

2 Επεκτεινόμενοι (Δυνητικά αναγεννώμενοι, expanding). Έτσι χαρακτηρίζονται οι ιστοί που αναπτύσσονται κατά την αύξηση του ζώου και σταματούν κατά την ενηλικίωσή του. Στο ενήλικο άτομο οι ιστοί αυτοί είναι κατά κύριο λόγο ηρεμούντες, παρόλο που ενδέχεται να συμβαίνει ανακύκλωση των κυττάρων τους με αργό ρυθμό. Οι επεκτεινόμενοι ιστοί διατηρούν, σε μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό, την ικανότητα αύξησης μετά από τραυματισμό. Σε αυτή την κατηγορία ανήκει ο συνδετικός ιστός, ο λείος μυϊκός ιστός και το ήπαρ.

3 Αναγεννώμενοι (renewal). Οι ιστοί της κατηγορίας αυτής βρίσκονται σε συνεχή κατάσταση κυτταρικής ανακύκλωσης. Συνήθως υπάρχει μία ενεργή ζώνη πολλαπλασιασμού η οποία περιέχει βλαστοκύτταρα (βλ. παρακάτω) και τροφοδοτεί έναν πληθυσμό διαφοροποιημένων κυττάρων, με πεπερασμένη διάρκεια ζωής. Παραδείγματα αναγεννώμενων ιστών αποτελούν το αίμα, η επιδερμίδα και το επιθήλιο του εντέρου.

Ένας τομέας της Βιολογίας Ανάπτυξης εστιάζεται στη μελέτη αναγεννώμενων ιστών, όπως αυτοί που περιγράφονται παρακάτω. Φυσικά, η ανανέωση αναφέρεται τόσο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό όσο και στον κυτταρικό θάνατο. Η μέτρηση του δείκτη απόπτωσης γίνεται με διάφορες μεθόδους. Οι πιο δημοφιλείς είναι η ανοσοϊστοχημεία με αντίσωμα έναντι κάποιας πρωτεΐνης που σχετίζεται με την απόπτωση, όπως οι κασπάσες. Εναλλακτικά, η μέτρηση των αποπτωτικών κυττάρων είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί με τη χρήση της μεθόδου TUNEL (ανίχνευση θραυσμάτων μέσω ακραίας σήμανσης, TdT-mediated dUTP Nick End Labeling). Με τη μέθοδο αυτή ανιχνεύονται θραύσματα του DNA των αποπτωτικών κυττάρων. Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιείται το ένζυμο τελική νουκλεοτιδική τρανσφεράση, το οποίο προσθέτει ένα τροποποιημένο νουκλεοτίδιο, σημασμένο συνήθως με βιοτίνη, στο κατακερματισμένο DNA του κυττάρου που υπόκειται σε απόπτωση. Στη συνέχεια, στο δείγμα που περιέχει τα σημασμένα πλέον με βιοτίνη θραύσματα DNA προστίθεται στρεπταβιδίνη. Η στρεπταβιδίνη φέρει συζευγμένη μια φθορίζουσα ομάδα ή κάποιο ένζυμο που επιτρέπει ανίχνευσή της.

Παρόλο που οι περισσότερες μετρήσεις του ρυθμού κυτταρικής ανανέωσης στηρίζονται στις μετρήσεις του ποσοστού των διαιρούμενων κυττάρων ή του ποσοστού των αποπτωτικών κυττάρων, για την κατανόηση της κατάστασης ενός ιστού απαιτείται στην πραγματικότητα η μέτρηση τόσο του ρυθμού παραγωγής κυττάρων όσο και του ρυθμού του κυτταρικού θανάτου. Για να υπολογιστεί ο ρυθμός παραγωγής κυττάρων, θα πρέπει να είναι γνωστή, εκτός από το μιτωτικό δείκτη της φάσης S, η διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, καθώς και η διάρκεια της φάσης S. Για παράδειγμα, εάν τα κύττα-

ρα διαιρούνται κατά μέσο όρο μία φορά κάθε 24 ώρες και η φάση S διαρκεί 6 ώρες, τότε ένας βραχύς παλμός BrdU θα επέτρεπε την παρατήρηση 6/24, δηλαδή του ενός τετάρτου, των διαιρούμενων κυττάρων. Στην περίπτωση αυτή, λοιπόν, ο ρυθμός παραγωγής κυττάρων είναι περίπου 4 φορές μεγαλύτερος από το δείκτη πολλαπλασιασμού. Ο ρυθμός κυτταρικού θανάτου σπάνια υπολογίζεται και συχνά υποεκτιμάται. Επειδή η διάρκεια της απόπτωσης είναι αρκετά μικρή (1-4 ώρες), ο ρυθμός του κυτταρικού θανάτου ανά 24 ώρες είναι πολλαπλάσιος του δείκτη απόπτωσης. Για παράδειγμα, εάν ο δείκτης απόπτωσης είναι 1% και τα κύτταρα που πεθαίνουν είναι δυνατόν να ανιχνευθούν μόνο για 2 ώρες, τότε ο ρυθμός κυτταρικού θανάτου είναι στην πραγματικότητα περίπου $1 \times (24/2)$ ή 12% ημερησίως.

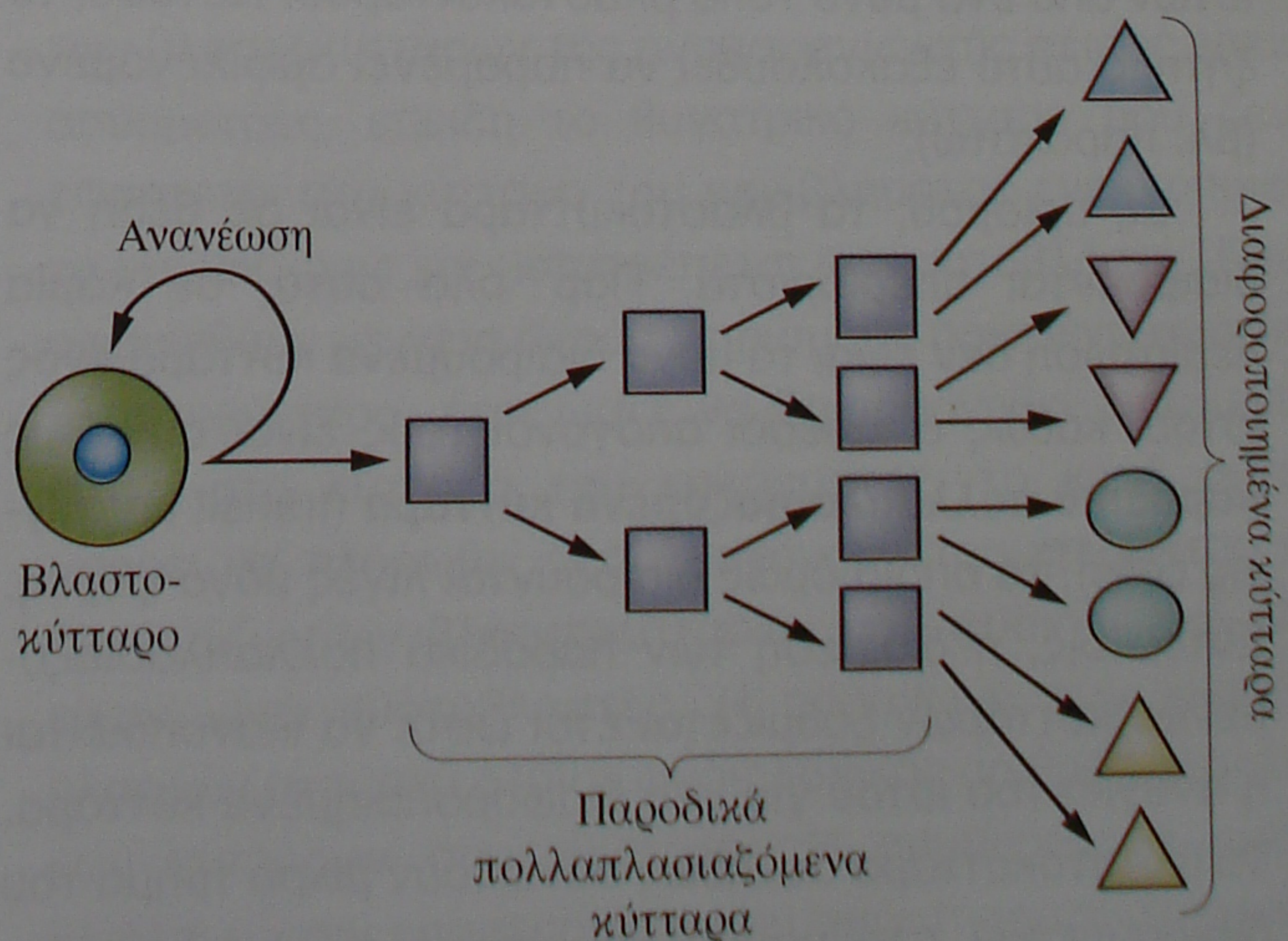
Βλαστοκύτταρα

Ως βλαστοκύτταρα (ή βλαστικά κύτταρα, stem cells, Εικ. 13.5) ορίζονται κύτταρα τα οποία:

- 1 Διαθέτουν δυνατότητα απεριόριστου πολλαπλασιασμού.
- 2 Δεν εμφανίζουν μορφολογική διαφοροποίηση.
- 3 Οι απόγονοί τους είναι είτε βλαστοκύτταρα είτε κύτταρα που πρόκειται να διαφοροποιηθούν.

Ορισμένοι τύποι βλαστοκυττάρων εμφανίζουν και μερικά άλλα χαρακτηριστικά:

- 1 Οι απόγονοί τους είναι δυνατόν να διαφοροποιηθούν σε περισσότερους από έναν κυτταρικούς τύπους (**πολυδύναμα**, pluripotent).
- 2 Υπόκεινται υποχρεωτικά σε **ασύμμετρη διαίρεση** (unequal division), από την οποία προκύπτουν δύο θυγατρικά κύτταρα, ένα βλαστοκύτταρο και ένα κύτταρο που εισέρχεται σε πορεία διαφοροποίησης.



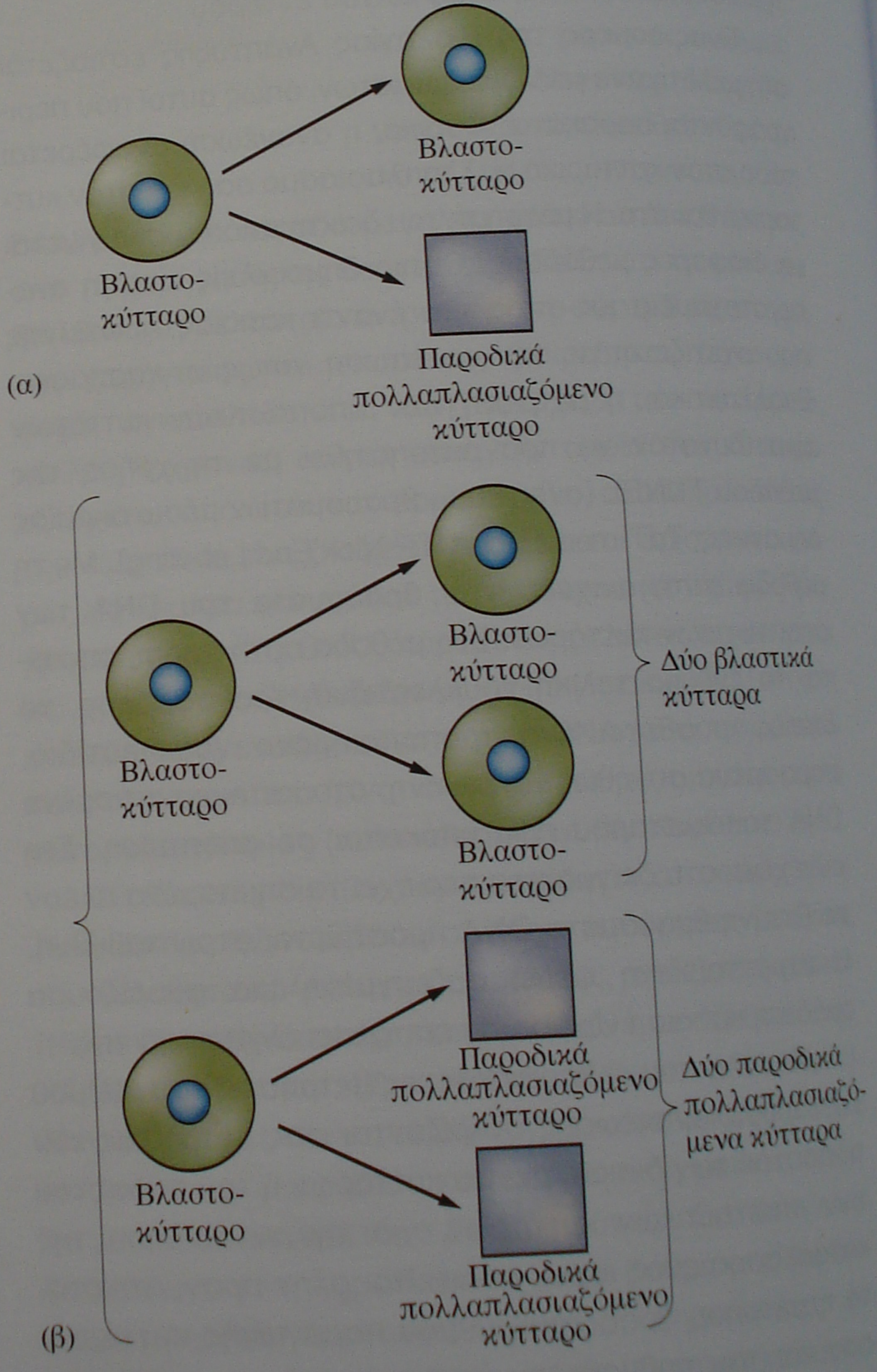
Εικ. 13.5 Κυτταρική γενεαλογία σε έναν αναγεννώμενο ιστό που περιλαμβάνει βλαστοκύτταρα, παροδικά πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα και διαφοροποιημένα κύτταρα.

Τα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (κύτταρα ES, βλ. Κεφάλαιο 10) θεωρούνται όμοια με τα κύτταρα της εμβρυϊκής επιβλάστης των θηλαστικών ή με τα κύτταρα της εσωτερικής κυτταρικής μάζας και οι απόγονοί τους είναι σε θέση να διαφοροποιηθούν σε όλους τους κυτταρικούς τύπους του εμβρύου. Τα **βλαστοκύτταρα ενήλικου** (tissue stem cells, adult stem cells) απαντώνται σε ιστούς με αναγεννητική ικανότητα, έχουν περιορισμένο αναπτυξιακό δυναμικό και έτσι οι απόγονοί τους διαφοροποιούνται σε κύτταρα ενός συγκεκριμένου ιστού. Για παράδειγμα, από ένα εντερικό βλαστοκύτταρο σχηματίζονται αποκλειστικά κυτταρικοί τύποι που απαντώνται στο έντερο και από ένα επιδερμικό βλαστοκύτταρο μόνο κερατινοκύτταρα. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν την ύπαρξη ιεραρχικής οργάνωσης της εμβρυϊκής ανάπτυξης. Σύμφωνα με την άποψη αυτή, από τα κύτταρα του πρώιμου βλαστιδίου ή της επιβλάστης σχηματίζονται απόγονοι όλων των κυτταρικών τύπων, ενώ, καθώς η ανάπτυξη προχωρά, η δυνατότητα αυτή προοδευτικά περιορίζεται. Για παράδειγμα, κατά την πορεία της ανάπτυξης, τα πρόδρομα ενός κυττάρου του εντέρου δεσμεύονται αρχικά να διαφοροποιηθούν σε ενδοδερμικά κύτταρα και κατόπιν σε κύτταρα του εντέρου, ενώ τα εμβρυϊκά πρόδρομα ενός αιμοποιητικού βλαστοκυττάρου δεσμεύονται αρχικά να διαφοροποιηθούν σε μεσοδερμικά κύτταρα και στη συνέχεια σε κύτταρα του αιμοποιητικού ιστού. Σύμφωνα με τα παραπάνω, τα βλαστοκύτταρα κάθε κυτταρικού τύπου μπορεί να είναι αρκετά όμοια με τα κύτταρα της αντίστοιχης καταβολής του οργάνου στο **φυλοτυπικό στάδιο** (phylotypic stage). Αυτή η ιδέα της ομοιότητας μεταξύ βλαστοκυττάρων και καταβολών των εμβρυϊκών ιστών αμφισβητήθηκε από πρόσφατα πειράματα που απέδειξαν ότι είναι δυνατή η επανεποίκιση πολλών ιστών από ένα μόνο τύπο βλαστοκυττάρου. Ωστόσο, το ζήτημα αυτό εξακολουθεί να παραμένει αμφιλεγόμενο (βλ. παρακάτω).

Εξ ορισμού, τα βλαστοκύτταρα είναι σε θέση να διαιρούνται απεριόριστα. Παρ' όλα αυτά, σε καμία περίπτωση δεν είναι τα μόνα διαιρούμενα κύτταρα ενός ιστού, καθώς οι άμεσοι απόγονοί τους είναι συνήθως **παροδικά πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα** (transit amplifying cells), τα οποία όμως διαιρούνται λίγες μόνο φορές. Εντούτοις, η διαίρεση των παροδικά πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων ρυθμίζεται έτσι ώστε να ικανοποιείται η ανάγκη του ιστού για νέα διαφοροποιημένα κύτταρα. Τα βλαστοκύτταρα συνήθως συνιστούν μικρό τμήμα του διαιρούμενου πληθυσμού και γενικά πολλαπλασιάζονται με μικρότερο ρυθμό απ' ό,τι τα παροδικά πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα. Παρά το γεγονός ότι οι διαιρέσεις των βλαστοκυττάρων αποσκοπούν αφενός στη δια-

τήρηση του αριθμού τους και αφετέρου στη διατήρηση των πληθυσμών των παροδικά πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων και των διαφοροποιημένων κυττάρων, οι κυτταρικές τους διαιρέσεις δεν είναι πάντοτε ασύμμετρες. Απαιτείται απλώς, κατά μέσο όρο, οι απόγονοί τους συνολικά να περιλαμβάνουν κατά 50% βλαστοκύτταρα και κατά 50% κύτταρα που προορίζονται για διαφοροποίηση (Εικ. 13.6). Αυτό είναι σημαντικό, για παράδειγμα, κατά τη διαφοροποίηση των εντερικών κρυπών (βλ. παρακάτω).

Στο σώμα του ενήλικου ατόμου, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός περιορίζεται κατά κύριο λόγο στις περιοχές των αναγεννώμενων ιστών που περιέχουν τα βλαστοκύτταρα και τα παροδικά πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα, ενώ στο υπόλοιπο σώμα τα περισσότερα κύτ-



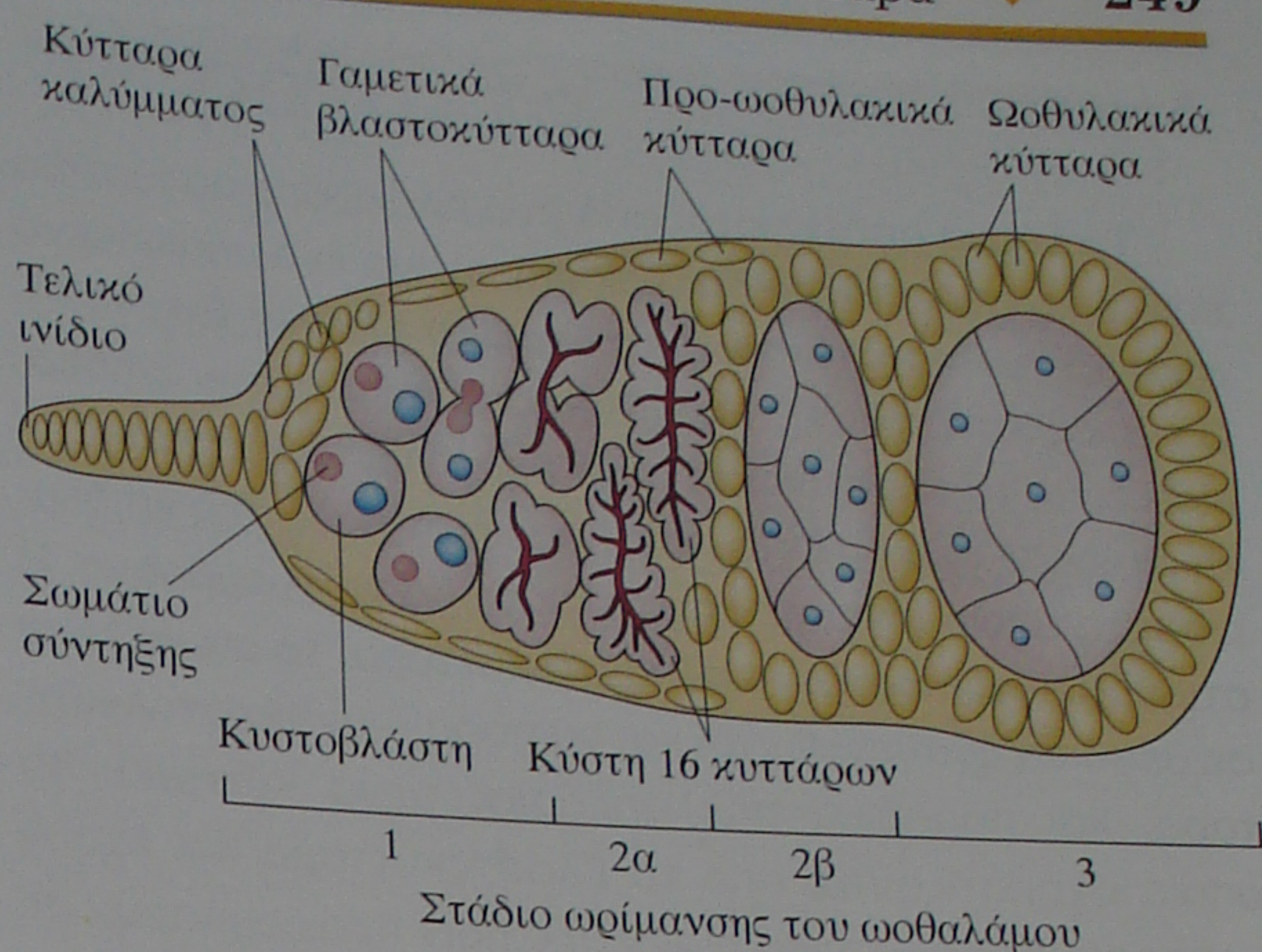
Εικ. 13.6 Τα βλαστοκύτταρα διατηρούνται είτε (α) μέσω επανειλημμένης ασύμμετρης διαίρεσης είτε (β) μέσω διαιρέσεων στις οποίες οι απόγονοι είναι βλαστοκύτταρα και παροδικά πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα σε ίση συχνότητα αλλά από διαφορετικές διαιρέσεις.

ταρα είναι ηρεμούντα. Η κυτταρική διαίρεση τελεί υπό αυστηρό ρυθμιστικό έλεγχο, διότι ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός ακόμη και ενός μόνο κυττάρου θα μπορέσει ανήκεστο βλάβη τον οργανισμό μέσα σε λίγους μήνες.

Μικροπεριβάλλοντα ανάπτυξης βλαστοκυττάρων

Πολλοί ιστοί αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες μονάδες, όπως είναι, για παράδειγμα, οι αδενικές αποτελούν μόνο λειτουργικές μονάδες του ιστού, αλλά και μονάδες στις οποίες οργανώνεται ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός και η κυτταρική ανακύκλωση. Τα βλαστοκύτταρα εντοπίζονται σε ειδικές περιοχές οι οποίες είναι γνωστές ως **μικροπεριβάλλοντα ανάπτυξης βλαστοκυττάρων** (stem cell niche) και είναι απαραίτητες για την επιβίωση και την ανάπτυξη των βλαστοκυττάρων. Εάν τα βλαστοκύτταρα απομακρυνθούν από το μικροπεριβάλλον ανάπτυξής τους, ο πολλαπλασιασμός τους σταματά. Αντίστροφα, εάν επανεισαχθούν στο μικροπεριβάλλον ανάπτυξής τους, ο πολλαπλασιασμός ξεκινά εκ νέου.

Η μοριακή ταυτότητα των μικροπεριβαλλόντων ανάπτυξης βλαστοκυττάρων δεν είναι επαρκώς μελετημένη. Ένα καλά χαρακτηρισμένο παράδειγμα αποτελούν τμήματα της ωοθήκης της *Drosophila*, που ονομάζονται *germarium* (Εικ. 13.7). Η ωοθήκη της *Drosophila* αποτελείται από ανεξάρτητες **ωοθυλακικές μονάδες** (ovarioles). Καθεμία από τις ωοθυλακικές μονάδες αποτελείται από μία σειρά **ωοθαλάμων** (egg chambers) και φέρει στο εμπρόσθιο τμήμα της το *germarium*. Κάθε ωοθάλαμος αποτελείται από ένα ωοκύτταρο και 15 τροφικά κύτταρα που περιβάλλονται από ωοθυλακικά κύτταρα, όπως περιγράφηκε ήδη στο Κεφάλαιο 11. Το ωοκύτταρο και τα τροφικά κύτταρα κάθε ωοθαλάμου σχηματίζονται από τέσσερις διαιρέσεις ενός μόνο κυττάρου στην περιοχή του *germarium*. Το κύτταρο αυτό είναι γνωστό ως **κυστοβλάστης** (cystoblast) και τα πρόδρομά του κύτταρα είναι τα βλαστοκύτταρα της αναπαραγωγικής σειράς (ωογόνια), τα οποία διαιρούνται μιτωτικά περίπου μία φορά την ημέρα. Κάθε *germarium* περιέχει δύο ή τρία ωογόνια, τα οποία γειτνιάζουν με πέντε ή έξι σωματικά κύτταρα που καθορίζουν το μικροπεριβάλλον ανάπτυξης των βλαστοκυττάρων, μέσω της έκκρισης της πρωτεΐνης *decapentaplegic* (*dpp*). Η *dpp* που παράγεται από τα σωματικά κύτταρα καταστέλλει στα παρακείμενα κύτταρα την έκφραση του γονιδίου *bag of marbles* (*bam*). Το *bam* κωδικοποιεί μία κυτταροπλασματική πρωτεΐνη η οποία



Εικ. 13.7 Το μικροπεριβάλλον ανάπτυξης των βλαστοκυττάρων στο *germarium* της ωοθήκης της *Drosophila*.

αλληλεπιδρά με ένα οργανίδιο ειδικό για τα κύτταρα της αναπαραγωγικής σειράς. Το οργανίδιο αυτό καλείται **σωμάτιο σύντηξης** (fusome) και είναι απαραίτητο για την ωρίμανση του κυστοβλάστη. Απουσία του γονιδίου *bam* τα βλαστοκύτταρα δε διαφοροποιούνται, αλλά συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται. Αντίστροφα, η υπερέκφραση του *bam* κάτω από τον έλεγχο ενός υποκινητή που ελέγχεται από αύξηση της θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα τον πρόωρο σχηματισμό του κυστοβλάστη. Τα δεδομένα που αποδεικνύουν ότι η καταστολή του γονιδίου *bam* οφείλεται στο σήμα *dpp* που παράγεται από τα σωματικά κύτταρα του περιβλήματος προέρχονται από πειράματα στα οποία επάγεται υπερέκφραση του *dpp*, γεγονός που έχει το ίδιο αποτέλεσμα με αυτό που προκαλούν οι μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας του *bam*. Φυσιολογικά οι διαιρέσεις των βλαστοκυττάρων της αναπαραγωγικής σειράς είναι ασύμμετρες, επειδή το θυγατρικό κύτταρο που δεν εφάπτεται στα κύτταρα του περιβλήματος ενεργοποιεί το γονίδιο *bam* και μετατρέπεται σε κυστοβλάστη. Εάν αφαιρεθούν με γενετικούς χειρισμούς ορισμένα από τα βλαστοκύτταρα, έτσι ώστε να δημιουργηθεί ένα κενό δίπλα στα κύτταρα του καλύμματος, το κενό αυτό μπορεί να πληρωθεί από απογόνους του επιζώντος ή των επιζώντων βλαστοκυττάρων που φυσιολογικά θα είχαν γίνει κυστοβλάστες. Η παραγωγή των κυστοβλαστών σταματά όταν ο φυσιολογικός αριθμός βλαστικών κυττάρων αποκαθίσταται. Η συμπεριφορά αυτή μοιάζει με την επανεποίκιση που παρατηρείται στο μυελό των οστών των θηλαστικών μετά από ακτινοβολία που ακολουθείται από μεταμόσχευση μυελού από υγιή φορέα (βλ. παρακάτω).