

Ο ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΣΤΡΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ Η ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΤΟΥΣ ΣΤΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΤΗΣ ΑΝΟΣΙΑΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ: ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΠΟ ΙN VITRO ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Παναγιώτης Μαλλής, MSc, PhD

Επιστημονικός Συνεργάτης στην
Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος

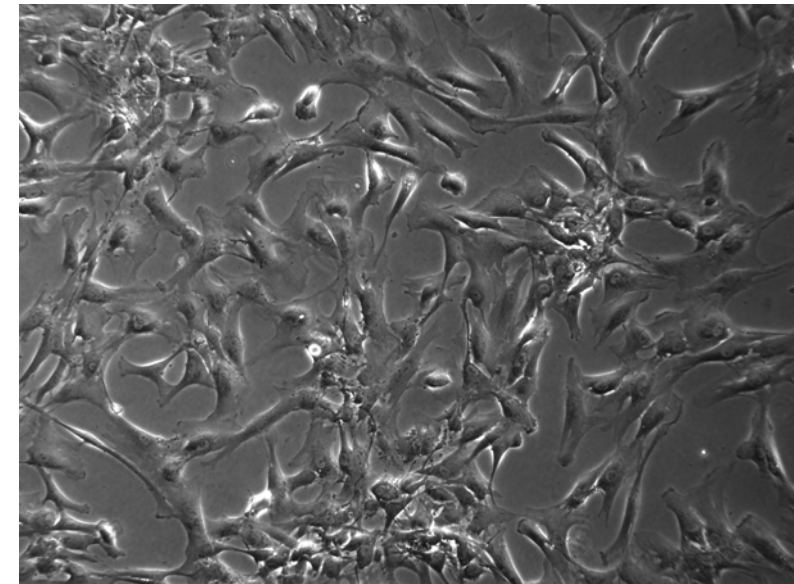


Αθήνα 2024



Μεσεγχυματικά Κύτταρα του Στρώματος – *Mesenchymal Stromal Cells -MSCs*

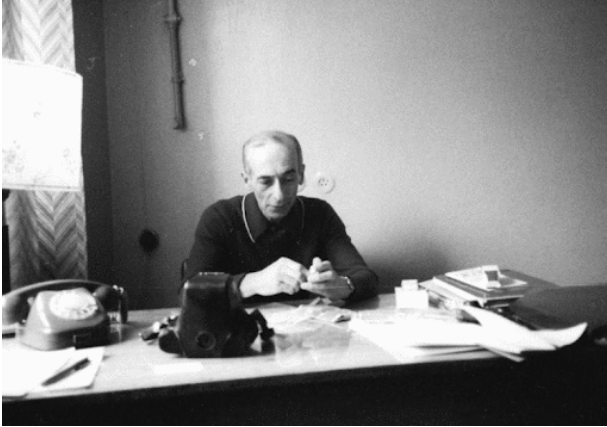
- Ετερογενής πληθυσμός μη αιμοποιητικών στελεχιαίων κυττάρων
- Χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες ιδιότητες π.χ.
 1. Πολλαπλασιασμός
 2. Διαφοροποίηση
 3. Ανοσορρύθμιση
- Απομονώνονται από διάφορες πηγές
 1. Μυελός των οστών (0.01- 0.001 %)
 2. Λιπώδης Ιστός (1-10%)
 3. Βαρτόνειος γέλη του ομφαλίου λώρου (1%)
 4. Άλλες πηγές – οδοντικός πολφός, αμνιακό υγρό, πλακούντας κ.α.
- Κυρίαρχο χαρακτηριστικό αποτελεί η μορφολογία **ινοβλάστη**



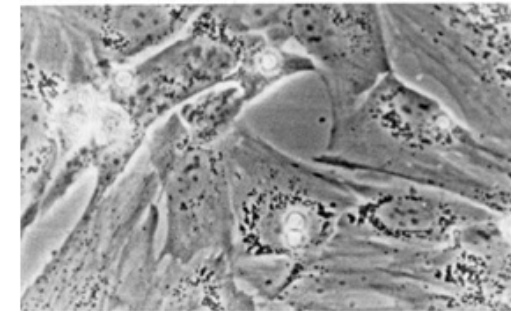
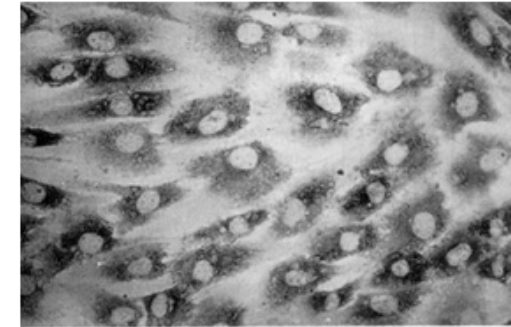
Εικόνα από οπτικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 10x)



- Παρουσιάστηκαν για πρώτη φορά από τον Alexander Friedenstein το 1973



A.J. Friedenstein 1924 -1998



Πρώτες εικόνες των MSCs

Παρατηρήσεις

1. Αποτελούσαν υποπληθισμό των κυττάρων του Μ.Ο.
(Στρώμα του Μ.Ο.)
2. Διέθεταν μορφολογία ινοβλάστη και ικανότητα προσκόλλησης
3. Δυνατότητα διαφοροποίησης πρωτίστως σε «οστεοκύτταρα»
4. Παρέχουν το μικροπεριβάλλον των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων
(A. Maximov 1874 -1928)

Afanasyev B.V. et al. Cellular Therapy and Transplantation, 2009;1 (3): 35-38



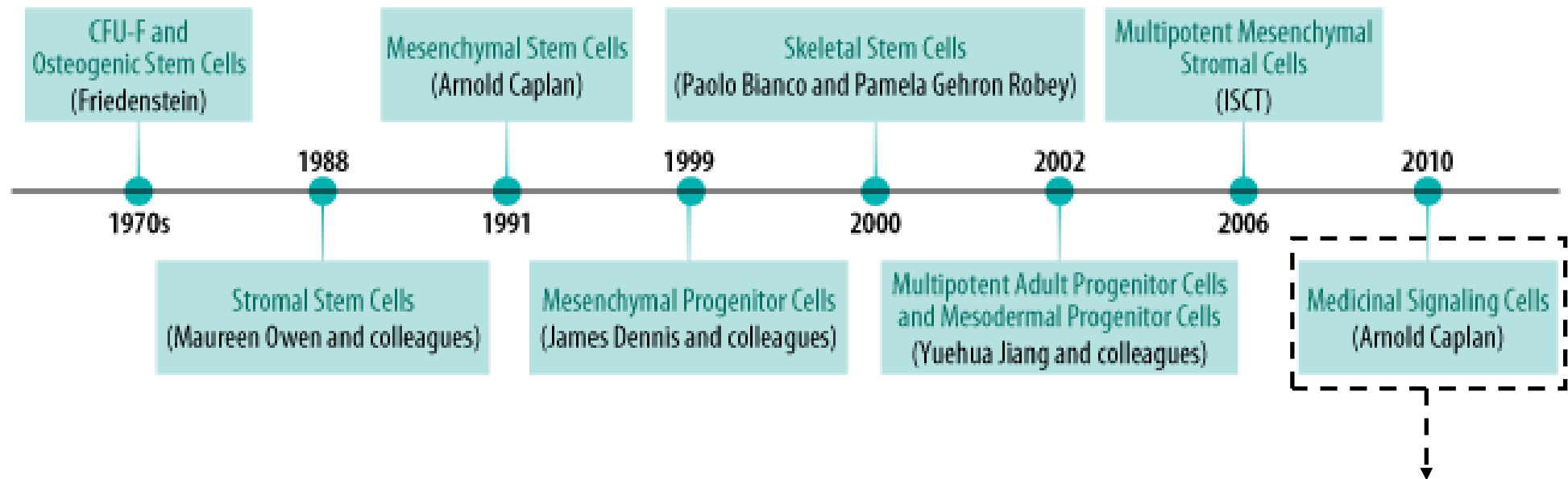
Μεσεγχυματικά Κύτταρα του Στρώματος – *Mesenchymal Stromal Cells -MSCs*

- Παλαιότερες ονομασίες
 1. Μεσεγχυματικά Κύτταρα (**Mesenchymal Cells- MCs**)
 2. Πολυδύναμα Μεσεγχυματικά Στελεχειαία Κύτταρα (**multipotent Mesenchymal Stem Cells- MSCs**)
 3. Μεσεγχυματικά Σηματοδοτικά Κύτταρα (**Medicinal Signaling Cells –MSCs**)
- Επικρατούσα ονομασία σήμερα
(*Σύμφωνα με το τελευταίο ορισμό του 2019*)
- Μεσεγχυματικά Κύτταρα του Στρώματος (**Mesenchymal Stroma Cells –MSCs**)

Η τελευταία ονομασία προσδιορίζει καλύτερα τη πρωταρχική τους ιδιότητα και ως εκ τούτου το σύνολο των χαρακτηριστικών που φέρουν.



History and Timeline of Mesenchymal Stem Cell Nomenclature



- Στηρίζεται στη παρακρινή δράση και αναγεννητική ικανότητα των MSCs
- Δεν έχει τύχει όμως κοινής αποδοχής από την επιστημονική κοινότητα



ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΣΤΡΩΜΑΤΟΣ -MSCS

Σύμφωνα με τη Διεθνή Εταιρεία Κυτταρικών Θεραπειών (*International Society for Cellular and Gene Therapy – ISCT*)

- Το 2006 αποδίδεται ο όρος πολυδύναμα Μεσεγχυματικά Κύτταρα του Στρώματος –**Mesenchymal Stromal Cells-MSCs**
- Κριτήρια MSCs
 1. Ικανότητα προσκόλλησης και μορφολογία ινοβλάστη
 2. Δυνατότητα διαφοροποίησης σε
 - «Οστεοκύτταρα»
 - «Λιποκύτταρα»
 - «Χονδροκύτταρα»
 3. Έκφραση συγκεκριμένων ανοσοφαινοτυπικών χαρακτηριστικών (CD73, CD90, CD105 > 95%, CD34, CD45, HLA-DR < 3%)

POSITION PAPER Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement

M Dominici¹, K Le Blanc², I Mueller³, I Slaper-Cortenbach⁴, FC Marini⁵,
DS Krause⁶, RJ Deans⁷, A Keating⁸, DJ Prockop⁹ and EM Horwitz¹⁰

¹Laboratory of Cell Biology and Advanced Cancer Therapy, Oncology-Hematology Department, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy, ²Center for Allogeneic Stem Cell Transplantation, Department of Laboratory Medicine, Karolinska University Hospital, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden, ³University Children's Hospital, Department of Hematology and Oncology, Tuebingen, Germany, ⁴Department of Medical Immunology, UMC Utrecht, Utrecht, the Netherlands, ⁵Department of Blood and Marrow Transplant, UT-MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA, ⁶Department of Laboratory Medicine, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut, USA, ⁷Atberzyx Inc., Cleveland, Ohio, USA, ⁸Department of Medical Oncology and Hematology Princess Margaret Hospital/Ontario Cancer Institute Toronto, Ontario, Canada, ⁹Center for Gene Therapy, Tulane University Health Sciences Center, New Orleans, Louisiana, USA and ¹⁰Divisions of Stem Cell Transplantation and Experimental Hematology, St Jude Children's Research Hospital, Memphis Tennessee, USA

The considerable therapeutic potential of human multipotent mesenchymal stromal cells (MSC) has generated markedly increasing interest in a wide variety of biomedical disciplines. However, investigators report studies of MSC using different methods of isolation and expansion, and different approaches to characterizing the cells. Thus it is increasingly difficult to compare and contrast study outcomes, which hinders progress in the field. To begin to address this issue, the Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the International Society for Cellular Therapy proposes minimal criteria to define human MSC. First, MSC must be plastic-adherent when maintained

CD73 and CD90, and lack expression of CD45, CD34, CD14 or CD11b, CD79a or CD19 and HLA-DR surface molecules. Third, MSC must differentiate to osteoblasts, adipocytes and chondroblasts in vitro. While these criteria will probably require modification as new knowledge unfolds, we believe this minimal set of standard criteria will foster a more uniform characterization of MSC and facilitate the exchange of data among investigators.

Keywords

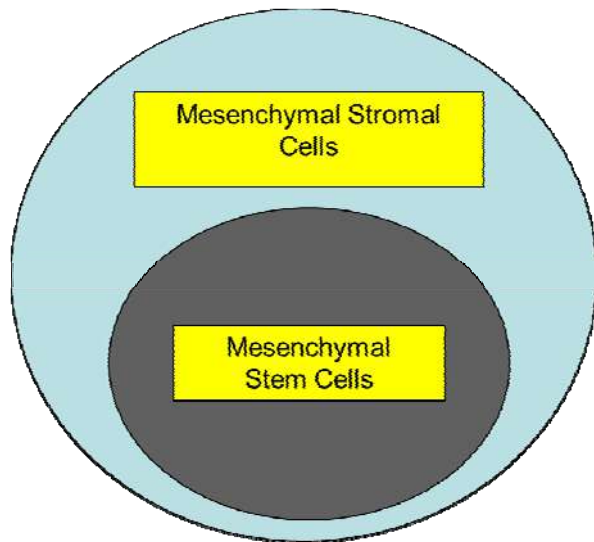
MSC, stem cells, adherent cells, immunobonitors, differentiation.



ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΣΤΡΩΜΑΤΟΣ -MSCS

Σύμφωνα με τη Διεθνή Εταιρεία Κυτταρικών Θεραπειών
(International Society for Cellular and Gene Therapy – ISCT)

- Το 2017 ιδρύεται η αρμόδια επιτροπή για το χαρακτηρισμό των MSCs εντός της ISCT (MSCs Committee)
- Το 2019 αποδίδεται ο όρος Μεσεγχυματικά Κύτταρα του Στρώματος – **Mesenchymal Stromal Cells- MSCs**



Cytotherapy, 2019; 21: 1019–1024

International Society
ISCT
Cell & Gene Therapy

SHORT COMMUNICATION

Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT®) Mesenchymal Stromal Cell committee

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH
NIH Public Access
Author Manuscript
Cytotherapy. Author manuscript; available in PMC 2014 April 08.
Published in final edited form as:
Cytotherapy. 2013 June ; 15(6): 641–648. doi:10.1016/j.jcyt.2013.02.006.

Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics (IFATS) and Science and the International Society for Cellular Therapy (ISCT)

PHILIPPE BOURIN¹, BRUCE A. BUNNELL², LOUIS CASTEILLA³, MASSIMO DOMINICI⁴, ADAM J. KATZ⁵, KEITH L. MARCH⁶, HEINZ REDL⁷, J. PETER RUBIN⁸, KOTARO YOSHIMURA⁹, and JEFFREY M. GIMBLE¹⁰

¹CSA21, Toulouse, France
²Center for Stem Cell Research and Regenerative Medicine, Department of Pharmacology, Tulane University School of Medicine, New Orleans, Louisiana, USA
³StromaLab, UMR UPS/CNRS/EFS 5273, Inserm U1031, Toulouse, France
⁴Laboratory of Cell Biology and Advanced Cancer Therapies, Department of Medical and Surgical Sciences for Adults and Children, University Hospital of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy

NIH-PA Author Manuscript

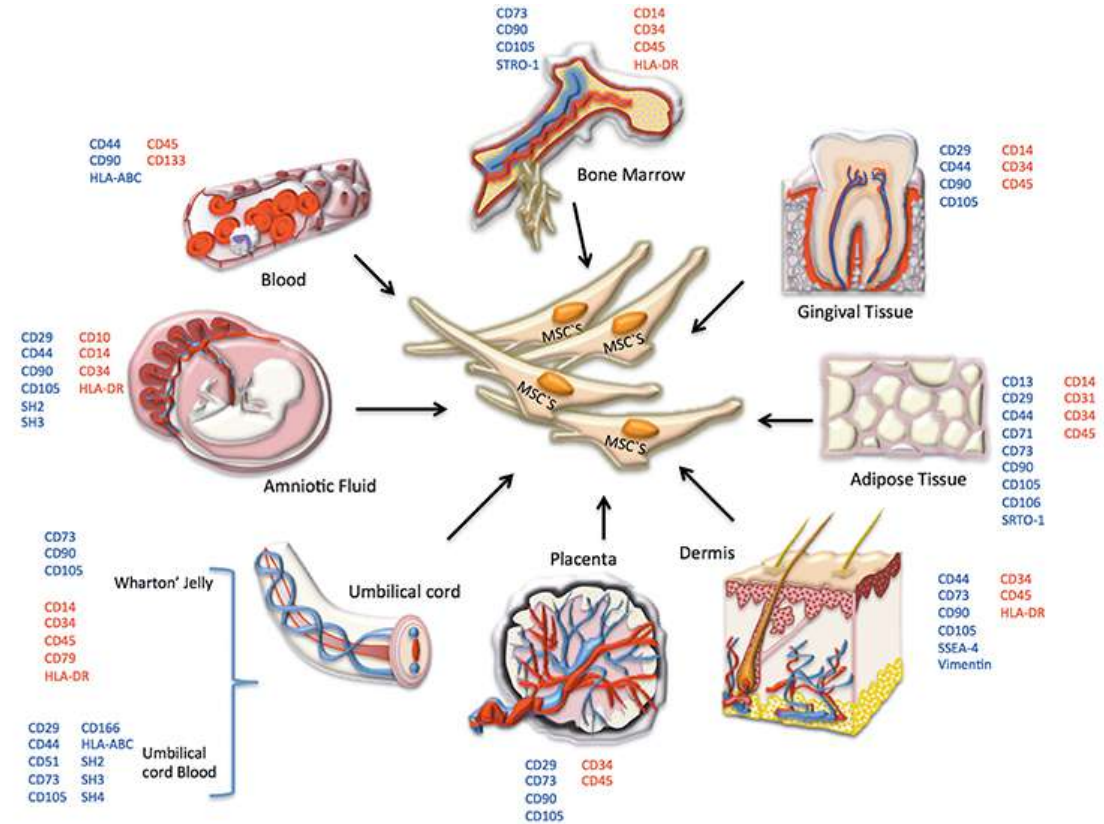


Διάκριση MSCs με βάση τη προέλευση τους

- MSCs εμβρυϊκής προέλευσης
Βαρτόνιος Γέλη, Αμνιακό υγρό, Πλακούντας
- MSCs από ενήλικους ιστούς
Μυελός των Οστών, Λιπώδης Ιστός, Οδοντικός Πολφός

Διαφορές των MSCs

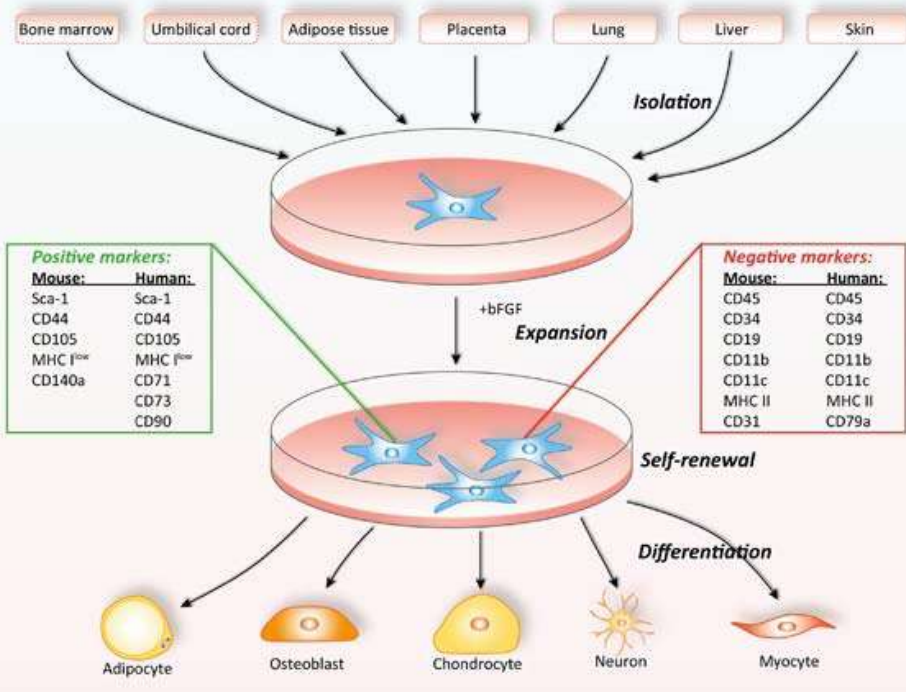
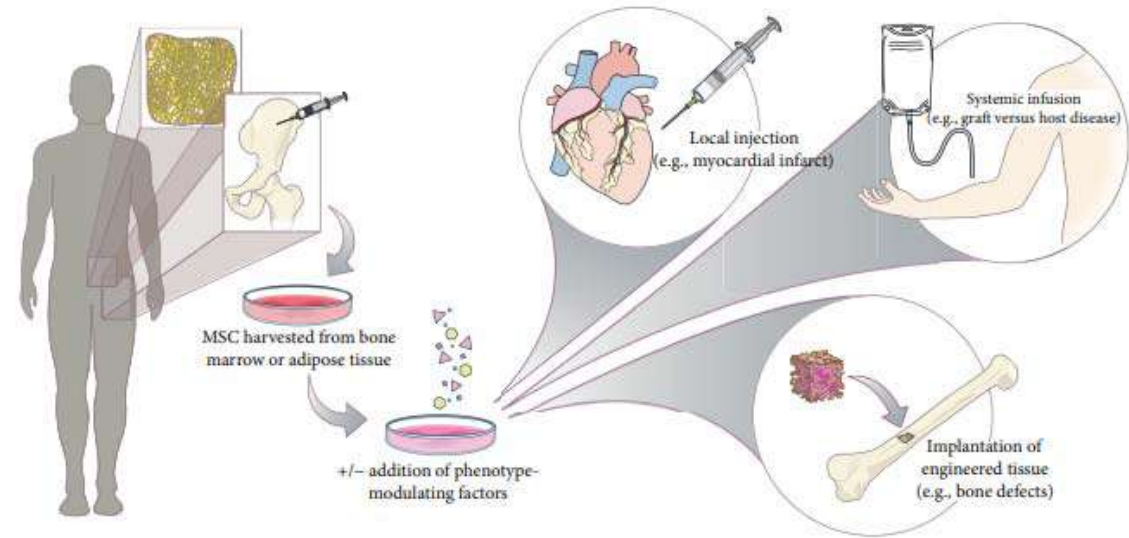
- Πολλαπλασιαστική Ικανότητα
- Ικανότητα διαφοροποίησης
- Ανοσορρυθμιστικές Ιδιότητες





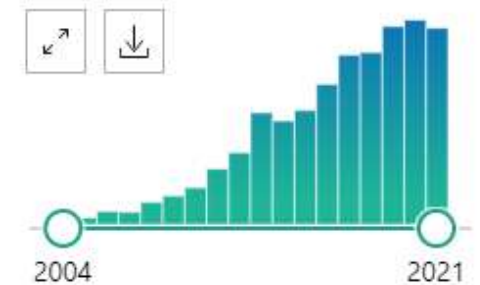
Κύριες Εφαρμογές των MSCs

- Αναγεννητική Ιατρική
- Ιστομηχανική



PubMed.gov

RESULTS BY YEAR



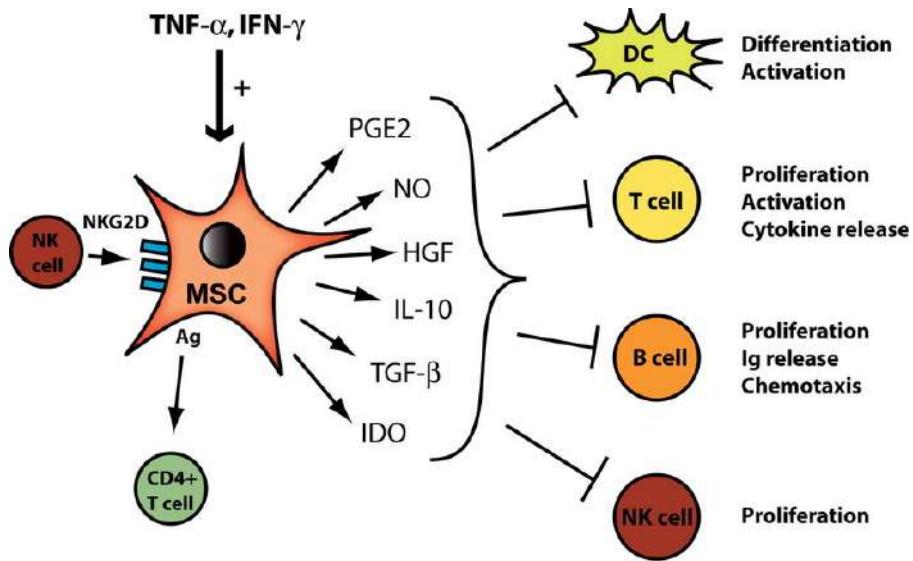


Ποια η σχέση των MSCs με το ανοσοποιητικό σύστημα;

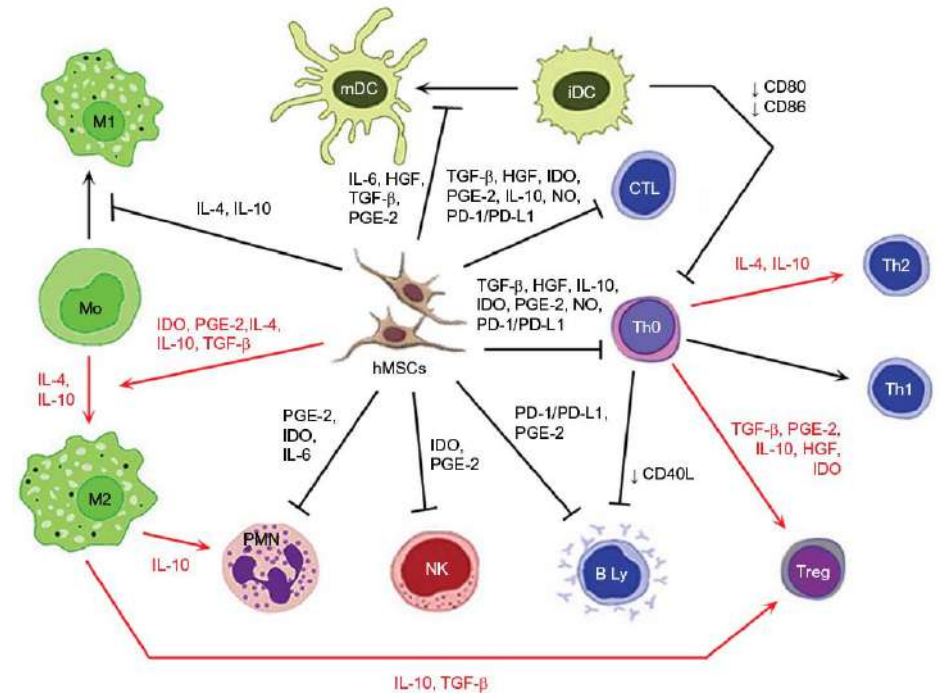




MSCs και Έναρξη Ανοσιακής Απόκρισης



MSCs και Ανοσορρύθμιση

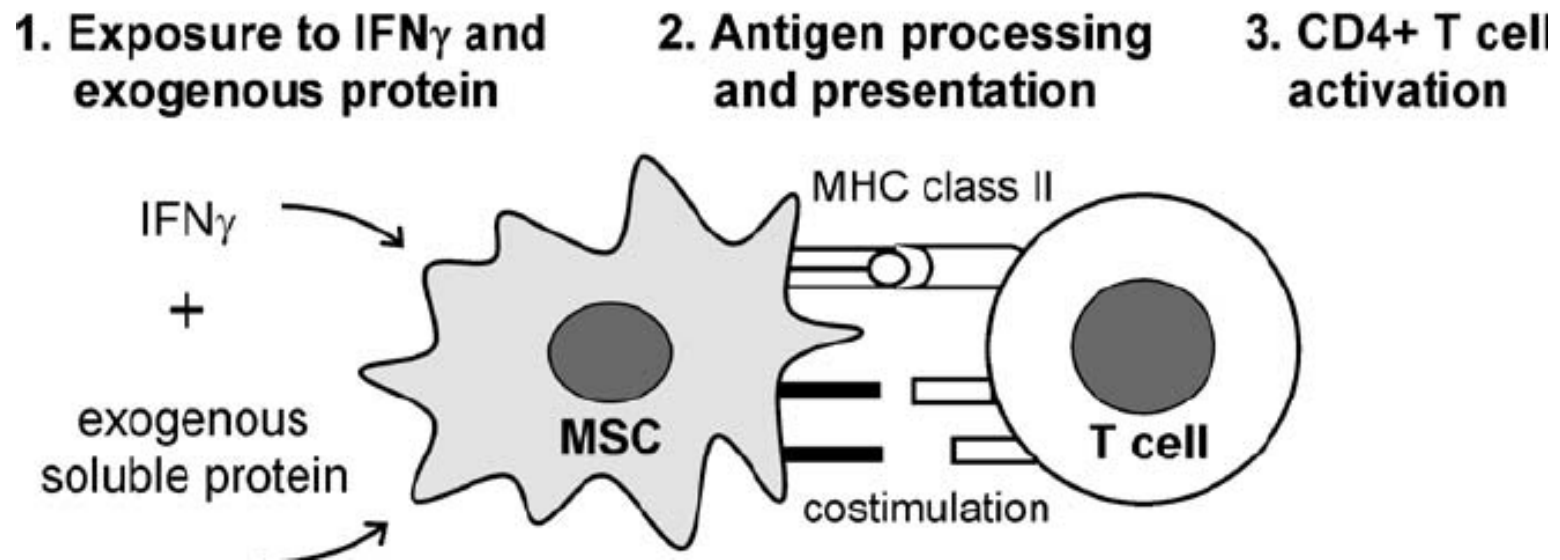




MSCs και Έναρξη Ανοσιακής Απόκρισης

Συμμετοχή στις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος

- **Επαγωγή της ανοσιακής απόκρισης**





MSCs και Έναρξη Ανοσιακής Απόκρισης

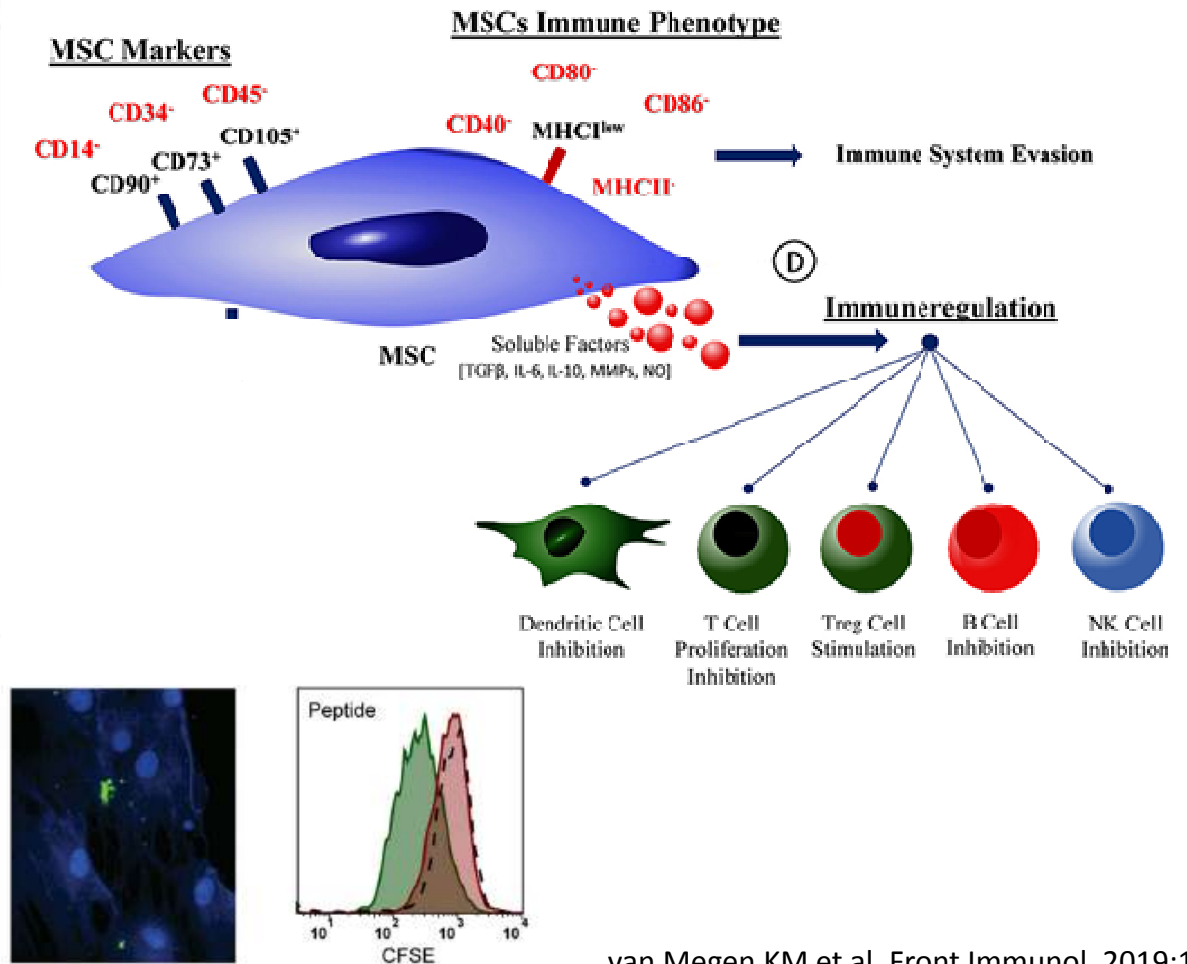
Activated Mesenchymal Stromal Cells Process and Present Antigens Regulating Adaptive Immunity

Kayleigh M. van Megen^{1†}, Ernst-Jan T. van 't Wout^{1†}, Julia Lages Motta^{2,3}, Bernice Dekker², Tatjana Nikolic² and Bart O. Roep^{1,2*}

¹ Department of Diabetes Immunology, Diabetes and Metabolism Research Institute at the Beckman Research Institute of City of Hope, Duarte, CA, United States, ² Department of Immunohaematology and Blood Transfusion, Leiden University Medical Center, Leiden, Netherlands, ³ Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil

MSCs Take Up and Process Antigen, but Do Not Induce T-Cell Proliferation

We further explored whether the immunosuppressive properties of MSCs could be combined with antigen presentation. For that, besides HLA class II expression, antigen-presenting cells need to take up and process antigen (38). We tested the antigen uptake and processing capacity of MSCs by incubating with fluorescent quenched Ovalbumin protein (OVA-DQ) that only emits light once it has been taken up and proteolytically degraded in the cell. MSCs were able to take up and process OVA-DQ, as demonstrated by the detection of a fluorescent signal by both microscopy (Figure 3A) and flow cytometry (Figure 3B). Next, to test whether the uptake and processing of an antigen by MSCs could induce antigen-specific T-cell proliferation, activated MSCs expressing HLA-DR3 were pulsed with either whole protein (GAD65) or peptide (GAD65₃₃₉₋₃₅₂) and cocultured with HLA-DR3-restricted GAD65₃₃₉₋₃₅₂-specific T-cells. Neither whole protein nor peptide prepulsed HLA-matched MSC-γ induced proliferation of GAD65₃₃₉₋₃₅₂ specific effector T-cell clones, whereas prepulsed, HLA-matched DCs did (Figure 3C).





MSCs και Ανοσορύθμιση

Συμμετοχή στις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος

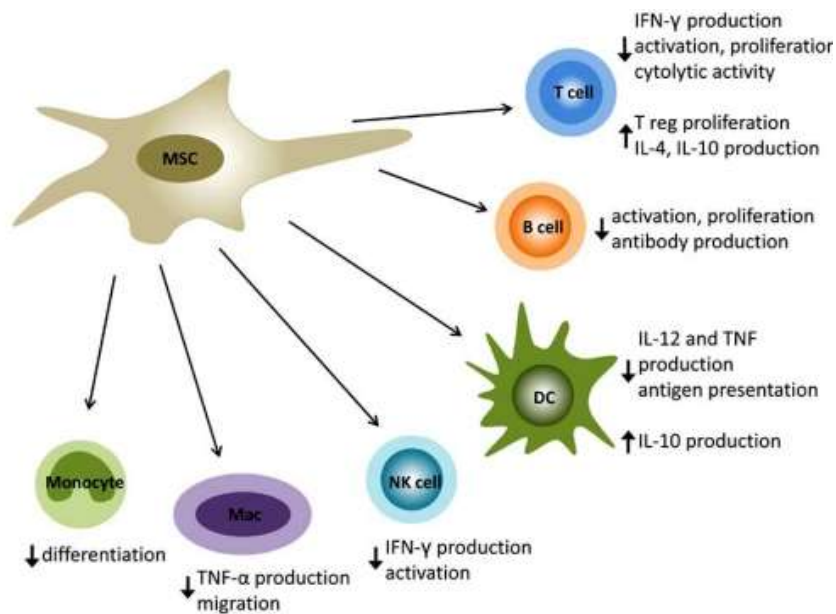
- Ανοσορύθμιση υπέρμετρης ανοσιακής απόκρισης

Άμεση Επαφή- Σηματοδοτικοί Οδοί «Θανάτου»

- TNF- TNF-R
- FAS-FAS-L
- PD-L1

Έμμεση Επαφή- Απελευθέρωση πρωτεϊνικών παραγόντων

- Ινδολεαμίνη 2,3 διοξυγενάση –IDO
- Νιτρικό οξύ -NO
- Γκαλεκτίνες- Galectins
- Προσταγλανδίνη E2- PGE2
- HLA-G
- Αντιφλεγμονώδεις Κυτταροκίνες (IL-1RA, IL-10, IL-11, IL-13)

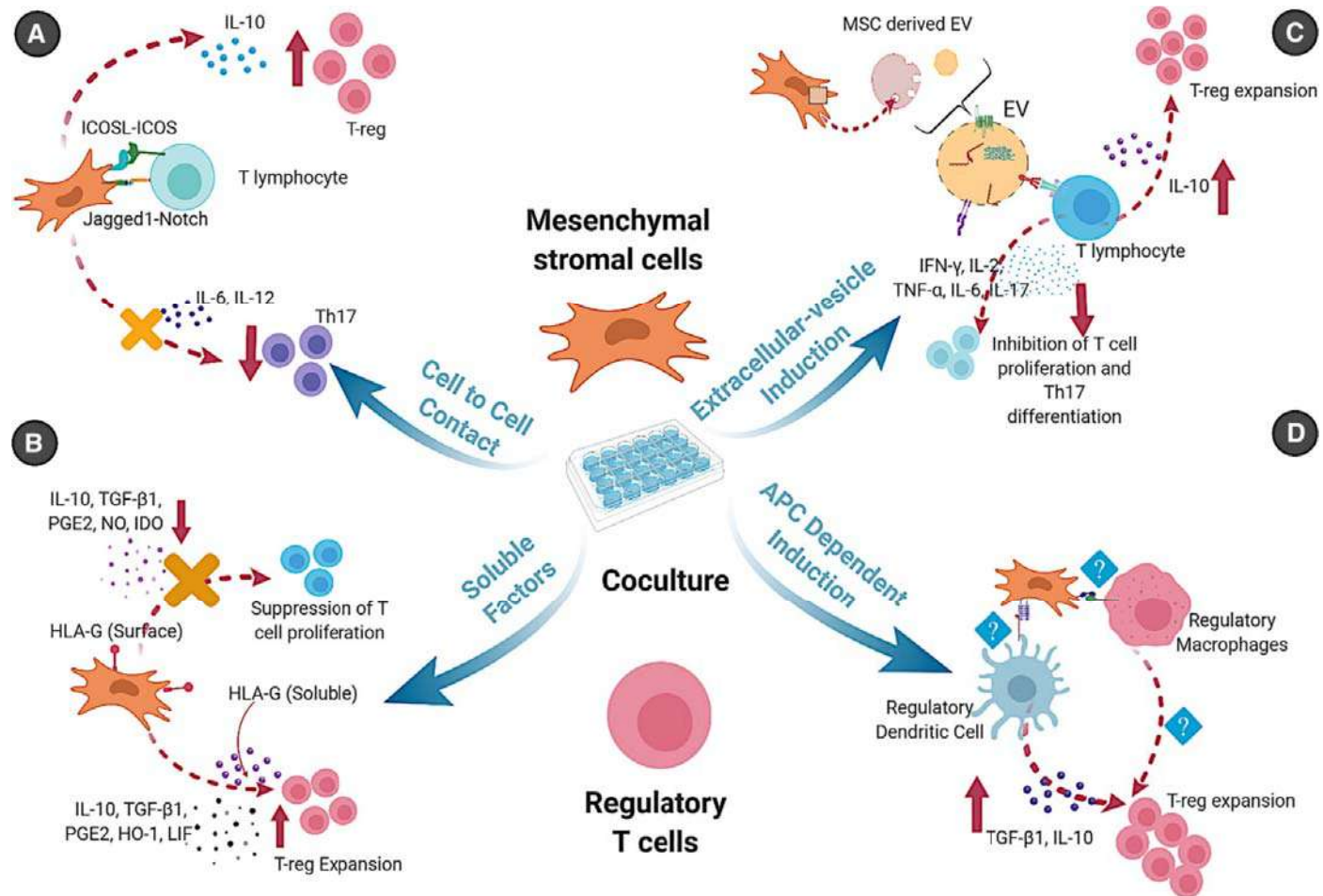


Hussein K Salem *et al.* Stem Cells. 2010;28(3):598-96

Mallis P *et al.* World J Stem Cells. 2020 Aug 26;12(8):731-751

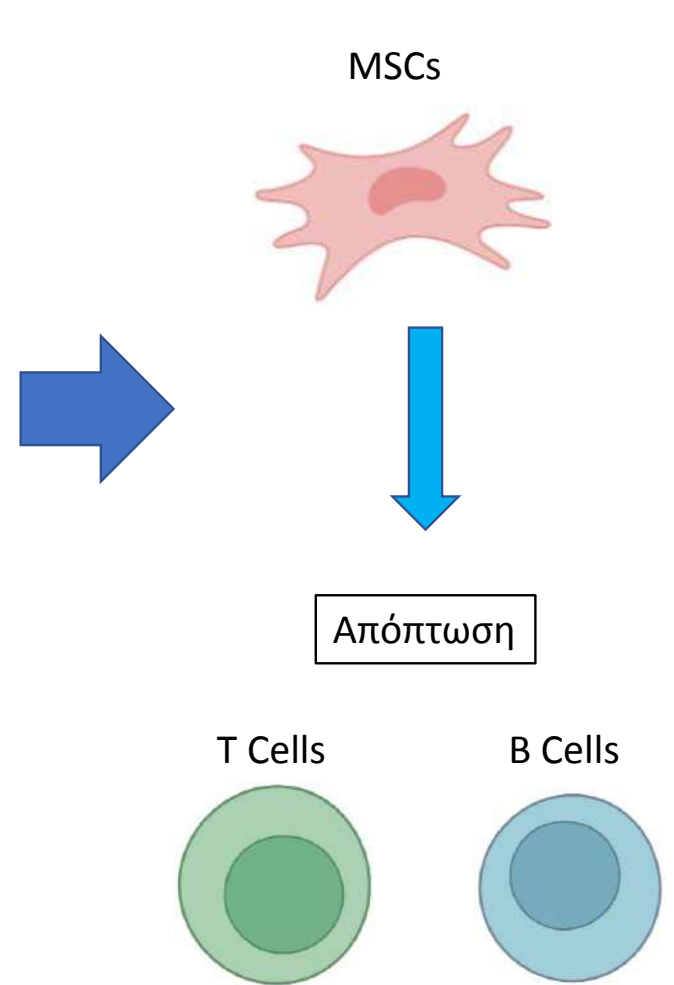
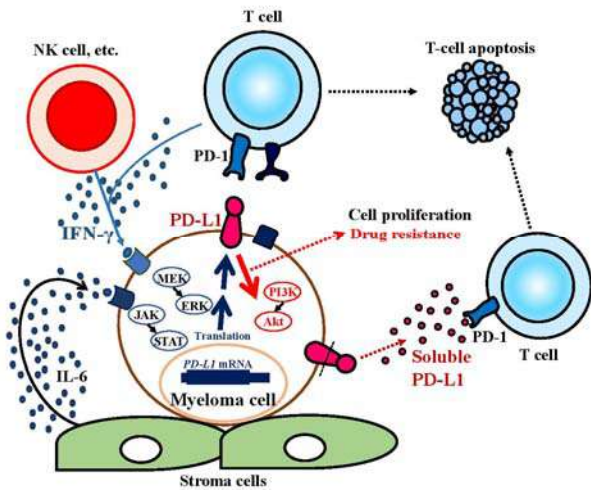
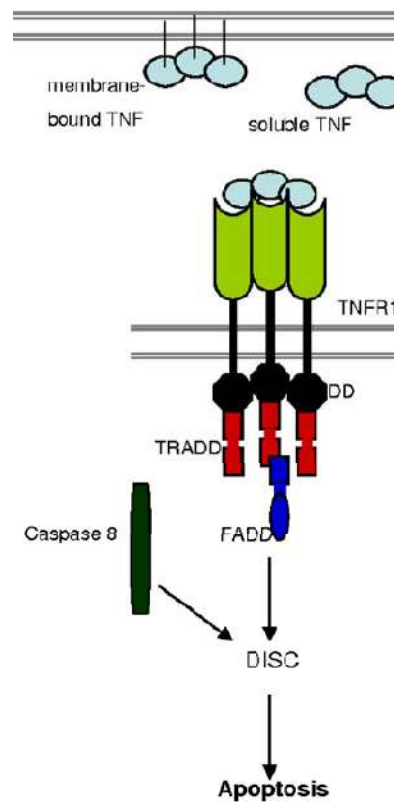
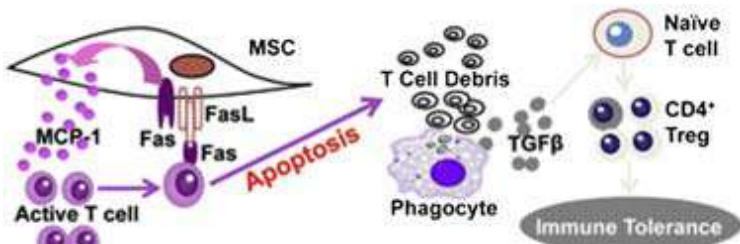


MSCs και ανοσορύθμιση των κυττάρων της ειδική ανοσίας





Ανοσορρύθμιση μέσω άμεσης επαφής





Ανοσορρύθμιση μέσω έμμεσης επαφής

Ιδολεαμίνη 2.3 διοξυγενάση -IDO

- Αναστολή του μεταβολισμού της τρυπτοφάνης σε κυουρενίνη
- Παύση του κυτταρικού κύκλου των T-κυττάρων στη φάση G1
- Απόπτωση των T-κυττάρων

Προσταγλανδίνη E2 –PGE2

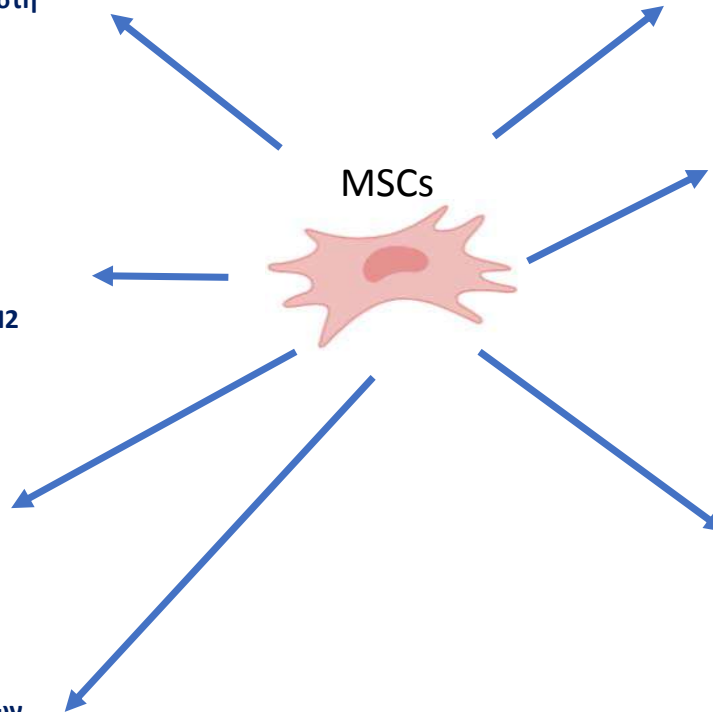
- Αναστέλλει τη παραγωγή του cAMP
- Καταστολή της παραγωγής της IL-2 και IL-2R
- Καταστολή της έκφρασης του TCR
- Επίδραση στα T-κύτταρα, δενδριτικά, μακροφάγα
- Φαινοτυπική αλλαγή μακροφάγων από M1 σε M2

Νιτρικό Οξύ-NO

- Μπλοκάρει τη φωσφορυλίωση του STAT5
- Αναστολή του πολλαπλασιασμού των T, B κυττάρων και των μακροφάγων

Γκαλεκτίνη 4- Galectin 4

- Μπλοκάρει τον TCR και BCR των T και B κυττάρων
- Αναστολή του πολλαπλασιασμού



Κυτταροκίνες με αντιφλεγμονώδη δράση

- IL-1Ra, IL-10, IL-13
Προκαλούν καταστολή των προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών π.χ. IL-1, IL3

Αυξητικοί παράγοντες

- TGF-β, FGF, VEGF, PDGF, IGF
Παρεμβαίνουν σε σηματοδοτικά μονοπάτια π.χ. TGF-β/SMAS7, NF-κB

Εξωκυτταρικά Κυστίδια

- Μικροκυστίδια – Microvesicles (μεγ. 0.1 - 1 μm)
- Εξωσώματα – exosomes (μεγ.0.03-0.1 μm)
- Λιπосώματα – liposomes (μεγ.0.025 – 2.5 μm)
- RNA
- microRNAs
- Πρωτεΐνες
- Πεπτίδια



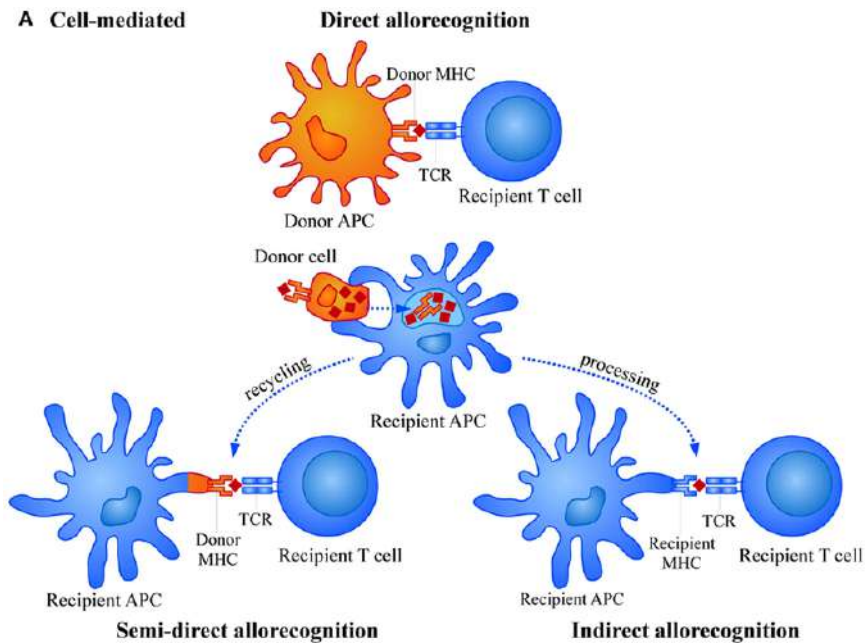
MSCs και άλλο-αναγνώριση

Μειωμένη άλλο-αναγνώριση των αλλογενών χορηγούμενων MSCs από τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος

- Δεν εκφράζουν τα επιφανειακά HLA τάξης II
- Δεν εκφράζουν συνδιεγερτικά μόρια (CD40)
- Δεν εκφράζουν επικουρικά μόρια (B7-1, B7-2)

Κλινικές Μελέτες για τη χορήγηση MSCs

- Αυτόλογη χρήση MSCs (200 κλινικές μελέτες)
- Αλλογενής χρήση MSCs (252 κλινικές μελέτες)



Θεραπευτικές Εφαρμογές των MSCs

1. **Αυτοάνοσα Νοσήματα**
(π.χ. Πολλάπλη Σκλήρυνση κατά πλάκας, Νόσος του Κινητικού Νευρώνα.)
2. **Νόσος του Μοσχεύματος εναντίον του Ξενιστή**
3. **Συγχορήγηση των MSCs στη μεταμόσχευση των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων**
4. **Ανοσοτροποποιητικά Νοσήματα**
(π.χ. Λοίμωξη COVID-19)

Mongiό-Tortajada M, *et al.* Front Immunol. 2014 Sep 17;5:416

Mallis P *et al.* World J Stem Cells. 2020 Aug 26;12(8):731-751



MSCs και άλλο-αναγνώριση

Ενεργοποίηση των αλλογενών MSCs από το φλεγμονώδες ερέθισμα

- **Αύξηση της ενδοκυττάριας και εξωκυττάριας έκφρασης των HLA τάξης II**



Experimental Hematology 31 (2003) 890–896

EXPERIMENTAL
HEMATOLOGY

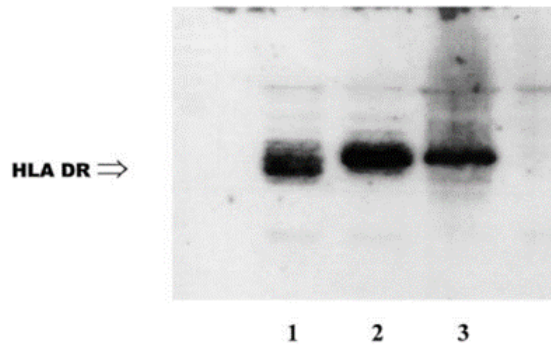
HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells

Katarina Le Blanc^{a,b}, Charlotte Tammik^a, Kerstin Rosendahl^c, Eva Zetterberg^c, and Olle Ringdén^{a,b}

^aDivision of Clinical Immunology, ^bCentre for Allogeneic Stem Cell Transplantation, and ^cDepartment of Haematology, Karolinska Institutet, Huddinge University Hospital, Stockholm, Sweden

(Received 17 January 2003; revised 1 April 2003; accepted 16 April 2003)

Western Blot



Activated MSCs Do Not Stimulate Allo-Reactive T Cells but Enhance Immunosuppressive Capacity

The lack of HLA-DR expression promotes the immune privileged state of MSCs (1). This would imply that inducing HLA-DR expression on activated MSCs may cause concerns regarding increasing exposure to allo-reactive CD4 T-cells. To investigate this, non-activated or IFN γ -activated MSCs (MSC- γ) were cocultured with HLA-mismatched lymphocytes (PBL) and T-cell proliferation was measured using a CFSE-dilution assay. No



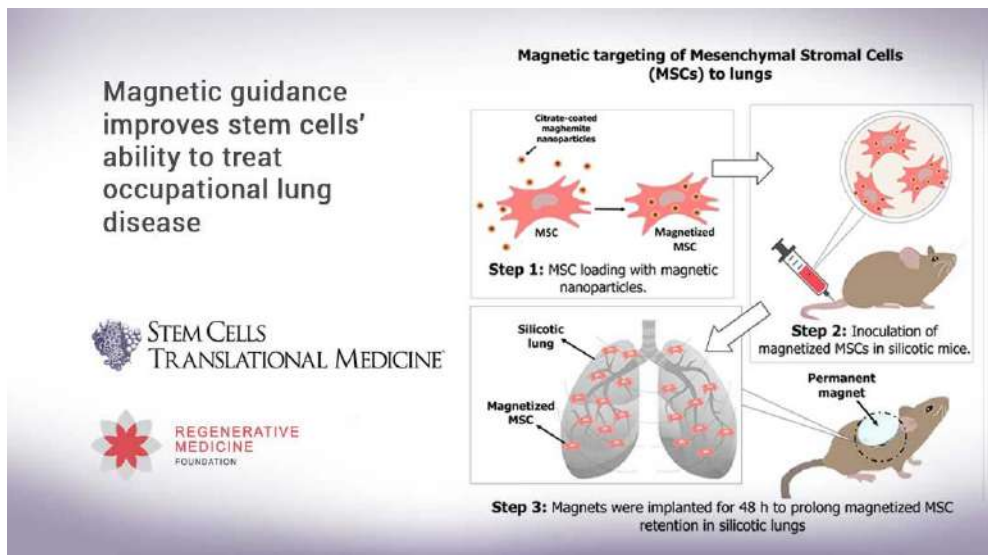
Ασφάλεια και αποτελεσματικότητα των εγχυόμενων αλλογενών MSCs



MSCs και οδοί χορήγησης

1. Ενδοφλέβια έγχυση των MSCs
2. Τοπική χορήγηση στη περιοχή της βλάβης (π.χ. ενδοστεϊκή χορήγηση)
Αποτελεσματικότερη εγκατάσταση των MSCs

Ενδοφλέβια χορήγηση → παγίδευση των MSCs στους πνεύμονες



Ανοσορρύθμιση των μακροφάγων του
πνευμονικού παρεγχύματος

1. Απόπτωση MSCs και φαγοκυττάρωση από τα μακροφάγα (οδηγεί σε αλλαγή του φαινοτύπου των μακροφάγων από M1 σε M2)
2. Processing bodies (P-bodies) προερχόμενα από τα MSCs
3. Τροποποίηση των ανοσιακών αποκρίσεων της φυσικής ανοσίας, και άμεση συσχέτιση με τη καταστολή των υπερενεργοποιημένων Th1 κυττάρων.



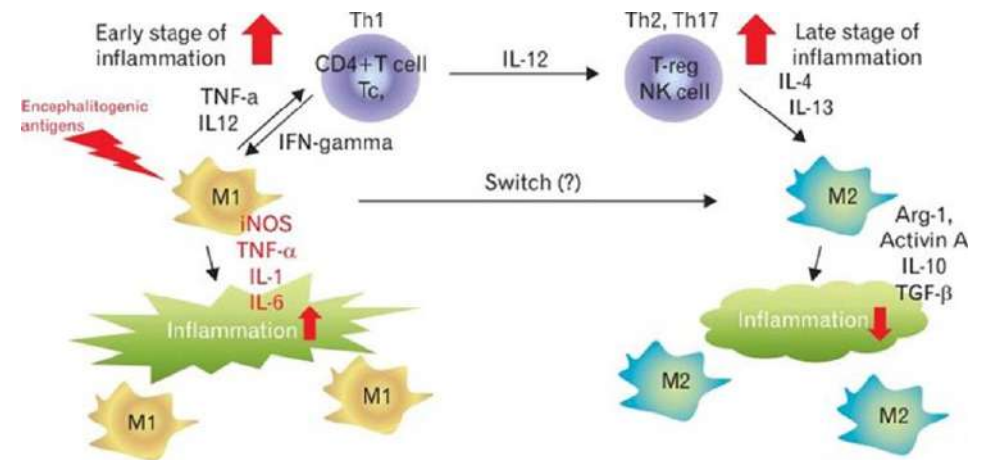
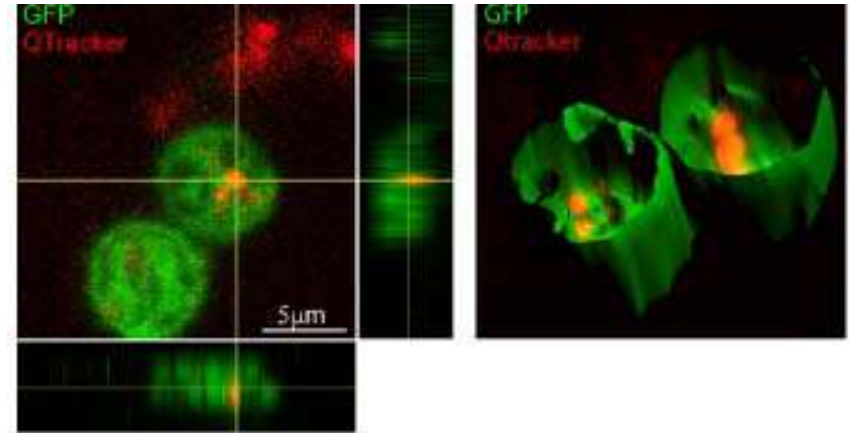
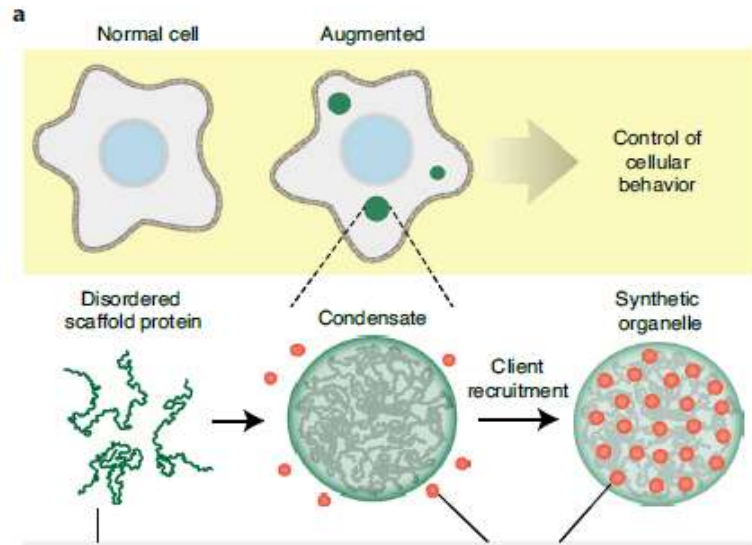
TISSUE-SPECIFIC STEM CELLS



Mesenchymal stromal cells reprogram monocytes and macrophages with processing bodies

Processing Bodies προερχόμενα από τα MSCs

1. Οργανίδια χωρίς μεμβράνη (membrane less organelles)
2. Περιέχουν RNA, mRNA, miRs

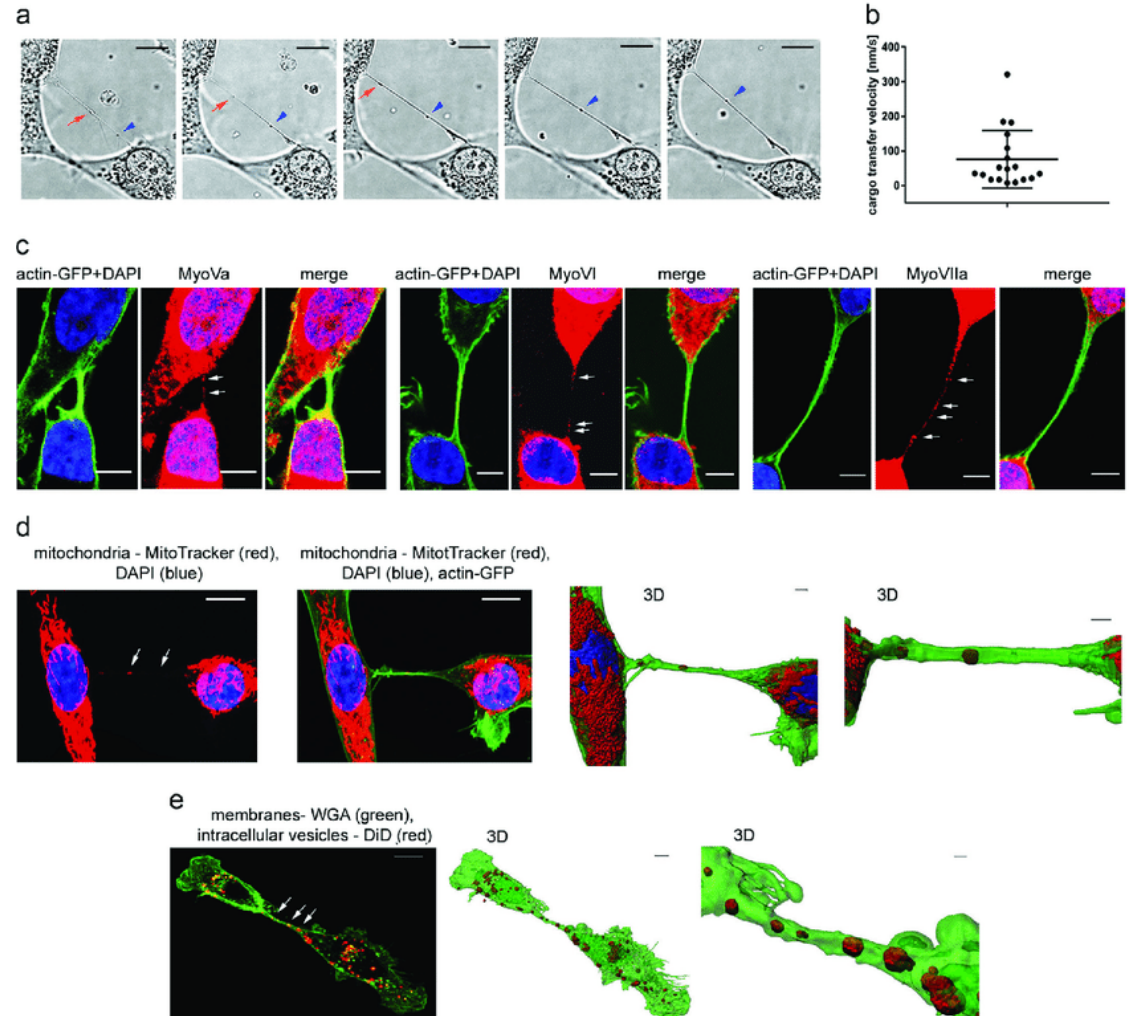
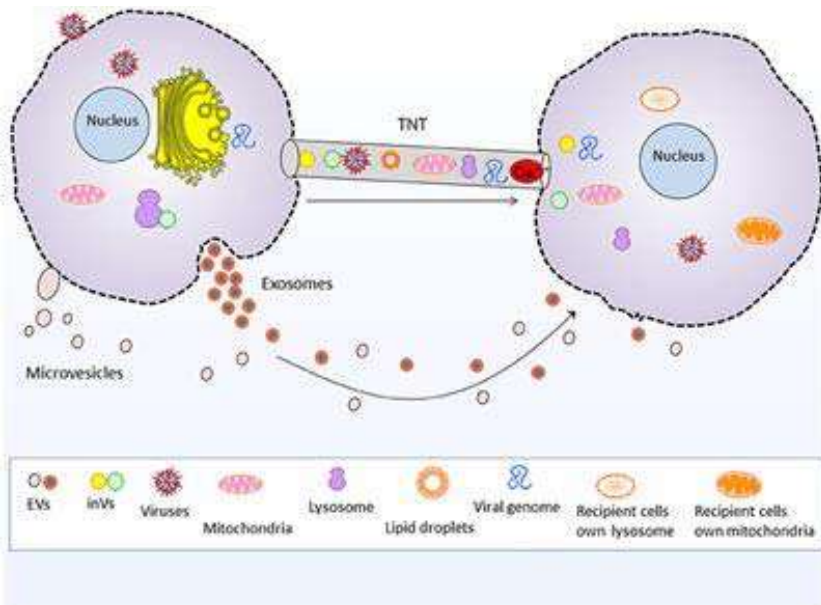




ΑΝΟΣΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΣΤΡΩΜΑΤΟΣ

Νέα προτεινόμενα μοντέλα ανοσορύθμισης των MSCs

1. Φαγοκυττάρωση από τα μακροφάγα
2. Μεταφορά των P-bodies
3. Εξωκυτταρικά κυστίδια
4. Γέφυρες σύνδεσης (tunneling nanotubes)





Μεσολαβούμενη ανοσορύθμιση από τα MSCs

- Κύτταρα φυσικής ανοσίας
- Κύτταρα ειδικής ανοσίας

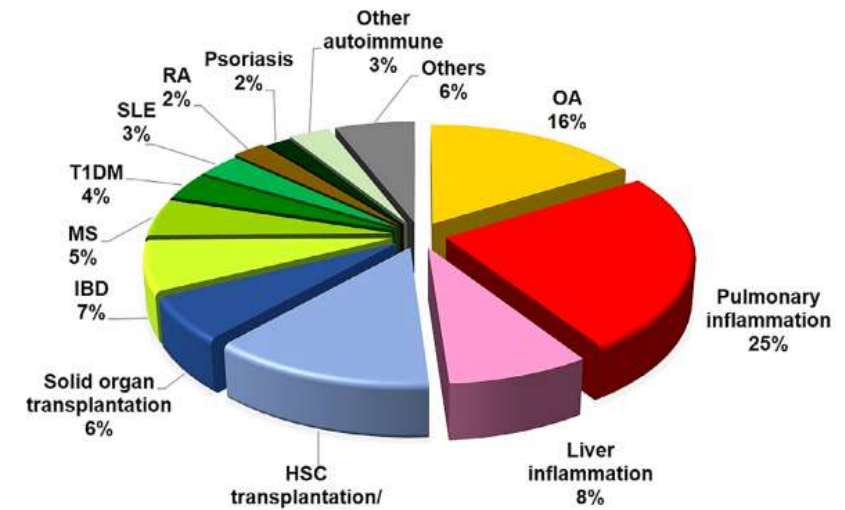
Υπολογίζεται ότι περίπου το 25% των κλινικών μελετών ([www. Clinicaltrials.gov](http://www.Clinicaltrials.gov)) περιλαμβάνουν αξιολόγηση των ιδιοτήτων των MSCs

Αξιοποίηση τους στα νοσήματα ανοσολογικού χαρακτήρα

TABLE 1 Current clinical trials of MSCs and derived products for immune-related diseases

MSC source	Total %	Total no.	No. of clinical trial phases						
			N/A	1	1 and 2	2	2 and 3	3	4
Unspecified	13.1	66	2	13	21	20	6 ^l	3	1
Bone marrow	35.8	180	7	55 ^b	62 ^{c,d,e,f,g}	40 ^h	7	9 ⁱ	0
Adipose tissue	16.9	85	3	21	40 ^j	16	1	4 ⁱ	0
Umbilical cord	24.5	122	4 ^a	33 ^b	66 ^{c,d,e,f,k}	17	0	1	1
Umbilical cord blood	2.8	14	1	5	4	2 ^h	0	2	0
Placenta	1.0	5	0	1	2 ^g	2	0	0	0
Amnion	0.4	2	1 ^a	1	0	0	0	0	0
Menstrual blood	0.4	2	0	0	2	0	0	0	0
Dental pulp	0.6	3	0	2	1	0	0	0	0
Olfactory mucosa	0.4	2	0	0	2	0	0	0	0
Gingiva	0.2	1	1	0	0	0	0	0	0
Skin	0.2	1	0	0	1	0	0	0	0
ESC-MSC	0.4	2	0	1	0	0	0	0	0
iPSC-MSC ^A	0.4	2	0	1	1	0	0	0	0
MSC-derived products ^B	3.2	16	2	3	7 ^{j,k}	2	2 ^l	0	0
Total no. of clinical trial phases		491	20	136	203	97	15	18	2
Total % of clinical trial phases			4.1	27.7	41.3	19.8	3.1	3.7	0.4

Notes: ^ATrial using two sources of MSCs: WJUC and amnion; ^{b,c,d,e,f}Trials using two sources of MSCs: BM and WJUC; ^gTrial using two sources of MSCs: BM and placenta; ^hTrial using two sources of MSCs: BM and adipose; ⁱTrial using two sources of MSCs: BM and cord blood; ^{j,k,l}Trials using both the MSC and its derived products. ^AReprogrammed from peripheral blood mononuclear cells. ^BExosomes or trophic factors collected from conditioned medium.

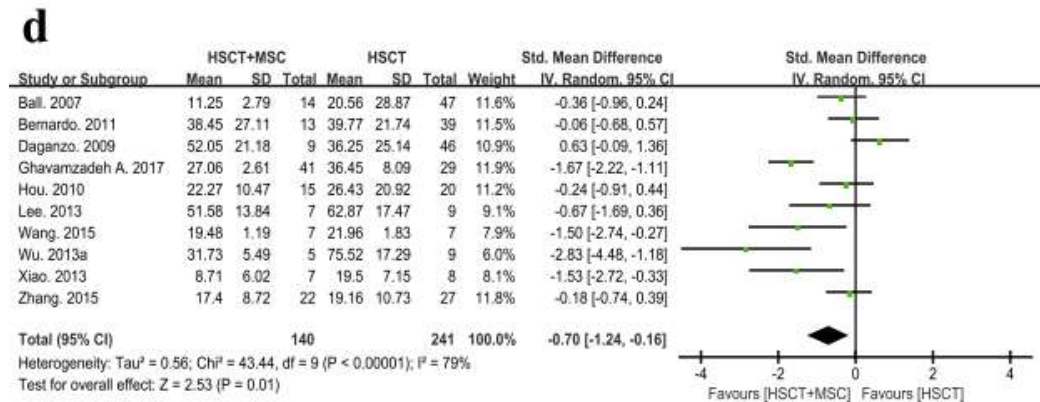
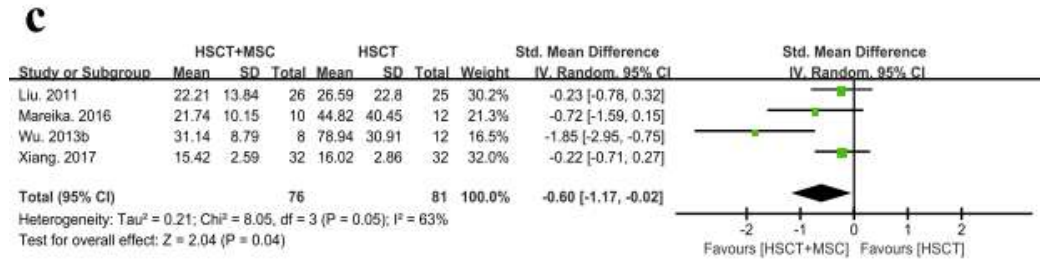
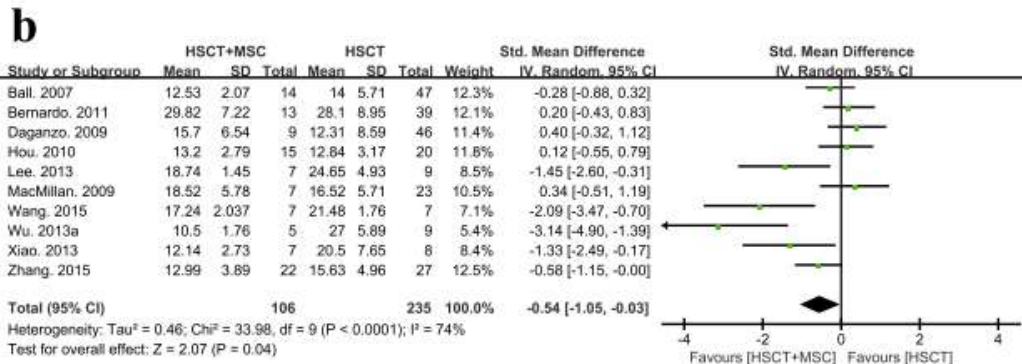
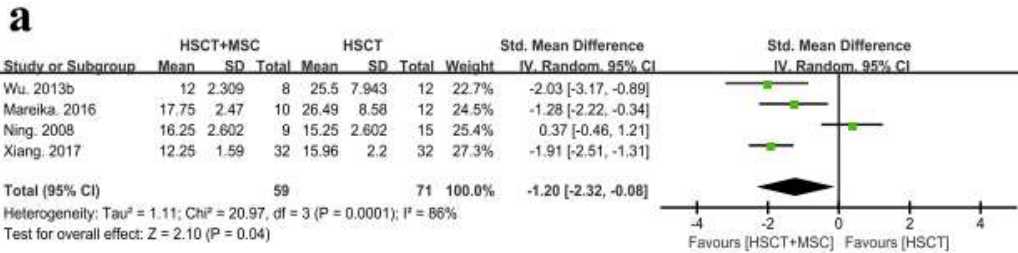




REVIEW Mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation

Συγχορήγηση MSCs και αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων

- Βελτιώνουν την εγκατάσταση του μοσχεύματος
- Μείωση πιθανότητας εμφάνισης GVHD (οξύ και χρόνια)





HUMAN CLINICAL ARTICLE

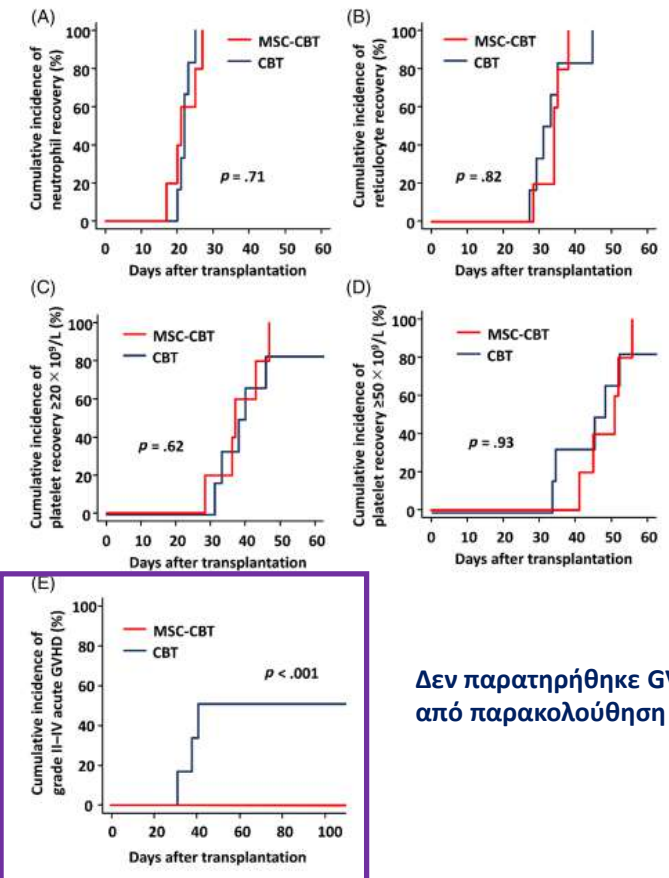


Phase I clinical trial of intra-bone marrow cotransplantation of mesenchymal stem cells in cord blood transplantation

TABLE 2 Characteristics of patients and outcomes of cord blood transplantation combined with intra-bone marrow injection of MSCs

Patient no.	1	2	3	4	5
Patient and transplant					
Age, years	24	51	45	47	70
Diagnosis	MDS	AML	ENKTL	AML	MDS
Disease status	RAEB2	CR2	CR1	CR1	RAEB2
HCT-CI	0	1	0	1	0
Sex, patient/donor	M/F	M/F	M/M	F/F	M/M
ABO, patient/donor	A/A	A/AB	A/B	A/B	B/B
DSA	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
Conditioning	CA + CY + TBI	Flu+Mel+ivBU	Flu+Mel+ivBU	CA + CY + TBI	Flu+Mel+ivBU
GVHD prophylaxis	TAC + sMTX	TAC + sMTX	TAC + sMTX	TAC + sMTX	TAC + sMTX
Cord blood					
TNCs, $\times 10^7$ /kg	2.56	2.37	1.85	4.35	3.22
CD34 + cells, $\times 10^5$ /kg	1.18	0.99	0.66	0.74	1.06
HLA matching					
GVH direction	4/6	4/6	5/6	4/6	4/6
HVG direction	4/6	4/6	5/6	4/6	4/6
MSCs					
Donor relation	Wife	Son	Mother	Son	Son
Donor age, years	25	28	70	20	42
MSCs, $\times 10^6$ /kg	1.43	1.35	0.28	1.79	0.47
HLA matching					
GVH direction	2/6	3/6	4/6	3/6	3/6
HVG direction	3/6	3/6	3/6	3/6	4/6

1. Προφύλαξη για το GVHD: Tacrolimus και μεθοτρεξάτη
2. Ομάδα αναφοράς: 6 άτομα που είχαν λάβει μόνο ΑΑΚ από ομφάλιο αίμα

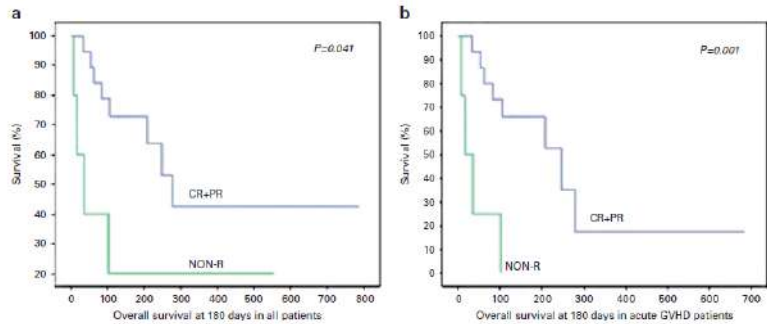


Δεν παρατηρήθηκε GVHD μετά από παρακολούθηση 1 χρόνου



Χορήγηση MSCs σε ασθενείς με GVHD ανθεκτικό σε κορτικοστεροειδή

- Καλή ανταπόκριση των ασθενών μετά τη χορήγηση των MSCs



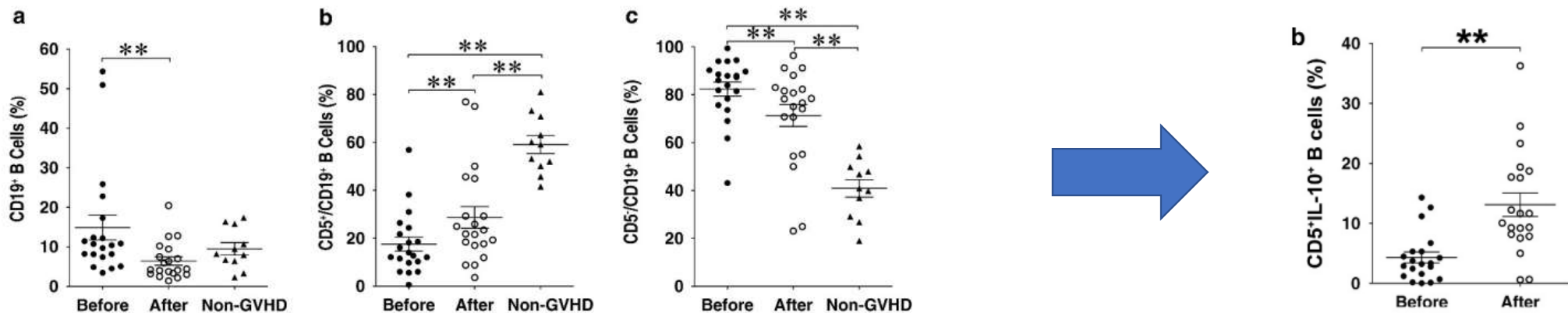
c

Response type	Acute (n=19)	Chronic (n=5)	Total (n=24)	Skin (n=16)	Liver (n=14)	GIS (n=8)
Complete	9 (47.4%)	2 (40%)	11 (45.8%)	12 (75%)	7 (50%)	7 (87.5%)
Partial	6 (31.6%)	2 (40%)	8 (33.3%)	3 (18.8%)	4 (28.6%)	0 (0.0%)
Stable	2 (10.5%)	1 (20%)	3 (12.5%)	1 (6.3%)	1 (7.1%)	0 (0.0%)
Death (progress)	2 (10.5%)	0 (0.0%)	2 (8.3%)	0 (0.0%)	2 (14.3%)	1 (12.5%)

Response to MSCs according to type of GVHD and organ involvement

Χορήγηση MSCs σε ασθενείς με GVHD ανθεκτικό σε κορτικοστεροειδή

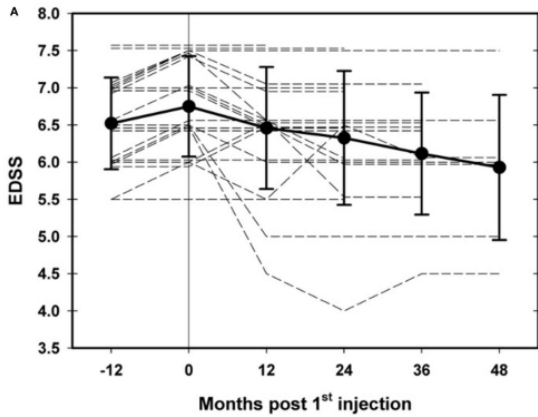
- Τα MSCs οδηγούν σε ενεργοποίηση των CD5 B κυττάρων
- Αύξηση της παραγωγής IL-10



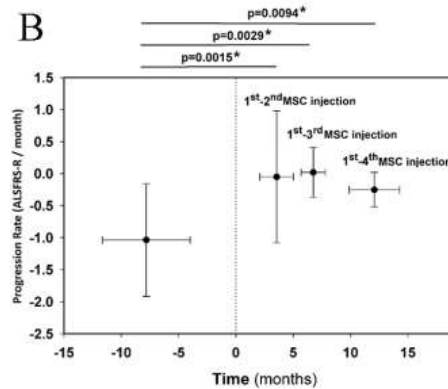
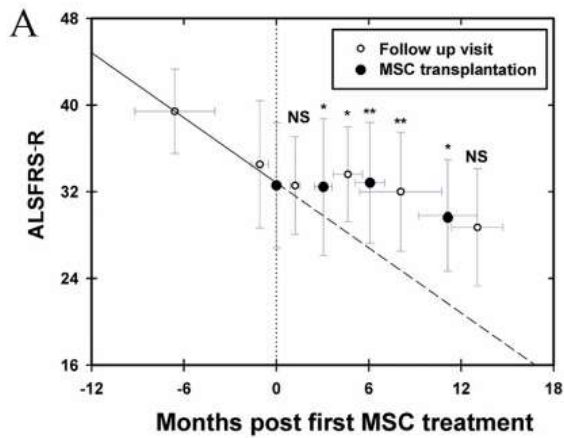
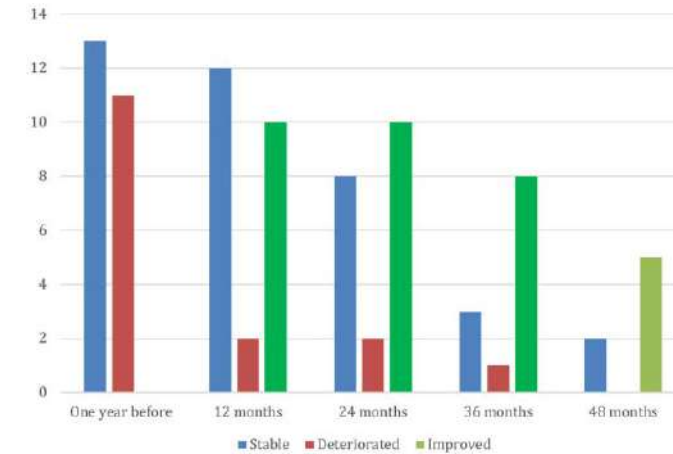


Χορήγηση MSCs σε ασθενείς με ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση κατά πλάκας και νόσο του κινητικού νευρώνα

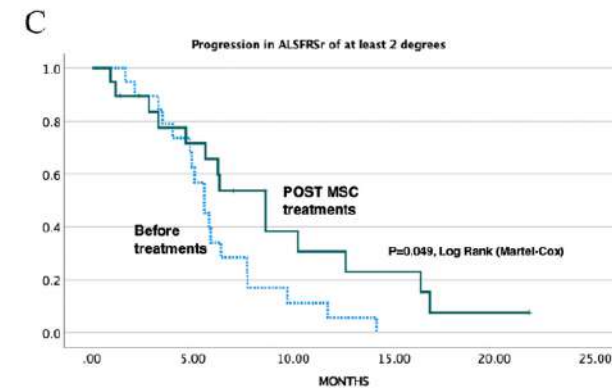
- Καλή ανταπόκριση των ασθενών μετά τη χορήγηση των MSCs



Καθυστέρηση της εμφάνισης δυσμενέστερων επιπτώσεων της νόσου (ALS) μετά από χορήγηση MSCs



*Wilcoxon signed ranked test



ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΥΘΟΜΙΣΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ MSCS ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΟΒΑΡΗ ΛΟΙΜΩΞΗ COVID-19





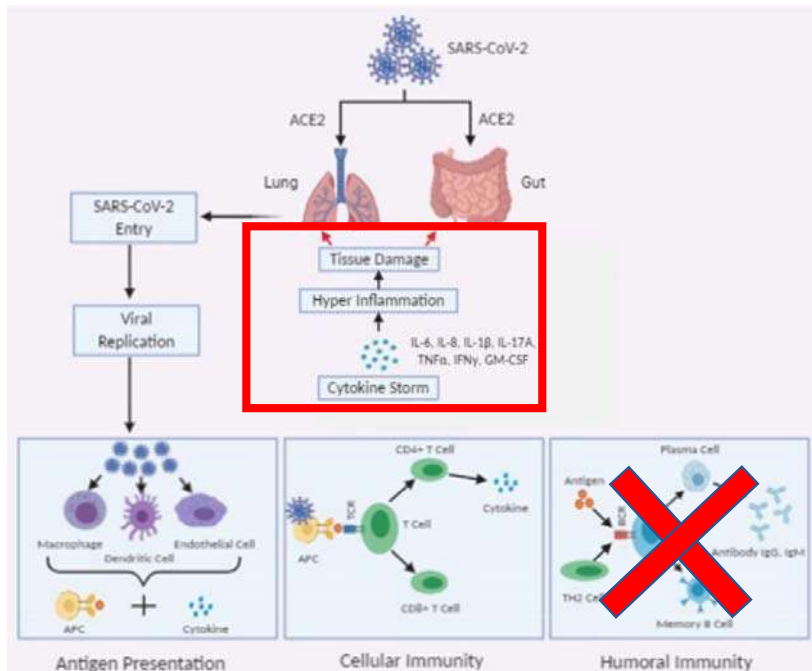
- Εμφάνιση του νέου κορωνοϊού το Δεκέμβριο του 2019.
- Υποθέση: Από υπαίθρια αγορά της Γιουχάν στην Κίνα.
- Ονομασία (Μάρτιος 2020): Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2)
- Παγκόσμια επίπτωση με καταγραφή πολλών περιστατικών και νέων θανάτων καθημερινά
- Προσβάλλει και τα δύο φύλα
- Θνησιμότητα < 5%
- Εξαρτάται από την ηλικία (π.χ. 3- 11% σε ηλικίες άνω των 65 ετών)
- Σοβαρά υποκείμενα νοσήματα



Εικόνα 1 . Παγκόσμια επίπτωση του SARS-CoV-2



2. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ



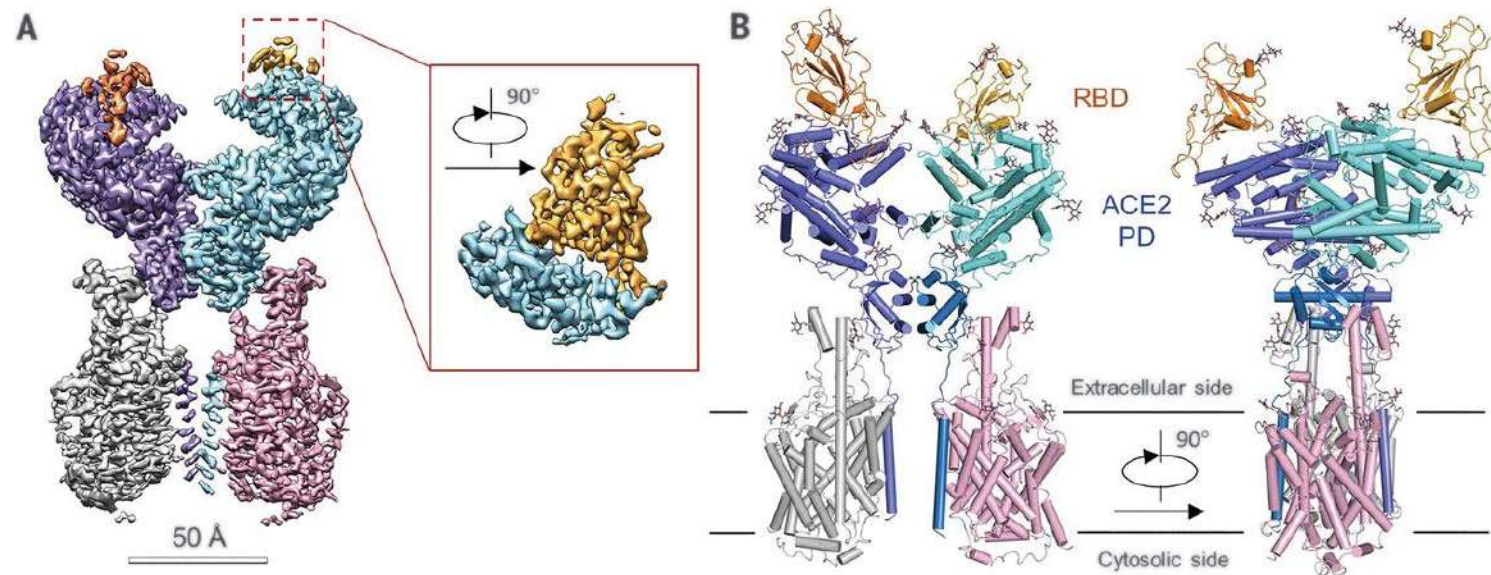
ΛΟΙΜΩΞΗ COVID-19 ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ

- Διαφυγή της PRRs αναγνώρισης (μη ενεργοποίηση των TLR 8 και TLR9) – μειωμένη παραγωγή IFN A/B
- Προσβολή των μακροφάγων
- Υπερ-ενεργοποίηση των CXCR3+CD4+ T cells, CXCR3+CD8+ T και των CXCR3+ natural killer (NK)
- Υπέρμετρη παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών
- **IL-1B, IL-1RA, IL-7, IL-8, IL-9, GM-CSF, IFN-γ, G-CSF, IP10, MCP1, MIP1, TNF-α**
- Μείωση των FOXP3+ T regs σε συνδυασμό με περιφερική λεμφοπενία
- Διήθηση φλεγμονώδων κυττάρων στο πνευμονικό παρέγχυμα
- Καταστροφή πνευμονικού επιθηλίου- ανάπτυξη πνευμονικής δυσχέρειας (ARDS)



ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΕΙΣΟΔΟΥ

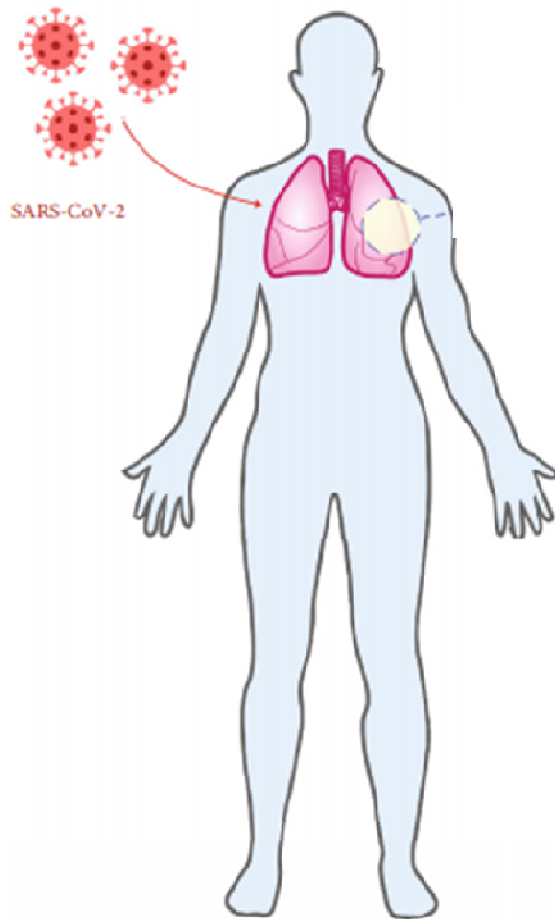
1. Υποδοχέας του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης 2- Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE-2)
2. Διαμεμβρανική πρωτεάση σερίνης 2 –Transmembrane Proteinase Serine-2 (TMPRSS2)



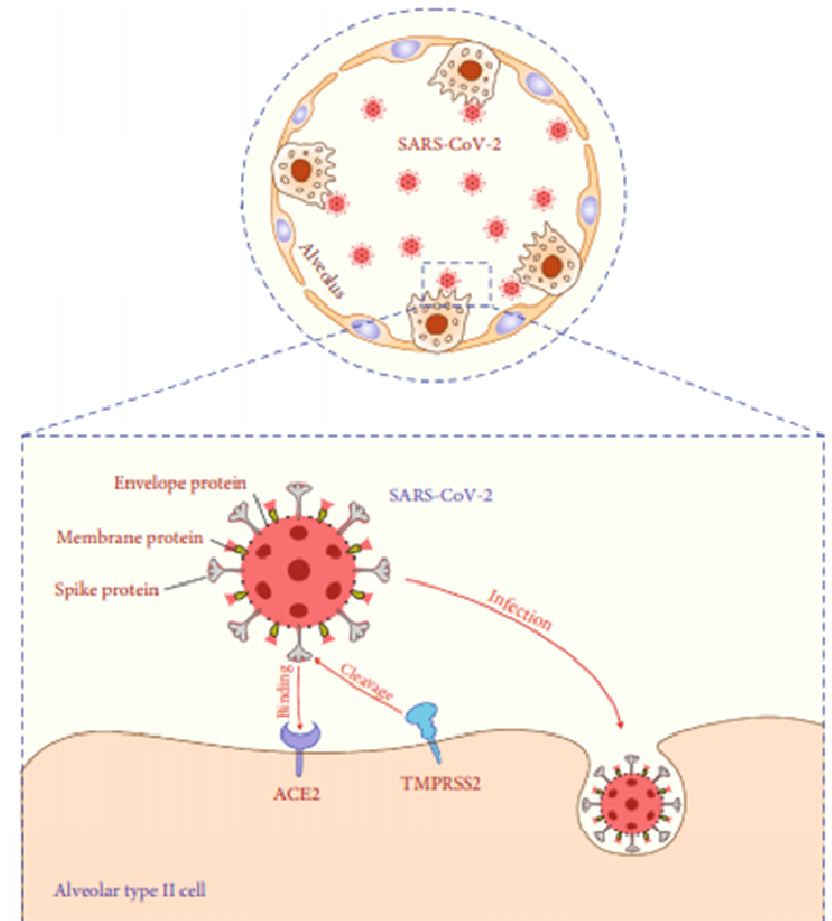
Εικόνα 1 . Μοντελοποίηση του υποδοχέα ACE2 με κρυσταλλογραφία



Φάση 1. Μόλυνση με SARS-CoV-2

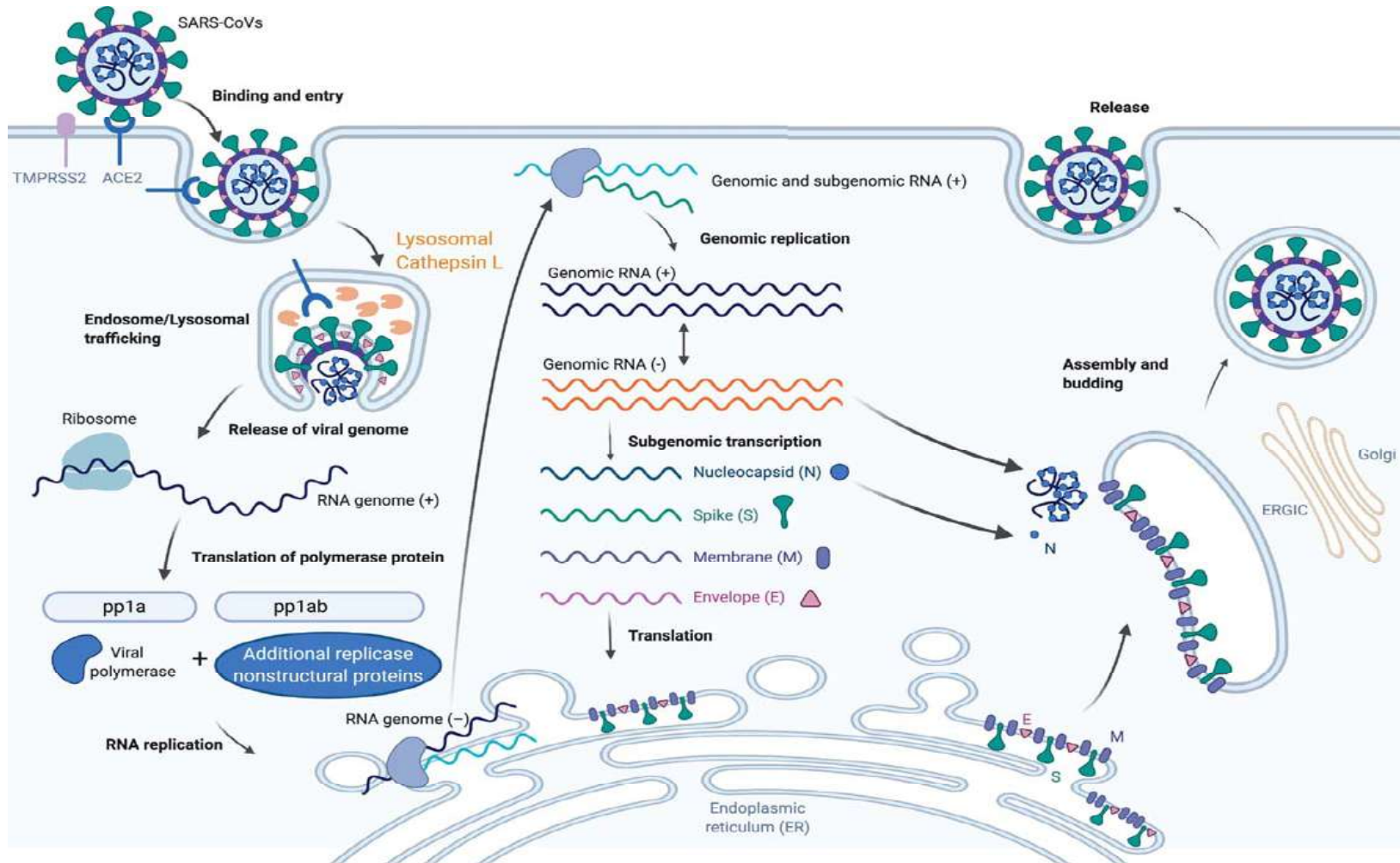


Φάση 2. Εγκατάσταση του Sars-CoV-2





ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ COVID-19

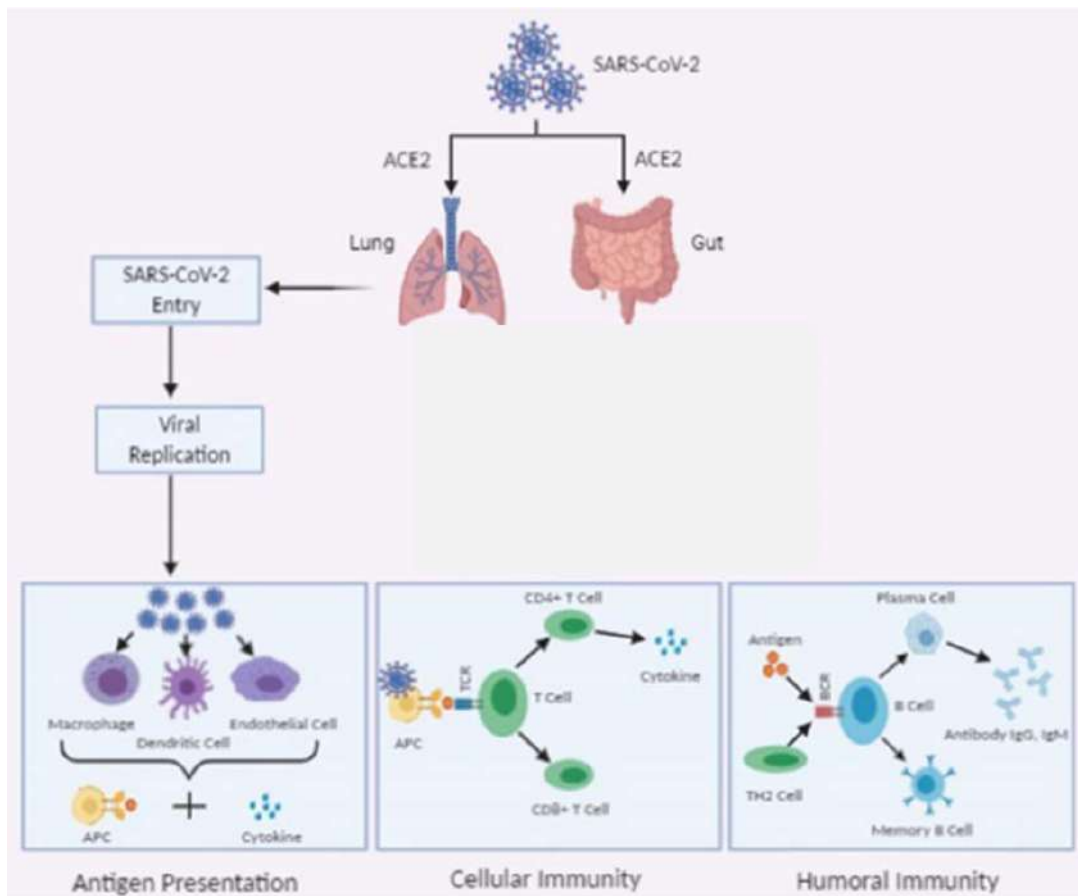


Trends in Immunology

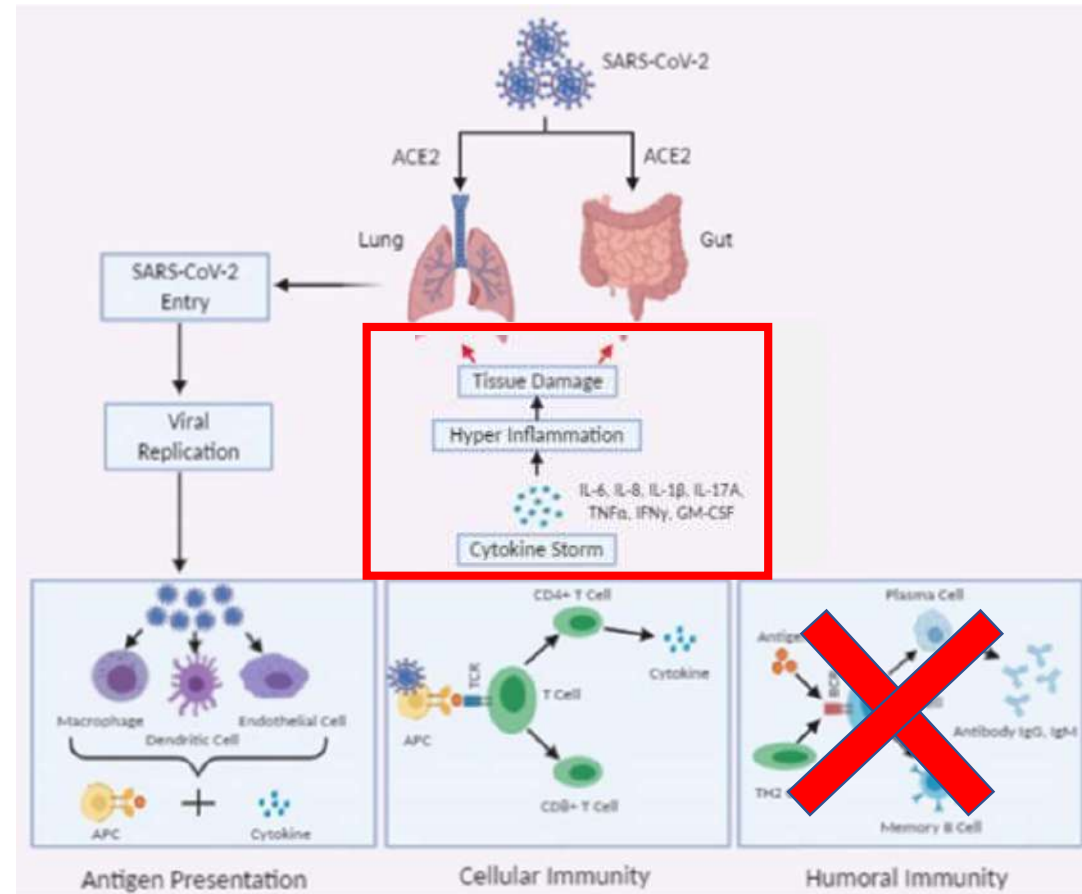


ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ COVID-19

1. ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΟΥ SARS-COV-2 ΚΑΙ ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗ



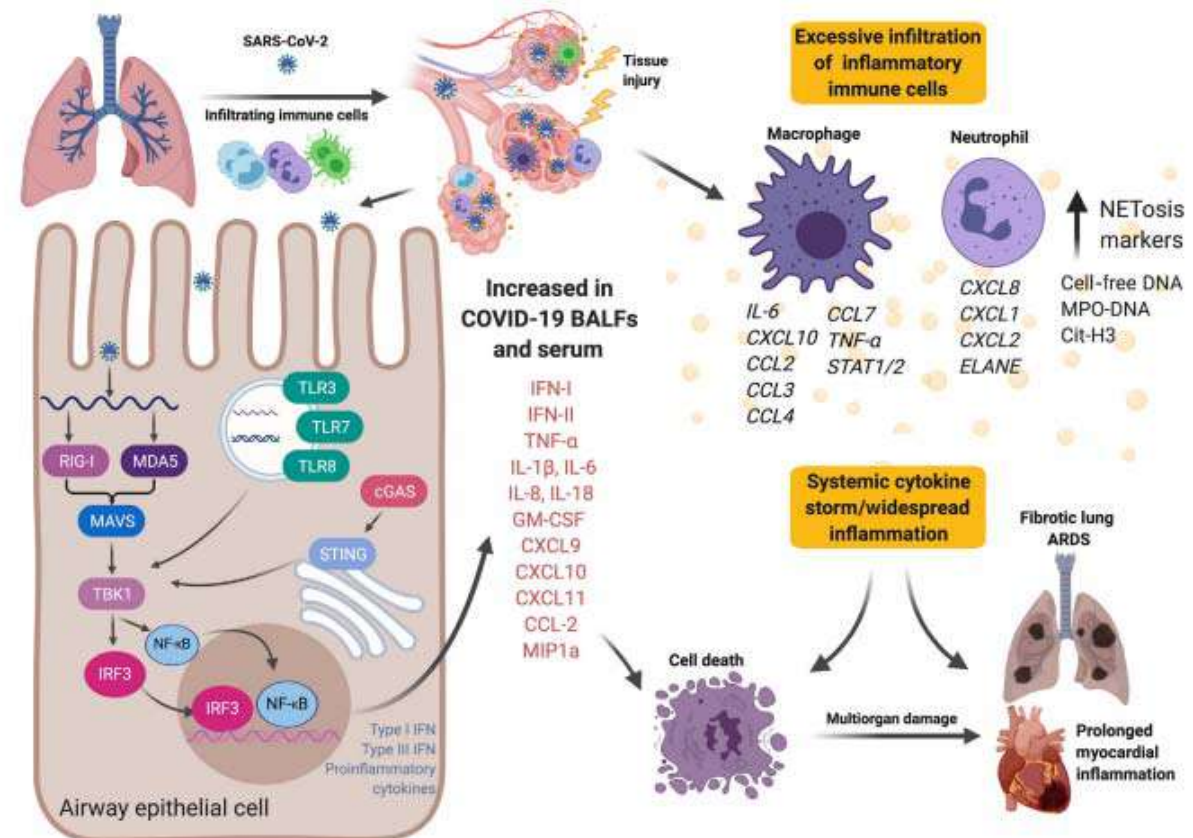
2. ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ





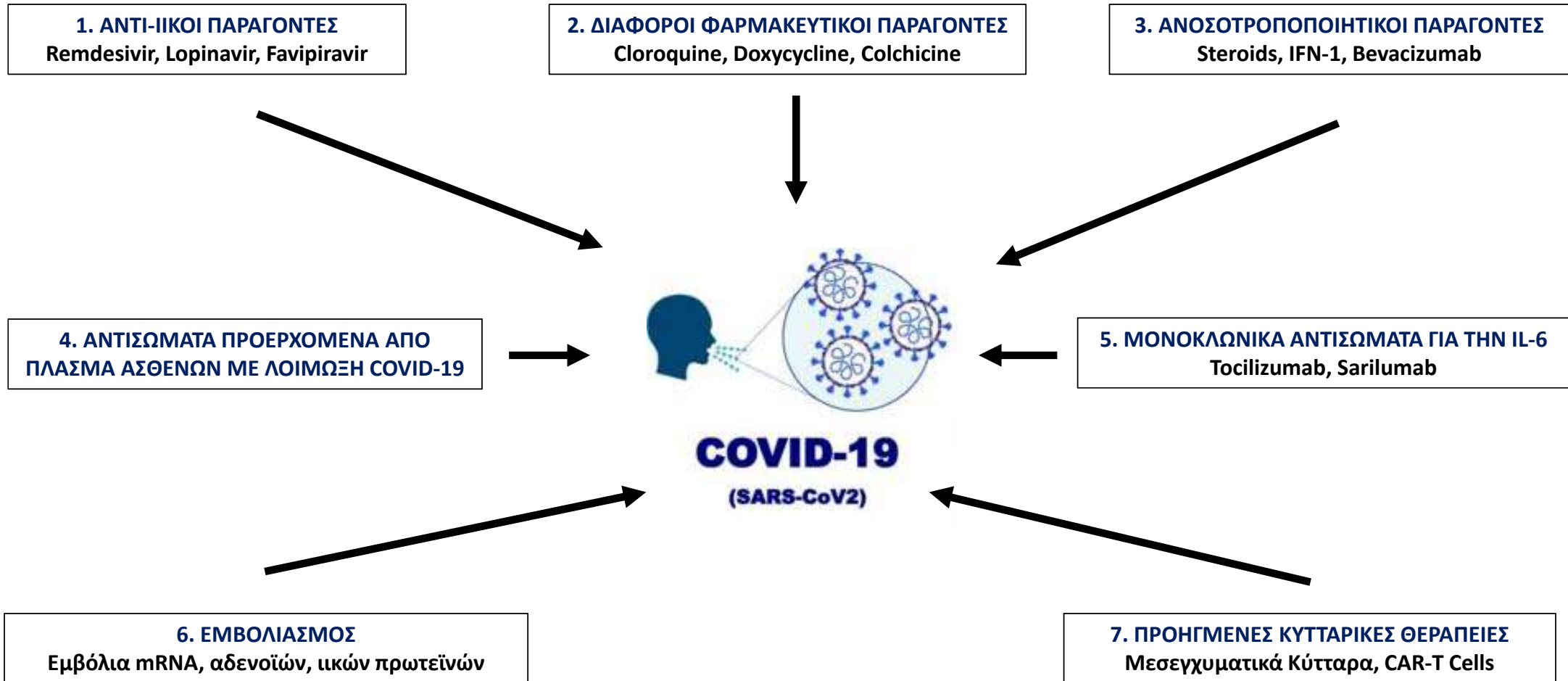
ΛΟΙΜΩΞΗ COVID-19 ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ

- Διαφυγή της TLR αναγνώρισης (TLR 8 και TLR9) – μειωμένη παραγωγή IFN A/B
- Προσβολή των μακροφάγων
- Υπερ-ενεργοποίηση των CXCR3+CD4+ T cells, CXCR3+CD8+ T και των CXCR3+ natural killer (NK)
- Υπέρμετρη παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών
- IL-1B, IL-1RA, IL-7, IL-8, IL-9, GM-CSF, IFN-γ, G-CSF, IP10, MCP1, MIP1, TNF-α
- Μείωση των FOXP3+ T regs σε συνδυασμό με περιφερική λεμφοπενία
- Διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων στο πνευμονικό παρέγχυμα
- Καταστροφή πνευμονικού επιθηλίου- ανάπτυξη πνευμονικής δυσχέρειας (ARDS)





ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ SARS-COV-2



ΠΡΟΗΓΜΕΝΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΣΤΡΩΜΑΤΟΣ



ΠΟΛΥΔΥΝΑΜΑ ΣΤΕΛΕΧΙΑΙΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΣΟΔΕΡΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Παλαιότερες ονομασίες: Mesenchymal Stem Cells, Medicinal Signalling Cells

Τελευταία ονομασία (2019): Mesenchymal Stromal Cells

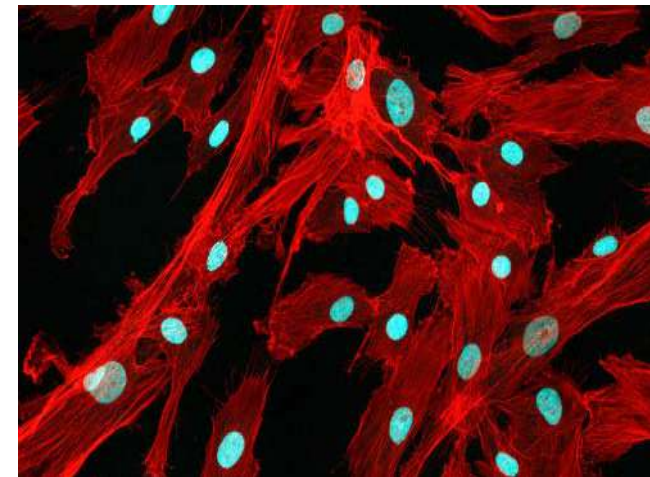
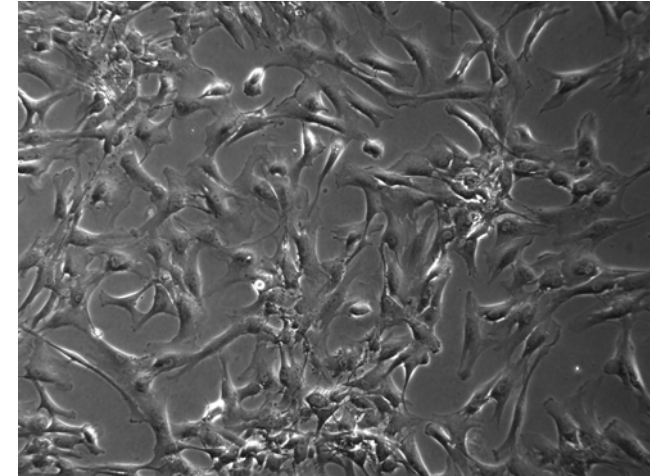
Προτεινόμενα Κριτήρια

(σύμφωνα με την Διεθνή Εταιρεία Κυτταρικών Θεραπειών – ISCT - 2019)

1. Μορφολογία Ινοβλάστη
2. Ικανότητα Διαφοροποίησης
(οστεοκύτταρα, λιποκύτταρα, χονδροκύτταρα)
1. Συγκεκριμένος Ανοσοφαινότυπος
 - CD73, CD90, CD105 > 90%
 - CD34, CD45, HLA class II < 5%

ΠΗΓΕΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΤΩΝ MSCs

1. Μυελός των Οστών (0.01- 0.001%)
2. Ομφάλιος Λώρος (Βαρτόνιος Γέλη)
3. Λιπώδης Ιστός (1% των λιποκυττάρων)
4. Άλλες πηγές – Οδοντικός πολφός, αμνιακό υγρό, πλακούντας κ.α.



ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΑΝΟΣΟΥΘΗΜΙΣΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ MSCs
ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΔΙΕΓΕΡΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΟΡΟ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΟ ΑΠΟ
ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΛΟΙΜΩΞΗ COVID-19**



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Εργαστήριο
Ανοσοβιολογίας
Ερευνητής Ε.
Ανδρέακος

Ελληνική Τράπεζα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος



COVID-19 PATIENTS



Οροί ασθενών
COVID-19



4 Διαφορετικά Χρονικά
Διαστήματα,
Ασθενείς, n=3,
Ηλικία 70 ετών

Θρεπτικό Μέσο με 30%
ορό COVID-19



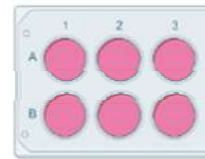
Θρεπτικό Μέσο
A-MEM
30% ορό COVID-19
1% L-glu
1% P-S

Μεσεγχυματικά Κύτταρα
του Στρώματος



MSCs O.Λ.
MSCs M.O.

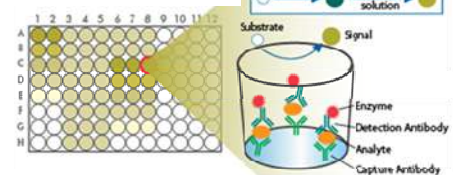
In Vitro Κυτταροκαλλιέργεια MSCs με
θρεπτικό μέσο 30% COVID-19



A1-2: MSCs O.Λ.
B1-2: MSCs M.O.

Κυτταροκαλλιέργεια για
12 - 48 ώρες

Μέθοδος Sandwich
Άμεση ELISA

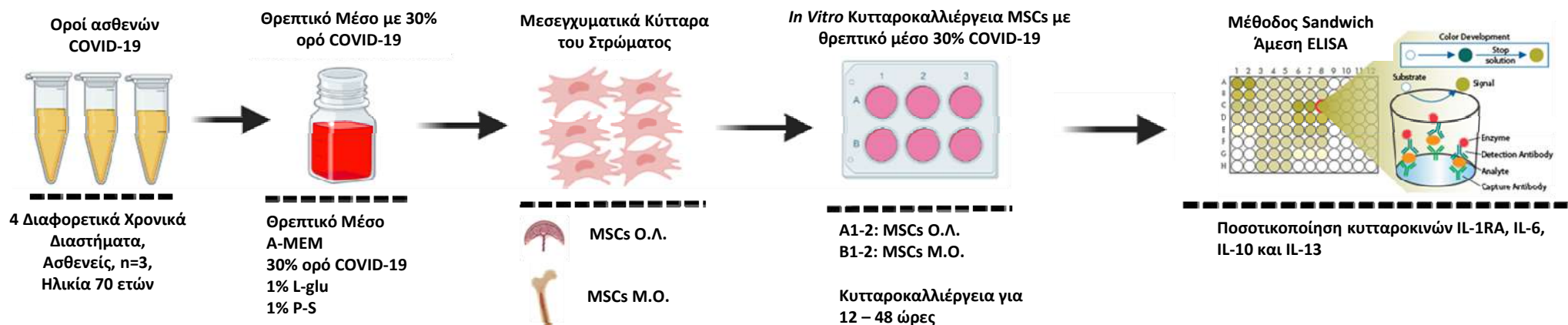


Ποσοτικοποίηση κυτταροκινών IL-1RA, IL-6,
IL-10 και IL-13

1. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ MSCS – ΠΡΩΤΑΡΧΙΚΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ



2. ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ MSCS





ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Ενυπόγραφη Συναίνεση

- Από της μητέρες δότριες για τη δωρεά του Ο.Λ. προς ερευνητική χρήση.
- Από τους δότες Μ.Ο. (ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση και νόσο του κινητικού νευρώνα) με σκοπό τη χρήση των MSCs για ερευνητικό σκοπό.



Ελληνική Τράπεζα Ομφαλικού Αίματος



Τίτλος: **CD8 T cells**
 Συντάκτης της Δωρεά Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος για Μη Στεφανική Αγγειακή Χρήση

είναι να γίνει η δωρεά της μητέρας για την αποθήκευση των μονοκλωνικών Ομφαλοπλακουντιακών Αίματος, τότε αυτής και όλες οι συγγενείς πληροφορίες τους μπορούν να μεταφερθούν σε έναν άλλο οργανισμό, ώστε να αποθηκευθούν για να τα διαχειριστούν οι ίδιοι καθόλου, καθόλου, θα αγοράσει την απαραίτητη υπηρεσία των στεφανίων τόσο του παιδιού σας όσο και των δικών σας.

11. Ερωτήσεις:
 Εάν έχετε οποιαδήποτε απορία, σφάλμα ή επιθυμία να μας ενημερώσετε σχετικά με πιθανό πρόβλημα, το οποίο θα μπορούσε να επηρεάσει τη καταλληλότητα του Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος προς μεταφορά, μπορείτε να μας ειδοώσετε κατά τη διάρκεια των ωρών γραφείου (Δευτέρα και Τετάρτη 08:30 πμ-18:00πμ και Τρίτη, Πέμπτη και Παρασκευή έως και Παρασκευή 08:30 πμ - 11:00 πμ και 12:30-18:00 μμ) στο 210 9597007.

12. Δίνετε την ΑΔΕΙΑ σας στο προσωπικό της Ε.Τ.Ο.Π.Α.
 Υπογράφοντας αυτό το έντυπο, κληθίκατε και εθελοντικά αναλαμβάνετε να συμμετάσχετε στο Πρόγραμμα Δωρεάς της Ε.Τ.Ο.Π.Α. βελτιώνοντας στις πληροφορίες και χρηστές πληροφορίες που αναφέρονται παραπάνω. Μπορείτε να υποβάλετε φωτισμένες επεξηγήσεις στην Ε.Τ.Ο.Π.Α. για οποιαδήποτε απορία, σφάλμα ή επιθυμία να ενημερωθείτε, καθώς και τα προσωπικά της Ε.Τ.Ο.Π.Α. να μελετήσει το υλικό σας, εφόσον, να αναλάβει να καταγράψει κάθε πληροφορία που θα μπορούσε να είναι χρήσιμη για το Πρόγραμμα Δωρεάς της Ε.Τ.Ο.Π.Α., όπως είναι για παράδειγμα, η τριμηνιαία παρακολούθηση μετά από κάποια φαρμακευτική παρέμβαση.

Παρακαλούμε να ενημερώσετε το προσωπικό της Ε.Τ.Ο.Π.Α. εάν είστε ικανότατοι να συζητήσετε τα προσωπικά σας στο Πρόγραμμα Δωρεάς, ταξιδιωτικές σας κινήσεις, από τους αθλητικούς ταξιδιώτες που αναφέρονται παραπάνω.

Δέσμευση της Μητέρας
 Έχω διαβάσει τις παραπάνω πληροφορίες σχετικά με το Πρόγραμμα Δωρεάς της Ε.Τ.Ο.Π.Α. έχω συζητήσει για τους κινδύνους και τα οφέλη που προκύπτουν από τη συμμετοχή μου στο πρόγραμμα, ενώ έχω λάβει ικανοποιητικές απαντήσεις στις ερωτήσεις μου.

Συμφωνώ να συμμετάσχω εθελοντικά και να δωρέσω το Ομφαλοπλακουντιακό Αίμα του παιδιού μου στο Πρόγραμμα Δωρεάς της Ε.Τ.Ο.Π.Α. με σκοπό τη χρησιμοποίησή του προς μεταφορά σε αποκαθιστάται ασθενή θα μπορούσε να ωφεληθεί από αυτό. Εάν όμως δεν είναι κατάλληλο συναινώ να χρησιμοποιηθεί στην έρευνα θεωρώντας η χρησιμοποίησή του ως κίνηση του βιολογικού τους σώματός ή στο κοινωτικό για ποικίλο λόγο. Καταλαβαίνω πως μπορεί να απαιτηθεί η συνδρομή μου οποιαδήποτε στιγμή χωρίς καμία συνέπεια με την προϋπόθεση πως η έρευνα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος που αφορά στο Πρόγραμμα Δωρεάς ΣΕ τη περίπτωση, η Ε.Τ.Ο.Π.Α. είναι υποχρεωμένη να καταστήσει τη μονάδα Ομφαλοπλακουντιακού Αίματος καθώς και το Σύστημα Αίματος που τη συνδράμουν. Με την υπογραφή αυτής της συναίνεσης, κατανοώ ότι δεν παραστέλλω την κίνηση της συνδρομής μου.

- Δωρίζω αποκλειστικά το Ομφαλοπλακουντιακό Αίμα του παιδιού μου στην Ε.Τ.Ο.Π.Α. με σκοπό να χρησιμοποιηθεί σε αποκαθιστάται ασθενή έχω εναλλαγή από μεταλλάξεις που θα μπορούσε να ωφεληθεί από αυτό.
- Στην περίπτωση που δεν είναι κατάλληλο για κλινική χρήση, συναινώ άμεσα απαλλάσσοντας να χρησιμοποιηθεί στην έρευνα ή στο κοινωτικό για ποικίλο λόγο, χωρίς να χρησιμοποιηθούν τα προσωπικά δεδομένα τα δικά μου ή του παιδιού μου.



Φύλο Σφραγίδα: **CD8 T cells**
 Συντάκτης του Υπερ-κλωνικού Χρήσης Αντιόγκων Μετεγγραμμένου Στελεχιακού Σκελετού (Infamed Coxeat for Anticancer Metastatic Stem Cell Service)

10. ΣΥΝΑΙΝΕΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ
 Ο/Η κλινική υπογεγραμμένος/η έχω διαβάσει με προσοχή και κατανοήσει πλήρως όλες τις παραπάνω πληροφορίες, πληροφορίες και γραπτώς, καθώς και την ενημέρωσή που προηγήσει σ' αυτό το έντυπο, έχω συζητήσει για τους κινδύνους και τα οφέλη που προκύπτουν από τη θεραπεία με τη χρήση αυτόλογων μετεγγραμμένων κυττάρων και έχω λάβει ικανοποιητικές απαντήσεις σε όλες τις ερωτήσεις μου. Συμφωνώ, συναινώ και αποδέχομαι τη χρήση της αυτόλογης θεραπείας και απαλλάσσω από κάθε ευθύνη το παρόν μενο καθώς και το αρμόδιο εργαστήριο που θα αναλάβει την εξέγερση του κυτταρικού υλικού σε περίπτωση μη αποτελεσματικότητας της θεραπείας ή πιθανών επιπλοκών που μπορεί να προκύψουν.

Στην περίπτωση που δεν είναι κατάλληλο για κλινική χρήση, συναινώ άμεσα απαλλάσσοντας να χρησιμοποιηθεί στην έρευνα ή στο κοινωτικό για ποικίλο λόγο, χωρίς να χρησιμοποιηθούν τα προσωπικά δεδομένα τα δικά μου ή του παιδιού μου.

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΥΠΟΓΡΑΦΗ _____

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΙΑΤΡΟΥ ΥΠΟΓΡΑΦΗ _____

ΝΟΜΙΜΟΣ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΤΗΣ ΤΡΑΠΕΖΑΣ ΟΜΦΑΛΟΠΛΑΚΟΥΝΤΙΑΚΩΝ ΑΙΜΑΤΟΣ ΥΠΟΓΡΑΦΗ _____

ΑΚΑΔΗΜΙΑ ΑΘΗΝΩΝ

IIBEEA

Fact NetCord Accredited

ESYD

Δωρεά ομφαλοπλακουντιακού αίματος

Μία ανεκτίμητη προσφορά ζωής για όλους!

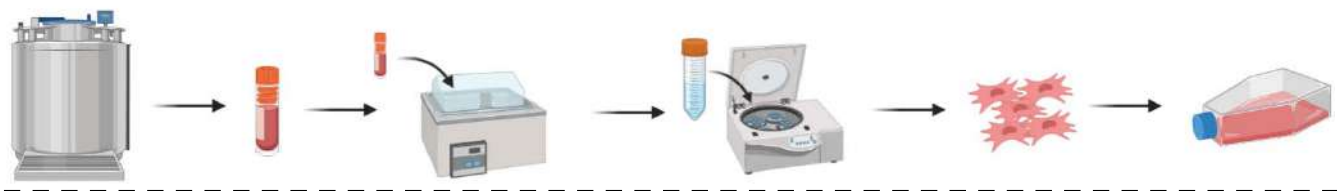
**ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ
MSCS Ο.Λ. ΚΑΙ Μ.Ο.**

1. Κρυοκατάψυξη MSCs
(Κρυοκατάψυξη αέριας φάσης -196° C)

2. Ταχεία Απόψυξη
(Υδατόλουτρο 37° C)

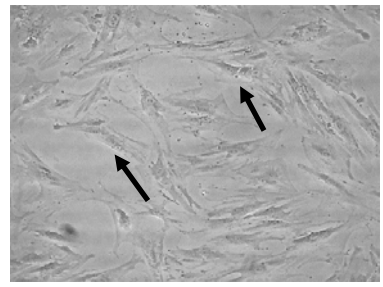
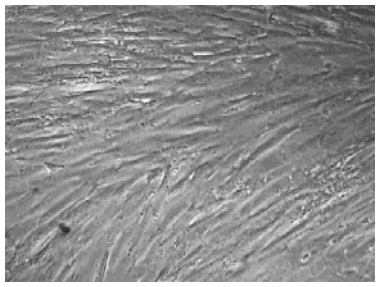
3. Φυγοκέντρηση
(500 g για 6 mins)

4. Ανάπτυξη *In Vitro* MSCs
(Επώαση στους 37°C και 5% CO₂)



MSCs O.A.
(3^η Ανακαλ.)

MSCs M.O.
(3^η Ανακαλ.)

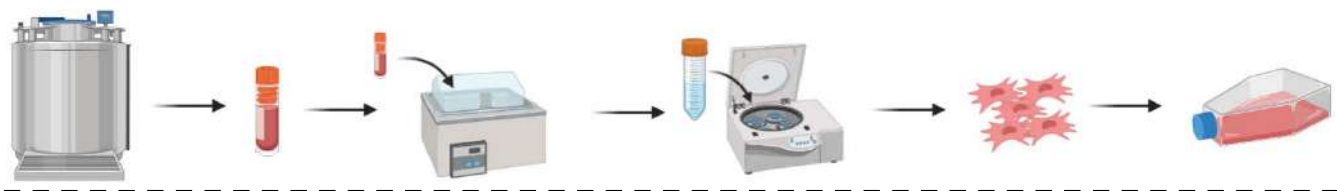


1. Κρυοκατάψυξη MSCs
(Κρυοκατάψυξη αέριας φάσης -196° C)

2. Ταχεία Απόψυξη
(Υδατόλουτρο 37° C)

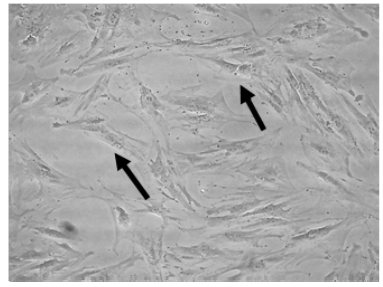
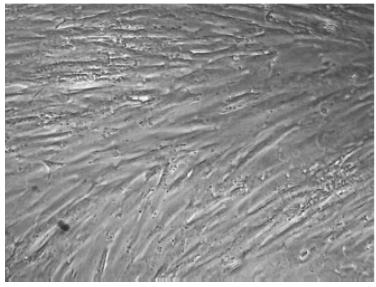
3. Φυγοκέντρηση
(500 g για 6 mins)

4. Ανάπτυξη *In Vitro* MSCs
(Επώαση στους 37°C και 5% CO₂)



MSCs O.A.
(3^η Ανακαλ.)

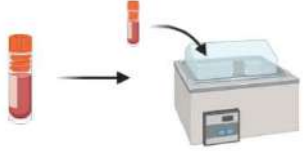
MSCs M.O.
(3^η Ανακαλ.)



1. Κρυοκατάψυξη MSCs
(Κρυοκατάψυξη αέριας φάσης -196° C)



2. Ταχεία Απόψυξη
(Υδατόλουτρο 37° C)



3. Φυγοκέντρηση
(500 g για 6 mins)



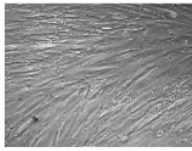
4. Ανάπτυξη *In Vitro* MSCs
(Επώαση στους 37°C και 5% CO₂)



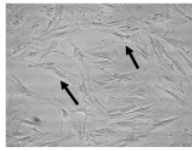
MSCs Ο.Λ.

- Καλύτερη πολλαπλασιαστική Ικανότητα
- Καλύτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά

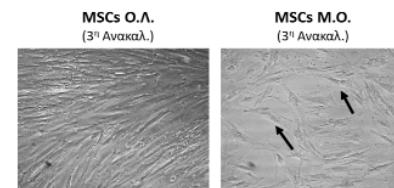
MSCs Ο.Λ.
(3^η Ανακαλ.)



MSCs Μ.Ο.
(3^η Ανακαλ.)



- 1. Κρυοκατάψυξη MSCs**
(Κρυοκατάψυξη αέριας φάσης -196° C)
- 2. Ταχεία Απόψυξη**
(Υδατόλουτρο 37° C)
- 3. Φυγοκέντρηση**
(500 g για 6 mins)
- 4. Ανάπτυξη In Vitro MSCs**
(Επώαση στους 37°C και 5% CO₂)



- MSCs O.L.**
- Καλύτερη πολλαπλασιαστική Ικανότητα
 - Καλύτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά

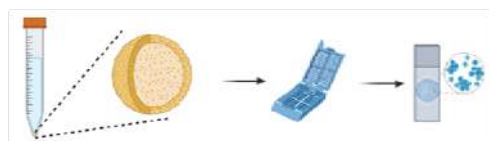
ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ MSCS O.L. ΚΑΙ M.O.

1. ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΣΕ «ΟΣΤΕΟΚΥΤΤΑΡΑ», «ΛΙΠΟΚΥΤΤΑΡΑ» ΚΑΙ «ΧΟΝΔΡΟΚΥΤΤΑΡΑ»

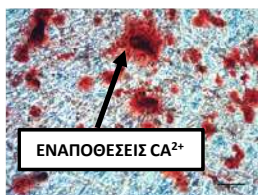
Διαφοροποίηση σε «οστεοκύτταρα» και «λιποκύτταρα» σε διδικασιατή καλλιέργεια (2D culture)



Διαφοροποίηση σε «χονδροκύτταρα» σε τρισδιάστατη καλλιέργεια (3D culture)

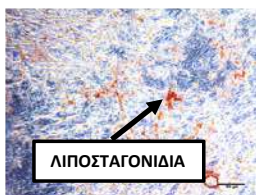


«Οστεοκύτταρα»
Alizarin Red S



ΕΝΑΠΟΘΕΣΕΙΣ CA²⁺

«Λιποκύτταρα»
Oil Red



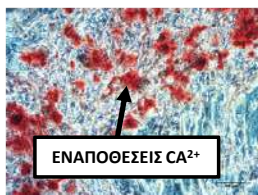
ΛΙΠΟΣΤΑΓΟΝΙΔΙΑ

«Χονδροκύτταρα»
Alcian Blue

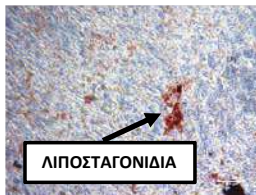


ΠΑΡΑΓΩΓΗ GAGS

MSCs M.O.



ΕΝΑΠΟΘΕΣΕΙΣ CA²⁺



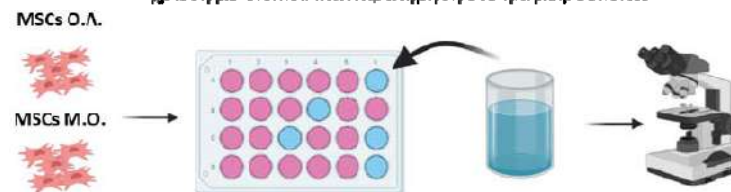
ΛΙΠΟΣΤΑΓΟΝΙΔΙΑ



ΠΑΡΑΓΩΓΗ GAGS

2. ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΠΟΙΚΙΩΝ

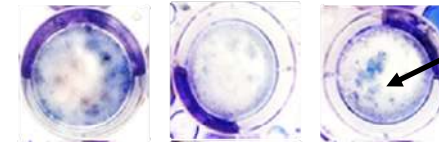
Καλλιέργεια σε πλάκα των 24 πηγαβίων για 21 ώρες, μονιμοποίηση, χρώση με Giemsa και παρατήρηση στο ηλ. μικροσκόπιο



MSCs O.L.



MSCs M.O.



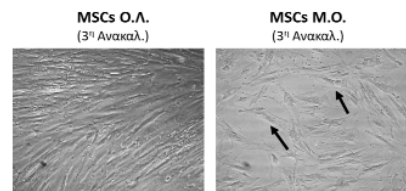
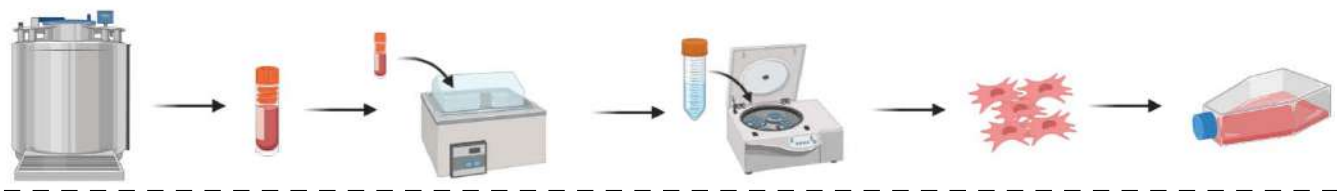
Ανάπτυξη Αποικιών MSCs

1. Κρυοκατάψυξη MSCs
(Κρυοκατάψυξη αέριας φάσης -196° C)

2. Ταχεία Απόψυξη
(Υδατόλουτρο 37° C)

3. Φυγοκέντρηση
(500 g για 6 mins)

4. Ανάπτυξη In Vitro MSCs
(Επώαση στους 37°C και 5% CO₂)



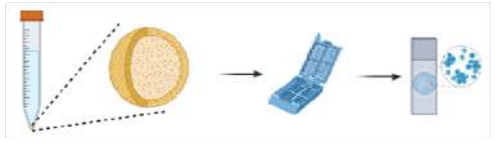
- MSCs O.L.**
- Καλύτερη πολλαπλασιαστική Ικανότητα
 - Καλύτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ MSCS O.L. ΚΑΙ M.O.

1. ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΣΕ «ΟΣΤΕΟΚΥΤΤΑΡΑ», «ΛΙΠΟΚΥΤΤΑΡΑ» ΚΑΙ «ΧΟΝΔΡΟΚΥΤΤΑΡΑ»

Διαφοροποίηση σε «οστεοκύτταρα» και «λιποκύτταρα» σε διδικασιακή καλλιέργεια (2D culture)

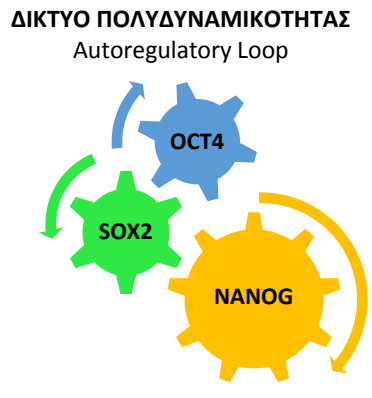
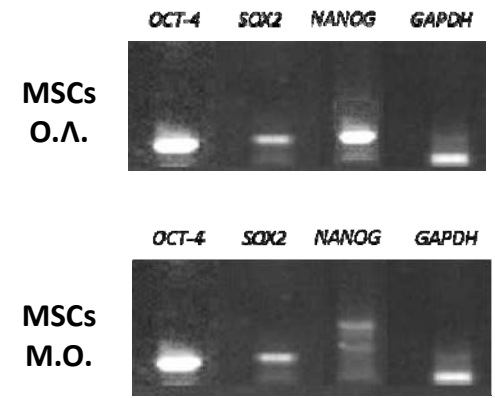
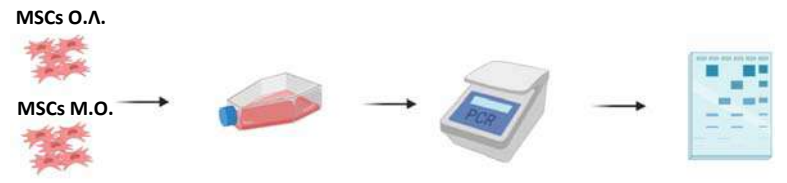
Διαφοροποίηση σε «χονδροκύτταρα» σε τρισδιάστατη καλλιέργεια (3D culture)



	«Οστεοκύτταρα» Alizarin Red S	«Λιποκύτταρα» Oil Red	«Χονδροκύτταρα» Alcian Blue
MSCs O.L.	 ΕΝΑΠΟΘΕΣΕΙΣ CA ²⁺	 ΛΙΠΟΣΤΑΓΟΝΙΔΙΑ	 ΠΑΡΑΓΩΓΗ GAGS
MSCs M.O.	 ΕΝΑΠΟΘΕΣΕΙΣ CA ²⁺	 ΛΙΠΟΣΤΑΓΟΝΙΔΙΑ	 ΠΑΡΑΓΩΓΗ GAGS

3. ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΓΙΑ ΔΕΙΚΤΕΣ ΠΟΛΥΔΥΝΑΜΙΚΟΤΗΤΑΣ

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΔΕΙΚΤΗ ΠΟΛΥΔΥΝΑΜΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΕΣΩ ΔΙΕΞΑΓΩΓΗΣ PCR ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ ΣΕ ΠΗΚΤΩΜΑ ΑΓΑΡΟΖΗΣ



Mallis P et al. Unpublished Data

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ MSCS Ο.Λ. ΚΑΙ Μ.Ο.

4. ΑΝΟΣΟΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΟΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ MSCS Ο.Λ. ΚΑΙ Μ.Ο. ΜΕ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

Πολύ-παραμετρική ανάλυση αξιοποιώντας πάνελ 17 μονοκλωνικών αντισωμάτων (*Hellenic Cord Blood Bank MSCs Immunophenotyping Protocol*)

Διάκριση μεταξύ

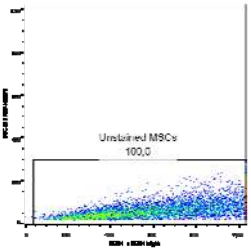
- MSCs (Ο.Λ., Μ.Ο., Λ.Ι.)
- Αρχέγονων Αιμοποιητικών Κυττάρων (ΑΑΚ)
- Κυττάρων του ανοσ. Συστήματος (μακροφάγων, Τ και Β κυττάρων)
- Ενδοθηλιακών κυττάρων
- Ινοβλαστών



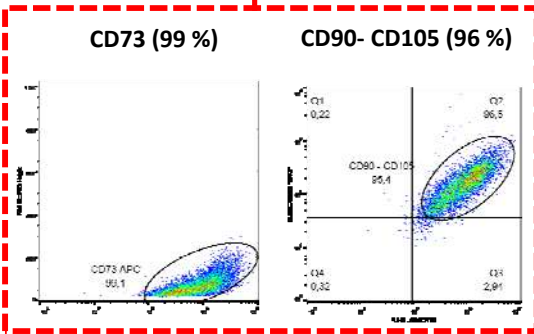
MSCs Ο.Λ. (n=6)

Δείκτες MSCs (Κριτ. ISCT) > 90%

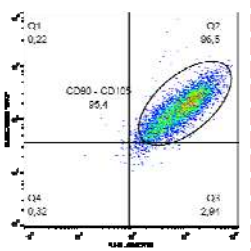
Μέγεθος – Κοκκίωση
MSCs



CD73 (99 %)

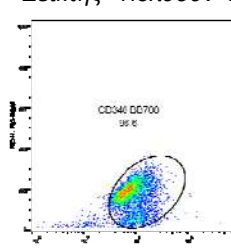


CD90- CD105 (96 %)



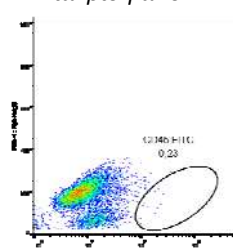
CD340 (97 %)

Δείκτης «Πολυδυν».

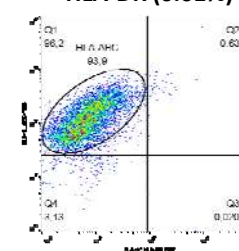


CD45 (0.01%)

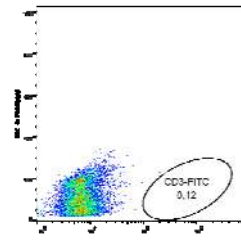
Διάκριση από ΑΑΚ



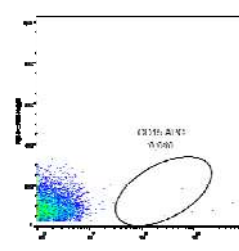
HLA-ABC (94 %) –
HLA-DR (0.01%)



CD3 (0.12 %)
Διάκ. απ. Τ κύτταρα



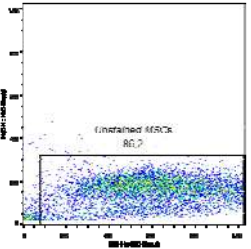
CD15 (0.04%)
Διάκ. απ. ινοβλάστες



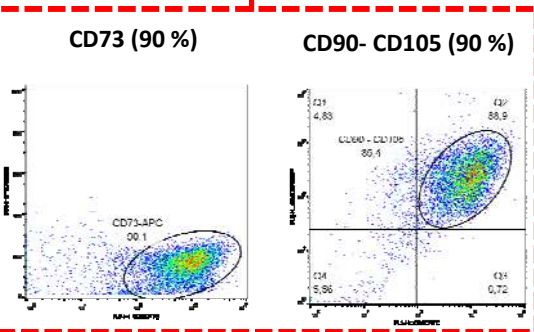
MSCs Μ.Ο. (n=6)

Δείκτες MSCs (Κριτ. ISCT) > 90%

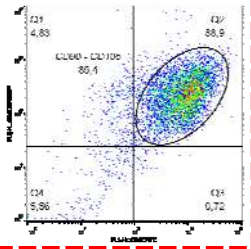
Μέγεθος – Κοκκίωση
MSCs



CD73 (90 %)

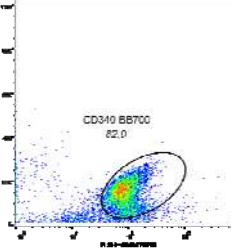


CD90- CD105 (90 %)



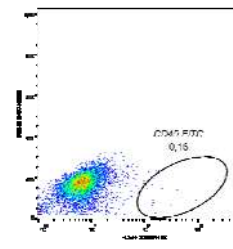
CD340 (82 %)

Δείκτης «Πολυδυν».

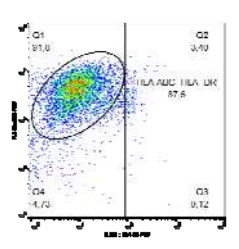


CD45 (0.16%)

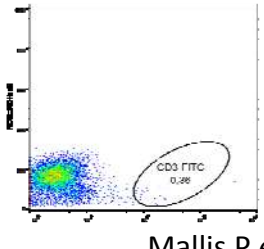
Διάκριση από ΑΑΚ



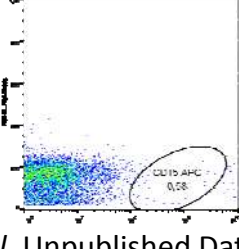
HLA-ABC (88 %) –
HLA-DR (0.12%)



CD3 (0.36 %)
Διάκ. απ. Τ κύτταρα



CD15 (0.58%)
Διάκ. απ. ινοβλάστες



Mallis P et al. Unpublished Data

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ MSCS Ο.Λ. ΚΑΙ Μ.Ο.

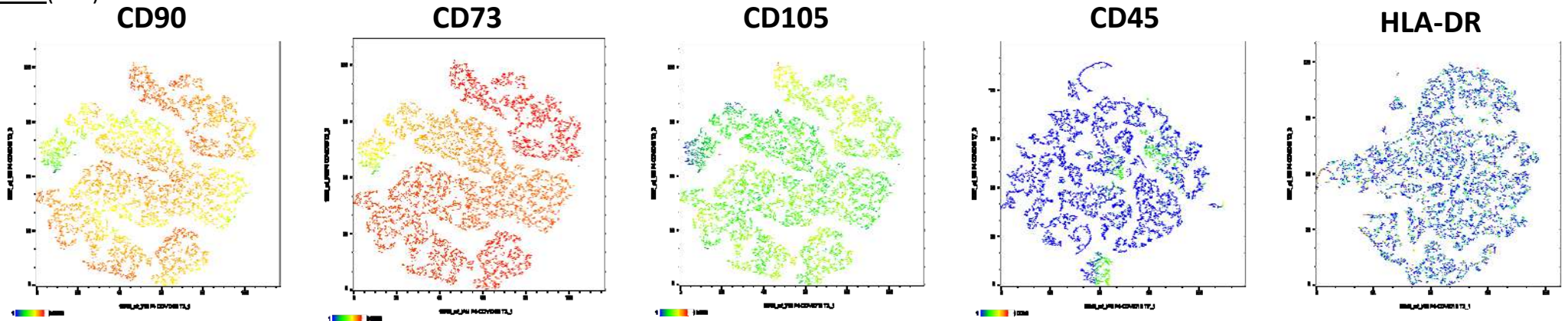
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ (t-distributed Stochastic Neighbor Embedding – t-SNE)

Χαμηλή Έκφραση  Υψηλή Έκφραση

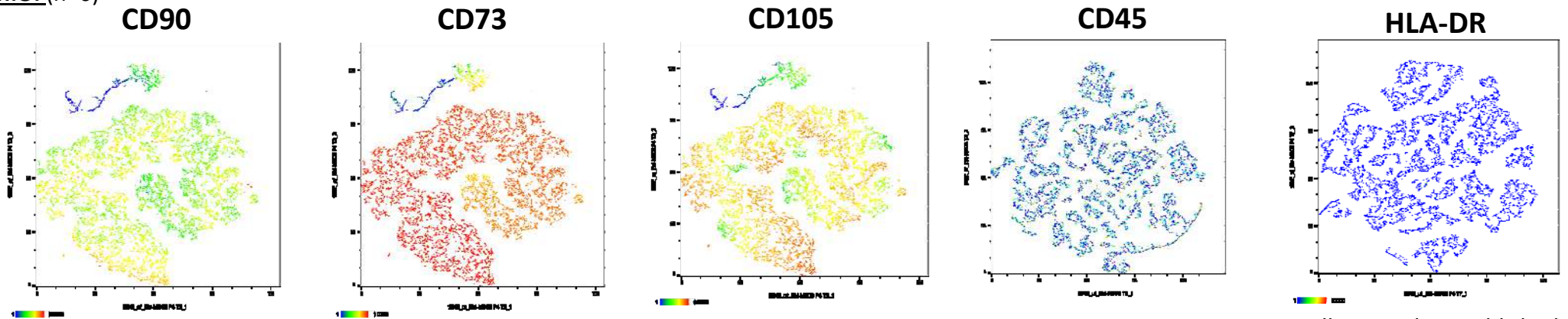
Ο.Λ. VS Μ.Ο.

- Σχετικά ομοιογενής πληθυσμός στελεχιαίων κυττάρων.
- Εκπλήρωση κριτηρίων ISCT-MSC Committee (μορφολογία ινοβλάστη, διαφοροποίηση, > 90% CD73, CD90 και CD105, <3% CD34, CD45, HLA-DR)

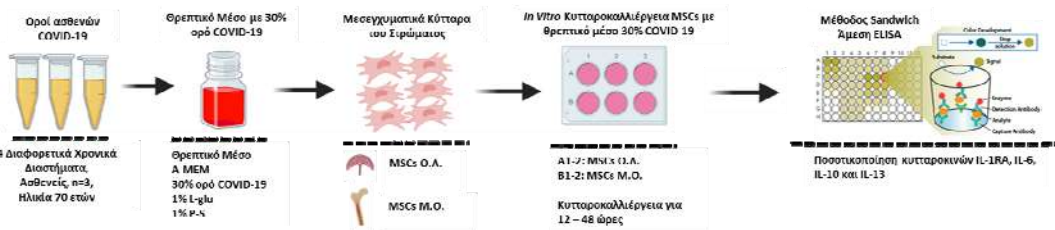
MSCs Ο.Λ. (n=6)



MSCs Μ.Ο. (n=6)



ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ MSCs ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΟΡΟΥ COVID-19



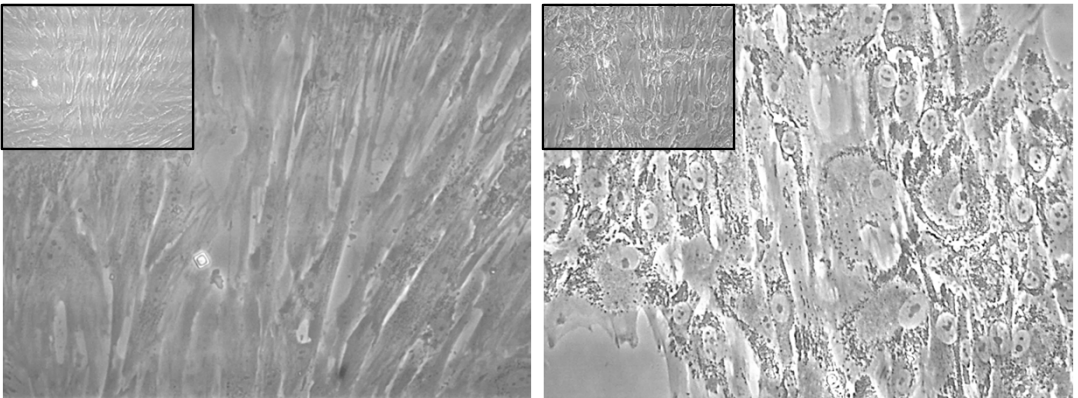
O.L. VS M.O.

- Καλύτερη πολλαπλασιαστική ικανότητα των MSCs O.L. μετά την απόψυξη
- Καλύτερα επίπεδα ζωτικότητας των MSCs O.L.

MSCs O.L.

ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΡΟΥ COVID-19

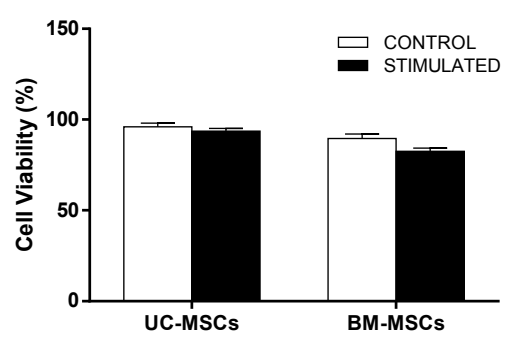
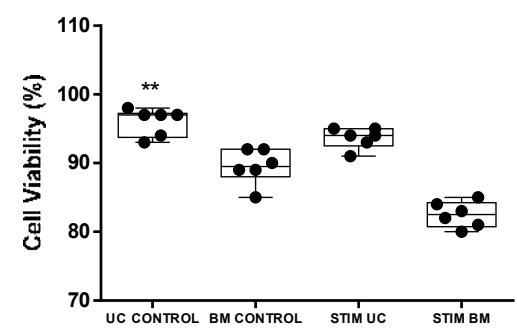
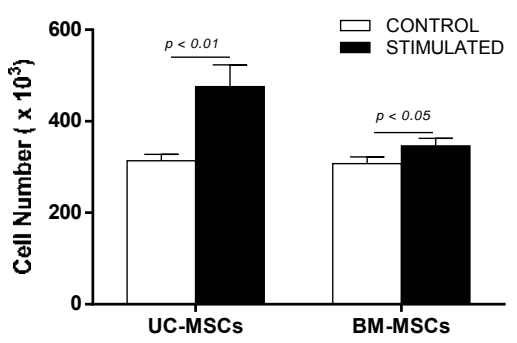
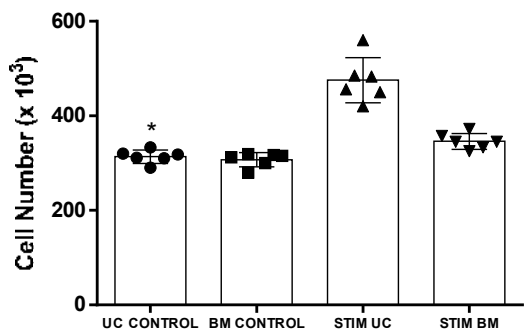
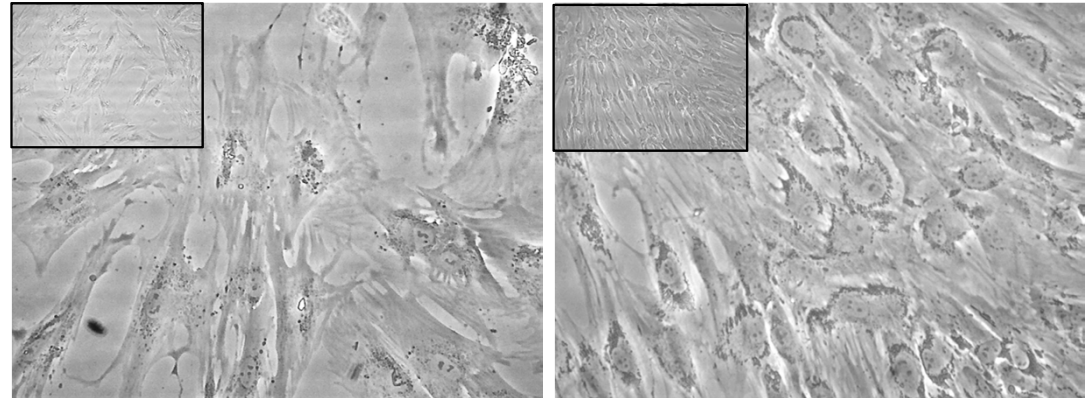
ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΡΟΥ COVID-19



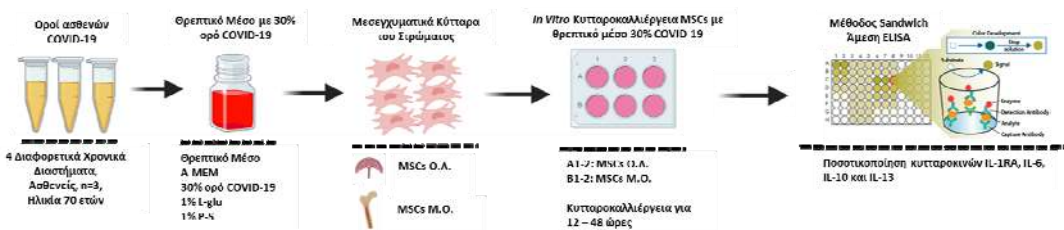
MSCs M.O.

ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΡΟΥ COVID-19

ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΡΟΥ COVID-19



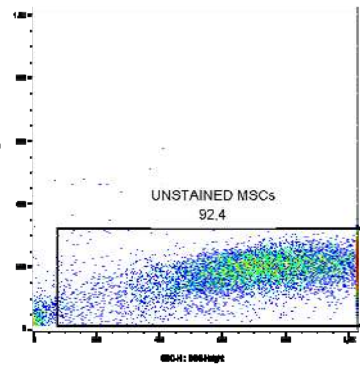
Mallis P et al. Unpublished Data



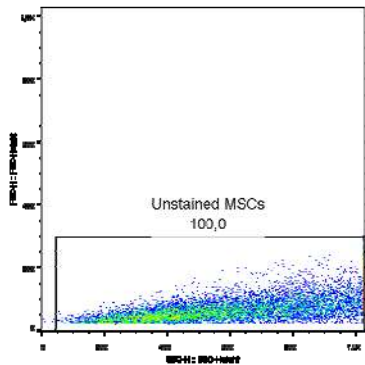
O.A. VS M.O.

- Μεγαλύτερη κοκκίωση των διεγερμένων MSCs O.A.
- Παρόμοια ποσοστά έκφραση όλων των υπόλοιπων δεικτών (CD73, CD90 και CD105).

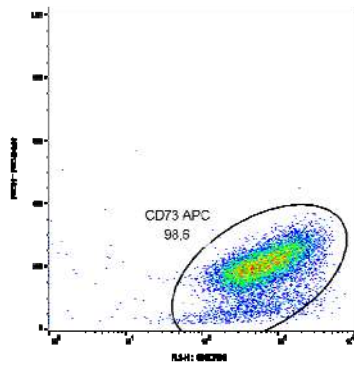
Μέγεθος – Κοκκίωση ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.



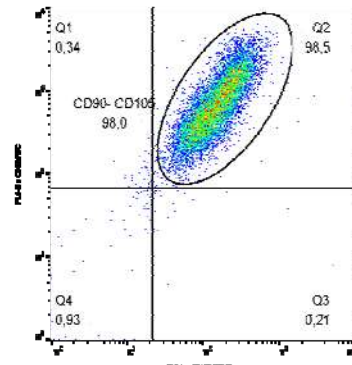
Μέγεθος – Κοκκίωση ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.



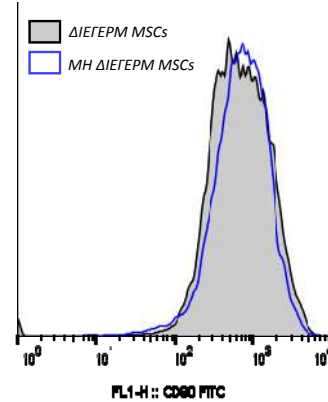
CD73 (98 %) ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.



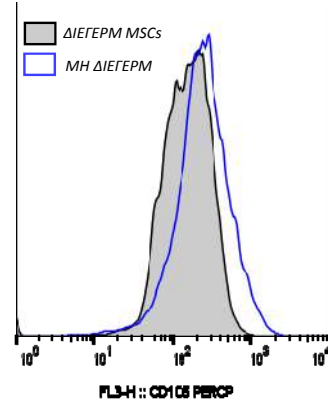
CD90- CD105 (98 %) ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.



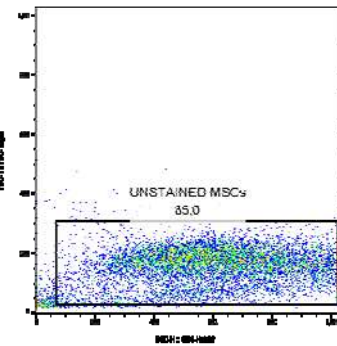
CD90 (ns) ΔΙΕΓΕΡΜ VS ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜ.



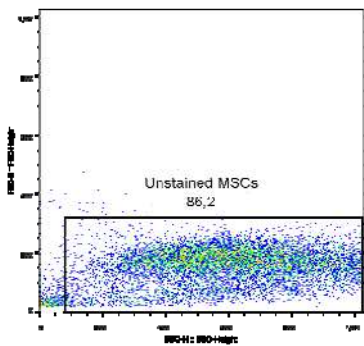
CD105 (ns) ΔΙΕΓΕΡΜ VS ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜ.



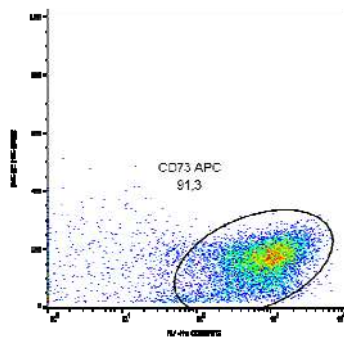
Μέγεθος – Κοκκίωση ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs M.O.



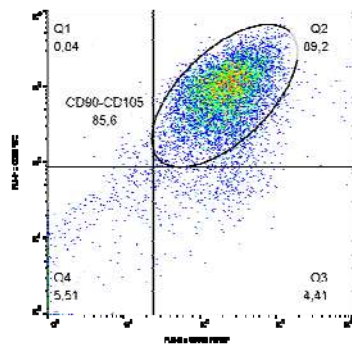
Μέγεθος – Κοκκίωση ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs M.O.



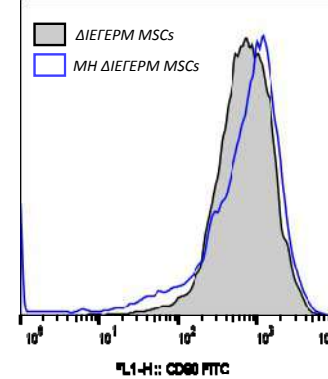
CD73 (91 %) ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs M.O.



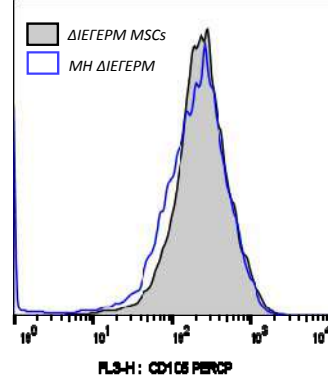
CD90- CD105 (89 %) ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.

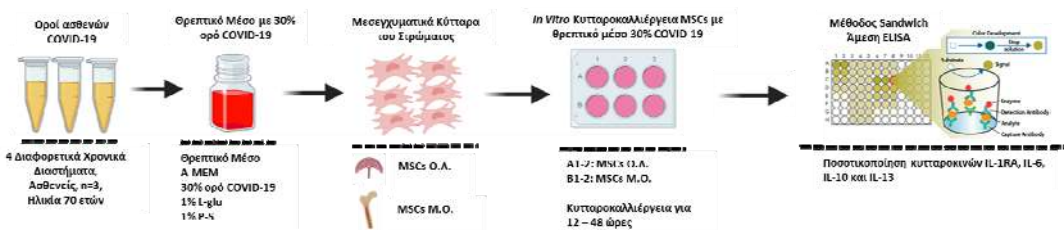


CD90 (ns) ΔΙΕΓΕΡΜ VS ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜ.



CD105 (ns) ΔΙΕΓΕΡΜ VS ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜ.

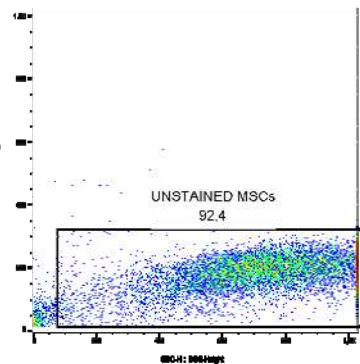




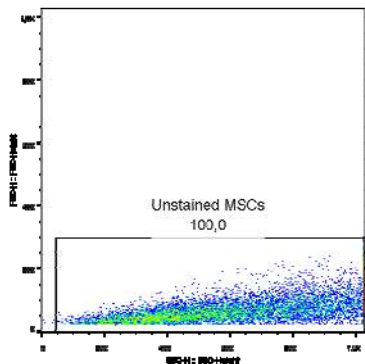
O.A. VS M.O.

- Μεγαλύτερη κοκκίωση των διεγερμένων MSCs O.A.
- Παρόμοια ποσοστά έκφραση όλων των υπόλοιπων δεικτών (CD73, CD90 και CD105).

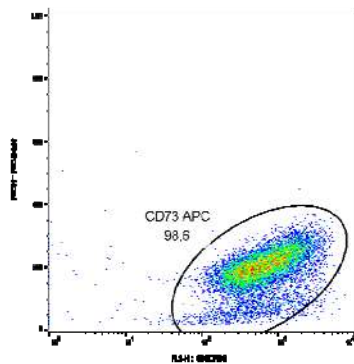
Μέγεθος – Κοκκίωση ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.



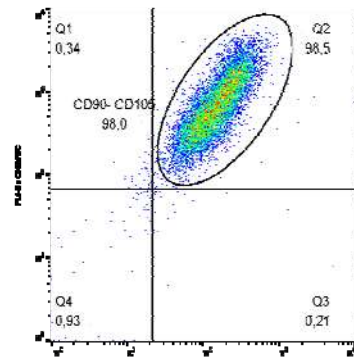
Μέγεθος – Κοκκίωση ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.



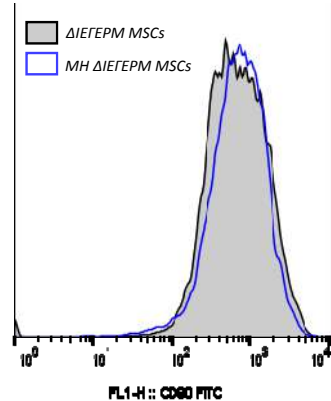
CD73 (98 %) ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.



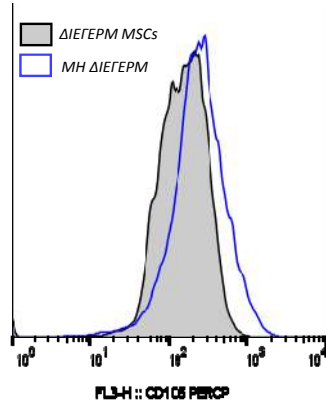
CD90- CD105 (98 %) ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.



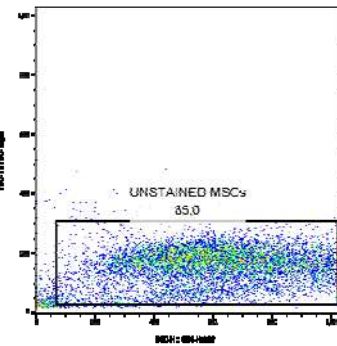
CD90 (ns) ΔΙΕΓΕΡΜ VS ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜ.



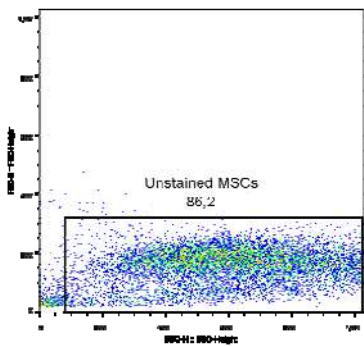
CD105 (ns) ΔΙΕΓΕΡΜ VS ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜ.



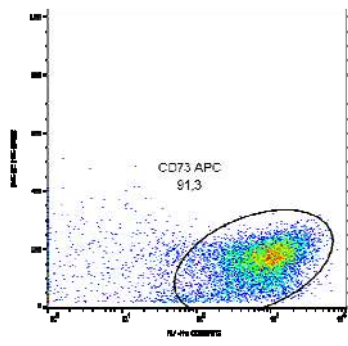
Μέγεθος – Κοκκίωση ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs M.O.



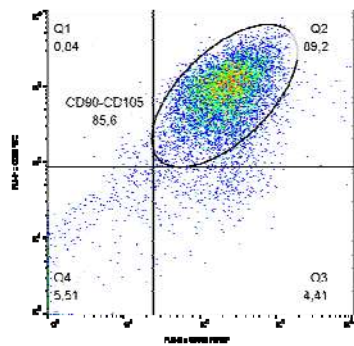
Μέγεθος – Κοκκίωση ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs M.O.



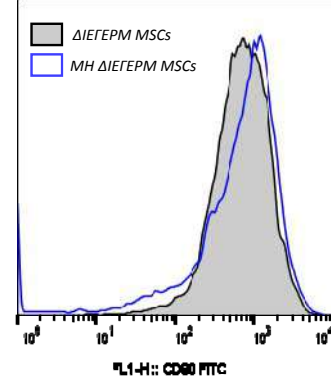
CD73 (91 %) ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs M.O.



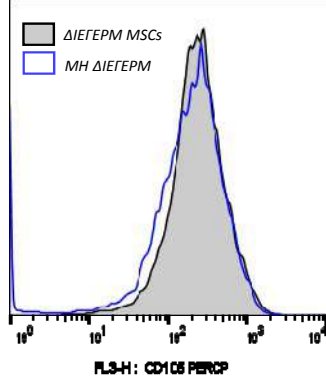
CD90- CD105 (89 %) ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs O.A.

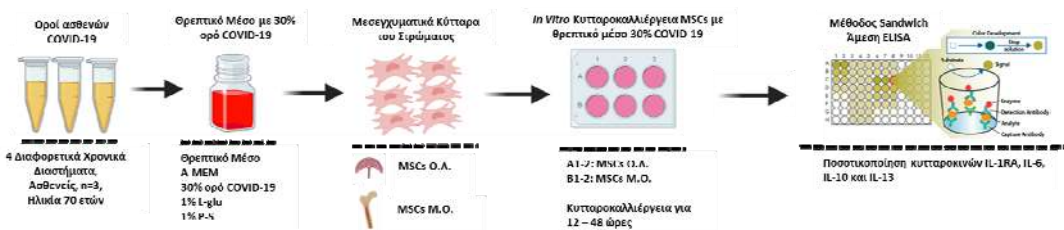


CD90 (ns) ΔΙΕΓΕΡΜ VS ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜ.

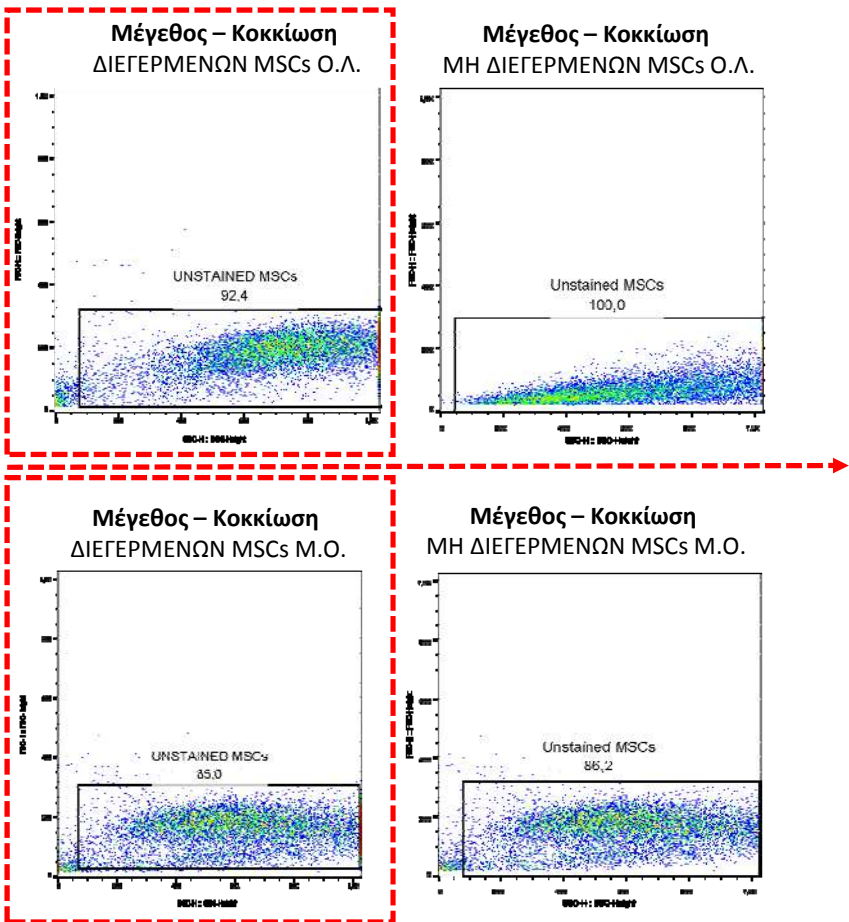


CD105 (ns) ΔΙΕΓΕΡΜ VS ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜ.





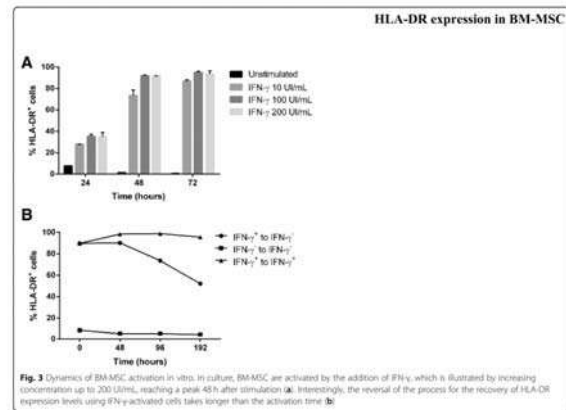
- ### O.A. VS M.O.
- Μεγαλύτερη κοκκίωση των διεγερμένων MSCs O.A.
 - Παρόμοια ποσοστά έκφραση όλων των υπόλοιπων δεικτών (CD73, CD90 και CD105).



ELSEVIER
EXPERIMENTAL HEMATOLOGY
Experimental Hematology 31 (2003) 890-896
HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells
Katarina Le Blanc^{a,b}, Charlotte Tammik^a, Kerstin Rosendahl^a, Eva Zetterberg^a, and Olle Ringdén^{a,b}
^aDivision of Clinical Immunology, ^bCentre for Allogeneic Stem Cell Transplantation, and ^cDepartment of Haematology, Karolinska Institutet, Huddinge University Hospital, Stockholm, Sweden
(Received 17 January 2003; revised 1 April 2003; accepted 16 April 2003)

Using flow cytometry, we found that undifferentiated MSC express intermediate levels of HLA class I. Although HLA class II could be demonstrated intracellularly using Western blot on whole-cell lysates, it was not expressed on the cell surface. In coculture experiments, MSC failed to elicit proliferation of allogeneic lymphocytes. When undifferentiated MSC were exposed to IFN- γ , more than 90% of the MSC expressed HLA class II. However, despite IFN- γ -induced expression of HLA class II, MSC were unable to stimulate T cells.

RESEARCH Open Access
HLA-DR expression in clinical-grade bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells: a two-site study
Marta Grau-Vorster^{1,2*}, Anita Laitinen^{1†}, Johanna Nystedt^{1†} and Joaquim Vives^{1,3†*}



Η έκθεση των MSCs σε φλεγμονώδες ερέθισμα πιθανότατα προκαλεί αύξηση της ενδοκυττάριας έκφρασης των HLA τάξης II

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ HLA-DR ΣΕ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΑ ΚΑΙ ΜΗ MSCs Ο.Λ ΚΑΙ Μ.Ο. ΜΕΣΩ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ

- Ο.Λ. VS Μ.Ο.**
- Αύξηση της ενδοκυττάριας έκφρασης του HLA-DR στα διεγερμένα MSCs των 2 πηγών.
 - Αύξηση τη έκφρασης κατά 53% στα διεγερμένα MSCs του Μ.Ο. σε σύγκριση με τα MSCs του Ο.Λ.

Μέγεθος – Κοκκίωση
ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs Ο.Λ.

Μέγεθος – Κοκκίωση
ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs Ο.Λ.

HLA-DR (0.38 %)
ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs Ο.Λ.

HLA-DR (4.29 %)
ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs Ο.Λ.

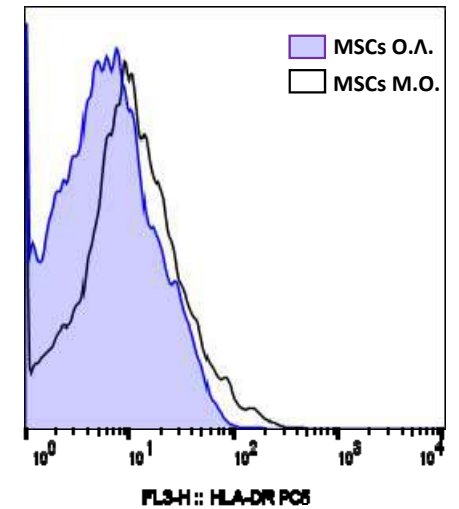
Μέγεθος – Κοκκίωση
ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs Μ.Ο.

Μέγεθος – Κοκκίωση
ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs Μ.Ο.

HLA-DR (0.87 %)
ΜΗ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs Μ.Ο.

HLA-DR (6.58 %)
ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCs Μ.Ο.

HLA-DR (4.29 %)
ΔΙΕΓΕΡΜ Ο.Λ. VS ΔΙΕΓΕΡΜ Μ.Ο.

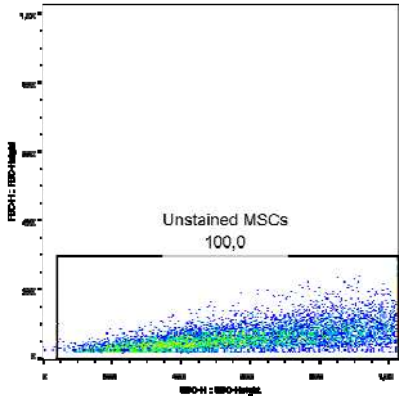


Mallis P *et al.* Unpublished Data

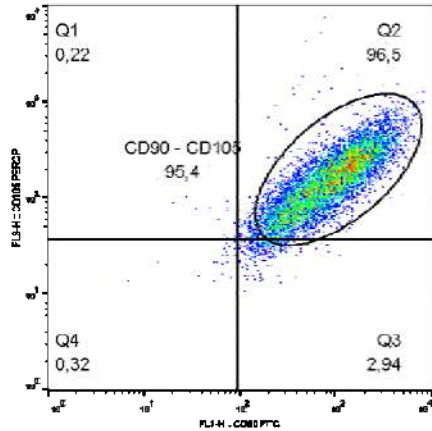
ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ MSCS Ο.Λ. ΚΑΙ Μ.Ο.

MSCs Ο.Λ. (n=6)

**Μέγεθος – Κοκκίωση
MSCs**



CD90- CD105 (96 %)

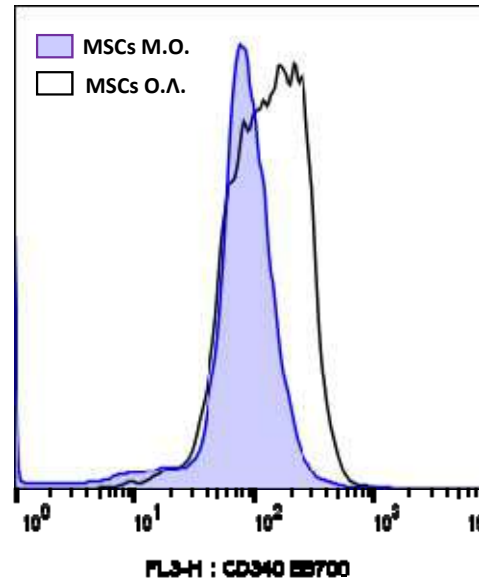


Ο.Λ. VS Μ.Ο.

- Μεγαλύτερη έκφραση δεικτών πολύ-δυναμικότητας
- Μεγαλύτερη έκφραση πρωτεϊνών προσκόλλησης (ιντεγκρίνες α1β1)

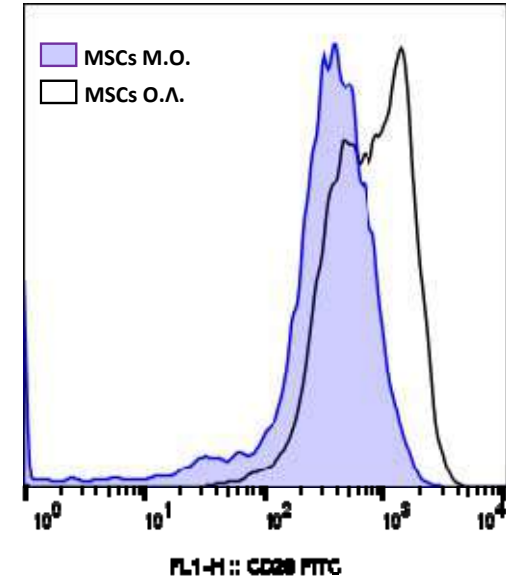
CD340

Ο.Λ. 97 % VS Μ.Ο. 82 %



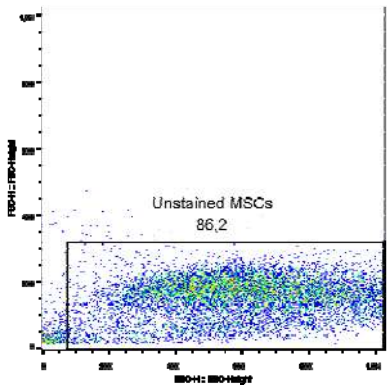
CD29

Ο.Λ. 98 % VS Μ.Ο. 88 %

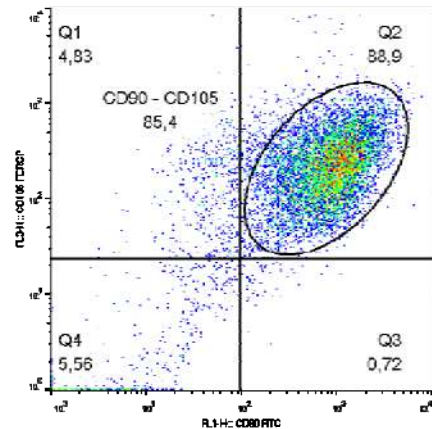


MSCs Μ.Ο. (n=6)

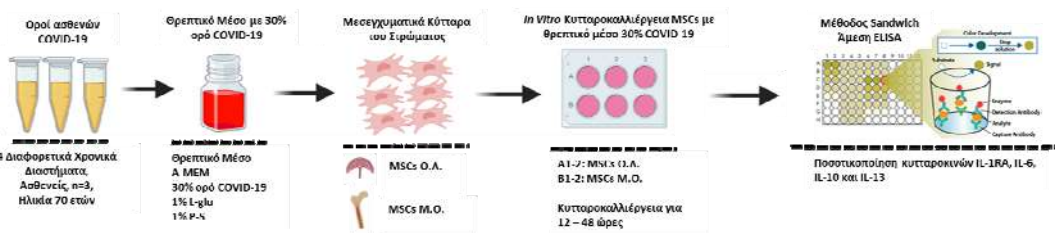
**Μέγεθος – Κοκκίωση
MSCs**



CD90- CD105 (89 %)



**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ
ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ
MSCS Ο.Λ. ΚΑΙ Μ.Ο.**

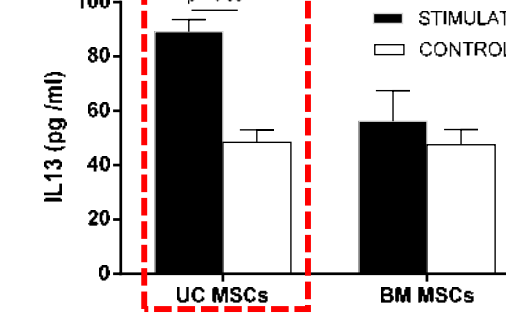
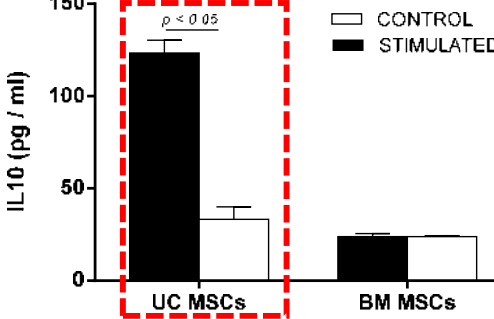
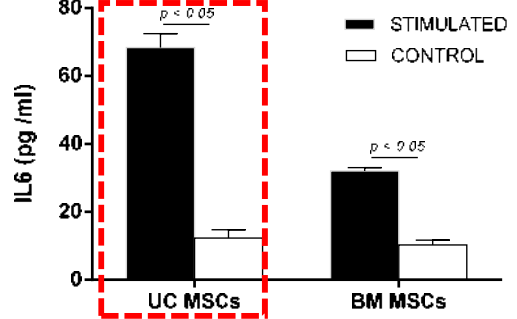
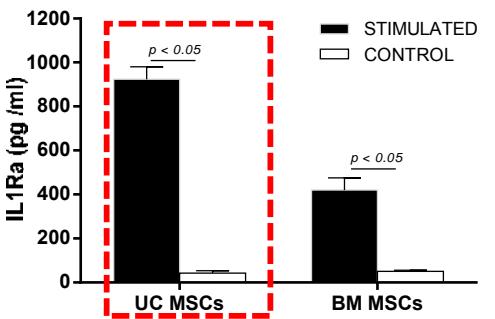
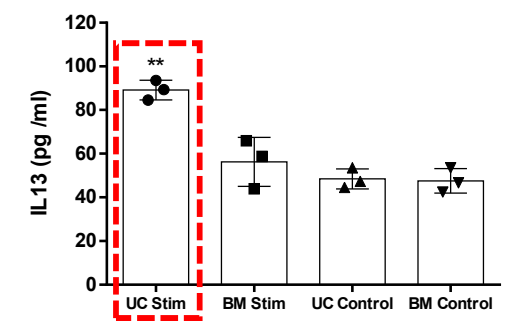
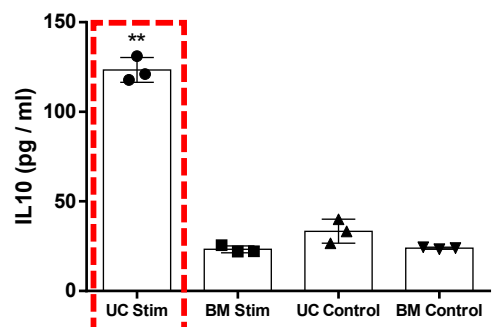
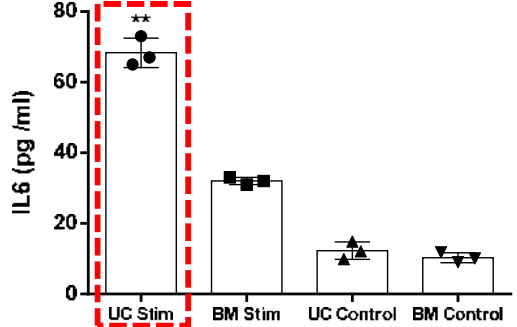
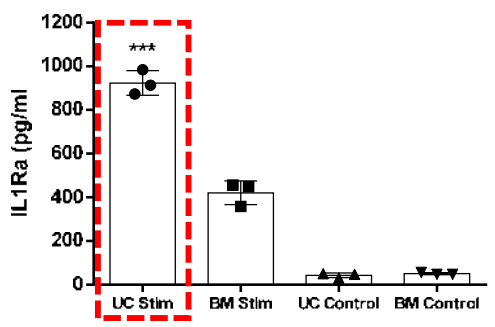


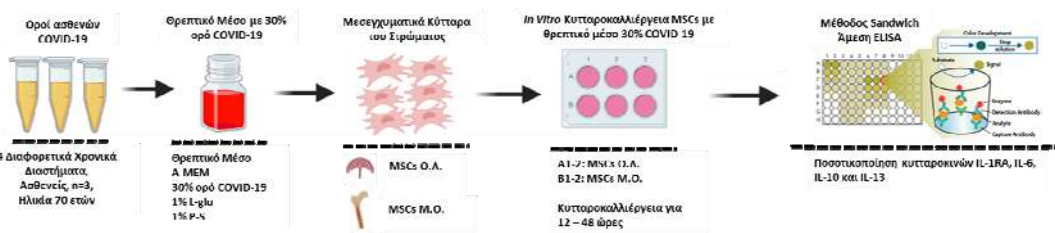
Ο.Λ. VS Μ.Ο.

- Καλύτερη ανταπόκριση των MSCs Ο.Λ.
- Υψηλότερα ποσοστά κυτταροκινών μετά από 12 ώρες.

Ποσοτικοποίηση στο Υπερκείμενο της Καλλιέργειας MSCs n=3 / πηγή

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ 12 ΩΡΕΣ



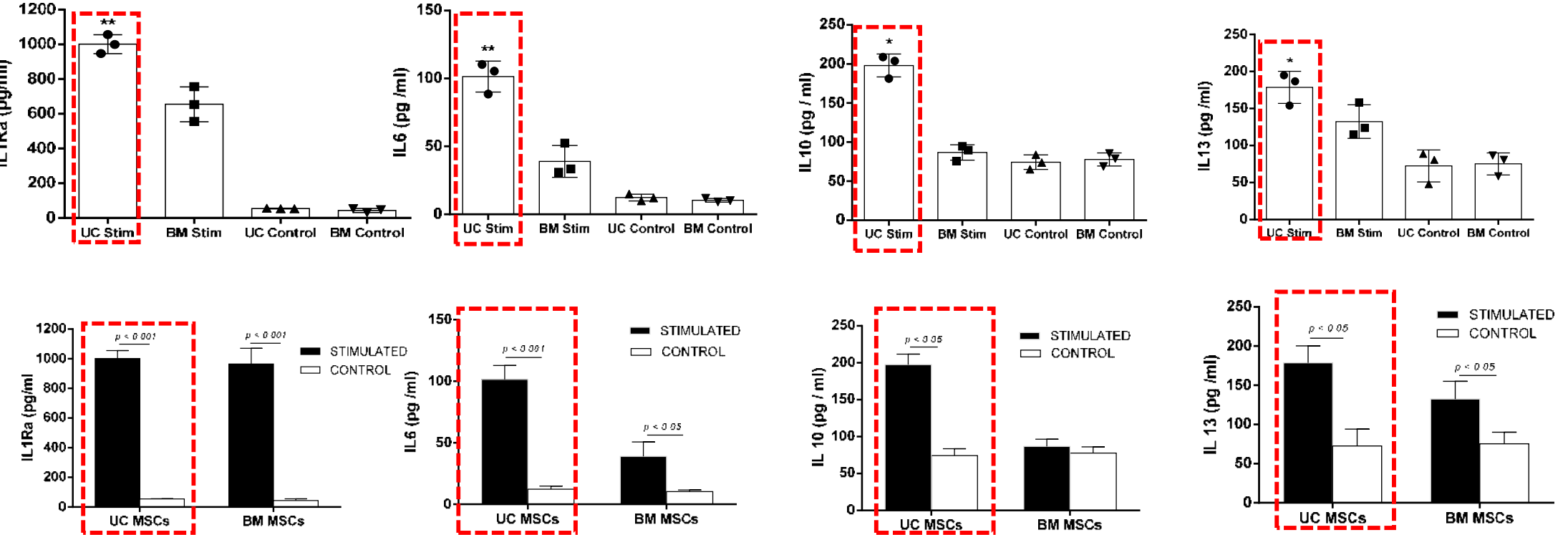


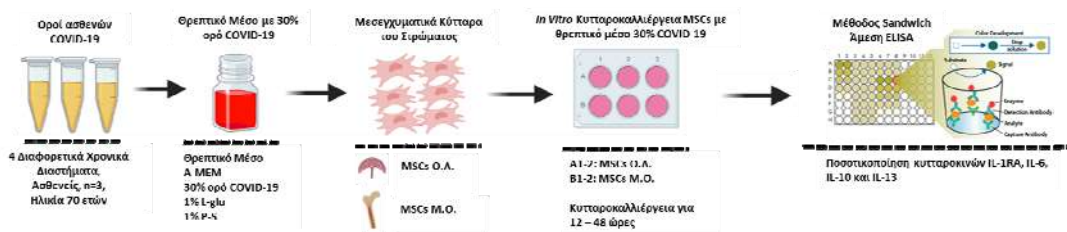
O.A. VS M.O.

- Καλύτερη ανταπόκριση των MSCs O.A.
- Διατήρηση των επιπέδων των παραγόμενων κυτταροκινών μετά από 24 ώρες.

Ποσοτικοποίηση στο Υπερκείμενο της Καλλιέργειας MSCs n=3 / πηγή

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ 24 ΩΡΕΣ

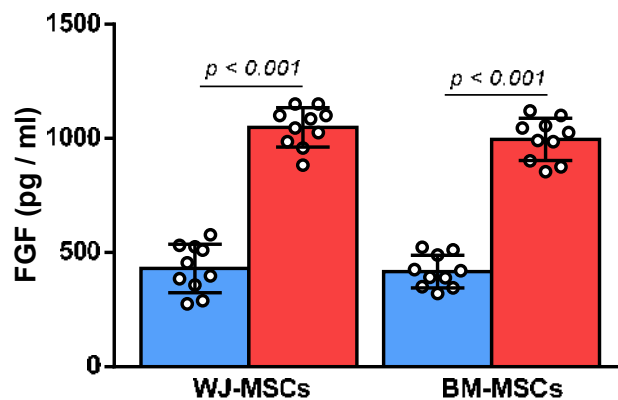
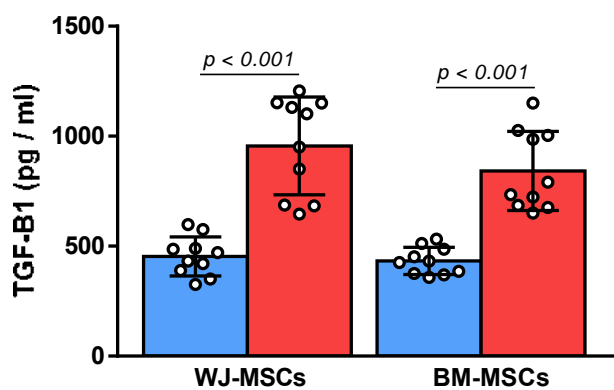




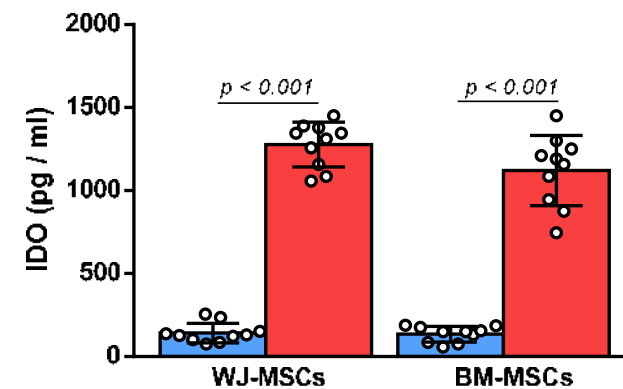
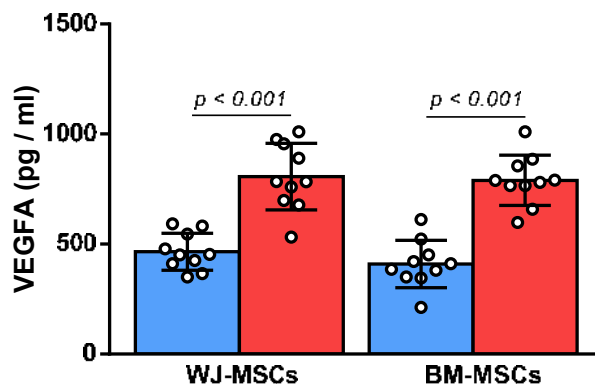
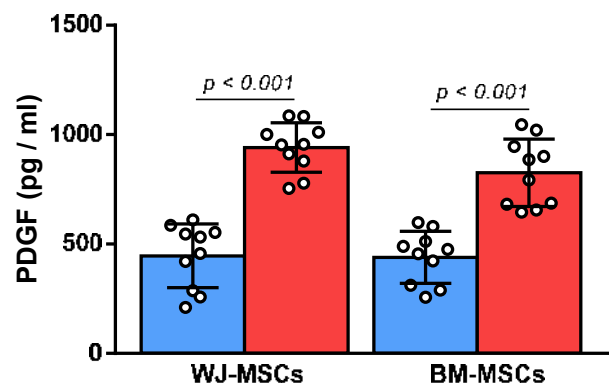
Ο.Λ. VS M.O.

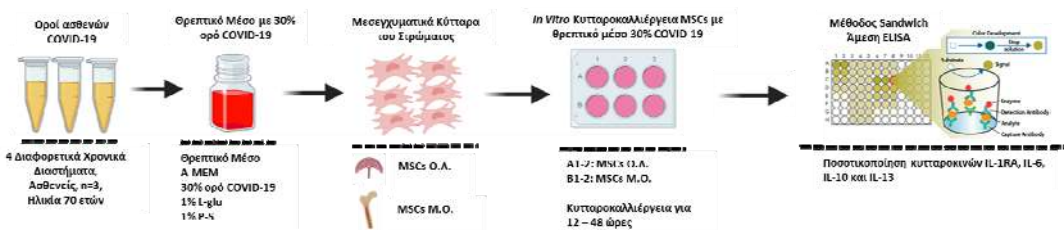
- Παρόμοια ανταπόκριση των MSCs Ο.Λ. και του Μ.Ο.
- Μετά από 12 ώρες

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ 12 ΩΡΕΣ



■ Unstimulated MSCs
■ Stimulated MSCs

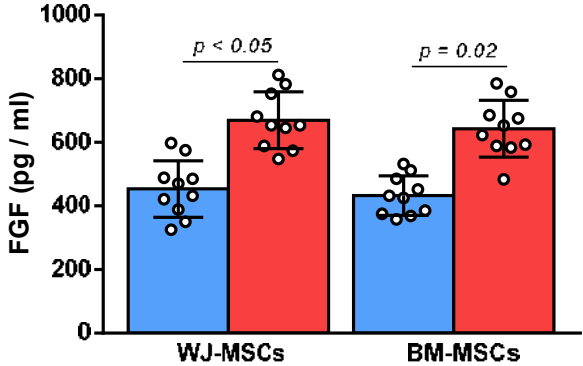
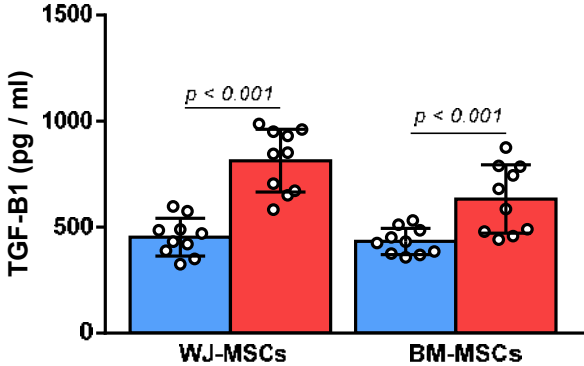




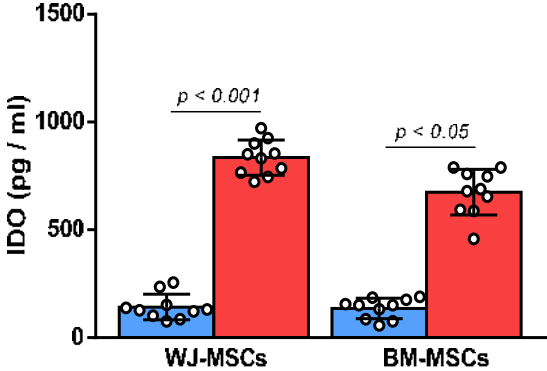
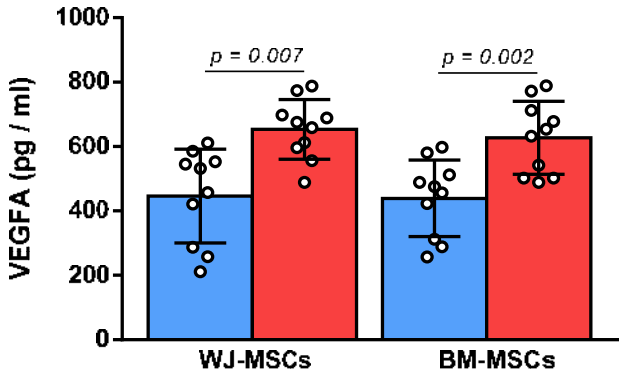
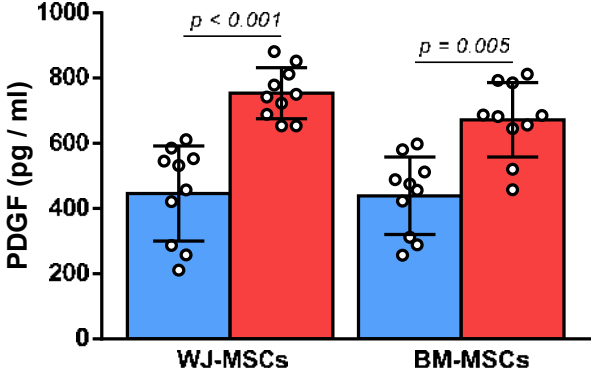
Ο.Λ. VS Μ.Ο.

- Παρόμοια ανταπόκριση των MSCs Ο.Λ. και του Μ.Ο.
- Μετά από 24 ώρες

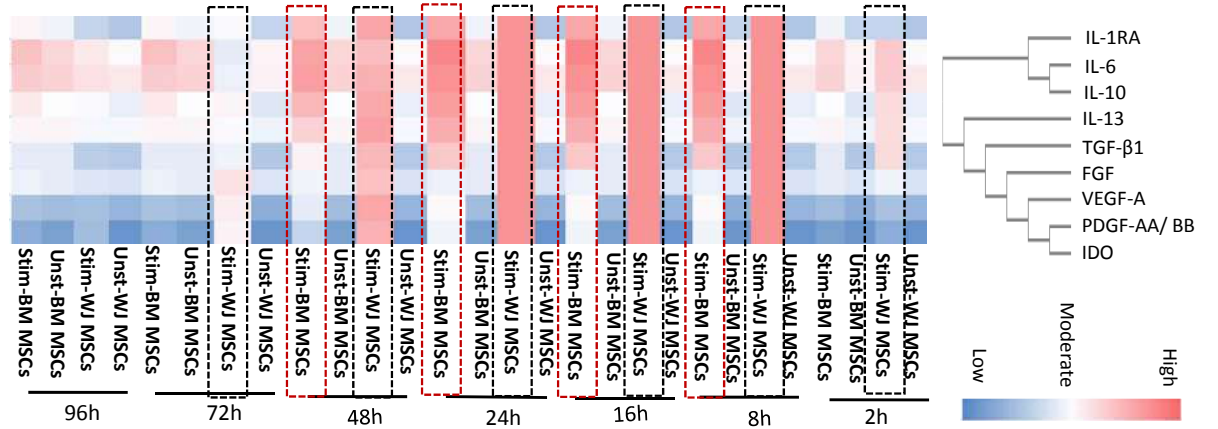
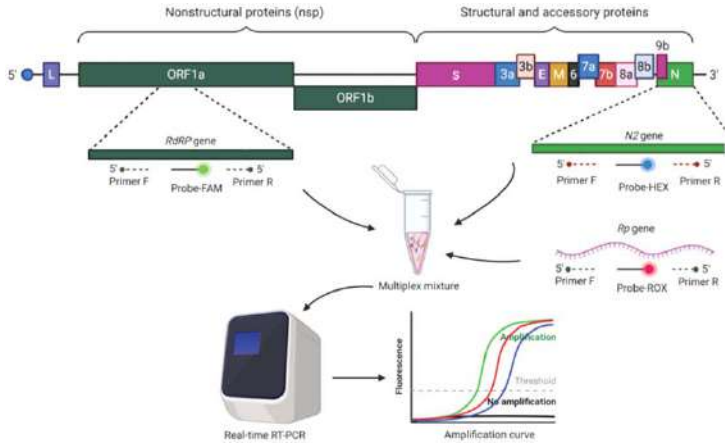
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ 24 ΩΡΕΣ



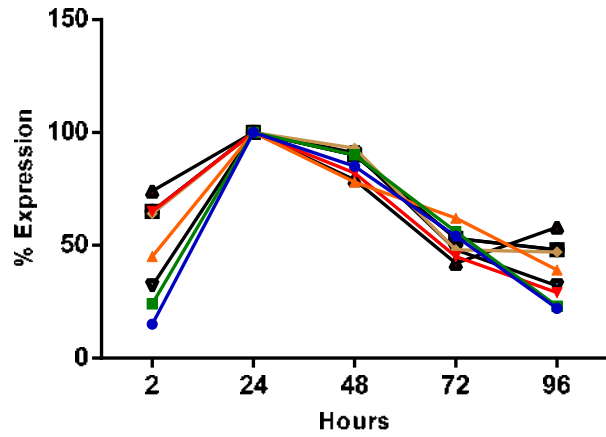
■ Unstimulated MSCs
■ Stimulated MSCs



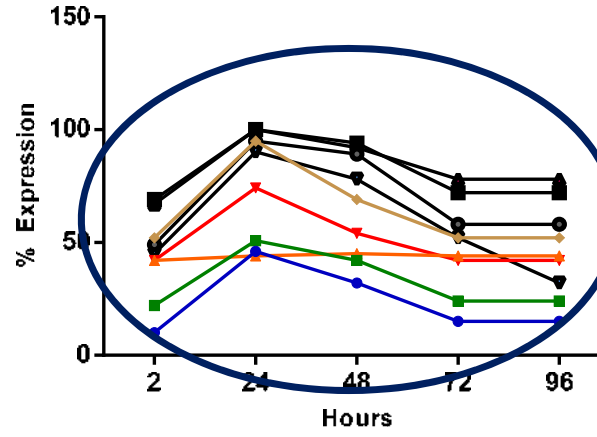
ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΒΙΟΜΟΡΙΩΝ



Stimulated WJ-MSCs

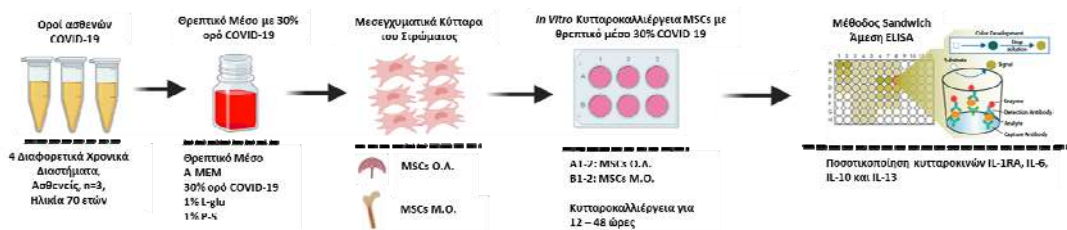


Stimulated BM-MSCs



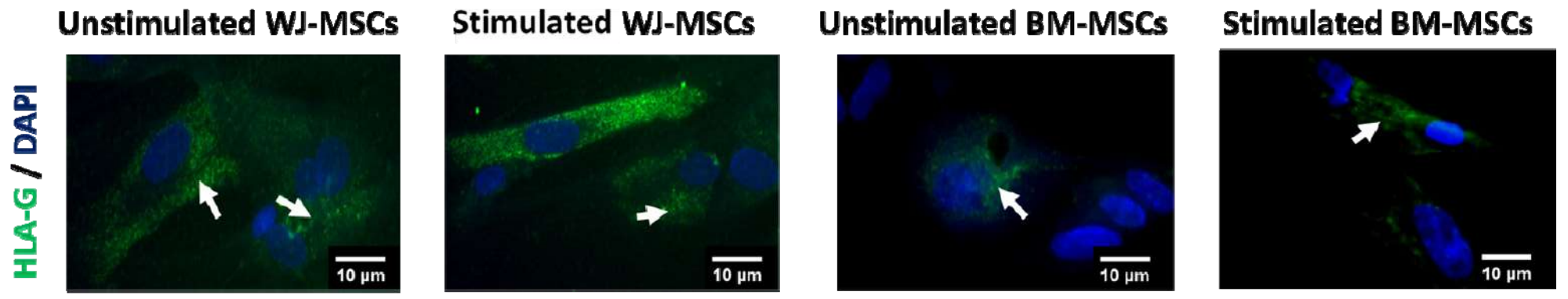
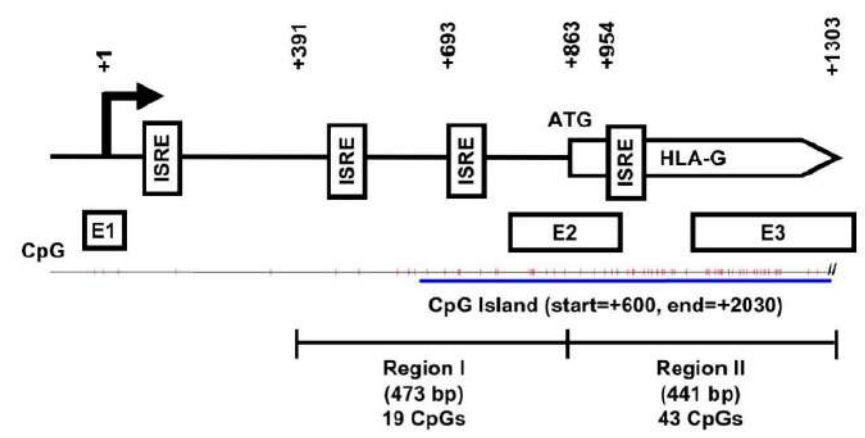
Πιθανή συσχέτιση με υποκείμενα νοσήματα

—●— Unstimulated WJ-MSCs
 —■— Stimulated WJ-MSCs
 —▲— Unstimulated BM-MSCs
 —▼— Stimulated BM-MSCs



Ο.Λ. VS Μ.Ο.

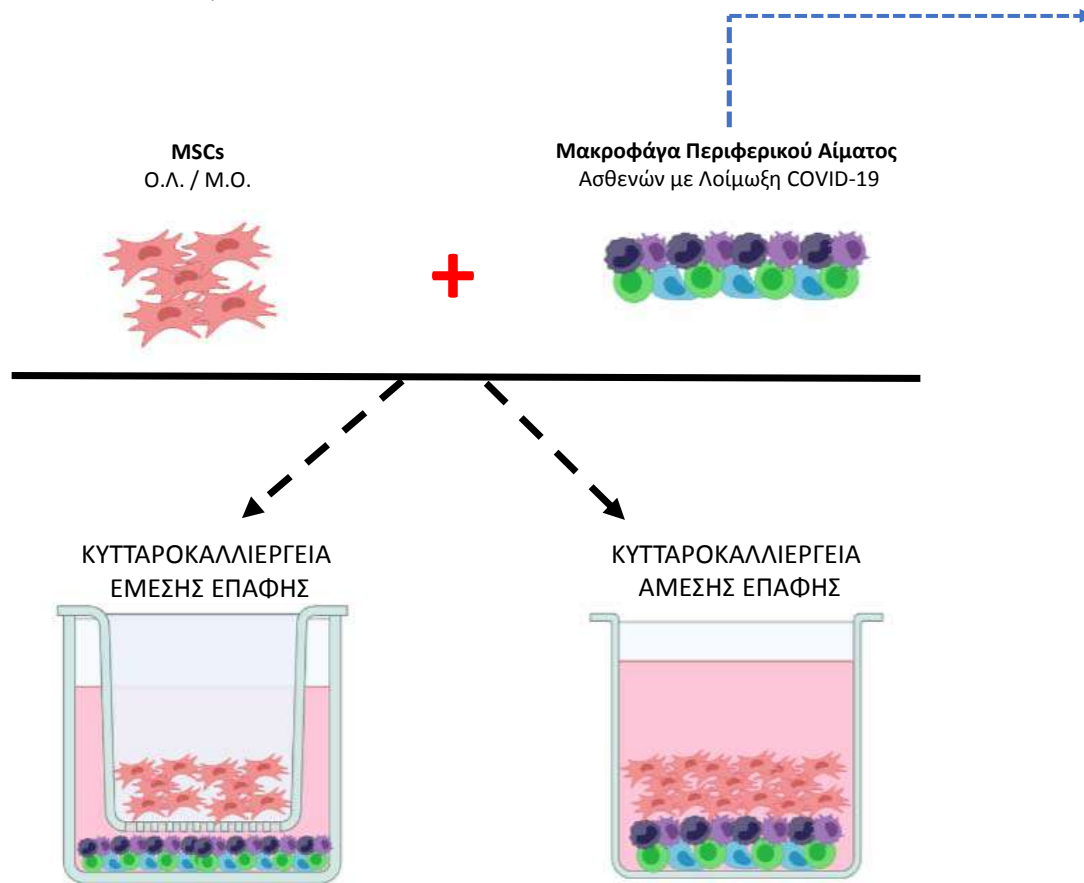
- Έκφραση του HLA-G1 από τα MSCs του Ο.Λ. και του Μ.Ο.
- Αντίθετα το HLA-G5 και G7 εκφράζονται μόνο από τα MSCs του Ο.Λ.



ΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΗ ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΗ ΤΩΝ MSCS ΣΕ ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΛΟΙΜΩΞΗ COVID-19

ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕΣΩ

- ΑΜΕΣΗΣ ΕΠΑΦΗΣ
- ΕΜΜΕΣΗΣ ΕΠΑΦΗΣ

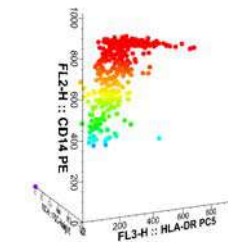
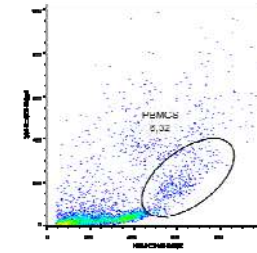


Κυτταρομετρία Ροής

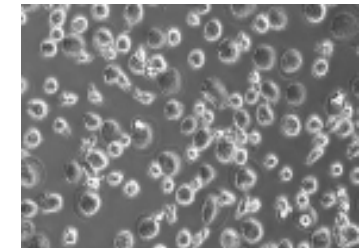
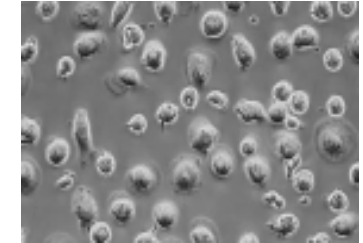


Χαρακτηρισμός των PBMCs

CD45+, CD14+, HLA-DR+



ΚΥΤΤΑΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΕΜΜΕΣΗΣ ΕΠΑΦΗΣ



ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΗ

1. Καταστολή ενεργοποιημένων T και B κυττάρων
2. Καταστολή ενεργοποιημένων NK
3. Αλλαγή φαινοτύπου μακροφάγων από M1 σε M2

ΚΥΡΙΟΙ ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ

1. Σηματοδοτικά μονοπάτια θανάτου (TNF, FAS-FASL, PD/ PD-L1)
2. Παραγωγή ρυθμιστικών μορίων
 - IDO, NO, PGE2, HLA-G, TGF-β1, HGF, Galectins

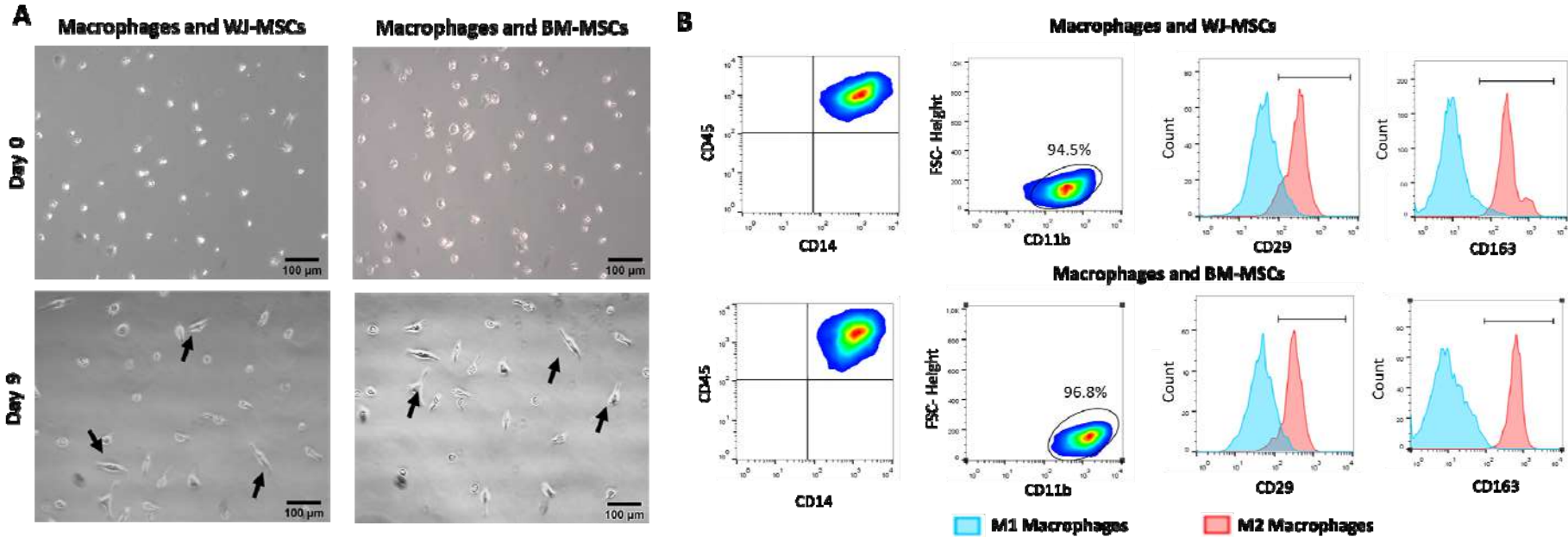
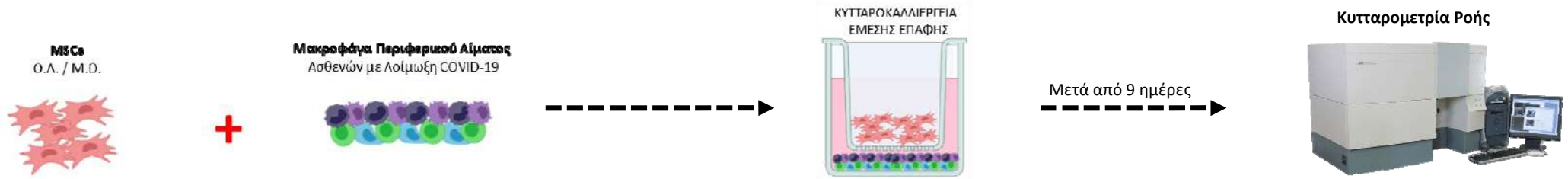
ΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΗ ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΗ ΤΩΝ MSCS ΣΕ ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΛΟΙΜΩΞΗ COVID-19

ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕΣΩ

- ΕΜΜΕΣΗΣ ΕΠΑΦΗΣ

ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΜΟΝΟΠΥΡΗΝΩΝ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

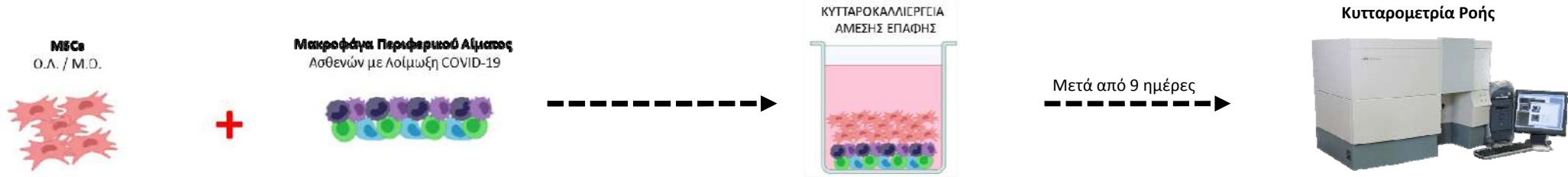
- Διαφοροποίηση παρουσία GM-CSF για 9 ημέρες
- Προσθήκη διεγερμένων MSCs



ΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΗ ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΗ ΤΩΝ MSCS ΣΕ ΜΟΝΟΠΥΡΗΝΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΛΟΙΜΩΞΗ COVID-19

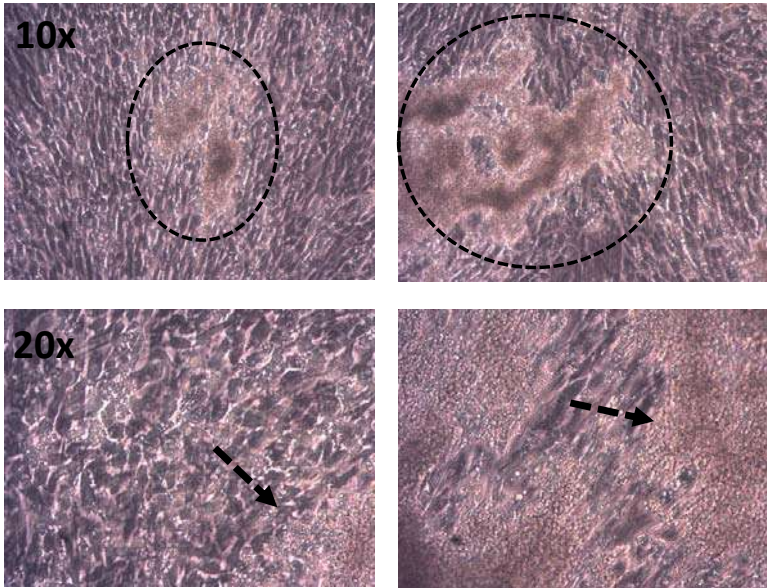
ΑΝΟΣΟΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕΣΩ

- ΑΜΕΣΗΣ ΕΠΑΦΗΣ



PBMCs and WJ-MSCs

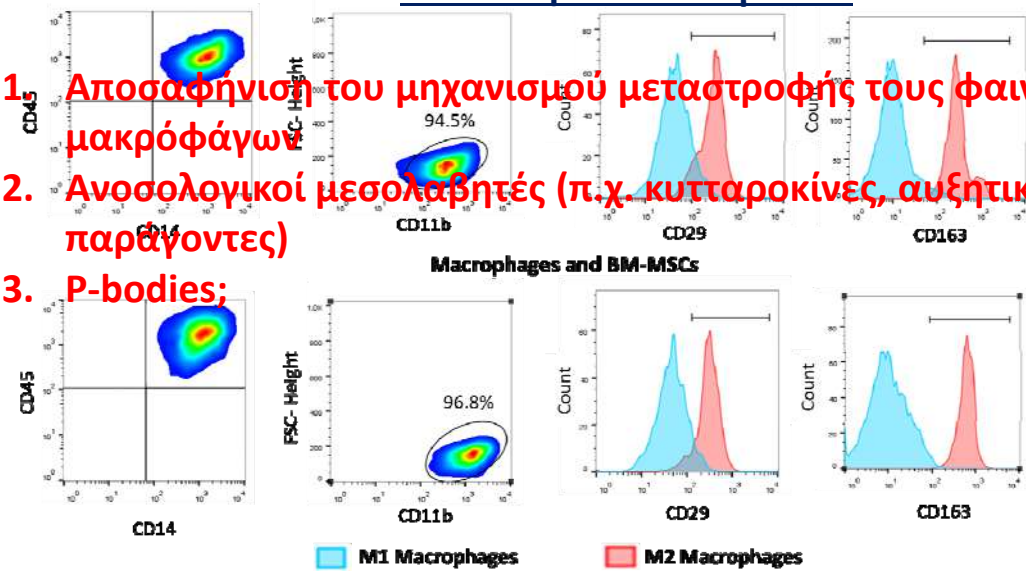
PBMCs and BM-MSCs



B

Ανάλυση αποτελεσμάτων

1. Αποσαφήνιση του μηχανισμού μετατροφής τους φαινοτύπου των μακρόφαγων
2. Ανοσολογικοί μεσολαβητές (π.χ. κυτταροκίνες, αυξητικοί παράγοντες)
3. P-bodies;





Ανοσολογικός Μηχανισμός

Η παραγωγή των ανοσολογικών μεταβολιτών

- 1) Αντι-φλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1RA, IL-6, IL10 και IL13)
- 2) Αυξητικών παραγόντων (TGF-β1, VEGF, FGF και PDGF)
- 3) Ανοσορρυθμιστικών παραγόντων (IDO)



Ανοσορύθμιση των υπερ-ενεργοποιημένων κυτταρικών πληθυσμών

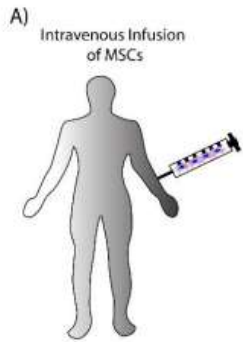
- 1) Κυττάρων της φυσικής ανοσίας (μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα)
- 2) Κυττάρων της ειδικής ανοσίας (CD4, CD8 T κύτταρα, και B-κύτταρα)



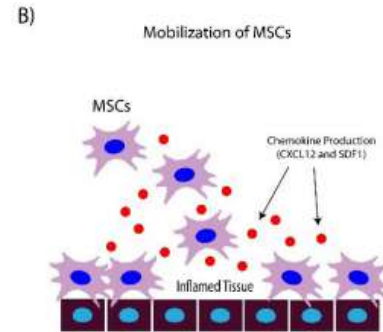
- 1) Καταστολή της IL-1 και του σηματοδοτικού μονοπατιού NF-κB (οδηγεί σε απόπτωση ενεργοποιημένα T και B κύτταρα)
- 2) Φαίνεται επίσης ότι η IL-1Ra λειτουργεί σε συνδιασμό με την IL-10 (προωθεί την Th2 απάντηση και αναστέλλει τη Th1)
- 3) Επιτελείται καταστολή της έκκρισης του TNF-α και της IL-1
- 4) Η αλληλεπίδραση της IL-13 –IL13R οδηγεί σε ενεργοποίηση των Th2 αποκρίσεων (ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού JAK/STAT1/STAT6)
- 5) Επίσης προωθείται η αλλαγή του φαινοτύπου των μακροφάγων από M1 σε M2
- 6) Οι αυξητικοί παράγοντες επίσης εμπλέκονται ενεργά και επηρεάζουν θετικά τις παραπάνω αποκρίσεις (σηματοδοτικό μονοπάτι TGF-β/ SMAD3 προκαλεί καταστολή του πολλαπλασιασμού των T και B κυττάρων)
- 7) Το IDO οδηγεί σε απόπτωση των T και B κυττάρων
- 8) Το HLA-G έχει πολλαπλή επίδραση στη μεσολαβούμενη ανοσορύθμιση

Ανοσολογικός Μηχανισμός

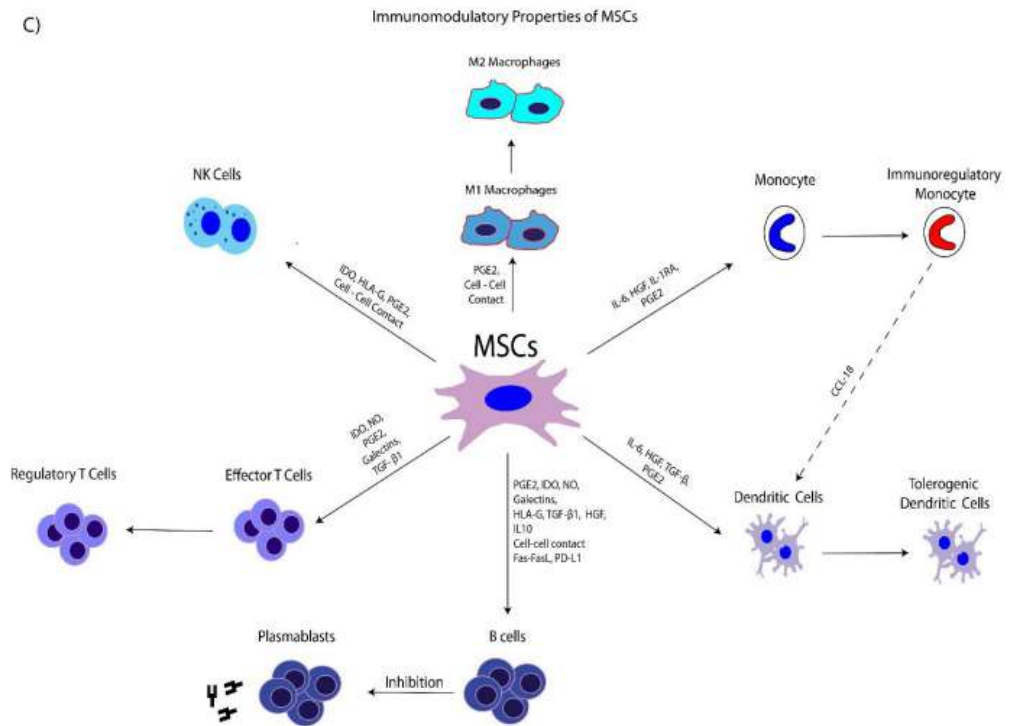
Φάση 1^η



Migration of MSCs in a gradient chemokine dependent manner



Φάση 2^η



Exploration of Immunology

Open Exploration

Open Access Review

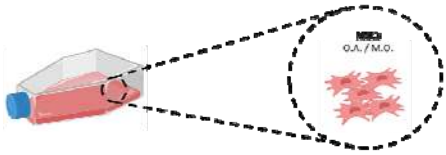
Interplay between mesenchymal stromal cells and immune system: clinical applications in immune-related diseases

Panagiotis Mallis^{1*}, Efstathios Michalopoulos¹, Theofanis Chatzistamatiou^{1,2}, Catherine Stavropoulos Giokas¹

¹Hellenic Cord Blood Bank, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, 11527 Athens, Greece

²Histocompatibility & Immunogenetics Lab, Hellenic Cord Blood Bank, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, 11527 Athens, Greece

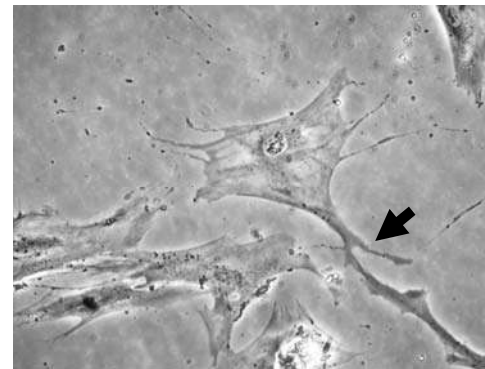
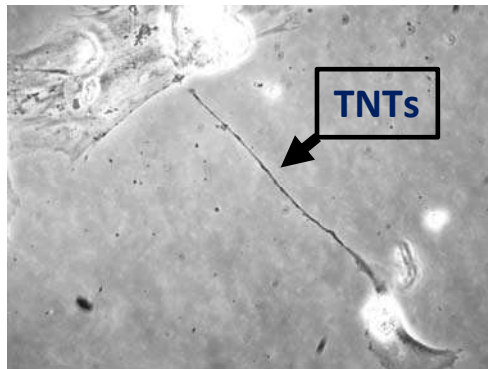
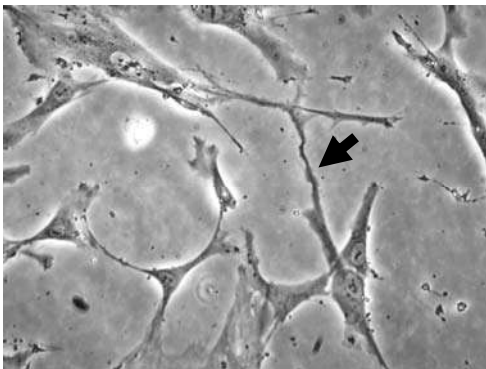
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΤΩΝ MSCs



Tunneling Nanotubes (TNT)



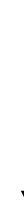
MSCs Ο.Λ. και Μ.Ο.



«Ομιλία» των κυττάρων

Μεταφορά βιομορίων μέσω των TNTs

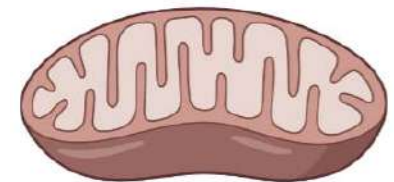
- Πρωτεΐνες
- mRNA, miRs
- ATP
- Μιτοχόνδρια



Μεταφορά των μιτοχονδρίων σε T regs
(τα οποία οδηγούνται σε απόπτωση λόγω οξειδωτικού stress)

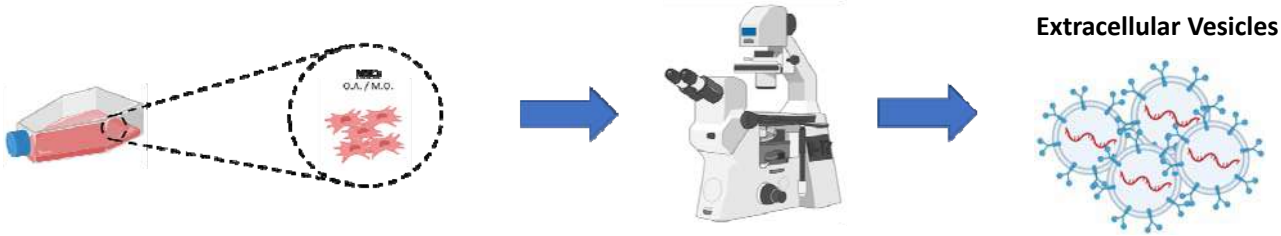


Νέα μιτοχόνδρια,
καταστολή της απόπτωσης,
Επαναλειτουργία των Tregs,
Ανοσορρύθμιση



Mallis P *et al.* Unpublished Data

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΤΩΝ MSCs



Extracellular Vesicles

«Ομιλία» των κυττάρων

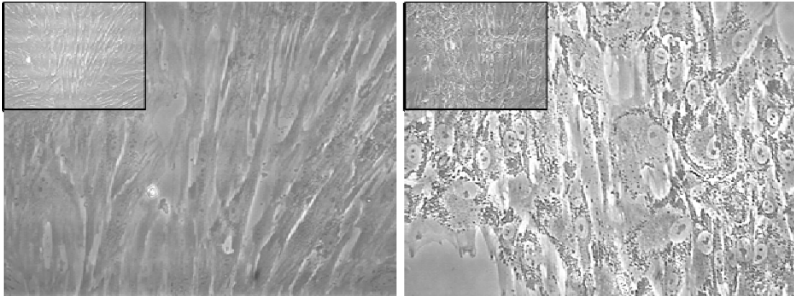
Μεταφορά βιομορίων μέσω των εξωκυτταρικών κυστιδίων

- Πρωτεΐνες
- Πεπτίδια
- Κυτταροκίνες
- mRNA, miRs
- ATP

MSCs O.A.

ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΡΟΥ COVID-19

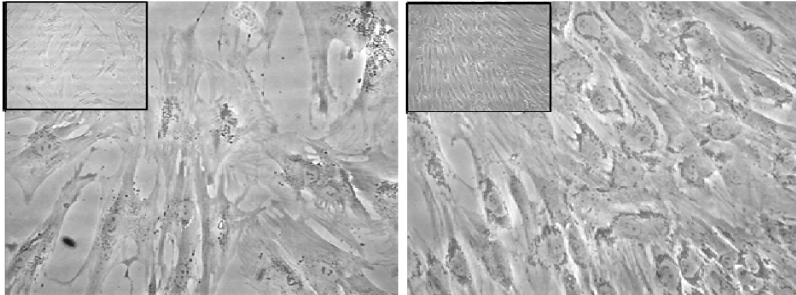
ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΡΟΥ COVID-19



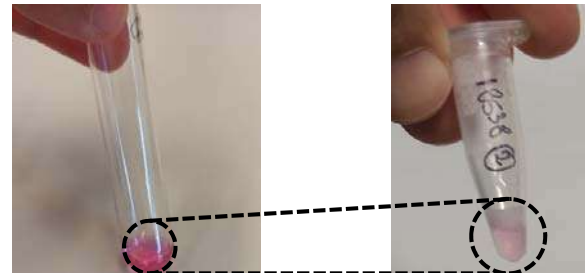
MSCs M.O.

ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΡΟΥ COVID-19

ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΟΡΟΥ COVID-19



Εξωκυτταρικά Κυστίδια
(Υπερφυγοκέντρηση στα 100.000 g)



Μοριακός Έλεγχος: CD81, CD9 και Alix

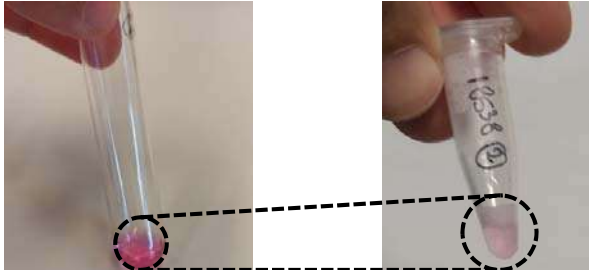
Πλήρης Πρωτεομική Ανάλυση
Shotgun Mass Spectrometry



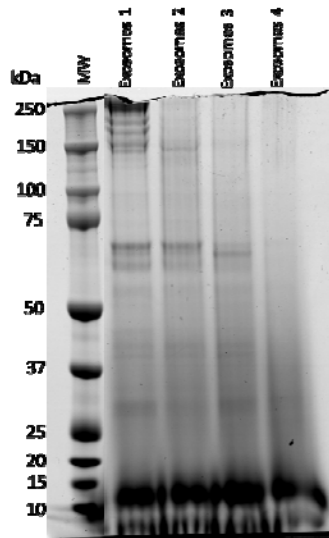
EVALUATION OF CELL COMMUNICATION MECHANISMS

Extracellular Vesicles

(Ultracentrifugation at 100.000 g)

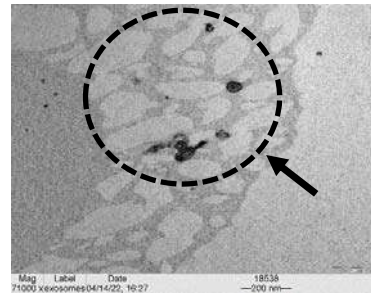


Molecular Analysis: CD81, CD9 και Alix

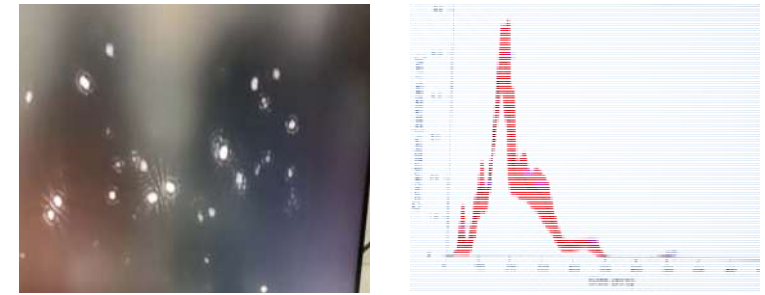


Exosomes Size Characterization

TEM

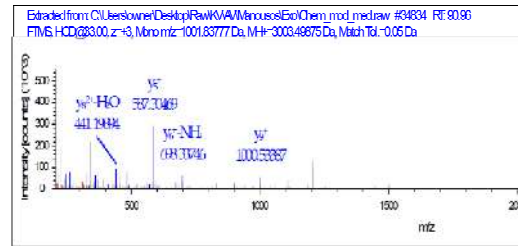


Nanosight

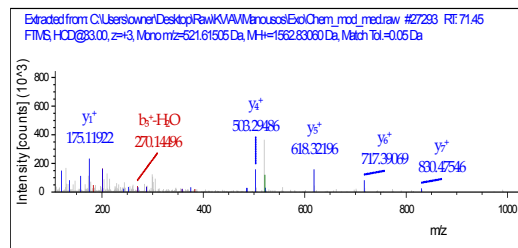


MSCs Markers

CD73

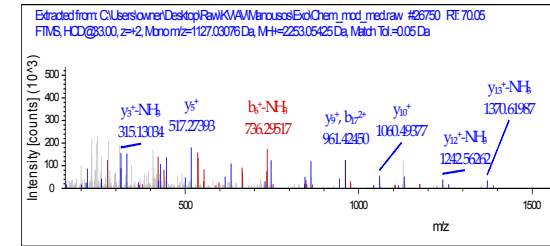


CD90

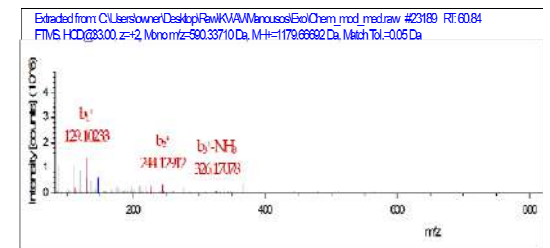


Exosomes Markers

CD81

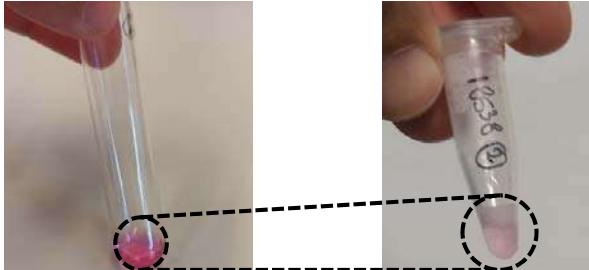


CD9

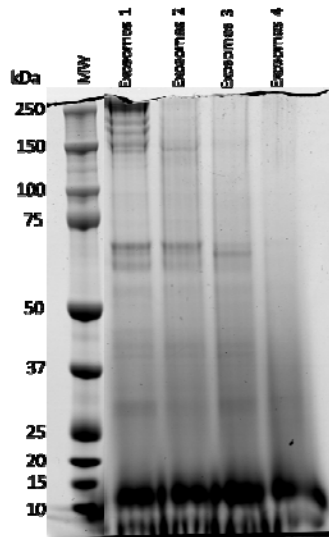


EVALUATION OF CELL COMMUNICATION MECHANISMS

Extracellular Vesicles (Ultracentrifugation at 100.000 g)

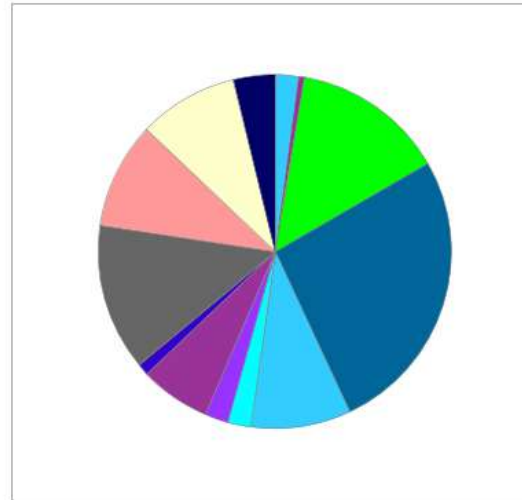


Molecular Analysis: CD81, CD9 and Alix



PANTHER GO-Slim Biological Process

Total # Genes: 100 Total # process hits: 186



Click to get gene list for a category:

- [biological adhesion \(GO:0022610\)](#)
- [biological process involved in interspecies interaction between organisms \(GO:0044419\)](#)
- [biological regulation \(GO:0065007\)](#)
- [cellular process \(GO:0009987\)](#)
- [developmental process \(GO:0032502\)](#)
- [growth \(GO:0040007\)](#)
- [immune system process \(GO:0002376\)](#)
- [localization \(GO:0051179\)](#)
- [locomotion \(GO:0040011\)](#)
- [metabolic process \(GO:0008152\)](#)
- [multicellular organismal process \(GO:0032501\)](#)
- [response to stimulus \(GO:0050896\)](#)
- [signaling \(GO:0023052\)](#)

Color picker powered by Web Colors by VisiBone

**Chart tooltips are read as: Category name (Accession): # genes; Percent of gene hit against total # genes; Percent of gene hit against total # Process hits



EVs Proteins Associated with Immunity functions



Protein function evaluation

- Potential Candidates for immune regulation

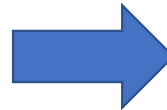
ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΠΟΒΑΘΡΟΥ MSCs – ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ανάλυση γενετικού υποβάθρου

- 1) Τυποποίηση του HLA
- 2) Αλληλούχιση RNA-RNAseq
- 3) Πρωτεομική ανάλυση- Ανάλυση Μεταγραφώματος

1. Τυποποίηση του HLA

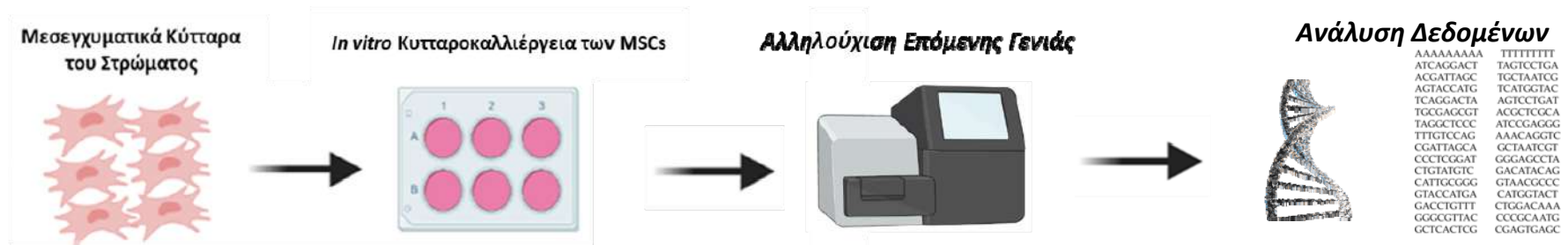
- Next Generation Sequencing
- ΕΛΤΟΠΑ- > 5200 μονάδες τυποποιημένες
- Σύγκριση μεταξύ MSCs εμβρυϊκής και ενήλικης προέλευσης



- Συσχέτιση HLA με ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες των MSCs
π.χ. ύπαρξη DQ2



ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΠΟΒΑΘΡΟΥ MSCs – ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

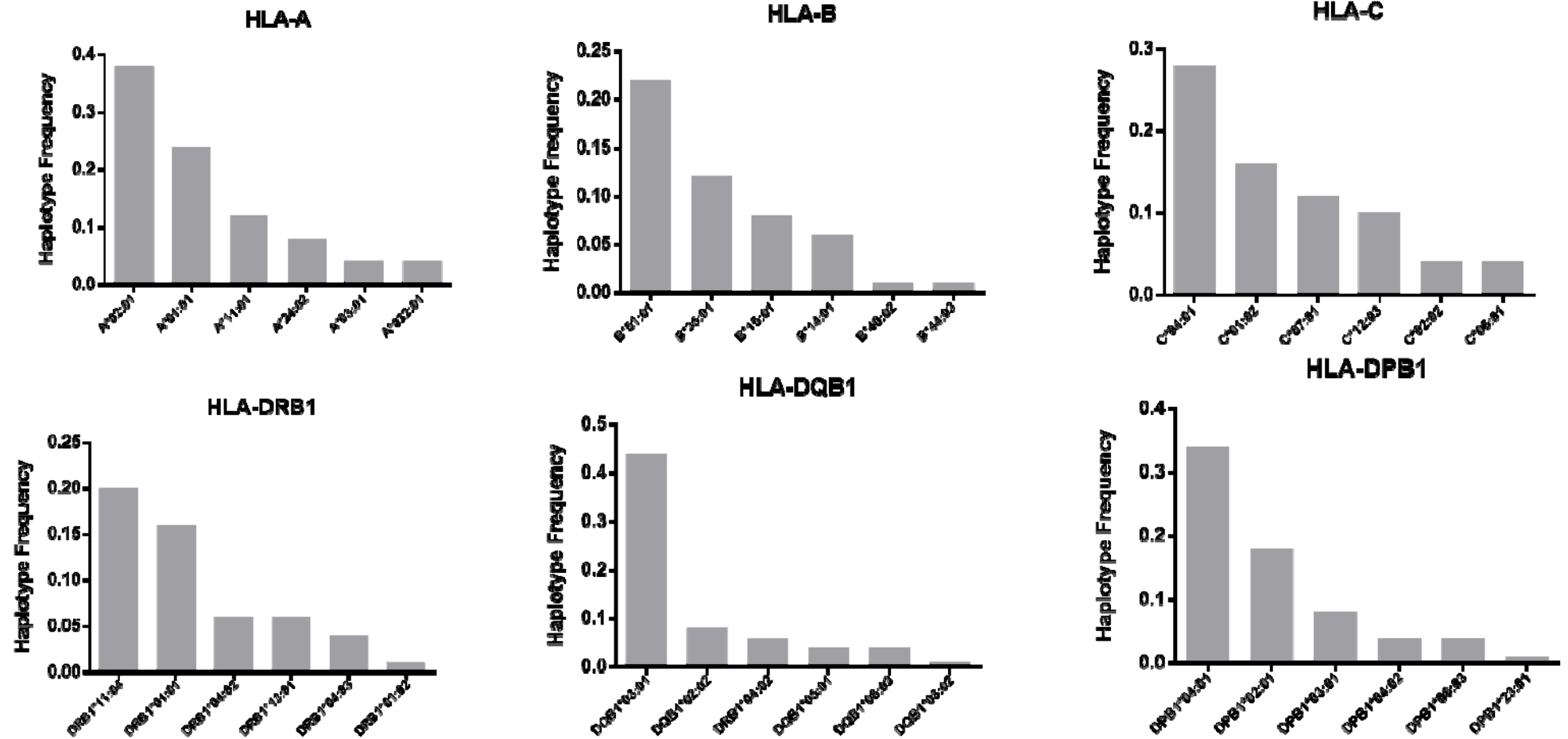


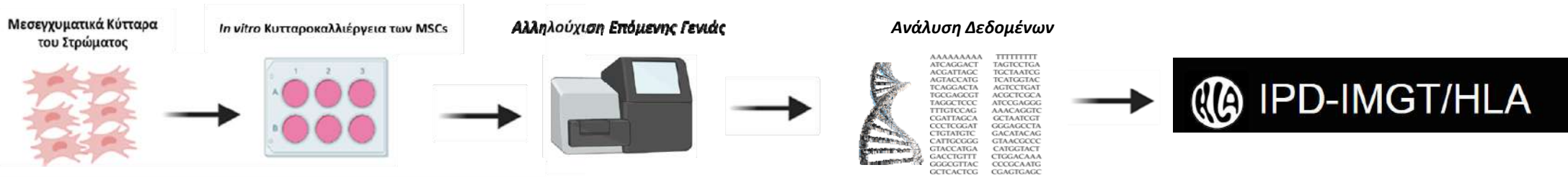
**ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ –ΕΥΡΕΣΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ ΑΠΛΟΤΥΠΩΝ
(MSCs ενηλίκων φυσιολ. Vs MSCs ενηλίκων ασθενών)**

ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

MSCs Ενηλίκων Φυσιολογικών

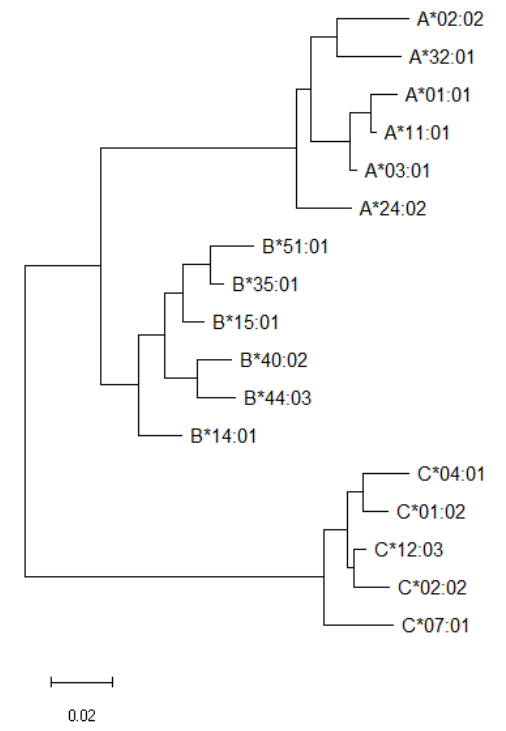
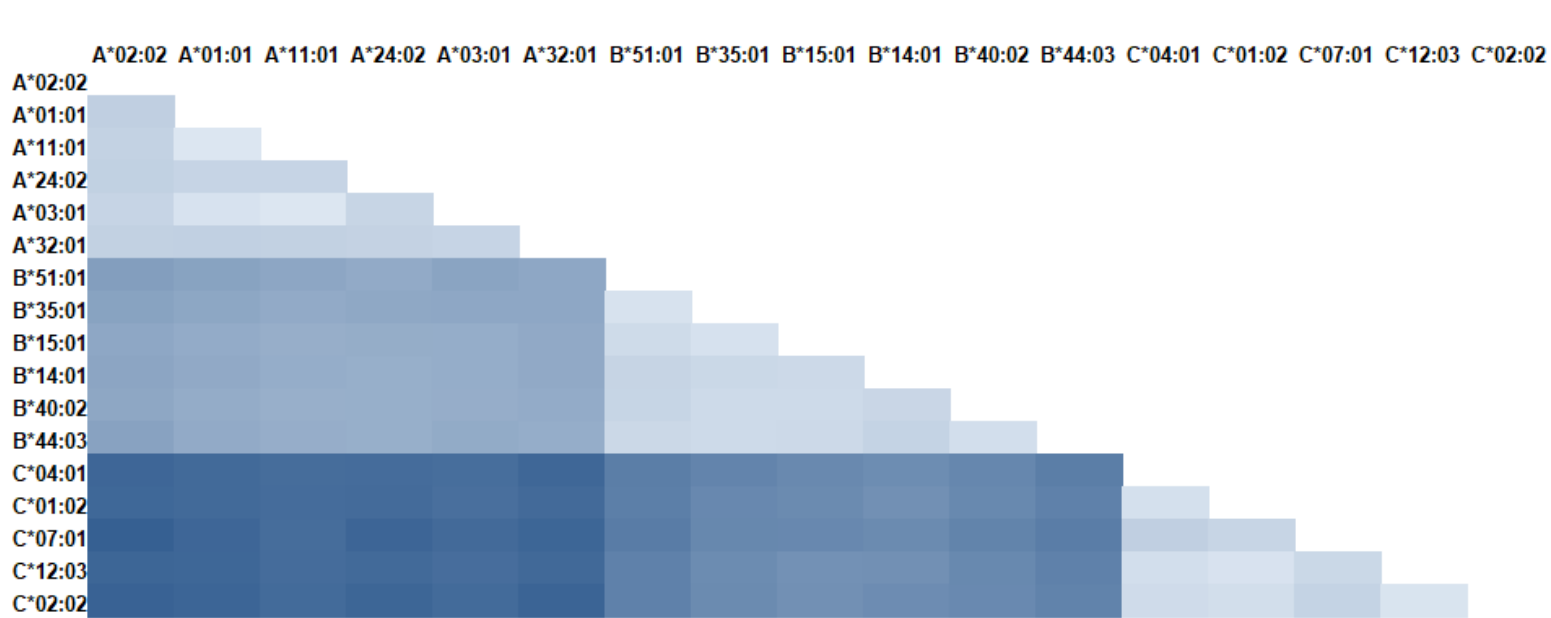
N=50



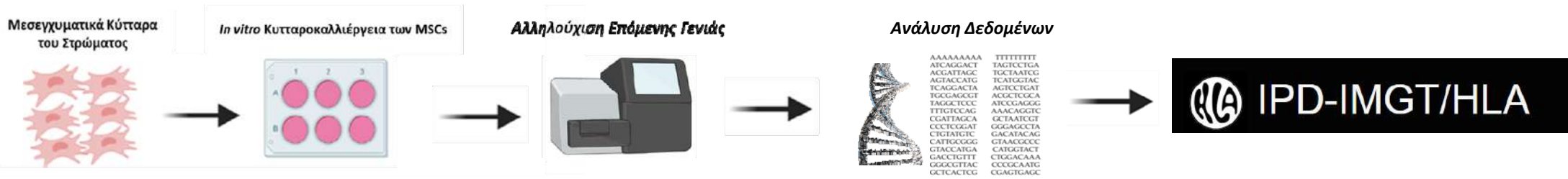


N=20

MSCs Ενηλίκων

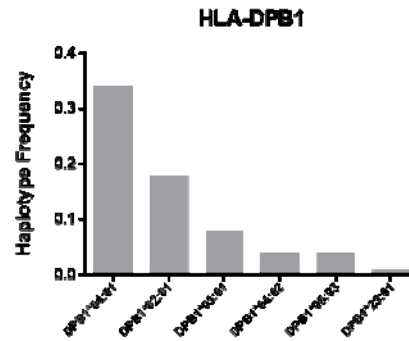
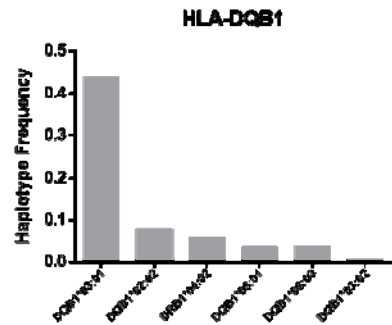
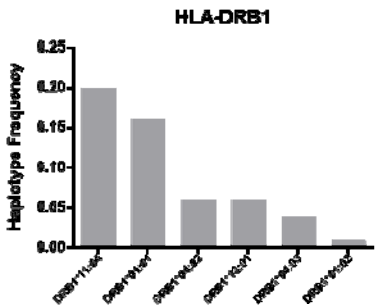
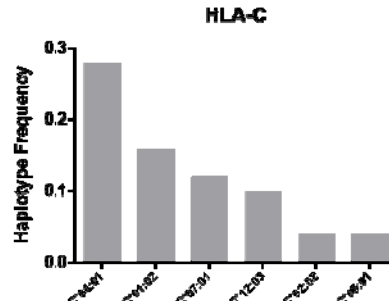
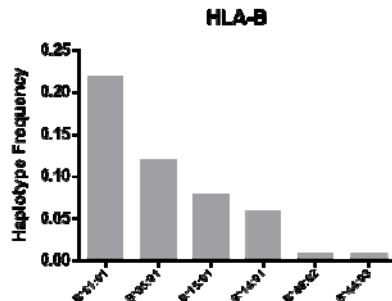
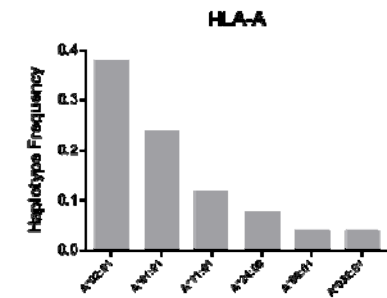


Mallis *et al.* Unpublished data



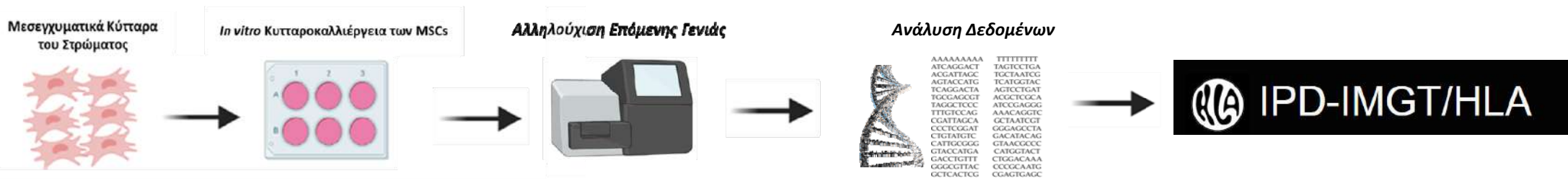
N=20

MSCs



**HLA DRB1*15:01 /
DQB1*06:02 / DQB1* 06:02**

**ΑΠΛΟΥΠΟΙ ΠΟΥ ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ
ΕΜΦΑΝΙΣΗ MS
ΚΑΙ ALS ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**



MSCs Ενηλίκων

Journal of the Neurological Sciences 308 (2011) 28–31



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of the Neurological Sciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jns



**HLA DRB1*15:01 /
DQB1*06:02 / DQB1* 06:02**

HLA associations with multiple sclerosis in Greece

Ioanna Kouri ^{a,*}, Stylianos Papakonstantinou ^{a,b}, Vaios Bempes ^a, Haris S. Vasiliadis ^c, Athanasios P. Kyritsis ^{a,b}, Sygkliti-Henrietta Pelidou ^{a,b}

^a Neurosurgery Institute, Medical School, University of Ioannina, Ioannina, Greece

^b Department of Neurology, Ioannina University Hospital, Ioannina, Greece

^c Molecular Cell Biology and Regenerative Medicine, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Sweden

30

I. Kouri et al. / Journal of the Neurological Sciences 308 (2011) 28–31

Table 2

HLA alleles and clinical characteristics of MS patients. Comparisons were performed with healthy control group.

	HLA DRB1 1501	HLA DQA1 0102	HLA DQB1 0602	HLA DRB1 1501 and HLA DQA1 0102	HLA DRB1 1501 and HLA DQB1 0602	HLA DQA1 0102 and HLA DQB1 0602	all HLA positive
All MS patients	43 (34%)*	96 (76%)*	87 (69%)*	37 (29%)*	32 (25%)*	63 (50%)*	27 (21%)*
Healthy control	10 (11%)	51 (55%)	47 (51%)	6 (7%)	6 (7%)	28 (30%)	4 (4%)
<i>Initial symptoms n (%)</i>							
Optic neuritis	6 (25%)	20 (83%)*	17 (71%)	5 (21%)	5 (21%)*	13 (54%)*	4 (17%)
Brainstem-cerebellum	17 (47%)*	27 (75%)*	25 (69%)*	15 (42%)*	15 (42%)*	19 (53%)*	13 (36%)*
Long sensory tracts	21 (36%)*	41 (71%)*	42 (72%)*	16 (28%)*	16 (28%)*	28 (48%)*	12 (21%)*
Long motor tracts	16 (36%)*	33 (75%)*	29 (66%)*	13 (30%)*	11 (25%)*	19 (43%)*	8 (18%)*
<i>Symptoms at enrollment n (%)</i>							
Optic neuritis	22 (35%)*	48 (77%)*	44 (71%)*	17 (27%)*	17 (27%)*	33 (53%)*	13 (21%)*
Brainstem-cerebellum	16 (40%)*	30 (75%)*	26 (65%)*	15 (38%)*	12 (30%)*	19 (48%)*	11 (28%)*
Long sensory tracts	14 (38%)*	27 (73%)*	28 (76%)*	11 (30%)*	10 (27%)*	19 (51%)*	8 (22%)*
Long motor tracts	27 (33%)*	62 (76%)*	58 (71%)*	22 (27%)*	19 (23%)*	42 (51%)*	15 (18%)*
EDSS (mean) (comparison with HLA negative patients)	3.17	3.14	3.05				

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001.

Analysis of HLA variants using the IPD-IMGT alignment tool

AA Codon	5	10	15	20	25																				
A*01:01:01:01	TCC	CAC	TCC	ATG	AGG	TAT	TTC	TTC	ACA	TCC	GTG	TCC	CGG	CCC	GGC	CGC	GGG	GAG	CCC	CGC	TTC	ATC	GCC	GTG	GGC
A*02:01:01:01	--T	---	---	---	---	---	---	-A-	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---
A*02:05:01:01	--T	---	---	---	---	---	---	-A-	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-A-	---	---
A*03:01:01:01	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A*11:01:01:01	---	---	---	---	---	---	---	-A-	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A*23:01:01:01	---	---	---	---	---	---	---	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A*24:02:01:01	---	---	---	---	---	---	---	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A*26:01:01:01	---	---	---	---	---	---	---	-A-	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A*29:01:01:01	---	---	---	---	---	---	---	AC-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A*30:01:01:01	---	---	---	---	---	---	---	-C-	---	---	---	---	---	---	---	A-T	--A	---	---	---	---	---	-A-	---	---
A*32:01:01:01	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A*33:01:01:01	---	---	---	---	---	---	---	AC-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
A*68:01:01:01	---	---	---	---	---	---	---	-A-	-C-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

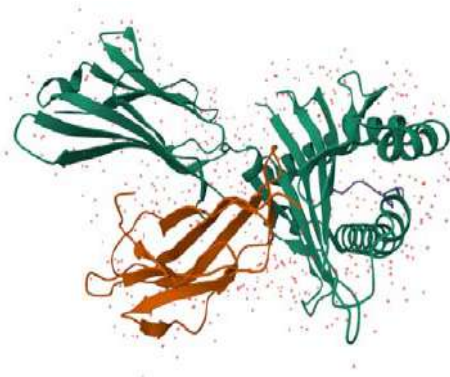
3D HLA Structures

A:01:01



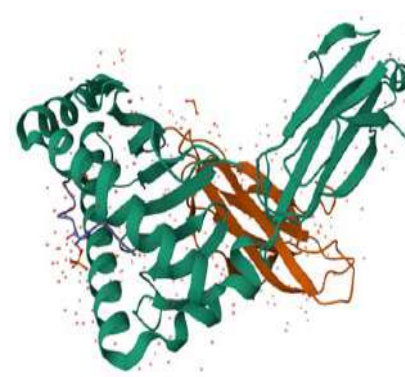
<https://www.rcsb.org/3d-view/3BO8/1>

A:02:01



<https://www.rcsb.org/3d-view/3UTQ/1>

A:02:05



<https://www.rcsb.org/3d-view/3BH9/1>

A:11:01



<https://www.rcsb.org/3d-view/1X7Q/1>

Review Article

Bioinformatic HLA Studies in the Context of SARS-CoV-2 Pandemic and Review on Association of HLA Alleles with Preexisting Medical Conditions

**Mina Mobini Kesheh ¹, Sara Shavandi ², Parastoo Hosseini ³,
Rezvan Kakavand-Ghalehnoei ⁴ and Hossein Keyvani ¹**

¹*Department of Virology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

²*Department of Industrial and Environmental Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran*

³*Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

⁴*Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

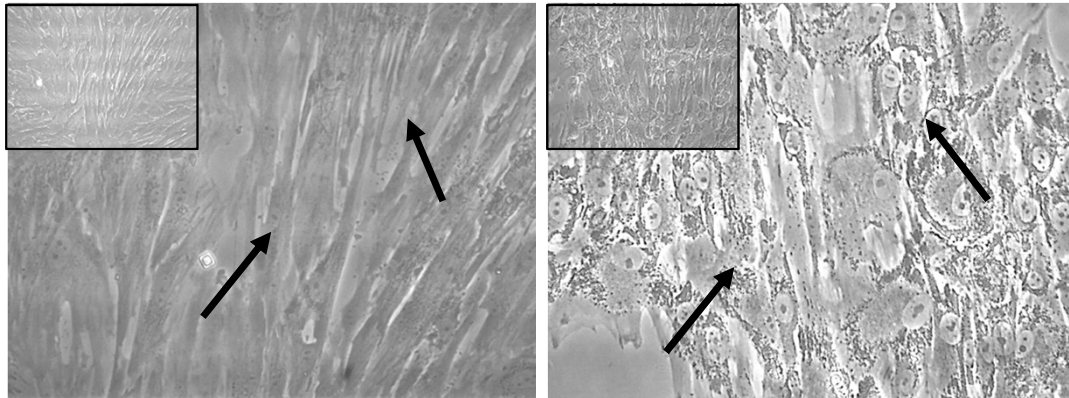
ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΜΕ ΤΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ

ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

MSCs Φυσ.

ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ

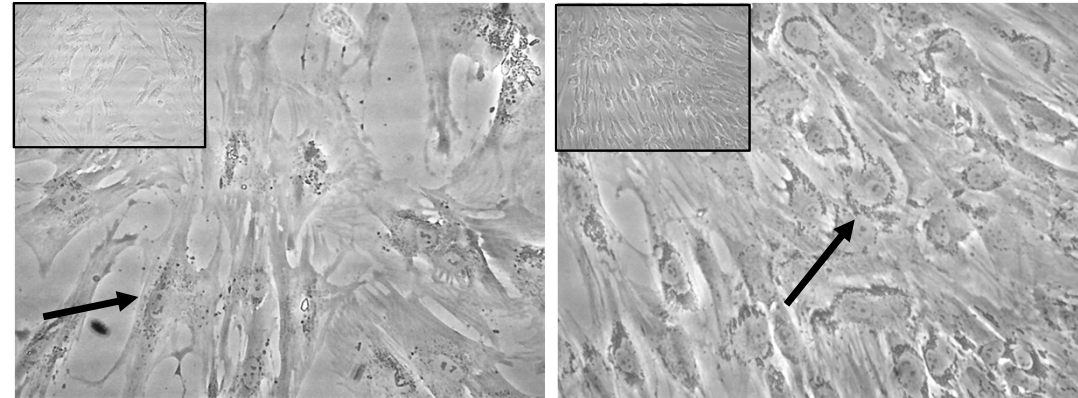
ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ



MSCs Ασθενών

ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ

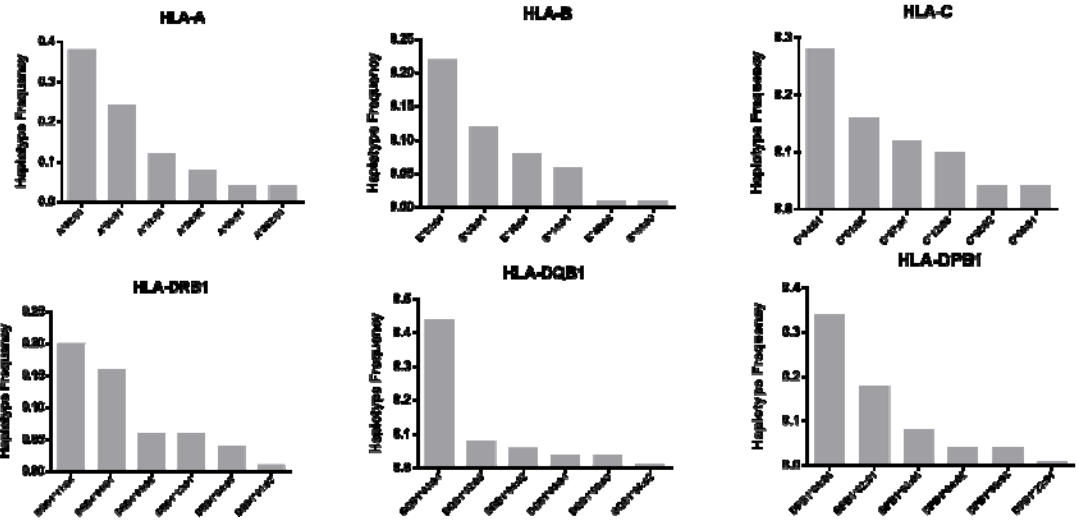
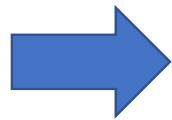
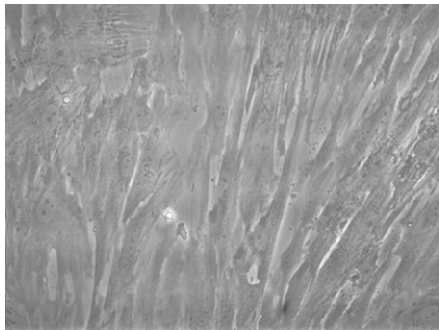
ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ



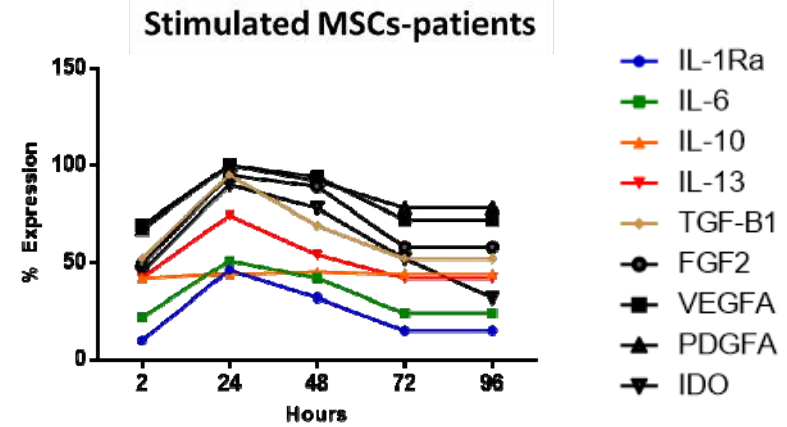
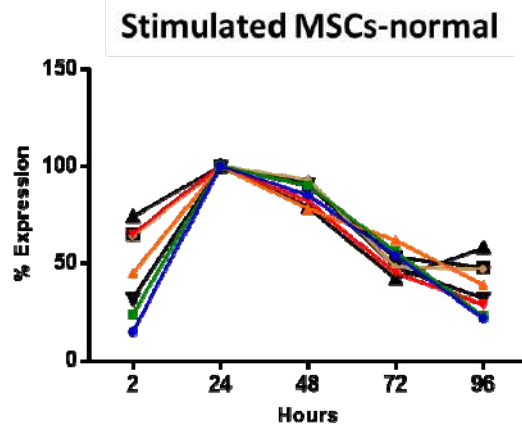
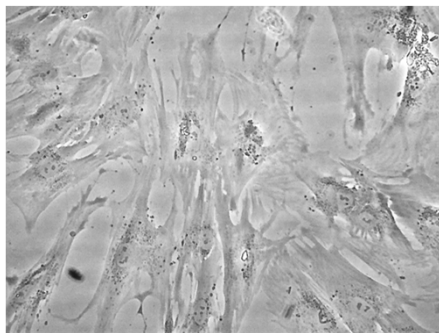
ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΜΕ ΤΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ

HLA DRB1*15:01 /
DQB1*06:02 / DQB1* 06:02

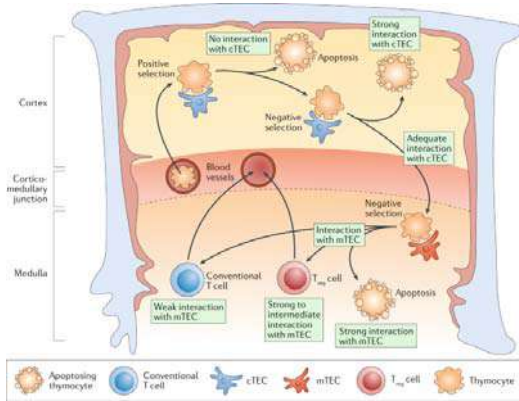
MSCs Φυσ



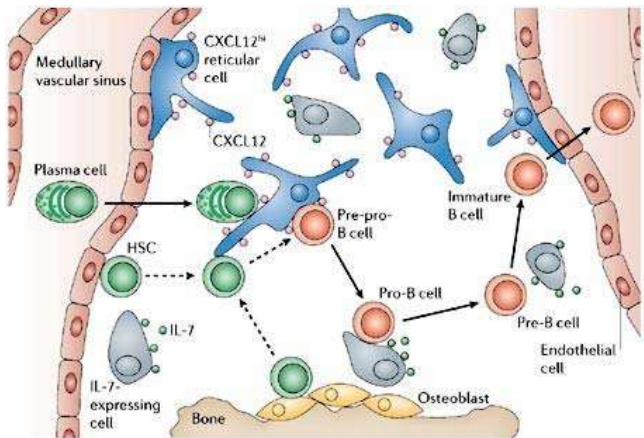
MSCs Παθ



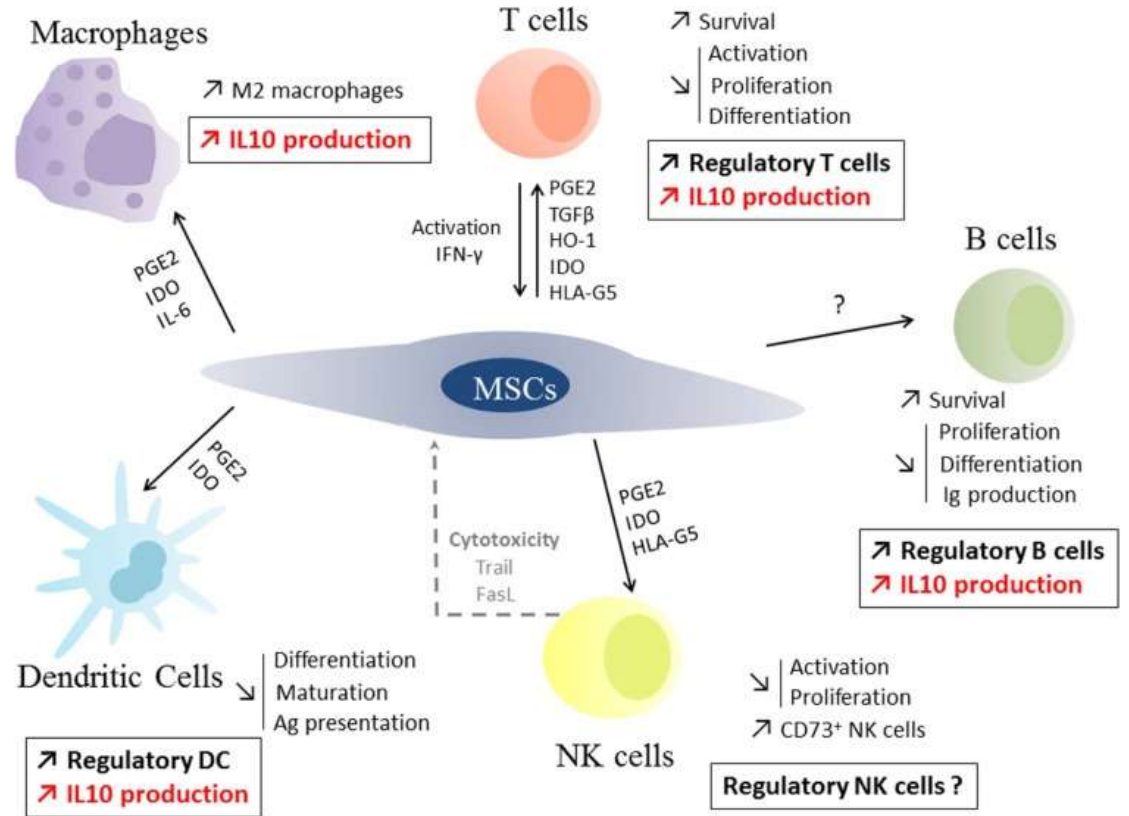
Εκπαίδευση T λεμφοκυττάρων στο θύμο αδένά



Παραγωγή των B-λεμφοκυττάρων στο μυελό των οστών



Συσχέτιση των MSCs με τις ανοσιακές αντιδράσεις



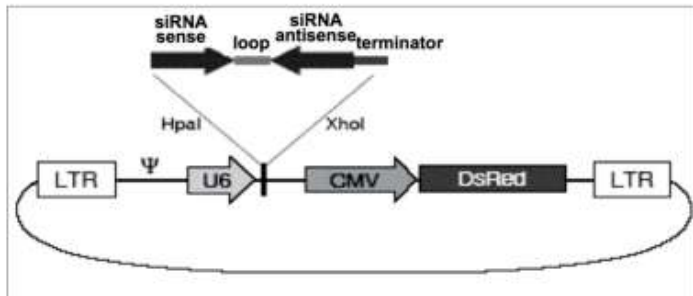
ΠΙΘΑΝΗ ΕΞΗΓΗΣΗ;



ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΜΕ ΤΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ siRNA στοχεύοντας τα HLA mRNAs
(Παροδική Καταστολή της έκφρασης των HLA)**



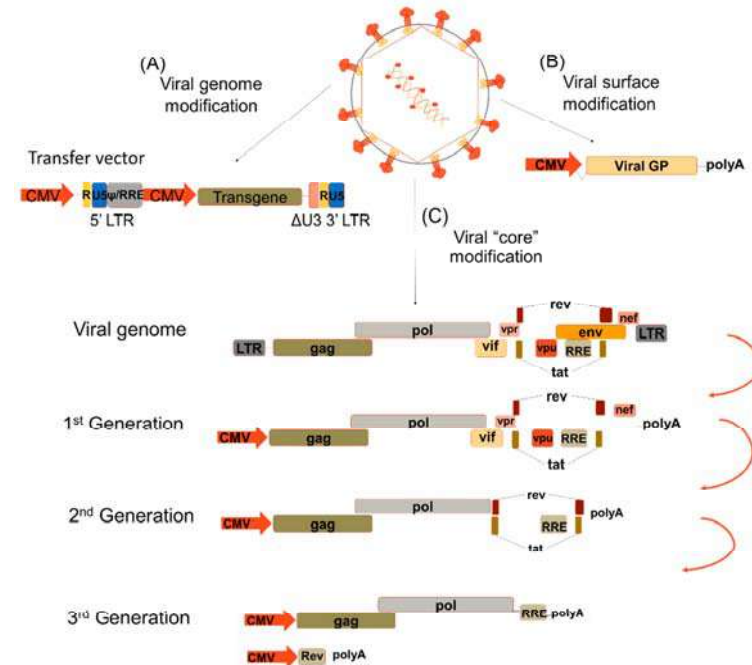
Sequences specific to A*020101 allele of human MHC I:

- A2-1: GGATTACATCGCCCTGAAAG ←
- A2-2: GCAGGAGGGTCCGGAGTATT
- A2-3: GGACGGGGAGACACGGAAAG
- A2-4: GAAAGTGAAGGCCCACTCA

Sequences common to the most frequent alleles of human MHC I - A, B and C loci :

- ABC-1: GATACCTGGAGAACGGGAAG
- ABC-2: GCTGTGGTGGTGCCTTCTGG ←
- ABC-3: GCTACTACAACCAGAGCGAG
- ABC-4: GTGGCTCCGCAGATACCTG

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ διαγονιδίου στοχεύοντας το γενετικό τόπο των HLA
(Μόνιμη Καταστολή της έκφρασης των HLA)**



OR23 Elucidating the targetome of the HLA-B intron 4 derived miRNA, miR-6891 and allele specific miRNA isoforms

Peter M. Clark¹, Nilesh Chitnis¹, Bradley F. Johnson², Malek Kamoun², Dimitri Monos^{1,2}

Sanger Sequencing



Next Generation Sequencing

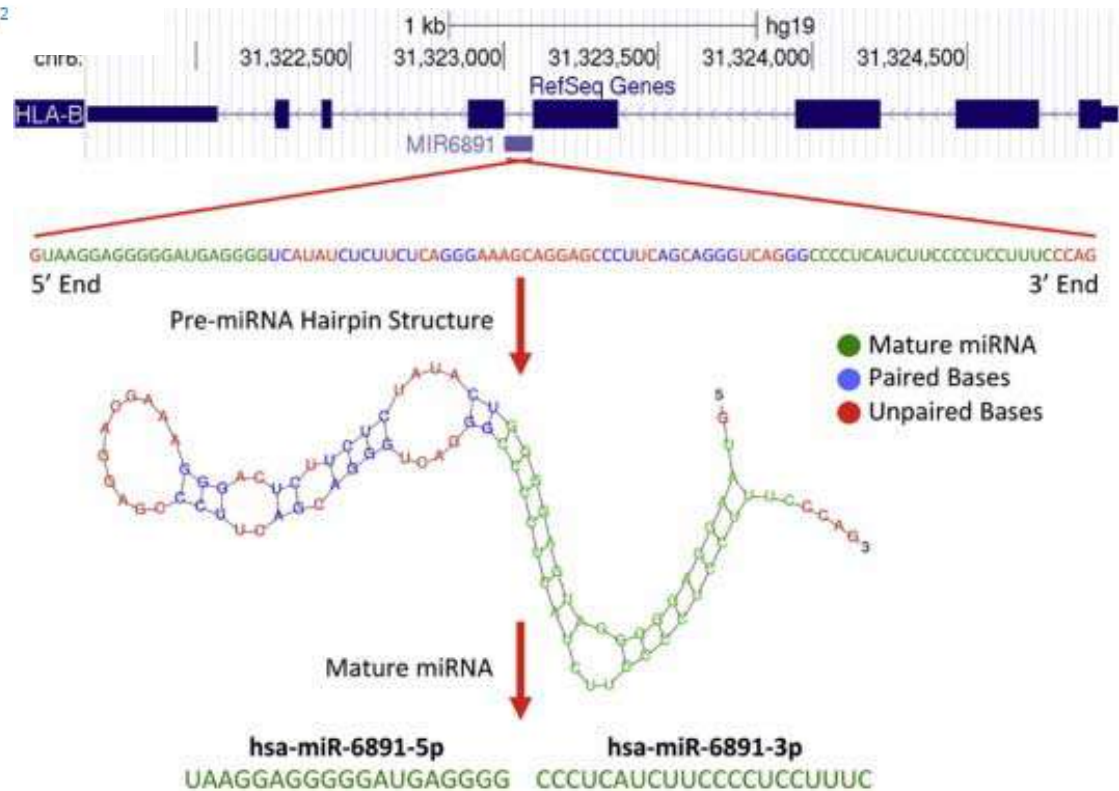
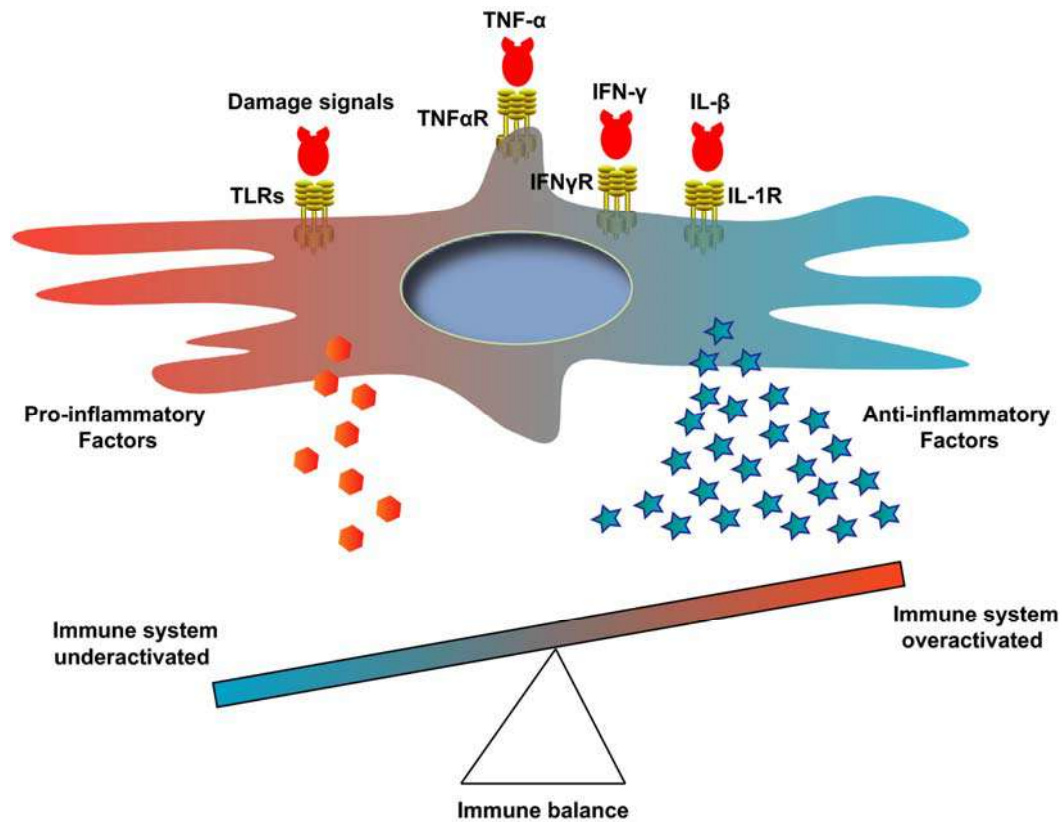


Figure 1. RNA sequencing data support the biogenesis of the energetically stable miRNA hairpin structure of HSA-miR-6891, which is derived from intron 4 of HLA-B following splicing of the primary HLA-B, mRNA transcript within the nucleus. The stable, pre-miRNA hairpin structure is then cleaved by the RNase III enzyme DICER, forming two mature miRNA transcripts (miR-6891-5p and miR-6891-3p).



- ΤΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ MSCS ΠΛΗΘΑΙΝΟΥΝ
- ΤΑ ΗΛΑ ΤΑΞΗΣ I ΚΑΙ II ΔΙΑΔΡΑΜΑΤΙΖΟΥΝ ΚΑΠΟΙΟΝ ΡΟΛΟ ΣΤΙΣ ΑΝΟΣΙΑΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΩΝ MSCS

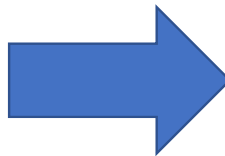
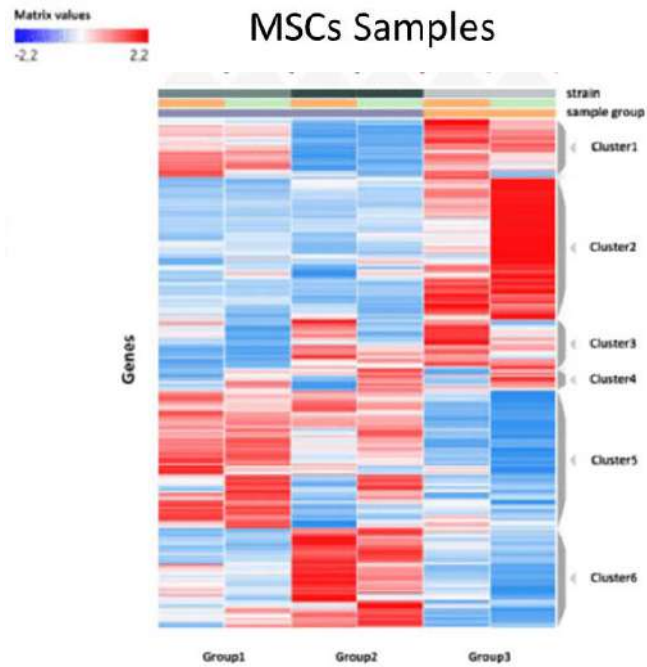


ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΠΟΒΑΘΡΟΥ MSCs – ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

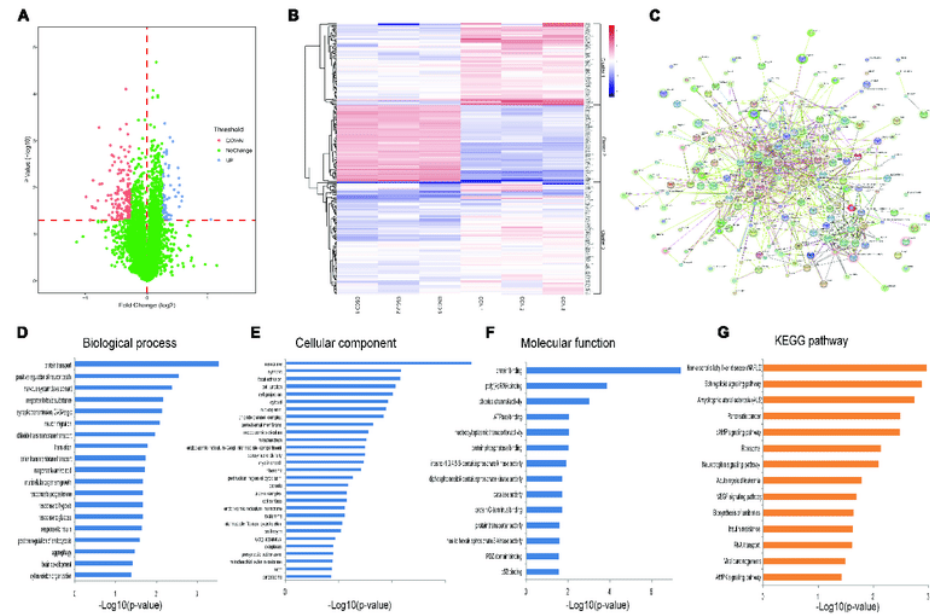
Ανάλυση γενετικού υποβάθρου

- 1) Τυποποίηση του HLA
- 2) Αλληλούχηση RNA-RNAseq
- 3) Πρωτεομική ανάλυση- Ανάλυση Μεταγραφώματος

2. Αλληλούχηση RNA



3. Ανάλυση μεταγραφώματος



ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΠΟΒΑΘΡΟΥ MSCs – ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

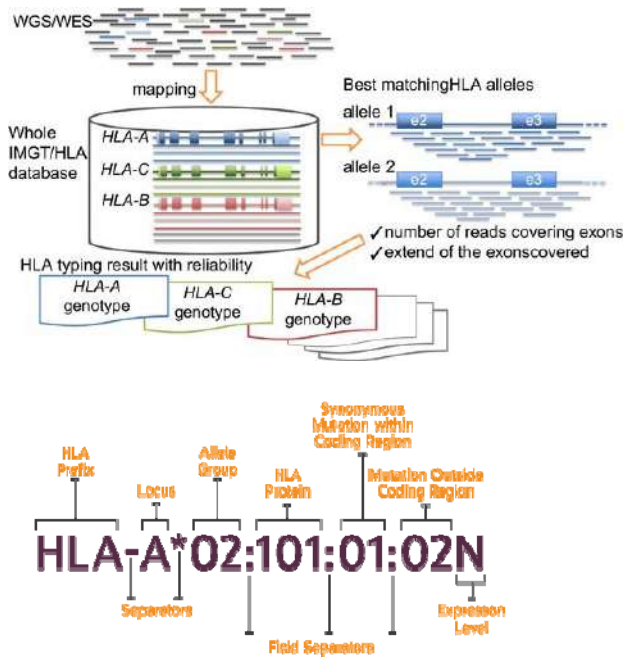
Ανάλυση γενετικού υποβάθρου

- 1) Τυποποίηση του HLA
- 2) Αλληλούχιση RNA-RNAseq
- 3) Πρωτεομική ανάλυση- Ανάλυση Μεταγραφώματος

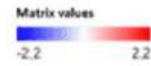
Αποτελέσματα ανάλυσης

- 1) Χρήσιμα συμπεράσματα
- 2) Καλύτερη κατανόηση των ανοσολογικών μηχανισμών των MSCs
- 3) Πιθανή διάκριση των MSCs με βάση το γενετικό τους υπόβαθρο

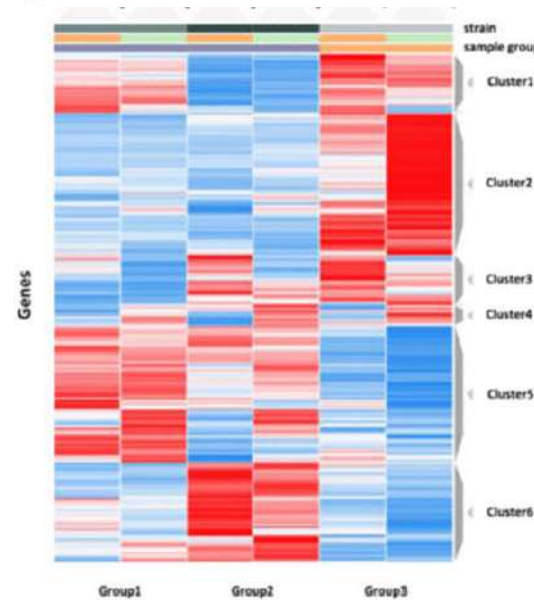
1. Τυποποίηση του HLA



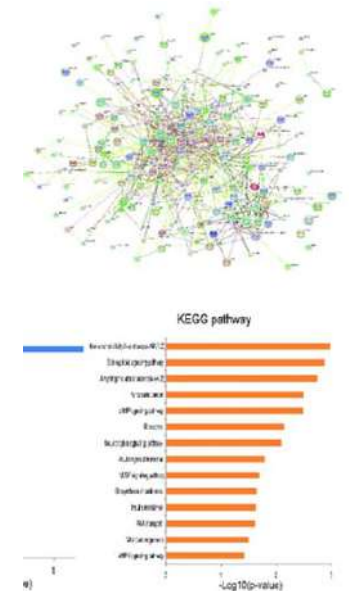
2. Αλληλούχιση RNA



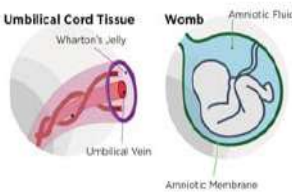
MSCs Samples



3. Ανάλυση μεταγραφώματος

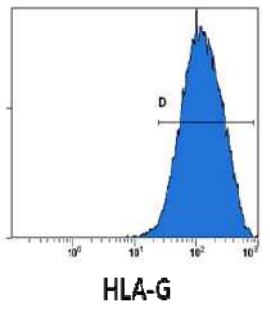


ΑΝΟΣΟΡΡΥΘΜΙΣΗ ΚΑΙ ΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΑΞΙΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΑ MSCS ΤΟΥ Ο.Λ.

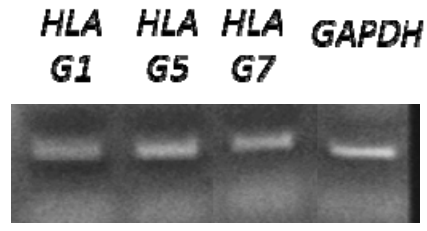


MSCs O.L.

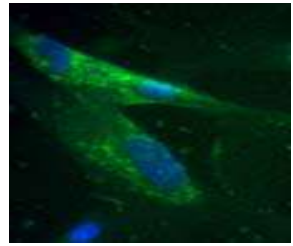
ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ



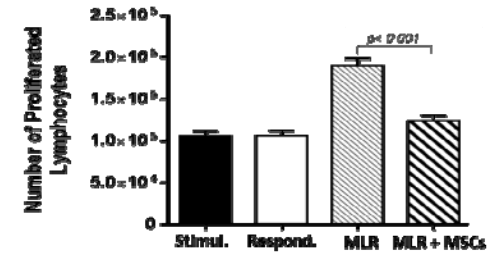
ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ PCR



ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΣ HLA-G

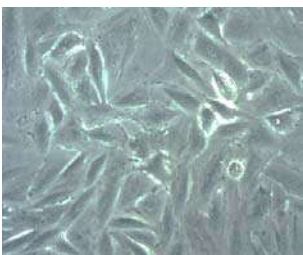


ΜΙΚΤΗ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ - MLR



ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ: ΕΠΙΤΕΛΕΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΔΙΕΓΕΡΜΕΝΩΝ MSCS Ο.Λ.

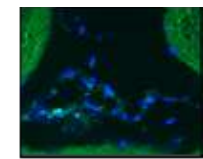
ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ



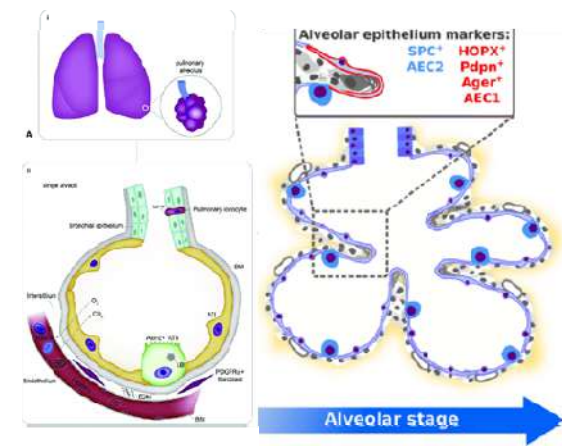
ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ



ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΩΝ ΑΓΓΕΙΑΚΩΝ ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΩΝ



ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΓΕΝΝΗΣΗ ΑΝΑΠΝ. ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ



Mesenchymal stromal cells as potential immunomodulatory players in severe acute respiratory distress syndrome induced by SARS-CoV-2 infection

Panagiotis Mallis, Efstathios Michalopoulos, Theofanis Chatzistamatiou, Catherine Stavropoulos-Giokas

ORCID number: Panagiotis Mallis 0000-0001-9429-190X; Efstathios Michalopoulos 0000-0002-1901-6294; Theofanis Chatzistamatiou 0000-0003-4895-0135; Catherine Stavropoulos-Giokas 0000-0003-0698-6061.

Author contributions: Mallis P designed and retrieved the data and prepared the whole manuscript; Michalopoulos E and Chatzistamatiou T made critical revisions related to the content of the manuscript; Stavropoulos-Giokas C performed the final approval of the manuscript.

Conflict-of-interest statement: The authors declare no conflict of interest.

Open-Access: This article is an open-access article that was selected by an in-house editor and fully peer-reviewed by external reviewers. It is distributed in accordance with the Creative Commons Attribution NonCommercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Panagiotis Mallis, Efstathios Michalopoulos, Theofanis Chatzistamatiou, Catherine Stavropoulos-Giokas, Hellenic Cord Blood Bank, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, Athens 11527, Greece

Corresponding author: Panagiotis Mallis, MSc, PhD, Associate Research Scientist, Teaching Assistant, Hellenic Cord Blood Bank, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, 4 Soranou Ephessiou Street, Athens 11527, Greece. pmallis@bioacademy.gr

Abstract

Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 and the related coronavirus disease-19 (COVID-19) is a worldwide emerging situation, which was initially reported in December 2019 in Wuhan, China. Currently, more than 7258842 new cases, and more than 411879 deaths have been reported globally. This new highly transmitted coronavirus is responsible for the development of severe acute respiratory distress syndrome. Due to this disorder, a great number of patients are hospitalized in the intensive care unit followed by connection to extracorporeal membrane oxygenation for breath supporting and survival. Severe acute respiratory distress syndrome is mostly accompanied by the secretion of proinflammatory cytokines, including interleukin (IL)-2, IL-6, IL-7, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), interferon-inducible protein 10 (IP10), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP1), macrophage inflammatory protein 1A (MIP1A), and tumor necrosis factor alpha (TNF- α), an event which is known as "cytokine storm". Further disease pathology involves a generalized modulation of immune responses, leading to fatal multiorgan failure. Currently, no specific treatment or vaccination against severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) has been developed. Mesenchymal stromal cells (MSCs), which are known for their immunosuppressive actions, could be applied as an alternative co-therapy in critically-ill COVID-19 patients. Specifically, MSCs can regulate the immune responses through the conversion of Th1 to Th2, activation of M2 macrophages, and modulation of dendritic cells maturation. These key immunoregulatory properties of MSCs may be exerted either by produced soluble factors or by cell-cell contact interactions. To date, several clinical trials have been registered to assess the safety, efficacy, and therapeutic potential of MSCs in COVID-19. Moreover, MSC treatment may be effective for the reversion of ground-glass opacity of damaged lungs and reduce the tissue fibrosis. Taking into account the multifunctional properties of MSCs, the proposed stem-cell-based

Editorial

Advanced Therapy Medicinal Products as Potential Therapeutic Strategy against COVID-19 and Immune-Related Disorders

Panagiotis Mallis ^{1,2,*}, Efstathios Michalopoulos ¹ and Catherine Stavropoulos-Giokas ¹

- Hellenic Cord Blood Bank, Biomedical Research Foundation Academy of Athens (BRFAA), 115 27 Athens, Greece; smichal@bioacademy.gr (E.M.); cstavrop@bioacademy.gr (C.S.-G.)
- Immunology Department & National Tissue Typing Center, General Hospital of Athens "Gennimatas", 154 Mesogeion Ave., 115 27 Athens, Greece
- * Correspondence: pmallis@bioacademy.gr; Tel.: +30-697-161-6467

Advanced Therapy Medicinal Products (ATMPs) comprise a heterogenous class of innovative medicinal products, which further require extensive preclinical and clinical assessments before their broader use in the general population [1]. ATMPs can be either recombinant nucleic acids or engineered cells and tissues [1,2]. Therefore, ATMPs can be classified into four subcategories, including (1) somatic cell therapy medicinal products (SCTMPs), tissue-engineered products (TEPs), gene therapy medicinal products (GTMPs), and combined ATMPs (cATMPs) [3]. The European Union (EU) has a specific legal framework, which, among others, also clearly indicates the differentiation between cell-based products and cell-based therapies. In this context, if human tissues/cells when minimally manipulated, including *in vitro* processes that do not alter their relevant biological characteristics, such as (a) centrifugation, (b) trimming, (c) flushing, (d) refrigeration, (e) freezing, (f) freeze drying, (g) the use of additives (e.g., cryopreservatives, anticoagulants, antimicrobial agents), (g) or irradiation, are not considered as ATMPs, the active substance cannot be commercialized or manufactured on an industrial scale [3,4]. Therefore, the proper classification of ATMPs defines the regulatory framework further, where the requirements of development and marketing are also included. The EU regulation 1394/2007/EC, in combination with the Directive 2009/120/EU, provides the overall framework and also the updated definitions and detailed scientific/technical requirements of ATMPs [1–4].

In the context of the authorization and release of ATMPs in the EU, the application of the clinical trial must be prepared and submitted to the national competent authority [3]. Additionally, the Committee for Advanced Therapies (CATs) and the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) of the European Medicines Agency (EMA) are responsible for the scientific evaluation and approval of ATMPs. These committees are dedicated to the assurance of the safety, quality, and efficacy of ATMPs, thus performing the draft opinion and the final decision for the release of the ATMPs.

The first released ATMP in the EU was performed in 2009 and constituted a tissue-engineered product known as ChondroCelet[®], which is intended as a therapeutic treatment of cartilage and bone defects [2]. Accordingly, in the United States (US), PROVENGE[®], a somatic cell therapy for prostate cancer treatment, was approved as ATMP and released in 2010 [2]. In the field of gene therapy, Glybera[®] was the first ATMP of this category that was released in the EU in 2012, which was designed to reverse lipoprotein lipase deficiency (LPLD) in patients suffering from severe pancreatitis.

Providing the main framework where the ATMPs can act beneficially in human disorders, recent applications of the above can also be found in COVID-19 and immune-related diseases. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is the respon-

A potential therapeutic evidence from *in vitro* results

Irini-Faidra Sarri, Eleni Georgiou, Maria Catherine Stavropoulos-Giokas, Efstathios

Michalopoulos, Zette Dassa, Eleni-Faidra Sarri, Eleni Georgiou, Efstathios Michalopoulos, Hellenic Cord Blood Bank, Academy of Athens, Athens 11527, Greece

Ira, Evangelos Andreou, Laboratory of Immunobiology, Surgery and Translational Research, Biomedical Research Unit, Athens 11527, Greece

Irini-Faidra Sarri, Eleni Georgiou, Maria Catherine Stavropoulos-Giokas, Efstathios Michalopoulos, Hellenic Cord Blood Bank, Academy of Athens, Athens 11527, Greece. pmallis@bioacademy.gr

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is responsible for the COVID-19 pandemic, which was initiated in Wuhan, China, and is characterized by a low mortality rate (< 6%); first in elderly people and patients with underlying comorbidities, which may lead to severe outcomes. Currently, no specific treatment or vaccination against SARS-CoV-2 has been developed. Mesenchymal stromal cells (MSCs), which are known for their immunoregulatory properties, could be applied as an alternative co-therapy in critically-ill COVID-19 patients. Specifically, MSCs can regulate the immune responses through the conversion of Th1 to Th2, activation of M2 macrophages, and modulation of dendritic cells maturation. These key immunoregulatory properties of MSCs may be exerted either by produced soluble factors or by cell-cell contact interactions. To date, several clinical trials have been registered to assess the safety, efficacy, and therapeutic potential of MSCs in COVID-19. Moreover, MSC treatment may be effective for the reversion of ground-glass opacity of damaged lungs and reduce the tissue fibrosis. Taking into account the multifunctional properties of MSCs, the proposed stem-cell-based

laboratory properties of MSCs, upon stimulation with

Wharton's jelly (WJ) tissue and bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs), and defined according to the International Society for Cellular Therapies. Then, WJ and



Citation: Mallis P, Michalopoulos E, Stavropoulos-Giokas C. Advanced Therapy Medicinal Products as Potential Therapeutic Strategy against COVID-19 and Immune-Related Disorders. *Int. J. Mol. Sci.* 2024; 25: 3079. <https://doi.org/10.3390/ijms25053079>

Received: 28 February 2024
 Accepted: 2 March 2024
 Published: 6 March 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



Εμβρυϊκής vs Ενήλικης Προέλευσης

MSCs O.Λ.

- Παρόμοια ποιοτικά χαρακτηριστικά (μορφολογία ινοβλάστη, ανοσοφαινότυπος, δυνατότητα διαφοροποίησης)
- Διατήρηση πολλαπλασιαστικής ικανότητα μετά από απόψυξη
- Καλύτερη ανταπόκριση μέσω υψηλότερης έκφρασης και παραγωγής διαλυτών αντιφλεγμονώδων μεσολαβητών (IL-1RA, IL-10 και IL-13).
- Τα MSCs του O.Λ. ενδεχομένως να φέρουν καλύτερες ανοσορρυθμιστικές (έκφραση HLA-G) και αναγεννητικές ιδιότητες σε σχέση με τα MSCs του M.O.

MSCs M.O.

- Παρόμοια ποιοτικά χαρακτηριστικά (μορφολογία ινοβλάστη, ανοσοφαινότυπος, δυνατότητα διαφοροποίησης)
- Μέτρια δυνατότητα πολλαπλασιασμού μετά από απόψυξη. Απαιτητικές συνθήκες κυτταροκαλλιέργειας.
- Μέτρια ανταπόκριση μέσω υψηλότερης έκφρασης και παραγωγής διαλυτών αντιφλεγμονώδων μεσολαβητών (IL-1RA, IL-10 και IL-13).
- Θα πρέπει να συνυπολογιστεί ο παράγοντας νόσησης των δοτών M.O. (ύπαρξη υποκείμενου νοσήματος- πολλαπλή σκλήρυνση και νόσος του κινητικού νευρώνα).
- Επίπτωση στις ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες των MSCs του M.O

Δυνατότητα δημιουργία τράπεζας MSCs και δυνατότητα καθορισμού των HLA (για αλλογενή χρήση) με σκοπό την αξιοποίηση τους σε ασθενείς με ανοσολογικά νοσήματα (π.χ. λοίμωξη COVID-19, αυτοάνοσα νοσήματα)

Editorial

Exploring the Immunomodulatory Properties of Stem Cells in Combating COVID-19: Can We Expect More?

Panagiotis Mallis^{1,2}

¹ Hellenic Cord Blood Bank, Biomedical Research Foundation Academy of Athens, 4 Soranou Efessiou Street, 115 27 Athens, Greece; pmallis@bioacademy.gr; Tel: +30-6971616467
² Immunology Department & National Tissue Typing Center, General Hospital of Athens "Gennimatas", 154 Mesogion Ave., 115 27 Athens, Greece

Abstract: Since the first appearance of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) in December 2019, the disease has displayed a remarkable interindividual variability in the global population, resulting in different mortality and morbidity rates. Still, an effective cure against SARS-CoV-2 has not been developed, and therefore, alternative therapeutic protocols must also be evaluated. Considering that stem cells, especially Mesenchymal Stromal Cells (MSCs), are characterized by both regenerative and immunomodulatory properties and that their safety and tolerability have been investigated previously, these cells could potentially be applied against coronavirus disease 19 (COVID-19). In addition, an individual's genetic background is further related to disease pathogenesis, especially rare Inborn Errors of Immunity (IEIs), autoantibodies against Interferon type I, and the presence of different Human Leukocyte Antigens (HLA) alleles, which are actively associated with protection or susceptibility in relation to SARS-CoV-2. Herein, the use of MSCs as a potential stem cell therapy will require a deep understanding of their immunomodulatory properties associated with their HLA alleles. In such a way, HLA-restricted MSC lines can be developed and applied precisely, offering more solutions to clinicians in attenuating the mortality of SARS-CoV-2.

Keywords: SARS-CoV-2; stem cells; COVID-19; IL-6; immune responses; mesenchymal stromal cells; HLA class I and II; next-generation sequencing.

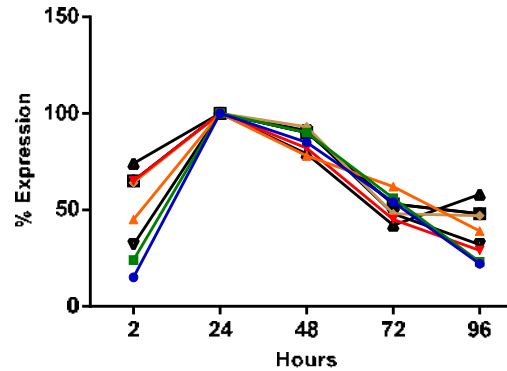
1. Introduction

COVID-19 occurring due to SARS-CoV-2 was reported for the first time in December 2019 in Wuhan, China [1,2]. Since its first appearance, COVID-19 has been considered to be a pandemic disease. According to the World Health Organization (WHO), currently, more than 764 million cases and more than 6 million deaths have been reported globally [3]. By the time this article was prepared, COVID-19 had spread to more than 220 countries, with most cases having been identified in European countries (275,789,453), followed by the Western Pacific (202,604,225), Americas (192,187,133), South East Asia (61,021,914), Eastern Mediterranean (<23,340,000), and Africa (<9,000,000) [3].

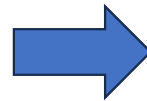
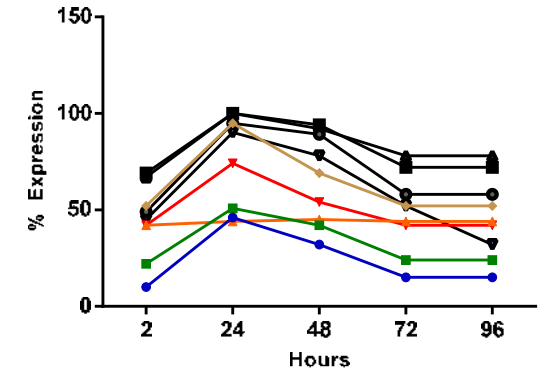
The COVID-19 pandemic is a rapidly evolving infectious disease that is responsible for significant morbidity and mortality in the general population [4]. Moreover, COVID-19 comprises a heavy economic burden, where public and private finances have been negatively affected due to the enforcement of the lockdown [5]. Especially in developing countries, COVID-19 has led to important drawbacks in terms of their economic evolution, leading to work losses or salary reductions [5].

The virus spreads through various means, such as direct contact with infected patients, through droplets, or via aerosol transmission [6]. SARS-CoV-2 primarily infects the upper and then the lower respiratory system, causing mild or moderate symptoms, such as coughing, fever, fatigue, and general malaise [6,7]. Besides these symptoms, SARS-CoV-2 can significantly affect the function of multiple organs, such as the liver, kidney, intestines,

Stimulated WJ-MSCs



Stimulated BM-MSCs

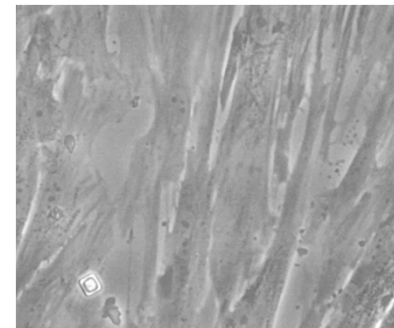


• Inborn Errors of immunity (IFN type 1, TLR3)
 • Genetic Background (HLA alleles, Epigenetic Modifications)

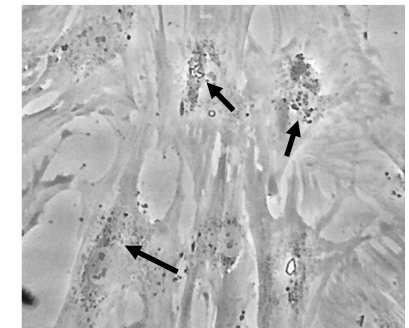


NON-STIMULATED STATE

WJ-MSCs



BM-MSCs



Citation: Mallis, P. Exploring the Immunomodulatory Properties of Stem Cells in Combating COVID-19: Can We Expect More? *Bioengineering* **2023**, *10*, 803. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10070803>

Received: 19 June 2023
 Accepted: 3 July 2023
 Published: 5 July 2023



Copyright: © 2023 by the author. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



1. Καθορισμός των ανοσορρυθμιστικών ιδιοτήτων των MSCs μέσω έμμεσης επαφής
 - Προσδιορισμός IDO, NO, PGE2
2. Καθορισμός των ανοσορρυθμιστικών ιδιοτήτων των MSCs μέσω άμεσης επαφής
 - Απομόνωση PBMCs ασθενών με λοίμωξη COVID-19
 - Διεξαγωγή μικτής λεμφοκυτταρικής αντίδρασης (MLR)
 - Προσδιορισμός της μεσολαβούμενης ανοσορύθμισης των MSCs σε ενεργοποιημένες κυτταρικούς πληθυσμούς (T και B κύτταρα) μέσω κυτταρομετρίας ροής.
3. Χρήση των MSCs με σκοπό τον καθορισμό των ανοσορρυθμιστικών ιδιοτήτων τους σε ζωικά μοντέλα με επαγόμενη αναπνευστική δυσχέρεια (ARDS-mouse models)

ΝΕΑ ΕΠΟΧΗ ΕΞΑΤΟΜΙΚΕΥΜΕΝΗ ΙΑΤΡΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ, ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΚΡΥΟΚΑΤΑΨΥΞΗ MSCS Ο.Λ.



120 – 250 x 10⁶ MSCs σε λιγότερο από 35 ημέρες!!

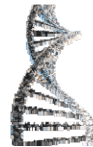


Γενετικό προφίλ Ασθενούς



Γενετική Ανάλυση των HLA αντιγόνων

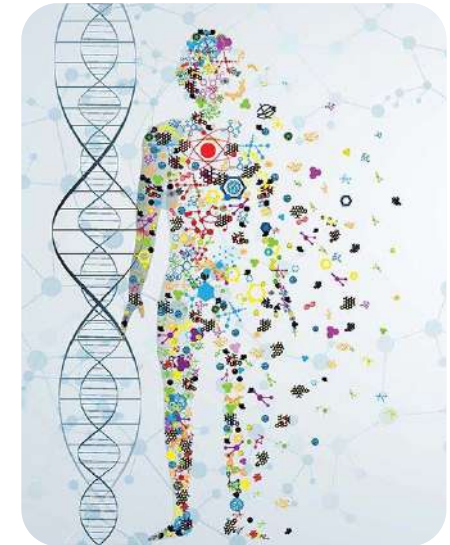
Αποθήκευση καλά χαρακτηρισμένων MSCs (well defined)



Επιλογή MSCs με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά

Πρωτόκολλο Χορήγησης:
Χορήγηση
1-10 x 10⁶ MSCs/ Kg σωματικού βάρους

ΑΠΑΙΤΗΣΗ ΓΙΑ ΔΩΜΑΤΙΑ ΟΡΘΩΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΩΝ ΠΡΑΚΤΙΚΩΝ (GOOD MANUFACTURER PRACTICES ROOMS)

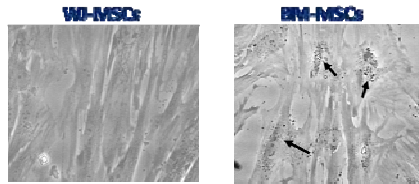


Ασθενείς

- Αυτοάνοσα Νοσήματα
- Μεταμόσχευση
- Αναγεννητική Ιατρική
- Ανοσοτροποποιητικά Νοσήματα



EVALUATION OF MSCS AS A CELL SOURCE FOR REGENERATIVE MEDICINE AND TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS



Hellenic Cord Blood Bank



Tissue Engineered Small Diameter Vascular Grafts



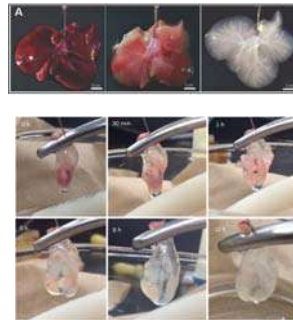
2013

Esophagus Scaffold Production



2018

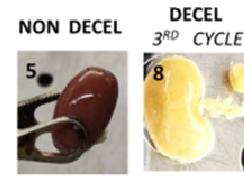
Liver-Pancreas Decellularization



Ongoing Experimental Work

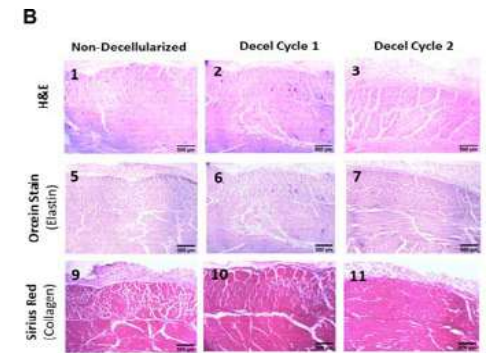
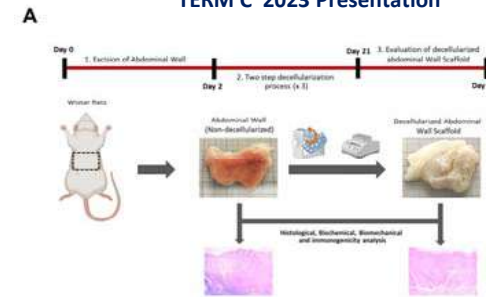
Until Date

Whole Rat Kidney Decellularization Charalampos Oikonomidis TERM C 2023 Presentation



2020

Full thickness Abdominal Wall Decellularization Skepastianos George, MD TERM C 2023 Presentation



Improved Repopulation Efficacy of Decellularized Small Diameter Vascular Grafts Utilizing the Cord Blood Platelet Lysate
Panagiotis Mavris^{1,2}, Dimitrios P. Sideris^{1,2}, Michalis Katsourakis^{1,2}, Athanasios Karamalis^{1,2}, Athanasios Moutafakidis^{1,2}, and Elias Michalopoulos^{1,2}

Abstract: Background: The development of functionalized decellularized small diameter grafts (DSMGs) represents a major challenge in tissue engineering. This study aimed to assess the repopulation efficacy of DSMSGs utilizing the cord blood platelet lysate (CBPL) as a cell source. Methods: DSMSGs were produced using a two-step decellularization protocol. The DSMSGs were seeded with CBPL and cultured in vitro. The DSMSGs were then implanted in a rat model. Results: The DSMSGs seeded with CBPL showed a significantly higher repopulation efficacy compared to DSMSGs seeded with a control cell source. Conclusion: The use of CBPL as a cell source for DSMSGs significantly improved their repopulation efficacy.

Optimization of Decellularization Procedure in Rat Esophagus for Possible Development of a Tissue Engineered Construct
Panagiotis Mavris^{1,2,3}, Panagiotis Chalkias^{1,2}, Michalis Katsourakis^{1,2}, Athanasios Karamalis^{1,2}, Athanasios Moutafakidis^{1,2}, and Elias Michalopoulos^{1,2}

Abstract: Background: Current esophageal treatment is associated with significant morbidity. The goal of this study was to optimize the decellularization protocol for the production of a tissue-engineered esophageal scaffold. Methods: The decellularization protocol was optimized by varying the decellularization reagents and the decellularization time. The resulting scaffolds were evaluated for their structural and functional properties. Results: The optimized decellularization protocol resulted in scaffolds with improved structural and functional properties. Conclusion: The optimized decellularization protocol is suitable for the production of a tissue-engineered esophageal scaffold.

Optimizing Decellularization Strategies for the Efficient Production of Whole Rat Kidney Scaffolds
Panagiotis Mavris^{1,2}, Charalampos Oikonomidis^{1,2}, Michalis Katsourakis^{1,2}, Athanasios Moutafakidis^{1,2}, and Elias Michalopoulos^{1,2}

Abstract: Background: Kidney transplantation is a global issue, with chronic kidney disease being the 10th most leading cause of death worldwide. The current clinical practice for kidney transplantation is to use deceased donor kidneys. However, the shortage of donor kidneys has led to the development of kidney scaffolds. Methods: The decellularization protocol was optimized by varying the decellularization reagents and the decellularization time. The resulting scaffolds were evaluated for their structural and functional properties. Results: The optimized decellularization protocol resulted in scaffolds with improved structural and functional properties. Conclusion: The optimized decellularization protocol is suitable for the production of a whole rat kidney scaffold.



ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ, ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΚΡΥΟΚΑΤΑΨΥΞΗ MSCS Ο.Λ.



120 – 250 x 10⁶ MSCs Ο.Λ.
μέσα σε 35 ημέρες από την
αρχική καλλιέργεια



ΠΛΗΡΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΣΗ ΤΩΝ ΗΛΑ ΜΕ
ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ NGS



ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ MSCS Ο.Λ.
ΚΑΘΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΠΡΟΣ ΤΑ ΗΛΑ

ΑΠΑΙΤΗΣΗ ΓΙΑ ΔΩΜΑΤΙΑ ΟΡΘΩΝ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΩΝ ΠΡΑΚΤΙΚΩΝ
(GOOD MANUFACTURER PRACTICES ROOMS)



ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΧΩΡΟ
ΔΕΞΑΜΕΝΩΝ ΑΖΩΤΟΥ



ΤΑΧΕΙΑ ΑΠΟΨΥΞΗ
MSCS Ο.Λ.



ΧΟΡΗΓΗΣΗ MSCS Ο.Λ.
1-10 x 10⁶ / Kg σωματικού βάρους

ΣΑΣ ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ ΓΙΑ ΤΗ ΠΡΟΣΟΧΗ ΣΑΣ



Στοιχεία Επικοινωνίας

Τηλ. Εργαστηρίου: 2106597340

E-mail: pmallis@bioacademy.gr

**Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΕΞΑΓΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΤΡΑΠΕΖΑ
ΟΜΦΑΛΟΠΛΑΚΟΥΝΤΙΑΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ**

**ΔΕΝ ΕΧΕΙ ΛΗΦΘΕΙ ΚΑΜΙΑ ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗ
ΔΙΕΞΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**



ελληνική τράπεζα
ομφαλοπλακουντιακού αίματος



- **Αικατερίνη Σταυροπούλου- Γκιόκα, MD, PhD**
Διευθύντρια ΕΛΤΟΠΑ
- **Ευστάθιος Μιχαλόπουλος, PhD**
Υπεύθυνος Ποιοτικού Ελέγχου ΕΛΤΟΠΑ
- **Σαρρή Ειρήνη-Φαίδρα, PhD cand.**
Προσωπικό ΕΛΤΟΠΑ
- **Γεωργίου Ελένη, MSc**
Προσωπικό ΕΛΤΟΠΑ

Εργαστήριο Ανοσοβιολογίας

- **Ευάγγελος Ανδρέακος, PhD**
Ερευνητής Α΄
- **Τριανταφυλλιά Βασιλική, υποψήφια
διδάκτωρ**
– ΠΑΡΟΧΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΟΡΟΥ ΑΣΘΕΝΩΝ
ΜΕ COVID-19
- **Βίκυ Λαμπροπούλου, υποψήφια
διδάκτωρ**
-ΠΑΡΟΧΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΟΡΟΥ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ
COVID-19
- **Ελένη Σιούτη, υποψήφια διδάκτωρ**
-ΠΑΡΟΧΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΟΡΟΥ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ
COVID-19