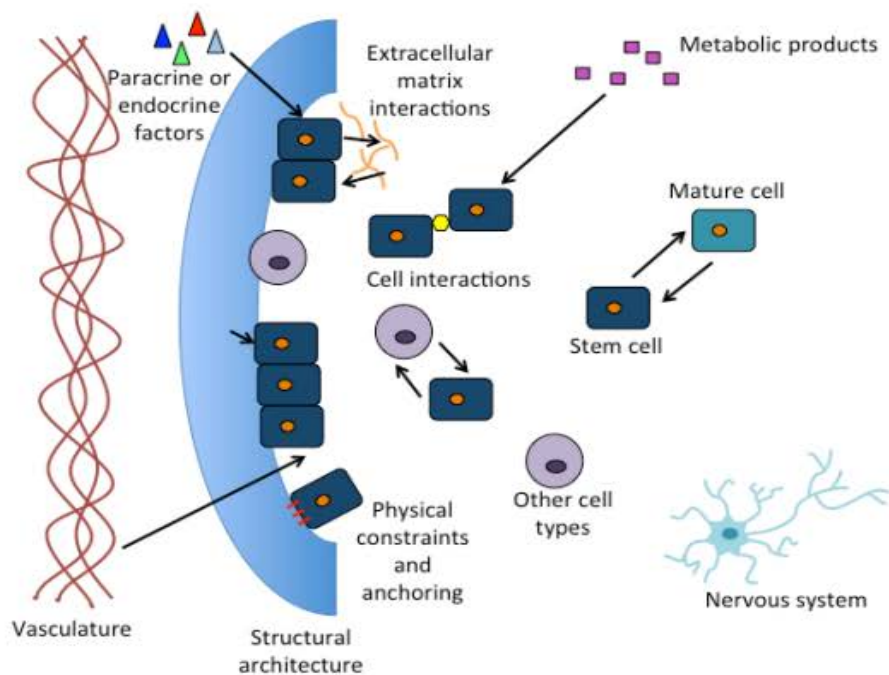
Αντίθετα, η ενεργοποίηση της σηματοδότησης Tie2 μέσω εξωγενούς Ang1 οδήγησε σε αυξημένη προσκόλληση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων στη φωλιά,

αύξηση της έκφρασης της N-καντερίνης(βασικού μεσολαβητή των αλληλεπιδράσεων αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων-οστεοβλαστών *in vivo*) και μειωμένη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την κινητοποίηση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων.

Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι η Tie2-Ang1 σηματοδότηση προηγείται της αδράνειας των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και πιθανώς τη ρυθμίζει.

Αν και η άμεση αιτιότητα παραμένει δύσκολο να αποδειχθεί, αυτά τα στοιχεία δείχνουν ότι η αλληλεπίδραση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων με τη φωλιά τους είναι κρίσιμη για την επαγωγή της αδράνειας και τη μακροπρόθεσμη διατήρηση της λειτουργίας τους.

Συμπερασματικά, η διατήρηση της θέσης των βλαστοκυττάρων στη φωλιά αποτελεί κεντρικό μηχανισμό στη ρύθμιση της λειτουργίας τους, αποτρέποντας την εξάντλησή τους σε φυσιολογικές συνθήκες (άγριου τύπου).

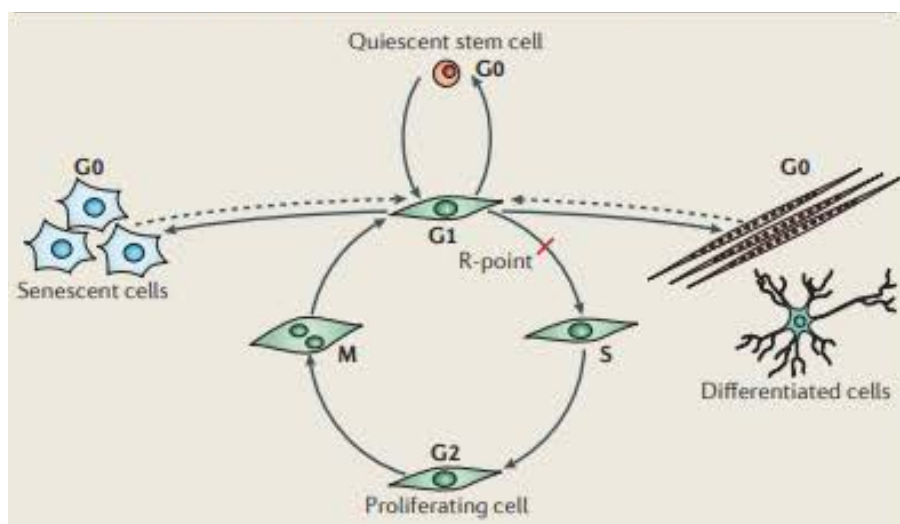


Εικόνα 11 Ρυθμιστικά στοιχεία της λειτουργίας των βλαστικών κυττάρων στη φωλιά (Τροποποίηση από Scadden, 2006).

4 Αδράνεια στα βλαστοκύτταρα

4.1 Ορισμός αδράνειας

Η αδράνεια ορίζεται ως μια αναστρέψιμη κατάσταση κατά την οποία κύτταρα εξέρχονται προσωρινά από τον κυτταρικό κύκλο, και παραμένουν στην φάση G0 για παρατεταμένες χρονικές περιόδους, διατηρώντας ωστόσο, την ικανότητα να επανενταχθούν στον κυτταρικό κύκλο, όταν αυτό χρειαστεί. Διαφέρει από την τερματική διαφοροποίηση ή τη γήρανση λόγω της αναστρεψιμότητάς που παρουσιάζει υπό κανονικές συνθήκες (τα κύτταρα μετά τη μίτωση μπορούν σε ορισμένες περιπτώσεις να εισέλθουν ξανά στον κυτταρικό κύκλο, ωστόσο αυτό είναι συνήθως αποτέλεσμα τραυματισμού ή άλλου ακραίου ερεθίσματος). Η κατάσταση του κυτταρικού κύκλου «G0» δεν είναι πλήρως κατανοητή, επί του παρόντος ορίζεται από την παρουσία διπλοειδούς ποσότητας DNA και την απουσία έκφρασης γονιδίων του κυτταρικού κύκλου (Cheung & Rando, 2013).



Εικόνα 12 Η αναστρεψιμότητα της κατάστασης G0 του κυτταρικού κύκλου (Τροποποίηση από Cheung & Rando, 2013).

Ιστορικά θεωρούνταν πως η αδράνεια ίσως αντιπροσωπεύει μια πολύ μεγάλη φάση G1 ή τη φάση G1 σε παύση, και ειδικότερα ότι είναι μια κατάσταση με χαμηλά επίπεδα κυτταρικής δραστηριότητας. Αρχικές μελέτες για την κυτταρική αδράνεια υποστήριξαν αυτή την άποψη, όπως παραδείγματος χάρη ότι η στέρηση ορού έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της πρωτεϊνσύνθεσης και επάγει την αδράνεια των κυττάρων 3T3 (Larsson et al., 1985; Zetterberg & Larsson, 1985). Είναι ενδιαφέρον ότι αυτά τα κύτταρα θα έμπαιναν σε αδράνεια μόνο εάν βρίσκονταν στην αρχή της φάσης G1 τη στιγμή της στέρησης του ορού, υποδεικνύοντας ότι η κατάσταση αδράνειας σχετίζεται άμεσα με τον κυτταρικό κύκλο και ότι μπορεί να είναι μια ενεργά ρυθμιζόμενη κατάσταση, αντί για αποτέλεσμα απώλειας της κυτταρικής λειτουργίας.

Οι τεχνικές για την αξιολόγηση των μεταγραφικών και βιολογικών χαρακτηριστικών των κυττάρων σε αδράνεια έχουν βελτιωθεί πολύ τα τελευταία χρόνια, με αποτέλεσμα μια πολύ πιο λεπτομερή κατανόηση της αδράνειας ως μιας ξεχωριστής και πολύπλοκης κατάστασης. Η αλληλούχιση του RNA, για παράδειγμα, επέτρεψε τη δημιουργία μιας «μεταγραφικής μελέτης» της αδράνειας.

4.2 Λειτουργία της αδράνειας

Η αδράνεια αποτελεί μια κρίσιμη λειτουργική κατάσταση για τη μακροχρόνια διατήρηση των αυτοανανεούμενων βλαστοκυττάρων σε έναν οργανισμό. Μέσω της αδράνειας, τα βλαστοκύτταρα παραμένουν σε λανθάνουσα κατάσταση μέχρι να προκύψει η ανάγκη παραγωγής προγονικών κυττάρων για τη διατήρηση της ομοιόστασης των ιστών. Αυτός ο αναστρέψιμος «λήθαργος» προσφέρει ένα προστατευτικό πλεονέκτημα έναντι της συνεχούς κυτταρικής διαίρεσης, μειώνοντας τον κίνδυνο συσσώρευσης γενετικών βλαβών και διατηρώντας τη γονιδιωματική σταθερότητα. Η περιορισμένη μιτωτική δραστηριότητα των βλαστοκυττάρων μειώνει την πιθανότητα απόκτησης μεταλλάξεων που μπορεί να οδηγήσουν σε γήρανση ή καρκινογένεση. Παρόλα αυτά, καθώς τα κύτταρα παραμένουν στον οργανισμό για χρόνια, εκτίθενται σε στρεσογόνους παράγοντες, όπως το οξειδωτικό στρες και η υποξία, οι οποίοι μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργικότητά τους. Η μοριακή ρύθμιση της αδράνειας περιλαμβάνει μεταγραφικούς παράγοντες όπως οι FOXO, οι οποίοι εκφράζονται σε υψηλά επίπεδα στα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα, συμπεριλαμβανομένου του FoxO3 στα ενήλικα νευρικά βλαστοκύτταρα,

προστατεύοντάς τα από βλάβες μέσω της ενεργοποίησης αντιοξειδωτικών μηχανισμών (Renault et al., 2009; Yeo et al., 2013).

Ένας επιπλέον μηχανισμός που προστατεύει τη γονιδιωματική ακεραιότητα των βλαστοκυττάρων κατά τη μίτωση είναι η «υπόθεση του αθάνατου κλώνου». Σύμφωνα με αυτήν, τα αδελφά χρωματοειδή δεν διαχωρίζονται τυχαία, αλλά τα νεοσυντιθέμενα μόρια DNA κατανέμονται στο θυγατρικό κύτταρο, ενώ το αρχικό μόριο DNA παραμένει στο βλαστοκύτταρο (Charville & Rando, 2011). Παρόλο που η γενικευμένη εφαρμογή αυτής της θεωρίας δεν έχει πλήρως αποδειχθεί, υπάρχουν ενδείξεις για τον διαχωρισμό αδελφών χρωματοειδών στα δορυφορικά κύτταρα του μυϊκού ιστού, στα εντερικά βλαστοκύτταρα και στα νευρικά βλαστοκύτταρα ενηλίκων (Karpowicz et al., 2005; Cheung & Rando, 2013). Ο μηχανισμός αυτός μπορεί να συμβάλλει στην αποφυγή μεταλλάξεων στα βλαστοκύτταρα, μειώνοντας τον κίνδυνο κακοήθειας και προάγοντας τη μακροχρόνια συντήρησή τους.

Επιπλέον, η αδράνεια φαίνεται να προετοιμάζει τα βλαστοκύτταρα για ταχεία απόκριση σε εξωτερικά σήματα. Τα αδρανή βλαστοκύτταρα χαρακτηρίζονται από χαμηλά επίπεδα mRNA, ωστόσο, είναι ικανά να μεταφράζουν ταχύτατα κρίσιμα γονίδια κατά την ενεργοποίησή τους. Αυτή η μειωμένη μεταγραφική δραστηριότητα μπορεί να λειτουργήσει ως στρατηγική για την αποφυγή περιττής ενεργοποίησης και τη διατήρηση των βλαστοκυττάρων σε μια ευέλικτη, προετοιμασμένη κατάσταση για μελλοντική διαφοροποίηση (Cheung & Rando, 2013).

Παρόμοια μοτίβα αδράνειας παρατηρούνται και σε καρκινικά βλαστοκύτταρα, ιδιαίτερα στα βλαστοκύτταρα του γλοιώματος (GSCs), που σχετίζονται με τον επιθετικό καρκίνο του εγκεφάλου, το γλοιοβλάστωμα (GBM) (Lathia et al., 2015). Τα GSCs διατηρούν μια υποομάδα κυττάρων σε κατάσταση αδράνειας, η οποία επιτρέπει την επιβίωσή τους κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας, καθώς τα περισσότερα αντικαρκινικά φάρμακα στοχεύουν ενεργώς διαιρούμενα κύτταρα (Chen et al., 2012). Αυτός ο μηχανισμός προστασίας δυσχεραίνει την εξάλειψη του όγκου, καθώς τα κύτταρα αυτά είναι ικανά να επανενεργοποιηθούν και να δημιουργήσουν νέες κακοήθειες μετά τη θεραπεία. Τα βλαστοκύτταρα του γλοιώματος έχουν χαρακτηριστικά παρόμοια με εκείνα των φυσιολογικών νευρικών βλαστοκυττάρων, γεγονός που καθιστά την κατανόηση των μηχανισμών αδράνειας στα ενήλικα νευρικά βλαστοκύτταρα ζωτικής σημασίας για τη στοχευμένη θεραπεία των εγκεφαλικών όγκων. Η αναστολή της αδράνειας στα GSCs θα μπορούσε να οδηγήσει σε αυξημένη

ευαισθησία στη θεραπεία, αποτρέποντας την υποτροπή του καρκίνου (Brooks and Parrinello, 2017; Chen et al., 2016).

4.3 Αδράνεια σε βλαστοκύτταρα ενηλίκων

Τα ενήλικα βλαστοκύτταρα εντοπίζονται σε εξειδικευμένες φωλιές εντός των ιστών και εμφανίζουν διαφοροποιημένα επίπεδα αδράνειας. Κατά τη διάρκεια της ομοιόστασης, η πλειονότητα των αιμοποιητικών και μυϊκών βλαστοκυττάρων παραμένει σε αδρανή κατάσταση, αλλά μπορεί να ενεργοποιηθεί για να εισέλθει στον κυτταρικό κύκλο και να διαφοροποιηθεί σε απόκριση σε στρεσογόνους παράγοντες (Schultz et al., 1978; Cheshier et al., 1999; Passegué et al., 2005). Τόσο τα αιμοποιητικά όσο και τα μυϊκά βλαστοκύτταρα παραμένουν σε αδράνεια για μεγάλα χρονικά διαστήματα και διαιρούνται σπάνια. Εκτιμάται ότι τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα διαιρούνται μόλις πέντε φορές κατά τη διάρκεια ζωής ενός ποντικίου (Wilson et al., 2008; Foudi et al., 2009). Αντίθετα, τα ενήλικα νευρικά βλαστοκύτταρα εμφανίζονται σε διαφορετικά στάδια ενεργοποίησης οποιαδήποτε στιγμή, ενώ τα θυλακικά βλαστοκύτταρα εμπλέκονται σε επαναλαμβανόμενους κυτταρικούς κύκλους για την αναγέννηση των τριχοθυλακίων (Tumbar et al., 2004; Codega et al., 2014; Llorens-Bobadilla et al., 2015). Τα τριχοθυλάκια ακολουθούν συγχρονισμένους κύκλους ανάπτυξης, κατά τους οποίους τα βλαστοκύτταρα διατηρούνται σε αδράνεια για μεγάλα χρονικά διαστήματα έως ότου ενεργοποιηθούν (Paus & Cotsarelis, 1999; Müller-Röver et al., 2001).

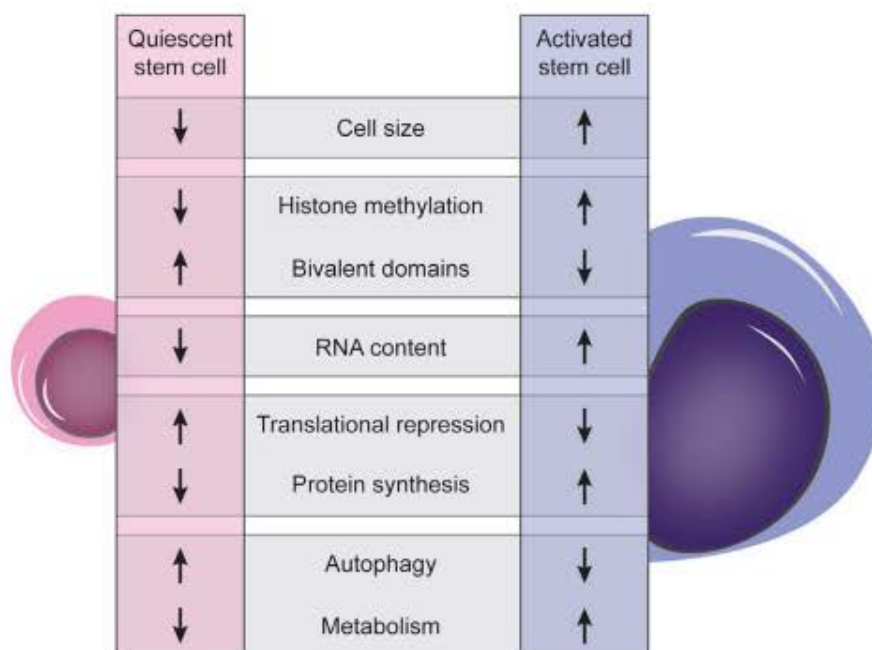
Η ισορροπία μεταξύ αδράνειας και κυτταρικής ενεργοποίησης είναι ζωτικής σημασίας για τη λειτουργικότητα των βλαστοκυττάρων. Η διαταραχή αυτής της ισορροπίας μπορεί να έχει αρνητικές συνέπειες στην αναγέννηση των ιστών. Για παράδειγμα, στα μυϊκά βλαστοκύτταρα, η απώλεια της σηματοδότησης Notch μέσω διαγραφής του RBP-jk ή η διακοπή της επεξεργασίας του microRNA μέσω διαγραφής του Dicer οδηγεί σε αυθόρμητη ενεργοποίηση των βλαστοκυττάρων, τα οποία αδυνατούν να αυτοανανεωθούν και καταλήγουν σε εξάντληση (Bjornson et al., 2012; Cheung et al., 2012; Mourikis et al., 2012). Παρόμοια, η διαταραχή της αδράνειας στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα οδηγεί σε παρατεταμένη ενεργοποίηση και εξάντληση του πληθυσμού τους, γεγονός που προκαλεί μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα και μειωμένη ανοσολογική απόκριση (Orford & Scadden, 2008; Jacob & Osato, 2009). Στα

νευρικά βλαστοκύτταρα, η απώλεια της αδράνειας οδηγεί σε πρόωρη εξάντληση, με αποτέλεσμα μειωμένη νευρογένεση και γνωστικά ελλείμματα (Farioli-Vecchioli et al., 2012; Jones et al., 2015).

Η μικροπεριβαλλοντική θέση των βλαστοκυττάρων επηρεάζει την κατάστασή τους στον κυτταρικό κύκλο. Οι φωλιές των βλαστοκυττάρων είναι εξειδικευμένες περιοχές όπου αλληλεπιδρούν με στρωματικά κύτταρα και την εξωκυτταρική μήτρα (ECM) μέσω σηματοδοτικών μονοπατιών (Shin et al., 2015). Η σημασία αυτών των αλληλεπιδράσεων είναι εμφανής στα αιμοποιητικά και θυλακικά βλαστοκύτταρα, όπου η απομάκρυνση των διαφοροποιημένων απογόνων τους προκαλεί ενεργοποίηση των βλαστοκυττάρων (Hsu et al., 2011; Zhao et al., 2014). Επίσης, η μεταβολή στη σύνθεση της εξωκυτταρικής μήτρας επηρεάζει άμεσα την αδράνεια και τον πολλαπλασιασμό των βλαστοκυττάρων (Bentzinger et al., 2013; Urciuolo et al., 2013).

Τα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα χαρακτηρίζονται από μεταβολικές προσαρμογές που περιλαμβάνουν μειωμένη πρωτεϊνοσύνθεση, γλυκόλυση και χρήση λιπαρών οξέων ως κύρια πηγή ενέργειας, αντί της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (Passegué et al., 2005; Simsek et al., 2010; Signer et al., 2014; Llorens-Bobadilla et al., 2015). Σε ενεργοποιημένη κατάσταση, αυξάνεται η μιτοχονδριακή δραστηριότητα και η πρωτεϊνοσύνθεση, οδηγώντας σε αυξημένη ενεργειακή ζήτηση (Simsek et al., 2010; Shin et al., 2015). Τα υψηλότερα επίπεδα πρωτεϊνοσύνθεσης σε ενεργοποιημένα βλαστοκύτταρα συνδέονται με ταχύτερη έξοδο από την αδράνεια (Signer et al., 2014). Ωστόσο, η ανεξέλεγκτη αύξηση της πρωτεϊνοσύνθεσης μπορεί να προκαλέσει εξάντληση της δεξαμενής των βλαστοκυττάρων, όπως παρατηρείται σε βλαστοκύτταρα με διαγραφή του PTEN ή με αυξημένη δραστηριότητα του eIF2α (Bonaguidi et al., 2011; Signer et al., 2014; Zismanov et al., 2016).

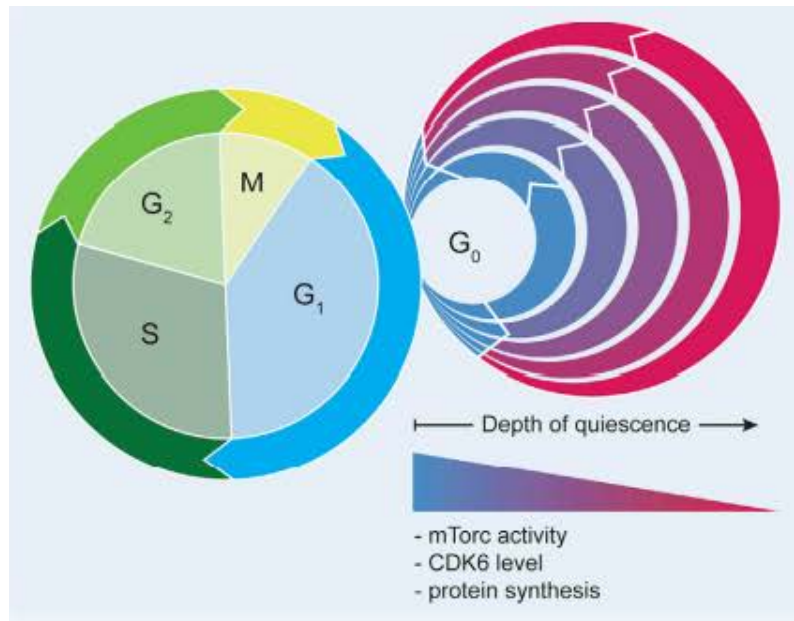
Η αυτοφαγία παίζει κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση της αδράνειας, επιτρέποντας την απομάκρυνση κατεστραμμένων οργανιδίων και την εξοικονόμηση ενέργειας (Guan et al., 2013). Στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, η αυτοφαγία μειώνει τη συσσώρευση αντιδραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), προστατεύοντας έτσι τα κύτταρα από την οξειδωτική βλάβη (Mortensen et al., 2011). Στα μυϊκά βλαστοκύτταρα, η δυσλειτουργία της αυτοφαγίας οδηγεί σε καθυστερημένη ενεργοποίηση ή γήρανση των κυττάρων (Tang & Rando, 2014; García-Prat et al., 2016). Συνολικά, η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που ρυθμίζουν την αδράνεια των βλαστοκυττάρων θα μπορούσε να οδηγήσει σε νέες θεραπευτικές στρατηγικές για τη βελτίωση της αναγεννητικής ικανότητας των ιστών.



Εικόνα 13 Χαρακτηριστικά αδρανών και ενεργών βλαστοκυττάρων (τροποποίηση από van Velthoven & Rando, 2019).

4.4 Επίπεδα αδράνειας σε βλαστοκύτταρα ενηλίκων

Πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει την ύπαρξη διαφορετικών επιπέδων αδράνειας στα ενήλικα βλαστοκύτταρα (Εικόνα 7). Για παράδειγμα, τα αδρανοποιημένα μυϊκά βλαστοκύτταρα μπορούν να βρεθούν σε δύο διακριτές μοριακές καταστάσεις: την κανονική αδράνεια (G0) και μια προετοιμασμένη αλλά ακόμη αδρανή κατάσταση (GAlert) (Rodgers et al., 2014). Ο τραυματισμός των σκελετικών μυών προκαλεί την ενεργοποίηση των αδρανών μυϊκών βλαστοκυττάρων, οδηγώντας τα από την G0 στη G1 φάση. Ωστόσο, σε μη τραυματισμένο μυ, τα μυϊκά βλαστοκύτταρα ανταποκρίνονται στον τραυματισμό μέσω μεταβατικής μετάβασης στη GAlert, γεγονός που τους επιτρέπει να συμβάλλουν ταχύτερα και πιο αποτελεσματικά στην αποκατάσταση του ιστού (Rodgers et al., 2014).



Εικόνα 14. Ο κυτταρικός κύκλος και ο αδρανής κύκλος (τροποποίηση από van Velthoven & Rando, 2019)

Στην κατάσταση GAlert, τα μυϊκά βλαστοκύτταρα αυξάνουν το μέγεθός τους, εμφανίζουν αυξημένη μεταγραφική και μιτοχονδριακή δραστηριότητα, καθώς και υψηλότερα επίπεδα κυτταρικού ATP σε σύγκριση με τα κύτταρα στη G0 φάση. Ωστόσο, οι παραπάνω αλλαγές εξακολουθούν να είναι σημαντικά χαμηλότερες από αυτές που παρατηρούνται σε πλήρως ενεργοποιημένα μυϊκά βλαστοκύτταρα. Είναι ενδιαφέρον ότι και άλλοι τύποι βλαστοκυττάρων, όπως τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα (HSCs), μπορούν επίσης να εισέλθουν σε κατάσταση GAlert ως απόκριση σε τραυματισμό (Rodgers et al., 2014).

Το φαινόμενο των πολλαπλών επιπέδων αδράνειας έχει περιγραφεί επίσης στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα. Η ταχύτητα εξόδου από την αδράνεια ρυθμίζεται διαφορετικά σε υποσύνολα αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων μέσω των επιπέδων CDK6 (Laurenti et al., 2015). Συγκεκριμένα, τα μακροχρόνια (LT)-HSCs δεν περιέχουν CDK6 και χρειάζονται περισσότερο χρόνο για να εισέλθουν στον κυτταρικό κύκλο, ενώ τα βραχυχρόνια (ST)-HSCs, αν και αδρανή, περιέχουν υψηλά επίπεδα CDK6, επιτρέποντάς τους να ενεργοποιούνται ταχύτερα έπειτα από μιτογόνο διέγερση. Παρόλα αυτά, αυτή η CDK6-εξαρτώμενη ενεργοποίηση δεν συμπίπτει με την κατάσταση GAlert που έχει περιγραφεί στα μυϊκά και αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα (Rodgers et al., 2014). Επιπλέον, τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα με υψηλά και χαμηλά επίπεδα CDK6 παρουσιάζουν παρόμοια δραστηριότητα mTORC, γεγονός που υποδηλώνει ότι δεν βρίσκονται σε GAlert.

Παρόμοιες καταστάσεις μεταβατικής αδράνειας έχουν αναγνωριστεί και στα νευρικά βλαστοκύτταρα (Llorens-Bobadilla et al., 2015). Έχει διαπιστωθεί ότι τα αδρανή νευρικά βλαστοκύτταρα στα πρώιμα στάδια εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνοσύνθεσης σε σχέση με εκείνα σε μεταγενέστερα στάδια, υποδηλώνοντας ότι η μεταφραστική ενεργοποίηση προηγείται της εξόδου από την αδράνεια. Το φαινόμενο αυτό έχει επίσης παρατηρηθεί στα μυϊκά βλαστοκύτταρα (Llorens-Bobadilla et al., 2015; Zismanov et al., 2016).

Επιπλέον, τα νευρικά βλαστοκύτταρα μπορούν να εισέλθουν στον κυτταρικό κύκλο με τρόπο παρόμοιο με τα μυϊκά και τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα στην κατάσταση GAlert. Οι μελέτες που αφορούν τα διάφορα επίπεδα αδράνειας αναδεικνύουν επίσης το έλλειμμα πληροφοριών σχετικά με τη μετάβαση από την G0 στη G1 φάση. Μέχρι σήμερα, δεν έχει εντοπιστεί συγκεκριμένο σημείο ελέγχου G0/G1, ούτε υπάρχει κάποιος μοριακός δείκτης που να διαφοροποιεί απόλυτα την G0 από την πρώιμη G1.

Συνολικά, τα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα που βρίσκονται σε GAlert ή σε πρώιμο στάδιο αδράνειας εμφανίζουν ενισχυμένη αναγεννητική ικανότητα. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν έντονα ότι η θέση ενός βλαστοκυττάρου μέσα στον κύκλο αδράνειας επηρεάζει σημαντικά τη λειτουργία του, καθορίζοντας την ικανότητά του για αναγέννηση και επιδιόρθωση ιστών.

5 Βλαστοκύτταρα και Ασθένειες

Βλαστοκύτταρα και σακχαρώδης διαβήτης

Η χρήση των βλαστοκυττάρων στην επιδιόρθωση ιστών και οργάνων έχει προσελκύσει σημαντικό ερευνητικό ενδιαφέρον (El Barky et al., 2018). Στην περίπτωση ασθενών με διαβήτη τύπου 1, η θεραπεία με βλαστοκύτταρα αποτελεί μια ελκυστική προσέγγιση για την παροχή κυττάρων που ανταποκρίνονται στα επίπεδα γλυκόζης και παράγουν ινσουλίνη, προσφέροντας μια εναλλακτική λύση στη μεταμόσχευση νησιδίων του παγκρέατος (McCall et al., 2010).

Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται και να διαφοροποιούνται ανάλογα με το μικροπεριβάλλον τους. Όταν εγχέονται *in vivo* στο πάγκρεας, αναμένεται να διαφοροποιηθούν σε παγκρεατικά κύτταρα με εξωκρινείς και ενδοκρινείς λειτουργίες. Έτσι, η μεταμόσχευση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων από τον μυελό των οστών μπορεί να συμβάλει στην επιδιόρθωση του παγκρεατικού ιστού, όχι μόνο μέσω της άμεσης διαφοροποίησης των κυττάρων αλλά και μέσω παρακρινικών επιδράσεων που προάγουν την αναγέννηση και τη λειτουργική αποκατάσταση του οργάνου (Barky et al., 2017).

Θεραπεία με βλαστοκύτταρα και νόσος του Πάρκινσον

Η νόσος του Πάρκινσον (PD) είναι μια ευρέως διαδεδομένη νευροεκφυλιστική διαταραχή, η οποία χαρακτηρίζεται από βραδυκινησία, ακαμψία και τρόμο. Η κύρια παθολογική αιτία της νόσου αποδίδεται στη μείωση των ντοπαμινεργικών (DA) νευρώνων, ωστόσο ο νευρωνικός εκφυλισμός παρατηρείται και σε μη ντοπαμινεργικά συστήματα (Politis et al., 2010).

Τα βλαστοκύτταρα διαθέτουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται σε νευρώνες θετικούς στην υδροξυλάση της τυροσίνης, ένζυμο απαραίτητο για τη σύνθεση ντοπαμίνης, και έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να βελτιώσουν την κινητική απόδοση σε ζωικά μοντέλα της νόσου σε ποντίκια (Li et al., 2001).

Έρευνες έχουν δείξει ότι είναι δυνατόν να παραχθούν ντοπαμινεργικά κύτταρα από βλαστοκύτταρα τόσο αρουραίου όσο και ανθρώπου. Η μεταμόσχευση αυτών των κυττάρων σε ζωικά μοντέλα με νόσο του Πάρκινσον οδήγησε σε βελτίωση της κινητικής λειτουργίας, μειώνοντας συμπτώματα όπως η βραδυκινησία, η ακαμψία και

ο τρόμος. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η χρήση βλαστοκυττάρων για την παραγωγή ντοπαμινεργικών νευρώνων μπορεί να έχει θεραπευτικές εφαρμογές για τη νόσο του Πάρκινσον.

Βλαστοκύτταρα και καρδιακές παθήσεις

Οι καρδιολόγοι αναζητούν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις για τους ασθενείς με καρδιακές παθήσεις. Η μεταφορά βλαστοκυττάρων και προγονικών κυττάρων στην καρδιά μπορεί να βελτιώσει την αιμάτωση των ιστών και να ενισχύσει τη συσταλτική λειτουργία του τραυματισμένου μυοκαρδίου. Τα βλαστοκύτταρα έχουν τη δυνατότητα να προάγουν τόσο τη μυοκαρδιακή αιμάτωση όσο και τη λειτουργική απόδοση της καρδιάς, προσφέροντας θεραπευτικά οφέλη σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, προχωρημένη στεφανιαία νόσο και χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (Wollert & Drexler, 2005).

Αυτοάνοσα νοσήματα

Τα αυτοάνοσα νοσήματα προκύπτουν όταν το ανοσοποιητικό σύστημα επιτίθεται σε φυσιολογικά κύτταρα και ιστούς του οργανισμού, προκαλώντας φλεγμονή και δυσλειτουργία. Λόγω της ικανότητάς τους να ρυθμίζουν τις ανοσολογικές αποκρίσεις, τα βλαστοκύτταρα έχουν προταθεί ως πιθανή θεραπευτική προσέγγιση για τα αυτοάνοσα νοσήματα. Σε ασθενείς με σοβαρές αυτοάνοσες διαταραχές που δεν ανταποκρίνονται στις καθιερωμένες θεραπείες, συχνά απαιτείται αυτόλογη ή αλλογενής μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (HSCT) ως εναλλακτική θεραπευτική επιλογή (Tyndall, 2012).

Ηπατικές Ασθένειες

Η ηπατική ανεπάρκεια και η κίρρωση προκύπτουν ως αποτέλεσμα χρόνιων ηπατικών κακώσεων, οι οποίες οδηγούν σε προοδευτική δυσλειτουργία του ήπατος. Τα βλαστοκύτταρα διαθέτουν ισχυρό αναγεννητικό δυναμικό και ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες, καθιστώντας τα μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική επιλογή για ηπατικές παθήσεις. Αυτές οι ασθένειες περιλαμβάνουν σοβαρές παθογόνες διεργασίες, όπως

φλεγμονή, νέκρωση ηπατοκυττάρων, ίνωση και κίρρωση, και συνοδεύονται από υψηλά ποσοστά θνησιμότητας (Schuppan & Afdhal, 2008).

Έχει αποδειχθεί ότι τα βλαστοκύτταρα ασκούν ανοσοτροποποιητική δράση, είτε μέσω της παραγωγής ανασταλτικών κυτοκινών είτε μέσω της ενίσχυσης των ρυθμιστικών T κυττάρων (Sun et al., 2009). Επιπλέον, η θεραπεία με βλαστοκύτταρα έχει φανεί αποτελεσματική στη ρύθμιση της ανοσοαπόκρισης σε περιπτώσεις τραυματισμού ιστών, μεταμοσχεύσεων και αυτοάνοσων νοσημάτων, τόσο σε πειραματικά ζωικά μοντέλα ηπατικής νόσου όσο και σε κλινικές δοκιμές (Uccelli et al., 2008).

Τα βλαστοκύτταρα μπορούν επίσης να αναστείλουν άμεσα την ενεργοποίηση των ηπατικών αστεροκυττάρων (HSC – Hepatic Stellate Cells), τα οποία αποτελούν τη βασική κυτταρική πηγή παραγωγής της εξωκυτταρικής μήτρας και συμβάλλουν στην ανάπτυξη της ίνωσης. Αυτή η δράση επιτυγχάνεται μέσω της προερχόμενης από βλαστοκύτταρα IL-10 και του TNF-α. Παράλληλα, τα βλαστοκύτταρα μπορούν να προκαλέσουν απόπτωση των HSC, εν μέρει μέσω της οδού Fas/FasL (Akiyama et al., 2012).

Επιπρόσθετα, τα βλαστοκύτταρα έχουν τη δυνατότητα να μετατρέπονται σε μυοϊνοβλάστες, τα κύτταρα που σχηματίζουν ουλώδη ιστό στο ήπαρ σε ορισμένες παθολογικές συνθήκες, γεγονός που αναδεικνύει τη διττή τους λειτουργία στη ρύθμιση της ηπατικής ίνωσης.

Νεφρική Νόσος

Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα πιστεύεται ότι συμβάλλουν στην επιδιόρθωση των ιστών μέσω παρακρινών και ενδοκρινών μηχανισμών, οι οποίοι ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση, προάγοντας έτσι την αναγέννηση των ιστών και την κυτταρική αντικατάσταση (Wise & Ricardo, 2012).

Η γήρανση των βλαστοκυττάρων και των προγονικών κυττάρων, που είναι εξειδικευμένα για κάθε ιστό, θεωρείται καθοριστικός παράγοντας για τη μείωση της ακεραιότητας και της λειτουργίας των ιστών και των οργάνων στους ηλικιωμένους. Σημαντικός αριθμός ερευνητικών δεδομένων συνδέει τη δυσλειτουργία των βλαστοκυττάρων με διάφορες παθοφυσιολογικές καταστάσεις που συνοδεύουν τη

γήρανση, εστιάζοντας στους μηχανισμούς που ευθύνονται για την υποβάθμιση των βλαστοκυττάρων και στη συμβολή τους στην ανάπτυξη ασθενειών (Rossi et al., 2008).

Είναι αδιαμφισβήτητο ότι η προχωρημένη ηλικία συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. Δεδομένου ότι η ανάπτυξη του καρκίνου απαιτεί τη συσσώρευση πολλαπλών μεταλλαξογόνων συμβάντων, οι πιθανότητες εμφάνισης αυτών των φαινομένων αυξάνονται στα γηρασμένα κύτταρα. Τα βλαστοκύτταρα αποτελούν ιδανικούς κυτταρικούς στόχους για τη συσσώρευση προκαρκινικών μεταλλάξεων, καθώς οι βασικές τους ιδιότητες – η αυτοανανέωση και η διαφοροποίηση – επιτρέπουν τη διατήρηση και εξάπλωση των μεταλλάξεων τόσο στα ίδια όσο και στους προγονικούς πληθυσμούς των κυττάρων κατά τη διάρκεια της ζωής του οργανισμού.

Ο κίνδυνος συσσώρευσης μεταλλάξεων στα βλαστοκύτταρα ελέγχεται από τη δράση των ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών, οι οποίες αναγνωρίζουν και καταστέλλουν δυνητικά κακοήθεις κυτταρικούς κλώνους, ενεργοποιώντας μηχανισμούς όπως η απόπτωση ή η μόνιμη διακοπή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Ωστόσο, δεδομένου ότι οι ιστοί απαιτούν συνεχή δραστηριότητα των βλαστοκυττάρων και των προγονικών κυττάρων για τη διατήρηση της ομοιόστασης, η υπερβολική ενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών μηχανισμών μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια βλαστοκυττάρων, γεγονός που ενδέχεται να συμβάλλει στη γήρανση των ιστών (Rossi et al., 2008).

Η γήρανση συνοδεύεται από μια σειρά παθοφυσιολογικών αλλαγών στο αιμοποιητικό σύστημα, γεγονός που υποδηλώνει διαταραχή του ομοιοστατικού ελέγχου και πιθανή εμπλοκή των βλαστοκυττάρων και των προγονικών κυττάρων. Οι πιο κλινικά σημαντικές αλλαγές περιλαμβάνουν τη μειωμένη ικανότητα του προσαρμοστικού ανοσοποιητικού συστήματος (Linton & Dorshkind, 2004), την αυξημένη συχνότητα μυελοειδών νοσημάτων, όπως οι λευχαιμίες (Lichtman & Rowe, 2004), καθώς και την εμφάνιση αναιμίας στους ηλικιωμένους (Beghe et al., 2004).

Με την πάροδο της ηλικίας, η ικανότητα των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (HSCs) να παράγουν προγονικά κύτταρα μειώνεται σημαντικά. Αυτό αποδεικνύεται από τη μεταβολή της κύριας τοποθεσίας αιμοποίησης, η οποία μεταβαίνει από το εμβρυϊκό ήπαρ, στο αίμα του ομφάλιου λώρου και τελικά στον μυελό των οστών των ενηλίκων (Lansdorp et al., 1993). Η μεταβολή αυτή υποδηλώνει μια σταδιακή απώλεια της δραστηριότητας των βλαστοκυττάρων με την πάροδο του χρόνου.

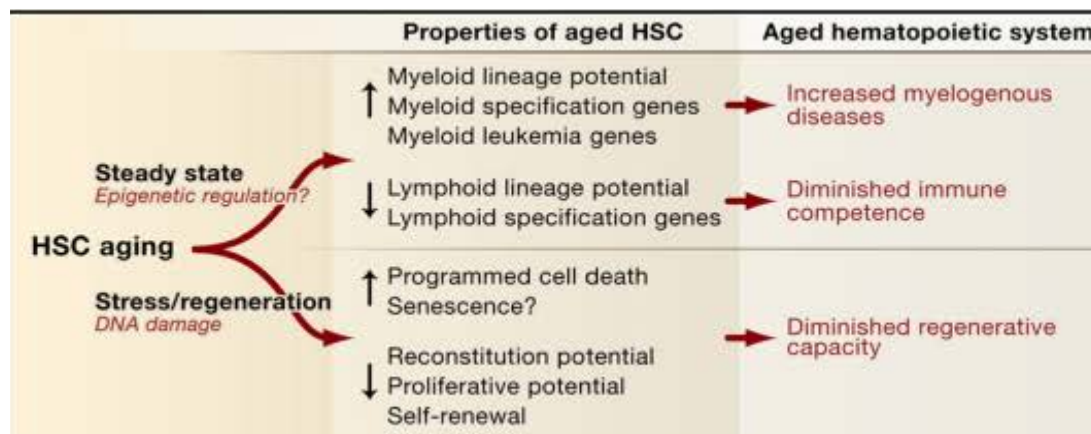
Μια πρόσφατη ανάλυση του μητρώου του Εθνικού Προγράμματος Δοτών Μυελού (NMDP) αξιολόγησε την επίδραση της ηλικίας και άλλων παραμέτρων (όπως

η ορολογική κατάσταση του κυτταρομεγαλοϊού, η συμβατότητα της ομάδας αίματος ABO, η φυλή και το φύλο) στην επιτυχία της μεταμόσχευσης μυελού των οστών σε 6.978 λήπτες (Kollman et al., 2001). Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η μεγαλύτερη ηλικία του δότη συσχετίζεται με χαμηλότερη επιβίωση χωρίς νόσο μετά τη μεταμόσχευση. Αυτό υποδηλώνει ότι η ικανότητα των ανθρώπινων αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων να αυτοανανεώνονται και να αναγεννώνται μειώνεται με την ηλικία, και ότι η απώλεια δραστηριότητας των HSCs οφείλεται κυρίως σε εγγενείς κυτταρικούς παράγοντες.

Τα συμπεράσματα αυτά έχουν επιβεβαιωθεί και μέσα από πειραματικές μελέτες σε ποντίκια. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι οι παιδιατρικές λευχαιμίες προέρχονται κυρίως από λεμφοκύτταρα, ενώ οι λευχαιμίες που εμφανίζονται στην τρίτη ηλικία σχετίζονται συχνότερα με μυελοειδή κύτταρα. Αυτό υποδηλώνει ότι η κακοήθης δυναμική των αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων μεταβάλλεται με την ηλικία, γεγονός που αντανakλά τις αλλαγές στο δυναμικό διαφοροποίησης των HSCs κατά τη διαδικασία της γήρανσης (Kim et al., 2003; Liang et al., 2005; Rossi et al., 2005; Sudo et al., 2000).

Αυτή η διαφοροποίηση στα πρότυπα της νόσου μπορεί να προκύπτει από αλλαγές στο αναπτυξιακό δυναμικό των βλαστοκυττάρων σε διαφορετικά στάδια της ζωής. Μια σχετική μελέτη έδειξε ότι η έκτοπη έκφραση του ογκογονιδίου BCR-ABL, το οποίο προκαλεί χρόνια μυελογενή λευχαιμία στους ανθρώπους, είχε διαφορετικά αποτελέσματα ανάλογα με την ηλικία των πειραματόζωνων. Σε νεαρά ποντίκια, η έκφρασή του προκάλεσε τόσο μυελοπολλαπλασιαστική νόσο (MPD) όσο και B-κυτταρική λευχαιμία, ενώ σε ηλικιωμένα ποντίκια προκάλεσε κυρίως MPD, με ελάχιστη ή καθόλου λεμφική συμμετοχή (Signer et al., 2007).

Επιπλέον, η γήρανση των βλαστοκυττάρων συνδέεται με αυξημένη έκφραση γονιδίων όπως Aml1, Pml και Eto, τα οποία εμπλέκονται στην παθογένεση της μυελογενούς λευχαιμίας (Rossi et al., 2005). Αυτό υποδηλώνει ότι η ρύθμιση αυτών των πρωτο-ογκογονιδίων μπορεί να δρα συνεργικά με τη μυελοειδή μεροληψία των γηρασμένων βλαστοκυττάρων, αυξάνοντας την προδιάθεση για μυελογενή νόσο και λευχαιμία. Ωστόσο, παραμένει ασαφές εάν η μεταβολή της ρύθμισης αυτών των πρωτο-ογκογονιδίων με την ηλικία αυξάνει την ευαισθησία των βλαστοκυττάρων σε κυτταρογενετικές ανακατατάξεις και μετατοπίσεις που προάγουν την ανάπτυξη λευχαιμίας (Rossi et al., 2008).



Εικόνα 15. Ένα μοντέλο γήρανσης αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (HSC) υπό συνθήκες σταθερής κατάστασης και στρες παρουσιάζεται με τις ιδιότητες των ηλικιωμένων βλαστοκυττάρων που προτείνεται να συμβάλλουν σε παθολογολογίες που εξαρτώνται από την ηλικία (Rossi et al., 2008).

Η λειτουργική παρακμή των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων που συνοδεύει τη γήρανση είναι σε μεγάλο βαθμό εγγενής στα κύτταρα. Ωστόσο, η επίδραση του μικροπεριβάλλοντος των βλαστοκυττάρων στη βιολογία των HSCs είναι αδιαμφισβήτητη, γεγονός που υποδηλώνει ότι η γήρανση των HSCs επηρεάζεται και από εξωτερικούς παράγοντες. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ο θερμιδικός περιορισμός (CR), η μόνη γνωστή παρέμβαση που επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής σε όλα τα είδη. Σε πειράματα με ηλικιωμένα ποντίκια, ο θερμιδικός περιορισμός βελτίωσε σημαντικά τη λειτουργία των HSCs, ακόμα και όταν αυτά μεταμοσχεύθηκαν σε οργανισμούς που δεν είχαν υποβληθεί σε CR (Chen et al., 2003). Επιπλέον, η CR καταστέλλει την ανάπτυξη μυελοειδούς λευχαιμίας σε ποντίκια που είχαν εκτεθεί σε ακτινοβολία, πιθανώς μέσω της μείωσης του αριθμού των πρωτόγονων αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και προγονικών κυττάρων, τα οποία θεωρούνται οι κύριοι στόχοι της νόσου (Yoshida et al., 2006). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η γήρανση και οι ασθένειες που προέρχονται από βλαστοκύτταρα μπορεί να ρυθμίζονται μέσω μονοπατιών που σχετίζονται με τις αντιγηραντικές επιδράσεις του θερμιδικού περιορισμού, όπως η οδός του αυξητικού παράγοντα που μοιάζει με ινσουλίνη (Igf1) (Kenyon, 2005) ή οι αποακετυλάσες της οικογένειας Sir2 (Chen & Guarente, 2007).

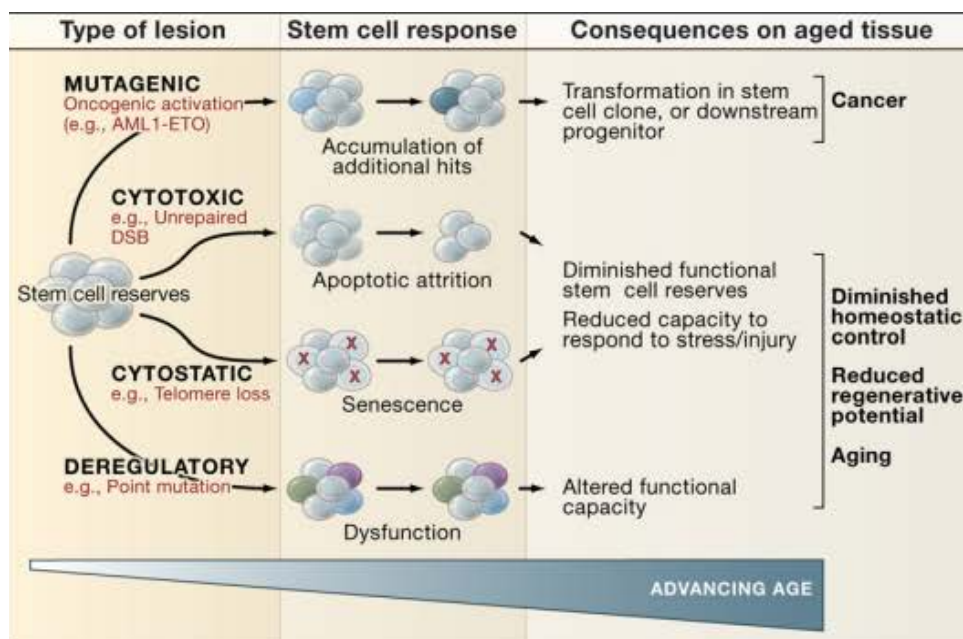
Κατά τη γήρανση, τα βλαστοκύτταρα υφίστανται παρόμοιες βλάβες με τα σωματικά κύτταρα, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία τους. Ωστόσο, σε αντίθεση με τα σωματικά κύτταρα, οι βλάβες στα βλαστοκύτταρα μπορούν να μεταδοθούν στις θυγατρικές γενεές κυττάρων μέσω των μηχανισμών αυτοανανέωσης και διαφοροποίησης. Έτσι, η συσσώρευση βλαβών σε μεμονωμένα βλαστοκύτταρα μπορεί να έχει εκτεταμένες επιπτώσεις σε ολόκληρη την αιμοποιητική ιεραρχία.

Οι βλάβες στο DNA των βλαστοκυττάρων μπορούν να έχουν διαφορετικές συνέπειες. Ανάλογα με τη σοβαρότητα, μπορεί να οδηγήσουν σε γήρανση, απόπτωση ή ογκογόνο μετασχηματισμό των κυττάρων (Εικόνα 21).

Αν η απώλεια λειτουργικών βλαστοκυττάρων υπερβεί τα επίπεδα αυτοανανέωσης, τότε μειώνεται η ομοιόσταση και το αναγεννητικό δυναμικό, δύο χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τη γήρανση.

Αντίθετα, εάν οι βλάβες στο DNA είναι μεταλλαξιογόνες, τα βλαστοκύτταρα μπορεί να μετασχηματιστούν σε κακοήγη κύτταρα ή να λειτουργήσουν ως υποστρώματα για πρόσθετες μεταλλάξεις, ενισχύοντας τη διαδικασία κλωνικής επιλογής.

Παρόλο που τα βλαστοκύτταρα διαθέτουν ισχυρούς μηχανισμούς καταστολής όγκων που απομακρύνουν τα κατεστραμμένα κύτταρα από τη δεξαμενή τους, η αυξημένη συσσώρευση βλαβών στο DNA με την ηλικία υποδηλώνει ότι μπορούν να λειτουργήσουν ως δεξαμενή μεταλλάξεων. Αυτές οι μεταλλάξεις ενδέχεται να συμβάλλουν είτε στην ανάπτυξη ασθενειών είτε στον ογκογόνο μετασχηματισμό των βλαστοκυττάρων και των απογόνων τους (Rossi et al., 2007, 2008).



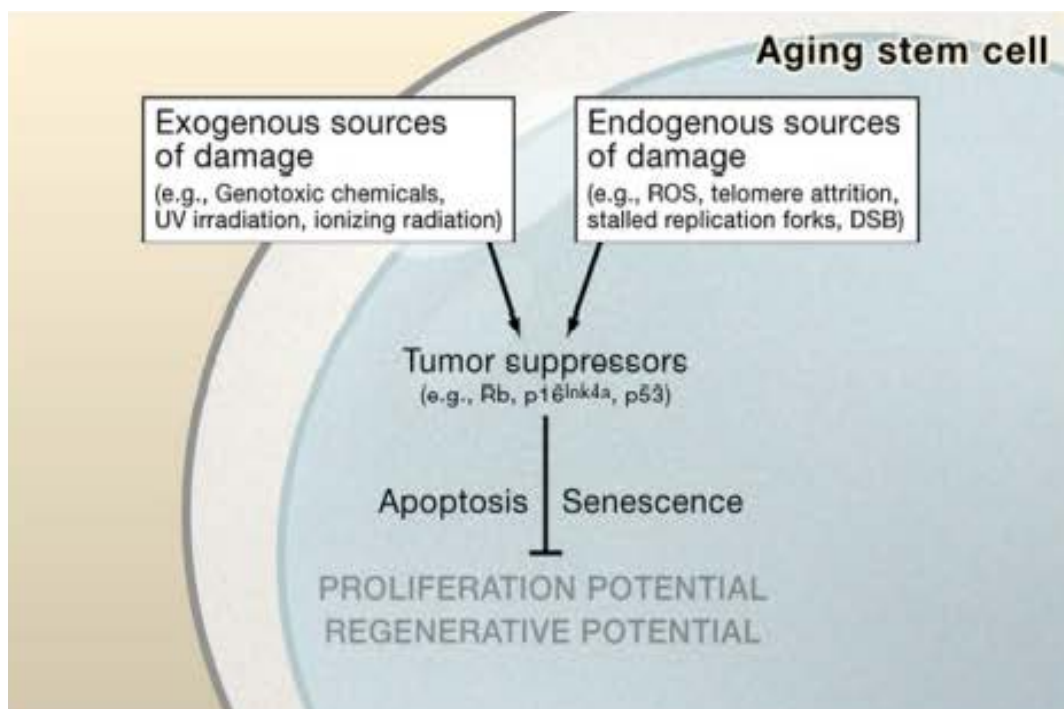
Εικόνα 16. Βλάβη DNA στα βλαστοκύτταρα. Η κληρονομική βλάβη του DNA που συσσωρεύεται στα βλαστοκύτταρα προκαλεί διαφορετικές αποκρίσεις ανάλογα με τη φύση και την έκταση των βλαβών. Δείχνονται παραδείγματα κάθε τύπου αλλοίωσης, αν και η κυτταρική απόκριση και τα αποτελέσματα δεν αλληλοαποκλείονται. Οι μεταλλαξιογόνες βλάβες στα βλαστοκύτταρα μπορούν να οδηγήσουν σε μετασχηματισμό βλαστοκυττάρων ή των απογόνων τους με την απόκτηση ενός πλήρους ρεπερτορίου ογκογόνων βλαβών. Οι κυτταροστατικές και οι κυτταροτοξικές βλάβες οδηγούν σε γήρανση ή απόπτωση των βλαστοκυττάρων, αντίστοιχα, η οποία με την πάροδο του χρόνου θα μπορούσε να οδηγήσει σε μείωση της δεξαμενής βλαστοκυττάρων. Άλλοι τύποι βλάβης μπορεί να οδηγήσουν σε απορρύθμιση των μηχανισμών που διέπουν τη βιολογία των βλαστοκυττάρων και σε δυσλειτουργία. Συσσωρευτικά, κυτταροστατικές, κυτταροτοξικές και απορρυθμιστικές βλάβες μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένο ομοιοστατικό έλεγχο και μειωμένο αναγεννητικό δυναμικό, τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά της γήρανσης (Rossi et al., 2008).

Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ) αποτελεί μία από τις πιο διδακτικές ασθένειες για την κατανόηση της σχέσης μεταξύ της γήρανσης των βλαστοκυττάρων και της απόκτησης των μεταλλάξεων που απαιτούνται για τον κακοήγη μετασχηματισμό, καθώς είναι γενικά μια νόσος που εμφανίζεται σε ηλικιωμένα άτομα. Η ΧΜΛ ήταν η πρώτη κακοήθεια που συσχετίστηκε με μια χαρακτηριστική χρωμοσωμική ανωμαλία, καθώς και με το συστατικά ενεργό προϊόν σύντηξης της κινάσης τυροσίνης, BCR-ABL. Επιπλέον, ήταν ο πρώτος τύπος καρκίνου που αποδείχθηκε ότι προέρχεται από βλαστοκύτταρο και αντιμετωπίζεται αποτελεσματικά με στοχευμένη θεραπεία που αναστέλλει την ογκοπρωτεΐνη BCR-ABL (Wong & Witte, 2004). Παρόλο που οι μοριακοί μηχανισμοί που διέπουν την εξέλιξη της ΧΜΛ από τη χρόνια φάση της έχουν μελετηθεί εκτενώς, ο ρόλος των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και προγονικών κυττάρων αξιολογήθηκε μόνο πρόσφατα (Jamieson et al., 2004). Σε μοντέλα ποντικών, διαπιστώθηκε ότι η έκφραση του BCR-ABL από μόνη της δεν αρκεί για να προσδώσει τις ιδιότητες των λευχαιμικών βλαστοκυττάρων (LSC) σε δεσμευμένους προγόνους. Αντίθετα, η έκτοπη έκφραση του ογκογονιδίου MOZ-TIF2, το οποίο επάγει την αυτοανανέωση, ήταν επαρκής για τον μετασχηματισμό τους (Huntly et al., 2004). Σε άλλο πειραματικό μοντέλο, η έκτοπη έκφραση του ογκογονιδίου MLL-ENL σε αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα οδήγησε στην αθανασία των προγονικών κοκκιοκυττάρων (Cozzio et al., 2003). Επιπλέον, το προφίλ γονιδιακής έκφρασης των λευχαιμικών βλαστοκυττάρων που δημιουργήθηκαν μέσω του μετασχηματισμού δεσμευμένων προγόνων από την έκφραση του ογκογονιδίου MLL-AF9 έδειξε ότι τα κύτταρα διατήρησαν σε μεγάλο βαθμό τη γονιδιακή έκφραση των γονικών προγόνων. Ωστόσο, οι αυτοανανεούμενοι λευχαιμικοί κλώνοι απέκτησαν ένα γονιδιακό προφίλ περισσότερο χαρακτηριστικό των βλαστοκυττάρων (Krivtsov et al., 2006). Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα λευχαιμικά βλαστοκύτταρα μπορούν να προκύψουν από δεσμευμένα αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα χωρίς να απαιτείται εκτεταμένος επαναπρογραμματισμός της γονιδιακής έκφρασης, αρκεί να ενεργοποιηθεί ένα κρίσιμο υποσύνολο γονιδίων αυτοανανέωσης. Ταυτόχρονα, προκύπτει ότι η ικανότητα των διαφορετικών ογκογόνων προϊόντων να προάγουν την αυτοανανέωση σε λευχαιμικούς κλώνους εξαρτάται από το αναπτυξιακό στάδιο των κυττάρων (Rossi et al., 2008).

Αν και οι γενετικές μεταλλάξεις που οδηγούν στη λευχαιμία δρουν συχνά με αυτόνομο κυτταρικό τρόπο, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το μικροπεριβάλλον παίζει εξίσου σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των μυελοπολλαπλασιαστικών

διαταραχών και στην παθογένεση της λευχαιμίας, μέσω απορρύθμισης της αιμοποιητικής φωλεάς (Walkley et al., 2007a; Walkley et al., 2007b).

Με βάση τα δεδομένα των παραπάνω μελετών, καθίσταται αναγκαία η ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών για την αντιμετώπιση παθοφυσιολογικών καταστάσεων που σχετίζονται με τη γήρανση. Ο χαρακτηρισμός της φυσιολογικής γήρανσης των βλαστικών κυττάρων αποτελεί το πρώτο κρίσιμο βήμα προς την επίτευξη αυτού του στόχου, καθώς θα επιτρέψει τον εντοπισμό των μηχανισμών που οδηγούν στη λειτουργική έκπτωση των βλαστοκυττάρων και θα συμβάλει στον σχεδιασμό στοχευμένων παρεμβάσεων. Ιδιαίτερη σημασία έχει η ανάπτυξη θεραπειών ακριβείας που θα μειώσουν τα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας που σχετίζονται με τον καρκίνο, τη συχνότερη θανατηφόρα ασθένεια της γήρανσης.



Εικόνα 17 Μονοπάτια γήρανσης βλαστοκυττάρων και ογκοκαταστολής. Οι κυτταρικές και γονιδιωματικές βλάβες που προκύπτουν από ενδογενείς και εξωγενείς πηγές ενεργοποιούν ογκοκατασταλτικά μονοπάτια, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που διαμεσολαβούνται από τις ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες p53 και Rb για να διασφαλιστεί ότι οι δυνητικά επικίνδυνες βλάβες δεν οδηγούν σε κακοήθεια. Καθώς η γήρανση προχωρά και αυξάνεται η βλάβη, η δραστηριότητα τέτοιων ογκοκατασταλτικών αυξάνεται και με αυτόν τον τρόπο έχει τη δυνατότητα να ρυθμίζει αρνητικά τη λειτουργία των βλαστοκυττάρων μέσω της πρόκλησης απόπτωσης ή γήρανσης (Rossi et al., 2008).

6 Γενετική ρύθμιση της αδράνειας σε βλαστοκύτταρα

6.1 Μηχανισμοί αδράνειας σε βλαστοκύτταρα

Η αδράνεια των βλαστοκυττάρων ρυθμίζεται τόσο από εγγενείς μηχανισμούς όσο και από εξωτερικά σήματα που προέρχονται από το μικροπεριβάλλον τους, όπως φαίνεται στην εικόνα 8 (Wilson & Trumpp, 2006). Αρκετοί μεταγραφικοί παράγοντες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στις αποφάσεις που καθορίζουν την τύχη των βλαστοκυττάρων (Liu et al., 2009). Επιπλέον, οι αλληλεπιδράσεις των βλαστοκυττάρων με τη μικροπεριβάλλουσα φωλεά τους είναι ζωτικής σημασίας για τη μακροπρόθεσμη διατήρηση της αδράνειας των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (Spradling et al., 2001).

Εγγενείς μηχανισμοί που ρυθμίζουν την αδράνεια των βλαστοκυττάρων

Σηματοδότηση p53

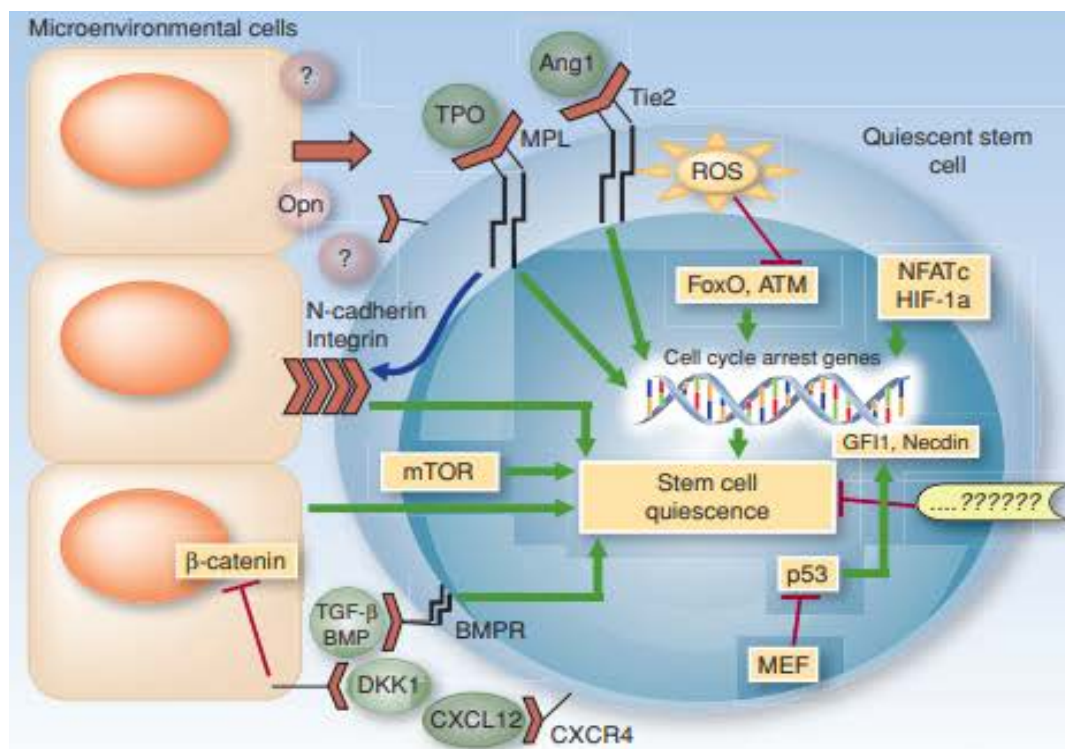
Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι, εκτός από τον σημαντικό ρόλο της στην κυτταρική απόκριση σε βλάβες του DNA, η p53 διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της αδράνειας των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων υπό συνθήκες σταθερής κατάστασης (Wilson & Trumpp, 2006; Lacorazza et al., 2010). Η p53 εκφράζεται επιλεκτικά στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, σε αντίθεση με τα πιο δεσμευμένα προγονικά κύτταρα, και συμβάλλει στη διατήρηση της αδράνειάς τους (Wilson & Trumpp, 2006).

Ο μεταγραφικός παράγοντας MEF/ELF4 ρυθμίζει την έκφραση της p53 και διευκολύνει την είσοδο των αδρανών αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων στον κυτταρικό κύκλο (Lacorazza et al., 2010). Αντίστοιχα, στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα που στερούνται λειτουργικού MEF, παρατηρείται αυξημένη αδράνεια εξαρτώμενη από την p53, καθιστώντας τα ανθεκτικά στις μυελοκατασταλτικές επιδράσεις της χημειοθεραπείας και της ακτινοβολίας.

Αν και προηγούμενες μελέτες πρότειναν ότι το p21, ένας στόχος του p53, διαδραματίζει ρόλο στον περιορισμό της εισόδου των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων

στον κυτταρικό κύκλο και στη ρύθμιση του μεγέθους της δεξαμενής τους υπό πίεση (Cheng et al., 2000), νεότερα δεδομένα έδειξαν ότι το p21 έχει περιορισμένη επίδραση στη ρύθμιση της αδράνειας των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων υπό φυσιολογικές συνθήκες (Van Os et al., 2007).

Επιπλέον, δύο άλλα γονίδια-στόχοι της p53, το Gfi-1 και το Necdin, έχουν αναγνωριστεί ως σημαντικοί ρυθμιστές της αδράνειας των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (Wilson & Trumpp, 2006; Hock et al., 2004).



Εικόνα 18 Σηματοδοτικά μονοπάτια του μικροπεριβάλλοντος και ενδοκυτταρικοί μηχανισμοί που ρυθμίζουν την αδράνεια των βλαστοκυττάρων τροποποίηση από Li & Bhatia, 2011).

Ενεργές μορφές οξυγόνου: FoxOs και ATM.

Οι ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της διατήρησης των βλαστοκυττάρων (Ito et al., 2004; Tothova et al., 2007). Η οικογένεια πρωτεϊνών FoxO ("forkhead box O") αποτελείται από τέσσερα μέλη: FoxO1, FoxO3a, FoxO4 και FoxO6, τα οποία διαθέτουν διακριτές αλλά και αλληλοεπικαλυπτόμενες λειτουργίες. Οι πρωτεΐνες FoxO ενεργοποιούνται ως απόκριση στο οξειδωτικό στρες (Furukawa-Hibi et al., 2002; Brunet et al., 2004) και

ρυθμίζουν γονίδια που εμπλέκονται τόσο στην αποτοξίνωση των ROS όσο και στη διακοπή του κυτταρικού κύκλου (Furukawa-Hibi et al., 2002).

Αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα από ποντίκια με τριπλή έλλειψη FoxO1, FoxO3 και FoxO4 παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα ROS, επιταχυμένο κυτταρικό κύκλο, αυξημένη απόπτωση και ελαττωματική μακροπρόθεσμη ικανότητα επαναπληθυσμού (Tothova et al., 2007). Ωστόσο, αυτή η δυσλειτουργία που προκαλείται από την απώλεια των FoxO μπορεί να αντιστραφεί με τη χορήγηση αντιοξειδωτικών.

Επιπλέον, ο ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου ATM, ο οποίος ενεργοποιείται μετά από βλάβη του DNA, ρυθμίζει επίσης τα επίπεδα των ROS στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα (Ito et al., 2004). Το ATM εκφράζεται επιλεκτικά σε αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα που βρίσκονται εντός του κυτταρικού κύκλου, ενώ ποντίκια με έλλειψη ATM εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα ROS, απουσία αδρανών αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και προοδευτική ανεπάρκεια μυελού των οστών (Ito et al., 2004). Η θεραπεία με αντιοξειδωτικά μπορεί να αποκαταστήσει την αδράνεια και να ενισχύσει την αναγεννητική ικανότητα του μυελού των οστών, υποδεικνύοντας ότι ο έλεγχος των ROS είναι κρίσιμος για τη διατήρηση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων.

Παράγοντας 1α που προκαλείται από υποξία.

Ο μεταγραφικός παράγοντας HIF-1α (Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha) σταθεροποιείται υπό συνθήκες χαμηλού οξυγόνου, όπως αυτές που επικρατούν στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών (Simsek et al., 2010; Takubo et al., 2010). Τα επίπεδα του HIF-1α είναι αυξημένα στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα και παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του μεταβολισμού τους (Simsek et al., 2010).

Αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα από ποντίκια με έλλειψη HIF-1α εμφανίζουν μειωμένη αδράνεια και χαμηλότερους αριθμούς μετά από μεταμόσχευση, μυελοκαταστολή ή γήρανση (Takubo et al., 2010).

Συνολικά, αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η ακριβής ρύθμιση των επιπέδων του HIF-1α είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της αδράνειας των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων.

Πυρηνικός παράγοντας ενεργοποιημένων T κυττάρων c1

Ο θύλακας της τρίχας αποτελεί ένα κατάλληλο μοντέλο για τη μελέτη της αδράνειας των βλαστοκυττάρων. Τα βλαστοκύτταρα του θυλάκου της τρίχας εντοπίζονται στη διογκωμένη περιοχή του ωοθυλακίου (Tumbar et al., 2004; Horsley et al., 2008).

Ο μεταγραφικός παράγοντας NFATc1 (πυρηνικός παράγοντας των ενεργοποιημένων T κυττάρων c1) εκφράζεται επιλεκτικά στην περιοχή του εξογκώματος, σε αντίθεση με τα πολλαπλασιαζόμενα βασικά κύτταρα της επιδερμίδας (Tumbar et al., 2004). Η φαρμακολογική αναστολή ή η γονιδιακή διαγραφή του NFATc1 αποκάλυψε τον σημαντικό του ρόλο στη ρύθμιση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων του θυλάκου της τρίχας (Horsley et al., 2008).

Η έκφραση του NFATc1 ενεργοποιείται από τη μορφογόνο πρωτεΐνη των οστών (BMP) και δρα καταστέλλοντας τη μεταγραφή του CDK4, ενός βασικού ρυθμιστή του κυτταρικού κύκλου. Όταν τα βλαστοκύτταρα ενεργοποιούνται κατά τη διάρκεια της τριχοφυΐας, η ρύθμιση του NFATc1 μειώνεται, γεγονός που άρει την καταστολή του CDK4 και επιτρέπει την έναρξη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Horsley et al., 2008).

Αρνητικοί ρυθμιστές του mTOR: Fbw7, PTEN, και PML

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι αρνητικοί ρυθμιστές του mTOR, όπως τα Fbw7 (Thompson et al., 2008), PTEN (Zhang et al., 2006; Yilmaz et al., 2006) και PML (Ito et al., 2008), παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων.

Η γονιδιακή διαγραφή αυτών των ρυθμιστών σε ποντίκια οδηγεί σε παρόμοιους φαινοτύπους, οι οποίοι περιλαμβάνουν υπερβολικό πολλαπλασιασμό των βλαστοκυττάρων, επακόλουθη εξάντληση της δεξαμενής τους και ελαττωμένο δυναμικό επαναπληθυσμού.

Εξωτερικοί μηχανισμοί που ρυθμίζουν την αδράνεια των βλαστοκυττάρων

Τα βλαστοκύτταρα βρίσκονται σε ειδικές φωλιές, οι οποίες σχηματίζονται από κύτταρα που δημιουργούν ένα υποστηρικτικό μικροπεριβάλλον. Αυτό το μικροπεριβάλλον ρυθμίζει τόσο την ανάπτυξή τους όσο και τη μοίρα τους (Spradling et al., 2001; Kopp et al., 2005). Η αλληλεπίδραση των βλαστοκυττάρων με τη φωλιά είναι ζωτικής σημασίας για τη μακροπρόθεσμη διατήρηση της αδράνειάς τους.

Tie2/αγγειοποιητίνη-1

Οι οστεοβλάστες που βρίσκονται στον μυελό των οστών δημιουργούν ένα μικροπεριβάλλον που προάγει τη διατήρηση της αδράνειας των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (Walkley et al., 2007).

Οι οστεοβλάστες παράγουν αγγειοποιητίνη-1 (Ang-1), μια πρωτεΐνη που δεσμεύεται στον υποδοχέα κινάσης τυροσίνης Tie2, ο οποίος εκφράζεται ειδικά στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα. Η σηματοδότηση μέσω του μονοπατιού Tie2/Ang-1 ενεργοποιεί τη β1-ιντεγκρίνη και τη N-καντερίνη στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, ενισχύοντας τις αλληλεπιδράσεις τους με την εξωκυτταρική μήτρα και τα κυτταρικά συστατικά του μικροπεριβάλλοντός τους (Arai et al., 2004).

Μελέτες σε γενετικά τροποποιημένα μοντέλα ποντικών δείχνουν ότι οι αλληλεπιδράσεις μέσω του Tie2 συμβάλλουν στη διατήρηση της αδράνειας και στην επιβίωση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, αποτρέποντας την κυτταρική διαίρεση (Puri & Bernstein, 2003).

Στους ανθρώπους, το Ang-1 εκφράζεται σε μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (Sacchetti et al., 2007), γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτά τα κύτταρα μπορεί να λειτουργούν ως υποστηρικτικό μικροπεριβάλλον (ή "φωλιά") για ανθρώπινα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα που βρίσκονται σε αδράνεια.

TGF-β και μορφογενείς πρωτεΐνες των οστών

Ο TGF-β και τα συγγενή του μόρια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων. Ο TGF-β είναι ένας ισχυρός αναστολέας της ανάπτυξης και της αυτοανανέωσης των βλαστοκυττάρων in vitro (Blank et al., 2008) και θεωρείται ο βασικός ρυθμιστής της αδράνειάς τους in vivo.

Η διαταραχή της σηματοδότησης του BMP μέσω γενετικής διαγραφής του *Bmpr1a* στους οστεοβλάστες είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (Zhang et al., 2003). Παρόμοια, η κατάλυση του *Bmpr1a* οδήγησε στην ενεργοποίηση των αδρανών βλαστοκυττάρων του θυλάκου της τρίχας, προκαλώντας τον πολλαπλασιασμό τους (Kobielak et al., 2007).

Επιπλέον, τα αδρανή νευρικά βλαστοκύτταρα που εκφράζουν SOX2+ στην υποκοκκώδη ζώνη εξαντλούνται είτε μετά από γενετική διαγραφή του *Bmpr1a* είτε μετά από έγχυση του ανταγωνιστή του BMP, Noggin (Mira et al., 2010). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η σηματοδότηση του BMP είναι κρίσιμη για τη διατήρηση της αδράνειας σε διάφορους τύπους βλαστοκυττάρων.

Θρομβοποιητίνη

Τα ποντίκια με ανεπάρκεια στον υποδοχέα MPL ή στον συνδέτη του, τη θρομβοποιητίνη (TPO), εμφανίζουν μειωμένο αριθμό αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων στον μυελό των οστών (Kimura et al., 1998).

Τα MPL-θετικά αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, που βρίσκονται σε στενή επαφή με οστεοβλαστικά κύτταρα της ενδοστειακής επιφάνειας, τα οποία παράγουν TPO, παραμένουν σε αδράνεια (Qian et al., 2007; Yoshihara et al., 2007).

Η αναστολή των αλληλεπιδράσεων TPO-MPL μέσω εξουδετερωτικού αντισώματος οδήγησε σε μείωση του αριθμού των αδρανών αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, ενώ η χορήγηση TPO αύξησε την έκφραση του p57Kip2, ενός γονιδίου που εκφράζεται ειδικά σε αδρανοποιημένους πληθυσμούς αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (Qian et al., 2007).

N-καντερίνη και ιντεγκρίνες

Τα μόρια προσκόλλησης N-καντερίνη και β1-ιντεγκρίνη είναι απαραίτητα όχι μόνο για την προσκόλληση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων στη φωλιά τους αλλά και για τη ρύθμιση του κυτταρικού τους κύκλου (Zhang et al., 2003).

Η N-καντερίνη εντοπίζεται στη επιφάνεια μεταξύ των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και των οστεοβλαστικών κυττάρων, υποδεικνύοντας τον ρόλο της στη διατήρηση της αλληλεπίδρασής τους (Zhang et al., 2003).

Η σηματοδότηση Tie2/Ang-1 προάγει την προσκόλληση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, διαδικασία που εξαρτάται από τη β1-ιντεγκρίνη και τη Ν-καντερίνη (Arai et al., 2004). Παράλληλα, η σηματοδότηση MPL/TPO ρυθμίζει θετικά τη β1-ιντεγκρίνη στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, ενισχύοντας τη σταθεροποίησή τους στη φωλιά (Yoshihara et al., 2007).

Συνεπώς, τόσο η β1-ιντεγκρίνη όσο και η Ν-καντερίνη φαίνεται να αποτελούν κρίσιμους στόχους των σηματοδοτικών μονοπατιών Tie2/Ang-1 και MPL/TPO στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα.

Οστεοποντίνη

Η οστεοποντίνη (Orn), η οποία εκφράζεται στους οστεοβλάστες, ρυθμίζει αρνητικά τον αριθμό των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων στον μυελό των οστών (Reinholt et al., 1990).

Ποντίκια με έλλειψη Orn εμφανίζουν αυξημένο αριθμό αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων, γεγονός που υποδηλώνει ότι η Orn αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων in vivo (Stier et al., 2005; Nilsson et al., 2005).

Επιπλέον, τα φυσιολογικά αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα παρουσιάζουν μακροχρόνιο ελάττωμα στην ικανότητα μεταμόσχευσης όταν το μικροπεριβάλλον τους στερείται Orn (Nilsson et al., 2005), γεγονός που υποδηλώνει ότι η οστεοποντίνη επηρεάζει τη διατήρηση και τη λειτουργικότητα των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων στον μυελό των οστών.

Σηματοδότηση Wnt/b-κατενίνης.

Η σηματοδότηση Wnt διαδραματίζει ζωτικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της κίνησης, της πολικότητας και στη διατήρηση των βλαστοκυττάρων (Reya et al., 2001).

Η ενεργοποίηση της β-κατενίνης στον πυρήνα μειώνει την αδράνεια των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και εμποδίζει τη διαφοροποίησή τους (Kirstetter et al., 2006). Αντίθετα, η οστεοβλαστική έκφραση του Dickkopf1 (Dkk1), ενός αναστολέα της Wnt σηματοδότησης, αυξάνει τον ρυθμό κυτταρικού κύκλου των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και μειώνει την αναγεννητική τους ικανότητα (Fleming et al., 2008).

Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η ενεργοποίηση της σηματοδότησης Wnt στο μικροπεριβάλλον του μυελού περιορίζει τον υπερβολικό πολλαπλασιασμό των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων και προάγει την αυτοανανέωσή τους (Fleming et al., 2008).

Επιπλέον, άλλες μελέτες έχουν αναδείξει τον σημαντικό ρόλο της μικροπεριβαλλοντικής β-κατενίνης στη μακροχρόνια διατήρηση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (Nemeth et al., 2009).

Συνολικά, αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η λεπτή ρύθμιση της δραστηριότητας του μονοπατιού Wnt/β-κατενίνης στο μικροπεριβάλλον είναι κρίσιμη για τη διατήρηση της αδράνειας και της λειτουργικότητας των βλαστοκυττάρων.

6.2 Παράγοντες που ρυθμίζουν την αδράνεια σε βλαστοκύτταρα

Δεδομένου ότι τα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα βρίσκονται στη φάση G0 του κυτταρικού κύκλου, η οποία θεωρείται φάση ηρεμίας, είναι αναμενόμενο ότι παράγοντες ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου παίζουν καθοριστικό ρόλο στην έξοδό τους από την αδράνεια και την ενεργοποίησή τους.

Μεταξύ αυτών, οι αναστολείς κινασών εξαρτώμενων από κυκλίνες (CKI) και οι ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες, όπως η πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος (RB), συμβάλλουν στη ρύθμιση της μετάβασης από τη φάση G0 στην ενεργή φάση του κυτταρικού κύκλου (Cheung & Rando, 2013).

Αναστολείς κινάσης που εξαρτώνται από την κυκλίνη (CKI)

Οι αναστολείς κινασών εξαρτώμενων από κυκλίνες (CKI), όπως οι p16, p19, p21, p27 και p57, αποτελούν βασικούς ρυθμιστές της μετάβασης από τη φάση G0 στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου (Lim & Kaldis, 2013).

Σύμφωνα με αυτό, οι CKI εμπλέκονται στη ρύθμιση των πληθυσμών αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων. Η απώλεια της p21 σε αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα σε αδράνεια (qHSCs) και σε νευρικά βλαστοκύτταρα σε αδράνεια (qNSCs) οδηγεί σε πρόωρη εξάντληση αυτών των πληθυσμών, λόγω αυξημένου πολλαπλασιασμού και μειωμένης ικανότητας αυτοανανέωσης (Cheng et al., 2000; Kippin et al., 2000).

Επιπλέον, οι p27 και p57 δρουν συνεργατικά για τη διατήρηση της αδράνειας των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων (Zou et al., 2011).

Ο ρόλος των CKI στη ρύθμιση των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων του εντέρου (qISC) δεν είναι πλήρως κατανοητός. Ωστόσο, μελέτες σε ποντίκια με έλλειψη του Bmi1 έδειξαν ότι αυτά εμφανίζουν εντερική ανεπάρκεια από νεαρή ηλικία (Lopez-Arribillaga et al., 2015). Η απώλεια του Bmi1 οδήγησε σε αυξημένη έκφραση των p16 και p19, προκαλώντας μείωση του πολλαπλασιασμού των ταχέως κυκλοφορούντων βλαστοκυττάρων.

Τέλος, η έκφραση του mTert, ενός γονιδίου που σχετίζεται με την ικανότητα αυτοανανέωσης των βλαστοκυττάρων, μειώθηκε, υποδηλώνοντας ότι η απώλεια του Bmi1 επηρεάζει αρνητικά τη συντήρηση των αδρανοποιημένων εντερικών βλαστοκυττάρων (Montgomery et al., 2011; Lopez-Arribillaga et al., 2015).

Sox9

Ο μεταγραφικός παράγοντας Sox9 έχει αποδειχθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων. Για παράδειγμα, το Sox9 ενσωματώνει μικροπεριβαλλοντικά σήματα μέσω του πυρηνικού υποδοχέα NR2F1, οδηγώντας στην ενεργοποίηση ανασταλτικών σημάτων ανάπτυξης, τα οποία με τη σειρά τους επάγουν την έκφραση των CKIs (όπως p27 και p16) (Sosa et al., 2015).

Στον θύλακα της τρίχας, το Sox9 είναι απαραίτητο για την επιστροφή των βλαστοκυττάρων σε αδράνεια μετά την ενεργοποίησή τους. Η απώλεια του Sox9 διαταράσσει τη διατήρηση των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων, με αποτέλεσμα την ανεπαρκή αναγέννηση των τριχοθυλακίων (Kadaja et al., 2014).

Στο έντερο, το Sox9 συμβάλλει στη διατήρηση του πληθυσμού των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων περιορίζοντας τον πολλαπλασιασμό τους και καταστέλλοντας την απόπτωση που προκαλείται από την ακτινοβολία (Roche et al., 2015).

Επιπλέον, τα εντερικά κύτταρα Sox9-EGFP+ μπορούν να διαχωριστούν σε υποπληθυσμούς ανάλογα με το επίπεδο έκφρασης του GFP. Συγκεκριμένα, τα Sox9^{lo} κύτταρα είναι εμπλουτισμένα σε δείκτες ταχέως ανακυκλούμενων βλαστοκυττάρων του εντέρου ενώ, τα Sox9^{hi} κύτταρα εκφράζουν δείκτες αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων (Formeister et al., 2009; Van Landeghem et al., 2012, 2015).

Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν τον ρυθμιστικό ρόλο του Sox9 στη διατήρηση της αδράνειας και της ισορροπίας των βλαστοκυττάρων σε διάφορους ιστούς.

RB

Η πρωτεΐνη RB, στη μη φωσφορυλιωμένη της μορφή, λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικός παράγοντας αναστέλλοντας την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου (Weinberg, 1995). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι συμμετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων.

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η απώλεια μελών της οικογένειας RB οδηγεί σε αυξημένη ανακύκλωση διαφόρων τύπων αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων, όπως: Αιμοποιητικά (qHSCs), Νευρικά (qNSCs) και Μυϊκά (qMSCs) βλαστοκύτταρα σε αδράνεια (Viatour et al., 2008, Jacques et al., 2010, Hosoyama et al., 2011) καθώς και Εμβρυικά βλαστοκύτταρα (Dannenberg et al., 2000).

Ωστόσο, το κατά πόσο η RB ρυθμίζει και τα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα του εντέρου παραμένει προς διερεύνηση.

PTEN

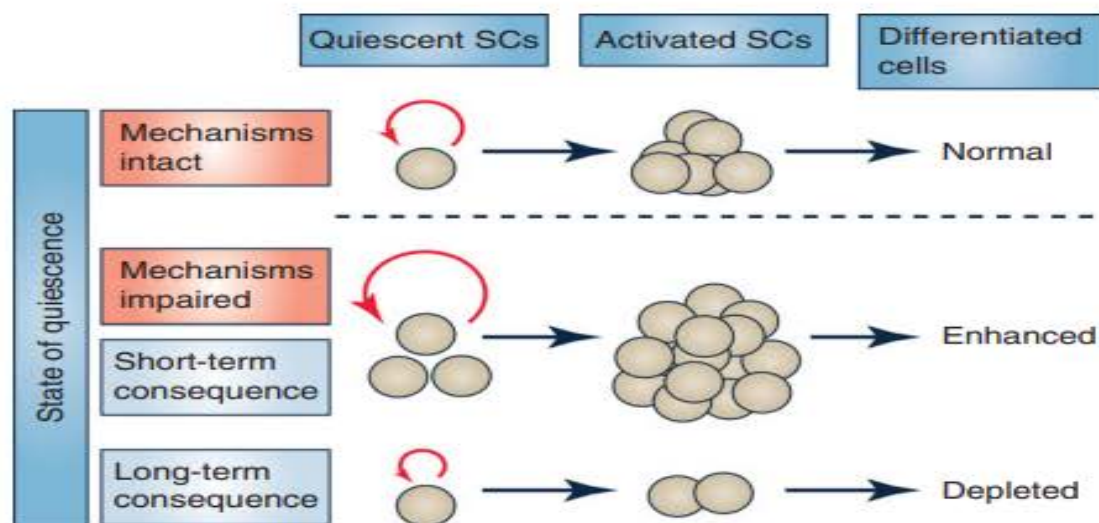
Το PTEN (ομόλογο της φωσφατάσης και της τενσίνης) είναι ένα σημαντικό ογκοκατασταλτικό γονίδιο που διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση πολλών κυτταρικών διεργασιών, όπως ο ενεργειακός μεταβολισμός, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η επιβίωση (Song et al., 2012).

Το PTEN έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλει στη διατήρηση των βλαστοκυττάρων σε αδράνεια, καθώς η έλλειψή του οδηγεί σε ενεργοποίηση του κυτταρικού κύκλου και, τελικά, σε πρόωρη εξάντληση των βλαστοκυττάρων (Di Cristofano & Pandolfi, 2000; Shen et al., 2007; Song et al., 2012; Yilmaz et al., 2006).

Στο έντερο, το PTEN και η ανενεργή ισομορφή του (pPTEN) εκφράζονται στα κύτταρα της κρύπτης καθώς και στα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα που εκφράζουν mTert (He et al., 2004; Montgomery et al., 2011).

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι το στρες της νηστείας οδηγεί σε παροδική φωσφορυλίωση του PTEN στα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα του εντέρου, γεγονός που τα καθιστά λειτουργικά προετοιμασμένα να συμβάλλουν στην εντερική αναγέννηση.

Επιπλέον, το PTEN είναι απαραίτητο για τη διατήρηση των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων του εντέρου, καθώς η έλλειψή του μειώνει τη δυνατότητα αναγέννησης του εντερικού επιθηλίου μετά από ακτινοβολία (Richmond et al., 2015).



Εικόνα 19. Η διατήρηση της αδράνειας (quiescence) στα βλαστικά κύτταρα εξασφαλίζει φυσιολογική λειτουργία, ενώ η διαταραχή της οδηγεί σε βραχυπρόθεσμη υπερδραστηριότητα και μακροπρόθεσμη εξάντληση του κυτταρικού πληθυσμού. (Richmond et al., 2016).

6.2.1 Ρύθμιση της Αδράνειας και Αντίσταση στο Στρες στα Βλαστοκύτταρα

Οι παράγοντες που προστατεύουν από βλάβες στο DNA παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας των βλαστοκυττάρων. Αν και η p53 είναι κυρίως γνωστή για την παρακολούθηση του κυτταρικού στρες και τη διαχείριση των βλαβών του DNA (Meek, 2009), πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι συμμετέχει και στη ρύθμιση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων.

Η απουσία της p53 ενεργοποιεί την είσοδο των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων στον κυτταρικό κύκλο, με αποτέλεσμα τη μείωση του πληθυσμού των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων (Liu et al., 2009). Στο έντερο, η απώλεια της p53 σε ταχέως ανανεώσιμα κύτταρα επιταχύνει τον ρυθμό κυτταρικής διαίρεσης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η p53 ρυθμίζει την αναπαραγωγή αυτού του πληθυσμού βλαστοκυττάρων (Pruitt et al., 2010). Ωστόσο, δεν είναι ακόμη σαφές αν η p53 είναι

απαραίτητη και για τη διατήρηση των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων του εντέρου.

6.2.2 Αντίσταση στο Στρες και Ρύθμιση των ROS

Οι ενεργές μορφές οξυγόνου (ROS), που παράγονται στα μιτοχόνδρια, είναι τοξικά παραπροϊόντα της κυτταρικής αναπνοής και έχουν συνδεθεί με τη ρύθμιση της κυτταρικής σηματοδότησης (Reczek & Chandel, 2015).

Στα αδρανοποιημένα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, υψηλά επίπεδα ROS ενεργοποιούν την πρωτεϊνική κινάση p38 MAPK–p16, προκαλώντας δυσλειτουργία στην αυτοανάνεωση, επιτάχυνση της κυτταρικής γήρανσης και πρόωρη εξάντληση του πληθυσμού των βλαστοκυττάρων (Ito et al., 2006; Goodell et al., 2015).

Δεδομένου ότι τα ενδοκυτταρικά επίπεδα ROS εξαρτώνται από τον αριθμό και τη δραστηριότητα των μιτοχονδρίων (Inoue et al., 2010; Simsek et al., 2010), μηχανισμοί που περιορίζουν τη μιτοχονδριακή δραστηριότητα συμβάλλουν στη διατήρηση χαμηλών επιπέδων ROS. Αυτή η στρατηγική φαίνεται να χρησιμοποιείται από αδρανοποιημένα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, προκειμένου να προστατευθούν από το οξειδωτικό στρες (Jang & Sharkis, 2007).

Επιπλέον, τα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα βασίζονται σε εξειδικευμένους μηχανισμούς επιβίωσης και απόκρισης στο στρες, προκειμένου να αντιμετωπίσουν περιβαλλοντικές πιέσεις, όπως η συσσώρευση ROS. Σημαντικοί ρυθμιστικοί παράγοντες αυτής της διαδικασίας είναι οι FoxO, HIF1α και LKB1, οι οποίοι διαδραματίζουν ρόλο στη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης και της αδράνειας των βλαστοκυττάρων (Rando, 2006).

Μέλη της οικογένειας FoxO

Η οικογένεια των παραγόντων μεταγραφής FoxO ("forkhead box O") λειτουργεί καθοδικά της σηματοδοτικής οδού PI3K→AKT και παίζει κρίσιμο ρόλο στην προστασία των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων από περιβαλλοντικούς και μεταβολικούς στρεσογόνους παράγοντες (Li & Bhatia, 2011).

Αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα σε αδράνεια, που παρουσιάζουν ταυτόχρονη έλλειψη τριών παραγόντων FoxO (FoxO1, FoxO3 και FoxO4), εμφανίζουν σημαντικά αυξημένα επίπεδα ROS. Η αύξηση αυτή συσχετίζεται με ενισχυμένο κυτταρικό κύκλο

και αυξημένη απόπτωση, οδηγώντας σε μειωμένη ικανότητα αυτοανανέωσης (Tothova et al., 2007).

Επιπλέον, τόσο τα αδρανοποιημένα νευρικά βλαστοκύτταρα όσο και τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα με έλλειψη FoxO3 παρουσιάζουν δυσλειτουργία στην αυτοανανέωση και διαταραχές στη διατήρηση της αδράνειάς τους (Renault et al., 2009; Gopinath et al., 2014).

Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν τον ρυθμιστικό ρόλο της οικογένειας FoxO στη σταθερότητα και τη λειτουργικότητα των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων.

HIF1α

Ο μεταγραφικός παράγοντας HIF1α εκφράζεται ως απόκριση σε υποξικές συνθήκες, ενεργοποιώντας την έκφραση διαφόρων παραγόντων επιβίωσης.

Στα αδρανοποιημένα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, τα οποία φυσιολογικά βρίσκονται σε ένα σχετικά υποξικό μικροπεριβάλλον (Simsek et al., 2010), το HIF1α είναι απαραίτητο για τη διατήρηση της αδράνειάς τους. Αυτό έχει επιβεβαιωθεί μέσα από λειτουργικές μελέτες που ανέδειξαν τον ρυθμιστικό του ρόλο στη σταθερότητα αυτών των κυττάρων (Takubo et al., 2010).

Ωστόσο, ο ρόλος του HIF1α στη ρύθμιση των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων του εντέρου παραμένει υπό διερεύνηση.

Ηπατική κινάση B1

Η ηπατική κινάση B1 (LKB1) είναι ένας βασικός ρυθμιστής των σηματοδοτικών μονοπατιών AMPK, mTORC1 και FoxO, τα οποία εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού μεταβολισμού, την απόκριση στα θρεπτικά συστατικά, καθώς και τον έλεγχο της κυτταρικής ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού σε συνθήκες στρες, όπως η υποξία (Blagih et al., 2012).

Η έλλειψη LKB1 στα αδρανοποιημένα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα οδηγεί σε μειωμένη αδράνεια, με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των προγονικών κυττάρων και την πρόωρη εξάντληση του πληθυσμού των βλαστοκυττάρων (Gan et al., 2010; Gurumurthy et al., 2010; Nakada et al., 2010).

Ο ρόλος του LKB1 στο εντερικό επιθήλιο παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς μεταλλάξεις σε αυτό το γονίδιο σχετίζονται με το σύνδρομο Peutz-Jeghers

(PJS), μια κληρονομική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη εντερικών αμαρτωμάτων (Hemminki et al., 1997).

Ωστόσο, η υπό όρους διαγραφή του LKB1 στο εντερικό επιθήλιο δεν φαίνεται να επηρεάζει τη λειτουργία των εντερικών βλαστοκυττάρων (Shorning et al., 2009). Αντίθετα, η διαγραφή του LKB1 στο μεσεγχύμα οδηγεί στον σχηματισμό εντερικών πολυπόδων, παρόμοιων με εκείνους που παρατηρούνται στο PJS, γεγονός που υποδηλώνει ότι η επαγωγή των εντερικών αμαρτωμάτων μπορεί να έχει μη επιθηλιακή προέλευση (Katajisto et al., 2008).

Αυτοφαγία

Η αυτοφαγία είναι μια λυσοσωμική διαδικασία αποικοδόμησης, μέσω της οποίας οι ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες και τα οργανίδια διασπώνται και ανακυκλώνονται επιλεκτικά για να παραχθεί ενέργεια, να προστατευθεί το κύτταρο από στρες που σχετίζεται με τα θρεπτικά συστατικά και να διατηρηθεί ο κυτταρικός ποιοτικός έλεγχος (Mizushima & Komatsu, 2011; Singh & Cuervo, 2011).

Έχει προταθεί ότι η αυτοφαγία αποτελεί έναν κρίσιμο μηχανισμό μέσω του οποίου τα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα απομακρύνουν τις κατεστραμμένες πρωτεΐνες και διατηρούν την αδράνειά τους (Guan et al., 2013).

Επιπλέον, θεωρείται ότι συμβάλλει στην ενεργειακή υποστήριξη των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων, τα οποία διαθέτουν περιορισμένο αριθμό μιτοχονδρίων και παρουσιάζουν χαμηλό μεταβολισμό (Folmes et al., 2012). Μέσω της αυτοφαγίας, αυτά τα κύτταρα εξασφαλίζουν την απαραίτητη ενέργεια για την είσοδο στον κυτταρικό κύκλο και την ενεργοποίησή τους (Tang & Rando, 2014).

Στους σκελετικούς μυς, η αναστολή της αυτοφαγίας προκαλεί καθυστέρηση στην ενεργοποίηση των αδρανοποιημένων μυϊκών βλαστοκυττάρων. Ωστόσο, η λειτουργία τους μπορεί να αποκατασταθεί με τη χορήγηση συγκεκριμένων αμινοξέων, υποδεικνύοντας ότι η αδράνεια των βλαστοκυττάρων ρυθμίζεται από ενεργειακούς περιορισμούς (Tang & Rando, 2014).

Αναπτυξιακά μονοπάτια σηματοδότησης.

Η σηματοδότηση Notch διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης των ιστών και έχει συσχετιστεί με τη ρύθμιση των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων.

Στα αδρανοποιημένα μυϊκά βλαστοκύτταρα, η διαταραχή της σηματοδότησης Notch οδηγεί σε ενεργοποίηση του κυτταρικού κύκλου και πρόωρη εξάντληση του πληθυσμού τους (Bjornson et al., 2012; Mourikis et al., 2012). Παρόμοια, η σηματοδότηση Notch φαίνεται να διαδραματίζει ρυθμιστικό ρόλο στη διατήρηση των αδρανοποιημένων νευρικών βλαστοκυττάρων (Chapouton et al., 2010).

Αντίθετα, στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, η σηματοδότηση Notch δεν φαίνεται να επηρεάζει τη διατήρηση της αδράνειάς τους (Maillard et al., 2008), υποδηλώνοντας ότι διαφορετικοί πληθυσμοί αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων χρησιμοποιούν διαφορετικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς.

Στο έντερο, η σηματοδότηση Notch ρυθμίζει τη διατήρηση των εντερικών κυττάρων (VanDussen et al., 2012; Noah & Shroyer, 2013; Tsai et al., 2014). Ωστόσο, ο ρόλος της στη ρύθμιση των αδρανοποιημένων εντερικών βλαστοκυττάρων παραμένει άγνωστος.

Μετα-μεταγραφική τροποποίηση.

Τα microRNA (miRNAs), μια κατηγορία μη κωδικοποιητικών ρυθμιστικών RNA, παίζουν κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων, αναστέλλοντας την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται είτε με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό είτε με τη διαφοροποίηση.

Στους μύς, τα miR-489 και miR-31 συμβάλλουν στη διατήρηση της αδράνειας των μυϊκών βλαστοκυττάρων στοχεύοντας τα DEK και Myf5, αντίστοιχα (Cheung et al., 2012; Crist et al., 2012). Επιπλέον, η απώλεια του ενζύμου Dicer, το οποίο είναι απαραίτητο για την επεξεργασία των miRNA, προάγει την ενεργοποίηση των αδρανοποιημένων μυϊκών βλαστοκυττάρων (Cheung et al., 2012).

Παράλληλα, τα miR-126 και miR-205 ρυθμίζουν την αδράνεια των αιμοποιητικών και δερματικών βλαστοκυττάρων μέσω της αναστολής της οδού PI3K→AKT, η οποία σχετίζεται με την κυτταρική ενεργοποίηση (Lechman et al., 2012; Wang et al., 2013).

Συνολικά, αυτά τα δεδομένα υπογραμμίζουν τον καθοριστικό ρόλο των miRNA στη διατήρηση διακριτών πληθυσμών αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων, αναδεικνύοντας τη σημασία τους στη ρυθμιστική ισορροπία μεταξύ αδράνειας και ενεργοποίησης.

Δεδομένα από το φυτικό βασίλειο.

Παρόλο που τα φυτά αποτελούν ένα θεμελιωδώς διαφορετικό βιολογικό σύστημα, μπορούν να παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με τους μηχανισμούς που ρυθμίζουν την αδράνεια των βλαστοκυττάρων.

Στο κορυφαίο μερίστωμα της ρίζας, εντοπίζονται αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα, τα οποία, όπως και τα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα των θηλαστικών, χαρακτηρίζονται από βραδεία ανανέωση, αντοχή στο στρες, προστασία από βλάβες του DNA και μακροβιότητα (Drisch & Stahl, 2015). Αυτά τα κύτταρα λειτουργούν ως δεξαμενή για τα γύρω, ταχέως ανανεούμενα βλαστοκύτταρα, τα οποία έχουν μικρότερη διάρκεια ζωής.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η αδράνειά τους διατηρείται μέσω μηχανισμών παρόμοιων με εκείνους που παρατηρούνται στα βλαστοκύτταρα των θηλαστικών. Σε αυτούς περιλαμβάνονται τα microRNAs (όπως το miRNA165a), οι κινητοί μεταγραφικοί παράγοντες, οι οποίοι μπορούν να μετακινούνται μεταξύ των κυττάρων καθώς και οι τοπικές διαβαθμίσεις φυτοορμονών, όπως η αυξίνη και το αιθυλένιο (Drisch & Stahl, 2015).

Αυτές οι παρατηρήσεις αναδεικνύουν τη διατήρηση κοινών μηχανισμών στη ρύθμιση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων σε διαφορετικά βιολογικά συστήματα, υπογραμμίζοντας την καθολική σημασία αυτής της διαδικασίας.

7 Μελλοντικά βήματα

Τα τελευταία χρόνια, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στη μετάφραση της έρευνας των ανθρώπινων βλαστοκυττάρων σε κλινικές εφαρμογές. Μία από τις πρώτες προσπάθειες ήταν η χρήση προδρόμων ολιγοδενδροκυττάρων, που προέρχονται από ανθρώπινα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα, για τη θεραπεία τραυματισμών του νωτιαίου μυελού, με στόχο την επαναμυελίνωση των απογυμνωμένων αξόνων στο σημείο του τραυματισμού.

Αυτή η κλινική δοκιμή, η οποία χρηματοδοτήθηκε από την εταιρεία Geron, αποτέλεσε ορόσημο στην εφαρμογή εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων στην ιατρική, ενώ ανέδειξε τις προκλήσεις που σχετίζονται με την υπέρβαση ρυθμιστικών εμποδίων για αυτές τις καινοτόμες θεραπείες. Παρότι η συγκεκριμένη δοκιμή εγκαταλείφθηκε για οικονομικούς και στρατηγικούς λόγους, η έλλειψη σοβαρών παρενεργειών στους τέσσερις ασθενείς που υποβλήθηκαν στη θεραπεία παρείχε πολύτιμα δεδομένα ασφάλειας για αυτή την προσέγγιση (Schwartz et al., 2012).

Μια δεύτερη εφαρμογή των εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων αφορά τη χρήση επιθηλιακών κυττάρων του αμφιβληστροειδούς (RPE) για τη θεραπεία οφθαλμικών παθήσεων, όπως η νόσος Stargardt (μια νεανική μορφή εκφύλισης της ωχράς κηλίδας) και η ηλικιακή εκφύλιση της ωχράς κηλίδας. Σε αυτές τις συνεχιζόμενες κλινικές μελέτες, τα εμφυτευμένα RPE κύτταρα επέδειξαν μακροχρόνια επιβίωση σε τουλάχιστον έναν από τους ασθενείς, ενώ παρατηρήθηκε και βελτίωση της οπτικής λειτουργίας.

7.1.1 Προκλήσεις και μελλοντικές προοπτικές

Παρά τις πρωτοπόρες αυτές εφαρμογές, η κλινική αξιοποίηση των βλαστοκυττάρων παραμένει ένας βασικός στόχος τόσο για την επιστημονική κοινότητα όσο και για το ευρύ κοινό. Η επιτυχία τέτοιων θεραπειών εξαρτάται από δύο βασικούς παράγοντες:

1. Την παραγωγή παραγώγων βλαστοκυττάρων με τρόπο που να είναι επεκτάσιμος και συμβατός με τις ιατρικές προδιαγραφές.
2. Την επιλογή των κατάλληλων ασθενών και των κατάλληλων παθήσεων για τη χορήγηση των κυτταρικών θεραπειών.

Σημαντική πρόοδος έχει επιτευχθεί στη μαζική παραγωγή βλαστοκυττάρων μέσω ξενο-ελεύθερων καλλιεργητικών μέσων, ισχυρών τεχνικών κρυοσυντήρησης και καλών πρακτικών παραγωγής (Ausubel et al., 2011).

Οι παθήσεις που σχετίζονται με την επιλεκτική απώλεια κυτταρικών πληθυσμών βρίσκονται στο επίκεντρο της κλινικής έρευνας. Ωστόσο, η επιλογή των κατάλληλων ασθενών παραμένει σημαντική πρόκληση. Για παράδειγμα, στη νόσο του Πάρκινσον (Darabi et al., 2012), η ελλιπής κατανόηση της παθοφυσιολογίας της νόσου, σε συνδυασμό με την ανακρίβεια των ζωικών μοντέλων, καθιστά δύσκολη τη βελτιστοποίηση των κυτταρικών θεραπειών.

Επιπλέον, οποιαδήποτε κυτταρική θεραπεία πρέπει να είναι ανταγωνιστική ως προς τις υπάρχουσες θεραπείες, όπως οι φαρμακολογικοί παράγοντες και οι εναλλακτικές χειρουργικές παρεμβάσεις, όπως η βαθιά διέγερση του εγκεφάλου (Okun, 2012).

7.1.2 Αδράνεια των βλαστοκυττάρων και θεραπευτικές προοπτικές

Η κατανόηση των μηχανισμών που ρυθμίζουν την αδράνεια των βλαστοκυττάρων ανοίγει τον δρόμο για καινοτόμες θεραπευτικές προσεγγίσεις, οι οποίες μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο κύριες στρατηγικές:

- Στρατηγικές "lock-out": Επιδιώκουν να ενεργοποιήσουν τα αδρανοποιημένα βλαστοκύτταρα, ώστε να προάγουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή τους.
- Στρατηγικές "lock-in": Επικεντρώνονται στη διατήρηση της αδράνειας για την πρόληψη της πρόωρης γήρανσης ή του ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης.

Μια σημαντική εφαρμογή αυτών των στρατηγικών αφορά τον καρκίνο, καθώς αδρανοποιημένα καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSCs) ενδέχεται να παίζουν ρόλο στη συντήρηση των όγκων. Συνεπώς, η στόχευση των CSCs σε αδράνεια μπορεί να αποτελέσει καινοτόμο προσέγγιση για τη θεραπεία του καρκίνου (Chen et al., 2016).

Στρατηγικές 'Lock-Out'

Τα τελευταία χρόνια, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στη στόχευση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων μέσω στρατηγικών «lock-out», οι οποίες στοχεύουν

στην ενεργοποίηση αδρανοποιημένων κυττάρων προκειμένου να προάγουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή τους. Μια από τις πιο χαρακτηριστικές εφαρμογές αυτής της προσέγγισης αφορά τα νευρικά βλαστοκύτταρα. Έρευνες έχουν δείξει ότι η εξάντληση των νευροβλαστών και των μεταβατικών αμφιβλαστικών προγονικών κυττάρων (TAPs) μέσω της χορήγησης του χημειοθεραπευτικού παράγοντα cytarabine μπορεί να προκαλέσει ταχεία αναγέννηση του δικτύου του υποκοιλιακού χώρου (SVZ). Αυτή η αναγέννηση αποδίδεται στην ενεργοποίηση της δεξαμενής των αδρανοποιημένων νευρικών βλαστοκυττάρων (Doetsch et al., 1999; Wang et al., 2011). Επιπλέον, η σηματοδοτική οδός Sonic Hedgehog (Shh) διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη μετάβαση από την αδρανή στην ενεργή κατάσταση των νευρικών βλαστοκυττάρων στο SVZ. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού Shh αυξάνει τόσο τον αριθμό των αδρανών όσο και των ενεργών νευρικών βλαστοκυττάρων, ωστόσο η παρατεταμένη ενεργοποίησή του οδηγεί σε εξάντληση του ενεργού πληθυσμού. Αυτά τα ευρήματα αναδεικνύουν τη σημασία της σηματοδότησης Shh στη ρύθμιση της αδράνειας των νευρικών βλαστοκυττάρων και υποδηλώνουν ότι η στοχευμένη ενεργοποίησή της θα μπορούσε να αξιοποιηθεί για τη βραχυπρόθεσμη προαγωγή της νευρογένεσης σε περιπτώσεις αποκατάστασης ιστικών βλαβών.

Παρόμοιες στρατηγικές έχουν εφαρμοστεί και σε άλλους ιστούς, όπως ο σκελετικός μυς, όπου η αναγεννητική ικανότητα εξαρτάται από τη δραστηριότητα των μυϊκών βλαστοκυττάρων. Η σηματοδοτική οδός MAPK/p38 παίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση της αδράνειας των μυϊκών βλαστοκυττάρων, με αυξημένη δραστηριότητα σε ηλικιωμένα κύτταρα. Έχει διαπιστωθεί ότι η αναστολή αυτής της οδού μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του αριθμού των αδρανοποιημένων μυϊκών βλαστοκυττάρων, βελτίωση της ικανότητας αυτοανανέωσης και ενίσχυση της ικανότητας μεταμόσχευσης γηρασμένων κυττάρων (Brack & Rando, 2012; Dumont et al., 2015; Bernet et al., 2014).

Επιπλέον, οι στρατηγικές «lock-out» έχουν αξιοποιηθεί στις σύγχρονες θεραπείες κατά του καρκίνου, δεδομένου ότι τα καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSCs) συχνά διατηρούνται σε αδρανή κατάσταση, γεγονός που τα καθιστά ανθεκτικά στις χημειοθεραπείες. Στη χρόνια μυελογενή λευχαιμία (CML), έχει βρεθεί ότι τα ανθεκτικά στο imatinib καρκινικά βλαστοκύτταρα εκφράζουν υψηλά επίπεδα της πρωτεΐνης FBXW7, η οποία προάγει την αποικοδόμηση των c-Myc και Notch (Welcker & Clurman, 2008). Η αναστολή της FBXW7 αυξάνει δραματικά την αποτελεσματικότητα του imatinib, προκαλώντας έξοδο των καρκινικών βλαστοκυττάρων από την αδράνεια

και επιταχύνοντας τον κυτταρικό τους πολλαπλασιασμό, καθιστώντας τα πιο ευάλωτα στη θεραπεία (Takeishi et al., 2013). Αντίστοιχα, η χορήγηση του παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων (G-CSF) έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί την έξοδο των βλαστοκυττάρων της ανθρώπινης οξείας μυελογενούς λευχαιμίας (AML) από την αδρανή κατάσταση, αυξάνοντας έτσι την ευαισθησία τους στη χημειοθεραπεία (Saito et al., 2010).

Μια άλλη στρατηγική που στοχεύει στην αδράνεια των καρκινικών βλαστοκυττάρων αφορά την αναστολή της αυτοφαγίας. Σε πρόσφατες μελέτες, η αναστολή της μακροαυτοφαγίας μέσω της καταστροφής της πρωτεΐνης Atg5 έχει αποδειχθεί ότι όχι μόνο μειώνει την ικανότητα αυτοανανέωσης των καρκινικών βλαστοκυττάρων των ωοθηκών, αλλά επίσης εμποδίζει την είσοδό τους σε αδρανή κατάσταση και τα αναγκάζει να εξέλθουν από τη φάση G0 του κυτταρικού κύκλου, καθιστώντας τα πιο επιρρεπή στις θεραπείες (Wang et al., 2018).

Συνολικά, οι στρατηγικές «lock-out» προσφέρουν σημαντικές θεραπευτικές δυνατότητες τόσο στην επιτάχυνση της ιστικής αναγέννησης όσο και στην ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των αντικαρκινικών θεραπειών. Η στοχευμένη ενεργοποίηση αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε νέες θεραπείες για τη νευρογένεση, την αναγέννηση του μυϊκού ιστού και τη θεραπεία του καρκίνου, παρέχοντας νέες προοπτικές για τη βιοϊατρική έρευνα και την κλινική εφαρμογή.

Στρατηγικές ‘Lock-In’

Οι στρατηγικές "lock-out", που επιδιώκουν την ενεργοποίηση των αδρανοποιημένων βλαστοκυττάρων, ενέχουν τον κίνδυνο να μην εξαλείψουν πλήρως όλα τα καρκινικά βλαστοκύτταρα, οδηγώντας έτσι σε υποτροπή της νόσου. Για να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα, έχουν αναπτυχθεί εναλλακτικές στρατηγικές "lock-in", οι οποίες στοχεύουν στη διατήρηση των καρκινικών βλαστοκυττάρων στη φάση G0, αποτρέποντας την ανάπτυξη και τη μετάσταση του όγκου. Για παράδειγμα, η φαρμακολογική αναστολή της σηματοδότησης της κινάσης Src σε συνδυασμό με έναν αναστολέα MEK1/2 εμποδίζει την ενεργοποίηση μεταστατικών αδρανών καρκινικών βλαστοκυττάρων του μαστού, αποτρέποντας τη μετάβαση στη φάση G1 και προάγοντας την απόπτωση (Mackay et al., 2012). Επιπλέον, η πρωτεΐνη BMP7, η οποία εκκρίνεται από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών, προκαλεί διακοπή του

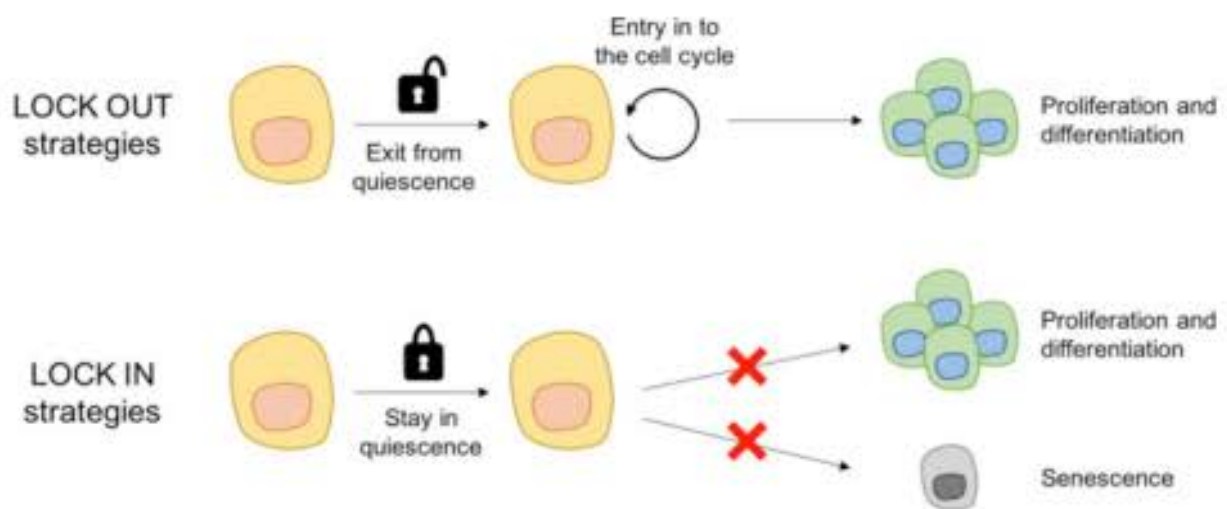
κυτταρικού κύκλου στα καρκινικά βλαστοκύτταρα του προστάτη, οδηγώντας τα σε αναστρέψιμη κατάσταση αδράνειας και περιορίζοντας έτσι την ανάπτυξη του όγκου (Kobayashi et al., 2011).

Παράλληλα, οι στρατηγικές "lock-in" έχουν χρησιμοποιηθεί και στην αναγεννητική ιατρική για τη διατήρηση της αδράνειας των μυϊκών βλαστοκυττάρων. Με την ηλικία, τα μυϊκά βλαστοκύτταρα υφίστανται μετατροπή από αδρανή σε γηρασμένα κύτταρα, γεγονός που οδηγεί σε σαρκοπενία (Garcia-Prat et al., 2016). Η αδράνεια των μυϊκών βλαστοκυττάρων διατηρείται μέσω της βασικής μακροαντοφαγίας, ωστόσο αυτή η διαδικασία επιδεινώνεται με την ηλικία. Η φαρμακολογική παρέμβαση μέσω της ραπαμυκίνης ή του Trolax, καθώς και η υπερέκφραση του Atg7, μπορούν να αποκαταστήσουν την αδράνεια, μειώνοντας τη γήρανση των κυττάρων και διατηρώντας το αναγεννητικό δυναμικό τους (Garcia-Prat et al., 2016). Παράλληλα, η αύξηση της σηματοδότησης FGF2 στους σκελετικούς μυς των ηλικιωμένων ατόμων οδηγεί σε διαφυγή από την αδράνεια και εξάντληση της δεξαμενής των μυϊκών βλαστοκυττάρων (Chakkalakal et al., 2012). Η ενίσχυση της δραστηριότητας της β1-ιντεγκρίνης μέσω μονοκλωνικών αντισωμάτων αποκαθιστά την ευαισθησία των γηρασμένων μυϊκών βλαστοκυττάρων στο FGF2, βελτιώνοντας την αναγέννησή τους μετά από τραυματισμό και ενισχύοντας τη θεραπεία νευρομυϊκών παθήσεων, όπως η μυϊκή δυστροφία Duchenne (Rozo et al., 2016).

Η διατήρηση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων μπορεί επίσης να συμβάλει στη βελτίωση των αυτόλογων μεταμοσχεύσεων βλαστοκυττάρων, καθώς η ικανότητα των μυϊκών βλαστοκυττάρων να παραμένουν σε αδρανή κατάσταση σχετίζεται άμεσα με τη βιολογική τους ισχύ. Η ταχεία απώλεια της αδράνειας μετά την απομόνωσή τους περιορίζει την αποτελεσματικότητά τους στη μεταμόσχευση (Quarta et al., 2016). Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος, οι Quarta et al. (2016) ανέπτυξαν ένα ειδικό καλλιεργητικό περιβάλλον που μιμείται τη φυσική φωλιά των μυϊκών βλαστοκυττάρων, χρησιμοποιώντας ένα αδρανές μόριο που τους επέτρεψε να διατηρήσουν την αδράνειά τους *in vitro*. Επιπλέον, ανέπτυξαν τεχνητές μυϊκές ίνες με βέλτιστα μηχανικά χαρακτηριστικά, τα οποία προσομοιάζουν τις φυσικές μυϊκές ίνες. Αυτές οι συνδυασμένες στρατηγικές "lock-in" βελτίωσαν την ικανότητα των μυϊκών βλαστοκυττάρων να ενσωματωθούν, να πολλαπλασιαστούν, να αυτοανανέωθούν και να επιδιορθώσουν τον ιστό μετά από μεταμόσχευση.

Συνολικά, οι στρατηγικές "lock-in" παρέχουν νέες δυνατότητες τόσο για την αναγεννητική ιατρική όσο και για τις αντικαρκινικές θεραπείες. Η στόχευση της

αδράνειας μπορεί να λειτουργήσει ως μέσο αναστολής της εξέλιξης του καρκίνου, αποτρέποντας τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των καρκινικών βλαστοκυττάρων, ενώ ταυτόχρονα, στις αναγεννητικές θεραπείες, η διατήρηση της αδράνειας μπορεί να συμβάλει στη βελτίωση της λειτουργικότητας των βλαστοκυττάρων και στην ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των μεταμοσχεύσεων. Μελλοντικές έρευνες σε αυτόν τον τομέα αναμένεται να προσφέρουν καινοτόμες προσεγγίσεις για την καλύτερη αξιοποίηση των βλαστοκυττάρων σε κλινικές εφαρμογές, ανοίγοντας νέους δρόμους στη βιοϊατρική έρευνα.



Εικόνα 20 Τροποποίηση της αδράνειας των βλαστοκυττάρων για θεραπευτικό σκοπό (Τροποποίηση από Cho et al., 2019).

8 Συμπεράσματα

Η έρευνα για τα βλαστοκύτταρα έχει εξελιχθεί από τη βελτιστοποίηση της απομόνωσής τους σε συνεχείς ή επικείμενες κλινικές δοκιμές πρώιμου σταδίου. Παρόλο που έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος, εξακολουθούν να υπάρχουν προκλήσεις που πρέπει να ξεπεραστούν, όπως η αναγνώριση των ανθρώπινων παθήσεων που μπορούν να ωφεληθούν από θεραπείες που βασίζονται στα βλαστοκύτταρα, η βελτίωση της κατευθυνόμενης διαφοροποίησης και η ανάπτυξη μεθόδων ασφαλούς κλινικής εφαρμογής. Ένα από τα σημαντικότερα ζητήματα είναι η ρύθμιση της κυτταρικής ωρίμανσης, ώστε να εξασφαλιστεί η παραγωγή λειτουργικών και σταθερών κυτταρικών τύπων για χρήση στην αναγεννητική ιατρική. Παράλληλα, η ασφάλεια αυτών των θεραπειών παραμένει κρίσιμο ζήτημα που απαιτεί μακροχρόνιες μελέτες και ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές.

Η δυναμική του κυτταρικού κύκλου στα βλαστοκύτταρα ποικίλλει σημαντικά μεταξύ εμβρυϊκών και ενηλίκων βλαστοκυττάρων. Τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα χαρακτηρίζονται από ταχείς κυτταρικούς κύκλους, με σύντομη ή ανύπαρκτη πρώιμη G1 φάση, γεγονός που επιτρέπει τη γρήγορη ανανέωση και διατήρηση της πολυδυναμίας τους. Αντίθετα, τα ενήλικα βλαστοκύτταρα είναι αδρανή και παραμένουν στη φάση G0, προστατεύοντας έτσι τη μακροχρόνια λειτουργία τους και διατηρώντας τη δεξαμενή τους. Το μικροπεριβάλλον των ενηλίκων βλαστοκυττάρων παρέχει κρίσιμα ρυθμιστικά σήματα που διευκολύνουν τη μετάβασή τους από την αδράνεια στην πρώιμη G1, χωρίς να προκαλούν άμεση διαφοροποίηση.

Τα τελευταία χρόνια, η αδράνεια των βλαστοκυττάρων έχει αναδειχθεί ως σημαντικός ρυθμιστικός μηχανισμός τόσο για τη διατήρηση των φυσιολογικών βλαστοκυττάρων όσο και για την επιβίωση των καρκινικών βλαστοκυττάρων. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η αδράνεια προστατεύει τα ενήλικα βλαστοκύτταρα από τη γήρανση και την εξάντληση, διατηρώντας τη δυνατότητά τους για αυτοανανέωση, το αναγεννητικό δυναμικό και τη συμβολή τους στην ομοιόσταση των ιστών. Η αναγνώριση των μοριακών και μικροπεριβαλλοντικών μηχανισμών που ρυθμίζουν την αδράνεια μπορεί να προσφέρει σημαντικά στοιχεία για τη μελέτη των καρκινικών βλαστοκυττάρων, τα οποία εκμεταλλεύονται αυτή την κατάσταση για να διαφύγουν την επίδραση των αντικαρκινικών θεραπειών.

Τα καρκινικά βλαστοκύτταρα χρησιμοποιούν την αδρανή κατάσταση ως στρατηγική επιβίωσης κάτω από αντίξοες συνθήκες, όπως η χημειοθεραπεία, παραμένοντας σε G0 φάση και αποφεύγοντας την καταστροφή. Αυτό τα καθιστά ανθεκτικά στις θεραπείες, καθώς επανενεργοποιούνται αργότερα, οδηγώντας σε υποτροπή της νόσου και μεταστάσεις. Μια προτεινόμενη στρατηγική για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος είναι η διακοπή της αδράνειας, με σκοπό την είσοδο των κυττάρων στον κυτταρικό κύκλο, καθιστώντας τα πιο ευάλωτα στις θεραπείες.

Η μελέτη των βλαστοκυττάρων συνδέεται άμεσα με τις προοπτικές ανάπτυξης νέων θεραπευτικών στρατηγικών τόσο για την αναγεννητική ιατρική όσο και για τη θεραπεία του καρκίνου. Τα βλαστοκύτταρα ή τα παράγωγά τους μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αναγεννητικές κυτταρικές θεραπείες, προσφέροντας τη δυνατότητα αποκατάστασης κατεστραμμένων ιστών. Παράλληλα, η βαθύτερη κατανόηση των μηχανισμών που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και την αναπτυξιακή πρόοδο θα επιτρέψει τη βελτίωση των μεθόδων καλλιέργειας βλαστοκυττάρων *in vitro*, γεγονός που αποτελεί κρίσιμο βήμα για την κλινική τους εφαρμογή.

Στην ογκολογία, η στόχευση των καρκινικών βλαστοκυττάρων αποτελεί κεντρικό στόχο των σύγχρονων θεραπειών. Ορισμένοι τύποι καρκίνου παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στις συμβατικές θεραπείες, καθώς αυτές στοχεύουν κυρίως τα διαφοροποιημένα καρκινικά κύτταρα, αφήνοντας ανέπαφα τα καρκινικά βλαστοκύτταρα, τα οποία είναι ικανά να αναγεννήσουν τον όγκο και να προκαλέσουν μεταστάσεις. Η αναγνώριση των μοριακών μηχανισμών που ρυθμίζουν την αυτοανανεωτική ικανότητα των καρκινικών βλαστοκυττάρων μπορεί να οδηγήσει στον σχεδιασμό νέων, στοχευμένων θεραπειών, οι οποίες θα εξουδετερώνουν αυτά τα κύτταρα και θα αποτρέπουν την υποτροπή του καρκίνου.

Συνολικά, η έρευνα στον τομέα των βλαστοκυττάρων βρίσκεται σε καθοριστικό στάδιο, με τις πρώτες κλινικές εφαρμογές να βρίσκονται ήδη σε εξέλιξη. Ωστόσο, εξακολουθούν να υπάρχουν σημαντικές προκλήσεις που σχετίζονται με την κατευθυνόμενη διαφοροποίηση, τη ρύθμιση της αδράνειας και τη βελτίωση της ασφάλειας των θεραπειών. Η μελέτη των φυσιολογικών και καρκινικών βλαστοκυττάρων προσφέρει πολύτιμες γνώσεις τόσο για την αναγεννητική ιατρική όσο και για την καταπολέμηση του καρκίνου.

Η βαθύτερη κατανόηση των μοριακών και μικροπεριβαλλοντικών μηχανισμών που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και την αδράνεια θα συμβάλει στην ανάπτυξη πιο

αποτελεσματικών θεραπειών, βελτιώνοντας τις προοπτικές χρήσης των βλαστοκυττάρων σε κλινικό επίπεδο και προσφέροντας νέες ελπίδες για τη θεραπεία σοβαρών ασθενειών.

9 Βιβλιογραφία

Abdallah, B. M., & Kassem, M. (2008). Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications. *Gene therapy*, 15(2), 109-116.

Adams, G. B., & Scadden, D. T. (2006). The hematopoietic stem cell in its place. *Nature immunology*, 7(4), 333-337.

Akiyama, K., Chen, C., Wang, D., Xu, X., Qu, C., Yamaza, T., ... & Shi, S. (2012). Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves FAS-ligand-/FAS-mediated T cell apoptosis. *Cell stem cell*, 10(5), 544-555.

Alison, M. R., Choong, C., & Lim, S. (2007, December). Application of liver stem cells for cell therapy. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 18, No. 6, pp. 819-826). Academic Press.

Amit, M., Margulets, V., Segev, H., Shariki, K., Laevsky, I., Coleman, R., & Itskovitz-Eldor, J. (2003). Human feeder layers for human embryonic stem cells. *Biology of reproduction*, 68(6), 2150-2156.

Antonchuk, J., Sauvageau, G., & Humphries, R. K. (2001). HOXB4 overexpression mediates very rapid stem cell regeneration and competitive hematopoietic repopulation. *Experimental hematology*, 29(9), 1125-1134.

Antonchuk, J., Sauvageau, G., & Humphries, R. K. (2002). HOXB4-induced expansion of adult hematopoietic stem cells ex vivo. *Cell*, 109(1), 39-45.

Arai, F., & Suda, T. (2007). Maintenance of quiescent hematopoietic stem cells in the osteoblastic niche. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1106(1), 41-53.

Arai, F., Hirao, A., Ohmura, M., Sato, H., Matsuoka, S., Takubo, K., ... & Suda, T. (2004). Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell*, 118(2), 149-161.

Ausubel, L. J., Lopez, P. M., & Couture, L. A. (2011). GMP scale-up and banking of pluripotent stem cells for cellular therapy applications. In *Human Pluripotent Stem Cells* (pp. 147-159). Humana Press.

Bao, S., Tang, F., Li, X., Hayashi, K., Gillich, A., Lao, K., & Surani, M. A. (2009). Epigenetic reversion of post-implantation epiblast to pluripotent embryonic stem cells. *Nature*, 461(7268), 1292-1295.

Barky, A. R., Ali, E. M. M., & Mohamed, T. M. (2017). Stem cells, classifications and their clinical applications. *Am J Pharmacol Ther*, 1(1), 001-007.

Beattie, G. M., Otonkoski, T., Lopez, A. D., & Alberto, H. (1997). Functional β -cell mass after transplantation of human fetal pancreatic cells: differentiation or proliferation?. *Diabetes*, 46(2), 244-248.

Becker, K. A., Ghule, P. N., Therrien, J. A., Lian, J. B., Stein, J. L., Van Wijnen, A. J., & Stein, G. S. (2006). Self - renewal of human embryonic stem cells is supported by a shortened G1 cell cycle phase. *Journal of cellular physiology*, 209(3), 883-893.

Beghé, C., Wilson, A., & Ershler, W. B. (2004). Prevalence and outcomes of anemia in geriatrics: a systematic review of the literature. *The American journal of medicine*, 116(7), 3-10.

Bell, D. R., & Van Zant, G. (2004). Stem cells, aging, and cancer: inevitabilities and outcomes. *Oncogene*, 23(43).

Bentzinger, C. F., Wang, Y. X., von Maltzahn, J., Soleimani, V. D., Yin, H., & Rudnicki, M. A. (2013). Fibronectin regulates Wnt7a signaling and satellite cell expansion. *Cell stem cell*, 12(1), 75-87.

Bernet, J. D., Doles, J. D., Hall, J. K., Kelly Tanaka, K., Carter, T. A., & Olwin, B. B. (2014). p38 MAPK signaling underlies a cell-autonomous loss of stem cell self-renewal in skeletal muscle of aged mice. *Nature medicine*, 20(3), 265-271.

Bjornson, C. R., Cheung, T. H., Liu, L., Tripathi, P. V., Steeper, K. M., & Rando, T. A. (2012). Notch signaling is necessary to maintain quiescence in adult muscle stem cells. *Stem cells*, 30(2), 232-242.

Blagih, J., Krawczyk, C. M., & Jones, R. G. (2012). LKB 1 and AMPK: central regulators of lymphocyte metabolism and function. *Immunological reviews*, 249(1), 59-71.

Blanco, S., Bandiera, R., Popis, M., Hussain, S., Lombard, P., Aleksic, J., ... & Frye, M. (2016). Stem cell function and stress response are controlled by protein synthesis. *Nature*, 534(7607), 335-340.

Blank, U., Karlsson, G., & Karlsson, S. (2008). Signaling pathways governing stem-cell fate. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 111(2), 492-503.

Blanpain, C., Lowry, W. E., Geoghegan, A., Polak, L., & Fuchs, E. (2004). Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell*, 118(5), 635-648.

Blau, H. M., Brazelton, T. R., & Weimann, J. M. (2001). The evolving concept of a stem cell: entity or function?. *Cell*, 105(7), 829-841.

Bonaguidi, M. A., Wheeler, M. A., Shapiro, J. S., Stadel, R. P., Sun, G. J., Ming, G. L., & Song, H. (2011). In vivo clonal analysis reveals self-renewing and multipotent adult neural stem cell characteristics. *Cell*, 145(7), 1142-1155.

Bowles, K. M., Vallier, L., Smith, J. R., Alexander, M. R., & Pedersen, R. A. (2006). HOXB4 overexpression promotes hematopoietic development by human embryonic stem cells. *Stem Cells*, 24(5), 1359-1369.

Brack, A. S., & Rando, T. A. (2012). Tissue-specific stem cells: lessons from the skeletal muscle satellite cell. *Cell stem cell*, 10(5), 504-514.

Brons, I. G. M., Smithers, L. E., Trotter, M. W., Rugg-Gunn, P., Sun, B., de Sousa Lopes, S. M. C., ... & Vallier, L. (2007). Derivation of pluripotent epiblast stem cells from mammalian embryos. *Nature*, 448(7150), 191-195.

Brooks, L. J., & Parrinello, S. (2017). Vascular regulation of glioma stem-like cells: a balancing act. *Current opinion in neurobiology*, 47, 8-15.

Brun, A. C., Björnsson, J. M., Magnusson, M., Larsson, N., Leveén, P., Ehinger, M., ... & Karlsson, S. (2004). Hoxb4-deficient mice undergo normal hematopoietic development but exhibit a mild proliferation defect in hematopoietic stem cells. *Blood*, 103(11), 4126-4133.

Brunet, A., Sweeney, L. B., Sturgill, J. F., Chua, K. F., Greer, P. L., Lin, Y., ... & Greenberg, M. E. (2004). Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *science*, 303(5666), 2011-2015.

Bunnell, B. A., Flaat, M., Gagliardi, C., Patel, B., & Ripoll, C. (2008). Adipose-derived stem cells: isolation, expansion and differentiation. *Methods*, 45(2), 115-120.

Burdon, T., Smith, A., & Savatier, P. (2002). Signalling, cell cycle and pluripotency in embryonic stem cells. *Trends in cell biology*, 12(9), 432-438.

Burdon, T., Stracey, C., Chambers, I., Nichols, J., & Smith, A. (1999). Suppression of SHP-2 and ERK signalling promotes self-renewal of mouse embryonic stem cells. *Developmental biology*, 210(1), 30-43.

Buttgereit, F., & Brand, M. D. (1995). A hierarchy of ATP-consuming processes in mammalian cells. *Biochemical Journal*, 312(1), 163-167.

Cai, X., Gao, L., Teng, L., Ge, J., Oo, Z. M., Kumar, A. R., ... & Speck, N. A. (2015). Runx1 deficiency decreases ribosome biogenesis and confers stress resistance to hematopoietic stem and progenitor cells. *Cell stem cell*, 17(2), 165-177.

Calegari, F., & Huttner, W. B. (2003). An inhibition of cyclin-dependent kinases that lengthens, but does not arrest, neuroepithelial cell cycle induces premature neurogenesis. *Journal of cell science*, 116(24), 4947-4955.

Cauffman, G., De Rycke, M., Sermon, K., Liebaers, I., & Van De Velde, H. (2009). Markers that define stemness in ESC are unable to identify the totipotent cells in human preimplantation embryos. *Human Reproduction*, 24(1), 63-70.

Chakkalakal, J. V., Jones, K. M., Basson, M. A., & Brack, A. S. (2012). The aged niche disrupts muscle stem cell quiescence. *Nature*, 490(7420), 355-360.

Chapman, A., Frankel, M., Garfinkel, M., & American Association for the Advancement of Science. (1999). *Stem cell research and applications: monitoring the frontiers of biomedical research*.

Chapouton, P., Skupien, P., Hesl, B., Coolen, M., Moore, J. C., Madelaine, R., ... & Bally-Cuif, L. (2010). Notch activity levels control the balance between quiescence and recruitment of adult neural stem cells. *Journal of Neuroscience*, 30(23), 7961-7974.

Charville, G. W., & Rando, T. A. (2011). Stem cell ageing and non-random chromosome segregation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 366(1561), 85-93.

Chen, J., Astle, C. M., & Harrison, D. E. (2003). Hematopoietic senescence is postponed and hematopoietic stem cell function is enhanced by dietary restriction. *Experimental hematology*, 31(11), 1097-1103.

Chen, D., & Guarente, L. (2007). SIR2: a potential target for calorie restriction mimetics. *Trends in molecular medicine*, 13(2), 64-71.

Chen, J., Li, Y., Yu, T. S., McKay, R. M., Burns, D. K., Kernie, S. G., & Parada, L. F. (2012). A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy. *Nature*, 488(7412), 522-526.

Chen, W., Dong, J., Haiech, J., Kilhoffer, M. C., & Zeniou, M. (2016). Cancer stem cell quiescence and plasticity as major challenges in cancer therapy. *Stem cells international*, 2016.

Cheng, T., Rodrigues, N., Shen, H., Yang, Y. G., Dombkowski, D., Sykes, M., & Scadden, D. T. (2000). Hematopoietic stem cell quiescence maintained by p21cip1/waf1. *Science*, 287(5459), 1804-1808.

Chenoweth, J. G., McKay, R. D., & Tesar, P. J. (2010). Epiblast stem cells contribute new insight into pluripotency and gastrulation. *Development, growth & differentiation*, 52(3), 293-301.

Cheshier, S. H., Morrison, S. J., Liao, X., & Weissman, I. L. (1999). In vivo proliferation and cell cycle kinetics of long-term self-renewing hematopoietic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(6), 3120-3125.

Cheung, T. H., Quach, N. L., Charville, G. W., Liu, L., Park, L., Edalati, A., ... & Rando, T. A. (2012). Maintenance of muscle stem-cell quiescence by microRNA-489. *Nature*, 482(7386), 524-528.

Cheung, T. H., & Rando, T. A. (2013). Molecular regulation of stem cell quiescence. *Nature reviews Molecular cell biology*, 14(6), 329-340.

Codega, P., Silva-Vargas, V., Paul, A., Maldonado-Soto, A. R., DeLeo, A. M., Pastrana, E., & Doetsch, F. (2014). Prospective identification and purification of quiescent adult neural stem cells from their in vivo niche. *Neuron*, 82(3), 545-559.

Cozzio, A., Passegué, E., Ayton, P. M., Karsunky, H., Cleary, M. L., & Weissman, I. L. (2003). Similar MLL-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors. *Genes & development*, 17(24), 3029-3035.

Crist, C. G., Montarras, D., & Buckingham, M. (2012). Muscle satellite cells are primed for myogenesis but maintain quiescence with sequestration of Myf5 mRNA targeted by microRNA-31 in mRNP granules. *Cell stem cell*, 11(1), 118-126.

Dannenberger, J. H., van Rossum, A., Schuijff, L., & te Riele, H. (2000). Ablation of the retinoblastoma gene family deregulates G1 control causing immortalization and increased cell turnover under growth-restricting conditions. *Genes & development*, 14(23), 3051-3064.

Darabi, R., Arpke, R. W., Irion, S., Dimos, J. T., Grskovic, M., Kyba, M., & Perlingeiro, R. C. (2012). Human ES-and iPS-derived myogenic progenitors restore DYSTROPHIN and improve contractility upon transplantation in dystrophic mice. *Cell stem cell*, 10(5), 610-619.

de Haan, G., Nijhof, W., & Van Zant, G. (1997). Mouse strain-dependent changes in frequency and proliferation of hematopoietic stem cells during aging: correlation between lifespan and cycling activity. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 89(5), 1543-1550.

Del Bene, F., & Wittbrodt, J. (2005). Cell cycle control by homeobox genes in development and disease. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 16, No. 3, pp. 449-460). Academic Press.

Deng, Z. L., Sharff, K. A., Tang, N. I., Song, W. X., Luo, J., Luo, X., ... & He, T. C. (2008). Regulation of osteogenic differentiation during skeletal development. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 13(6), 2001-2021.

Dezawa, M., Kanno, H., Hoshino, M., Cho, H., Matsumoto, N., Itokazu, Y., ... & Ide, C. (2004). Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. *The Journal of clinical investigation*, 113(12), 1701-1710.

Di Cristofano, A., & Pandolfi, P. P. (2000). The multiple roles of PTEN in tumor suppression. *Cell*, 100(4), 387-390.

Doetsch, F., García-Verdugo, J. M., & Alvarez-Buylla, A. (1999). Regeneration of a germinal layer in the adult mammalian brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(20), 11619-11624.

Drisch, R. C., & Stahl, Y. (2015). Function and regulation of transcription factors involved in root apical meristem and stem cell maintenance. *Frontiers in Plant Science*, 6, 505.

Dumont, N. A., Wang, Y. X., & Rudnicki, M. A. (2015). Intrinsic and extrinsic mechanisms regulating satellite cell function. *Development*, 142(9), 1572-1581.

El Barky, A. R., Ezz, A. A. H., Alm-Eldeen, A. A. E., Hussein, S. A., Hafez, Y. A., & Mohamed, T. M. (2018). Can stem cells ameliorate the pancreatic damage induced by streptozotocin in rats?. *Canadian journal of diabetes*, 42(1), 61-70.

Evans, M. J., & Kaufman, M. H. (1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *nature*, 292(5819), 154-156.

Farioli-Vecchioli, S., Micheli, L., Saraulli, D., Ceccarelli, M., Cannas, S., Scardigli, R., ... & Tirone, F. (2012). Btg1 is required to maintain the pool of stem and progenitor cells of the dentate gyrus and subventricular zone. *Frontiers in neuroscience*, 6, 124.

Finch, B. W., & Ephrussi, B. (1967). Retention of multiple developmental potentialities by cells of a mouse testicular teratocarcinoma during prolonged culture in vitro and their extinction upon hybridization with cells of permanent lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 57(3), 615.

Fincham, V. J., James, M., Frame, M. C., & Winder, S. J. (2000). Active ERK/MAP kinase is targeted to newly forming cell–matrix adhesions by integrin engagement and v - Src. *The EMBO journal*, 19(12), 2911-2923.

Fleming, H. E., Janzen, V., Celso, C. L., Guo, J., Leahy, K. M., Kronenberg, H. M., & Scadden, D. T. (2008). Wnt signaling in the niche enforces hematopoietic stem cell quiescence and is necessary to preserve self-renewal in vivo. *Cell stem cell*, 2(3), 274-283.

Fluckiger, A. C., Marcy, G., Marchand, M., Négre, D., Cosset, F. L., Mitalipov, S., ... & Dehay, C. (2006). Cell cycle features of primate embryonic stem cells. *Stem cells*, 24(3), 547-556.

Folmes, C. D., Dzeja, P. P., Nelson, T. J., & Terzic, A. (2012). Mitochondria in control of cell fate. *Circulation research*, 110(4), 526-529.

Forostyak, O., Dayanithi, G., & Forostyak, S. (2016). CNS Regenerative Medicine and Stem Cells. *Opera Medica et Physiologica*, 3(1), 1-8.

Formeister, E. J., Sionas, A. L., Lorange, D. K., Barkley, C. L., Lee, G. H., & Magness, S. T. (2009). Distinct SOX9 levels differentially mark stem/progenitor populations and enteroendocrine cells of the small intestine epithelium. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 296(5), G1108-G1118.

Foudi, A., Hochedlinger, K., Van Buren, D., Schindler, J. W., Jaenisch, R., Carey, V., & Hock, H. (2009). Analysis of histone 2B-GFP retention reveals slowly cycling hematopoietic stem cells. *Nature biotechnology*, 27(1), 84-90.

Friedenstein, A. J., Chailakhyan, R. K., & Gerasimov, U. V. (1987). Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers. *Cell proliferation*, 20(3), 263-272.

Furukawa-Hibi, Y., Yoshida-Araki, K., Ohta, T., Ikeda, K., & Motoyama, N. (2002). FOXO forkhead transcription factors induce G2-M checkpoint in response to oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 277(30), 26729-26732.

Gan, B., Hu, J., Jiang, S., Liu, Y., Sahin, E., Zhuang, L., ... & DePinho, R. A. (2010). Lkb1 regulates quiescence and metabolic homeostasis of haematopoietic stem cells. *Nature*, 468(7324), 701-704.

Gao, X., Song, L., Shen, K., Wang, H., Niu, W., & Qin, X. (2008). Transplantation of bone marrow derived cells promotes pancreatic islet repair in

diabetic mice. *Biochemical and biophysical research communications*, 371(1), 132-137.

García-Prat, L., Martínez-Vicente, M., Perdiguero, E., Ortet, L., Rodríguez-Ubreva, J., Rebollo, E., ... & Muñoz-Canoves, P. (2016). Autophagy maintains stemness by preventing senescence. *Nature*, 529(7584), 37-42.

Gimble, J. M., Katz, A. J., & Bunnell, B. A. (2007). Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circulation research*, 100(9), 1249-1260.

Goodell, M. A., Nguyen, H., & Shroyer, N. (2015). Somatic stem cell heterogeneity: diversity in the blood, skin and intestinal stem cell compartments. *Nature reviews Molecular cell biology*, 16(5), 299-309.

Gopinath, S. D., Webb, A. E., Brunet, A., & Rando, T. A. (2014). FOXO3 promotes quiescence in adult muscle stem cells during the process of self-renewal. *Stem cell reports*, 2(4), 414-426.

Guan, J. L., Simon, A. K., Prescott, M., Menendez, J. A., Liu, F., Wang, F., ... & Zhang, J. (2013). Autophagy in stem cells. *Autophagy*, 9(6), 830-849.

Guo, G., Yang, J., Nichols, J., Hall, J. S., Eyres, I., Mansfield, W., & Smith, A. (2009). Klf4 reverts developmentally programmed restriction of ground state pluripotency. *Development*, 136(7): 1063-1069.

Gurumurthy, S., Xie, S. Z., Alagesan, B., Kim, J., Yusuf, R. Z., Saez, B., ... & Bardeesy, N. (2010). The Lkb1 metabolic sensor maintains haematopoietic stem cell survival. *Nature*, 468(7324), 659-663.

Harrison, D. E., Stone, M., & Astle, C. M. (1990). Effects of transplantation on the primitive immunohematopoietic stem cell. *The Journal of experimental medicine*, 172(2), 431-437.

He, X. C., Yin, T., Grindley, J. C., Tian, Q., Sato, T., Tao, W. A., ... & Li, L. (2007). PTEN-deficient intestinal stem cells initiate intestinal polyposis. *Nature genetics*, 39(2), 189-198.

Hemminki, A., Tomlinson, I., Markie, D., Järvinen, H., Sistonen, P., Björkqvist, A. M., ... & Aaltonen, L. A. (1997). Localization of a susceptibility locus for Peutz-Jeghers syndrome to 19p using comparative genomic hybridization and targeted linkage analysis. *Nature genetics*, 15(1), 87-90.

Ho, T. T., Warr, M. R., Adelman, E. R., Lansinger, O. M., Flach, J., Verovskaya, E. V., ... & Passequé, E. (2017). Autophagy maintains the metabolism and function of young and old stem cells. *Nature*, 543(7644), 205-210.

Hock, H., Hamblen, M. J., Rooke, H. M., Schindler, J. W., Saleque, S., Fujiwara, Y., & Orkin, S. H. (2004). Gfi-1 restricts proliferation and preserves functional integrity of haematopoietic stem cells. *Nature*, 431(7011), 1002-1007.

Horsley, V., Aliprantis, A. O., Polak, L., Glimcher, L. H., & Fuchs, E. (2008). NFATc1 balances quiescence and proliferation of skin stem cells. *Cell*, 132(2), 299-310.

Hosoyama, T., Nishijo, K., Prajapati, S. I., Li, G., & Keller, C. (2011). Rb1 gene inactivation expands satellite cell and postnatal myoblast pools. *Journal of Biological Chemistry*, 286(22), 19556-19564.

Hsu, Y. C., Li, L., & Fuchs, E. (2014). Transit-amplifying cells orchestrate stem cell activity and tissue regeneration. *Cell*, 157(4), 935-949.

Huntly, B. J., Shigematsu, H., Deguchi, K., Lee, B. H., Mizuno, S., Duclos, N., ... & Gilliland, D. G. (2004). MOZ-TIF2, but not BCR-ABL, confers properties of leukemic stem cells to committed murine hematopoietic progenitors. *Cancer cell*, 6(6), 587-596.

Ilancheran, S., Moodley, Y., & Manuelpillai, U. (2009). Human fetal membranes: a source of stem cells for tissue regeneration and repair?. *Placenta*, 30(1), 2-10.

Imitola, J. (2007). Prospects for neural stem cell-based therapies for neurological diseases. *Neurotherapeutics*, 4(4), 701-714.

Inoue, S. I., Noda, S., Kashima, K., Nakada, K., Hayashi, J. I., & Miyoshi, H. (2010). Mitochondrial respiration defects modulate differentiation but not proliferation of hematopoietic stem and progenitor cells. *FEBS letters*, 584(15), 3402-3409.

Ito, K., Hirao, A., Arai, F., Matsuoka, S., Takubo, K., Hamaguchi, I., ... & Suda, T. (2004). Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature*, 431(7011), 997-1002.

Ito, K., Bernardi, R., Morotti, A., Matsuoka, S., Saglio, G., Ikeda, Y., ... & Pandolfi, P. P. (2008). PML targeting eradicates quiescent leukaemia-initiating cells. *Nature*, 453(7198), 1072-1078.

Jacques, T. S., Swales, A., Brzozowski, M. J., Henriquez, N. V., Linehan, J. M., Mirzadeh, Z., ... & Brandner, S. (2010). Combinations of genetic mutations in the adult neural stem cell compartment determine brain tumour phenotypes. *The EMBO journal*, 29(1), 222-235.

Jacob, B., & Osato, M. (2009). Stem cell exhaustion and leukemogenesis. *Journal of cellular biochemistry*, 107(3), 393-399.

Jamieson, C. H., Ailles, L. E., Dylla, S. J., Muijtjens, M., Jones, C., Zehnder, J. L., ... & Weissman, I. L. (2004). Granulocyte–macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *New England Journal of Medicine*, 351(7), 657-667.

Jang, Y. Y., & Sharkis, S. J. (2007). A low level of reactive oxygen species selects for primitive hematopoietic stem cells that may reside in the low-oxygenic niche. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 110(8), 3056-3063.

Jia, L., Zhou, J., Peng, S., Li, J., Cao, Y., & Duan, E. (2008). Effects of Wnt3a on proliferation and differentiation of human epidermal stem cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 368(3), 483-488.

Jirmanova, L., Afanassieff, M., Gobert-Gosse, S., Markossian, S., & Savatier, P. (2002). Differential contributions of ERK and PI3-kinase to the regulation of cyclin D1 expression and to the control of the G1/S transition in mouse embryonic stem cells. *Oncogene*, 21(36), 5515-5528.

Jones, K. M., Sarić, N., Russell, J. P., Andoniadou, C. L., Scambler, P. J., & Basson, M. A. (2015). CHD7 maintains neural stem cell quiescence and prevents premature stem cell depletion in the adult hippocampus. *Stem cells*, 33(1), 196-210.

Jouneau, A., Ciaudo, C., Sismeiro, O., Brochard, V., Jouneau, L., Vandormael-Pournin, S., ... & Cohen-Tannoudji, M. (2012). Naive and primed murine pluripotent stem cells have distinct miRNA expression profiles. *Rna*, 18(2), 253-264.

Kadaja, M., Keyes, B. E., Lin, M., Pasolli, H. A., Genander, M., Polak, L., ... & Fuchs, E. (2014). SOX9: a stem cell transcriptional regulator of secreted niche signaling factors. *Genes & development*, 28(4), 328-341.

Kahan, B. W., & Ephrussi, B. (1970). Developmental potentialities of clonal in vitro cultures of mouse testicular teratoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 44(5), 1015-1036.

Kakinuma, S., Nakauchi, H., & Watanabe, M. (2009). Hepatic stem/progenitor cells and stem-cell transplantation for the treatment of liver disease. *Journal of gastroenterology*, 44(3), 167-172.

Kamminga, L. M., Bystrykh, L. V., de Boer, A., Houwer, S., Douma, J., Weersing, E., ... & de Haan, G. (2006). The Polycomb group gene Ezh2 prevents hematopoietic stem cell exhaustion. *Blood*, 107(5), 2170-2179.

Karpowicz, P., Morshead, C., Kam, A., Jervis, E., Ramunas, J., Cheng, V., & Van Der Kooy, D. (2005). Support for the immortal strand hypothesis: neural stem cells partition DNA asymmetrically in vitro. *The Journal of cell biology*, 170(5), 721-732.

Katajisto, P., Vaahhtomeri, K., Ekman, N., Ventelä, E., Ristimäki, A., Bardeesy, N., ... & Mäkelä, T. P. (2008). LKB1 signaling in mesenchymal cells required for suppression of gastrointestinal polyposis. *Nature genetics*, 40(4), 455-459.

Kenyon, C. (2005). The plasticity of aging: insights from long-lived mutants. *Cell*, 120(4), 449-460.

Kim, M., Moon, H. B., & Spangrude, G. J. (2003). Major age - related changes of mouse hematopoietic stem/progenitor cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 996(1), 195-208.

Kim, H. J., Kim, U. J., Vunjak-Novakovic, G., Min, B. H., & Kaplan, D. L. (2005). Influence of macroporous protein scaffolds on bone tissue engineering from bone marrow stem cells. *Biomaterials*, 26(21), 4442-4452.

Kimura, S., Roberts, A. W., Metcalf, D., & Alexander, W. S. (1998). Hematopoietic stem cell deficiencies in mice lacking c-Mpl, the receptor for thrombopoietin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(3), 1195-1200.

Kippin TE, Martens DJ & van der Kooy D (2005). p21 loss compromises the relative quiescence of forebrain stem cell proliferation leading to exhaustion of their proliferation capacity. *Genes Dev* 19, 756–767.

Kirstetter, P., Anderson, K., Porse, B. T., Jacobsen, S. E. W., & Nerlov, C. (2006). Activation of the canonical Wnt pathway leads to loss of hematopoietic stem cell repopulation and multilineage differentiation block. *Nature immunology*, 7(10), 1048-1056.

Klimanskaya, I., Chung, Y., Becker, S., Lu, S. J., & Lanza, R. (2006). Human embryonic stem cell lines derived from single blastomeres. *Nature*, 444(7118), 481-485.

Kobayashi, A., Okuda, H., Xing, F., Pandey, P. R., Watabe, M., Hirota, S., ... & Watabe, K. (2011). Bone morphogenetic protein 7 in dormancy and metastasis of prostate cancer stem-like cells in bone. *Journal of Experimental Medicine*, 208(13), 2641-2655.

Kobielak, K., Stokes, N., de la Cruz, J., Polak, L., & Fuchs, E. (2007). Loss of a quiescent niche but not follicle stem cells in the absence of bone morphogenetic

protein signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(24), 10063-10068.

Kolios, G., & Moodley, Y. (2013). Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration*, 85(1), 3-10.

Kollman, C., Howe, C. W., Anasetti, C., Antin, J. H., Davies, S. M., Filipovich, A. H., ... & Confer, D. L. (2001). Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 98(7), 2043-2051.

Kopp, H. G., Avecilla, S. T., Hooper, A. T., & Rafii, S. (2005). The bone marrow vascular niche: home of HSC differentiation and mobilization. *Physiology*, 20(5), 349-356.

Krivtsov, A. V., Twomey, D., Feng, Z., Stubbs, M. C., Wang, Y., Faber, J., ... & Armstrong, S. A. (2006). Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL–AF9. *Nature*, 442(7104), 818-822.

Kyba, M., Perlingeiro, R. C., & Daley, G. Q. (2002). HoxB4 confers definitive lymphoid-myeloid engraftment potential on embryonic stem cell and yolk sac hematopoietic progenitors. *Cell*, 109(1), 29-37.

Lacorazza, H. D., Yamada, T., Liu, Y., Miyata, Y., Sivina, M., Nunes, J., & Nimer, S. D. (2006). The transcription factor MEF/ELF4 regulates the quiescence of primitive hematopoietic cells. *Cancer cell*, 9(3), 175-187.

Lansdorp, P. M., Dragowska, W., & Mayani, H. (1993). Ontogeny-related changes in proliferative potential of human hematopoietic cells. *The Journal of experimental medicine*, 178(3), 787-791.

Larsson, O., Zetterberg, A., and Engstrom, W. (1985). Cell-cycle-specific induction of quiescence achieved by limited inhibition of protein synthesis: counteractive effect of addition of purified growth factors. *J Cell Sci* 73, 375-387.

Larson, P. S., Starr, P. A., Bates, G., Tansey, L., Richardson, R. M., & Martin, A. J. (2012). An optimized system for interventional magnetic resonance imaging-guided stereotactic surgery: preliminary evaluation of targeting accuracy. *Operative Neurosurgery*, 70(suppl_1), ons95-ons103.

Lathia, J. D., Mack, S. C., Mulkearns-Hubert, E. E., Valentim, C. L., & Rich, J. N. (2015). Cancer stem cells in glioblastoma. *Genes & development*, 29(12), 1203-1217.

Laurenti, E., Frelin, C., Xie, S., Ferrari, R., Dunant, C. F., Zandi, S., ... & Dick, J. E. (2015). CDK6 levels regulate quiescence exit in human hematopoietic stem cells. *Cell stem cell*, 16(3), 302-313.

Lechman, E. R., Gentner, B., Van Galen, P., Giustacchini, A., Saini, M., Boccalatte, F. E., ... & Naldini, L. (2012). Attenuation of miR-126 activity expands HSC in vivo without exhaustion. *Cell stem cell*, 11(6), 799-811.

Lee, M. H., & Yang, H. Y. (2001). Contributions in the domain of cancer research: Negative regulators of cyclin-dependent kinases and their roles in cancers. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 58(12), 1907-1922.

Lerou, P. (2011). Embryonic stem cell derivation from human embryos. In *Human Pluripotent Stem Cells* (pp. 31-35). Humana Press.

Li, Y., Chen, J., Wang, L., Zhang, L., Lu, M., & Chopp, M. (2001). Intracerebral transplantation of bone marrow stromal cells in a 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *Neuroscience letters*, 316(2), 67-70.

Li, L., & Clevers, H. (2010). Coexistence of quiescent and active adult stem cells in mammals. *science*, 327(5965), 542-545.

Li, L., & Bhatia, R. (2011). Stem cell quiescence. *Clinical cancer research*, 17(15), 4936-4941.

Liang, Y., Van Zant, G., & Szilvassy, S. J. (2005). Effects of aging on the homing and engraftment of murine hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*, 106(4), 1479-1487.

Lichtman, M. A., & Rowe, J. M. (2004, April). The relationship of patient age to the pathobiology of the clonal myeloid diseases. In *Seminars in oncology* (Vol. 31, No. 2, pp. 185-197). WB Saunders.

Lim S & Kaldis P (2013). Cdks, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation. *Development* 140, 3079–3093.

Linton, P. J., & Dorshkind, K. (2004). Age-related changes in lymphocyte development and function. *Nature immunology*, 5(2), 133-139.

Liu, Y., Elf, S. E., Asai, T., Miyata, Y., Liu, Y., Sashida, G., ... & Nimer, S. D. (2009). The p53 tumor suppressor protein is a critical regulator of hematopoietic stem cell behavior. *Cell cycle*, 8(19), 3120-3124.

Llorens-Bobadilla, E., Zhao, S., Baser, A., Saiz-Castro, G., Zwadlo, K., & Martin-Villalba, A. (2015). Single-cell transcriptomics reveals a population of dormant

neural stem cells that become activated upon brain injury. *Cell stem cell*, 17(3), 329-340.

López-Arribillaga, E., Rodilla, V., Pellegrinet, L., Guiu, J., Iglesias, M., Roman, A. C., ... & Espinosa, L. (2015). Bmi1 regulates murine intestinal stem cell proliferation and self-renewal downstream of Notch. *Development*, 142(1), 41-50.

Mackay, H. J., Au, H. J., McWhirter, E., Alcindor, T., Jarvi, A., MacAlpine, K., ... & Oza, A. M. (2012). A phase II trial of the Src kinase inhibitor saracatinib (AZD0530) in patients with metastatic or locally advanced gastric or gastro esophageal junction (GEJ) adenocarcinoma: a trial of the PMH phase II consortium. *Investigational new drugs*, 30(3), 1158-1163.

Mahmud, N., Devine, S. M., Weller, K. P., Parmar, S., Sturgeon, C., Nelson, M. C., ... & Hoffman, R. (2001). The relative quiescence of hematopoietic stem cells in nonhuman primates. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 97(10), 3061-3068.

Maillard, I., Koch, U., Dumortier, A., Shestova, O., Xu, L., Sai, H., ... & Pear, W. S. (2008). Canonical notch signaling is dispensable for the maintenance of adult hematopoietic stem cells. *Cell stem cell*, 2(4), 356-366.

Massagué, J. (2004). G1 cell-cycle control and cancer. *Nature*, 432(7015), 298-306.

Marshall, C. J. (1995). Specificity of receptor tyrosine kinase signaling: transient versus sustained extracellular signal-regulated kinase activation. *Cell*, 80(2), 179-185.

Martin, G. R. (1981). Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(12), 7634-7638.

McCall, M. D., Toso, C., Baetge, E. E., & Shapiro, A. J. (2010). Are stem cells a cure for diabetes?. *Clinical Science*, 118(2), 87-97.

McDonald, S. A., Graham, T. A., Humphries, A., Wright, N. A., Preston, S. L., Brittan, M., & Direkze, N. C. (2009). Stem cells in the gastrointestinal tract. *Essentials of Stem Cell Biology*, 307-327.

Meek, D. W. (2009). Tumour suppression by p53: a role for the DNA damage response?. *Nature Reviews Cancer*, 9(10), 714-723.

Meirelles, L. D. S., Chagastelles, P. C., & Nardi, N. B. (2006). Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *Journal of cell science*, 119(11), 2204-2213.

Meloche, S., & Pouyssegur, J. (2007). The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1-to S-phase transition. *Oncogene*, 26(22), 3227-3239.

Meloche, S., Vella, F. D., Voisin, L., Ang, S. L., & Saba-El-Leil, M. (2004). Erk2 signaling and early embryo stem cell self-renewal. *Cell cycle*, 3(3), 239-241.

Mira, H., Andreu, Z., Suh, H., Lie, D. C., Jessberger, S., Consiglio, A., ... & Gage, F. H. (2010). Signaling through BMPR-IA regulates quiescence and long-term activity of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell stem cell*, 7(1), 78-89.

Mitchell, K. E., Weiss, M. L., Mitchell, B. M., Martin, P., Davis, D., Morales, L., ... & Troyer, D. (2003). Matrix cells from Wharton's jelly form neurons and glia. *Stem cells*, 21(1), 50-60.

Miyamoto, K., Araki, K. Y., Naka, K., Arai, F., Takubo, K., Yamazaki, S., ... & Hirao, A. (2007). Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool. *Cell stem cell*, 1(1), 101-112.

Mizushima, N., & Komatsu, M. (2011). Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell*, 147(4), 728-741.

Montgomery, R. K., Carlone, D. L., Richmond, C. A., Farilla, L., Kranendonk, M. E., Henderson, D. E., ... & Breault, D. T. (2011). Mouse telomerase reverse transcriptase (mTert) expression marks slowly cycling intestinal stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(1), 179-184.

Mortensen, M., Soilleux, E. J., Djordjevic, G., Tripp, R., Lutteropp, M., Sadighi-Akha, E., ... & Simon, A. K. (2011). The autophagy protein Atg7 is essential for hematopoietic stem cell maintenance. *Journal of Experimental Medicine*, 208(3), 455-467.

Mourikis, P., Sambasivan, R., Castel, D., Rocheteau, P., Bizzarro, V., & Tajbakhsh, S. (2012). A critical requirement for notch signaling in maintenance of the quiescent skeletal muscle stem cell state. *Stem cells*, 30(2), 243-252.

Müller-Röver, S., Foitzik, K., Paus, R., Handjiski, B., van der Veen, C., Eichmüller, S., ... & Stenn, K. S. (2001). A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. *Journal of investigative dermatology*, 117(1), 3-15.

Nakada, D., Saunders, T. L., & Morrison, S. J. (2010). Lkb1 regulates cell cycle and energy metabolism in haematopoietic stem cells. *Nature*, 468(7324), 653-658.

Nakamura, N., Ramaswamy, S., Vazquez, F., Signoretti, S., Loda, M., & Sellers, W. R. (2000). Forkhead transcription factors are critical effectors of cell death and cell cycle arrest downstream of PTEN. *Molecular and cellular biology*, 20(23), 8969-8982.

Naqvi, S. M., & McNamara, L. M. (2020). Stem cell mechanobiology and the role of biomaterials in governing mechanotransduction and matrix production for tissue regeneration. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 597661

Nemeth, M. J., Mak, K. K., Yang, Y., & Bodine, D. M. (2009). β - Catenin Expression in the Bone Marrow Microenvironment Is Required for Long - Term Maintenance of Primitive Hematopoietic Cells. *Stem Cells*, 27(5), 1109-1119.

Nichols, J., & Smith, A. (2009). Naive and primed pluripotent states. *Cell stem cell*, 4(6), 487-492.

Nichols, J., & Smith, A. (2012). Pluripotency in the embryo and in culture. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(8), a008128.

Nilsson, S. K., Johnston, H. M., Whitty, G. A., Williams, B., Webb, R. J., Denhardt, D. T., ... & Haylock, D. N. (2005). Osteopontin, a key component of the hematopoietic stem cell niche and regulator of primitive hematopoietic progenitor cells. *Blood*, 106(4), 1232-1239.

Noah, T. K., & Shroyer, N. F. (2013). Notch in the intestine: regulation of homeostasis and pathogenesis. *Annual review of physiology*, 75, 263-288.

Okun, M. S. (2012). Deep-brain stimulation for Parkinson's disease. *New England Journal of Medicine*, 367(16), 1529-1538.

Orford, K. W., & Scadden, D. T. (2008). Deconstructing stem cell self-renewal: genetic insights into cell-cycle regulation. *Nature Reviews Genetics*, 9(2), 115-128.

Pagliuca, F. W., Millman, J. R., Gürtler, M., Segel, M., Van Dervort, A., Ryu, J. H., ... & Melton, D. A. (2014). Generation of functional human pancreatic β cells in vitro. *Cell*, 159(2), 428-439.

Parekkadan, B., & Milwid, J. M. (2010). Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annual review of biomedical engineering*, 12, 87.

Passegué, E., Wagers, A. J., Giuriato, S., Anderson, W. C., & Weissman, I. L. (2005). Global analysis of proliferation and cell cycle gene expression in the regulation

of hematopoietic stem and progenitor cell fates. *The Journal of experimental medicine*, 202(11), 1599-1611.

Paus, R., & Cotsarelis, G. (1999). The biology of hair follicles. *New England journal of medicine*, 341(7), 491-497.

Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., Jaiswal, R. K., Douglas, R., Mosca, J. D., ... & Marshak, D. R. (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *science*, 284(5411), 143-147.

Plikus, M. V., Mayer, J. A., de La Cruz, D., Baker, R. E., Maini, P. K., Maxson, R., & Chuong, C. M. (2008). Cyclic dermal BMP signalling regulates stem cell activation during hair regeneration. *Nature*, 451(7176), 340-344.

Politis, M., Wu, K., Loane, C., Kiferle, L., Molloy, S., Brooks, D. J., & Piccini, P. (2010). Staging of serotonergic dysfunction in Parkinson's disease: an in vivo 11C-DASB PET study. *Neurobiology of disease*, 40(1), 216-221.

Preston, S. L., Alison, M. R., Forbes, S. J., Direkze, N. C., Poulson, R., & Wright, N. A. (2003). The new stem cell biology: something for everyone. *Molecular Pathology*, 56(2), 86.

Pruitt, S. C., Freeland, A., & Kudla, A. (2010). Cell cycle heterogeneity in the small intestinal crypt and maintenance of genome integrity. *Stem cells*, 28(7), 1250-1259.

Puri, M. C., & Bernstein, A. (2003). Requirement for the TIE family of receptor tyrosine kinases in adult but not fetal hematopoiesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(22), 12753-12758.

Qian, H., Buza-Vidas, N., Hyland, C. D., Jensen, C. T., Antonchuk, J., Månsson, R., ... & Jacobsen, S. E. W. (2007). Critical role of thrombopoietin in maintaining adult quiescent hematopoietic stem cells. *Cell stem cell*, 1(6), 671-684.

Quarta, M., Brett, J. O., DiMarco, R., De Morree, A., Boutet, S. C., Chacon, R., ... & Rando, T. A. (2016). An artificial niche preserves the quiescence of muscle stem cells and enhances their therapeutic efficacy. *Nature biotechnology*, 34(7), 752-759.

Ralston, A., & Rossant, J. (2010). The genetics of induced pluripotency. *Reproduction*, 139(1), 35-44.

Rando, T. A. (2006). Stem cells, ageing and the quest for immortality. *Nature*, 441(7097), 1080-1086.

Reczek, C. R., & Chandel, N. S. (2015). ROS-dependent signal transduction. *Current opinion in cell biology*, 33, 8-13.

- Reinholt, F. P., Hultenby, K., Oldberg, A., & Heinegård, D. (1990). Osteopontin--a possible anchor of osteoclasts to bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(12), 4473-4475.
- Renault, V. M., Rafalski, V. A., Morgan, A. A., Salih, D. A., Brett, J. O., Webb, A. E., ... & Brunet, A. (2009). FoxO3 regulates neural stem cell homeostasis. *Cell stem cell*, 5(5), 527-539.
- Reubinoff, B. E., Pera, M. F., Fong, C. Y., Trounson, A., & Bongso, A. (2000). Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nature biotechnology*, 18(4), 399-404.
- Reya, T., Morrison, S. J., Clarke, M. F., & Weissman, I. L. (2001). Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *nature*, 414(6859), 105-111.
- Richmond, C. A., Shah, M. S., Deary, L. T., Trotier, D. C., Thomas, H., Ambruzs, D. M., ... & Breault, D. T. (2015). Dormant intestinal stem cells are regulated by PTEN and nutritional status. *Cell reports*, 13(11), 2403-2411.
- Richmond, C. A., Shah, M. S., Carlone, D. L., & Breault, D. T. (2016). Factors regulating quiescent stem cells: insights from the intestine and other self - renewing tissues. *The Journal of physiology*, 594(17), 4805-4813.
- Robinson, B. A. (2001). Human Stem Cell Research. Ontario Consultants on Religious Tolerance.
- Roche, K. C., Gracz, A. D., Liu, X. F., Newton, V., Akiyama, H., & Magness, S. T. (2015). SOX9 maintains reserve stem cells and preserves radioresistance in mouse small intestine. *Gastroenterology*, 149(6), 1553-1563.
- Rodgers, J. T., King, K. Y., Brett, J. O., Cromie, M. J., Charville, G. W., Maguire, K. K., ... & Rando, T. A. (2014). mTORC1 controls the adaptive transition of quiescent stem cells from G 0 to G Alert. *Nature*, 510(7505), 393-396.
- Rogers, I., & Casper, R. F. (2004). Umbilical cord blood stem cells. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 18(6), 893-908.
- Rossi, D. J., Bryder, D., Zahn, J. M., Ahlenius, H., Sonu, R., Wagers, A. J., & Weissman, I. L. (2005). Cell intrinsic alterations underlie hematopoietic stem cell aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(26), 9194-9199.
- Rossi, D. J., Bryder, D., Seita, J., Nussenzweig, A., Hoeijmakers, J., & Weissman, I. L. (2007). Deficiencies in DNA damage repair limit the function of haematopoietic stem cells with age. *Nature*, 447(7145), 725-729.

- Rossi, D. J., Jamieson, C. H., & Weissman, I. L. (2008). Stems cells and the pathways to aging and cancer. *Cell*, 132(4), 681-696.
- Rozo, M., Li, L., & Fan, C. M. (2016). Targeting β 1-integrin signaling enhances regeneration in aged and dystrophic muscle in mice. *Nature medicine*, 22(8), 889-896.
- Sacchetti, B., Funari, A., Michienzi, S., Di Cesare, S., Piersanti, S., Saggio, I., ... & Bianco, P. (2007). Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell*, 131(2), 324-336.
- Sage, E. K., Loebinger, M. R., Polak, J., & Janes, S. M. (2008). The role of bone marrow-derived stem cells in lung regeneration and repair. *StemBook [Internet]*.
- Saito, Y., Uchida, N., Tanaka, S., Suzuki, N., Tomizawa-Murasawa, M., Sone, A., ... & Ishikawa, F. (2010). Induction of cell cycle entry eliminates human leukemia stem cells in a mouse model of AML. *Nature biotechnology*, 28(3), 275-280.
- Satoh, Y., Matsumura, I., Tanaka, H., Ezoe, S., Sugahara, H., Mizuki, M., ... & Kanakura, Y. (2004). Roles for c-Myc in self-renewal of hematopoietic stem cells. *Journal of Biological Chemistry*, 279(24), 24986-24993.
- Savatier, P., Huang, S., Szekely, L., Wiman, K. G., & Samarut, J. (1994). Contrasting patterns of retinoblastoma protein expression in mouse embryonic stem cells and embryonic fibroblasts. *Oncogene*, 9(3), 809-818.
- Scadden, D. T. (2006). The stem-cell niche as an entity of action. *Nature*, 441(7097), 1075-1079.
- Schmittwolf, C., Porsch, M., Greiner, A., Avots, A., & Müller, A. M. (2005). HOXB4 confers a constant rate of in vitro proliferation to transduced bone marrow cells. *Oncogene*, 24(4), 561-572.
- Schöler, H. R. (2007). The potential of stem cells: an inventory in: Humanbiotechnology as Social Challenge (Nikolaus Knoepffler, DSaSLS, Ed.).
- Schultz, E., Gibson, M. C., & Champion, T. (1978). Satellite cells are mitotically quiescent in mature mouse muscle: an EM and radioautographic study. *Journal of Experimental Zoology*, 206(3), 451-456.
- Schuppan, D., & Afdhal, N. H. (2008). Liver cirrhosis. *The Lancet*, 371(9615), 838-851.
- Schwartz, S. D., Hubschman, J. P., Heilwell, G., Franco-Cardenas, V., Pan, C. K., Ostrick, R. M., ... & Lanza, R. (2012). Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *The Lancet*, 379(9817), 713-720.

Shamblott, M. J., Axelman, J., Littlefield, J. W., Blumenthal, P. D., Huggins, G. R., Cui, Y., ... & Gearhart, J. D. (2001). Human embryonic germ cell derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(1), 113-118.

Shen, W. H., Balajee, A. S., Wang, J., Wu, H., Eng, C., Pandolfi, P. P., & Yin, Y. (2007). Essential role for nuclear PTEN in maintaining chromosomal integrity. *Cell*, 128(1), 157-170.

Sherr, C. J. (2000). The Pezcoller lecture: cancer cell cycles revisited. *Cancer research*, 60(14), 3689-3695.

Shin, J., Berg, D. A., Zhu, Y., Shin, J. Y., Song, J., Bonaguidi, M. A., ... & Song, H. (2015). Single-cell RNA-seq with waterfall reveals molecular cascades underlying adult neurogenesis. *Cell stem cell*, 17(3), 360-372.

Shorning, B. Y., Zabkiewicz, J., McCarthy, A., Pearson, H. B., Winton, D. J., Sansom, O. J., ... & Clarke, A. R. (2009). Lkb1 deficiency alters goblet and paneth cell differentiation in the small intestine. *PloS one*, 4(1), e4264.

Signer, R. A., Magee, J. A., Salic, A., & Morrison, S. J. (2014). Haematopoietic stem cells require a highly regulated protein synthesis rate. *Nature*, 509(7498), 49-54.

Simsek, T., Kocabas, F., Zheng, J., DeBerardinis, R. J., Mahmoud, A. I., Olson, E. N., ... & Sadek, H. A. (2010). The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche. *Cell stem cell*, 7(3), 380-390.

Signer, R. A., Montecino-Rodriguez, E., Witte, O. N., McLaughlin, J., & Dorshkind, K. (2007). Age-related defects in B lymphopoiesis underlie the myeloid dominance of adult leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 110(6), 1831-1839.

Singh, R., & Cuervo, A. M. (2011). Autophagy in the cellular energetic balance. *Cell metabolism*, 13(5), 495-504.

Song, M. S., Salmena, L., & Pandolfi, P. P. (2012). The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. *Nature reviews Molecular cell biology*, 13(5), 283-296.

Sosa, M. S., Parikh, F., Maia, A. G., Estrada, Y., Bosch, A., Bragado, P., ... & Aguirre-Ghiso, J. A. (2015). NR2F1 controls tumour cell dormancy via SOX9-and RAR β -driven quiescence programmes. *Nature communications*, 6(1), 1-14.

Spradling, A., Drummond-Barbosa, D., & Kai, T. (2001). Stem cells find their niche. *Nature*, 414(6859), 98-104.

Stead, E., White, J., Faast, R., Conn, S., Goldstone, S., Rathjen, J., ... & Dalton, S. (2002). Pluripotent cell division cycles are driven by ectopic Cdk2, cyclin A/E and E2F activities. *Oncogene*, 21(54), 8320-8333.

Stier, S., Ko, Y., Forkert, R., Lutz, C., Neuhaus, T., Grünewald, E., ... & Scadden, D. T. (2005). Osteopontin is a hematopoietic stem cell niche component that negatively regulates stem cell pool size. *The Journal of experimental medicine*, 201(11), 1781-1791.

Sudo, K., Ema, H., Morita, Y., & Nakauchi, H. (2000). Age-associated characteristics of murine hematopoietic stem cells. *The Journal of experimental medicine*, 192(9), 1273-1280.

Sun, L., Akiyama, K., Zhang, H., Yamaza, T., Hou, Y., Zhao, S., ... & Shi, S. (2009). Mesenchymal stem cell transplantation reverses multiorgan dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans. *Stem cells*, 27(6), 1421-1432.

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

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

Takeishi, S., Matsumoto, A., Onoyama, I., Naka, K., Hirao, A., & Nakayama, K. I. (2013). Ablation of Fbxw7 eliminates leukemia-initiating cells by preventing quiescence. *Cancer cell*, 23(3), 347-361.

Takubo, K., Goda, N., Yamada, W., Iriuchishima, H., Ikeda, E., Kubota, Y., ... & Suda, T. (2010). Regulation of the HIF-1 α level is essential for hematopoietic stem cells. *Cell stem cell*, 7(3), 391-402.

Tang, A. H., & Rando, T. A. (2014). Induction of autophagy supports the bioenergetic demands of quiescent muscle stem cell activation. *The EMBO journal*, 33(23), 2782-2797.

Tesar, P. J., Chenoweth, J. G., Brook, F. A., Davies, T. J., Evans, E. P., Mack, D. L., ... & McKay, R. D. (2007). New cell lines from mouse epiblast share defining features with human embryonic stem cells. *Nature*, 448(7150), 196-199.

Tetteh, P. W., Basak, O., Farin, H. F., Wiebrands, K., Kretzschmar, K., Begthel, H., ... & Clevers, H. (2016). Replacement of lost Lgr5-positive stem cells through plasticity of their enterocyte-lineage daughters. *Cell stem cell*, 18(2), 203-213.

Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S., & Jones, J. M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *science*, 282(5391), 1145-1147.

Thompson, B. J., Jankovic, V., Gao, J., Buonamici, S., Vest, A., Lee, J. M., ... & Aifantis, I. (2008). Control of hematopoietic stem cell quiescence by the E3 ubiquitin ligase Fbw7. *The Journal of experimental medicine*, 205(6), 1395-1408.

Tothova, Z., Kollipara, R., Huntly, B. J., Lee, B. H., Castrillon, D. H., Cullen, D. E., ... & Gilliland, D. G. (2007). FoxOs are critical mediators of hematopoietic stem cell resistance to physiologic oxidative stress. *Cell*, 128(2), 325-339.

Tsai, Y. H., VanDussen, K. L., Sawey, E. T., Wade, A. W., Kasper, C., Rakshit, S., ... & Dempsey, P. J. (2014). ADAM10 regulates Notch function in intestinal stem cells of mice. *Gastroenterology*, 147(4), 822-834.

Tsai, R. Y. (2016). Balancing self-renewal against genome preservation in stem cells: How do they manage to have the cake and eat it too?. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73(9), 1803-1823.

Tumbar, T., Guasch, G., Greco, V., Blanpain, C., Lowry, W. E., Rendl, M., & Fuchs, E. (2004). Defining the epithelial stem cell niche in skin. *Science*, 303(5656), 359-363.

Tyndall, A. (2012). Application of autologous stem cell transplantation in various adult and pediatric rheumatic diseases. *Pediatric research*, 71(2), 433-438.

Uccelli, A., Moretta, L., & Pistoia, V. (2008). Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nature reviews immunology*, 8(9), 726-736.

Urciuolo, A., Quarta, M., Morbidoni, V., Gattazzo, F., Molon, S., Grumati, P., ... & Bonaldo, P. (2013). Collagen VI regulates satellite cell self-renewal and muscle regeneration. *Nature communications*, 4(1), 1-13.

Yang, L., Wang, L., Geiger, H., Cancelas, J. A., Mo, J., & Zheng, Y. (2007). Rho GTPase Cdc42 coordinates hematopoietic stem cell quiescence and niche interaction in the bone marrow. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(12), 5091-5096.

Yeo, H., Lyssiotis, C. A., Zhang, Y., Ying, H., Asara, J. M., Cantley, L. C., & Paik, J. H. (2013). FoxO3 coordinates metabolic pathways to maintain redox balance in neural stem cells. *The EMBO journal*, 32(19), 2589-2602.

Yilmaz, Ö. H., Valdez, R., Theisen, B. K., Guo, W., Ferguson, D. O., Wu, H., & Morrison, S. J. (2006). Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature*, 441(7092), 475-482.

Ying, Q. L., Nichols, J., Chambers, I., & Smith, A. (2003). BMP induction of Id proteins suppresses differentiation and sustains embryonic stem cell self-renewal in collaboration with STAT3. *Cell*, 115(3), 281-292.

Yoshida, K., Hirabayashi, Y., Watanabe, F., Sado, T., & Inoue, T. (2006). Caloric restriction prevents radiation-induced myeloid leukemia in C3H/HeMs mice and inversely increases incidence of tumor-free death: implications in changes in number of hemopoietic progenitor cells. *Experimental hematology*, 34(3), 274-283.

Yoshihara, H., Arai, F., Hosokawa, K., Hagiwara, T., Takubo, K., Nakamura, Y., ... & Suda, T. (2007). Thrombopoietin/MPL signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. *Cell stem cell*, 1(6), 685-697.

Yu, H., Yuan, Y., Shen, H., & Cheng, T. (2006). Hematopoietic stem cell exhaustion impacted by p18INK4C and p21Cip1/Waf1 in opposite manners. *Blood*, 107(3), 1200-1206.

Yuan, Y., Shen, H., Franklin, D. S., Scadden, D. T., & Cheng, T. (2004). In vivo self-renewing divisions of haematopoietic stem cells are increased in the absence of the early G1-phase inhibitor, p18INK4C. *Nature cell biology*, 6(5), 436-442.

VanDussen, K. L., Carulli, A. J., Keeley, T. M., Patel, S. R., Puthoff, B. J., Magness, S. T., ... & Samuelson, L. C. (2012). Notch signaling modulates proliferation and differentiation of intestinal crypt base columnar stem cells. *Development*, 139(3), 488-497.

Van Landeghem, L., Santoro, M. A., Krebs, A. E., Mah, A. T., Dehmer, J. J., Gracz, A. D., ... & Lund, P. K. (2012). Activation of two distinct Sox9-EGFP-expressing intestinal stem cell populations during crypt regeneration after irradiation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 302(10), G1111-G1132.

Van Landeghem, L., Santoro, M. A., Mah, A. T., Krebs, A. E., Dehmer, J. J., McNaughton, K. K., ... & Lund, P. K. (2015). IGF1 stimulates crypt expansion via differential activation of 2 intestinal stem cell populations. *The FASEB Journal*, 29(7), 2828-2842.

Van Os, R., Kamminga, L. M., Ausema, A., Bystrikh, L. V., Draijer, D. P., Van Pelt, K., ... & De Haan, G. (2007). A Limited role for p21Cip1/Waf1 in maintaining normal hematopoietic stem cell functioning. *Stem cells*, 25(4), 836-843.

Vaudry, D., Stork, P. J. S., Lazarovici, P., & Eiden, L. E. (2002). Signaling pathways for PC12 cell differentiation: making the right connections. *Science*, 296(5573), 1648-1649.

Verhulst, S., Best, J., van Grunsven, L. A., & Dollé, L. (2015). Advances in hepatic stem/progenitor cell biology. *EXCLI journal*, 14, 33.

Viatour, P., Somervaille, T. C., Venkatasubrahmanyam, S., Kogan, S., McLaughlin, M. E., Weissman, I. L., ... & Sage, J. (2008). Hematopoietic stem cell quiescence is maintained by compound contributions of the retinoblastoma gene family. *Cell stem cell*, 3(4), 416-428.

Vivanco, I., & Sawyers, C. L. (2002). The phosphatidylinositol 3-kinase-AKT pathway in human cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2(7), 489-501.

Walkley, C. R., Olsen, G. H., Dworkin, S., Fabb, S. A., Swann, J., McArthur, G. A., ... & Purton, L. E. (2007a). A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor γ deficiency. *Cell*, 129(6), 1097-1110.

Walkley, C. R., Shea, J. M., Sims, N. A., Purton, L. E., & Orkin, S. H. (2007b). Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. *Cell*, 129(6), 1081-1095.

Wang, Y. Z., Plane, J. M., Jiang, P., Zhou, C. J., & Deng, W. (2011). Concise review: quiescent and active states of endogenous adult neural stem cells: identification and characterization. *Stem Cells*, 29(6), 907-912.

Wang, Q., Bu, S., Xin, D., Li, B., Wang, L., & Lai, D. (2018). Autophagy is indispensable for the self-renewal and quiescence of ovarian cancer spheroid cells with stem cell-like properties. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.

Wang, D., Zhang, Z., O'Loughlin, E., Wang, L., Fan, X., Lai, E. C., & Yi, R. (2013). MicroRNA-205 controls neonatal expansion of skin stem cells by modulating the PI (3) K pathway. *Nature cell biology*, 15(10), 1153-1163.

Weinberg, R. A. (1995). The retinoblastoma protein and cell cycle control. *cell*, 81(3), 323-330.

Welcker, M., & Clurman, B. E. (2008). FBW7 ubiquitin ligase: a tumour suppressor at the crossroads of cell division, growth and differentiation. *Nature reviews Cancer*, 8(2), 83-93.

- Wert, G. D., & Mummery, C. (2003). Human embryonic stem cells: research, ethics and policy. *Human reproduction*, 18(4), 672-682.
- Wilson, A., Laurenti, E., Oser, G., van der Wath, R. C., Blanco-Bose, W., Jaworski, M., ... & Trumpp, A. (2008). Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell*, 135(6), 1118-1129.
- Wilson, A., & Trumpp, A. (2006). Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nature Reviews Immunology*, 6(2), 93-106.
- Windley III, W., Teixeira, F., Levin, L., Sigurdsson, A., & Trope, M. (2005). Disinfection of immature teeth with a triple antibiotic paste. *Journal of endodontics*, 31(6), 439-443.
- Wise, A. F., & Ricardo, S. D. (2012). Mesenchymal stem cells in kidney inflammation and repair. *Nephrology*, 17(1), 1-10.
- Wollert, K. C., & Drexler, H. (2005). Clinical applications of stem cells for the heart. *Circulation research*, 96(2), 151-163.
- Wong, S., & Witte, O. N. (2004). The BCR-ABL story: bench to bedside and back. *Annual review of immunology*, 22, 247.
- Xie, C. G., Wang, J. F., Xiang, Y., Qiu, L. Y., Jia, B. B., Wang, L. J., ... & Huang, G. P. (2006). Cocultivation of umbilical cord blood CD34⁺ cells with retro-transduced hMSCs leads to effective amplification of long-term culture-initiating cells. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 12(3), 393.
- Xu, N., Papagiannakopoulos, T., Pan, G., Thomson, J. A., & Kosik, K. S. (2009). MicroRNA-145 regulates OCT4, SOX2, and KLF4 and represses pluripotency in human embryonic stem cells. *Cell*, 137(4), 647-658.
- Zetterberg, A., & Larsson, O. (1985). Kinetic analysis of regulatory events in G1 leading to proliferation or quiescence of Swiss 3T3 cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(16), 5365-5369.
- Zhang, L., & Chan, C. (2010). Isolation and enrichment of rat mesenchymal stem cells (MSCs) and separation of single-colony derived MSCs. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (37), e1852.
- Zhang, X., & Huang, J. (2010). Integrative genome-wide approaches in embryonic stem cell research. *Integrative Biology*, 2(10), 510-516.
- Zhang, J., Grindley, J. C., Yin, T., Jayasinghe, S., He, X. C., Ross, J. T., ... & Li, L. (2006). PTEN maintains haematopoietic stem cells and acts in lineage choice and leukaemia prevention. *Nature*, 441(7092), 518-522.

Zhang, J., Niu, C., Ye, L., Huang, H., He, X., Tong, W. G., ... & Li, L. (2003). Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature*, 425(6960), 836-841.

Zhao, M., Perry, J. M., Marshall, H., Venkatraman, A., Qian, P., He, X. C., ... & Li, L. (2014). Megakaryocytes maintain homeostatic quiescence and promote post-injury regeneration of hematopoietic stem cells. *Nature medicine*, 20(11), 1321-1326.

Ziebell, F., Dehler, S., Martin-Villalba, A., & Marciniak-Czochra, A. (2018). Revealing age-related changes of adult hippocampal neurogenesis using mathematical models. *Development*, 145(1), dev153544.

Zismanov, V., Chichkov, V., Colangelo, V., Jamet, S., Wang, S., Syme, A., ... & Crist, C. (2016). Phosphorylation of eIF2 α is a translational control mechanism regulating muscle stem cell quiescence and self-renewal. *Cell stem cell*, 18(1), 79-90.

Zou, P., Yoshihara, H., Hosokawa, K., Tai, I., Shinmyozu, K., Tsukahara, F., ... & Suda, T. (2011). p57Kip2 and p27Kip1 cooperate to maintain hematopoietic stem cell quiescence through interactions with Hsc70. *Cell stem cell*, 9(3), 247-261.

Zulewski, H., Abraham, E. J., Gerlach, M. J., Daniel, P. B., Moritz, W., Muller, B., ... & Habener, J. F. (2001). Multipotential nestin-positive stem cells isolated from adult pancreatic islets differentiate ex vivo into pancreatic endocrine, exocrine, and hepatic phenotypes. *Diabetes*, 50(3), 521-533.