Państwo i Społeczeństwo

2018 (XVIII) nr 3

e-ISSN 2451-0858
ISSN 1643-8299

doi.org/10.31749/pismzp2018/20852

Olga Milczarek[1], Stanisław Kwiatkowski[1], Marcin Majka[2], Patrycja Swadźba[3], Jakub Swadźba[4]

1. Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Klinika Neurochirurgii Dziecięcej, Instytut Pediatrii
2. Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakład Transplantologii
3. RegenMed Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k.
4. Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego, Katedra Medycyny Laboratoryjnej

ZASTOSOWANIE WIELOKROTNYCH PODAŃ MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH POCHODZĄCYCH Z GALARETY WHARTONA W LECZENIU NIEPEŁNEGO USZKODZENIA RDZENIA KRĘGOWEGO – OPIS PRZYPADKU

Autor korespondencyjny:
Jakub Swadźba, Kraków, ul. Życzkowskiego 16
e-mail: swadzba@diag.pl

Streszczenie

Wprowadzenie: Przerwanie ciągłości rdzenia kręgowego pozostaje chorobą nieuleczalną, prowadzącą do utraty czynności neurologicznych i mechanicznych poniżej poziomu uszkodzenia. Wciąż brakuje skutecznego sposobu leczenia tego typu urazów. Terapie komórkowe są rozwijającym się intensywnie nowym sposobem leczenia, który może prowadzić do regeneracji uszkodzonego rdzenia kręgowego. Celem niniejszej pracy jest ocena bezpieczeństwa i potencjalnej skuteczności podania macierzystych komórek mezenchymalnych z galarety Whartona (*Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells* – WJMSC) u pacjenta z niekompletnym przerwaniem ciągłości rdzenia kręgowego.

Materiał i metody: Pacjent z niecałkowitym przerwaniem ciągłości rdzenia kręgowego na poziomie Th11–12, oceniony w skali ASIA (*American Spinal Injury Association Im-*

pairment Scale), został zakwalifikowany do eksperymentalnej terapii z wykorzystaniem komórek WJMSC. U pacjenta przeprowadzono terapię polegającą na pięciokrotnym podaniu komórek WJMSC, co trzy miesiące kolejna dawka.
Wyniki: W trakcie terapii nie odnotowano skutków ubocznych bezpośrednio związanych z leczeniem eksperymentalnym. Po każdym podaniu WJMSC zaobserwowano stałą poprawę neurologiczną, a co za tym idzie – poprawę jakości życia. Wynik skali ASIA pacjenta zmienił się z A/B na C/D. Poziom czucia obniżył się istotnie, z Th12 do L3–4. Pacjent odzyskał umiejętność poruszania nogami w podporze, wykorzystując czynną ruchomość mięśni czworogłowych obustronnie z przewagą kończyny dolnej lewej. EMG, ENG i SEP (*Somatosensory Evoked Potentials* – SEP) obiektywnie potwierdziły poprawę.
Wnioski: Wyniki leczenia WJMSC wskazują na obiektywną poprawę, uzyskaną u pacjenta z przewlekłym, niekompletnym uszkodzeniem rdzenia kręgowego.

Słowa kluczowe: mezenchymalne komórki macierzyste (MSC), galareta Whartona, niepełne uszkodzenie rdzenia kręgowego, medycyna regeneracyjna

Wprowadzenie

Pomimo postępu w dziedzinie leczenia urazów rdzenia kręgowego oraz wzrastającej znajomości mechanizmów biologicznych odpowiedzialnych za jego uszkodzenie i późniejszą regenerację [1], skuteczne leczenie tego typu uszkodzeń pozostaje nadal nierozwiązanym wyzwaniem nowoczesnej medycyny. Pacjenci po urazie kręgosłupa często stają się całkowicie niesamodzielni i zależni od osób trzecich. Zjawisko to generuje bardzo wysokie koszty ekonomiczne i społeczne.

Rozwój medycyny regeneracyjnej jest nadzieją dla chorych z uszkodzeniami rdzenia kręgowego. Jednym z rozwiązań terapeutycznych, proponowanych przez medycynę regeneracyjną, jest zastosowanie leczenia komórkami macierzystymi. Komórki te mają unikalne możliwości tworzenia złożonych tkanek i narządów oraz utrzymywania ich funkcji przez całe życie osobnicze [2]. Komórki macierzyste mogą być uzyskiwane z wielu źródeł, w tym z tkanek dojrzałych, płodowych i okołoporodowych [3]. W ostatnim czasie wiele badań klinicznych przeprowadza się z wykorzystaniem mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) [4].

MSC zostały po raz pierwszy odkryte przez Alexandra Fridensteina jako komórki przylegające, przypominające fibroblasty [5]. Ich najważniejszymi właściwościami są: zdolność różnicowania się w odmienne komórki efektorowe, zdolność do immunomodulacji oraz do wydzielania czynników wzrostu i cytokin [6]. Co istotne, MSC wydzielają szereg cytokin i czynników wzrostu stymulujących procesy związane z neurogenezą [7].

Badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych wykazały, że – dzięki oddziaływaniom plejotropowym z neuronami i komórkami immunologicznymi – MSC są w stanie wywołać regenerację uszkodzonej tkanki nerwowej [8]. Pilotażowe badania kliniczne z wykorzystaniem MSC wykazały również ich pozy-

tywny potencjał i bezpieczeństwo u pacjentów z zaburzeniami neurologicznymi [9,10] i innymi [11,12].

MSC uzyskiwane ze szpiku kostnego i tkanki tłuszczowej są stosowane w układach autologicznych i allogenicznych, natomiast MSC uzyskiwane z tkanek pochodzących z pępowiny są stosowane jako komórki allogeniczne. Podawanie tych komórek u osób niespokrewnionych wynika z faktu, że MSC nie są rozpoznawane przez układ odpornościowy i nie aktywują go [6,13].

Dotychczasowe badania wykazały, że komórki te mają potencjał immunomodulacyjny i wytwarzają wiele czynników, w tym stymulujących neurogenezę [14,15]. Badania nad wykorzystaniem tych komórek w modelach zwierzęcych, jak również w badaniach klinicznych, wykazały ich całkowite bezpieczeństwo i brak działań niepożądanych związanych z ich podawaniem [16]. Wykorzystanie tych komórek w leczeniu chorób układu krążenia miało natomiast pozytywny wpływ na stan kliniczny pacjentów w badaniach I i II fazy [17,18].

Opublikowane do tej pory badania z wykorzystaniem terapii komórkowych u chorych po urazie rdzenia kręgowego obejmują wykorzystanie komórek szpiku kostnego (*Bone Marrow* – BM), MSC, komórek śluzówki węchowej i komórek Schwanna [19–24]. Ocena bezpieczeństwa wykazała jedynie pojedyncze przypadki nieistotnych zdarzeń niepożądanych [21,25,26]. We wspomnianych badaniach odnotowano natomiast różny zakres poprawy neurologicznej. Bardziej znaczącą poprawę zaobserwowano zwykle u pacjentów cierpiących na ostre (od 1 do 6 miesięcy) uszkodzenie rdzenia kręgowego niż u pacjentów z urazem o charakterze przewlekłym (powyżej 6 miesięcy) [25,27].

W poniższej pracy przedstawiono przypadek pacjenta z niekompletnym uszkodzeniem rdzenia kręgowego, leczonego komórkami MSC, pozyskanymi z galarety Whartona.

Opis przypadku

27-letni mężczyzna z niecałkowitym przerwaniem ciągłości rdzenia kręgowego przeszedł eksperymentalną próbę leczenia komórkami macierzystymi galarety Whartona (WJMSC). Badanie zostało przeprowadzone w Szpitalu Jednego Dnia spółki Regenmed i uzyskało aprobatę Komisji Bioetycznej (zgoda wydana 3.07.2015 r.). Pacjent wyraził pisemną świadomą zgodę na przeprowadzone leczenie. Mężczyzna w czasie pracy uległ upadkowi z dachu, co spowodowało złamanie kręgosłupa na poziomie Th11–Th12. Standardowa jednoroczna terapia, obejmująca stabilizację zniszczonego poziomu rdzenia, leczenie przeciwzapalne i neurorehabilitacyjne, przyniosły tylko nieznaczną poprawę neurologiczną. Przed terapią eksperymentalną z wykorzystaniem komórek macierzystych, tj. 12 miesięcy po urazie rdzenia kręgowego (*Spinal Cord Injury* – SCI), mężczyzna prezentował głęboki niedowład (1 w skali Lovetta), z poziomem czucia na wysokości Th12. Pacjent w wyniku prowadzonej terapii usprawniającej uzyskał

zdolność kontrolowania tułowia. Jednym z głównych problemów zdrowotnych pozostawał wciąż brak zdolności do kontrolowania funkcji zwieraczy i utrata funkcji seksualnych.

W badaniu MRI (*Magnetic Resonance Imaging*), wykonanym przed leczeniem, uwidoczniono klinowate obniżenie wysokości trzonu Th12 do przodu i strony lewej oraz niewielkie obniżenie wysokości trzonu Th11 od strony prawej. Stan po laminektomii Th11-L1 i stabilizacji transpedikularnej Th10-L2, obniżenie wysokości krążków Th11–Th12. Na poziomie Th11–Th12 ognisko mielomalacji o wym. 17x24xAP8 mm. Do wysokości Th11 rdzeń kręgowy prawidłowy, poniżej wydaje się być ścieńczały (ryc. 1a).

Sznury pępowinowe, z których izoluje się komórki WJMSC, pozyskiwane są w trakcie porodu od niespokrewnionego dawcy po uzyskaniu zgody pacjentek, a następnie transportowane do laboratorium Polskiego Banku Komórek Macierzystych S.A. (PBKM), akredytowanego przez Ministerstwo Zdrowia oraz rekomendowanego przez Krajowe Centrum Bankowania Tkanek i Komórek (KCBTiK).

Komórki do aplikacji zostały przygotowane wg procedur zatwierdzonych przez Główny Inspektorat Farmaceutyczny (GIF). Hodowla, krioprezerwacja i przygotowanie mezenchymalnych komórek macierzystych do wykorzystania w RegenMed przeprowadzone było zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej (*Good Laboratory Practice* – GLP) oraz dobrej praktyki wytwarzania (*Good Manufacturing Practice* – GMP), w pomieszczeniach ze statusem klasy czystości mikrobiologicznej B, z wydzielonymi strefami o klasie czystości A. W ten sposób uzyskano produkt leczniczy terapii zaawansowanej wyjątków (wyłączeń) szpitalnych PLTZ (*Advanced Therapy Medical Product Hospital Exemption* – ATMP-HE).

WJMSC podawano dokanałowo do płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) drogą nakłucia lędźwiowego. Leczenie zaplanowano na pięć podań komórek WJMSC w ilości $3x10^7$, w odstępach 3-miesięcznych. Po każdym etapie leczenia WJMSC pacjent poddawany był intensywnej neurorehabilitacji.

Wstępną ocenę pacjenta i dalsze badania neurologiczne przeprowadzono w oparciu o skalę ASIA i system klasyfikacji Frankla. Za pomocą rozkładu dermatomów oceniono również niedobory w zakresie czucia powierzchniowego. Do oceny nasilenia spastyczności pourazowej wykorzystano wagę Ashwortha. Do oceny siły mięśni użyto skali Lovetta (0–5 punktów). Ocena funkcji zwieracza opierała się na deklaracji pacjenta. Po zakończeniu całego leczenia do oceny wykorzystano dodatkowe, obiektywne testy celowe. Elektromiografia (EMG) i elektroneurografia (ENG) zostały wykorzystane do badania przewodzenia w nerwach obwodowych. Do oceny przewodzenia rdzeniowego z kory motorycznej do mięśni efektorowych wykorzystano motoryczne potencjały wywołane (*Motor Evoked Potencials* – MEP). Do oceny zmian w obrazie rdzenia kręgowego wykorzystano metodę magnetycznego rezonansu jądrowego.

Rycina 1a. Ocena MRI struktury rdzenia kręgowego; obraz T1

Oceniono także bezpieczeństwo leczenia oraz zebrano informacje na temat ewentualnych powikłań i działań niepożądanych, które obejmowały: infekcję, gorączkę, bóle, bóle głowy, podwyższony poziom białka reaktywnego C, zwiększoną leukocytozę, reakcję alergiczną – wstrząs, powikłania okołooperacyjne, a także rozwój nowotworów, pogorszenie stanu neurologicznego, pojawienie się bólu neuropatycznego, wtórne zakażenia, infekcje dróg moczowych.

Mężczyzna otrzymał – zgodnie z protokołem – pięć podań WJMSC o łącznej ilości $15x10^7$. Co ok. trzy miesiące podawano $3x10^7$ komórek WJMSC do płynu mózgowo-rdzeniowego poprzez nakłucie lędźwiowe, które wykonywano w warunkach szpitalnych w znieczuleniu miejscowym. Każdorazowo zabieg związany był z jednodniową hospitalizacją.

Wyniki

W okresie 1,5 roku obserwacji nie wystąpiły żadne zdarzenia niepożądane związane z przeprowadzaną terapią eksperymentalną. Po każdej implantacji komórek WJMSC obserwowano jedynie niewielki wzrost podstawowej temperatury ciała, nie wyższy jednak niż 38°C, ale oprócz tego nie odnotowano klinicznie nawet epizodów bólu głowy. W ciągu 1,5 roku od zakończenia leczenia nie zaobserwowano również żadnych późnych powikłań.

W ciągu 2 lat obserwacji pacjent wykazywał stałą poprawą neurologiczną. Pierwsza poprawa nastąpiła po podaniu inicjalnej dawki preparatu WJMSC, a polegała na obniżeniu poziomu czucia z TH12 do poziomu L1 i przywróceniu funkcji motorycznych z poziomu Th12. Po obu stronach nieznacznie wzrosła siła mięśniowa w zakresie lewego uda (1 do 1+) oraz pojawiła się niewielka czynność w zakresie mięśni lewego podudzia. Mężczyzna zyskał możliwość poruszania kończynami dolnymi, zwłaszcza lewą – w pozycji siedzącej, pod kontrolą bioder. Pierwsza implantacja WJMSC zaowocowała również częściowym przywrócenia kontroli nad pęcherzem moczowym (tab. 1 i 2).

Dalsza poprawa, po drugim podaniu WJMSC, objęła obniżenie poziomu czucia do poziomu L2. Pacjent rozwinął umiejętność stania w pionizatorze i przy wysokim balkoniku. Dodatkowo zwiększyła się siła mięśniowa, zwłaszcza w zakresie obu ud i w mięśniu brzuchatym łydki po stronie lewej (1+ do 2). Pacjent zaczął przemieszczać się na krótkich dystansach, posługując się wysokimi ortezami i przy pełnym wsparciu drugiej osoby. Mężczyzna zaczął kontrolować funkcję zwieracza pęcherza moczowego i zaprzestał używania cewnika Foleya. W wyniku drugiej implantacji punktacja ASIA zmieniła się z A na B.

Trzecia implantacja WJMSC przyniosła dalszą poprawę stanu neurologicznego mężczyzny, szczególnie w sferze percepcji. Poziom czucia powierzchniowego obniżył się o kolejny segment do wysokości L1–L2. Czucie głębokie i czucie trzewne ulegało stopniowej poprawie. Odnotowano dalszy wzrost siły mięśni bioder i podudzi (siła wzrosła z 2 do 3), a mężczyzna zyskał umiejętność przemieszczania się w asekuracji osoby drugiej lub w ortezie biodrowej na krótkich dystansach. Głęboki niedowład zmienił się w niedowład kończyn dolnych: 2 stopnia w skali Lovetta w kończynie dolnej lewej i 1/2 stopnia w skali Lovetta w kończynie dolnej prawej. Wynik skali ASIA zmienił się na poziom C.

Czwarte podanie WJMSC przyniosło dalszą poprawę czucia powierzchniowego, które obniżyło się do poziomu L2/3. Całkowicie przywrócono kontrolę nad zwieraczem pęcherza moczowego, a także stwierdzono obecność czucia okolicy urogenitalnej i analnej. Dodatkowo zaobserwowano dalszą poprawę siły mięśniowej obu nóg, zwłaszcza w zakresie siły mięśni czworogłowych ud obustronnie (z 3 do 3+) oraz siły mięśni podudzi obustronnie, z przewagą strony lewej. Mężczyzna przemieszczał się samodzielnie na krótkich odległościach (3–4 m) w wysokich ortezach lub z wysokim balkonikiem.

Tabela 1. Zmiana ASIA, Frankel, poziomu czucia, poprawy funkcjonalności i przewodności po implantacji WJMSC. Ocenę wykonano trzy miesiące po każdej implantacji

OCENA	PRZED LECZE-NIEM	WJMSC I	WJMSC II	WJMSC III	WJMSC IV	WJMSC V
Skala ASIA	A	A/B	B	B	B/C	B/C
Skala Frankla	A	A	A/B	B	B	B
POZIOM CZUCIA	Th12	L1	L2	L2/L3	L3	L3/L4
CZUCIE POWIERZCH-NIOWE	Brak czucia powierzch-niowego od poziomu Th12	Czucie powierzch-niowe z poziomu L1	Czucie głębokie, czucie trzewne, czucie od poziomu L2	Czucie głębokie, czucie trzewne, czucie od poziomu L2	Czucie powierzch-niowo od poziomu L3	Czucie po-wierzch-niowo od pozio-mu L3/L4
POPRAWA SPRAWNO-ŚCI	Głęboki obustronny niedowład – LKD – 1 wg Lovetta,	Powrót napięcia mięśni w zakre-sie uda i podudzia lewe-go – 1 wg Lovetta obustron-nie	Zdolność pionizacji w pioniza-torze, stały poziom niedowła-du	Zmniej-szenie niedowładu LKD 2 wg. Lovetta, w PKD – ½ wg Lovetta	Stały poziom niedowładu	Bez zmian
FUNKCJA ZWIERACZY	Całkowite porażenie	Czucie wypeł-niania pęcherza	Częściowa kontrola zwieracza, pacjent kontroluje oddawanie moczu bez cewnika Foleya	Częściowa kontrola funkcji zwieracza – oddawanie moczu „na żądanie”	Całkowita kontrola funkcji zwieracza, powrót czucia okolicy urogenital-nej	Całkowita kontrola oddawania moczu, objawy wegeta-tywne zwia-stujące oddawanie stolca

Tabela 2. Zmiany siły mięśni po implantacji WJMSC. Ocenę przeprowadzono trzy miesiące po każdej implantacji

	PRZED LECZENIEM		WJMSC I		WJMSC II		WJMSC III		WJMSC IV		WJMSC V	
	P	L	P	L	P	L	P	L	P	L	P	L
BIODRO												
Zginacze	0	1	0	1+	0	2	1	3	1	3	1	3
Prostowniki	0	0	0	1	0	1+	1	2	1	3	1	3
Przywodziciele	0	0	0	0	0	1	0	1+	1	2	1	2
KOLANO												
Zginacz	0	0	0	1+	0	2	0	3	1	3	1	3
Prostownik	0	0	0	1	0	1+	0	2	1	3	1	3

Piąta dawka komórek WJMSC pozwoliła zaobserwować dalszą poprawę stanu neurologicznego pod postacią obniżenia poziomu czucia do wysokości L3/4. Nie stwierdzono żadnych zmian w zakresie poprawy siły mięśni kończyn dolnych. Intensywna neurorehabilitacja, szczególnie pływanie i hydroterapia, wspomagały proces nauki chodzenia z wykorzystaniem ortez i wysokiego balkonika. Mężczyzna mógł przejść do 10 m wykorzystując ortezy kolanowe lub wysoki balkonik oraz 2 m samodzielnie. Pacjent odzyskał funkcję zwieraczy, mogąc po leczeniu w pełni kontrolować oddawanie moczu. Nie zaobserwowano zmian w zakresie napięcia mięśni w stosunku do czwartego podania preparatu WJMSC, które w skali Ashwortha oceniono na 1+.

Po 1,5-rocznej terapii MRI nie wykazywał istotnych zmian w zakresie sygnału (ryc. 1b). Badania elektrofizjologiczne, przeprowadzone po pięciu podaniach komórek WJMSC, wykazały nieznaczną poprawę neurofizjologiczną. Ocena SEP wykazała przywrócenie właściwego przewodzenia do poziomu L3. W ocenie wykazano obecność prawidłowego potencjału jednostek ruchowych w zakresie mięśnia brzuchatego łydki i piszczelowego przedniego po stronie lewej, prawidłową aktywność w zakresie mięśnia czworogłowego uda i przywodziciela obustronnie, prawidłową aktywność mięśnia prostego brzucha. W kończynach dolnych zaobserwowano również przywrócenie prawidłowego przewodzenia w zakresie nerwów obwodowych w obu kończynach dolnych.

Przewodzenie korowe do mięśni efektorowych w kończynach dolnych nie uległo zmianie i było prawidłowe.

Rycina 1b. Ocena MRI struktury rdzenia kręgowego; obraz T2

Wnioski

W ciągu ostatnich dwóch dekad powstało szereg doniesień o bezpieczeństwie i potencjalnej skuteczności terapii komórkowej z wykorzystaniem komórek pochodzących z różnych tkanek dorosłych pacjentów z SCI, w tym z komórek BM, MSC, komórek śluzówki węchowej i komórek Schwanna lub ich kombinacji [19–24]. Bardziej znaczącą poprawę zaobserwowano w przypadku pacjentów w fazie ostrej, u których wykonano podania wielokrotne lub zastosowano strategię łączenia różnych typów komórek [25,27].

Niniejsze badanie obejmowało pięć implantacji WJMSC. W ich efekcie uzyskano znaczną, ciągłą poprawę neurologiczną i jakości życia, potwierdzoną obiektywnymi ocenami MRI, SEP, MEP, EMG i ENG. Odzyskanie kontroli nad pęcherzem moczowym, a także czucia okolic analnych oraz ich kontrola wskazują na sekwencyjną regenerację przewodności orto- i antydromowej pęcherza moczowego. Najpierw obserwowano antydromową, a następnie, trzy miesiące później, regenerację ortodromową.

W literaturze znaczną poprawę (z ASIA A do D) wykazano, stosując kombinowane wielokrotne implantacje komórek CD34+ z krwi pępowinowej oraz komórek WJMSC [28]. Opisane w niniejszej pracy wyniki są zgodne z poprzednimi doniesieniami.

Co ciekawe, opublikowane doniesienia wykazały najlepsze postępy w leczeniu pacjentów z uszkodzeniem rdzenia kręgowego, u których wykonano intensywną rehabilitację/neurorehabilitację w połączeniu z terapią komórkową. Ponadto większość sprawozdań wykorzystuje strategię implantacji mnogiej [21,23,25,29,30,31]. Dostępne dane wydają się więc wskazywać na przydatność metody wielokrotnego wszczepiania WJMSC w połączeniu z intensywną rehabilitacją/neurorehabilitacją w celu maksymalizacji skuteczności terapii komórkowej u pacjentów z urazami rdzenia kręgowego.

Oprócz leczenia operacyjnego rehabilitacja ruchowa jest głównym sposobem terapii pacjentów po niepełnym uszkodzeniu rdzenia kręgowego [32]. Celem neurorehabilitacji jest przywrócenie utraconych w czasie urazu funkcji poniżej miejsca uszkodzenia. Zabiegi rehabilitacyjne powinny się rozpocząć jak najwcześniej, aby wykorzystać plastyczność centralnego układu nerwowego. Proces rehabilitacji jest jednak zwykle bardzo długi, trudny i nie zawsze przynosi oczekiwane wyniki. Dlatego zastosowanie komórek macierzystych, które mają za zadanie aktywację procesów neuroregeneracyjnych równolegle z neurorehabilitacją ruchową, okazuje się bardziej efektywne niż stosowanie samej rehabilitacji. Jednocześnie należy zaznaczyć, iż zastosowanie samej terapii komórkami macierzystymi, bez następującej po niej terapii usprawniającej, nie pozwoli uzyskać wymiernych efektów klinicznych terapii eksperymentalnej.

Zdajemy sobie sprawę, że to studium przypadku wymaga potwierdzenia na większej grupie pacjentów, ale uważamy, że warto je wziąć pod uwagę przy projektowaniu różnych protokołów leczenia terapią komórkową dla pacjentów z SCI. Przedstawiamy bezpieczeństwo i wykonalność wielu podań WJMSC u pacjenta z niekompletnym uszkodzeniem rdzenia kręgowego. Wyniki badań wskazują na możliwość uzyskania znacznej poprawy neurologicznej i jakości życia u tychże pacjentów.

Autorzy deklarują brak konfliktu interesów. Praca zrealizowana z funduszy własnych.

Bibliografia

1. Vismara I, Papa S, Rossi F et al. *Current Options for Cell Therapy in Spinal Cord Injury*. Trends Mol. Med. 2017; 23: 831–849.
2. Ferraro F, Celso C Lo, Scadden D. *Adult Stem Cels and Their Niches.* Adv Exp Med Biol. 2010; 695: 155–168.
3. Vats A, Tolley NS, Polak JM et al. *Stem Cells: Sources and Applications.* Clin Otolaryngol Allied Sci. 2002; 27 (4): 227–232.
4. Sherman LS, Shaker M, Mariotti V et al. *Mesenchymal Stromal/Stem Cells In Drug Therapy: New Perspective.* Cytotherapy. 2016; 19 (1): 19–27.
5. Friedenstein AJ, Chailkhjan RK, Lalykina KS. *The Development of Fibroblast Colonies in Monolayer Cultures of Guinea-Pig Bone Marrow and Spleen Cells*. Cell Tissue Kinet. 1970; 3 (4): 393–403.
6. Dominici M, Blanc K Le, Mueller I et al. *Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement*. Cytotherapy. 2006; 8 (4): 315–317.
7. Volkman R, Offen D. Concise Review: *Mesenchymal Stem Cells in Neurodegenerative Diseases*. Stem Cells. 2017; 35 (8): 1867–1880.
8. Watanabe S, Uchida K, Nakajima H et al. *Early Transplantation of Mesenchymal Stem Cells after Spinal Cord Injury Relieves Pain Hypersensitivity through Suppression of Pain-Related Signaling Cascades and Reduced Inflammatory Cell Recruitment*. Stem Cells. 2015; 33 (6): 1902–1914.
9. Connick P, Kolappan M, Crawley C et al. *Autologous Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Secondary Progressive Multiple Sclerosis : An Open-Label Phase 2a Proof-of-Concept Study*. Lancet Neurol. 2012; 11 (2): 150–156.
10. Oh K-W, Moon C, Kim HY et al. *Phase I Trial of Repeated Intrathecal Autologous Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells in Amyotrophic Lateral Sclerosis*. Stem Cells Transl Med. 2015; 4 (6): 590–597.
11. Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I et al. *Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Therapy-Resistant Graft-Versus-Host Disease.* Transplantation. 2006; 81 (10): 1390–1397.
12. Liang J, Zhang H, Hua B et al. *Allogenic Mesenchymal Stem Cells Transplantation in Refractory Systemic Lupus Erythematosus: A Pilot Clinical Study.* Ann Rheum Dis. 2010; 69 (8): 1423–1429.
13. Donega V, Nijboer CH, Tilborg G van et al. *Intranasally Administered Mesenchymal Stem Cells Promote a Regenerative Niche for Repair of Neonatal Ischemic Brain Injury*. Exp Neurol. 2014; 261: 53–64.
14. Kim D-W, Staples M, Shinozuka K et al. *Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells: Phenotypic Characterization and Optimizing Their Therapeutic Potential for Clinical Applications*. Int J Mol Sci. 2013; 14 (6): 11692–11712.
15. Ribeiro CA, Fraga JS, Graos M et al. *The Secretome of Stem Cells Isolated from the Adipose Tissue and Wharton's Jelly Acts Differently on Central Nervous System-Derived Cell Populations*. Stem Cell Res Ther. 2012; 3 (3): 18.
16. Can A, Celikkan FT, Cinar O. *Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cell Transplantations: A Systemic Analysis of Clinical Trials.* Cytotherapy. 2017; 19: 1351–1382.

17. Musialek P, Mazurek A, Jarocha D et al. *Myocardial Regeneration Strategy Using Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells as an Off-the-Shelf „Unlimited" Therapeutic Agent: Results from the Acute Myocardial Infarction First-in-Man Study.* Postepy Kardiol. Interwencyjnej. 2015; 11 (2): 100–107.
18. Gao LR, Chen Y, Zhang NK et al. *Intracoronary Infusion of Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells in Acute Myocardial Infarction: Double-Blind, Randomized Controlled Trial.* BMC Med. 2015; 13 (1): 162.
19. Park HC, Shim YS, Ha Y et al. *Treatment of Complete Spinal Cord Injury Patients by Autologous Bone Marrow Cell Transplantation and Administration of Granulocyte-macrophage Colony Stimulating Factor*. Tissue Eng. 2005; 11 (5/6): 913–925.
20. Kumar AA, Kumar SR, Narayanan R et al. *Autologous Bone Marrow Derived Mononuclear Cell Therapy for Spinal Cord Injury: A Phase I/II Clinical Safety and Primary Efficacy Data.* Exp Clin Transplant. 2009; 7 (4): 241–248.
21. Karamouzian S, Nematollahi-Mahani SN, Nakhaee N, Eskandary H. *Clinical Safety and Primary Efficacy of Bone Marrow Mesenchymal Cell Transplantation in Subacute Spinal Cord Injured Patients.* Clin Neurol Neurosurg. 2012; 114 (7): 935–939.
22. Lima C, Escada P, Pratas-Vital J et al. *Olfactory Mucosal Autografts and Rehabilitation for Chronic Traumatic Spinal Cord Injury.* Neurorehabil Neural Repair. 2010; 24 (1): 10–22.
23. Rao Y, Zhu W, Liu H et al. *Clinical Application of Olfactory Ensheathing Cells in the Treatment of Spinal Cord Injury*. J Int Med Res. 2013; 41 (2): 473–481.
24. Zhou X, Ning G, Feng S et al. *Transplantation of Autologous Activated Schwann Cells in the Treatment of Spinal Cord Injury : Six Cases, More than Five Years of Follow-Up.* Cell Transplant. 2012; 21 (2): 39–48.
25. Geffner LF, Santacruz P, Izurieta M et al. *Administration of Autologous Bone Marrow Stem Cells into Spinal Cord Injury Patients Via Multiple Routes Is Safe and Improves Their Quality of Life: Comprehensive Case Studies.* Cell Transplant. 2008; 17 (12): 1277–1293.
26. Yoon SH, Shim YS, Park YH et al. *Complete Spinal Cord Injury Treatment Using Autologous Bone Marrow Cell Transplantation and Bone Marrow Stimulation with Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor: Phase I/II Clinical Trial.* Stem cells (Dayton, Ohio). 2007; 25 (8): 2066–2073.
27. Syková E, Homola A, Mazanec R et al. *Autologous Bone Marrow Transplantation in Patients with Subacute and Chronic Spinal Cord Injury.* Cell Transplant. 2006; 15 (8–9): 675–687.
28. Ichim TE, Solano F, Lara F et al. *Feasibility of Combination Allogeneic Stem Cell Therapy for Spinal Cord Injury: A Case Report.* Int Arch Med. 2010; 3: 30.
29. Moviglia G a, Fernandez Viña R, Brizuela J et al. *Combined Protocol of Cell Therapy for Chronic Spinal Cord Injury. Report on the Electrical and Functional Recovery of Two Patients.* Cytotherapy. 2006; 8 (3): 202–209.
30. Tabakow P, Jarmundowicz W, Czapiga B et al. *Transplantation of Autologous Olfactory Ensheathing Cells in Complete Human Spinal Cord Injury.* Cell Transplant. 2013; 22 (9): 1591–612.

31. Jarocha D, Milczarek O, Wędrychowicz A, Kwiatkowski S, Majka M. *Continuous Improvement After Multiple Mesenchymal Stem Cell Transplantations in Patient With Complete Spinal Cord Injury*. Cell Transplantation. 2015; 24 (4): 1–12.
32 Van Hedel HJ, Dietz V. *Rehabilitation of Locomotion After Spinal Cord Injury*. Restor Neurol Neurosci. 2010; 28 (1): 123–134.

Multiple applications of mesenchymal stem cells derived from Wharton's jelly in the treatment of incomplete spinal cord injury – case report

Abstract
Introduction: Interruption of the spinal cord's continuity remains an incurable disease, leading to loss of neurological and mechanical functions below the level of damage. Until now, there are no effective ways to treat patients with this type of injury. Cellular therapies are an intensively developing new method of treatment that can lead to the regeneration of a damaged spinal cord. The aim of this study was to assess the safety and potential efficacy of Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells (WJMSC) in a patient with an incomplete disruption of the spinal cord's continuity.
Material and methods: A patient with incomplete discontinuation of the spinal cord at Th11–12 level was qualified for experimental therapy using WJMSCs. The patient was rated according to American Spinal Injury Association Impairment Scale (ASIA). The patient underwent a five-time administration of WJMSCs every 3 months.
Results: During the therapy there were no side effects directly related to the experimental treatment. After each administration of WJMSC, permanent neurological improvement was observed, followed by improvement in quality of life. The patient's ASIA score changed from A/B to C/D. The level of sensation decreased significantly from Th12 to L3–4. The patient regained the ability to move his legs in the support, using the active mobility of the quadriceps muscles on both sides with the advantage of the left lower limb. EMG, ENG and SEP objectively confirmed the improvement.
Conclusions: The results of WJMSCs treatment indicate an objective improvement in the patient with chronic incomplete spinal cord injury.

Key words: mesenchymal stem cells (MSC), Wharton's jelly, incomplete spinal cord injury, regenerative medicine