

Czy terapia komórkami macierzystymi to przyszłość w leczeniu pacjentów z Mózgowym Porażeniem Dziecięcym?

Is stem cell therapy a future for the treatment of patients with Cerebral Palsy ?

Barbara Krukowska-Andrzejczyk¹ , Agnieszka Cebula² , Ewa Głuszkiewicz³ , Ilona Kopyta² 

¹ Oddział Pediatrii i Neurologii Wzrostu i Rozwoju, SPSK Nr 6 Śląskiego Uniwersytetu Medycznego Górnośląskie Centrum Zdrowia Dziecka im. Jana Pawła II

² Katedra i Klinika Neurologii Dziecięcej, Wydział Lekarski w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

³ Poradnia Neurologiczna, SK Nr 6 Śląskiego Uniwersytetu Medycznego Górnośląskie Centrum Zdrowia Dziecka

DOI:10.20966/chn.2019.56.438

STRESZCZENIE

Mózgowe porażenie dziecięce (MPD) jest jedną z najczęstszych przyczyn niepełnosprawności wśród dzieci, a terapia MPD jest jednym z głównych wyzwań neurologii dziecięcej. Pomimo dowodów na skuteczność rehabilitacji i interwencji chirurgicznych na poprawę funkcjonowania pacjentów z MPD, brak jest obecnie skutecznego leczenia, które zmniejszałoby nasilenie choroby i wpływało na trwałą poprawę funkcjonowania pacjentów. Jednym z priorytetowych tematów badawczych jest obecnie zastosowanie komórek macierzystych w terapii chorób neurologicznych, w tym w MPD. W ostatnich kilku latach wzrasta liczba dokonanych podań komórek macierzystych u pacjentów z MPD, jak również prowadzonych badań klinicznych. Niniejszy artykuł przedstawia aktualny stan wiedzy dotyczący terapii MPD komórkami macierzystymi w celu odpowiedzi na pytanie czy terapia komórkami macierzystymi to szansa na bardziej efektywne leczenie pacjentów z MPD.

Słowa kluczowe: mózgowe porażenie dziecięce, choroby układu nerwowego, dziecko, komórki macierzyste, terapia komórkowa

ABSTRACT

Cerebral palsy (CP) is one of the most common causes of disability among children and CP therapy is one of the main challenges in pediatric neurology. Despite evidence of the effectiveness of rehabilitation and surgical interventions to improve the functioning of patients with CP, there is no effective treatment that would reduce the severity of the disease and affect the permanent improvement of functioning. One of the leading topics of current research is the use of stem cells in the treatment of neurological diseases, including CP. In the last few years the number of stem cell applications in CP as well as clinical trials has been increasing. This article presents the current state of knowledge regarding stem cell therapy in order to answer the question whether stem cell therapy is an opportunity for more effective treatment of patients with CP.

Keywords: cerebral palsy, nervous system disease, child, stem cell, cell based therapy

WSTĘP

Mózgowe porażenie dziecięce (MPD) jest jedną z najczęstszych przyczyn niepełnosprawności wśród dzieci i wiąże się nie tylko z ograniczeniami dla pacjenta oraz jego rodziny w codziennym funkcjonowaniu, ale również ze znacznymi nakładami finansowymi zarówno dla rodzin dzieci z MPD, jak również dla całego społeczeństwa, związanymi z opieką nad pacjentem. Dlatego też terapia MPD jest jednym z głównych wyzwań neurologii dziecięcej. Zgodnie z najnowszą definicją MPD to grupa trwałych zaburzeń rozwoju ruchu i postawy, powodujących ograniczenie aktywności, spowodowanych niepostępującym uszkodzeniem niedojrzałego mózgu. Często towarzyszą im zaburzenia czucia, percepcji, poznania, porozumiewania się i zachowania, padaczka, wtórne problemy mięśniowo-szkieletowe oraz zaburzenia odżywiania [1, 2].

Częstość występowania MPD szacuje się na około 1,2 do 2,5 na 1000 żywych urodzeń i jest ona znacznie wyższa u niemowląt urodzonych przedwcześnie, a ryzyko wystąpienia MPD wzrasta wraz z malejącym wiekiem ciążowym. Najbardziej zagrożone są dzieci urodzone przed 28 tygodniem ciąży (t.c.) oraz niemowlęta o niskiej masie

urodzeniowej, szczególnie te z bardzo niską masą urodzeniową (poniżej 1500 g), wśród których MPD występuje u 5 do 15%. Do MPD dochodzi w wyniku nieprawidłowego rozwoju lub uszkodzenia mózgu płodu lub niemowlęcia. Uraz lub uszkodzenie jest niepostępujące i może występować w okresie prenatalnym, okołoporodowym lub poporodowym. Zdarzenia prenatalne powodują około 80% przypadków MPD, natomiast zdarzenia poporodowe powodują około 10% przypadków [3]. Etiologia MPD jest złożona i często u jednego pacjenta może być wieloczynnikowa. W piśmiennictwie podaje się, że największe znaczenie w etiologii MPD w przypadku noworodków donoszonych ma zespół niedokrwiennie-niedotlenieniowy, a wśród wcześniaków wylewy śródczaszkowe [1–3].

Aktualnie podstawową terapią deficytów ruchowych związanych z MPD jest rehabilitacja oraz procedury medyczne zmniejszające spastyczność, takie jak toksyna botulinowa, pompa baklofenowa czy interwencje chirurgiczne. Kompleksowa terapia MPD ma na celu poprawę funkcji motorycznych oraz zapobieganie dalszemu pogorszeniu stanu zdrowia z powodu wtórnych upośledzeń [1–3]. Pomimo dowodów na skuteczność rehabilitacji

i interwencji chirurgicznych na poprawę funkcjonowania pacjentów z MPD, brak jest obecnie skutecznego leczenia, które zmniejszałoby nasilenie choroby i wpływało na trwałą poprawę funkcjonowania pacjentów. Jednym z priorytetowych tematów badawczych jest obecnie zastosowanie komórek macierzystych w terapii chorób neurologicznych, w tym w MPD [4]. W dokonanym w 2017 r. przeglądzie piśmiennictwa, dotyczącym nowych wskazań do terapii komórkami macierzystymi, Rizk i wsp. wykazali, że najwięcej nowych badań prowadzonych jest w dziedzinie neurologii (25 badań, 476 pacjentów), głównie w grupie pacjentów z MPD (12 badań, 276 pacjentów) [5]. Na podstawie przeprowadzonych dotychczas badań klinicznych dostępnych w piśmiennictwie, terapia MPD komórkami macierzystymi wydaje się być obiecującą metodą, pozwalającą, w połączeniu z dotychczas stosowanym leczeniem, na poprawę funkcjonowania pacjentów z MPD.

W oparciu o dane dostępne w piśmiennictwie, wysunęto dwie teorie co do czynników mających wpływ na skuteczność wykorzystania komórek macierzystych w MPD. Po pierwsze uszkodzenie mózgu w MPD jest często regionalnie, niepostępujące i wydaje się być ograniczone do kilku typów komórek, zatem terapia komórkami macierzystymi ma ogromny potencjał [4, 6]. Po drugie w MPD dochodzi do demielinizacji poprzez pierwotne uszkodzenie oligodendrocytów lub wtórne zwyrodnienie Wallera. Są to procesy wspólne dla innych schorzeń, w których przeprowadzono już pionierskie badania nad komórkami macierzystymi wykazując ich skuteczność (uszkodzenie rdzenia, stwardnienie zanikowe boczne) [4, 6]. Jednak pomimo sta-

le wzrastającej w ciągu ostatnich 5 lat liczby publikacji dotyczących komórek macierzystych, bez odpowiedzi nadal pozostaje wiele kluczowych pytań co do tej formy terapii, m.in. w jakim wieku najlepiej rozpocząć leczenie, jakie komórki macierzyste stosować, w jakich dawkach i jaką drogę podania zastosować [7].

ŹRÓDŁA KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Biorąc pod uwagę dużą liczbę typów komórek macierzystych i progenitorowych, które są wykorzystywane w badaniach przedklinicznych, trudno jest określić, jakie źródło komórek może być najlepiej dostosowane do terapii konkretnej jednostki chorobowej. Rodzaje i źródła komórek macierzystych, które mogą znaleźć potencjalne zastosowanie w terapii MPD przedstawiono w tabeli I.

W leczeniu wielu zaburzeń, a w szczególności okołoporodowych uszkodzeń mózgu, szczególnie korzystne wydaje się zastosowanie komórek mononuklearnych krwi pępowinowej (UCB, ang. Umbilical cord blood). Do zalet tych należą: niska immunogeniczność, a zatem niskie ryzyko odrzucenia i rozwoju choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD, ang. graft-versus-host disease), łatwa dostępność w dużych ilościach, odporność na długotrwałą kriokonserwację (do 90% żywotności komórek po rozmrożeniu) oraz, co najważniejsze, szerokie ich zastosowania kliniczne od prawie 30 lat a obecnie rutynowo m.in. w leczeniu ostrej białaczki, niedokrwistości aplastycznej, chłoniaków, talasemii i anemii sierpowatej [8].

Dane dostępne na stronie Polskiego Banku Komórek Macierzystych (PBKM) wskazują, że w przypadku MPD

Tab. I. Rodzaje komórek macierzystych i ich źródła (na podstawie Jantzie et al. Stem cells and cell-based therapies for cerebral palsy: a call for rigor [7]).

Tab. I. Type of stem cells for potential use in cerebral palsy (based on Jantzie et al. Stem cells and cell-based therapies for cerebral palsy: a call for rigor [7]).

Rodzaje komórek macierzystych <i>Types of stem cells</i>	Źródła komórek macierzystych <i>Sources of stem cells</i>
Embryonalne komórki macierzyste (ang. <i>embryonic stem cells</i> , ESCs)	Klikudniowe embriony (blastocysty)
Komórki nabłonkowe z ludzkiej owodni (ang. <i>human amnion epithelial cells</i> , hAECs)	Owodnia
Mezenchymalne komórki macierzyste (ang. <i>mesenchymal stem cells</i> , MSCs)	Krew pępowinowa (<i>umbilical cord blood</i> , UCB) Sznur pępowinowy/ galareta Whartona (ang. <i>Wharton's jelly</i> , WJ) Łożysko Szpik kostny (ang. <i>bone marrow</i> , BM) Tkanka tłuszczowa
Hematopoetyczne komórki macierzyste (ang. <i>hematopoietic stem cells</i> , HSCs)	Szpik kostny Krew pępowinowa
Indukowane multipotentjalne komórki macierzyste (ang. <i>human induced pluripotent stem cells</i> , hiPSCs)	Komórki somatyczne
Nerwowe komórki macierzyste (ang. <i>neural stem cells</i> , NSCs)	Komórki węchowce (ang. <i>olfactory ensheathing cells</i> , OECs) Komórki progenitorowe oligodendrocytów (ang. <i>oligodendrocyte progenitor cells</i> , OPCs/ <i>glial progenitor cells</i> , GPCs) Prekursorowe komórki glejowe (ang. <i>restricted glial precursors</i>)

zastosowanie mają głównie komórki macierzyste uzyskane z UCB – przeszczepy autologiczne lub sznura pępowinowego (WJ–MSCs, ang. Wharton’s jelly – mesenchymal stem cells) – przeszczepy głównie allogeniczne [9]. Zaletą komórek ze sznura pępowinowego jest większa możliwość wykonywania przeszczepów allogenicznych, gdyż nie jest wymagana zgodność tkankowa tak restrykcyjna jak w przypadku krwi. Na stronie PBKM dostępne jest zestawienie dokonanych przeszczepów komórek macierzystych na przestrzeni lat, z uwzględnieniem poszczególnych jednostek chorobowych [9]. Jak wynika z danych zawartych na stronie PBKM w ostatnich latach wzrasta ilość podań w przypadku MPD (ryc.1).

RODZAJE KOMÓREK MACIERZYSTYCH

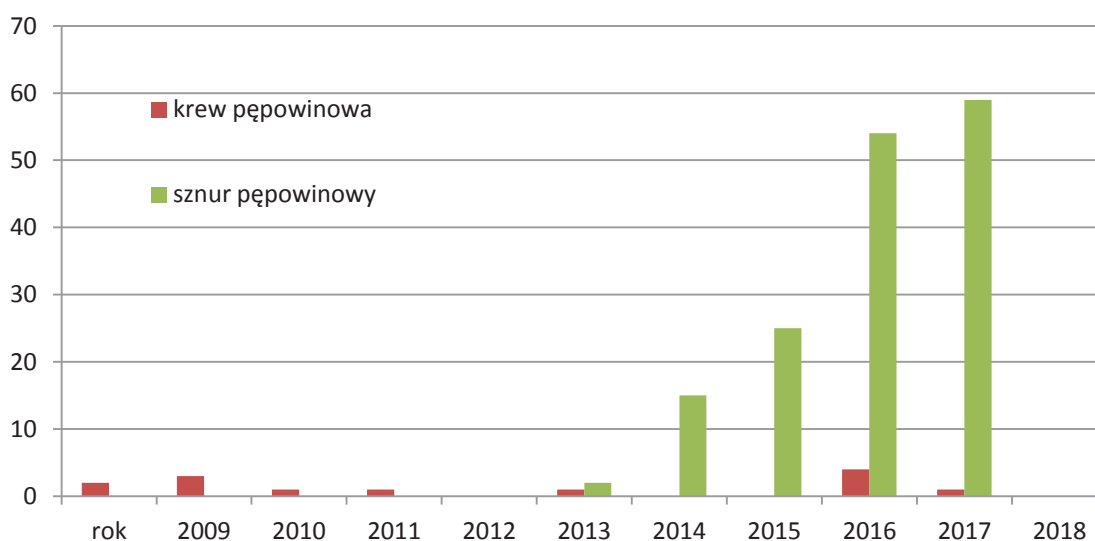
W neurologii największy potencjał terapeutyczny wydają się mieć mezenchymalne komórki macierzyste (MSC, ang. Mesenchymal stem/stromal cell) [10]. Grupa robocza działająca w ramach Międzynarodowego Towarzystwa Terapii Komórkowej (ISCT, ang. International Society for Cellular Therapy) opublikowała wspólne stanowisko zalecające zaliczanie do MSC jedynie komórek spełniających łącznie warunki: wzrostu in vitro w postaci przylegającej do podłoża, fenotypu charakteryzującego się syntezą antygenów powierzchniowych CD73+, CD90+, CD105+, CD45–, CD34–, CD14– lub CD11b–, CD79a– lub CD19–, oraz zdolności do różnicowania się w tkankę kostną, chrzęstną i tłuszczową [11–14]. Krew pępowinowa (UCB) zawiera MSC oraz dużą liczbę prekursorów komórek śródbłonna, jest również bogatym źródłem komórek jednojądrzastych, które zawierają wysokie stężenie pierwotnych multipotencjalnych komórek macierzystych/progenitorowych [14]. Komórki pozyskane z UCB są immunologicznie naiwne i są zdolne do różnicowania się w inne fenotypy komórkowe, w tym linie nerwowe [7, 15, 16]. Dane z piśmiennictwa wskazują, że WJ–MSC również spełniają kryteria uznane przez ISCT dla komórek mezenchymalnych [17]. MSC po-

chodzące z galarety Whartona są mniej zróżnicowane niż MSC pochodzące ze szpiku kostnego, a zatem jest bardziej prawdopodobne, że mogą różnicować się w komórki nerwowe. Komórki pochodzące z WJ lub UCB wykazują mniejszą immunogenność, większą zdolność proliferacyjną i zwiększony potencjał parakryny w porównaniu z MSC pochodzącymi z dorosłych tkanek [8].

MECHANIZMY DZIAŁANIA KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Badania na modelach udaru lub urazu mózgu u gryzoni były pierwszymi, które położyły podwaliny pod badanie potencjału komórek UCB w celu zmniejszenia uszkodzenia tkanki nerwowej. Badania te dostarczyły obiecujących danych, wskazując że komórki UCB mogą migrować do miejsc uszkodzenia, a po podaniu dożylnym zmniejszać deficyty czynnościowe i chronić przed uszkodzeniem istoty białej [18–20]. Kolejne prace badawcze z użyciem modeli zwierzęcych uwiaryściły potencjał neuroprotekcji komórek UCB w okołoporodowym uszkodzeniu mózgu u szczurów w przypadku gdy komórki UCB zostały podane w ciągu pierwszych 24 godzin po urazie niedotleniowo-niedokrwiennym. Poprawie ulegała kontrola motoryczna, wzorce chodzenia i niedowład spastyczny [21–23]. Odnotowano również zmniejszenie degeneracji neuronalnej, apoptozy i aktywacji mikrogleju [24]. W ostatnich latach wykazano, że MSC pochodzące z UCB mogą zwiększyć neuroprotekcję korzyści hipotermii u noworodków szczurów narażonych na niedotlenienie i niedokrwienie – co jest szczególnie istotne, biorąc pod uwagę, że hipotermia terapeutyczna lecznicza jest obecnie standardem opieki nad noworodkami z encefalopatią niedotleniowo-niedokrwienną (HIE, ang. Hypoxic ischemic encephalopathy) [8, 25].

Komórki macierzyste są multipotencjalne i reagują na sygnały mikrośrodowiskowe, kierując różnicowaniem i aktywnością komórkową. Choć mechanizmy te nie są w pełni zrozumiałe, udowodniono, że przeszczepione ko-



Ryc. 1. Liczba dokonanych przeszczepień komórek macierzystych i podań produktów leczniczych w MPD, przygotowanych przez laboratorium Polskiego Banku Komórek Macierzystych na przestrzeni lat.

Fig. 1. The number of performed over the years transplants prepared by the laboratory of the Polish Stem Cell Bank.

mórki macierzyste są zdolne do zastępowania neuronów, komórek glejowych i komórek naczyń krwionośnych oraz uwalniania czynników troficznych. Główne mechanizmy działania komórek macierzystych to działanie troficzne (promocja migracji komórek, proliferacji, różnicowania, angiogenezy), działanie parakryne, działanie zmniejszające procesy zapalne, poprzez zmniejszenie produkcji egzocytotoksyn, chemokin i wolnych rodników oraz zastępowanie i regeneracja uszkodzonych komórek nerwowych (ryc.2).

Komórki macierzyste wydzielają również egzosomy i inne mikropęcherzyki przeznaczone do precyzyjnej komunikacji wewnątrzkomórkowej za pośrednictwem receptora. Egzosomy zawierają m.in. mikroRNA, białka, biologicznie reaktywne lipidy i receptory, które mogą być korzystne dla uszkodzonego rozwijającego się mózgu [7]. Dodatkowo, wykazano, że pęcherzyki zewnątrzkomórkowe z mezenchymalnych komórek zrębu przyczyniają się do zmniejszenia upośledzenia poznawczego po urazowym uszkodzeniu mózgu [26].

W przypadku MPD podstawowy mechanizm działania komórek macierzystych wpływający na poprawę funkcjonalną wynika raczej z działania immunomodulującego i regulującego endogenną regenerację, a mniej z odtwarzania tkanek przez komórki wytwarzane przez MSC i różnicujące się w komórki zastępujące uszkodzone tkanki [7, 13].

RODZAJ PRZESZCZEPU/DAWCY

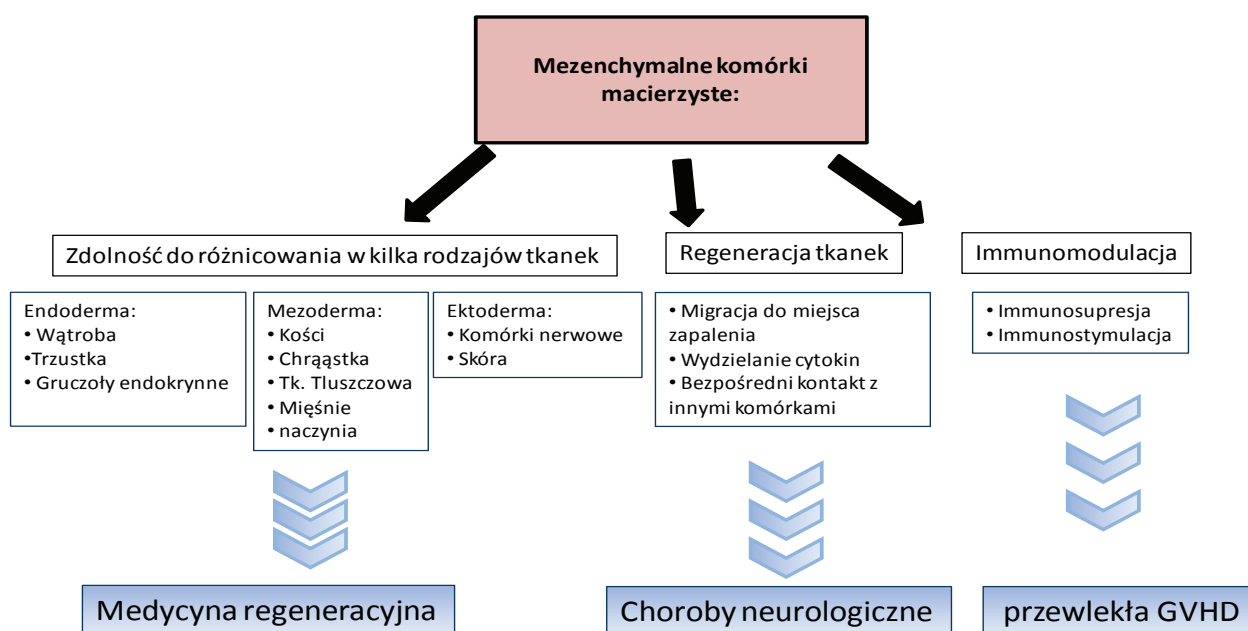
Z uwagi na niską dostępność własnych komórek macierzystych w ramach bankowania krwi pępowinowej kluczowe są badania analizujące możliwość wykorzystania przeszczepów allogenicznych [27, 28]. Bae i wsp. w prze-

prowadzonym badaniu klinicznym u dzieci z MPD oceniali różnicę między autologicznymi i allogenicznymi komórkami macierzystymi. Jak wynika z przeprowadzonych badań leczenie allogenicznymi komórkami macierzystymi UCB znacząco zmniejszyło liczbę cytokin prozapalnych (interleukina-6, interleukina-1 α , czynnik martwicy nowotworów- β i RANTES) i wykazało poprawę w zachowaniach motorycznych i społecznych w porównaniu z autologicznymi grupami leczonymi UCB. Pełne zrozumienie mechanizmów działania oraz bezpieczeństwa podawania zarówno autologicznej jak i allogenicznej UCB jest jednak nadal ograniczone [29].

DROGA PODANIA

Kolejnym pytaniem w terapii komórkami macierzystymi, na które nadal nie ma jasnej odpowiedzi, jest droga podania. Istotną z punktu klinicznego cechą MSC jest ich zdolność do gromadzenia się w rejonie naprawy tkanek oraz migracja po podaniu dożylnym do okolic uszkodzeń, w których toczy się proces zapalny. Podanie dożylne wiąże się z koniecznością przejścia podanych komórek przez krążenie płucne, gdzie w dużej części są one wychwytywane i zatrzymywane w naczyniach włosowatych pęcherzyków płucnych, co utrudnia ich migrację do miejsca uszkodzenia i zwiększa ryzyko zjawisk niepożądanych. Istnieją jednak przesłanki wskazujące, że w płucach komórki macierzyste zmieniają swoje niektóre właściwości i podejmują dalszą migrację drogą naczyń krwionośnych [13].

Z uwagi na charakter schorzeń neurologicznych kwestią krytyczną dla skuteczności leczenia jest możliwość przejścia MSC przez barierę krew-mózg (BBB, ang. blood-brain barrier). Mechanizm tego zjawiska, pomimo ob-



Ryc. 2. Charakterystyka mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) (na podstawie Mukai et al. Mesenchymal stromal cells as potential therapeutic for neurological disorders. [10]).

Fig. 2. Characteristics of mesenchymal stem cells (MSC) (based on Mukai et al. Mesenchymal stromal cells as a potential therapeutic for neurological disorders. [10])

szerności literatury, pozostaje niejasny. Lin i wsp. [30] donosili, że szlaki 3-kinazy fosfatydyloinozytolowej (PI3K)/Akt i Rho/ROCK (kinazy Rho) są zaangażowane w migrację MSC przez monowarstwy komórek śródbłonka naczyń krwionośnych mózgu człowieka. Ponadto Matsushita i wsp. wykazali, że MSCs przenikają przez mózgowe monowarstwy komórek śródbłonka naczyniowego (BMECs, ang. brain microvascular endothelial cells) poprzez przejściowo utworzone szczeliny międzykomórkowe pomiędzy BMECs [31]. Zdolność migracji MSCs i wyjaśnienie mechanizmów umożliwiających im przechodzenie przez BBB rozszerza perspektywy terapii komórkowej gdyż stwarza możliwość podaży dożyłnej, tym samym zmniejszając ryzyko działań niepożądanych związanych z nakłuciem lędźwiowym [10]. Wydaje się, że przynajmniej in vitro MSC mają mechanizmy molekularne podobne do leukocytów, choć nieefektywne, obejmujące cząsteczki adhezyjne, chemokiny i proteazy, które umożliwiają interakcje MSC z komórkami śródbłonka (EC, ang. epithelial cells) i transmigrację. Duże rozbieżności między badaniami mogą wynikać z wrodzonej heterogeniczności MSC w połączeniu ze zmianami w technikach i modelach eksperymentalnych. Głównym zastrzeżeniem do badań in vitro jest stosowanie monowarstw EC, które nie oddają w pełni właściwości BBB in vivo. Ważne zatem będzie włączenie innych typów komórek BBB, takich jak pierwotne astrocyty, pericyty, odtworzona błona podstawna i odpowiednie warunki dynamicznego przepływu w celu opracowania bardziej adekwatnych systemów in vitro do badania oddziaływań MSC/EC. Pomimo dowodów in vitro, nie potwierdzono, czy systemowo podane MSC są w stanie wykorzystywać kaskady naprowadzające podobne do leukocytów, aby aktywnie oddziaływać i przenikać przez BBB in vivo zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych. Nadal, nie jest jasne, czy MSC są w stanie aktywnie migrować do OUN, czy raczej są biernie „wychwytywane” w miejscach objętych stanem zapalnym i uszkodzeniem naczyniowym [32].

WYNIKI DOTYCHCZAS PRZEPROWADZONYCH BADAŃ KLINICZNYCH

Dotychczas prowadzone na zwierzętach badania nad komórkami macierzystymi w uszkodzeniach OUN przyniosły obiecujące wyniki [33–36]. W internetowej bazie badań klinicznych prowadzonej przez National Library of Medicine (NLM) i National Institutes of Health (NIH), obejmującej 50 stanów U.S.A. oraz 208 krajów, na dzień 30.04.2019 r. zarejestrowano 22 badania kliniczne dotyczące podaży komórek macierzystych w MPD, w tym 10 badań zakończonych [37]. Niestety ocena i porównanie wyników poszczególnych badań są znacznie utrudnione ze względu na zróżnicowanie zastosowanej metodologii, wykorzystanych skal oceniających poszczególne funkcje, zastosowanych komórek macierzystych oraz drogi ich podania.

W 2016 r. Novak i wsp. opublikowali wyniki przeprowadzonej metaanalizy dotyczącej badań klinicznych nad terapią komórkami macierzystymi w MPD [4]. W analizie brali pod uwagę badania randomizowane kontrolowane (RCTs, ang. randomized controlled trials) i badania kontrolowane z lub bez ślepej próby. Ostatecznie w metaanalizie

ujęto 5 badań, które spełniały kryteria włączenia przyjęte przez badaczy. Wszystkie pięć badań oceniało poprawę funkcji motorycznej po podaniu komórek macierzystych z lub bez rehabilitacji. Dwa badania miały dodatkowo na celu analizę poprawy funkcji poznawczych [28, 38]. Typy komórek macierzystych zastosowanych w badaniach były zróżnicowane i obejmowały komórki węchowe (ang. olfactory ensheathing cells, OECs), nerwowe komórki macierzyste (ang. neural stem cells, NSCs), nerwowe komórki progenitorowe (NPCs, ang. Neural Progenitor Cell) i allogeniczne UCB. Krew pępowinową podawano drogą dożylną i dotętniczą, podczas gdy OEC, NSC i NPC były przeszczepiane neurochirurgicznie bezpośrednio do ośrodkowego układu nerwowego: płynu mózgowo-rdzeniowego lub mózgu, ponieważ OEC, NSC i NPC trudniej przechodzą przez barierę krew-mózg. Biorąc pod uwagę zróżnicowane typy komórek i zróżnicowane dawki komórek, metaanaliza dotycząca zależności efektów od dawki nie była możliwa. W dwóch z pięciu badań efekty terapii oceniano w okresie 1-miesiąca po podaniu komórek macierzystych, podczas gdy w pozostałych badaniach okres ten był dłuższy i wynosił 3–6 miesięcy po przeszczepie. Tylko w jednym badaniu oceniano efekty w okresie 12-miesięcznym. We wszystkich pięciu badaniach opisywano korzyści z podaży komórek macierzystych w odniesieniu do poprawy funkcji motorycznych. Do oceny użyto skali Gross Motor Function Measure (GMFM). W czterech z pięciu badań różnice w poprawie funkcji motorycznych w skali GMFM były istotne statystycznie, na korzyść grup, w których zastosowano terapię komórkami macierzystymi. Ogółem komórki macierzyste zastosowane wraz z rehabilitacją lub bez miały większy wpływ na poprawę funkcji motorycznych (w odniesieniu do GMFM) niż sama rehabilitacja. Należy jednak zauważyć, że metodyka badań była niejednorodna. Metaanaliza przeprowadzona przez Novak i wsp. [4] wykazała, że terapia komórkami macierzystymi u osób z MPD ma niewielki, ale znaczący, wpływ na ogólną poprawę zdolności motorycznych. Warto zwrócić uwagę, że w badaniu Min i wsp., w którym podzielono pacjentów w zależności od wieku, za punkt odcięcia przyjmując 36 miesięcy, młodsze dzieci wykazywały większą poprawę w grupie UCB w zakresie wszystkich głównych parametrów, podczas gdy starsze dzieci wykazywały tylko poprawę w skali psychicznej BSID-II (ang. Bayley Scales of Infant Development) w okresie 0–3 miesięcy [28]. Młodsze dzieci, nie tylko w grupie UCB, ale także w grupie otrzymującej erytropoetynę, wykazywały lepsze wyniki niż grupa kontrolna w badaniu skalą GMFM w odstępie 3–6 miesięcy. Badania ujęte w omawianej metaanalizie przedstawiono w tabeli II [4].

W 2018 r. kolejnej metaanalizy dotyczącej wpływu terapii komórkami macierzystymi na poprawę funkcji motorycznych u dzieci z MPD dokonali Ashrafi i wsp. [42]. W analizie ujęli wyłącznie badania kliniczne dotyczące wpływu terapii na poprawę funkcji motorycznych. Kryteria wykluczenia były następujące: artykuły przeglądowe lub obserwacyjne i badania z niepełnymi danymi, artykuły napisane w dowolnym języku innym niż angielski i materiały niepublikowane. Łącznie metaanalizą objęto 6 badań. Ba-

Tab. II. Charakterystyka badań ujętych w metaanalizie Novak et al. Concise Review: Stem Cell Interventions for People With Cerebral Palsy: Systematic Review With Meta-Analysis. Stem Cells [4].
Tab. II. Summary of findings from meta-analysis Novak et al. Concise Review: Stem Cell Interventions for People With Cerebral Palsy: Systematic Review With Meta-Analysis. Stem Cells [4].

Autorzy Authors	Kraj Country	Rodzaj badania Method	Grupa badana (N) Participants	Rodzaj interwencji Intervention	Rodzaj komórek macierzystych Cell Type	Dawka Cell dose	Źródło komórek macierzystych Cell source	Droga podania Transplant method	Wyniki Outcomes	Zdarzenia niepożądane Associated risks
Chen et al. [39]	Chiny	RCT	MPD Postać: niedefiniowana Ciężkość: nieokreślona Wiek 1-12 lat N=33	Grupa 1: K M+rehabilitacja (n=18, ukończyło badanie n=6) Grupa 2: rehabilitacja (n=15, ukończyło badanie n=8)	OECs	Pojędyńcza dawka 2×10^6 OECs	Opuszka wędchowa poronionych płodów (po uzyskaniu zgody rodziny)	Obustronnie podanie do więźca promiennistego płatów czołowych	Pod koniec 6-miesięcznego okresu obserwacji wynik GMFM-66 w grupie leczonej OEC wynosił $26,67 \pm 25,33$, czyli był wyższy niż $19,00 \pm 20,00$ kontroli ($t = -2,823$, $p = 0,037$).	Nie obserwowano
Chen et al. [40]	Chiny	Badanie kliniczne nierandomizowane	MPD Postać: niedefiniowana Ciężkość: GMFCS: III-V Wiek: 1-32 lata	Grupa 1: KM+rehabilitacja (n=30) Grupa 2: rehabilitacja (n=30)	NSC-like	2 dawki w odstępie 3 tygodni $1-6 \times 10^7$ NSCs	Wyizolowane MSCs z autologicznego szpiku kostnego poddane in vitro idukcji i separacji do NSCs	Przestrzeń podpajęczynówkowa L3-L5	W 1,3 i 6 miesiącu: Poprawa w zakresie GMFM-66 na korzyść grupy badanej w 1 miesiącu $p=0,09$, w 3 m-cu $p=0,01$ w 6 m-cu $p=0,001$ Nie wykazana różnica istotnych statystycznie w zakresie poprawy komunikacji (Gesell LDQ).	Nie obserwowano
Kang et al. [38]	Korea Płd.	RCT	MPD Postać: niedefiniowana Ciężkość: GMFCS I-V Wiek: 6/12-20 lat	Grupa 1: KM (n=17) Grupa 2: placebo (n=17) Nie zapewniano rehabilitacji	UCB	Pojędyńcza dawka 2×10^7 UCB	Allogeniczny dawca UCB z banku komórek macierzystych	I.v. i i.a.	Grupa UCB wykazywała większą poprawę siły mięśni niż kontrolna w 1 (0,94 vs. -0,35 odpowiednio) i 3 miesiącu (2,71 vs. 0,65) po leczeniu (Ps <0,05). Grupa UCB wykazała również większą poprawę sprawności ruchowej niż grupa kontrolna po 6 miesiącach (8,54 vs. 2,60) po leczeniu (P <0,01). Dodatkowo, skany pozytonowej tomografii emisyjnej ujawniły zmniejszone zapalenie okołokomorowe u pacjentów, którym podawano UCB, w porównaniu z pacjentami leczonymi placebo.	Nie obserwowano

Luan et al. [41]	Chiny	RCT	MPD Postać: spastyczna, dyskinetyczna, mieszana Ciężkość: GMFCS I-V Wiek: 0-3,5 lat	Grupa 1: KM+rehabilitacja (n=45) Grupa 2: rehabilitacja (n=49)	NPCs	Pojedyncza dawka 8-10 x 10 ⁶ NPCs	Allogeniczny: NPCs uzyskane z przodków zgowia płodów poddanych aborcji, a następnie hodowane i rozmnażane in vitro przez 2-3 tygodnie	Podanie dokomorowo przez niezarośnięte ciemiączko lub metodą trepanacji	Istotna statystycznie poprawa funkcji motorycznych w 1, 6 i 12 m-cu po podaniu NPCs oceniana w skali GMFMS-66 i PDMS-FM, nie oceniono jednak różnic między grupami. Po roku poprawa motoryki dużej, małej i funkcji poznawczych na korzyść grupy badanej (p<0,001) (opracowana przez badaczy lista kontrolna)	1 pacjent z grupy 1: drobne ogniskoa krwotoczne w korze po stronie podania NPCs, manifestujące się słabo nasioloną gorączką i ośrodkowym porażeniem N VII, objawy ustąpiły po 2 tygodniach. 6 pacjentów: gorączka nieinfekcyjna trwająca 1-7 dni.
Min et al. [28]	Korea Płd.	RCT	MPD Postać: niezdefiniowana Ciężkość: nieokreślona Wiek: 10/12 – 10 lat	Grupa 1: KM + erytropoetyna + rehabilitacja (n=35) Grupa 2: erytropoetyna + rehabilitacja + placebo KM (n=36) Grupa 3: rehabilitacja + placebo KM + placebo erytropoetyny	UCB	Pojedyncza dawka 3 x 10 ⁶ /kg UCB	Allogeniczny dawca z banku komórek macierzystych	i.v.	W 6 miesiącu obserwacji poprawa funkcji motorycznych określonych w skali GMPM (p <0,010) i BSID-II (p <0,002) na korzyść grupy badanej. Poprawa funkcji poznawczych w skali BSID-II ((p <0,008) i „social cognition” scale WeeFIM ((p <0,013)	3 pacjentów z grupy 1: zapalenie płuc, grypa, zgon (dziecko z porażeniem czterokńczynowym, trudności z karmieniem, brak zgody rodziców na założenie sondy, zgon w wieku 25 m-cy, 14 m-cy po podaniu UCB) 3 pacjentów z grupy 2: zapalenie płuc (2), drwawki. 3 pacjentów z grupy 3: zapalenie płuc, grypa, ZUM

daniem nie ujętym w poprzedniej metaanalizie było badanie Wanga i wsp. z 2013 r. na grupie 46 pacjentów z MPD, w wieku od 6 miesięcy do 15 lat, GMFCS I–V, którzy przeszli terapię BM–MSC [43]. Podaży BM–MSC dokano drogą dokanałową, do oceny funkcji motorycznych użyto skali GMFM–88 i GMFM–66 w 1, 6 i 18 miesiącu po podaży komórek macierzystych, wykazując istotną statystycznie poprawę funkcji motorycznych w porównaniu z oceną przed terapią, nie obserwowano istotnych zdarzeń niepożądanych [43]. Kolejną pracą w metaanalizie było badanie meksykańskie Mancias-Guerra i wsp. z 2013 r. obejmujące 18 pacjentów z MPD, w wieku od 2 do 5,5 lat, którym podano dokanałowo i dożylnie komórki macierzyste (autologiczne BM–TNC, ang. bone marrow-derived total nucleated cells) [44]. Funkcje motoryczne, poznawcze, komunikacyjne, osobowo-społeczne i adaptacyjne oceniano na początku, po 1 i 6 miesiącach po zabiegu, korzystając z Battelle Developmental Inventor. Wczesne działania niepożądane obejmowały ból głowy, wymioty, gorączkę i sztywność karku u trzech pacjentów. Nie udokumentowano żadnych poważnych komplikacji. Zaobserwowano 4,7-miesięczny wzrost wieku rozwojowego według Battelle Developmental Inventory, obejmujący wszystkie obszary oceny. Nie stwierdzono zmian MRI po 6 miesiącach obserwacji. Z kolei w badaniach Zali i wsp. z 2014 r. dwanaście irańskich dzieci z MPD, wieku od 4 do 10 lat, poddano dooponowej iniekcji CD133 dodatnich komórek progenitorowych szpiku kostnego [45]. Po 6 miesiącach obserwacji zaobserwowano istotną statystycznie poprawę w skali GMFM, GMFCS, FIM+FAM, Ashworth Scale i BBS. Nie stwierdzono istotnych zdarzeń niepożądanych z wyjątkiem napadu u 9-letniego pacjenta z rozpoznaną padaczką, u którego 3 lata przed podażą komórek macierzystych odstawiono leki przeciwpadaczkowe, napad wystąpił 6 miesięcy po podaży komórek macierzystych.

Nie objęto w powyższych metaanalizach opublikowanego w 2018 r. badania randomizowanego kontrolowanego, z pojedynczą ślepą próbą Huang i wsp., w którym oceniano efekty terapii hUCB–MSC u dzieci z MPD [46]. Badanie objęło 56 pacjentów, losowo przydzielonych do grupy kontrolnej i badanej. Wszyscy pacjenci w grupie badanej otrzymywali dożylnie wlewy hUCB–MSC oraz rehabilitację (2 x dziennie przez 40 min, 6 dni w tygodniu). Chorym podawano UCB–MSC w dniu 1 po randomizacji, a następnie 3 wlewy w każdym kursie w odstępie 7 dni między infuzjami. W odstępie 3-miesięcznym przeprowadzono 2 kursy podań (hUCB–MSC podawano w ustalonej ilości jako 5×10^7 komórek po rozcieńczeniu w 30 ml 0,9% NaCl). Pacjenci z grupy kontrolnej otrzymywali dożylnie wlewy 30 ml 0,9 % NaCl w schemacie takim jak grupa badana oraz rehabilitację. W trakcie badania nie obserwowano poważnych zdarzeń niepożądanych. Oceny funkcji motorycznych oraz poprawy funkcjonowania dokonano na podstawie GMFM–88 i CFA (ang. comprehensive functional assessment scale) w 3, 6, 12 i 24 miesiącu po infuzjach. Poprawa w stosunku do stanu wyjściowego była istotnie statystycznie wyższa w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną, zarówno w skali GMFM–88, jak i CFA. W grupie badanej istotną poprawę kliniczną w zakresie wszystkich pięciu obszarów ujętych w GMFM–88

zaobserwowano w 12 i 24 miesiącu po infuzji. W grupie kontrolnej nie obserwowano istotnej klinicznie poprawy w zakresie funkcjonowania. Wyniki przeprowadzonego badania wskazują, że terapia hUCB–MSC z podstawową rehabilitacją jest bezpieczną i potencjalnie skuteczną metodą dzięki której można uzyskać poprawę funkcji motorycznych i ogólnego funkcjonowania u dzieci z MPD [46].

Kolejnym badaniem oceniającym poprawę funkcji motorycznych po autologicznym przeszczepie UCB (aUCB, ang. Autologous Umbilical Cord Blood) jest praca Sun i wsp., jest to badanie randomizowane z podwójnie ślepą próbą i skrzyżowane, którym objęto łącznie 63 dzieci z MPD w wieku od 1 do 6 lat [47]. Pacjentom podano pojedynczą dawkę ($1-5 \times 10^7$ /kg) komórek jądrzastych aUCB. Chorzy byli losowo przydzielani do grupy otrzymującej aUCB lub placebo na początku badania, rok później grupy skrzyżowano, chorzy z grupy aUCB otrzymali placebo, a z grupy placebo – aUCB. Pomimo, że nie zaobserwowano różnicy w wynikach pomiaru funkcji motorycznych (GMFM–66) po 1 roku pomiędzy placebo i grupą leczoną, w grupie leczonej stwierdzono efekt zależny od dawki. W analizie po 1 roku leczenia po aUCB osoby, które otrzymały dawki $\geq 2 \times 10^7$ / kg, wykazywały istotnie większy wzrost wyników GMFM–66. Wyniki tego badania sugerują, że odpowiednio podawany i w odpowiednich dawkach wlew aUCB może poprawić funkcje motoryczne u małych dzieci z MPD [47].

W 2018 r. ukazało się badanie Nguyen i wsp., które oprócz oceny wpływu terapii komórkami macierzystymi na poprawę funkcji motorycznych brało pod uwagę wpływ leczenia na jakość życia [48]. Badanie obejmowało grupę 30 pacjentów z MPD, w wieku od 2 do 15 lat, ocenionych w GMFCS od II do V, którym w odstępach 3 miesięcznych podano dooponowo autologiczne komórki macierzyste szpiku kostnego (BM–MNC, ang. bone marrow mononuclear cells). Funkcję motoryczną i napięcie mięśniowe pacjentów oceniano odpowiednio za pomocą skali GMFM–88 i zmodyfikowanej skali Ashwortha. Jakość życia oceniano na początku i 6 miesięcy po pierwszym przeszczepie BM MNC przy użyciu wietnamskiej wersji Kwestionariusza Jakości Życia dla dzieci z MPD (CP QOL–Child). Stwierdzono zmiany w funkcji motorycznej i spastyczności mięśni u dzieci, o czym świadczy całkowity wynik GMFM–88 oraz dla poszczególnych domen ($P < 0,001$). Sześć miesięcy po przeszczepach wyniki QOL dzieci z MPD były znacznie zwiększone ($P < 0,001$) dla wszystkich domen, z wyjątkiem domeny dostępu do usług. Na podstawie przeprowadzonej analizy badacze doszli do wniosku, że jakość życia dzieci z MPD uległa zauważalnej poprawie 6 miesięcy po przeszczepie BM MNC i towarzyszyła mu poprawa funkcji motorycznych i napięcia mięśniowego.

RYZIKO ZWIĄZANE Z TERAPIĄ KOMÓRKAMI MACIERZYSTYMI I EWENTUALNE DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE

Większość przeprowadzonych do tej pory badań klinicznych wskazuje, że terapia komórkami macierzystymi jest dobrze tolerowana i bezpieczna [7]. Jak wynika z przeprowadzonej przez Novak i wsp. metaanalizy z 2016 r. poważne zdarzenia niepożądane związane z przeszczepie-

niem komórek macierzystych zgłoszono w dwóch z pięciu włączonych do analizy badań [4, 28, 41] i obejmowały śmierć jednego uczestnika w badaniu Min i wsp. [28]. Przyczyna śmierci była nieznana, ale warto zauważyć, że było to dziecko z porażeniem czterokończynowym i trudnościami w karmieniu, u którego rodzina nie wyraziła zgody na wdrożenie żywienia dojelitowego. Z kolei w badaniu Luan i wsp. u 1 pacjenta z grupy badanej wystąpiło drobne ognisko krwotoczne w korze po stronie podania NPCs, manifestujące się słabo nasiloną gorączką i ośrodkowym porażeniem nerwu twarzonego; objawy ustąpiły po 2 tygodniach. Pozostałe zdarzenia niepożądane zarejestrowane we wszystkich pięciu badaniach (n=6) były równo rozłożone na grupy, które otrzymały komórki macierzyste oraz grupy kontrolne [4] (tabela II).

Istotną kwestią poruszoną w badaniu Drobyshevsky'ego na zwierzętach jest dawka, droga i czas podania, ponieważ autorzy stwierdzili, że wysoka dawka ludzkich komórek UCB (>5 milionów) była początkowo związana z wysoką śmiertelnością [49]. Zauważyli jednak, że śmiertelność zmniejszyła się, gdy zwiększyli czas trwania infuzji komórek. Potencjalną przyczyną tej wysokiej śmiertelności może być zastosowana droga podania. W przytoczonym badaniu wybrano drogę dożylną; dlatego „pierwsze przejście” komórek nastąpiło przez krążenie płucne, zanim komórki przeszły przez resztę ciała. Istnieją dowody na modelach zwierzęcych, że to „pierwsze przejście” jest krytyczne ze względu na wysokie ryzyko uwięzienia komórek w naczyniach płucnych, co prowadzi do późniejszej zatorowości płucnej, a w konsekwencji wysokiej śmiertelności [50, 51]. Ryzyko to wzrasta wraz ze wzrostem liczby podanych komórek [52]. Dla porównania, w badaniu Aridas i wsp. komórki macierzyste podawano owcom przez tętnicę ramienną, w wyniku czego były one dostarczane początkowo bezpośrednio do aorty wstępującej [53]. Oznacza to, że komórki przeszły przez mózg przed dotarciem do krążenia płucnego, potencjalnie zwiększając szansę wejścia do mózgu. Wyzwania związane z tą drogą obejmują zwiększone ryzyko zatoru mózgowego w sieci naczyń włosowatych, co może wiązać się z ciężkimi powikłaniami, w tym z udarem. Jednak w cytowanym badaniu nie wykazano zwiększonego ryzyka incydentów mózgowych po podaniu drogą tętnicy ramiennej komórek UCB, należy jednak uznać, że droga ta nie byłaby stosowana klinicznie i należy to wziąć pod uwagę przy określaniu optymalnej drogi i dawki do podawania UCB [53]. Warto podkreślić, że dane z badań klinicznych oceniających bezpieczeństwo wyraźnie pokazały, że dożylne podawanie UCB w dawkach do 50 milionów komórek/kg masy ciała niemowlętom i dzieciom jest bezpieczne, a zatorowość płucna nie była odnotowana w żadnym z badań [8, 28, 54, 55].

PODSUMOWANIE

Na podstawie dostępnego piśmiennictwa i przeprowadzonych do tej pory badań *in vitro* oraz badań klinicznych można stwierdzić, że terapia komórkami macierzystymi może mieć wpływ na poprawę funkcjonowania dzieci z MPD, zarówno w sferze motoryki jak i komunikacji. Nadal jednak pozostaje wiele pytań, między innymi jaki

rodzaj komórek i jakie źródło jest optymalne w terapii. W dotychczas prowadzonych badaniach stosowano różne rodzaje komórek i różne ich źródła, a wyniki wskazują, że każdy z rodzajów komórek macierzystych ma swoje zalety i wady [56]. Jeśli chodzi o źródło komórek macierzystych, dużą zaletą UCB oraz WJ–MSC w leczeniu MPD jest ich dostępność, dobra tolerancja na niedopasowanie HLA między dawcą a biorcą oraz zmniejszenie GVHD. Na podstawie wyników na modelach zwierzęcych i badań klinicznych można powiedzieć, że w porównaniu z innymi typami komórek macierzystych, te z UCB mają również przewagę pod względem bezpieczeństwa leczenia w MPD, skuteczności, łatwości pozyskania, proliferacji nienowotworowej, łatwości konserwacji i regulacji odpowiedzi immunologicznych [56]. Oba źródła – krew pępowinowa jak i sznur pępowinowy znajdują zastosowanie w terapii dzieci z MPD. Brak jest jak na razie jednoznacznych dowodów, które źródło komórek jest optymalne. Warto jednak wspomnieć, że w toku jest badanie porównujące krew pępowinową oraz MSC uzyskane ze sznura pępowinowego [57]. Wykorzystanie komórek pochodzących z BM nie jest zawsze zadowalające z powodu inwazyjności pozyskania i wysokiego ryzyka ekspozycji wirusowej oraz znacznej redukcji populacji komórek i zmniejszającej się zdolności do proliferacji / różnicowania wraz z wiekiem dawcy [56]. Komórki MSC i UCB można uzyskać metodami niebudzącymi kontrowersji natury moralnej, natomiast NSC nie można bezpiecznie uzyskać od dorosłych dawców i dlatego należy je uzyskać ze źródeł embrionalnych lub płodowych bądź hodować autologicznie z indukowanych komórek pluripotencjalnych, co budzi zastrzeżenia natury etycznej.

Jeśli chodzi o rodzaj komórek macierzystych, mezenchymalne komórki macierzyste są świetnymi kandydatami do terapii, ponieważ są łatwo dostępne; izolacja jest nieskomplikowana a komórki mają duży potencjał proliferacyjny [13, 56]. Z kolei NSC, były obiecujące na modelach zwierzęcych i w badaniach przedklinicznych leczenia uszkodzeń neurologicznych, ale w praktyce są trudniej dostępne, a ich niewielka populacja utrudnia dopasowanie immunologiczne do terapii komórkowej [56]. Krwiotwórcze komórki macierzyste również wykazują potencjał naprawy uszkodzeń mózgu ze względu na ich zdolność do indukcji angiogenezy i neurogenezy, ale aspiracja szpiku kostnego pacjenta w celu ich pozyskania jest zabiegiem inwazyjnym i łączy się z ryzykiem infekcji [56]. Zastosowanie zarodkowych komórek macierzystych (ESC, ang. embryonic stem cells) i ich „sztucznych odpowiedników” – indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC, ang. induced pluri-potent stem cells) wiąże się z zagrożeniem jakim jest z jednej strony zdolność ESC i iPSC do różnicowania we wszystkie rodzaje tkanek, z drugiej ich mniejsza podatność na poddawanie się regulacji poprzez kontakt komórkowy lub sygnalizację na drodze cytokiny/receptor, co może przyczyniać się do powstawania potworniaków [13].

Kolejnym zagadnieniem jest droga podania komórek macierzystych. W dotychczas przeprowadzonych badaniach klinicznych stosowano różne drogi podania. Jak

wykazały przeprowadzone badania droga podaży dożylniej, przy zachowanym odpowiednim dawkowaniu jest bezpieczną metodą, ale nadal otwartym pozostaje pytanie skuteczności migracji komórek do miejsca uszkodzenia i przekraczanie bariery krew-mózg. Przeszczep MSC poprzez podawanie ogólnoustrojowe ma ogromny potencjał w leczeniu wielu chorób neurologicznych, jednak skuteczność terapii MSC *in vivo* nie została dobrze ustalona, a niektóre badania kliniczne przyniosły niejednoznaczne wyniki [32]. Dostarczanie komórek śródczaszkowo lub dokanałowo jest metodą inwazyjną, ale wtedy migracja komórek macierzystych jest łatwiejsza. Wewnątrzłeczące wstrzyknięcie komórek macierzystych umożliwiło lepsze ukierunkowanie na uszkodzony narząd, ale wiąże się ze wzrostem ryzyka zatoru i niedokrwienia. Dootrzewnowe i podskórne zastrzyki są łatwymi i bezpiecznymi metodami, ale wówczas komórki macierzyste muszą migrować na dużą odległość [56]. W bazie badań klinicznych prowadzonej przez NLM i NIH, zarejestrowane jest badanie ukierunkowane na ocenę skuteczności i bezpieczeństwa mezenchymalnych komórek macierzystych pochodzących z pępownicy (MSC-UC) i porównujące ich skuteczność w przypadku podania drogą dożylną, dooponową i donosową w leczeniu porażenia mózgowego u dzieci. Aktualnie badanie jest w toku, a jego zakończenie planowane jest na grudzień 2020 r. [58].

Wyniki badań wykazały, że również inne czynniki, takie jak wiek pacjentów i odstęp czasu między powstaniem urazu a podaniem komórek macierzystych u pacjentów z MPD wpływają na wyniki terapii komórkowej [59]. Biorąc pod uwagę, że mechanizm działania komórek macierzystych wiąże się, między innymi, z ich działaniem zmniejszającym stan zapalny i immunomodulacją, a przekroczenie BBB jest w łatwiejsze w ostrych stanach zapalnych, zasadne wydaje się podanie komórek macierzystych jak najwcześniej od urazu. Kolejnym argumentem przemawiającym za wczesną interwencją jest plastyczność układu nerwowego, która zmniejsza się wraz z wiekiem. Jednak podczas przeprowadzania badań klinicznych nad komórkami macierzystymi u noworodków z okołoporodowym uszkodzeniem mózgu, pojawiają się kontrowersje natury etycznej. Po pierwsze dzieci te mają wiele do zyskania, ale także wiele do stracenia z powodu działań niepożądanych wdrażanych procedur. W związku z tym komisje bioetyczne często opowiadają się za badaniami prowadzonymi w pierwszej kolejności na populacji dorosłych, gdzie pacjent sam, a nie za pośrednictwem przedstawiciela ustawowego/rodzica może wyrazić zgodę na badanie. W związku z tym nie przeprowadzono żadnych badań klinicznych u wcześniaków, u których komórki zostały dostarczone w ostrej fazie urazu. Po drugie, nie wszystkie dzieci urodzone przedwcześnie będą niepełnosprawne. Trudno jest jednoznacznie określić w pierwszych miesiącach życia czy u dziecka zostanie rozpoznane MPD czy nie, chociaż istnieją czynniki, które w dużym stopniu będą stwarzać ryzyko nieprawidłowego rozwoju. Aktualnie pozostaje więc pytanie czy terapia komórkami macierzystymi powinna być wdrożona jako uniwersalna metoda leczenia stosowana u wszystkich pa-

cjentów przedwcześnie urodzonych w okresie noworodkowym z czynnikami ryzyka nieprawidłowego rozwoju, zważywszy, że ryzyko niepełnosprawności jest wysokie, a okres noworodkowy jest optymalnym oknem terapeutycznym pod względem efektu w ostrej fazie? Czy może jednak powinno się poczekać i zapewnić ukierunkowane terapie, gdy dzieci z określoną długotrwałą niepełnosprawnością zostaną zidentyfikowane, jednocześnie zmniejszając w ten sposób potencjalną skuteczność późnej interwencji w przewlekłej fazie uszkodzenia mózgu? Po trzecie, mechanizm działania powinien odpowiadać wskazaniu klinicznemu. Komórki, które mają właściwości przeciwzapalne i troficzne (tj. MSC i UCB) będą teoretycznie najbardziej korzystne podczas ostrego okresu uszkodzenia układu nerwowego. W przypadku podawania w fazie przewlekłej możliwe jest uzyskanie mniejszych przyrostów dzięki efektom troficznym i pojawiającym się dowodom, że stan zapalny utrzymuje się w trzeciorzędowej fazie uszkodzenia. Przeciwnie, komórki które mają zdolność regeneracyjną (tj. NSC), są lepszym materiałem terapeutycznym dla przewlekłego stadium urazu.

Biorąc pod uwagę wyzwania związane z prowadzeniem badań nad komórkami macierzystymi dla wcześniaków, do tej pory dostępna jest ograniczona ich ilość, jednak Rudnicki i wsp. ocenili bezpieczeństwo i możliwość autologicznych przeszczepów UCB u noworodków urodzonych przedwcześnie (<32 tygodnie), u których rozwinęła się niedokrwistość z powodu wcześniactwa, a wyniki wykazały, że autologiczny przeszczep UCB u wcześniaków był ogólnie bezpieczny i dobrze tolerowany [60]. Niedawno opublikowane przez Ahn i wsp. wyniki badań I fazy terapii UCB-MSc u wcześniaków z ciężkim IVH (stopień 3-4) wykazały, że dokomorowe podanie UCB-MSc było bezpieczne, a przeszczepienie komórek w obu dawkach nie było związane z żadnymi poważnymi zdarzeniami niepożądanymi lub toksycznością ograniczającą dawkę, przy braku przypadków śmiertelności w grupie 9 niemowląt [61]. Aktualnie prowadzone są badania fazy IIa, które obejmują 22 noworodków z IVH w stopniu 3 i 4, urodzonych między 22-34 tygodniem ciąży [62]. Biorąc pod uwagę powyższe cytowania otwartym pozostaje pytanie czy terapię komórkami macierzystymi wdrażać jako prewencję u noworodków z wysokim ryzykiem nieprawidłowego rozwoju czy u dzieci z już rozpoznany MPD. Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań wydaje się zasadne objęcie badaniami zarówno noworodków, u których możemy się spodziewać lepszych efektów terapii, jak i niemowląt i dzieci starszych z już rozpoznany MPD, które również mogą odnieść korzyści z takiego leczenia.

Podsumowując – w oparciu o dotychczas przeprowadzone badania można stwierdzić, że terapia komórkami macierzystymi może przynieść obiecujące efekty w leczeniu dzieci z MPD. Ocena efektów skuteczności terapii wymaga jednak dalszych, badań klinicznych (najlepiej randomizowanych z placebo i podwójnie ślepą próbą) m. in. w celu ustalenia rodzaju/źródła komórek macierzystych, dawkowania oraz sposobu i czasu podania. Z uwagi na wzrastające zainteresowanie tą terapią, również ze strony rodziców, na co wskazują między innymi dane z PBKM o zwiększeniu

ilości przeszczepów w ostatnich 3 latach, konieczne wydają się być przeprowadzenie kolejnych kontrolowanych badań klinicznych, aby nie narażać pacjentów na kosztowną terapię eksperymentalną, ale ustalić standardy pozwalające na zwiększenie efektywności takiego leczenia.

PIŚMIENNICTWO:

- [1] Steinborn B.: Neurologia wieku rozwojowego. PZWL, Warszawa 2017.
- [2] PTND pod redakcją Steinborn B.: Standardy postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w schorzeniach układu nerwowego u dzieci i młodzieży. BiFolium, Lublin 2013.
- [3] Hallman-Cooper J.M., Scott C.D.: Cerebral Palsy. StatPearls Publishing; 2019. Address: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538147/#article-19188.s2>.
- [4] Novak I., Walker K., Hunt R.W., et al.: Concise Review: Stem Cell Interventions for People With Cerebral Palsy: Systematic Review With Meta-Analysis. *Stem Cells Transl Med* 2016; 5: 1014–1025.
- [5] Rizk M., Aziz J., Shorr R., et al.: Cell-Based Therapy Using Umbilical Cord Blood for Novel Indications in Regenerative Therapy and Immune Modulation: An Update Systemic Scoping Review of the Literature. *Biol Blood Marrow Transpl* 2017; 23: 1607–1613.
- [6] California Institute for Regenerative Medicine. Cerebral Palsy Workshop 2012 Address: <http://www.cirm.ca.gov>
- [7] Jantzie L.L., Scafidi J. and Robinson Sh.: Stem cells and cell-based therapies for cerebral palsy: a call for rigor. *Ped Res* 2018; 83: 345–355.
- [8] McDonald C.A., Fahey M.C., Jenkin G., et al.: Umbilical cord blood cells for treatment of cerebral palsy; timing and treatment options. *Pediatr Res* 2018; 83: 333–344.
- [9] Zestawienie leczonych pacjentów. Polski Bank Komórek Macierzystych: Address: <https://www.pbkm.pl/o-komorkach-macierzystych/lista-przeszczepien-pbkm>
- [10] Mukai T., Tojo A., Nagamura-Inoue T.: Mesenchymal stromal cells as potential therapeutic for neurological disorders. *Regen Ther* 2018; 9: 32–37.
- [11] Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., et al.: Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8: 315–317.
- [12] Horwitz E.M., Le Blanc K., Dominici M., et al.: Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2005; 7: 393–395.
- [13] Pojda Z., Machaj E., Kurzyk A., et al.: Mezenchymalne komórki macierzyste. *Postępy Biochem* 2013; 59: 187–197.
- [14] Jiao Y., Li X., Liu J.: A New Approach to Cerebral Palsy Treatment: Discussion of the Effective Components of Umbilical Cord Blood and its Mechanisms of Action. *Cell Transplant* 2019; 28: 497–509.
- [15] Park D.H., Lee J.H., Borlongan C.V., et al.: Transplantation of umbilical cord blood stem cells for treating spinal cord injury. *Stem Cell Rev* 2011; 7: 181–194.
- [16] Park D.H., Borlongan C.V., Willing A.E., et al.: Human umbilical cord blood cell grafts for brain ischemia. *Cell Transplant* 2009; 18: 985–998.
- [17] Kalaszczynska I., Ferdyn K.: Wharton's Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells: Future of Regenerative Medicine? Recent Findings and Clinical Significance. *Biomed Res Int* 2015; Article ID 430847.
- [18] Chen J., Sanberg P.R., Li Y., et al.: Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke* 2001; 32: 2682–2688.
- [19] Lu D., Sanberg P.R., Mahmood A., et al.: Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces neurological deficit in the rat after traumatic brain injury. *Cell Transplant* 2002; 11: 275–281.
- [20] Hall A.A., Guyer A.G., Leonardo C.C., et al.: Human umbilical cord blood cells directly suppress ischemic oligodendrocyte cell death. *J Neurosci Res* 2009; 87: 333–341.
- [21] Li J., McDonald C.A., Fahey M.C., et al.: Could cord blood cell therapy reduce preterm brain injury? *Front Neurol* 2014; 5: Article 200.
- [22] Geissler M., Dinse H.R., Neuhoff S., et al.: Human umbilical cord blood cells restore brain damage induced changes in rat somatosensory cortex. *PLoS ONE* 2011; 6:e20194.
- [23] Meier C., Middelani J., Wasielewski B., et al.: Spastic paresis after perinatal brain damage in rats is reduced by human cord blood mononuclear cells. *Pediatr Res* 2006; 59: 244–249.
- [24] Pimentel-Coelho P.M., Magalhaes E.S., Lopes L.M., et al.: Human cord blood transplantation in a neonatal rat model of hypoxic-ischemic brain damage: functional outcome related to neuroprotection in the striatum. *Stem Cells Dev* 2010; 19: 351–358.
- [25] Park W.S., Sung S.I., Ahn S.Y., et al.: Hypothermia augments neuroprotective activity of mesenchymal stem cells for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *PLoS ONE* 2015; 10:e0120893.
- [26] Kim D.K., Nishida H., An S.Y., et al.: Chromatographically isolated CD63+CD81+ extracellular vesicles from mesenchymal stromal cells rescue cognitive impairments after TBI. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: 170–175.
- [27] Bae S.H., Kong T.H., Lee H.S., et al.: Long-lasting paracrine effects of human cord blood cells on damaged neocortex in an animal model of cerebral palsy. *Cell Transplant* 2012; 21: 2497–2515.
- [28] Min K., Song J., Kang J.Y., et al.: Umbilical cord blood therapy potentiated with erythropoietin for children with cerebral palsy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Stem Cells* 2013; 31: 581–591.
- [29] Bae S.H., Lee H.S., Kang M.S., et al.: The levels of pro-inflammatory factors are significantly decreased in cerebral palsy patients following an allogeneic umbilical cord blood cell transplant. *Int J Stem Cells* 2012; 5: 31–38.
- [30] Lin M.N., Shang D.S., Sun W., et al.: Involvement of PI3K and ROCK signaling pathways in migration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells through human brain microvascular endothelial cell monolayers. *Brain Res* 2013; 1513: 1–8.
- [31] Matsushita T., Kibayashi T., Katayama T., et al.: Mesenchymal stem cells transmigrate across brain microvascular endothelial cell monolayers through transiently formed inter-endothelial gaps. *Neurosci Lett* 2011; 502: 41–45.
- [32] Liu L., Eckert M.A., Riazifar H., et al.: From blood to the brain: can systemically transplanted mesenchymal stem cells cross the blood-brain barrier? *Stem Cells Int* 2013; 2013: 435093.
- [33] Chen A., Siow B., Blamire A.M., et al.: Transplantation of magnetically labeled mesenchymal stem cells in a model of perinatal brain injury. *Stem Cell Res* 2010; 5: 255–266.
- [34] Papadopoulos K.I., Low S.S., Aw T.C., et al.: Safety and feasibility of autologous umbilical cord blood transfusion in 2 toddlers with cerebral palsy and the role of low dose granulocyte-colony stimulating factor injections. *Restor Neurol Neurosci* 2011; 29: 17–22.
- [35] Paton M.C.B., Allison B.J., Li J., et al.: Human Umbilical Cord Blood Therapy Protects Cerebral White Matter from Systemic LPS Exposure in Preterm Fetal Sheep. *Dev Neurosci* 2018; 40: 258–270.
- [36] Beldick S.R., Hong J., Altamentova S., et al.: Severe-combined immunodeficient rats can be used to generate a model of perinatal hypoxic-ischemic brain injury to facilitate studies of engrafted human neural stem cells. *PLoS One* 2018; 13: 1–22.
- [37] Search results for: cerebral palsy, stem cells, <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=cerebral+palsy+stem+cell&term=&cntry=&state=&city=&dist=>
- [38] Kang M., Min K., Jang J. et al.: Involvement of immune responses in the efficacy of cord blood cell therapy for cerebral palsy. *Stem Cells Dev* 2015; 24: 2259–2268.
- [39] Chen L., Huang H., Xi H., et al.: Intracranial transplant of olfactory ensheathing cells in children and adolescents with cerebral palsy: A randomized controlled clinical trial. *Cell Transplant* 2010; 19: 185–191.
- [40] Chen G., Wang Y., Xu Z., et al.: Neural stem cell-like cells derived from autologous bone mesenchymal stem cells for the treatment of patients with cerebral palsy. *J Transl Med* 2013; 11: 21–32.
- [41] Luan Z., Liu W., Qu S., et al.: Effects of Neural Progenitor Cell transplantation in Children With Severe Cerebral Palsy. *Cell Transplant* 2012; 21: 91–98.
- [42] Ashrafi F., Zali A.R., Pakdaman H., et al.: A Review on Stem Cell Therapy in Cerebral Palsy with a Focus on Motor Function Improvement. *Arch Neurosci* 2018; 5:e59387.
- [43] Wang X., Cheng H., Hua R., et al.: Effects of bone marrow mesenchymal stromal cells on gross motor function measure scores of children with cerebral palsy: a preliminary clinical study. *Cytotherapy* 2013; 15: 1549–1562.
- [44] Mancias-Guerra C., Marroquin-Escamilla A.R., Gonzalez-Llano O., et al.: Safety and tolerability of intrathecal delivery of autologous bone marrow nucleated cells in children with cerebral palsy: an open-label phase I trial. *Cytotherapy* 2014; 16: 810–820.
- [45] Zali A., Arab L., Ashrafi F., et al.: Intrathecal injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells in children with cerebral palsy: feasibility and safety. *Cytotherapy* 2015; 17: 232–241.
- [46] Huang L., Zhang Ch., Gu J., et al.: A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Human Umbilical Cord Blood Mesenchymal Stem Cell Infusion for Children With Cerebral Palsy. *Cell Transplant* 2018; 27: 325–334.
- [47] Sun J.M., Song A.W., Case L.E., et al.: Effect of Autologous Cord Blood Infusion on Motor Function and Brain Connectivity in Young Children

- with Cerebral Palsy: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Stem Cells Transl Med* 2017; 6: 2071–2078.
- [48] Nguyen T.L., Nguyen H.P., Nguyen T.K.: The effects of bone marrow mononuclear cell transplantation on the quality of life of children with cerebral palsy. *Health Qual Life Outcomes* 2018; 16: 164.
- [49] Drobyshevsky A., Cotten C.M., Shi Z., et al.: Human umbilical cord blood cells ameliorate motor deficits in rabbits in a cerebral palsy model. *Dev Neurosci* 2015; 37: 349–362.
- [50] Kean T.J., Lin P., Caplan A.I., et al.: MSCs: delivery routes and engraftment, cell-targeting strategies, and immune modulation. *Stem Cells Int* 2013; 2013: Article ID 732742.
- [51] Anjos-Afonso F., Siapati E.K., Bonnet D.: In vivo contribution of murine mesenchymal stem cells into multiple cell-types under minimal damage conditions. *J Cell Sci* 2004; 117: 5655–5664.
- [52] Lee R.H., Seo M.J., Pulin A.A., et al.: The CD34-like protein PODXL and alpha6-integrin (CD49f) identify early progenitor MSCs with increased clonogenicity and migration to infarcted heart in mice. *Blood* 2009; 113: 816–826.
- [53] Aridas J.D., McDonald C.A., Paton M.C., et al.: Cord blood mononuclear cells prevent neuronal apoptosis in response to perinatal asphyxia in the newborn lamb. *J Physiol* 2016; 594: 1421–1435.
- [54] Cotten C.M., Murtha A.P., Goldberg R.N., et al.: Feasibility of autologous cord blood cells for infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr* 2014; 164: 973–979.
- [55] Romanov Y.A., Tarakanov O.P., Radaev S.M. et al.: Human allogeneic ABO/Rh-identical umbilical cord blood cells in the treatment of juvenile patients with cerebral palsy. *Cytotherapy* 2015; 17: 969–978.
- [56] Kiasatdolatabadi A., Lotfibakhshaiesh N., Yazdankhah M., et al.: The Role of Stem Cells in the Treatment of Cerebral Palsy: a Review. *Mol. Neurobiol* 2017; 54: 4963–4972.
- [57] Kurtzberg J., et al. A Study of UCB and MSCs in Children With CP: ACCeNT-CP. Address: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03473301>
- [58] Liu J.: Transplantation of Umbilical Cord-derived Mesenchymal Stem Cells Via Different Routes. Address: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03414697>
- [59] Harris D.T.: Non-haematological uses of cord blood stem cells. *Br J Haematol* 2009; 147: 177–184.
- [60] Rudnicki J., Kawa M. P., Kotowski M., et al.: Clinical evaluation of the safety and feasibility of whole autologous cord blood transplant as a source of stem and progenitor cells for extremely premature neonates: preliminary report. *Exp. Clin. Transplant* 2015; 13: 563–572.
- [61] Ahn S. Y., Chang Y. S., Sung S. I., et al.: Mesenchymal stem cells for severe intraventricular hemorrhage in preterm infants: phase i dose-escalation clinical trial. *Stem Cells Transl Med* 2018; 7: 847–856.
- [62] Won-Soon Park et al.: Efficacy and Safety Evaluation of Pneumostem® Versus a Control Group for Treatment of IVH in Premature Infants (Phase 2a) Address: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02890953>

Adres do korespondencji:

Barbara Krukowska-Andrzejczyk Oddział Pediatrii i Neurologii Wieków Rozwojowych, SPSK Nr 6 Śląskiego Uniwersytetu Medycznego Górnośląskie Centrum Zdrowia Dziecka im. Jana Pawła II, basiakruan@gmail.com