

„Klasyczne” i eksperymentalne zastosowanie szpikowych komórek macierzystych w terapii

Wiesław Wiktor Jędrzejczak

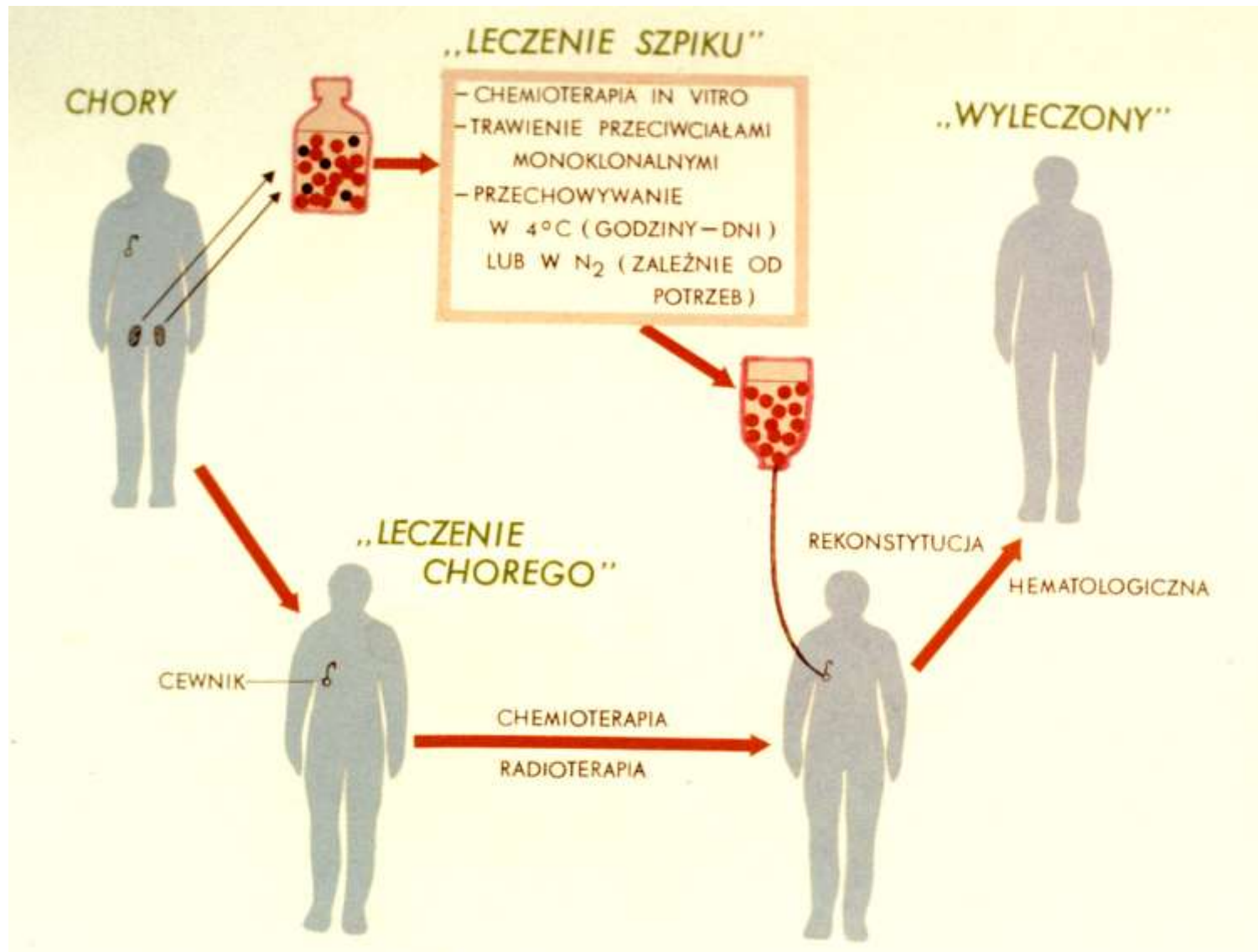
Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i
Chorób Wewnętrznych Warszawskiego
Uniwersytetu Medycznego

(20 minut).

Definicje

- **Klasyczne:** różne rodzaje przeszczepień komórek krwiotwórczych uzyskanych ze szpiku, krwi obwodowej i krwi obwodowej noworodka (pępowinowej).
 - Próby wykorzystania klinicznego od lat 50-tych XX wieku, rutynowe metody lecznicze od przełomu lat 70-tych i 80-tych XX wieku.
- **Eksperymentalne:** próby wykorzystania komórek uzyskanych ze szpiku do regeneracji innych tkanek niż krwiotwórcza.
 - Próby wykorzystania mezenchymalnych komórek macierzystych do regeneracji kości od lat 90-tych XX wieku
 - Próby wykorzystania tych i innych komórek do regeneracji innych tkanek od początku XXI wieku

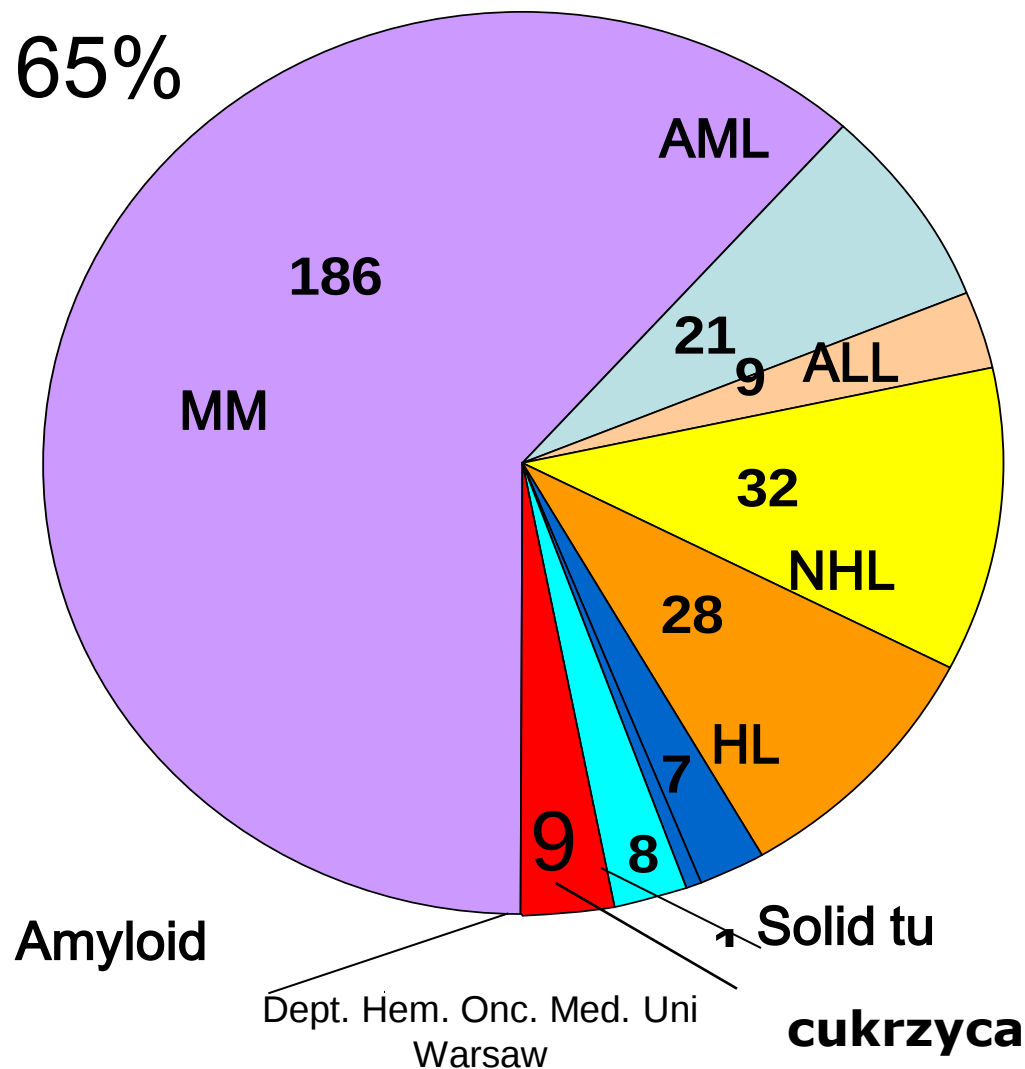
Schemat przeszczepienia autologicznego szpiku

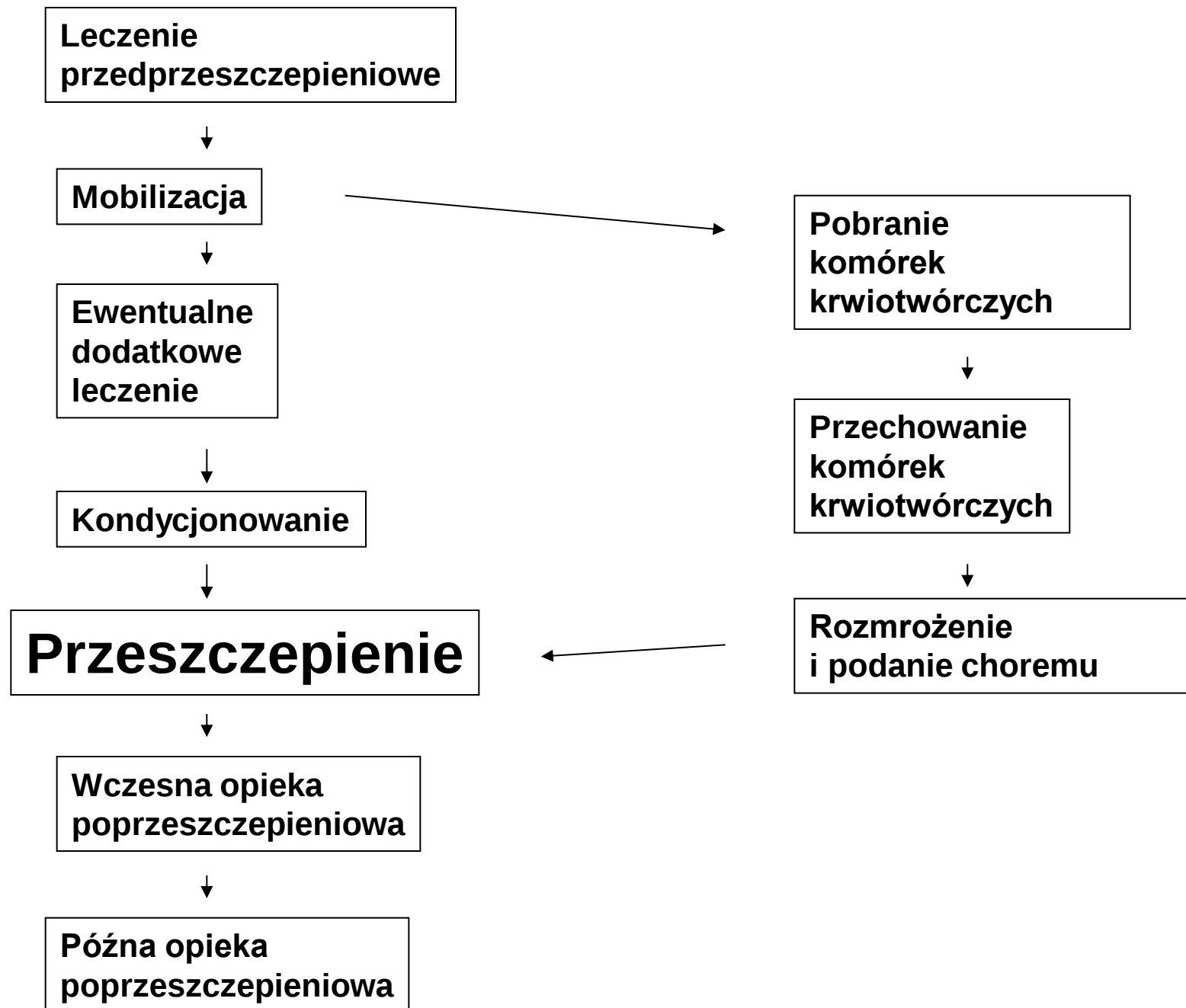


Auto HSCT

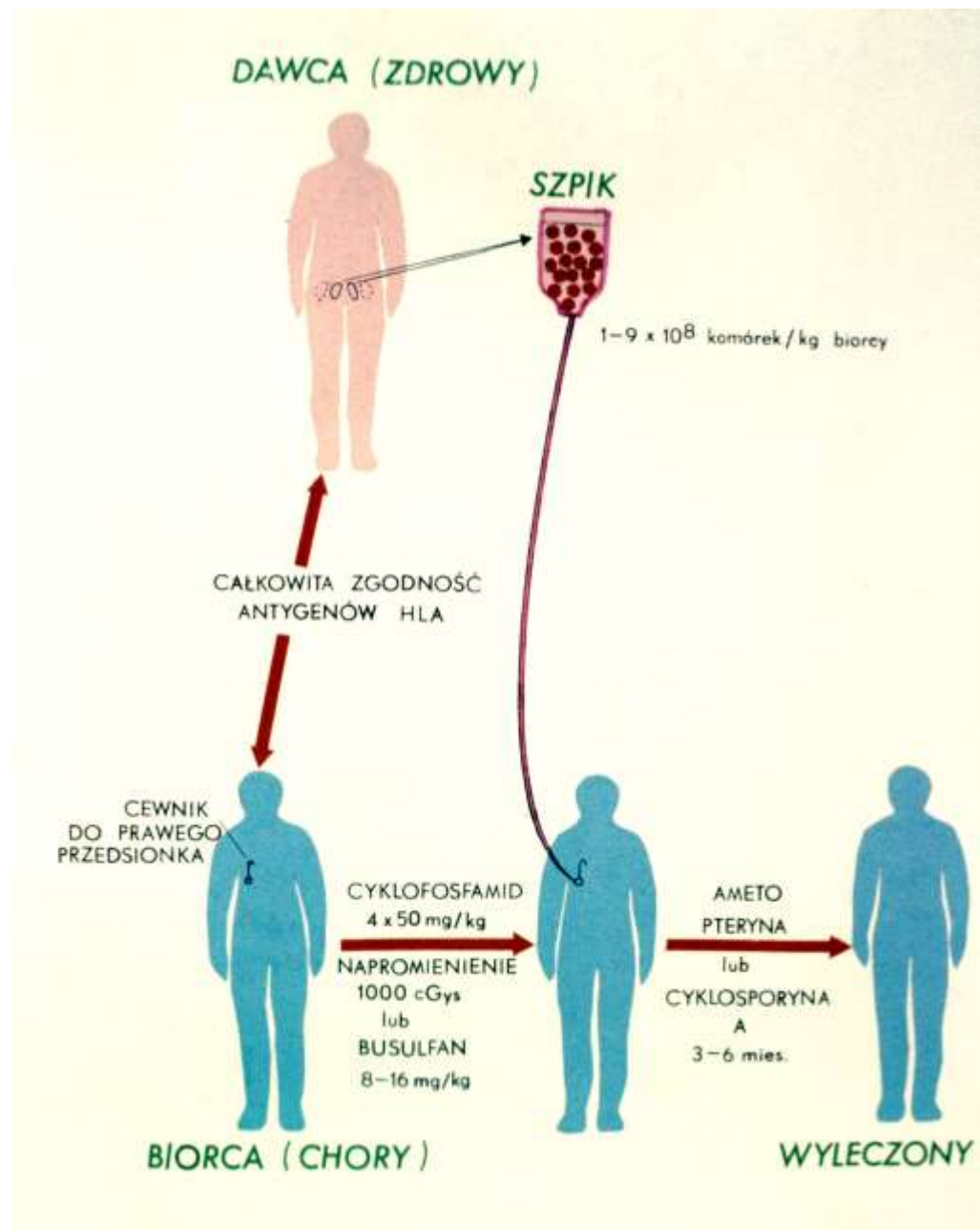
411 chorych - 565 przeszczepień

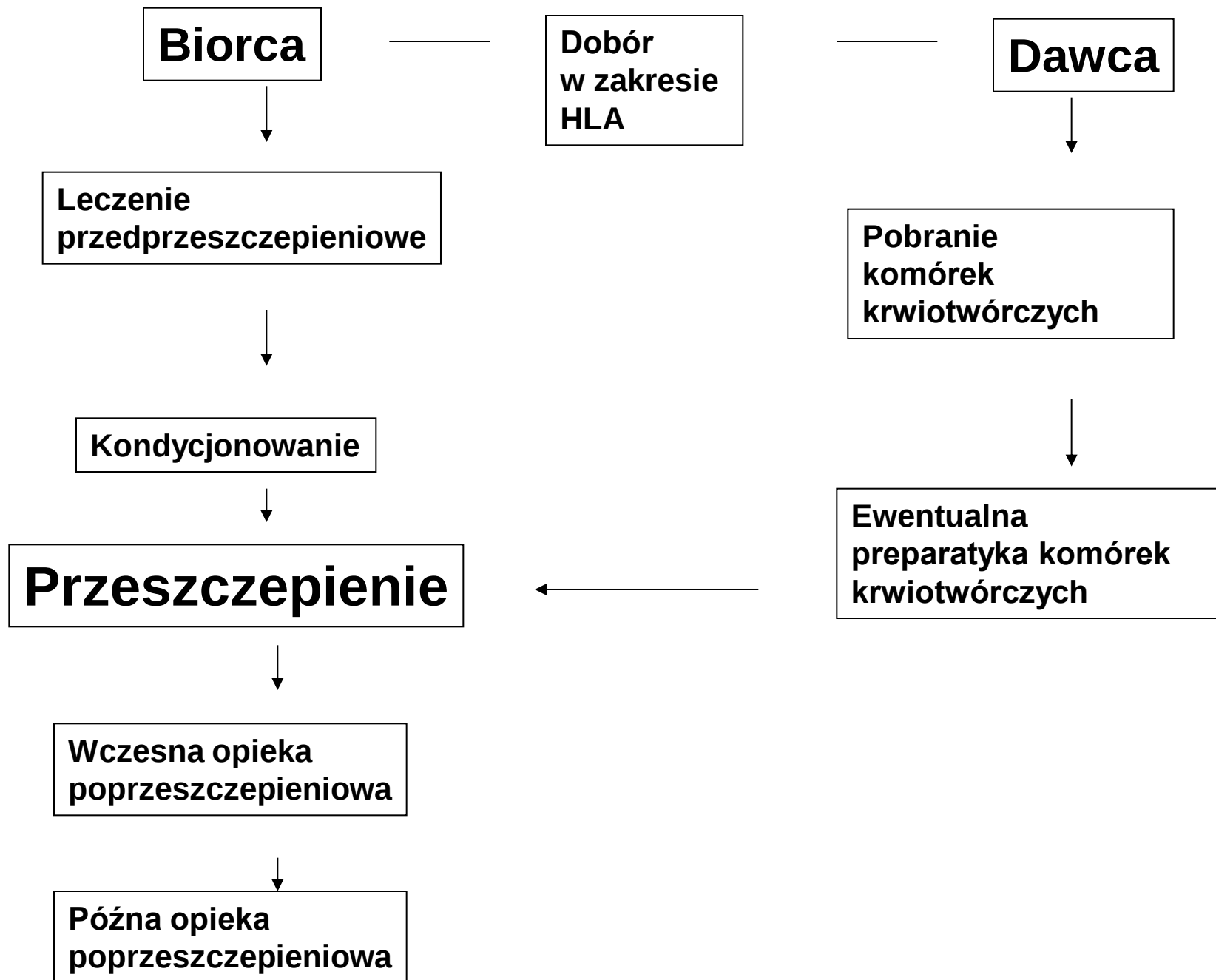
Żyje 65%





- Schemat zabiegu przeszczepienia allogenicznego szpiku

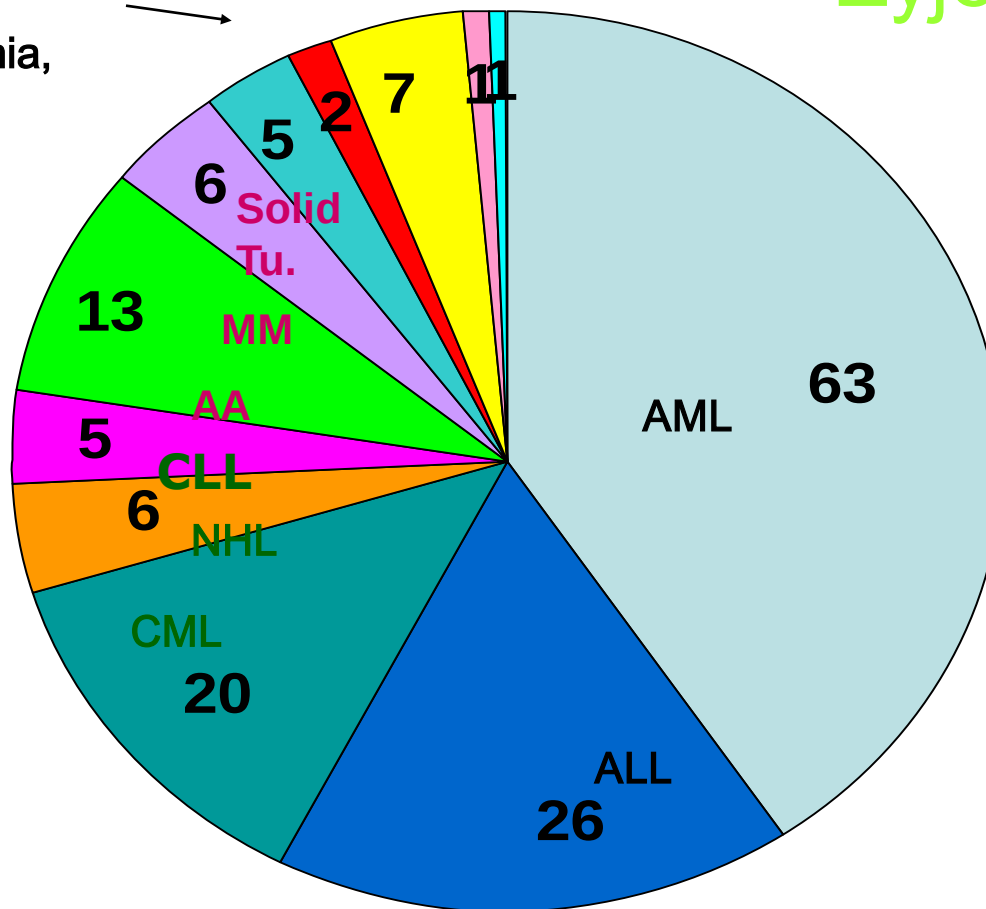




Allo HSCT – 200 chorych: 222 zabiegi

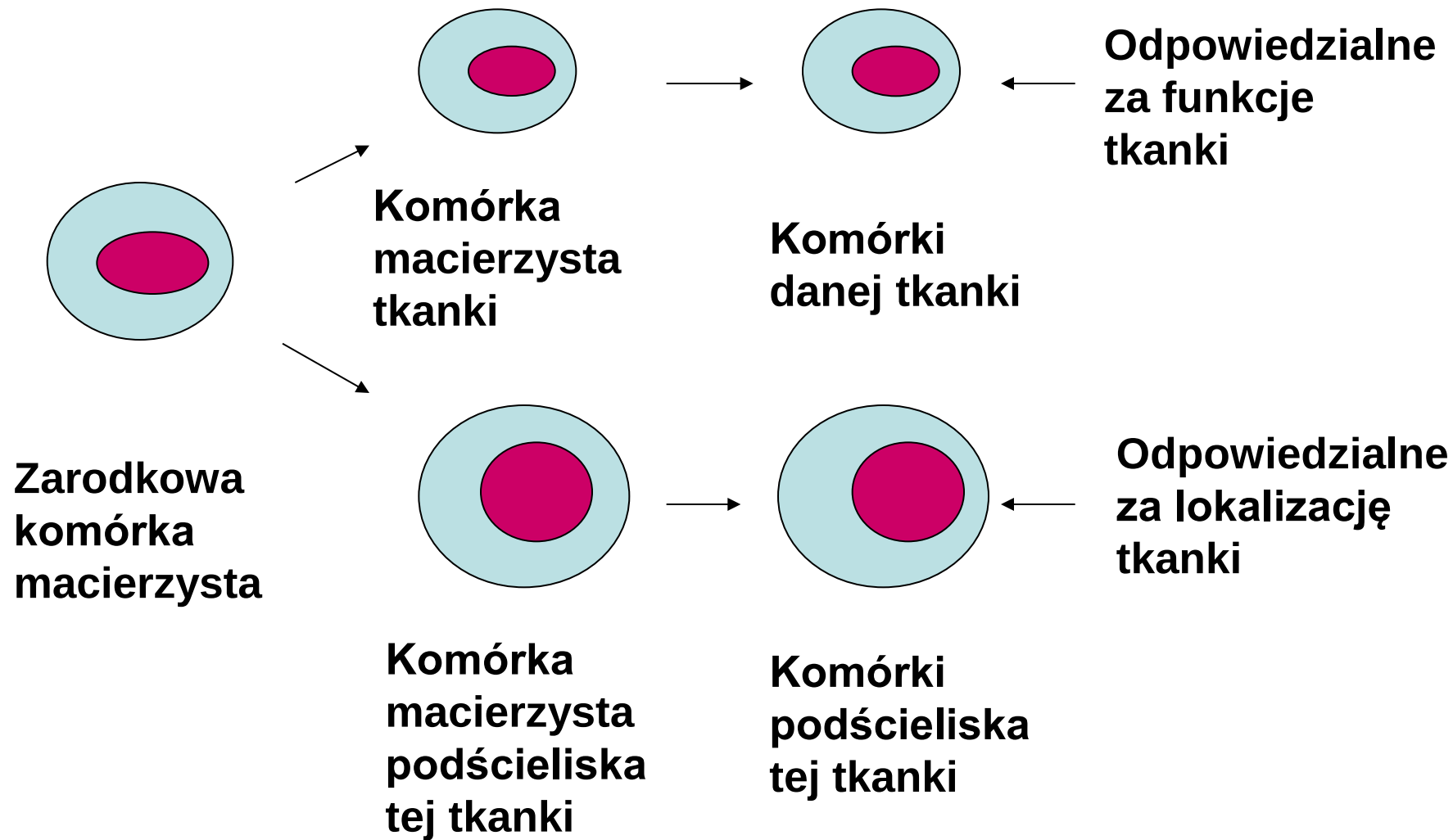
HL,
MDS
D-B anemia,
HES,
,

Żyje 50%



Co najmniej dwa rodzaje komórek macierzystych dla każdej tkanki

- Komórki macierzyste tej tkanki
 - Wytwarzają komórki tej tkanki
- Komórki macierzyste podścieliska tej tkanki
 - Wytwarzają komórki podścieliska tej tkanki
 - Macierz zewnątrzkomórkową, która tworzy rusztowanie (zrąb, szkielet) dla tej tkanki



Dwa główne rodzaje komórek macierzystych w szpiku

- **Krwiotwórcze komórki macierzyste**
 - zdolne do wytwarzania wszystkich komórek krwi, ciągle (2010) niemożliwe do namnożenia w warunkach *in vitro*, kluczowe dla powodzenia zabiegów przeszczepienia szpiku.
- **Komórki macierzyste mezenchymy**
 - Zdolne do wytwarzania fibroblastów, osteoblastów, chondroblastów i adipocytów, łatwe do namnożenia w hodowli *in vitro*, możliwe do wykorzystania w różnych zabiegach rekonstrukcyjnych.

Komórki macierzyste mezenchymy

- Dostępne także z kilku innych źródeł oprócz szpiku, z tym, że nie wiadomo, czy są równoważne (i czy nie mają „pamięci miejsca”).
 - Tkanka tłuszczowa skóry
 - Krew pępowinowa
 - Złuszczone zęby mleczne
- Dość oczywiste potencjalne zastosowanie komórek mezenchymalnych uzyskanych ze szpiku to leczenie ubytków kości, chrząstki, tkanki tłuszczowej.

Należeliśmy do pionierów wykorzystania mezenchymalnych komórek macierzystych szpiku w leczeniu ubytków kości

- Krzymanski G, Wiktor-Jedrzejczak W: Autologous bone marrow derived stromal fibroblastoid cells grown in vitro for the treatment of defects of mandibular bone. Transplant Proc. 1996;28:3528-3530.
- Krzymanski G, Kalczak M, Wiktor-Jedrzejczak W: In vitro grown bone marrow derived fibroblastoid cells and fresh marrow in the treatment of bone defects. An experimental study. Int J Oral Maxillofacial Surg 1997;26:55-60.

John F Loutit

- [Loutit JF](#), [Marshall MJ](#), [Nisbet NW](#),
[Vaughan JM](#).
- **Versatile stem cells in bone marrow.**
- [Lancet](#). 1982 Nov 13;2(8307):1090-3.

Następstwa tej inspiracji

- Poszukiwanie w szpiku komórek macierzystych o większym niż krwiotwórczy potencjale do różnicowania
- Badanie, czy albo krwiotwórcze albo mezenchymalne komórki macierzyste nie mają zdolności do przeróżnicowywania się (postulowane zjawisko plastyczności komórek) w komórki o innym kierunku różnicowania.

WIESŁAW ROAD



DRZEJCZAK SQUARE



ORIGINAL ARTICLE

A population of very small embryonic-like (VSEL) CXCR4⁺SSEA-1⁺Oct-4⁺ stem cells identified in adult bone marrow

M Kucia, R Reca, FR Campbell, E Zuba-Surma, M Majka, J Ratajczak and MZ Ratajczak

Stem Cell Biology Program at James Graham Brown Cancer Center, University of Louisville, Louisville, KY, USA

nature.com
The world's best science and medicine on your desktop

REGISTER > MY ACCOUNT >
SUBSCRIBE > E-ALERT SIGN UP >

PUBLICATIONS A-Z INDEX > BROWSE BY SUBJECT > SEARCH > ADVANCED SEARCH >

Space shuttle: Return to flight

npg Nature Publishing Group welcomes you to nature.com - the publishing platform for NPG Journals 17 May 06

Daily updates from news@nature.com

- Antibiotic faces uncertain future 17 May 2006
- Indonesian volcano poses unpredictable threat 17 May 2006
- Chimpanzees and human ancestors may have interbred 17 May 2006
- Shouting monkeys show surprising eloquence 17 May 2006

SEE MORE NEWS

NPG Publishing Partnerships

NPG publishes on behalf of leading international societies and organisations

Access our full list of partnerships

This week's topical content

Editors' choice

- The DNA sequence and biological annotation of human chromosome 1 - FREE Nature
- Neurone tames T cells Nature **Medicine**
- Translating immunology - from the bench to the bedside web focus Nature Reviews Immunology
- Tumour necrosis factor receptor 1 mediates endoplasmic reticulum stress-induced activation of the MAP kinase-1
- Identification of a Population of Embryonic-like Stem Cells in Adult Bone Marrow: Leukemia**

Naturejobs

- University Professor: Cell Biology University of Munster Munster, Germany D-48129
- The Division of Health and Social Care Research (HSCR) Cell Biology King's College London London, United Kingdom
- More science jobs

NPG Journals by Subject Area

Chemistry

- Chemistry
- Drug discovery
- Biotechnology

Clinical Practice & Research

- Cancer
- Cardiovascular medicine
- Dentistry
- New - Endocrinology
- Gastroenterology & Hepatology
- Pathology & Pathobiology
- Immunology

Earth & Environment

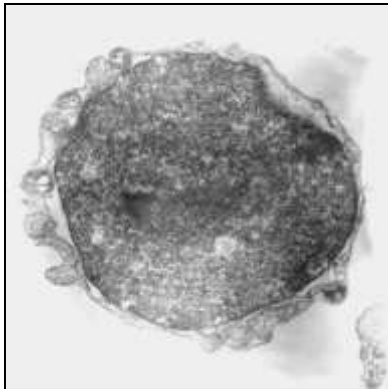
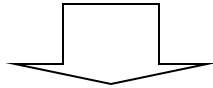
- Earth sciences
- Evolution & Ecology

Life sciences

- Cancer
- Development
- Drug discovery
- Evolution & Ecology
- Genetics

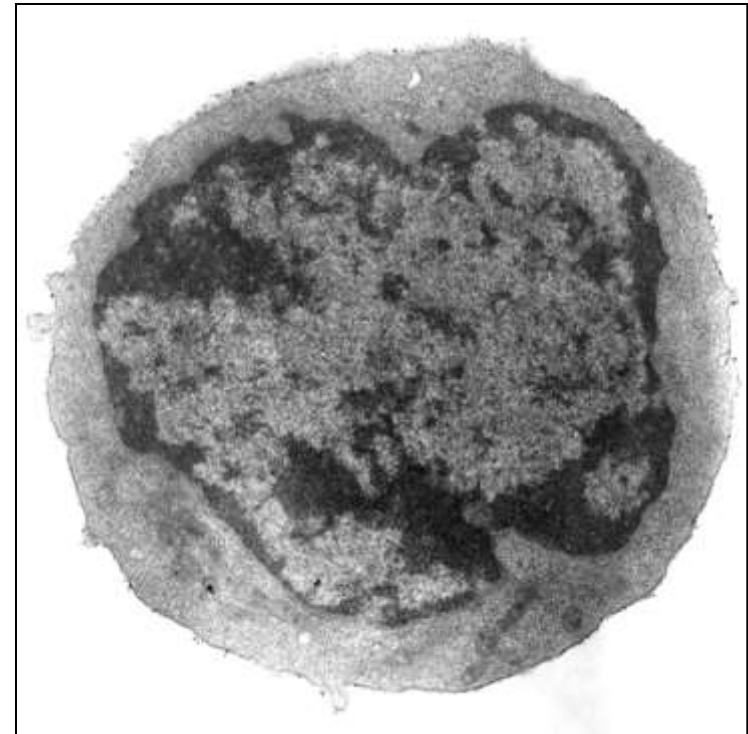


Very Small Embryonic Like (VSEL) Stem Cell



Sca-1⁺lin⁻CD45⁻

Hematopoietic Stem Cell



Sca-1⁺lin⁻CD45⁺

I znaleziono

- Ratajczak MZ i wsp.: komórki VSEL
- Czy to okaże się praktycznie wykorzystywalne? Nie wiadomo.
- Trzeba badać, podobnie, jak inne możliwości.

Warunki, jakie metoda musi spełnić, aby mogła być zastosowana klinicznie

- Bezpieczna (potencjalne korzyści muszą przewyższać potencjalne ryzyko)
- Powtarzalna (zamierzony skutek musi być uzyskiwany najlepiej za każdym razem)
- Etyczna (z tym, że są różne etyki)
- Stosowana zgodnie z prawem.
- Wszelkie transplantacje komórkowe są precyzyjnie regulowane przez Dyrektywy Unii Europejskiej oraz Ustawę o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów.

Poszukiwanie plastyczności

- [Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow.](#)
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM.
- Nature. **2002** Jul 4;418(6893):41-9. Epub **2002** Jun 20. Erratum in: Nature. 2007 Jun 14;447(7146):879-80.
- Póki co nie potwierdzono tych wyników

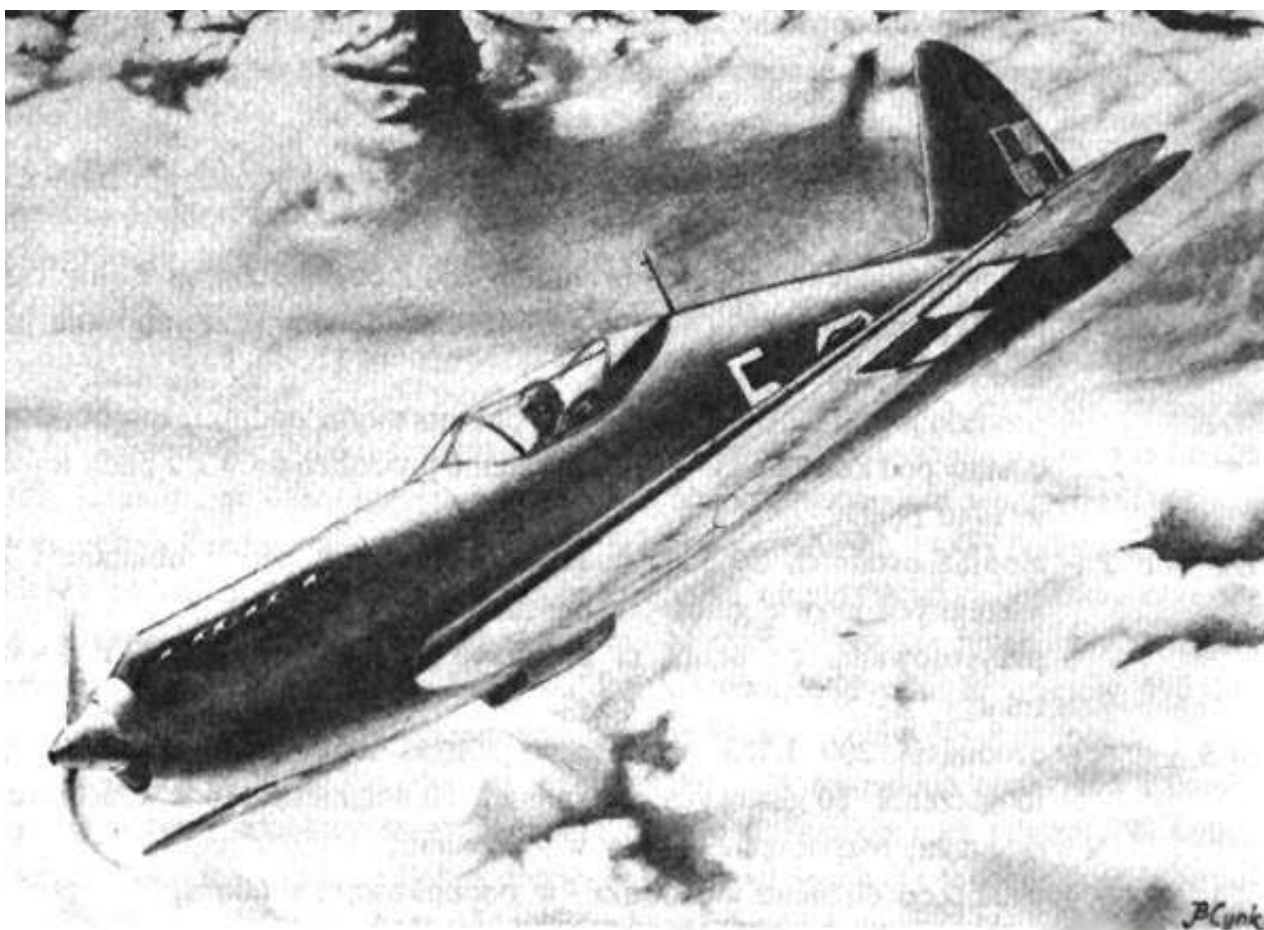
- Czy ja (polski lekarz) mogę zostać Chińskim Cesarzem?
- Czy mogę się przeróżnicować?
- Nawet jeśli mogę...,
- To czy Chińczycy zaakceptują tę nową komórkę macierzystą?
- Jeśli tak, to możemy mówić o plastyczności komórek macierzystych!



Mewy latają...



I samoloty „Karaś” też latały (choć w 1939 roku mieliśmy ich tylko 120).



O ptakach i samolotach

- Rozwiązanie nie musi naśladować natury, aby działać.
- Samoloty nie naśladują żadnego naturalnego mechanizmu latania a jednak latają.
- Czy podobne rozwiązanie zostanie wynalezione dla leczniczych zastosowań komórek macierzystych?

Marzenia również latają.

- O ile ludzka wyobraźnia nie ma granic.
- To rzeczywistość ma pewne granice.
- Marzenia muszą być zweryfikowane i granice znalezione zanim hipotezy zostaną przekształcone w metody lecznicze.

Komórka macierzysta

- komórka wyjściowa klonu komórkowego
- komórka zdolna ustanowić wytwarzanie komórek potomnych określonych rodzajów i utrzymać je przez, co najmniej fizjologiczny okres życia danego organizmu;
- komórka macierzysta organizmu: zapłodniona komórka jajowa: **zygota**.

Sytuacje, gdzie mogą pomóc komórki macierzyste

- Choroby nowotworowe
- Choroby neurodegeneracyjne
- Uszkodzenia układu nerwowego
- Zabiegi odtwórcze
- Zaburzenia gojenia kości
- Oparzenia
- Zaburzenia unaczynienia
- Zastąpienie ludzi w badaniach leków

Komórka macierzysta - cechy

- zdolność do **samoodnawiania**, czyli zdolność do wytwarzania następnych komórek macierzystych;
- zdolność **różnicowania się** w te wszystkie rodzaje komórek dla których jest ona macierzysta;
- zdolność do **rozmnażania się** tj. wytworzenia wystarczającej liczby komórek, aby pokryć straty związane z ich zużywaniem oraz umożliwić regenerację po urazie.

Marzenia medycyny regeneracyjnej

- Móc zregenerować chore części ciała za pomocą odpowiedniego zestawu komórek macierzystych;
- Móc rozpocząć takie działanie od niewielkiej liczby dobrze dobranych (a jeśli konieczne łatwo zmodyfikowanych) komórek macierzystych.

Trzy możliwe drogi do realizacji takiego celu

- Uzyskanie takich komórek wychodząc z zarodkowych komórek macierzystych;
- Znalezienie źródła (źródeł) dużych ilości poszczególnych rodzajów tego typu komórek w dorosłym organizmie.
- Znalezienie źródła (źródeł) małych ilości takich komórek w dorosłym organizmie, ale połączone z opracowaniem metody ich namnożenia poza organizmem.

Wady i zalety komórek macierzystych

- **Zarodkowe komórki macierzyste:**
 - nieograniczony potencjał do różnicowania (zdolność do wytworzenia każdego rodzaju komórek człowieka)
 - Już obecnie można namnażać w dowolnych ilościach
 - Można uzyskać tylko z ludzkiego zarodka
 - Niewielka liczba linii (trudność w doborze do konkretnego chorego)
 - Nie ma jeszcze rutynowych metod uzyskiwania z nich poszczególnych rodzajów komórek somatycznych
- **Somatyczne komórki macierzyste:**
 - Udowodniony potencjał do wytwarzania określonego rodzaju komórek somatycznych
 - Hipotetyczna możliwość, że ten potencjał przypomina zarodkowe komórki macierzyste i, że będzie można to wykorzystać
 - Ponad 17 milionów zarejestrowanych potencjalnych dorosłych dawców i ponad 500 tysięcy jednostek krwi pępowinowej w bankach publicznych.
 - Ciągłe nie udaje się ich namnażać

Krwiotwórcza komórka macierzysta

- Somatyczna komórka macierzysta zdolna ustanowić i utrzymywać stałe wytwarzanie wszystkich komórek krwi.
- Występuje w szpiku z częstością 1/25-100.000 komórek (Wiktor-Jedrzejczak W i wsp. 1979).
- **Jej przeszczepienie jest istotą wszystkich zabiegów przeszczepiania komórek krwiotwórczych.**
- Wszystkie pozostałe komórki znajdujące się w przeszczepianym szpiku mają jedynie znaczenie pomocnicze.

Gdzie są krwiotwórcze komórki macierzyste?

- W szpiku (dużo).
- We krwi obwodowej (mało, ale można je do niej zmobilizować).
- We krwi pępowinowej (dużo), ale krwi jest mało.
- W wątrobie płodowej (dużo), ale materiał trudno dostępny.

Ustawa o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów

- W oparciu o dyrektywy Unii Europejskiej (EC 23/2004 i późniejsze) określa warunki tworzenia, funkcjonowania i likwidacji banków komórek, w tym komórek krwiotwórczych.
- Wprowadza wymóg akredytacji banku przez **Krajowe Centrum Bankowania Komórek i Tkanek**.

Co to jest krew pępowinowa

- To jest ta część krwi noworodka (około połowa), która pozostaje w naczyniach sznura pępowinowego i łożyska (stąd czasami jest też nazywana krwią łożyskową);
- ponieważ w trakcie porodu naturalnego noworodek jest poddawany stresowi i może wydzielać wiele różnych cytokin krew uzyskana w trakcie porodu naturalnego i porodu metodą cięcia cesarskiego może się różnić.

Autologiczna krew pępowinowa

- Ryzyko 1/20,000, że dana osoba zachoruje na chorobę wymagającą przeszczepienia szpiku.
- Jeśli nawet tak się stanie, to będzie wymagać przeszczepienia allogenicznego, a nie autologicznego.
- Główne wskazania do przeszczepień autologicznych są u starszych dorosłych (szpiczak plazmocytowy, chłoniaki) a u dzieci tylko nerwiak zarodkowy.

Autologiczna krew pępowinowa

- Obecnie nie ma naukowego uzasadnienia do bankowania własnej krwi pępowinowej noworodka, ale nie jest to szkodliwe.
- Jest w tej sprawie również opinia European Group on Ethics in Science and Technology (oficjalne ciało doradcze Komisji Europejskiej).
- Działanie komercyjnych banków krwi pępowinowej/komórek macierzystych jest wątpliwe etycznie.
- W Polsce jeszcze nigdy nie wykorzystano z powodzeniem autologicznej krwi pępowinowej.

Tak się złożyło,
że 3 lata temu
zostałem Tata i
nie uznałem za
celowe
zbankowanie
krwi
pępowinowej
swojego synka.



BANKI KRWI PĘPOWINOWEJ:

- **Publiczne**

- **Bank Komórek Krwiotwórczych i Krwi Pępowinowej Katedry i Kliniki Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego**
ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa
- **Zakład Hematologii Doświadczalnej i Bank Krwi Pępowinowej Centrum Onkologii, Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie**
ul. W.K. Roentgena 5, 02-781 Warszawa
- **Pracownia Transfuzjologii Laboratoryjnej z Bankiem Komórek Krwiotwórczych Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie** ul. Indiry Gandhi 14, 02-776 Warszawa

- **Komercyjne**

- **Bank Krwi Pępowinowej Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Poznaniu** ul. Marcelińska 44, 60-354 Poznań
- **Bank Komórek Macierzystych Novum Sp. z o.o.**
ul. Bociania 13, 02-807 Warszawa
- **Bank Komórek Macierzystych Longa Vita Sp. z o.o.**
Al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
- **Bank Krwi Pępowinowej MACIERZYŃSTWO Sp. z o.o.**
ul. Ujastek 3, 31-221 Kraków
- **Polski Bank Komórek Macierzystych S.A. (NZOZ PBKM)**
ul. Grzybowska 2 lok. 41, 00-131 Warszawa
- **PROGENIS - Bank Komórek Macierzystych**
ul. Wielicka 265, 30-663 Kraków
- **Zachodni Bank Komórek Macierzystych "ZDROWIE DZIECKA"**
ul. Piłsudskiego 102, 61-246 Poznań

Sprawozdanie z działalności komercyjnych banków komórek krwi pępowinowej w roku 2009 (strona internetowa KCBTiK)

- całkowita liczba próbek krwi pępowinowej do zastosowania autogenicznego bez oznaczonych antygenów HLA (niepoddanych typowaniu) zgromadzonych od początku działalności do 31.12.2009 r. **11586** w tym w roku 2009 **1998**
- całkowita liczba próbek krwi pępowinowej do zastosowania autogenicznego z oznaczonymi antygenami HLA (poddanych typowaniu) zgromadzonych od początku działalności do 31.12.2009 r. **2** w tym w roku 2009 **0**
- Całkowita liczba wszystkich próbek krwi pępowinowej do zastosowania autogenicznego przekazanych do ośrodków transplantacyjnych w Polsce od początku działalności do 31.12.2009 r. **1** w tym w roku 2009 **0**

Komercyjne banki własnej krwi pępowinowej

- Zgromadziły na świecie ponad 2 miliony jednostek.
- Informacje o wykorzystaniu dotyczą kilkudziesięciu chorych bez dokładnego opisu skutków.
- Na świecie dokładny opis powodzenia w dwóch przypadkach, w tym jeden przypadek udanego przeszczepienia w białaczkę opisany w styczniu 2007 i jeden udanego przeszczepienia w ciężkiej aplazji szpiku opisany w marcu 2011.
- Maszynka do robienia pieniędzy.

Publiczne banki krwi pępowinowej

- Gromadzą krew pępowinową od innych osób niż potencjalny biorca (obecnie około 500 tys. jednostek na świecie)
- Przechowywane są tylko wyselekcjonowane duże jednostki (powyżej 60 ml – gdyż potrzeba około 3 ml na kg biorcy) wytestowane pod względem zgodności tkankowej i infekcyjnym.
- Zastępują szpik do przeszczepiania u tych chorych, którzy nie mają odpowiednio zgodnych dorosłych dawców.
- Na świecie wykonano ponad 10 tysięcy zabiegów przeszczepienia tej krwi uzyskując powodzenie w około 50 % przypadków.

Liczba zbankowanych jednostek krwi pępowinowej do użytku publicznego

Kraj	Liczba zbankowanych jednostek	Liczba zbankowanych jednostek na 10 mln.
Polska	325	86
Niemcy	21297	2577
Hiszpania	40485	10000

Jaki jest problem?

- Banki publiczne wymagają finansowania ze środków publicznych.
- Na przełomie wieków Ministerstwo Nauki sfinansowało utworzenie w Polsce 3 banków publicznych i zdeponowanie w nich 300 jednostek.
- Dopiero w 2011 roku Ministerstwo Zdrowia przeznaczyło środki na zdeponowanie kolejnych 500 jednostek.

Perspektywy

- Zamiast szpiku
 - Rozwój jednoczesnego przeszczepiania krwi pępowinowej od więcej niż jednego dawcy
 - Opanowanie metody namnażania komórek krwiotwórczych poza organizmem
- Medycyna regeneracyjna
 - Zależą od tego, czy zostanie opracowana rutynowego namnażania poza organizmem innych komórek niż komórki krwiotwórcze.
 - Zależą od tego, czy zostanie opracowana metoda przeszczepiania takich komórek tak, aby podjęły one swoją funkcję w organizmie.