

Užití adultních humánních kmenových buněk kostní dřeně při terapii míšního poranění

Š. Fedorko, R. Lipina

Neurochirurgická klinika FN Ostrava, přednosta prim. MUDr. Tomáš Paleček, Ph.D.

Souhrn: S prohlubujícími se znalostmi o kmenových buňkách se rozšiřuje i spektrum jejich možného terapeutického uplatnění. Jedna z oblastí využití kmenových buněk je léčba míšního poranění. Mnohé preklinické studie prokázaly, že některé kmenové buňky se např. mohou transdiferenciovat v neuronální buňky a mohou nahradit buňky poškozené. Sekretí mnoha růstových, resp. neuroprotektivních faktorů částečně zabraňují progresivní buněčné smrti, vytvářejí prostředí vhodné pro regeneraci poškozené tkáně, mohou napomáhat neovaskularizaci, remyelinizaci a dalším, což v konečném důsledku může vést ke zlepšení neurologického deficitu po míšním poranění. Do současné doby proběhlo i několik klinických studií využívších kmenových buněk v terapii míšního poranění. V tomto článku stručně nastiňujeme jejich potenciální využití v terapii míšního poranění.

Klíčová slova: kmenové buňky – míšní poranění – terapie míšního poranění

The use of adult human bone marrow stem cells in the treatment of spinal injury

Summary: The spectrum of stem cells therapeutic uses broadens with advancing knowledge about this biological material. Treatment of spinal injury is one of the areas of stem cell use. Many pre-clinical studies have shown that some cells can, for example, transdifferentiate into neuronal cells and replace those that are damaged. Through secretion of many growth and neuroprotective factors, stem cells prevent, to some extent, progressive cell death, form an environment suitable for regeneration of damaged tissue, facilitate neovascularization, remyelination etc., and in consequence may improve post-spinal injury neurological deficit. Several clinical studies have been conducted using stem cells in the treatment of spinal injury. The present paper provides a brief overview of potential uses of stem cells in spinal injury treatment.

Key words: stem cells – spinal injury – therapy of spinal injury

Úvod

Míšní poranění (spinal cord injury – SCI) je devastující neurologické postižení s trvalými následky jak zdravotními, tak socioekonomickými a psychologickými. Vzhledem k faktu, že neexistuje kauzální terapie míšního poranění a současné možnosti jsou stran funkčního výsledku nedostatečné, jsou zkoušeny nové terapeutické metody. Některé z nich jsou spjaty s aplikací kmenových buněk. Adultní humánní kmenové buňky kostní dřeně vzhledem ke své dostupnosti, snadné manipulaci a terapeutickému efektu prokázanému preklinickými studiemi mohou představovat jednu ze součástí multimodální terapie míšního poranění.

Epidemiologie míšního poranění

Míšní poranění představuje traumatické poškození míchy následované sérií pochodů vedoucích často k velmi

významnému neurologickému deficitu s trvalými následky jak zdravotními, tak socioekonomickými. Dle National Spinal Cord Injury Center [1] je v USA incidence míšního poranění odhadována kolem 40 případů na milion obyvatel za rok s prevalencí 250 000 případů na 300 milionů obyvatel. Průměrný věk postižených jedinců je 32–33 let a poměr mezi mužským a ženským pohlavím je 3,5 : 1 [2]. Neurologický deficit po akutním míšním poranění je následující: inkompletní tetraplegie 34,1%, kompletní tetraplegie 18,3%, parciální paraplegie 18,5%, kompletní paraplegie 23% a odhadovaná cena celoživotní terapie jednoho pacienta s SCI je \$ 1,35 milionu [1].

Možnosti terapie SCI

Současné možnosti terapie SCI spočívají v časně dekompresi cévně nervových struktur a obnovení stability

páteřního sloupce společně s podáváním vysokých dávek metylprednisonu dle studie NASCIS III [3,4] v akutním stadiu s následnou rehabilitací a symptomatickou terapií v dalším období. Názory na účinnost této „standardní“ terapie se různí. Fehlings [5] ve svém review uvádí, že neexistují žádné standardy týkající se dekomprese a doby jejího provedení při SCI. Pouze doporučuje její časně provedení (do 24 hod). Polemika účinnosti vysokých dávek metylprednisonu je ještě živější, neboť její pozitivní benefit byl prokázán až při post hoc analýze studie Nascis II, a to jen u pacientů, kterým byly vysoké dávky metylprednisonu podány během prvních 8 hod po úraze [6].

Vzhledem k faktu, že neexistuje kauzální terapie SCI, současné možnosti léčby jsou stran funkčního výsledku nedostatečné a regenerační schopnost vyzrálého centrálního ner-

vového systém je značně limitována, jsou zkoušeny nové terapeutické metody. Některé z nich jsou spjaté s aplikací kmenových buněk a mohou představovat jednu ze součástí multimodální terapie míšního poranění.

I když v pokusech *in vivo* i *in vitro* bylo dokázáno, že některé z buněk kostní dřeně jsou schopny transdiferenciace v neurony, astrocyty, oligodendrocyty a Schwanovy buňky [7–13], jejich hlavní terapeutický efekt spočívá spíše ve schopnosti migrace do místa postižení, sekreci mnoha neuroprotektivních a růstových faktorů, cytokinů. Tyto faktory mají pozitivní vliv na přežití poškozených neurálních buněk [14–17], jejich plasticitu a regeneraci [18,19], zlepšují růst axonálních vláken po SCI [20], napomáhají neovaskularizaci ischemické tkáně [21], aktivují endogenní neurální prekursorové buňky [22], redukují velikost léze [23–25] a zlepšují funkční deficit [26,27]. Dále mají některé kmenové buňky kostní dřeně schopnost imunomodulace, jak bylo např. prokázáno prolongací přežití allogenního graftu (GvHD) [28–30]. Transdiferencují-li se kmenové buňky v oligodendrocyty či Schwanovy buňky, jsou schopny remyelinizace poškozených axonů s následným zlepšením kondukčních vlastností [31].

Jejich možný benefit byl potvrzen preklinickými studiemi převážně na hlodavcích. V posledních letech bylo provedeno i několik humánních klinických studií [32–37]. Těmito humánními klinickými studiemi bylo v souhrnu prokázáno, že aplikace kmenových buněk pomocí lumbální punkce, intravenózní a lokální – intraspinální (a to i akutním stadiu SCI) jsou bezpečné metody. Zhoršení neurologického deficitu bylo popsáno pouze v jediném případě při lokálním – intraspinálním podání kmenových buněk pacientovy v chronické fázi SCI a bylo přechodné. Pouze jediná studie prokázala statisticky významné zlepšení neurologického deficitu. Studie navzájem vykazují velkou různorodost jak ve způsobu a době podání kmenových buněk, tak i typu

užitých buněk. Toto znesnadňuje bližší porovnání a výběr nejvhodnější metody aplikace. Celkový počet jedinců zahrnutých do těchto klinických studií byl malý. Vzhledem ke spontánní regeneraci neurologického nálezu po SCI a nízké incidenci SCI bude v budoucnosti zapotřebí uspořádat studie multicentrické za účelem verifikace efektivity terapie SCI pomocí kmenových buněk.

Na našem pracovišti jsme do současné doby aplikovali kmenové buňky kostní dřeně 2 pacientům s kompletní transversální lézí míšní (ASIA A) v oblasti krční páteře. Aplikace proběhla kombinovanou metodou: intratekálně-lumbální punkcí a intravenózně, 1 měsíc po SCI. U obou pacientů došlo k mírnému zlepšení neurologického nálezu, avšak toto zlepšení může být přisouzeno i spontánní úpravě. Nebyl zaznamenán žádný negativní efekt, na kontrolní magnetické rezonanci nebyla popsána žádná patologická hmota ve vztahu k aplikovaným buňkám. Na jakékoliv hodnocení je však s ohledem ke krátkému času od aplikace kmenových buněk a malému počtu jedinců ještě brzy.

Závěr

Vzhledem ke složitosti míšního poranění je zřejmé, že terapie bude vyžadovat multimodální přístup. Aplikace kmenových buněk může být jednou z jeho součástí. Nicméně je potřeba dalších preklinických studií k řádnému pochopení jejich funkce a optimalizaci terapie pomocí kmenových buněk.

Literatura

1. <http://www.spinalcord.uab.edu>.
2. Baubet L, Lonjon N, Perrin FE et al. Strategies for spinal cord repair after injury: A review of the literature and information. *Ann Readapt Med Phys* 2008. Available from: doi: 10.1016/j.jannrmp.2008.10.0004.
3. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR et al. Administration of methylprednisolone for 24 or 48 hours or tirilizad mesylate for 48 hours in the treatment of acute spinal cord injury. *JAMA* 1997; 277: 1597–1604.
4. Bracken MB, Shepard MJ, Holford TR et al. Methylprednisolone or tirilizad mesylate administration after acute spinal cord in-

- jury: 1-year follow-up. *J Neurosurg* 1998; 89: 699–706.
5. Fehlings MG, Perrin RG. The Timing of Surgical Intervention in the Treatment of Spinal Cord Injury: A Systematic Review of Recent Clinical Evidence. *Spine* 2006; 31 (Suppl 2006).
6. Bracken MB, Shepard MJ, Collins WF et al. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study. *N Engl J Med* 1990; 322: 1405–1411.
7. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells *in vitro*. *Exp Neurol* 2000; 164: 247–256.
8. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res* 2000; 61: 364–370.
9. Muñoz-Elías G, Woodbury D, Black IB. Marrow stromal cells, mitosis, and neuronal differentiation: stem cell and precursor functions. *Stem Cells* 2003; 21: 437–448.
10. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41–49.
11. Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 10711–10716.
12. Mezey E, Chandross KJ, Harta G et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science* 2000; 290: 1672–1674.
13. Akiyama Y, Radtke C, Honmou O et al. Remyelination of the spinal cord following intravenous delivery of bone marrow cells. *Glia* 2002; 39: 229–236.
14. Horwitz EM, Dominici M. How do mesenchymal stromal cells exert their therapeutic benefit. *Cytotherapy* 2008; 10: 771–774.
15. Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000; 287: 1433–1438.
16. Ay H, Ay I, Koroshetz WJ et al. Potential usefulness of basic fibroblast growth factor as a treatment for stroke. *Cerebrovasc Dis* 1999; 9: 131–135.
17. Mocchetti I, Wrathall JR. Neurotrophic factors in central nervous system trauma. *J Neurotrauma* 1995; 12: 853–870.
18. Corti S, Locatelli F, Strazzer S et al. Modulated generation of neuronal cells from bone marrow by expansion and mobilization of circulating stem cells with *in vivo* cytokine treatment. *Exp Neurol* 2002; 177: 443–452.
19. DeKosky ST, Goss JR, Miller PD et al. Upregulation of nerve growth factor fol-

lowing cortical trauma. *Exp Neurol* 1994; 130: 173–177.

20. Cheng H, Wu JP, Tzeng SF. Neuroprotection of glial cell line-derived neurotrophic factor in damaged spinal cords following contusive injury. *J Neurosci Res* 2002; 69: 397–405.

21. Takahashi T, Kalka, Masuda C et al. Ischemia and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999; 5: 434–438.

22. Lie DC, Dziewczapolski G, Willhoite AR et al. The adult substantia nigra contains progenitor cells with neurogenic potential. *J Neurosci* 2002; 22: 6639–6649.

23. Hermann DM, Kilic E, Kugler S et al. Adenovirus-mediated glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression protects against subsequent cortical cold injury in rats. *Neurobiol* 2001; 8: 964–973.

24. Koda M, Nishio Y, Kamada T et al. Granulocyte colony-stimulating factor (g-csf) mobilizes bone marrow-derived cells into injured spinal cord and promotes functional recovery after compression-induced spinal cord injury in mice. *Brain Res* 2007; 1149: 223–231.

25. Urdzikova L, Jendelova P, Glogarova K et al. Transplantation of bone marrow stem cells as well as mobilization by granulocyte-colony stimulating factor promotes recovery after spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* 2006; 23: 1379–1391.

26. Cheng H, Wu JP, Tzeng SF. Neuroprotection of glial cell line-derived neurotrophic factor in damaged spinal cords following contusive injury. *J Neurosci Res* 2002; 69: 397–405.

27. Bouhy D, Malgrange B, Multon S et al. Delayed GM-CSF treatment stimulates axonal regeneration and functional recovery in paraplegic rats via an increased BDNF expression by endogenous macrophages. *FASEB J* 2006; 20: 1239–1241.

28. Inoue S, Popp FC, Koehl GE et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells in a rat organ transplant model. *Transplantation* 2006; 81: 1589–1595.

29. Wang JW, Liu YB, Xu B et al. The study on immunomodulation of donor mesenchymal stem cells on discordant liver xenotransplantation. *Chin J Surg* 2005; 43: 1254–1258.

30. Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol* 2002; 30: 42–48.

31. Zurita M, Vaquero J. Bone marrow stromal cells can achieve cure of chronic paraplegic rats: functional and morphological outcome one year after transplantation. *Neurosci Lett* 2006; 402: 51–56.

32. Callera F, do Nascimento RX. Delivery of autologous bone marrow precursor cells into the spinal cord via lumbar puncture technique in patients with spinal cord injury: a preliminary safety study. *Exp Hematol* 2006; 34: 130–131.

33. Saito F, Nakatani T, Iwase M et al. Spinal cord injury treatment with intrathecal autologous bone marrow stromal cell transplantation: the first clinical trial case report. *J Trauma* 2008; 64: 53–59.

34. Deda H, Inci MC, Kürekçi AE et al. Treatment of chronic spinal cord injured patients with autologous bone marrow-derived hematopoietic stem cell transplantation: 1-year follow-up. *Cytotherapy* 2008; 10: 565–574.

35. Chernykh ER, Stupak VV, Muradov GM et al. Application of autologous bone marrow stem cells in the therapy of spinal cord injury patients. *Bull Exp Biol Med* 2007; 143: 543–547.

36. Kang KS, Kim SW, Oh YH et al. A 37-year-old spinal cord-injured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically: a case study. *Cytotherapy* 2005; 7: 368–373.

37. Mehta T, Feroz A, Thakkar U et al. Subarachnoid placement of stem cells in neurological disorders. *Transplant Proc* 2008; 40: 1145–1147.

MUDr. Štěpán Fedorko

www.fnsfo.cz

e-mail: stepan.fedorko@centrum.cz

Doručeno do redakce: 9. 2. 2009

www.csnn.eu