

Uplatnění kmenových buněk v ortopedii

Pavel Žák

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové, přednosta doc. MUDr. Pavel Žák, Ph.D.

Předneseno na mezioborovém sympoziu s postgraduálním zaměřením „Diabetik – společný pacient diabetologa a ortopeda“ 10. října 2014 v Hradci Králové.

Souhrn

Regenerace kloubní chrupavky je v ortopedii velkým problémem. Regenerační proces v chrupavčité tkáni je výrazně podpořen chondrocyty a zřejmě i mezenchymálními kmenovými buňkami (MSC), a proto byla a je v posledních letech této problematice věnována velká pozornost. V České republice dochází k nárůstu výkonů, při nichž jsou pro terapii osteoartritidy používány MSC získané z tukové tkáně (a-MSC). V této indikaci považuje Česká ortopedická společnost tento postup za „non lege artis“. Přinášíme přehled dosud provedených klinických studií, jejichž úroveň neumožňuje podpořit rutinní léčbu osteoartritidy pomocí a-MSC.

Klíčová slova: mezenchymální kmenové buňky – osteoartritida

Application of stem cells in orthopedics

Summary

Regeneration of articular cartilage remains a major challenge in orthopaedics. Cell-based therapies (with chondrocyte and MSCs – mesenchymal stem cells) to augment cartilage repair have received considerable interest during recent years. Adipose MSCs have been used in the Czech Republic for osteoarthritis therapy, despite not being recommended by the Czech Orthopaedic Association. This lecture reviews the studies and their level of evidence for orthopaedic routine therapy of osteoarthritis.

Key words: mesenchymal stem cells – osteoarthritis

Úvod

Jedním z hlavních problémů v ortopedii je řešení náhrady kloubů, zpomalení degenerativních kloubních procesů nebo podpoření regenerativních dějů v kloubní chrupavce, kostním a svalovém aparátu. Před 40 lety profesor A. J. Friedenstein poprvé izoloval z kostní dřene mezenchymální kmenové buňky (mesenchymal stem cells – MSC; colony forming unit, fibroblast – CFU-F). Mělo se za to, že MSC se budou vyvíjet tak jako hemopoéza a hemopoetické kmenové buňky (hematopoietic stem cell – HSC) a budou se pod vlivem prostředí diferencovat a zapojovat do funkční tkáně. Je zřejmé, že problematika zapojení MSC do regenerace je ve srovnání s HSC podstatně složitějším procesem. Nicméně počet výkonů, při kterých jsou aplikovány autologní MSC (získané z tukové tkáně) do kloubů, má v České republice stoupající tendenci. Cílem sdělení je shrnout základní informace o MSC a jejich klinickém použití v ortopedii.

Charakteristika kmenové a mezenchymální kmenové buňky (MSC, MSC-like)

Kmenové buňky (stem cell – SC) mají 3 základní vlastnosti: schopnost sebeobnovy (repopulace), plastické diferenciaci do jiných tkání a diverzitu. Kritéria pro MSC zahrnují schopnost adherence, expresi specifických povrchových antigenů (CD73⁺, CD90⁺, CD105⁺, CD34⁻, CD45⁻, CD11b⁻, CD14⁻, CD19⁻, CD79⁻, HLA DR⁻) a schopnost diferenciaci do kosti, chrupavky a tukové tkáně. Z pohledu hierarchie zralosti je nezbytné odlišovat totipotentní, pluripotentní, multipotentní a progenitorové (unipotentní) buňky. MSC patří v této úrovni k multipotentním buňkám, které se mohou obnovovat a diferencovat v jednotlivé progenitorové buňky.

Hierarchie a zdroje SC/MSC

Z praktického použití je nezbytné odlišovat skupinu embryonálních kmenových buněk (stem cell – SC) a dospělých SC, z hlediska dárce pak autologní a alogenní MSC. Klasickými zdroji SC pro klinické použití je kostní dřeň a pupečnicková krev, méně často může být zdrojem zubní pulpa, amniová tekutina, synoviální tekutina

a v experimentu embryonální buňky. Bohatým zdrojem MSC je tuková tkáň, která je v poslední době hlavním zdrojem MSC pro klinické použití v ortopedii. Nicméně je nutné si položit otázku, zda mezenchymální buňky získané z tukové tkáně (adipose MSC – a-MSC) jsou ekvivalentem mezenchymálních buněk z kostní dřeně (bone marrow MSC – bm-MSC) a zda mají stejnou schopnost diferenciace. Provedené práce in vitro ukazují, že potenciál diferenciace do chrupavkové tkáně je významně vyšší u bm-MSC. Ke zvýšení koncentrace MSC je prováděna expanze in vitro obvykle ve 2–5 pasážích. Četnější pasážování vede k poklesu diferenciálního potenciálu a vyšší frekvenci genetických mutací [1].

Efekt SC/MSC

K čemu vede aplikace MSC do kloubů nebo svalově-kostního aparátu? Představa zabudování a náhrady poškozené chrupavky aplikovanými MSC nebyla jednoznačně prokázána. Nicméně byly dokumentovány procesy, které vedly k rychlejšímu hojení a novotvorbě chrupavky. MSC nebo součást aplikované směsi (např. plazmy bohaté na destičky) může také vést k výrazné podpoře regeneračních mechanismů. Byla dokumentována zvýšená produkce růstových faktorů a cytokinů (TGFβ, fibroblasty stimulující faktor – FGF, vaskulární endoteliální růstový faktor – VEGF) a dále deaktivace aktivovaných makrofágů, které vedou k aktivaci degeneračních kloubních změn. Do roku 2014 bylo publikováno více než 4 000 sdělení, která se věnují problematice aplikace MSC v ortopedii. Obvykle jde o aplikace autologních bm-MSC do kolenního kloubu, kyčelního kloubu, do intervertebrálních disků. Většina prací je z pohledu EBM na nízké hladině. Problémem je malý počet pacientů, který neumožňuje statistické hodnocení. Studie obvykle nemají kontrolní skupiny a jen zcela nepatrná část studií je randomizována a případně zaslepená. Cantana et al jsou autory prací zaměřených na aplikaci autologních bm-MSC do kolenního a kyčelního kloubu. Závěry jejich prací byly příznivé při hodnocení zvětšení objemu chrupavky (hodnoceno MRI), zpomalení rozvoje artrózy a snížení intenzity bolesti. Současně nebyl v dlouhodobém sledování doložen průkaz ektopicky rostoucí tkáně nebo častějšího výskytu nádoru [2,3]. Vangsness et al publikovali výsledky randomizované studie, která srovnávala efekt léčby alogenními bm-MSC (ve dvou dávkách MSC) a autologními chondrocyty u pacientů po částečné menisektomii. Ve všech skupinách byla dokumentována regenerace

menisku a snížení bolesti. Signifikanční rozdíl v objemu chrupavky menisku byl paradoxně pouze ve skupině s nižší koncentrací bm-MSC. Mezi aplikací chondrocytů a bm-MSC nebyl statisticky významný rozdíl [4]. Peeters et al srovnávali nežádoucí účinky mezi autologními expandovanými MSC a hyaluronovou kyselinou. Ve skupině pacientů s MSC byl lepší bezpečnostní profil [5]. Aktuálně probíhá 38 randomizovaných studií, které se zabývají problematikou MSC a osteoartritidou a terapií předního křížového vazů. K léčbě artrózy MSC se v červnu roku 2014 vyjádřila Česká společnost pro ortopedii, která ve svém prohlášení léčbu artrózy kmenovými buňkami zpochybňuje a označuje ji za postup non lege artis.

Závěr

Prováděné postupy na zvířecích modelech a v humánní medicíně ukazují na možný léčebný potenciál. Pro posouzení účinnosti je nezbytné vyčkat výsledků kvalitně provedených studií. V dalším vývoji lze očekávat posun ve zlepšení technologie při zpracování SC/MSC a použití extracelulární matrice. Závěrem je nutné zdůraznit, že by léčba měla být provázena jen v kontrolovaných klinických studiích.

Literatura

1. Izadpanath R, Kaushal D, Kriedt C et al. Long-term in vitro expansion alter the biology of adult mesenchymal stem cells. *Cancer Res* 2008; 68(11): 4229–4238.
2. Centeno CJ, Busse D, Kisiday J et al. Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease usány percutaneously implanted autologous mesenchymal stem cells. *Pain Physician* 2008; 11(3): 343–353.
3. Centeno CJ, Kisiday J, Freeman M et al. Partial regeneration of the human hip via autologous bone marrow nucleated cell transfer. *Pain Physician* 2006; 9(3): 253–256.
4. Vangsness CT, Farr J, Boyd J et al. Adult human mesenchymal stem cells delivered via intra-articular injection to the knee following partial medial meniscectomy. *J Bone Joint Surg Am* 2014; 96(2): 90–98.
5. Peeters CM, Leijns MJ, Reijman M et al. Safety of intra-articular cell-therapy with culture-expanded stem cells in humans: A systematic literature review. *Osteoarthritis Cartilage* 2013; 21(10): 1465–1473.

doc. MUDr. Pavel Žák, Ph.D.

✉ pavel.zak@fnhk.cz

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

www.fnhk.cz

Doručeno do redakce 5. 1. 2015

Přijato po recenzi 15. 2. 2015