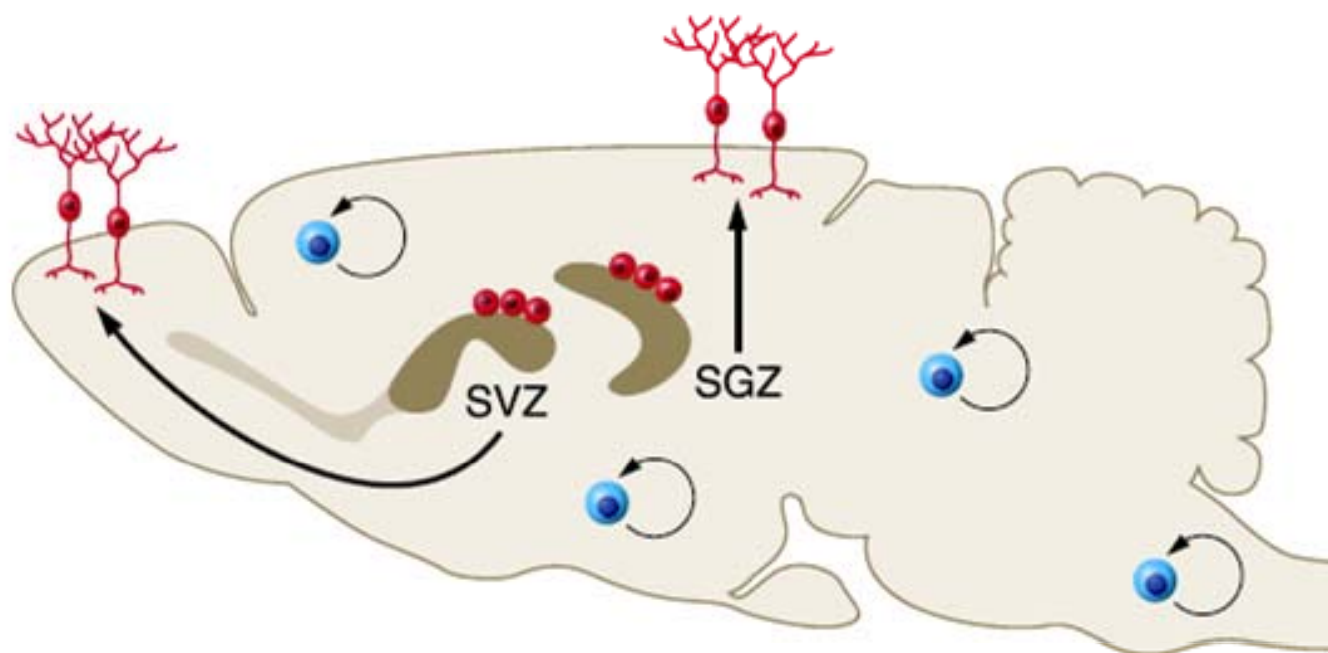


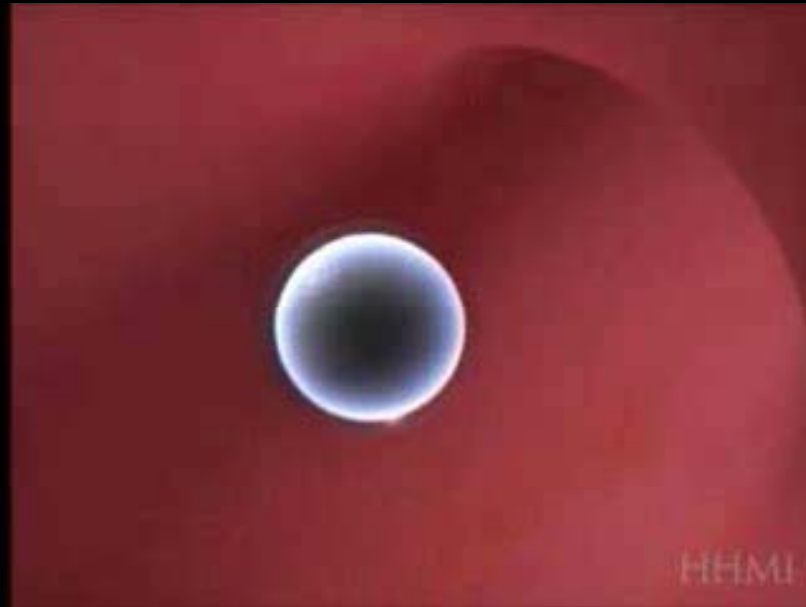
Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών  
Εμβρυολογία/Ιστολογία του Νευρικού Συστήματος

## Ενήλικη Νευρογένεση



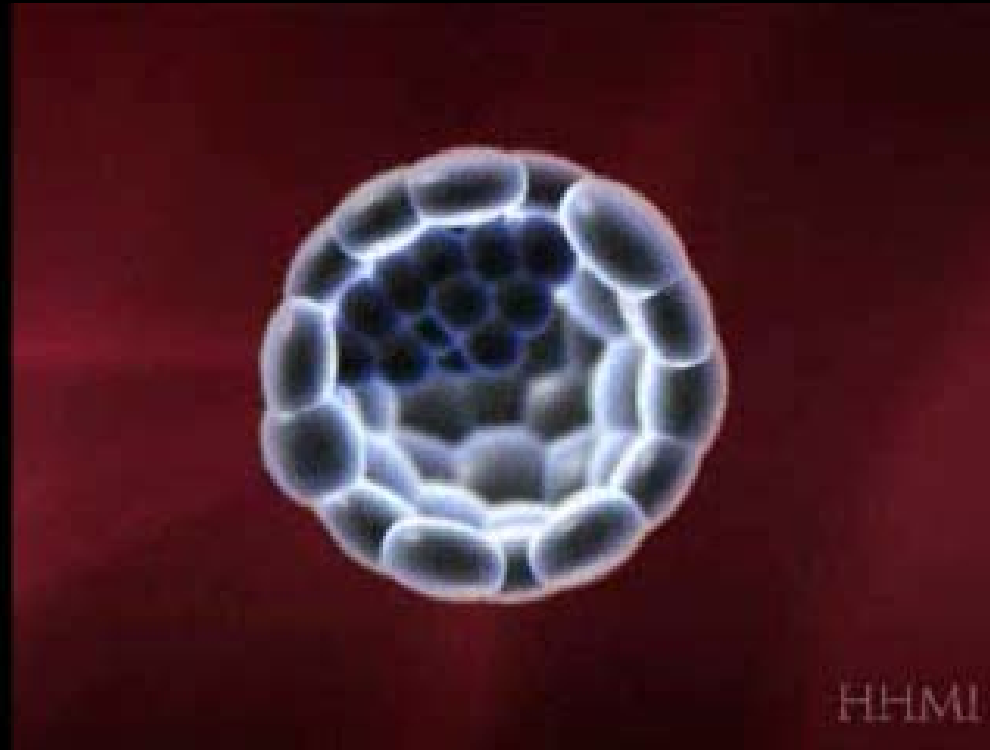
Ρεβέκκα Μάτσα  
Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ  
21 Οκτωβρίου 2017

# Τι είναι τα βλαστοκύτταρα;



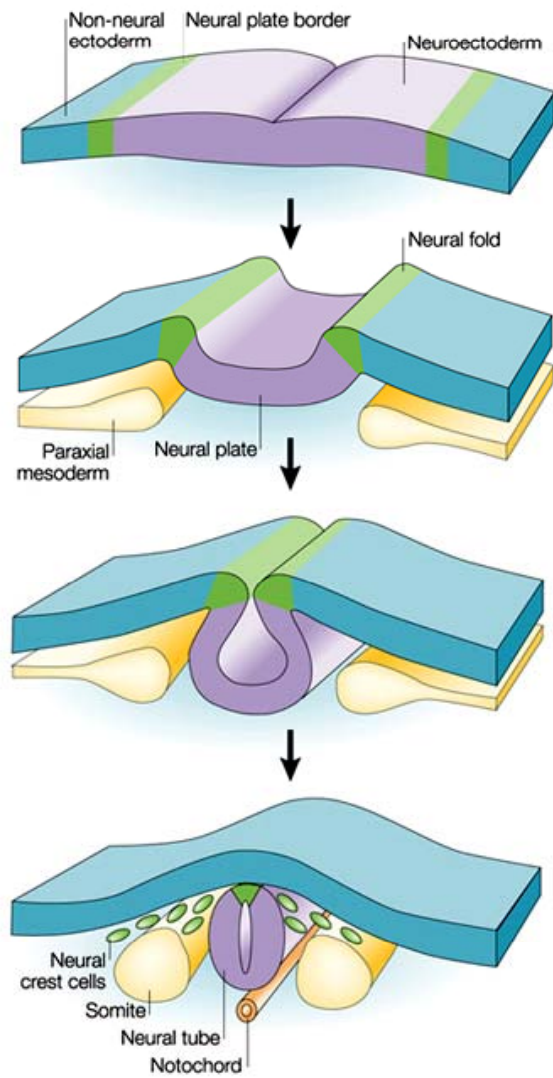
Video: Howard Hughes Medical Institute

Από τα βλαστοκύτταρα προκύπτουν  
τα εξειδικευμένα κύτταρα του οργανισμού

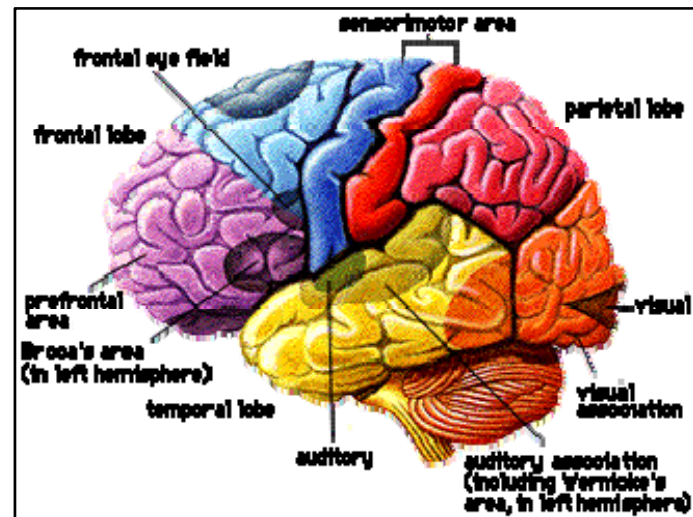
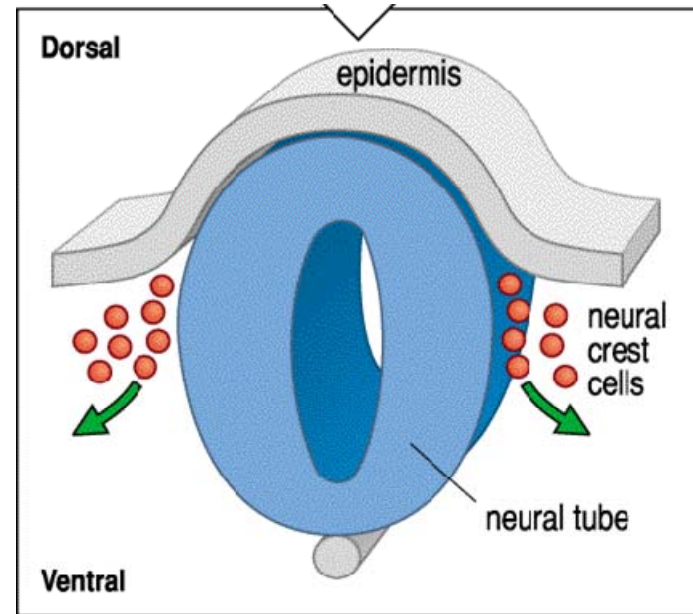


Video: Howard Hughes Medical Institute

# Ιστοειδικά – Νευροειδικά βλαστοκύτταρα

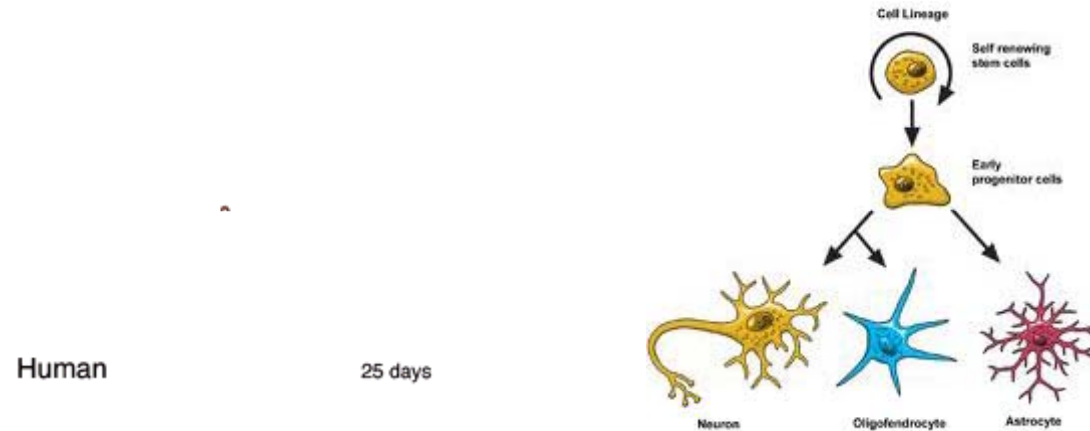


Nature Reviews | Neuroscience



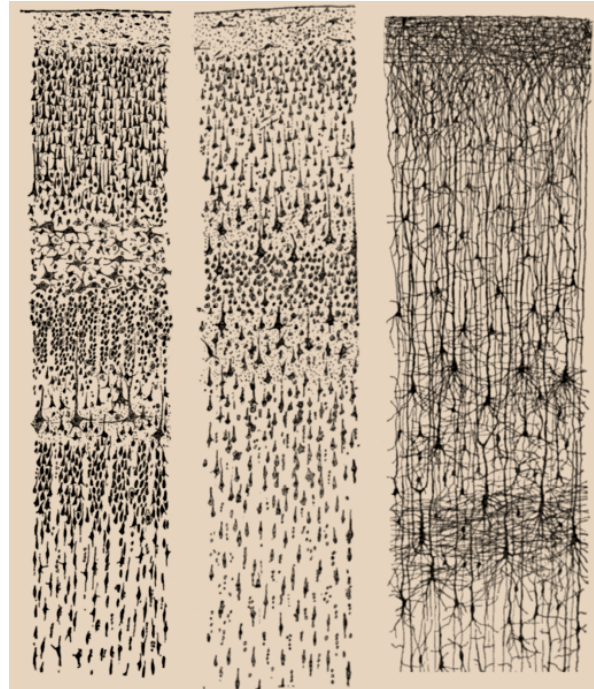
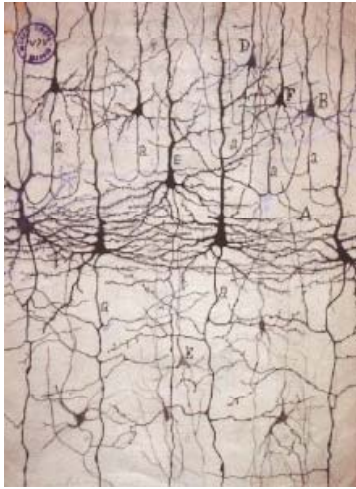
## Ανάπτυξη του εμβρυϊκού εγκεφάλου

# Ιστοειδικά – Νευροειδικά βλαστοκύτταρα

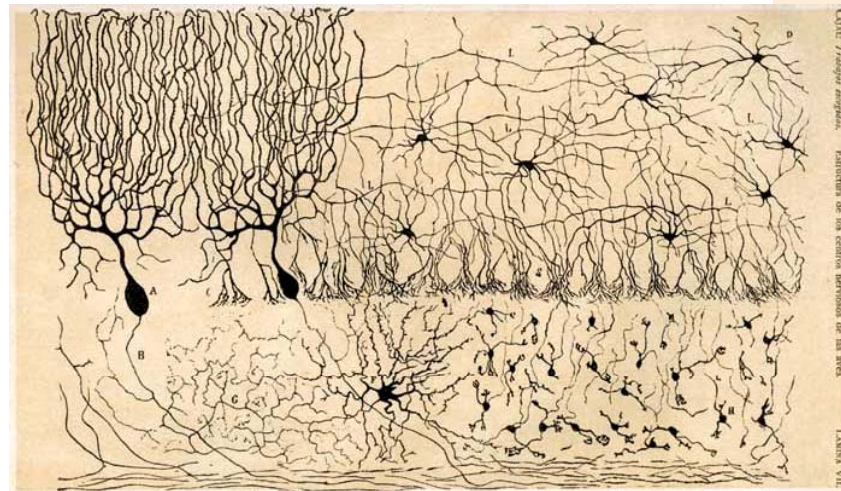
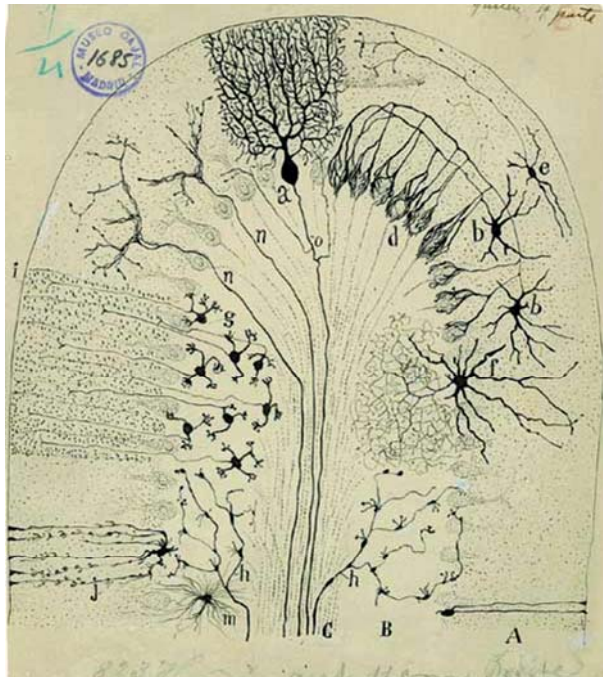
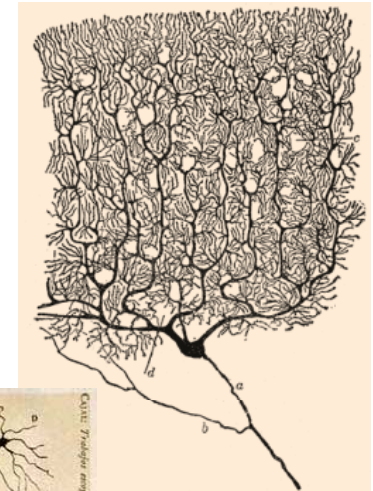


- 80 εκατομμύρια νευρώνες στον ανθρώπινο εγκέφαλο
- 1000 τρις συνάψεις που μεταφέρουν πληροφορίες από τον ένα νευρώνα στον άλλο

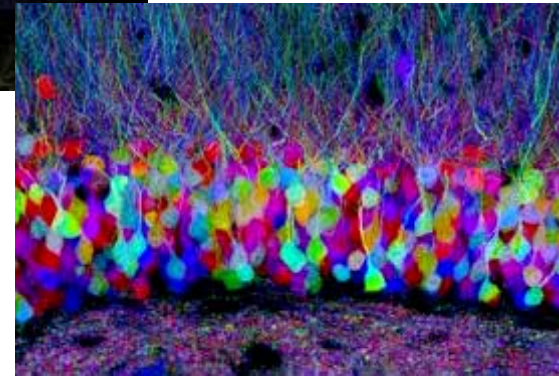
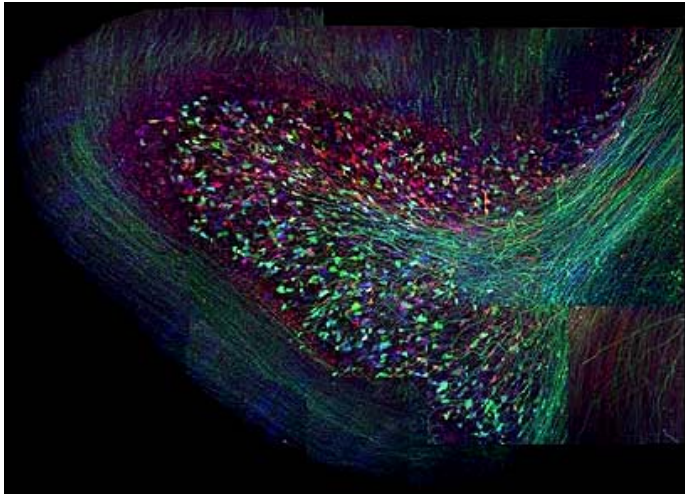
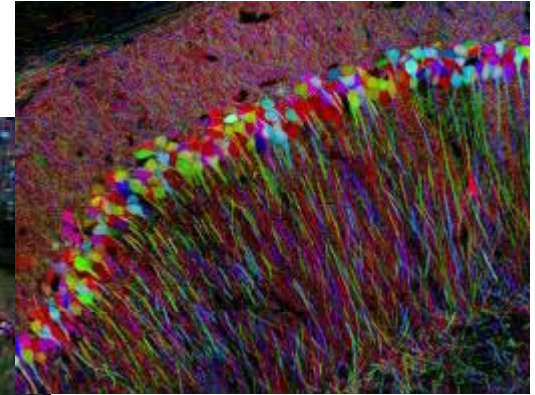
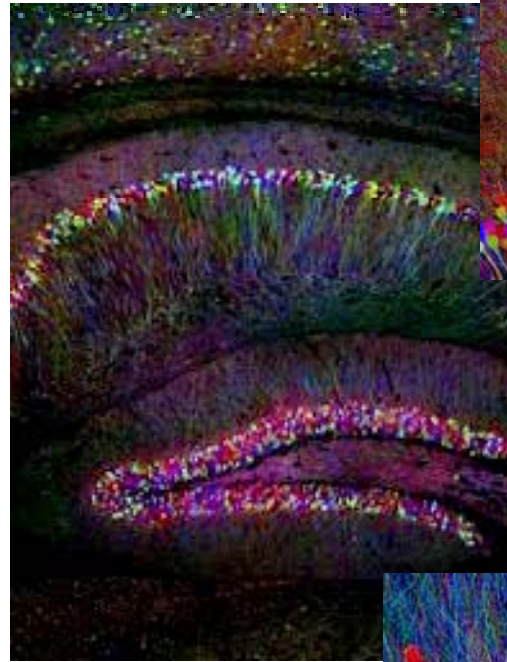
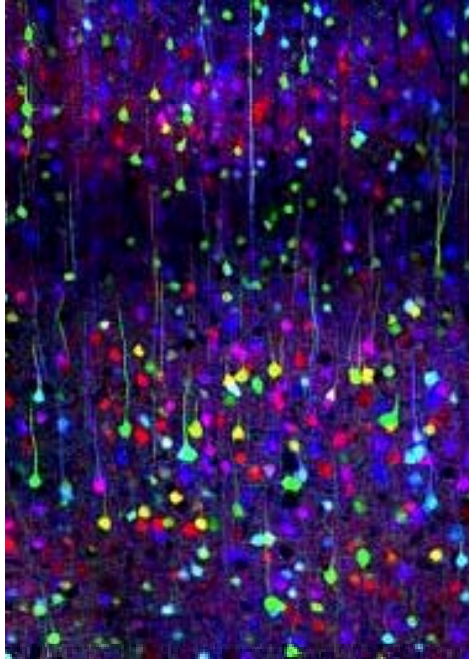
Ανάπτυξη του εμβρυϊκού εγκεφάλου



Ramon Y Cajal's  
Drawings  
~1910

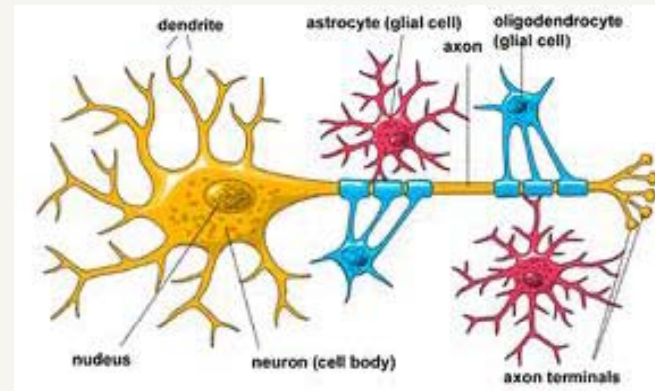
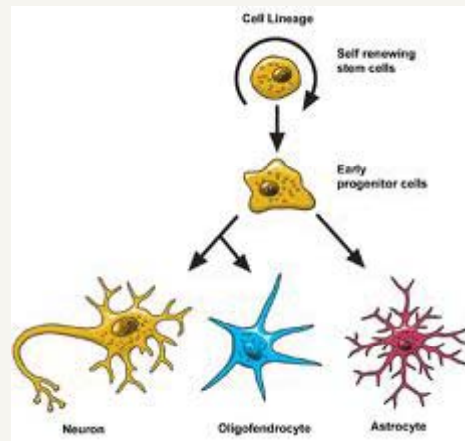


Cajal: *Troncos arborescentes*. Estructura de los centros nerviosos de la corteza. Lámina VII.



the Bra nbow mouse  
Jeff Lichtman

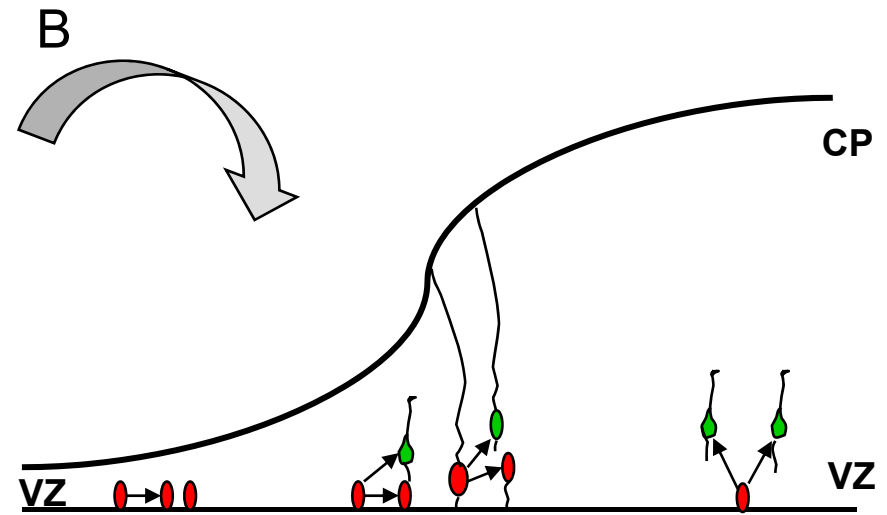
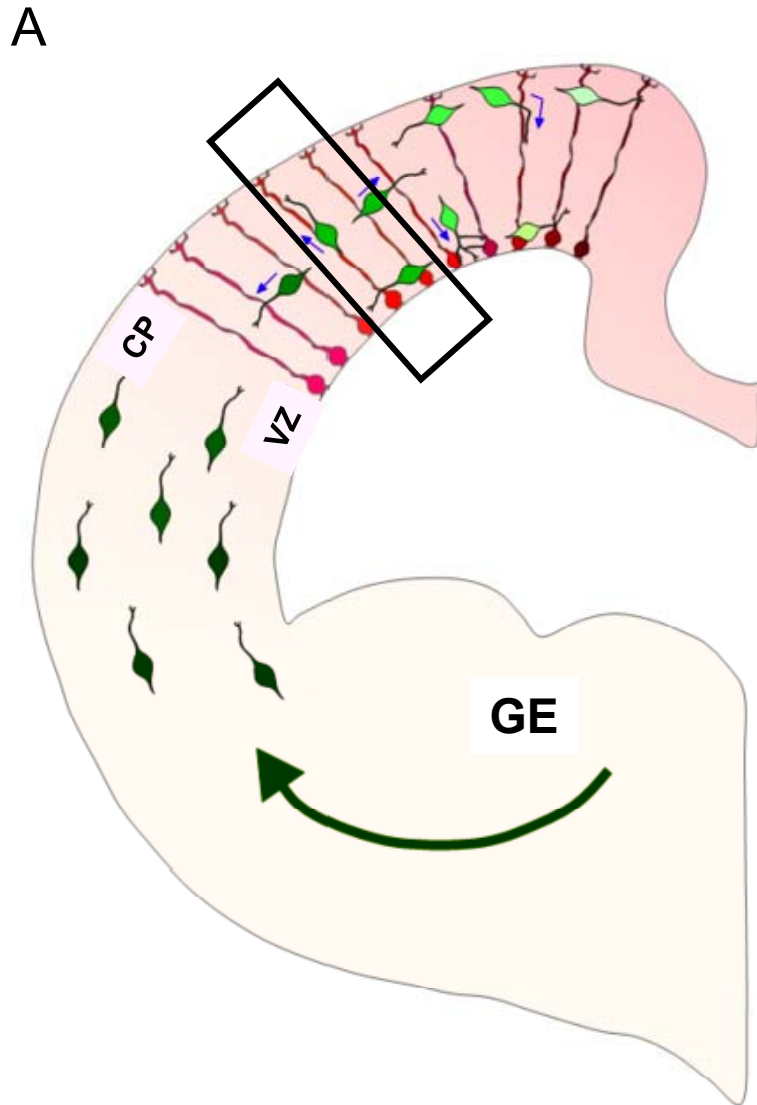
# Νευρικά βλαστικά κύτταρα



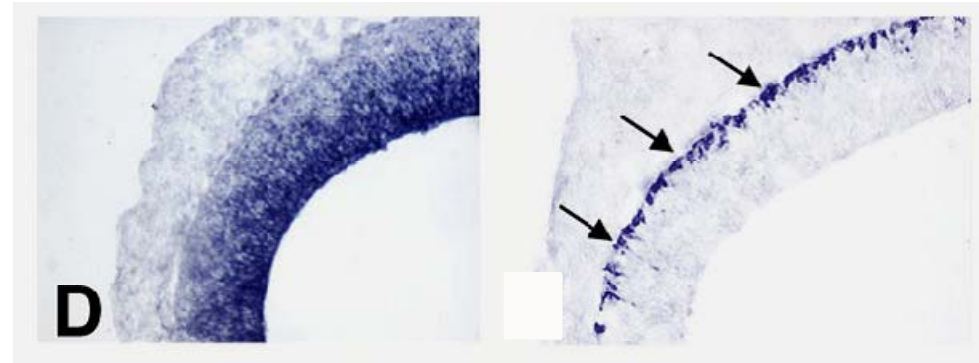
Κυτταρικός Πολλαπλασιασμός  
Κυτταρική Διαφοροποίηση  
Κυτταρική Μετανάστευση  
Δημιουργία Λειτουργικών Νευρικών  
Δικτύων



# Νευρογένεση στον εγκεφαλικό φλοιό



Συμμετρικές και ασύμμετρες  
ΚΥΤΤΑΡΙΚΕΣ ΔΙΑΙΡΕΣΕΙΣ

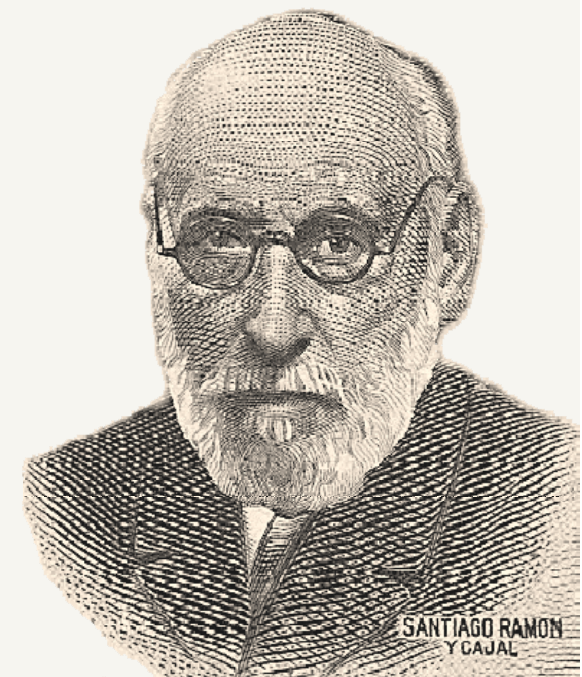
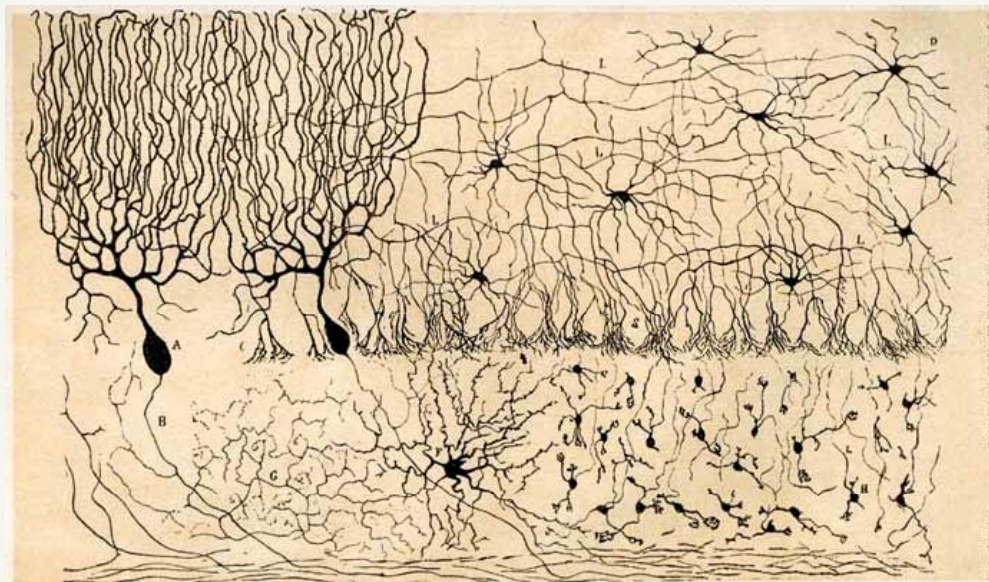




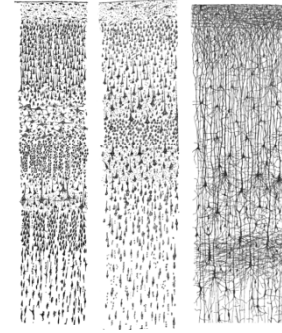
**“Όταν σταματήσει η ανάπτυξη, οι πηγές της αύξησης και της αναγέννησης των αξόνων στερεύουν οριστικά. Στα ενήλικα κέντρα τα νευρικά μονοπάτια είναι σταθερά και απαρέγκλιτα. Όλα θα πεθάνουν και τίποτε δεν πρόκειται να ανγεννηθεί.**

**Απομένει στην επιστήμη του μέλλοντος να ανατρέψει, κατά το δυνατόν, αυτή τη σκληρή επιταγή».**

**~1910 μΧ, έναν αιώνα πριν.....**



# Ενήλικη νευρογένεση: Δόγματα & Λανθασμένες Αντιλήψεις



Ramon y Cajal, 1899

Όχι νευρογένεση στον ενήλικες ΚΝΣ  
[Κεντρικό δόγμα νευροβιολογίας]

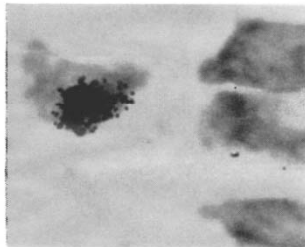
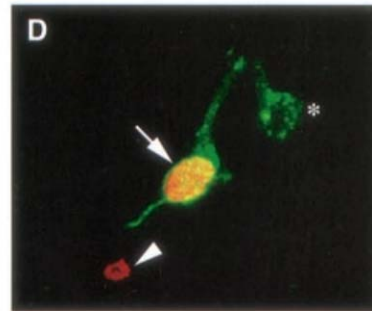
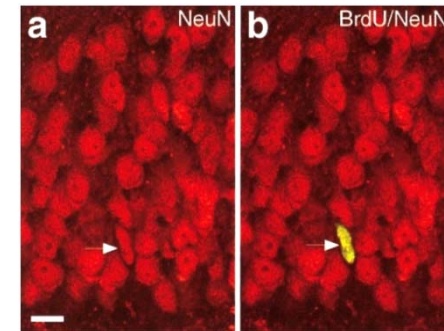


Fig. 2. Radioactive labeling of a neuron in the cerebral cortex of a rat which was sacrificed 1 month after the operation (about  $\times 1170$ ).

Altman, 1963; Kaplan, 70s  
Υποκοιλιακή ζώνη, ιππόκαμπος  
[Αγνοήθηκαν, πολεμήθηκαν]

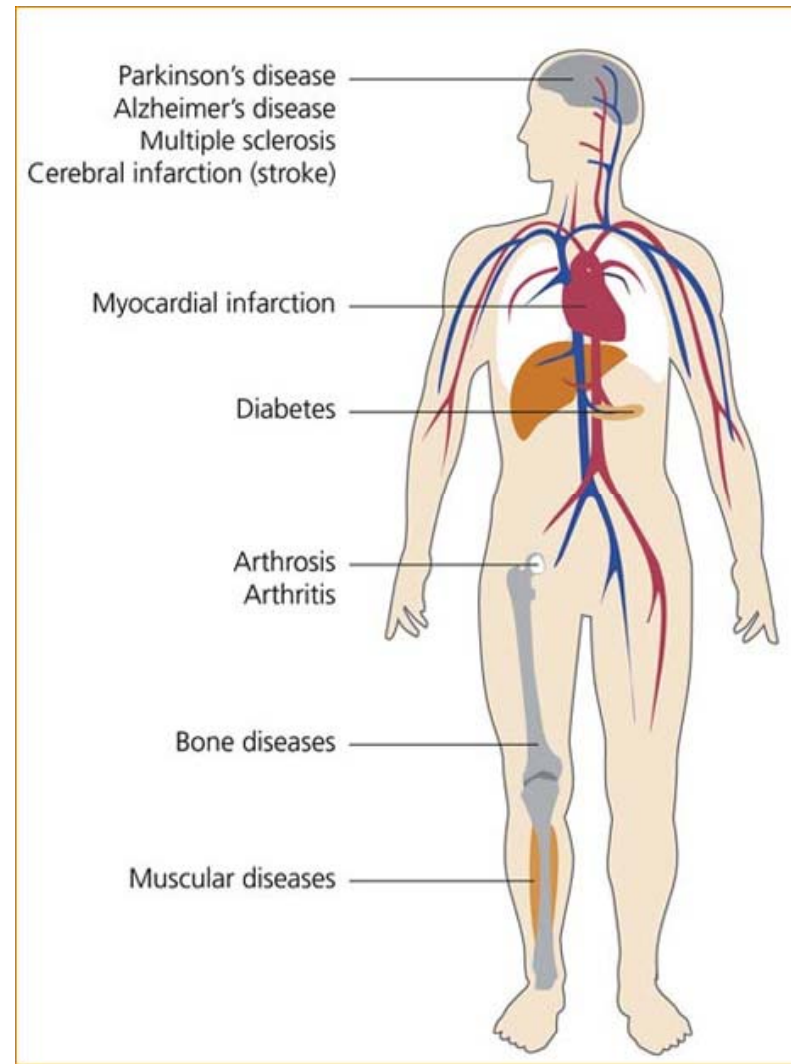
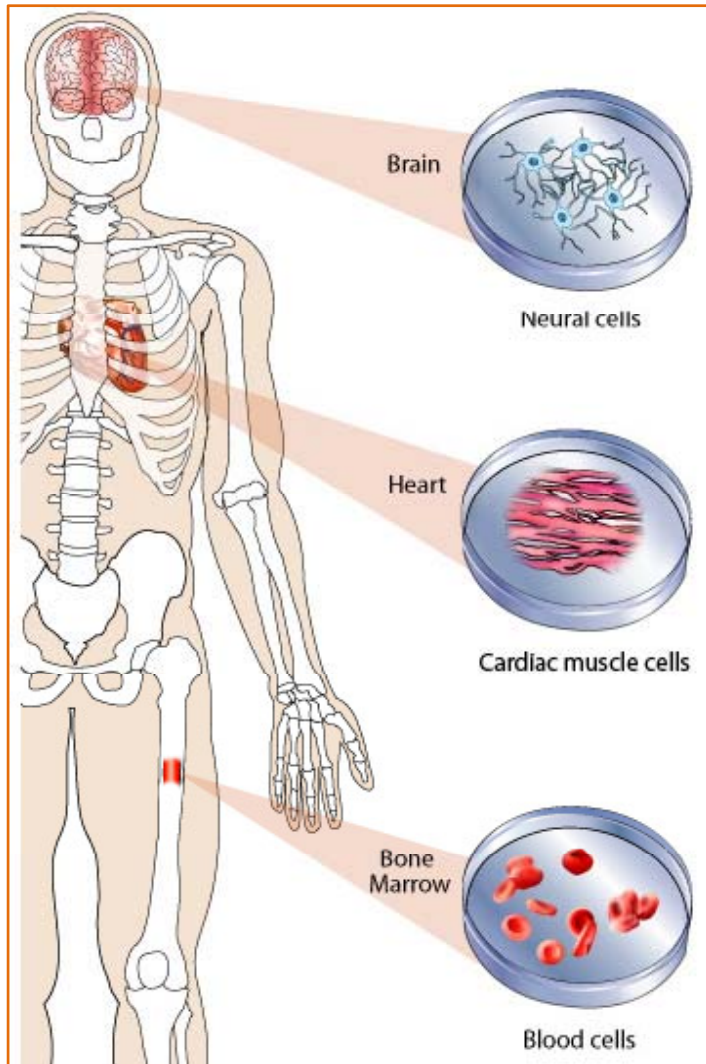


Liz Gould, 1999  
Επαλήθευση  
[Πολεμήθηκε κι αυτή...]



Rakic, 1999  
Αποδοχή  
[Ανατροπή δόγματος]

# Ενήλικα βλαστοκύτταρα



# Slowly dividing neural progenitors are an embryonic origin of adult neural stem cells

Shohei Furutachi<sup>1</sup>, Hiroaki Miya<sup>1</sup>, Tomoyuki Watanabe<sup>1</sup>, Hiroki Kawai<sup>1</sup>, Norihiko Yamasaki<sup>1</sup>, Yujin Harada<sup>1</sup>, Itaru Imayoshi<sup>2</sup>, Mark Nelson<sup>3</sup>, Keiichi I Nakayama<sup>4</sup>, Yusuke Hirabayashi<sup>1,5</sup> & Yukiko Gotoh<sup>1</sup>

Received 11 January; accepted 5 March; published online 30 March 2015

# Βλαστοκύτταρα στον ενήλικο εγκέφαλο

## Ποιος ο ρόλος τους;



- Αργός μεταβολισμός
- Η επιβίωση βασίζεται στο **ένστικτο**
- **ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ**



- Γρήγορος μεταβολισμός
- Η επιβίωση βασίζεται στη **γνώση**
- **ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ**

## Λεπτή ισορροπία

### Ανάγκη:

1. Αναγέννηση/επισκευή
2. Μάθηση

(Πλαστικότητα)



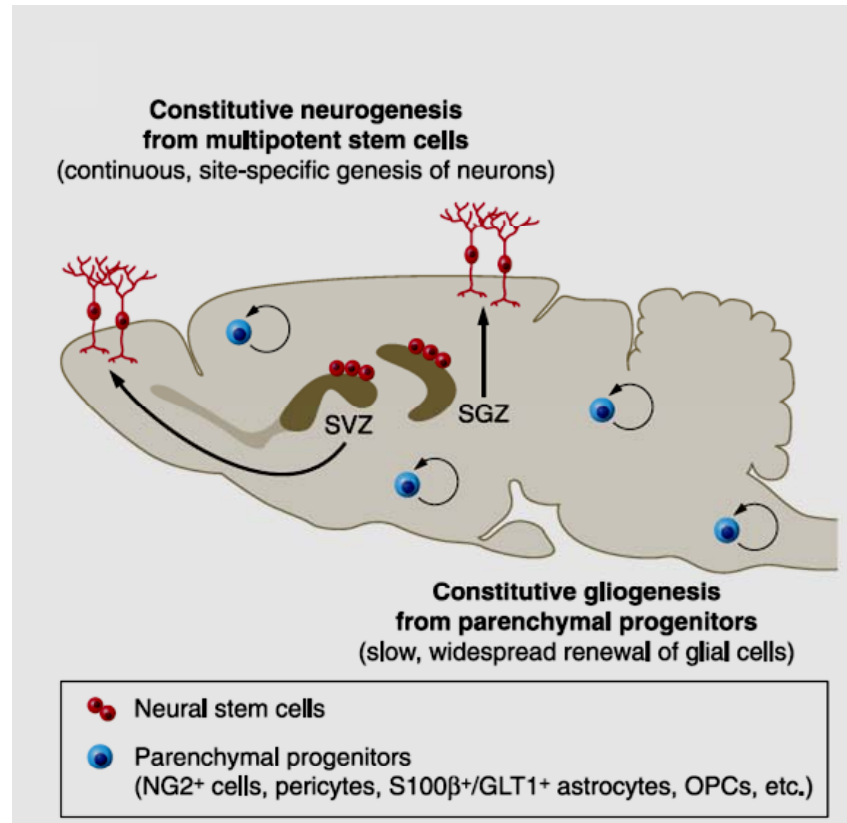
### Ανάγκη:

Αποθήκευση πληροφοριών

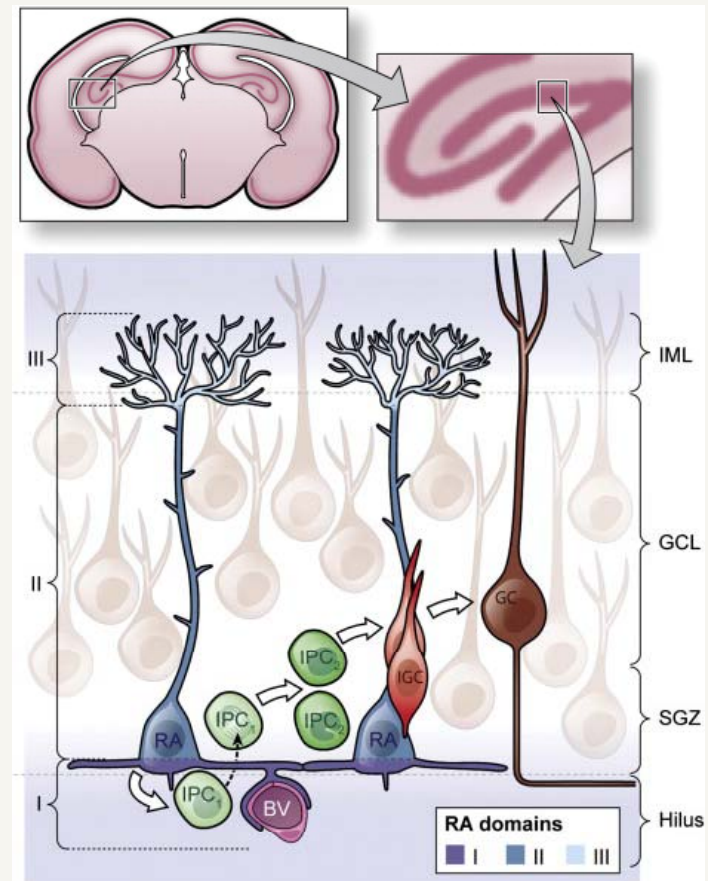
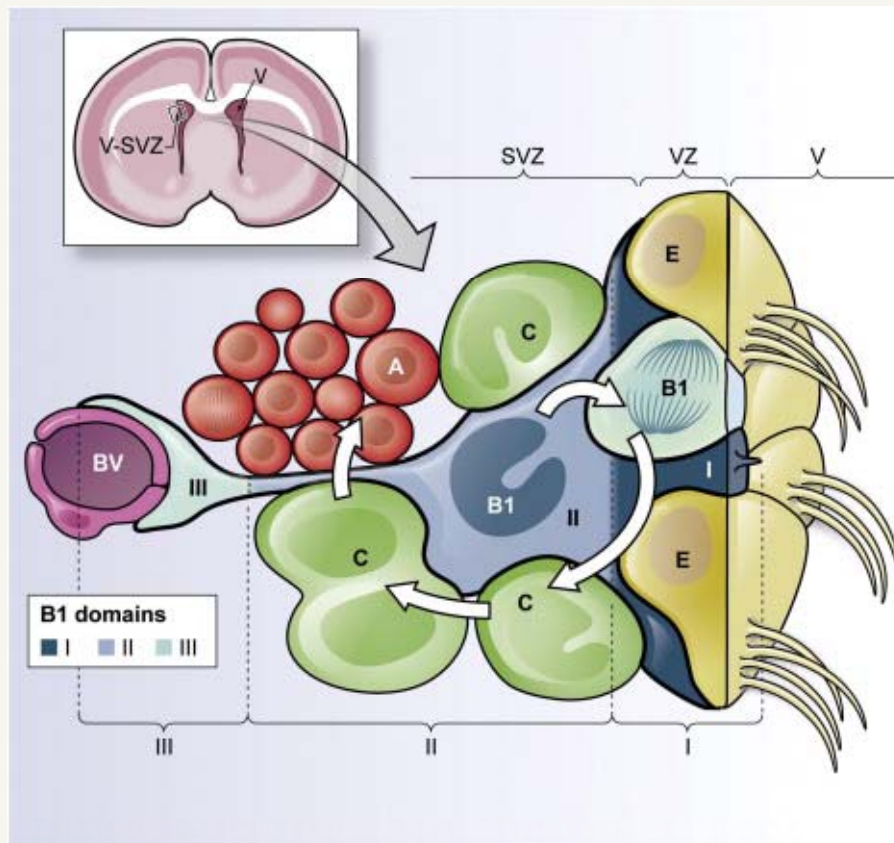
(Ακαμψία)



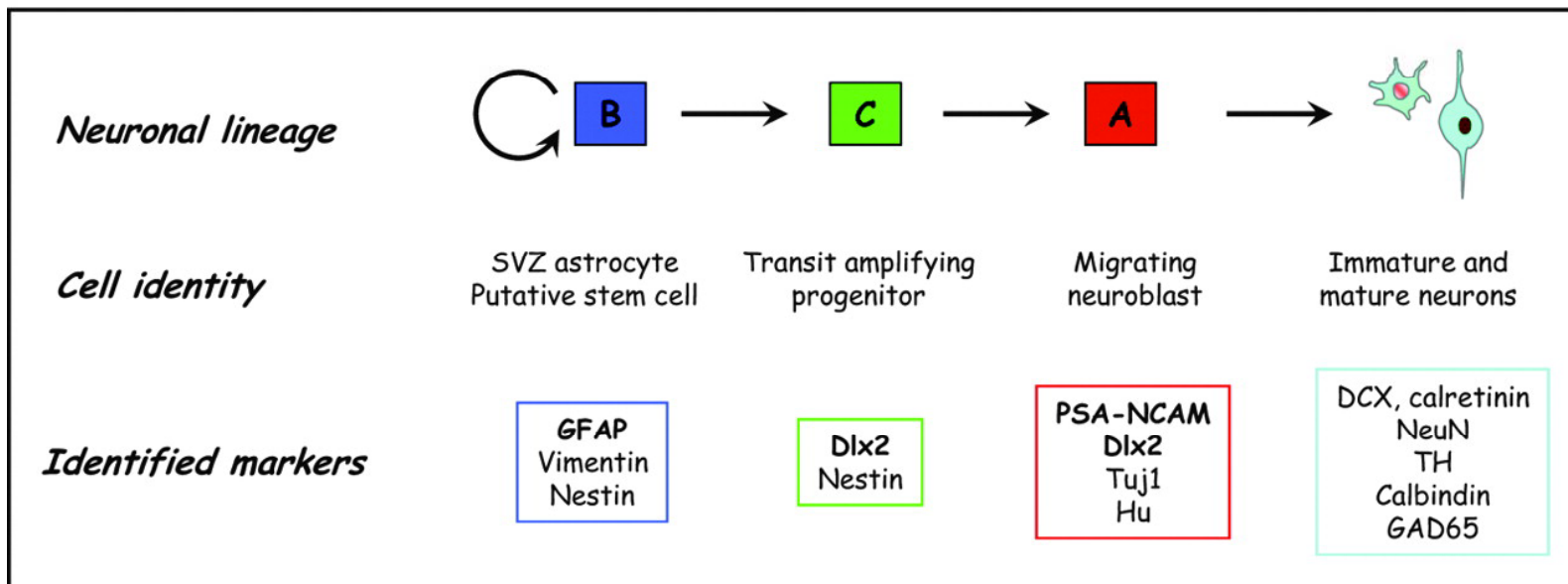
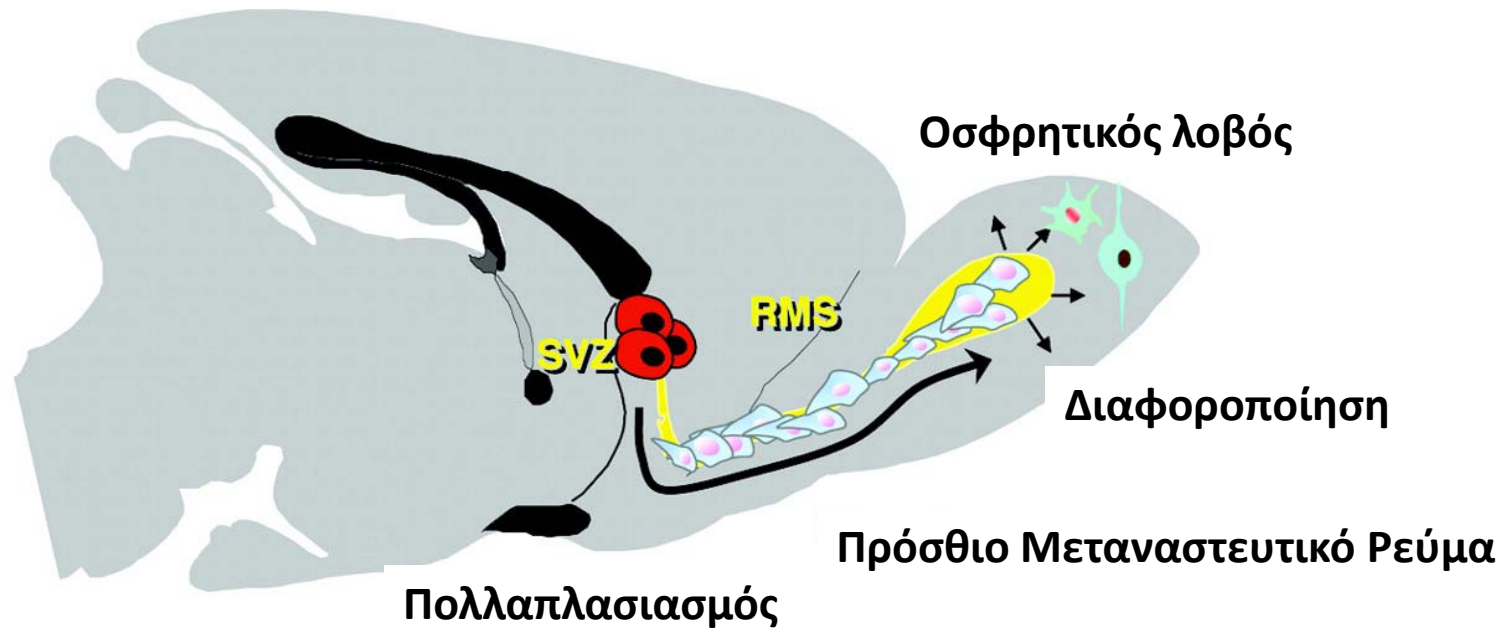
# Νέοι νευρώνες γεννιούνται κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής σε δύο περιοχές του εγκεφάλου

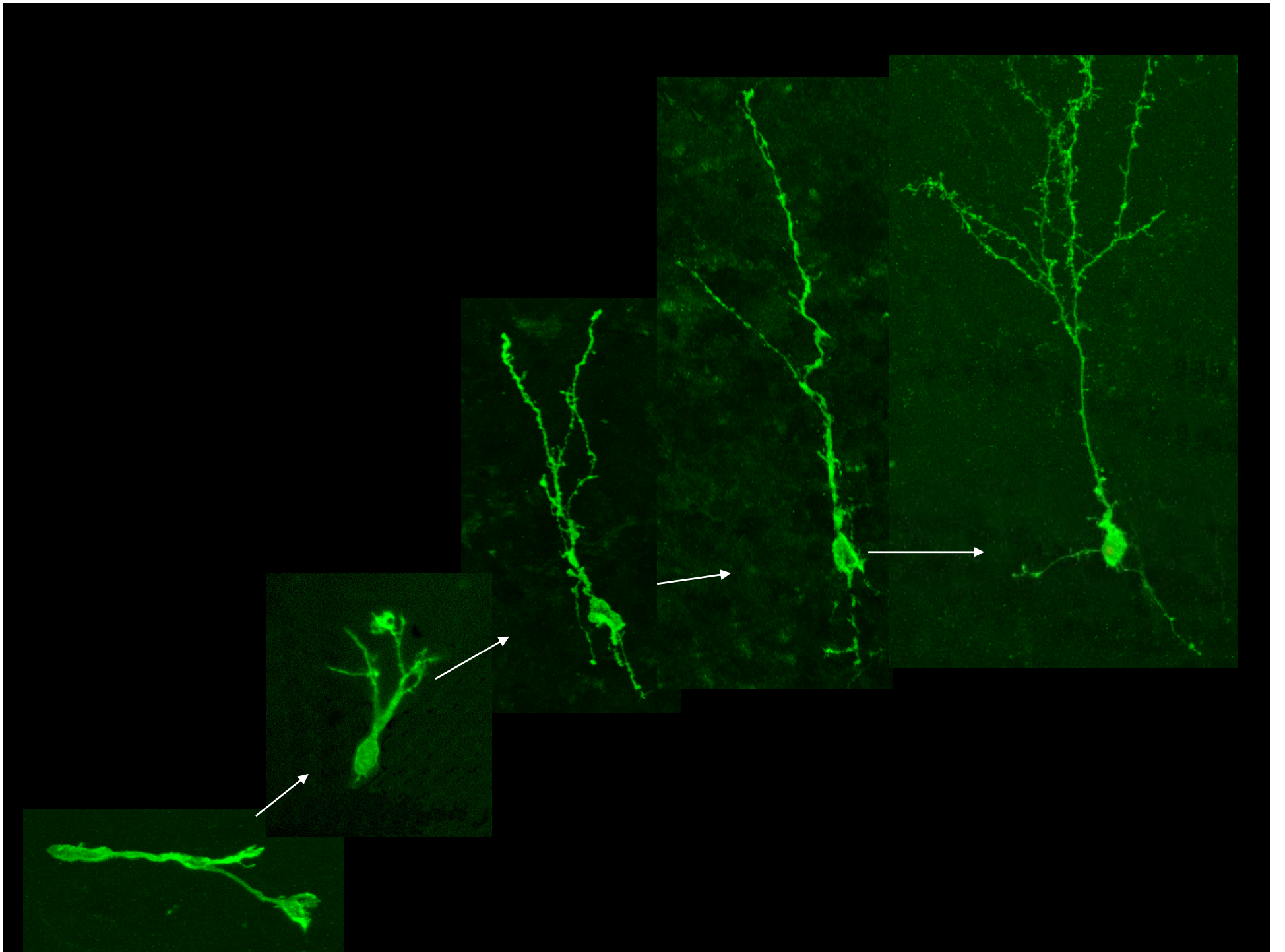


Οι νέοι νευρώνες γενιούνται στον ενήλικο εγκέφαλο από ενδογενή νευρικά βλαστοκύτταρα που βρίσκονται σε δύο περιοχές: **στην υποκοιλιακή ζώνη και τον ιππόκαμπο**



# Νευρογένεση στην υποκοιλιακή ζώνη της πλευρικής κοιλίας



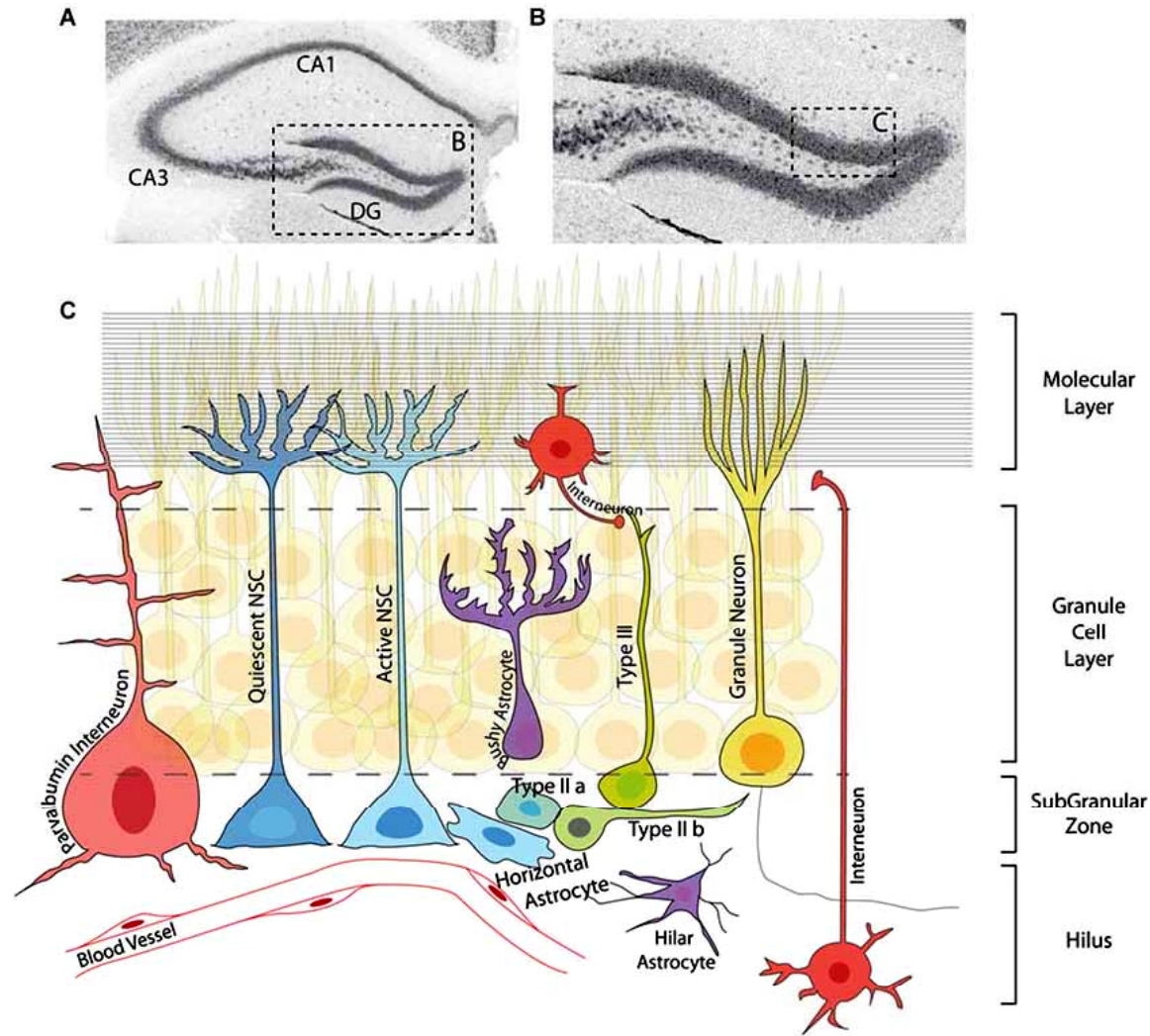


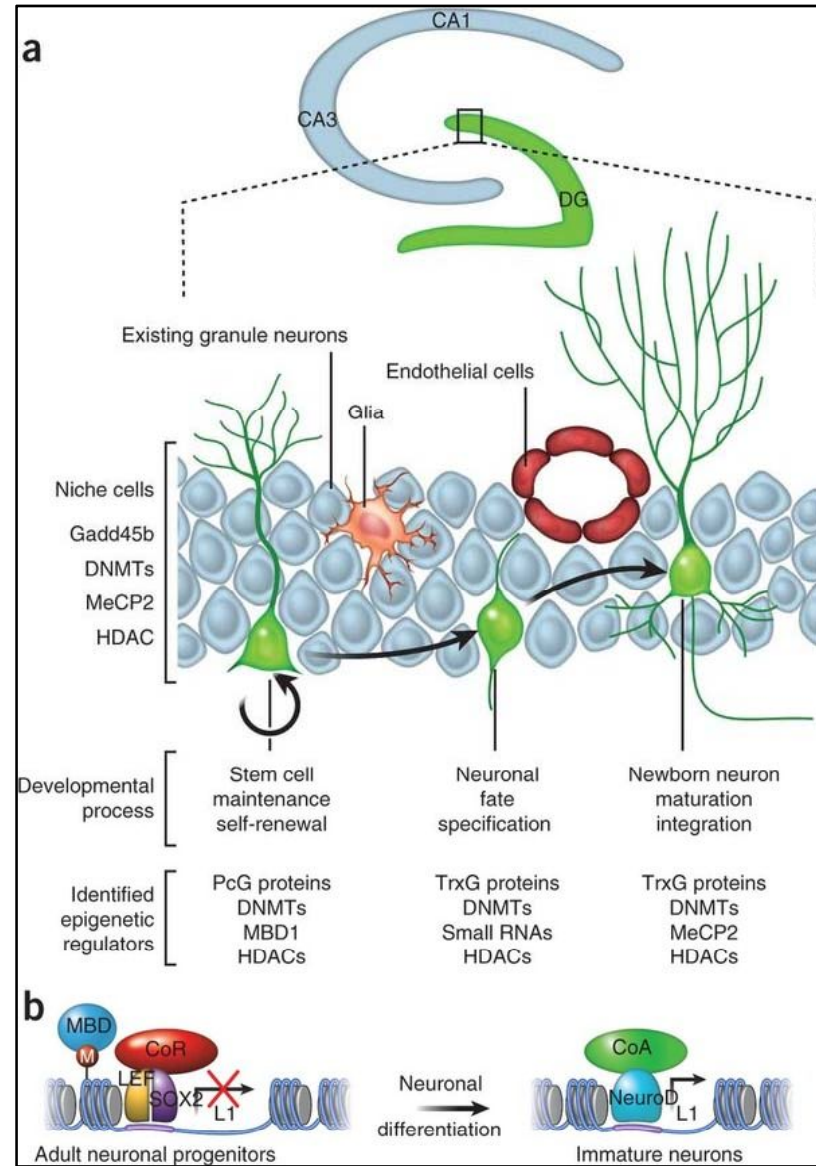
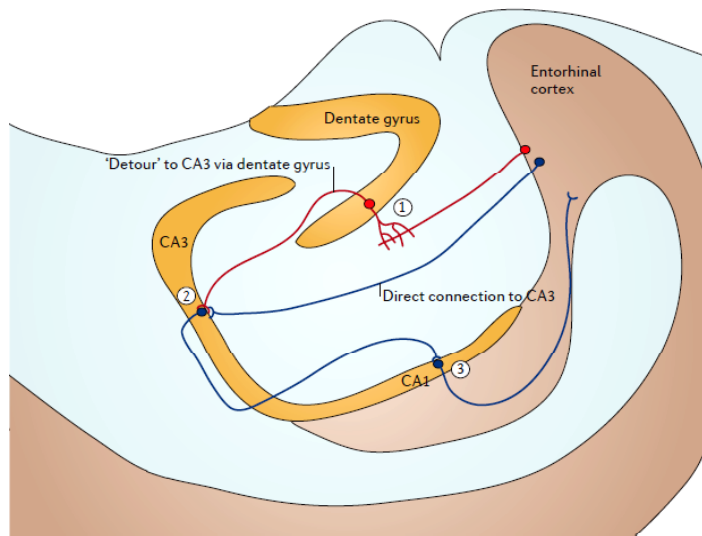
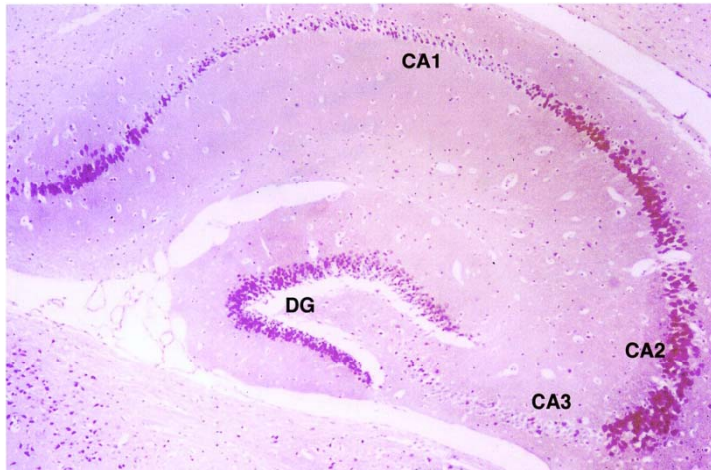
# A migratory stream in the human brain

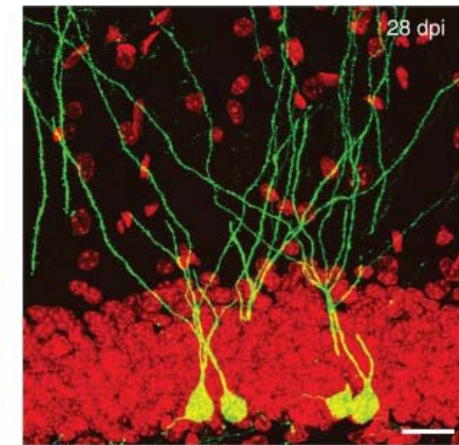
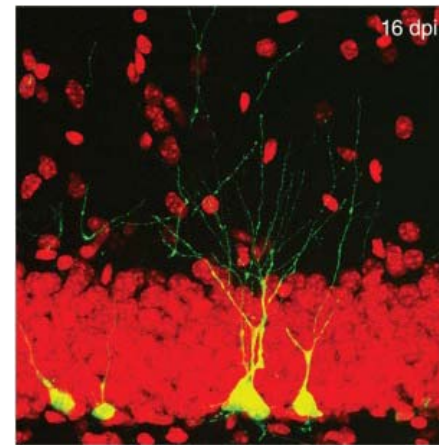
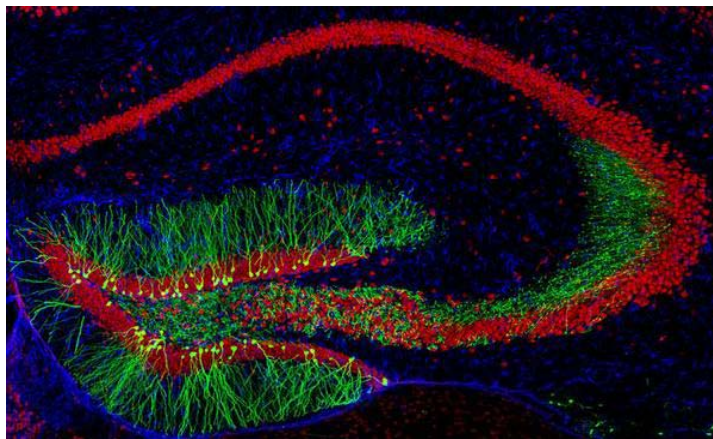
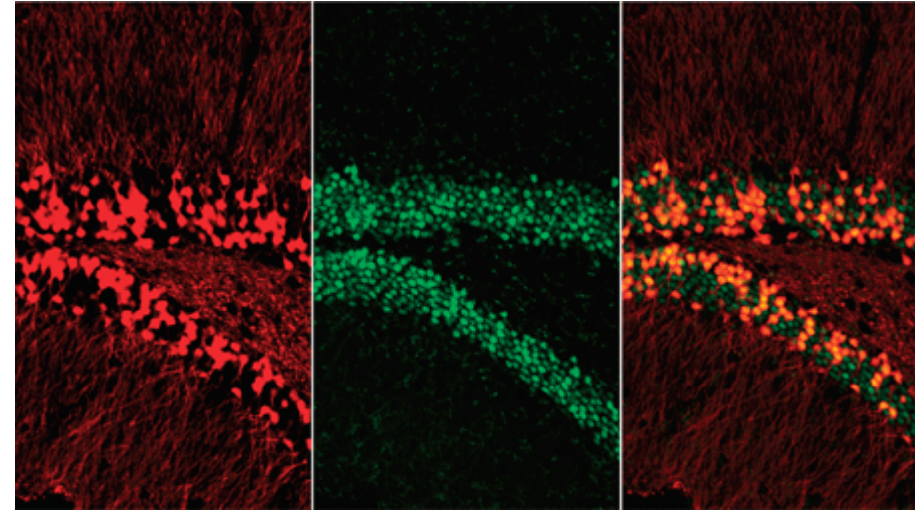
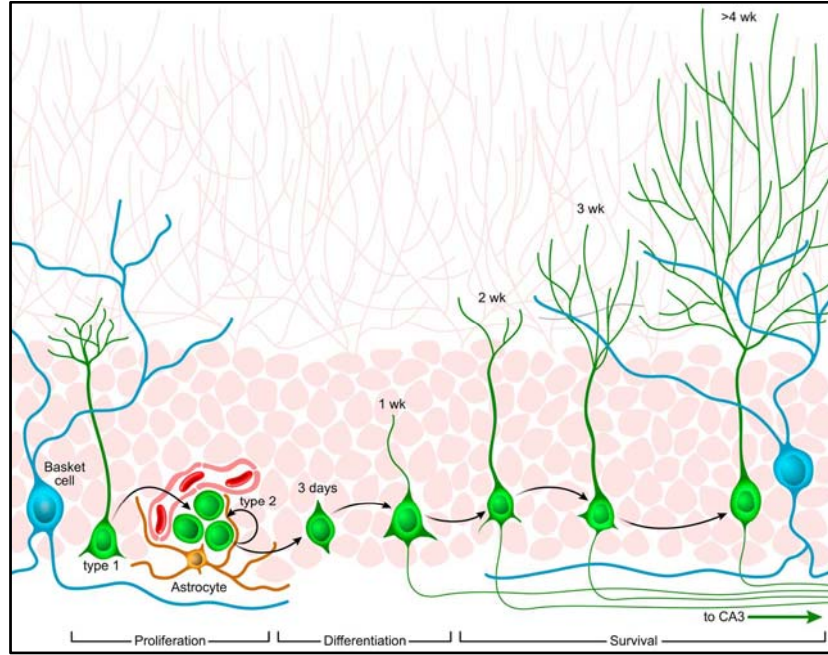


Curtis et al: Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension  
Science, 2 March 2007, 315:1243-9

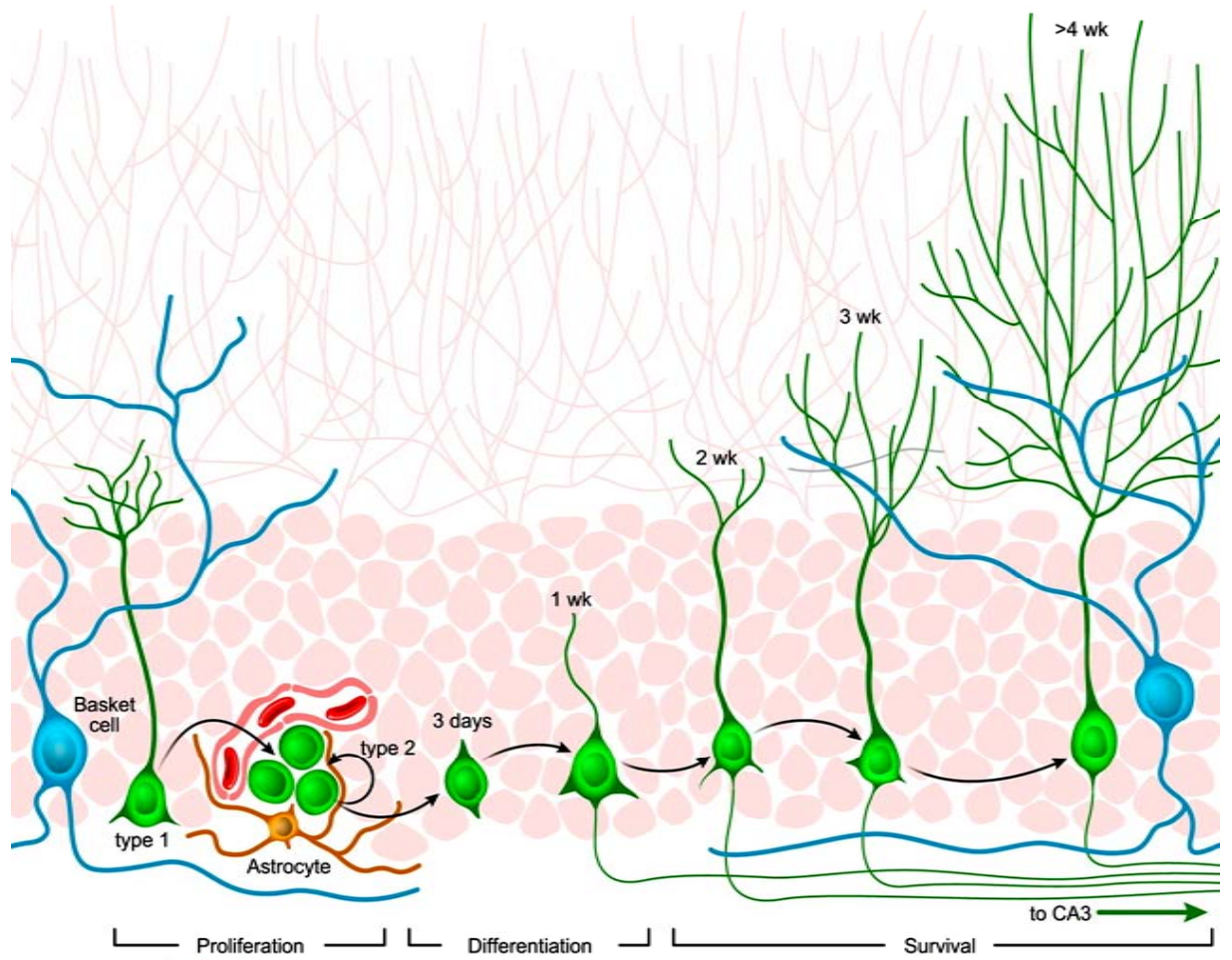
# Ενήλικη Νευρογένεση στην Οδοντωτή Έλικα του Ιπποκκάμπου









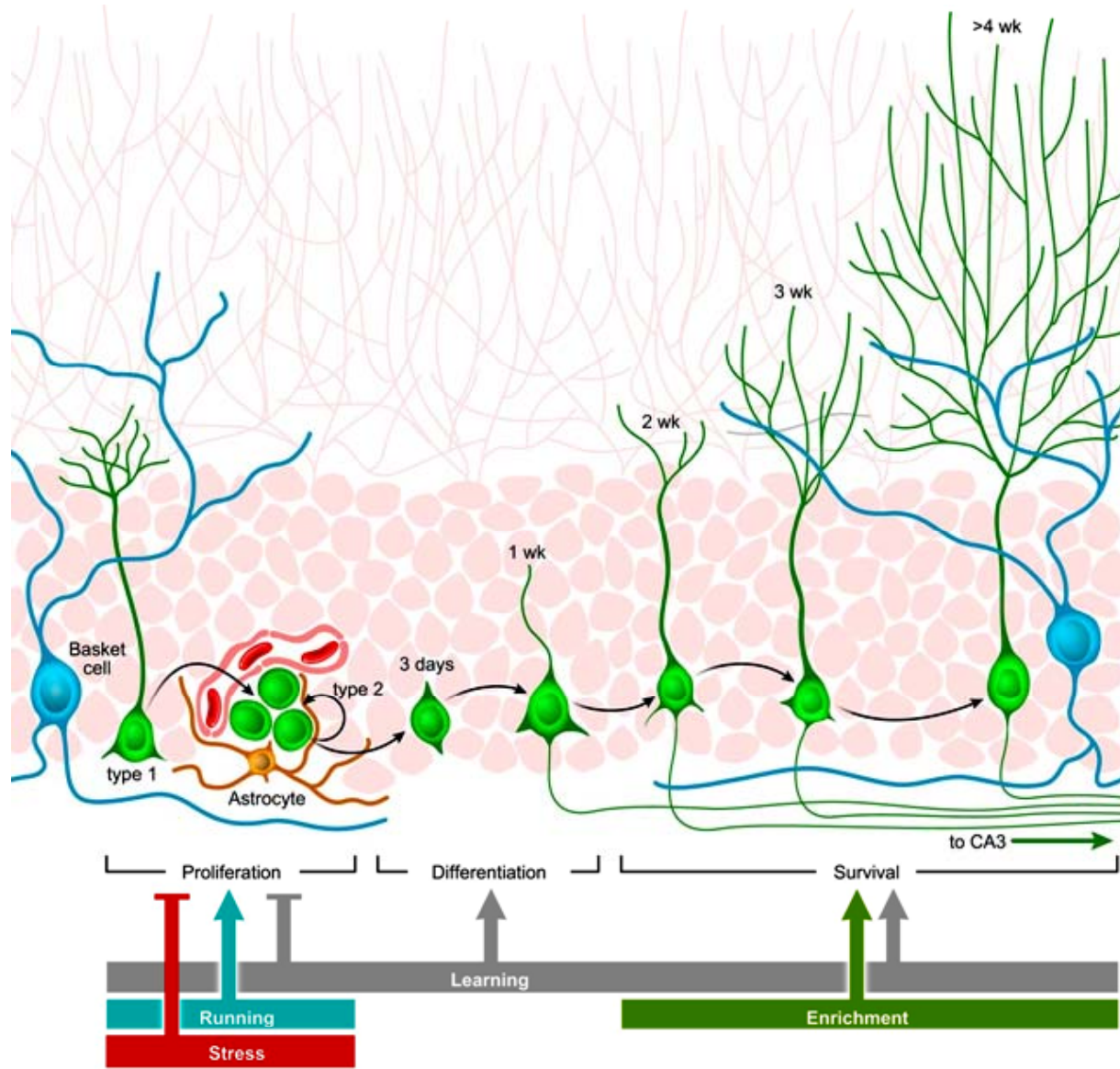


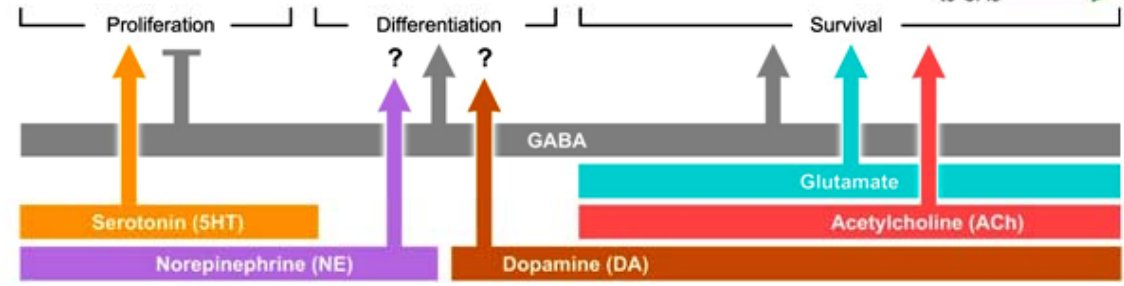
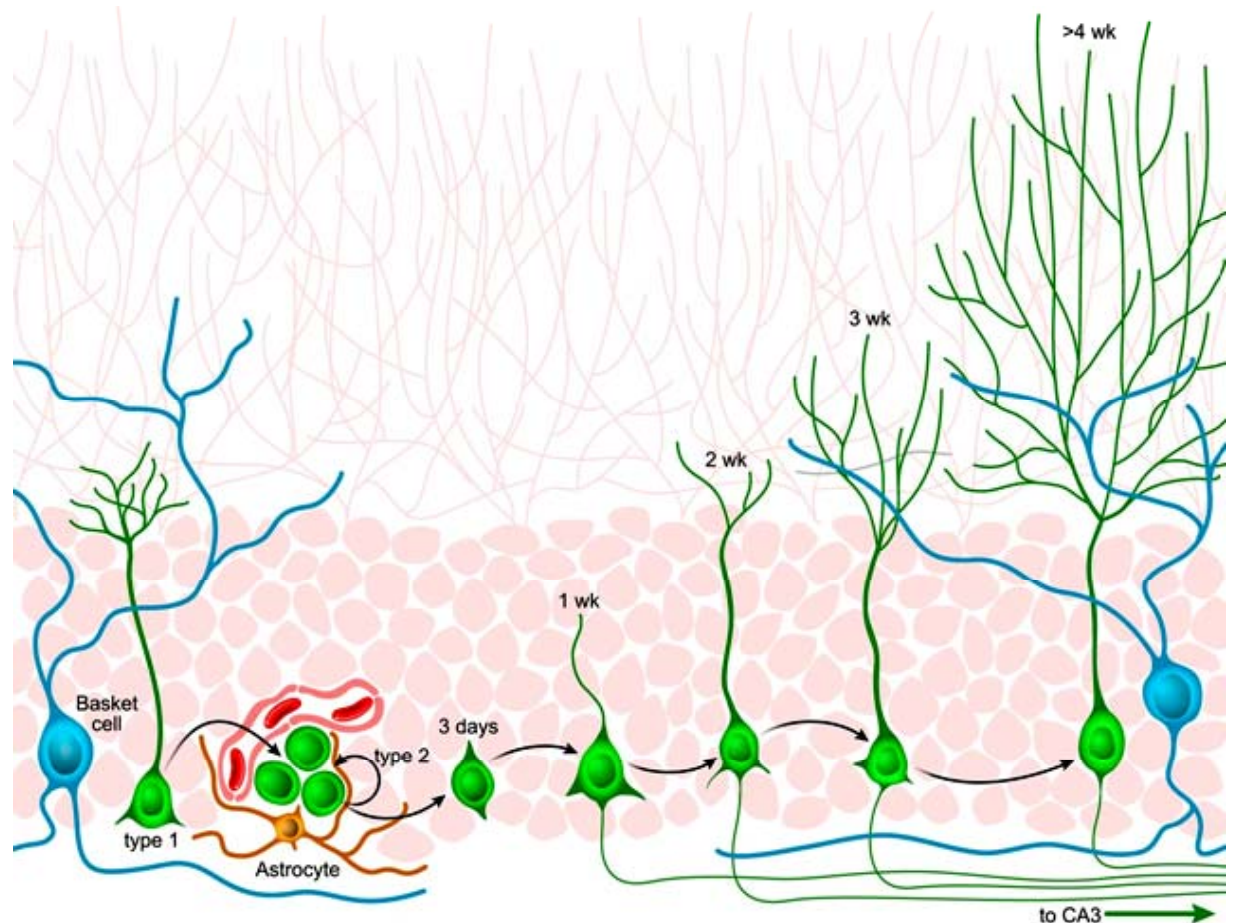
Sox2/ nestin

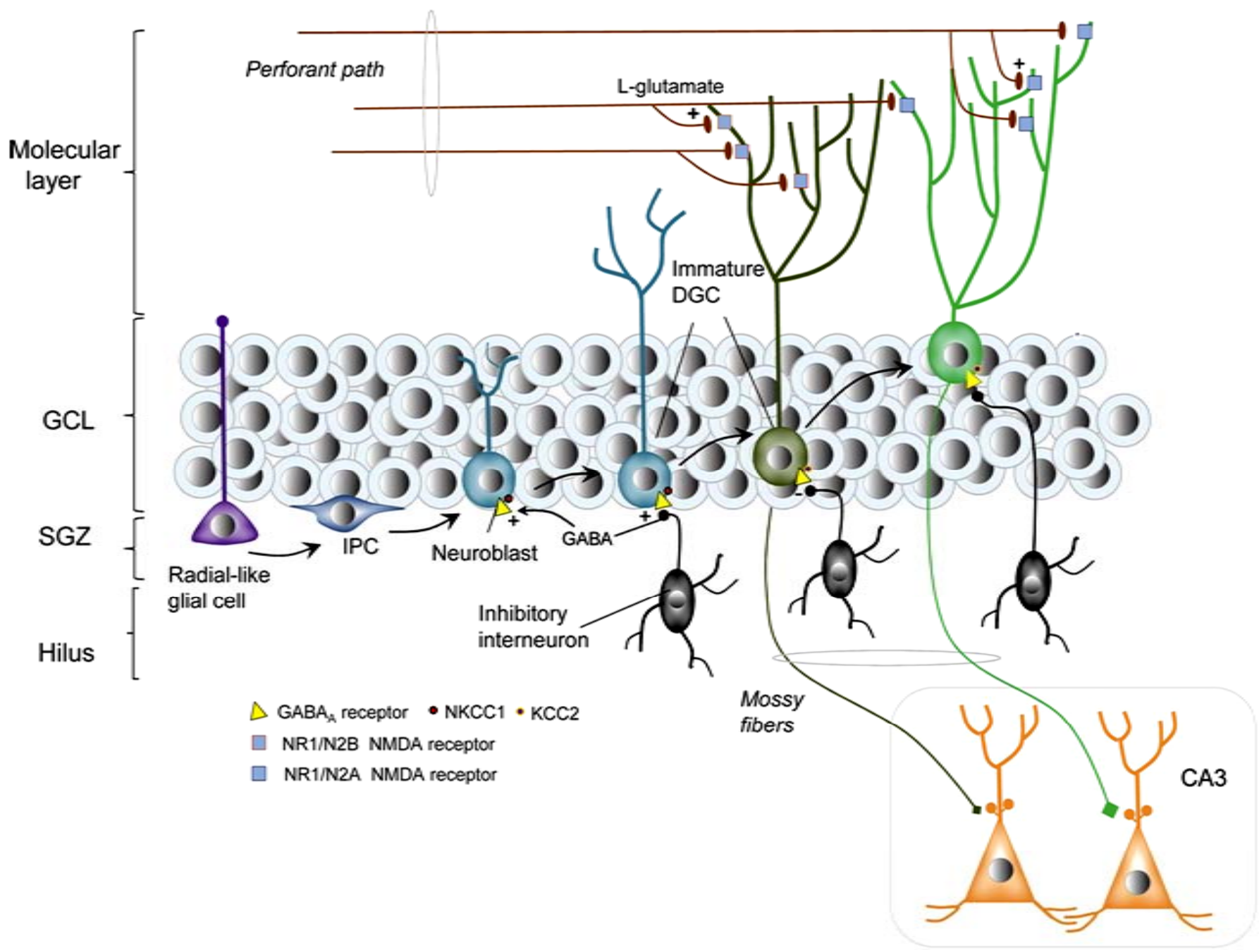
Prox1/ NeuN

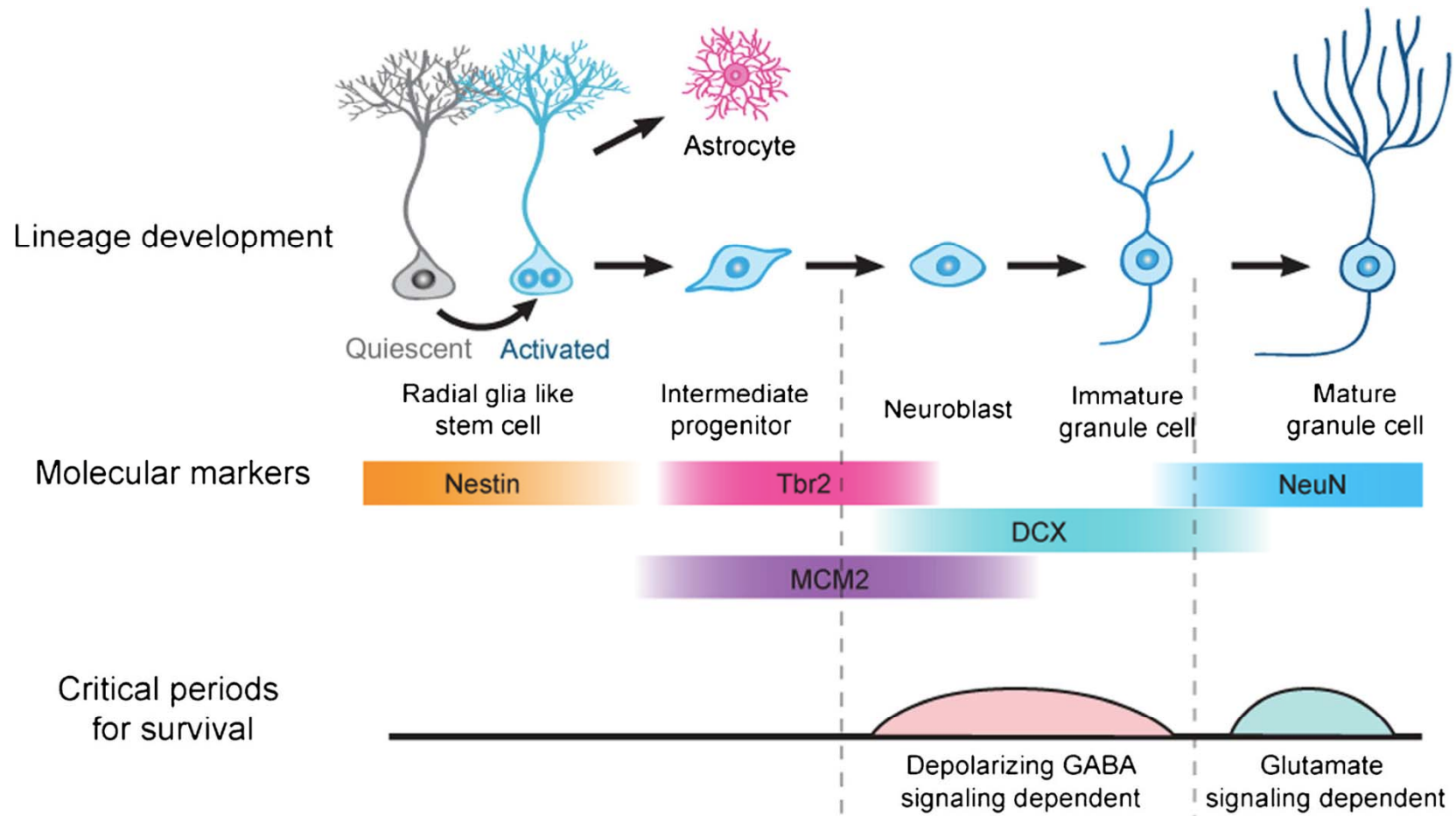
GFAP

Doublecortin DCX







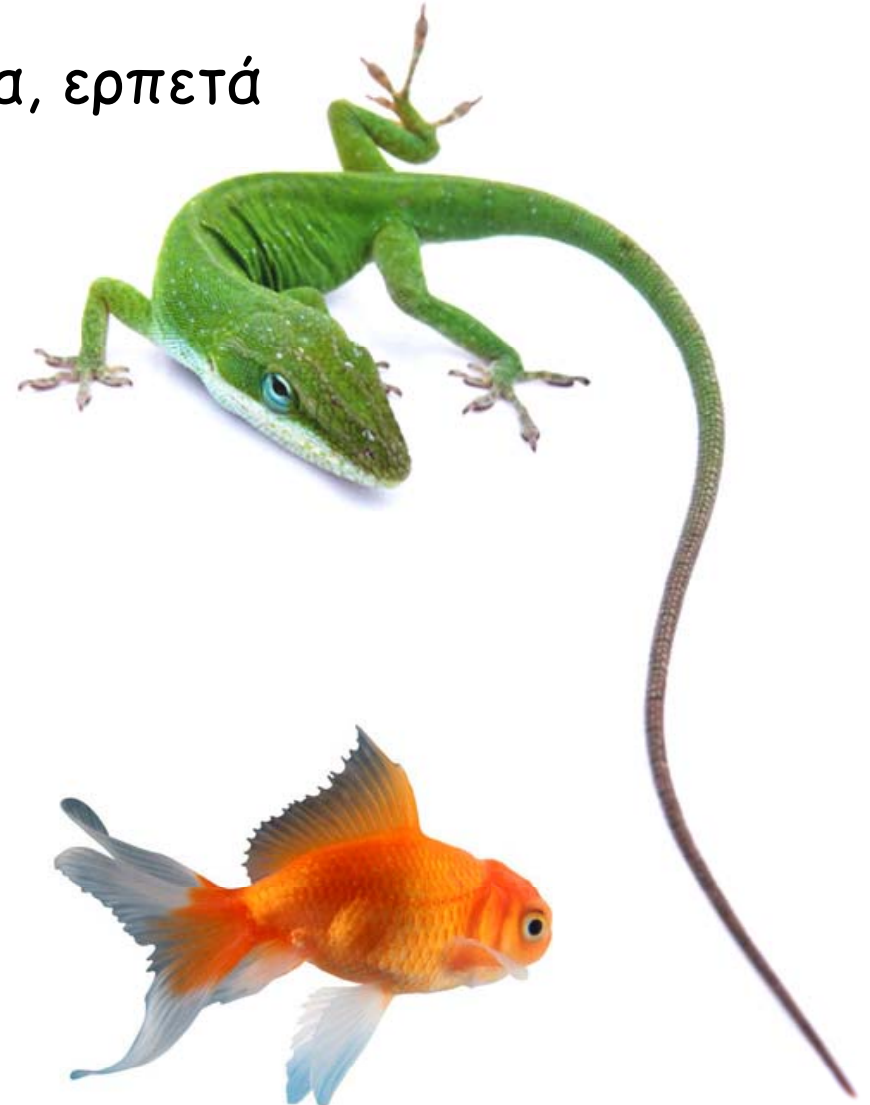




Ποιά η σημασία των ενήλικων νευρικών βλαστικών κυττάρων και της ενήλικης νευρογένεσης;

- ✓ Συνεισφέρει στην πλαστικότητα του ενήλικου εγκεφάλου και του επιτρέπει να ανταποκρίνεται σε ερεθίσματα που προέρχονται από ένα συνεχώς μεταβαλλόμενο περιβάλλον (Μάθηση – Μνήμη)
- ✓ Μειώνεται με την αύξηση της ηλικίας
- ✓ Επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες (στρες, ασθένεια, τραύμα, φάρμακα π.χ. αντικαταθλιπτικά, φυσική άσκηση, διαβίωση σε εμπλουτισμένο περιβάλλον)
- ✓ Δίνει προοπτικές για την ανάπτυξη θεραπειών για νευροεκφυλιστικές ασθένειες και τραύματα

# Αμφίβια, ψάρια, ερπετά





Ο τραυματισμός του εγκεφάλου οδηγεί σε μη αντιστρεπτή απώλεια της λειτουργίας στα θηλαστικά



Αυτό οφείλεται κυρίως στο εχθρικό για την αναγέννηση περιβάλλον που διαμορφώνεται μετά από τραυματισμό/εκφυλιστική νόσο.

# Νευροεκφυλιστικές νόσοι Εγκεφαλικό τραύμα/ τραύμα νωτιαίου μυελού

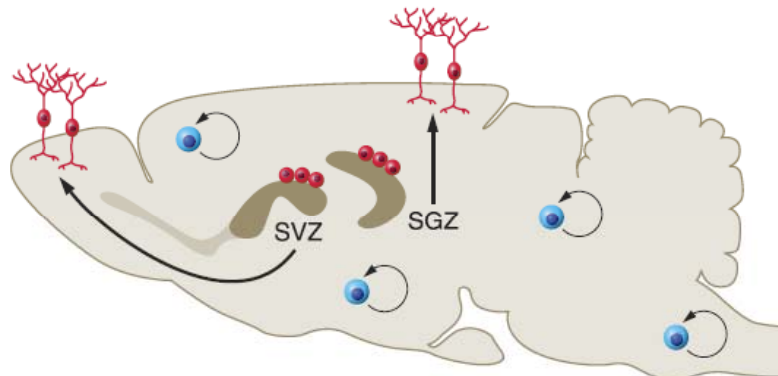
## Προοπτικές για νέες θεραπείες

- Ενεργοποίηση των ενδογενών βλαστοκυττάρων
- Κυτταρική μεταμόσχευση κατάλληλων κυτταρικών πληθυσμών

# I. Ενεργοποίηση των ενδογενών βλαστοκυττάρων του εγκεφάλου

A

**Constitutive neurogenesis from multipotent stem cells**  
(continuous, site-specific genesis of neurons)

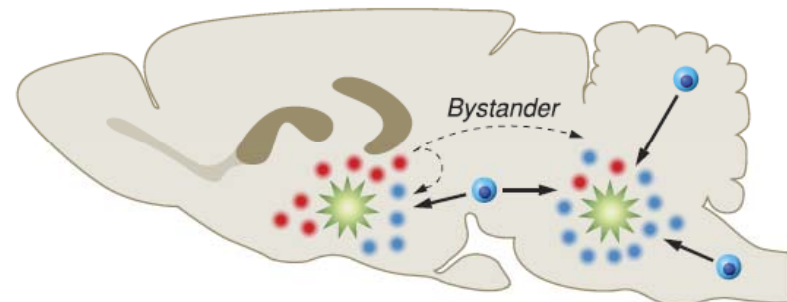


**Constitutive gliogenesis from parenchymal progenitors**  
(slow, widespread renewal of glial cells)

- Neural stem cells
- Parenchymal progenitors (NG2<sup>+</sup> cells, pericytes, S100β<sup>+</sup>/GLT1<sup>+</sup> astrocytes, OPCs, etc.)

B

 Inflammatory/degenerative brain damage

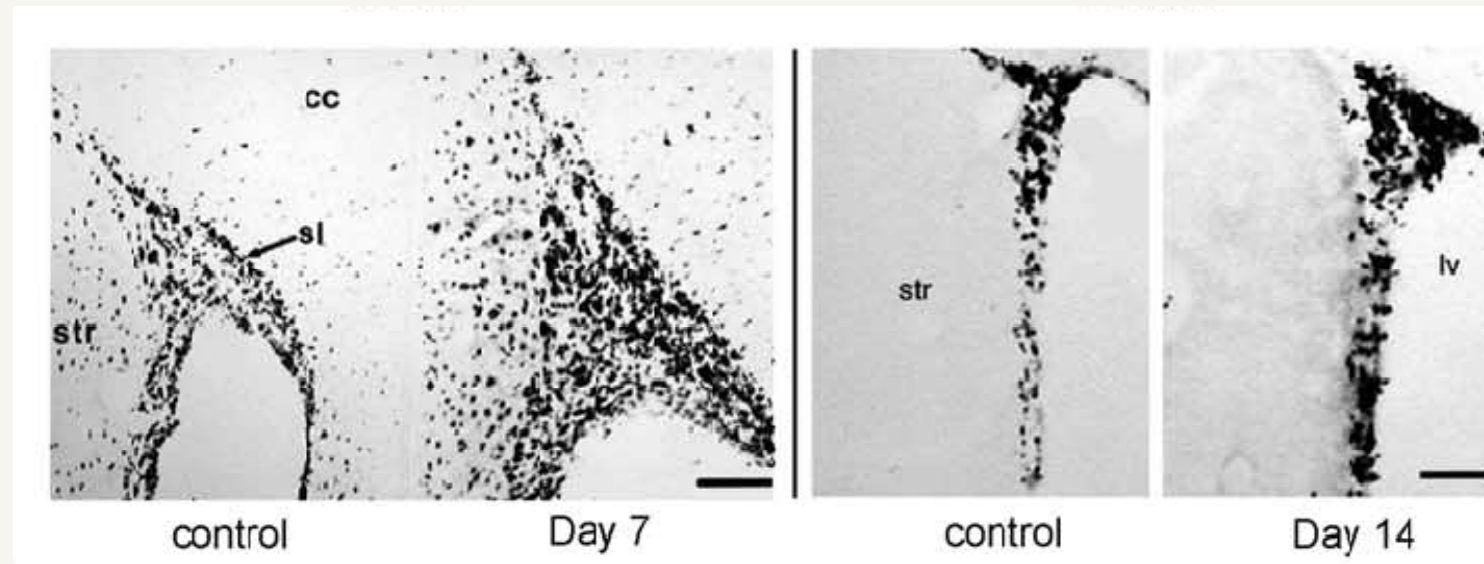


**Reactive neurogenesis from multipotent stem cells**

**Reactive gliogenesis from parenchymal progenitors**

*Bystander*

Αύξηση του πληθυσμού των ενήλικων νευρικών βλαστοκυττάρων  
και της νευρογένεσης μετά από τραύμα

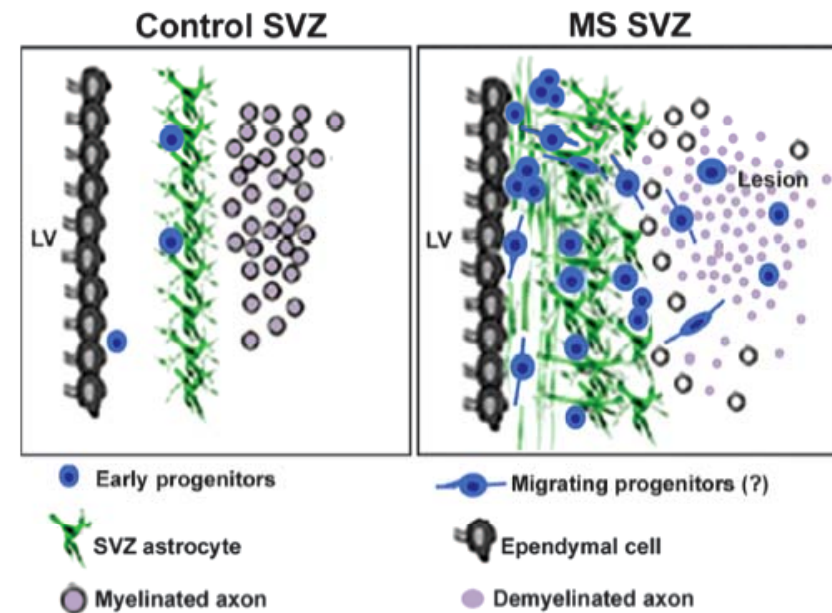
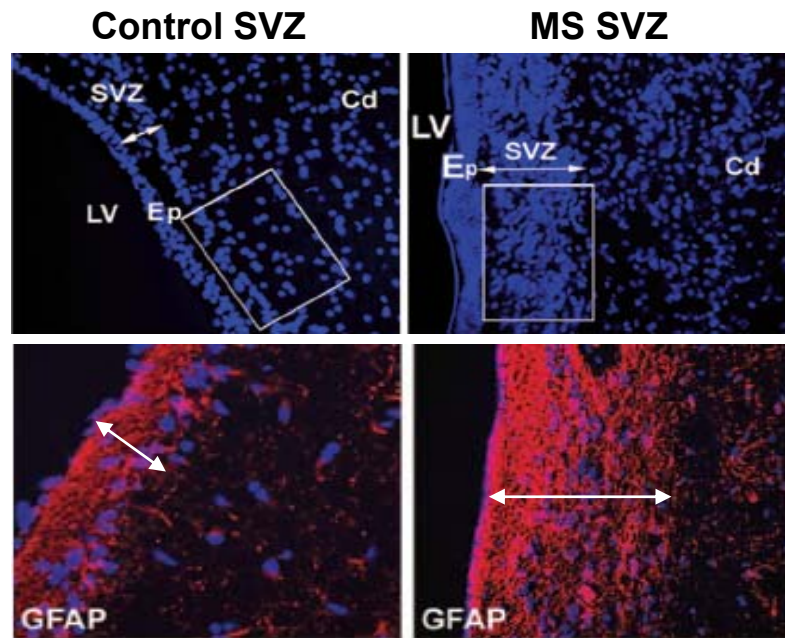


πχ ισχαιμικό επεισόδιο

# Activation of the subventricular zone in multiple sclerosis: Evidence for early glial progenitors

Brahim Nait-Oumesmar<sup>\*†‡</sup>, Nathalie Picard-Riera<sup>\*†</sup>, Christophe Kerninon<sup>\*†‡</sup>, Laurence Decker<sup>\*†</sup>, Danielle Seilhean<sup>\*†‡</sup>, Günter U. Höglinger<sup>†§</sup>, Etienne C. Hirsch<sup>†§</sup>, Richard Reynolds<sup>¶</sup>, and Anne Baron-Van Evercooren<sup>\*†‡||</sup>

4694–4699 | PNAS | March 13, 2007 | vol. 104 | no. 11



## Στρατηγικές για την κινητοποίηση των ενδογενών βλαστοκυττάρων του ενήλικου εγκεφάλου

- ✓ Γενετική τροποποίηση για την επαγωγή/καταστολή της έκφρασης μεταγραφικών παραγόντων
- ✓ Γονιδιακή μεταφορά με τη βοήθεια ανασυνδυασμένων ιϊκών φορέων, για την έκφραση εξωγενών γονιδίων
- ✓ Απενεργοποίηση γονιδίων με την τεχνολογία siRNA

## II. Μεταμόσχευση κατάλληλων κυτταρικών πληθυσμών

# Κυτταρική μεταμόσχευση

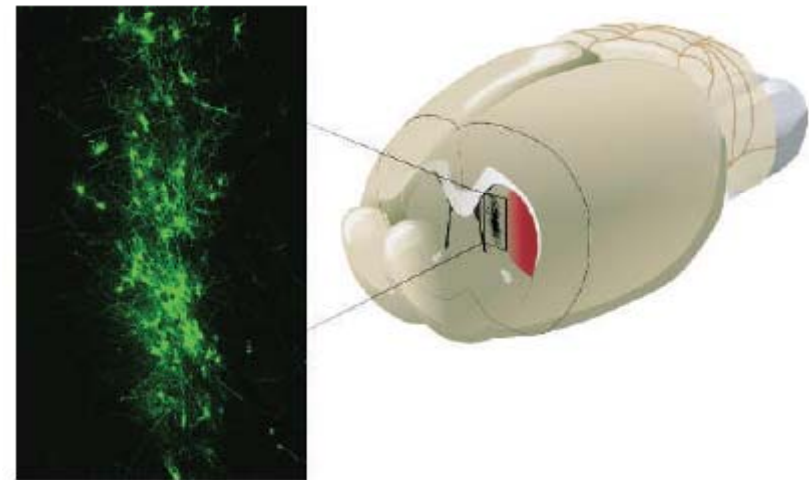
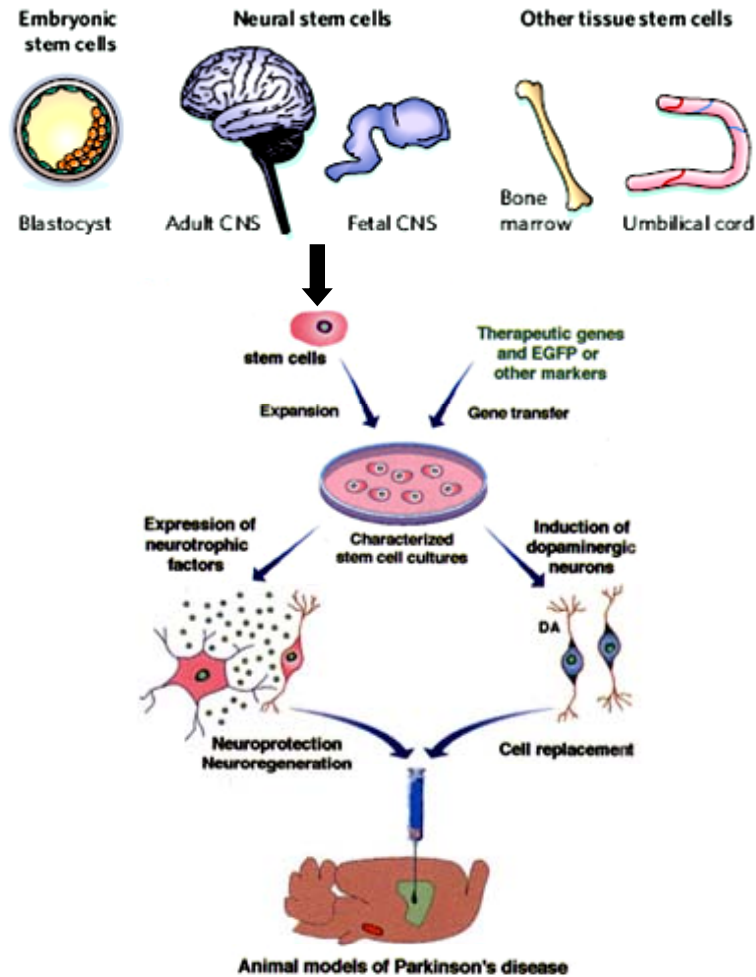
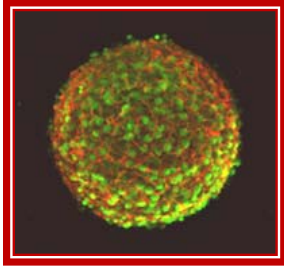


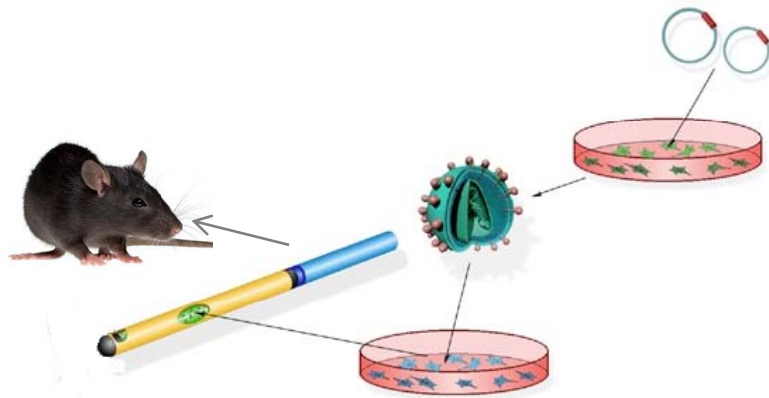
Figure 2 | Transplantation of stem cells into injured brain. Human fetal NS cells labelled with green fluorescent protein survive for at least 1 month and differentiate into cells morphologically resembling neurons after grafting in close proximity to the stroke-damaged rat striatum (red area).





# Γενετικά τροποποιημένα Κύτταρα

Εκ vivo γονιδιακή θεραπεία



Θεραπευτικά γονίδια:

1. Νευροτροφικοί παράγοντες, όπως NGF, BDNF, GDNF, NT3, CNTF, **IGF-I**
2. Έκφραση μορίων κυτταρικής συνάφειας, όπως **PSA-NCAM, L1**
3. Έκφραση μορίων που καθορίζουν τη νευρωνική ή γλοιακή γενεαλογία

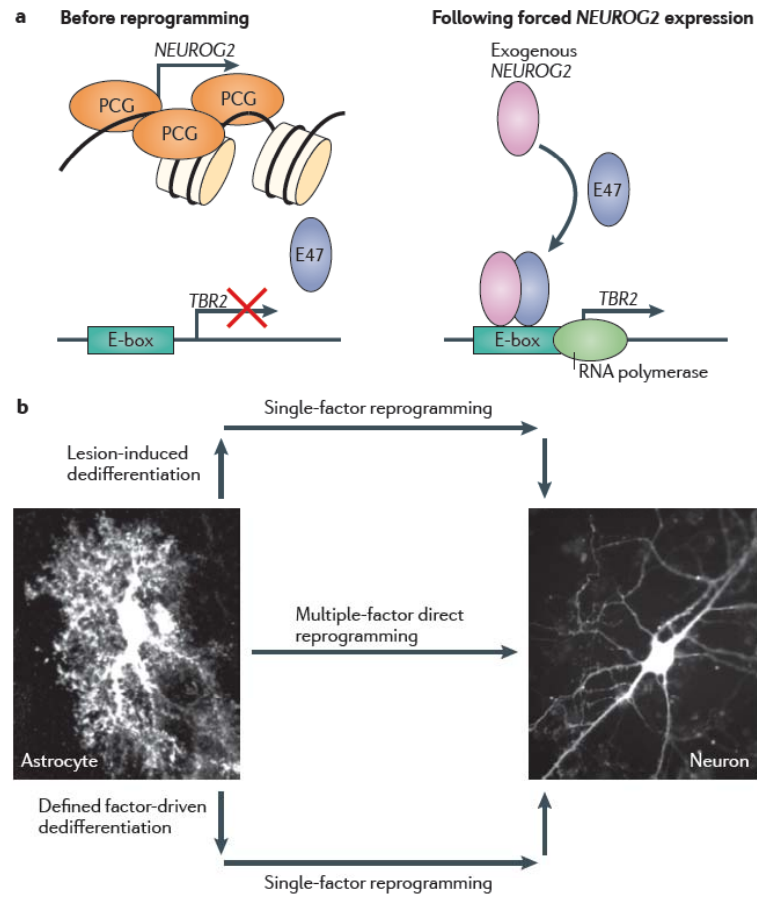
## Ερωτήματα που προκύπτουν μετά την κυτταρική μεταμόσχευση:

- Τι απογίνονται τα μεταμοσχευμένα κύτταρα (επιβίωση, μετανάστευση, διαφοροποίηση, ενσωμάτωση και συνδεσμολογία);
- Πώς αντιδρά ο δέκτης στη μεταμόσχευση?
- Τί όφελος έχει ο δέκτης (από λειτουργική και ανατομική άποψη);
- Μπορούμε να μεταφέρουμε τα αποτελέσματα από τα πειραματόζωα στον άνθρωπο;
- Δοκιμές σε πρωτεύοντα;

## Στόχοι:

- Νευροπροστασία
- Μείωση της αστρογλοΐωσης
- Ενεργοποίηση ενδογενών μηχανισμών επιδιόρθωσης
- Ενεργοποίηση ενδογενών προγονικών κυττάρων
- Αναγέννηση των νευρικών αξόνων και επαναμυελίνωση
- Λειτουργική ανάκαμψη

- In vivo κυτταρικός επαναπρογραμματισμός

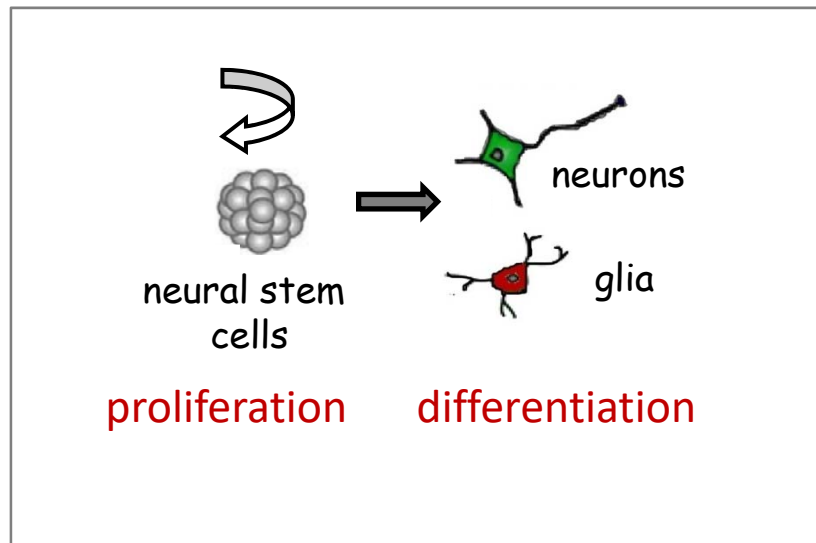


## Μελέτες του Εργαστηρίου

- Βιολογία των νευρικών βλαστικών κυττάρων
- Κυτταρικές θεραπείες για νευροεκφυλιστικά νοσήματα και τραύματα του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού
- Κυτταρικός επαναπρογραμματισμός και μοντέλα για τη μελέτη της ανάπτυξης του εγκεφάλου και νευροεκφυλιστικών ασθενειών



# Neuronal Development: Signaling pathways in cell cycle progression/ exit and differentiation of neural stem cells



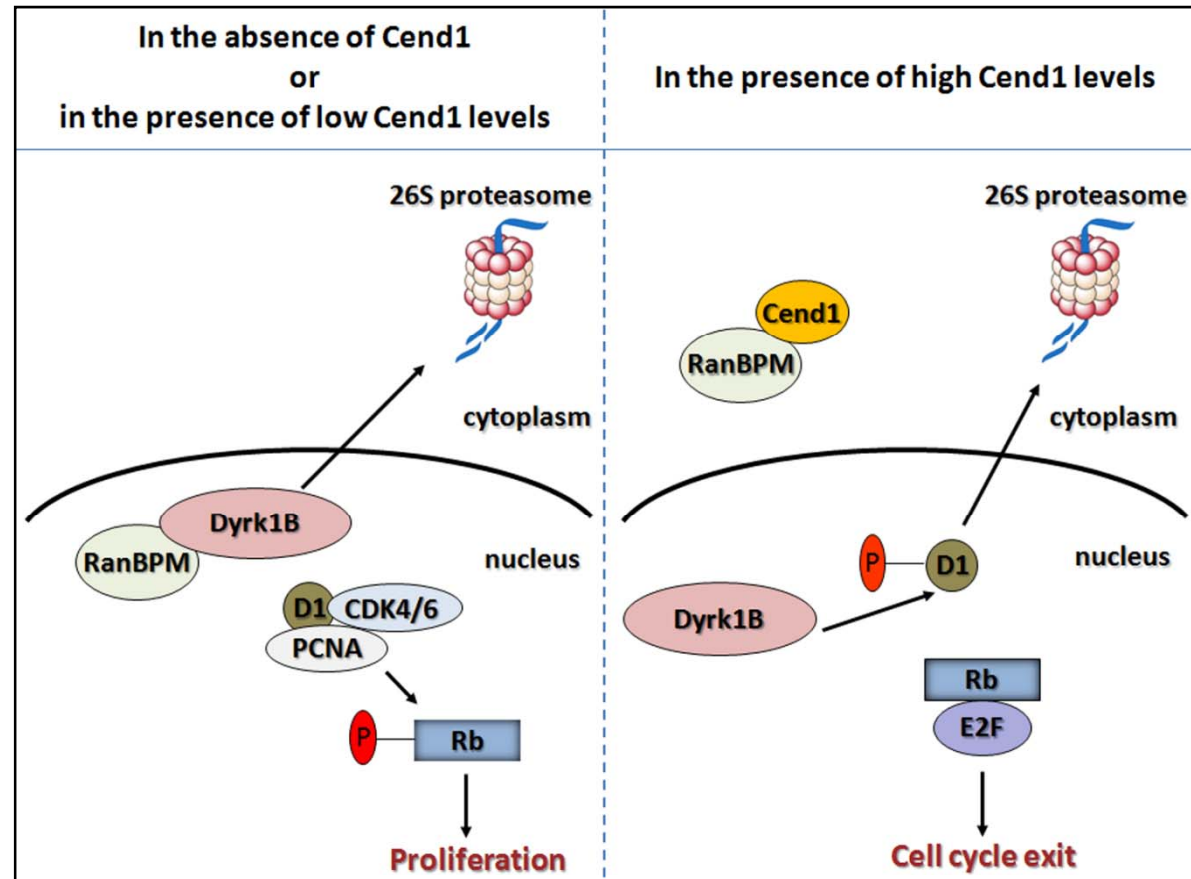
## Identification of novel pathways involving:

- cellular prion protein PrP
- insulin-like growth factor I
- Prox1, BM88/Cend1 neurogenic factors
- cyclin D1/ Dyrk 1B minibrain kinase

1. Prodromidou et al 2014 **Stem Cells** 32:1674-87.
2. Tsioras et al 2013 **PLoS One** 8(11):e82172
3. Kaltezioti , Kouroupi et al 2010 **PLOS Biology** Dec 21;8(12):e1000565
4. Kouroupi et al 2010 **J Neurochem** 115:460-74.
5. Sergaki et al 2010 **Mol Cell Neurosci** 44:15–29.
6. Katsimpardi et al 2008 **Stem Cells** 26:1796-807.
7. Politis et al 2007 **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2104 (45):17861-6.
8. Georgopoulou et al 2006 **J Biol Chem.** 281:33606-20.



# Cend1, RanBPM and minibrain kinase Dyrk1B in neural stem cells



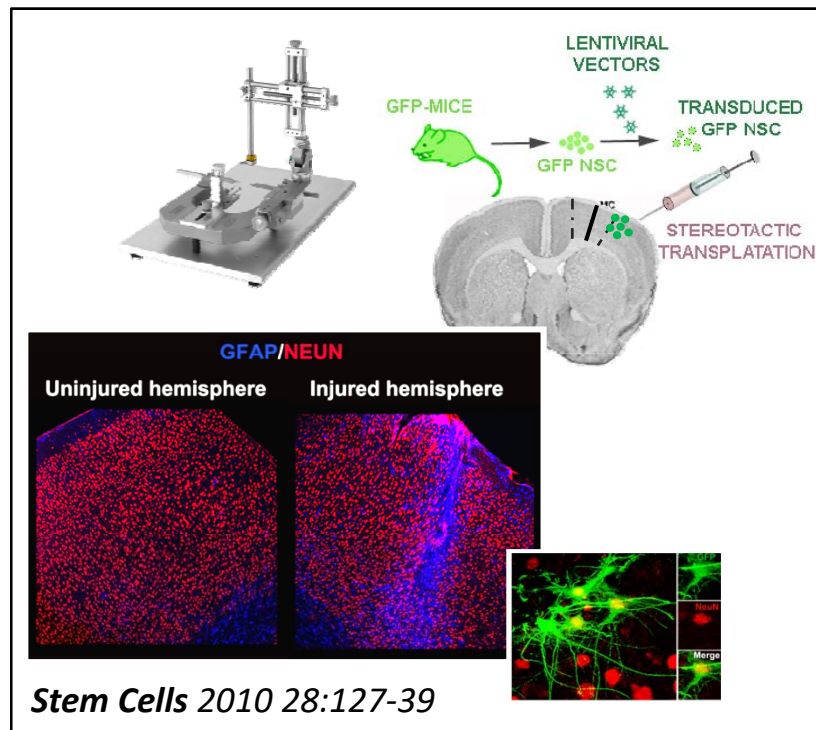
## Παραδείγματα κυτταρικής μεταμόσχευσης σε μοντέλα νευροεκφυλισμού και αναγέννησης

- Μηχανικός τραυματισμός του φλοιού του εγκεφάλου
- Τραυματισμός του νωτιαίου μυελού
- Νευροεκφυλιστική ασθένεια  
(πλευρική κροταφική επιληψία)

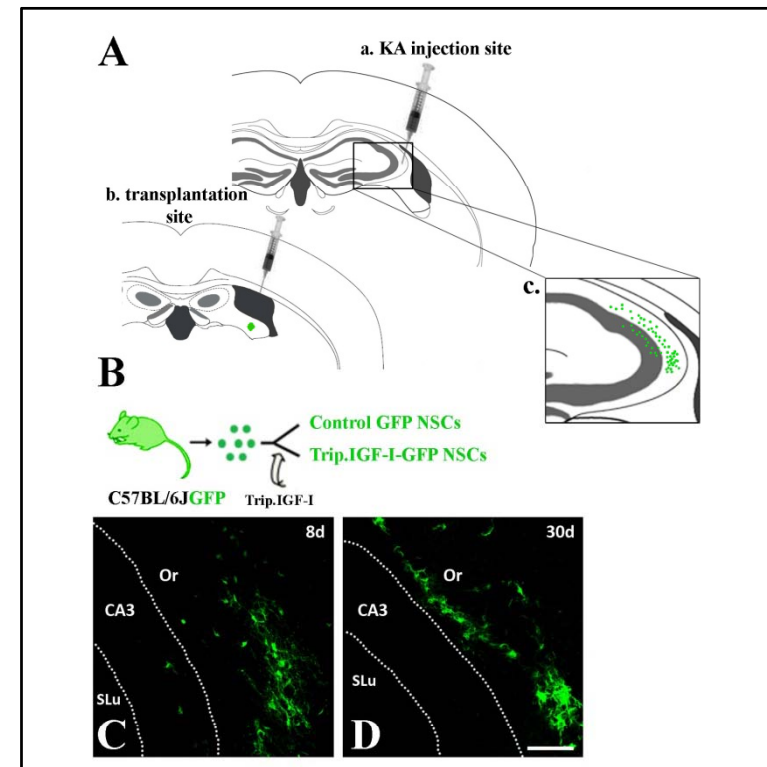




# Traumatic Brain & Spinal Cord Injury *gene & cell therapy approaches, nanoparticle delivery systems*



Traumatic Brain Injury (TBI)  
motor cortex

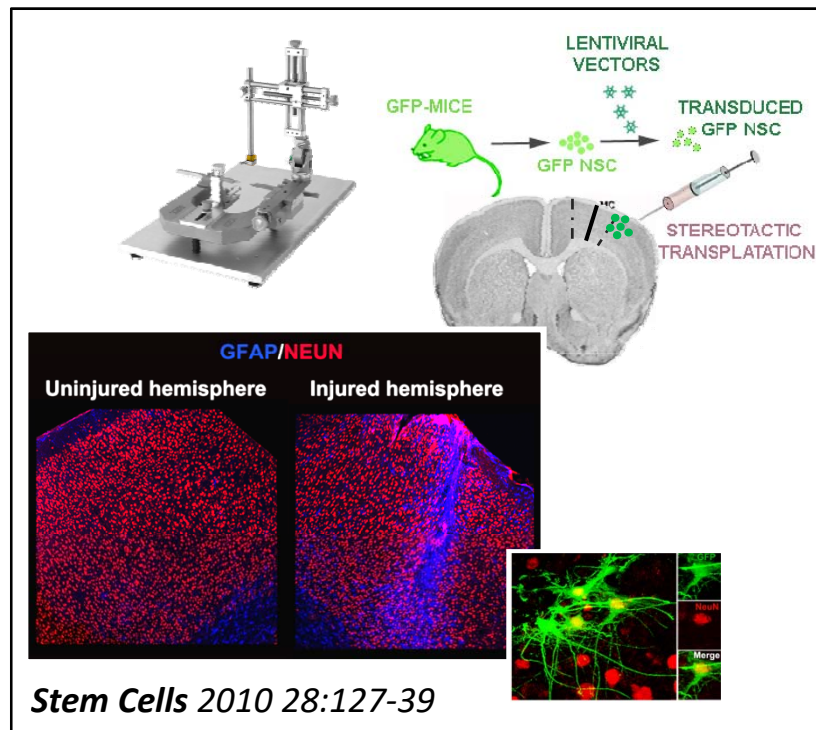


Kainate-induced hippocampal degeneration  
Temporal Lobe Epilepsy Model

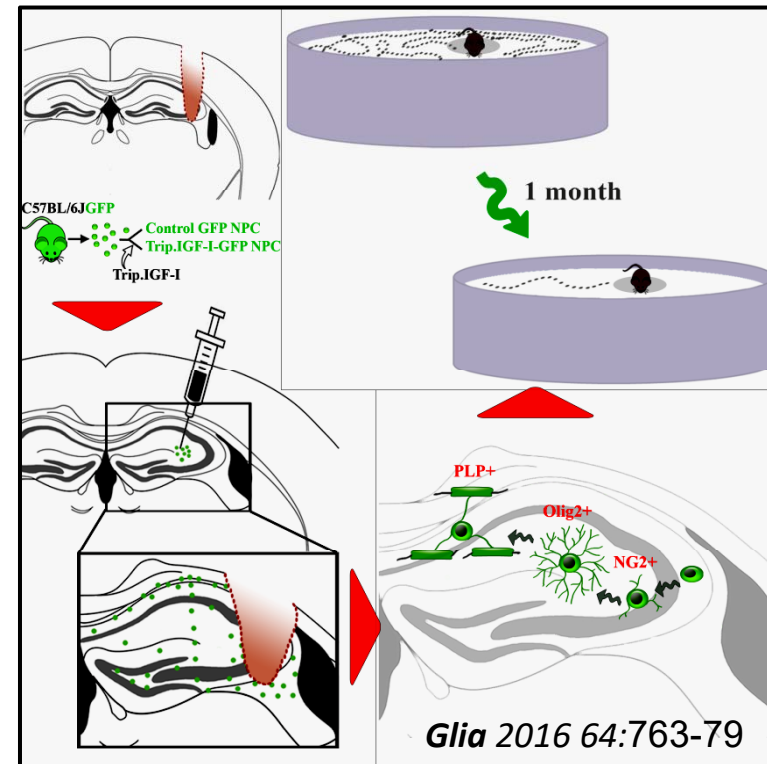
*Stem Cells Transl. Med.*  
2013 2:185-98



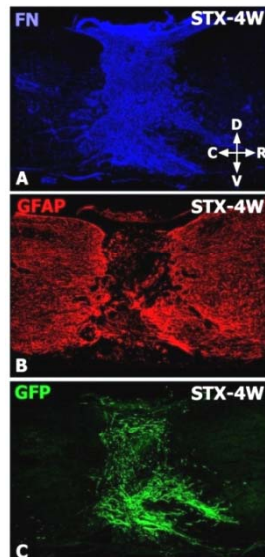
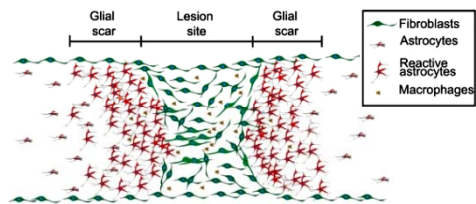
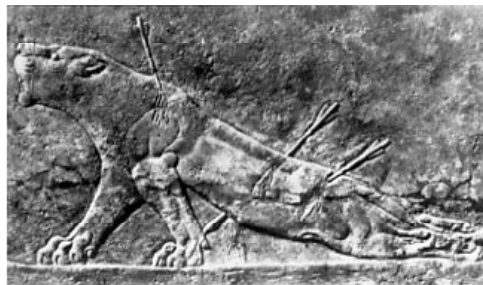
# Traumatic Brain & Spinal Cord Injury *gene & cell therapy approaches, nanoparticle delivery systems*



Traumatic Brain Injury (TBI)  
motor cortex



Hippocampal TBI



Before injury



normal

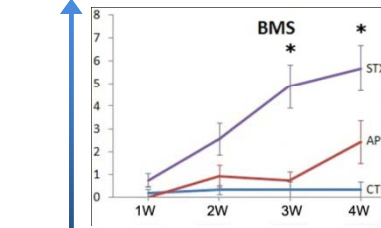
After cell grafting



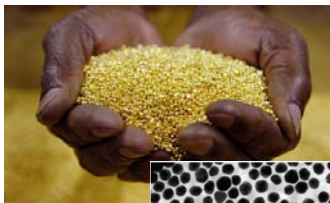
paralysis



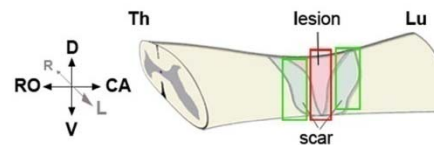
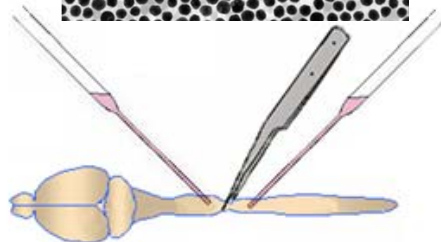
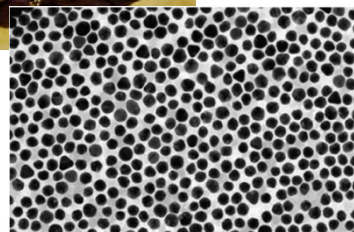
After injury



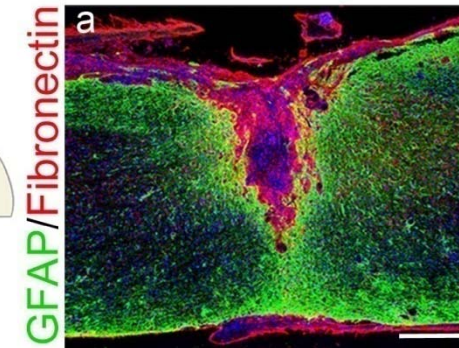
*Papastefanaki et al*  
*Brain* 130:2159-74



polyethelene glycol coated  
40 nm colloidal gold  
nanoparticles

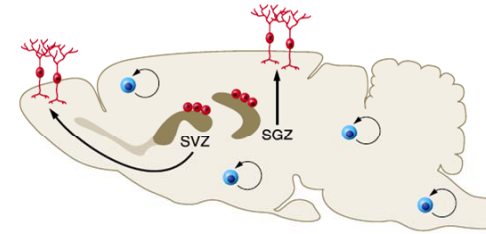


PEG@AuNPs



*Papastefanaki et al.*  
*Mol Ther* 2015 23:993-1002

Συμπερασματικά, είδαμε ότι:



Ο εγκέφαλος μεταβάλλεται σε όλη τη διάρκεια της ζωής του ατόμου

Νέοι νευρώνες παράγονται εφόρου ζωής στον ενήλικο εγκέφαλο, ενσωματώνονται σε ήδη υπάρχοντα δίκτυα και συνεισφέρουν ζωτικές λειτουργίες όπως η μάθηση και η μνήμη

Η ενήλικη νευρογένεση δίνει ελπίδες για την ανάπτυξη νέων θεραπειών για νευρολογικές ασθένειες και τραύματα του εγκεφάλου

Κυτταρικές θεραπείες με βλαστοκύτταρα αποκαλύπτουν μηχανισμούς αναγέννησης του ενήλικου εγκεφάλου και μπορούν να συνεισφέρουν στην ανακάλυψη μικρών θεραπευτικών μορίων