

Terapie naprawcze w uszkodzeniach rdzenia kręgowego

Repair Therapies in Spinal Cord Injuries

Piotr Tederko^{1,2(A,D,E,F)}, Marek Krasuski^{1,2(A,D,E)}, Jerzy Kiwerski^{2,3(A,D,E,F)},
Izabela Nyka^{1,2(A,D)}, Dariusz Białoszewski^{3(A,D,E)}

¹ Klinika Rehabilitacji, Warszawski Uniwersytet Medyczny

² Centrum Rehabilitacji w Konstancinie, Oddział II

³ Zakład Rehabilitacji Oddziału Fizjoterapii II Wydziału Lekarskiego, Warszawski Uniwersytet Medyczny

¹ Rehabilitation Department, Medical University of Warsaw

² Rehabilitation Centre in Konstancin, 2nd Department

³ Division of Rehabilitation, Department of Physiotherapy, 2nd Medical Faculty, Medical University of Warsaw, Poland

STRESZCZENIE

Terapie naprawcze rdzenia kręgowego (TNRK) to eksperymentalne metody lecznicze budzące rosnące zainteresowanie zarówno wśród populacji osób po urazie rdzenia kręgowego i ich bliskich, jak i lekarzy i fizjoterapeutów. W artykule, w oparciu o przegląd aktualnego piśmiennictwa, przedstawiono najważniejsze strategie TNRK. Większość spośród obecnie rozwijanych TNRK znajduje się w fazie eksperymentalnych badań in vitro lub na modelach zwierzęcych. Nieliczne z tych badań znajdują się we wczesnej fazie badań klinicznych lub funkcjonują jako komercyjne niestandardowe usługi medyczne.

W oparciu o przeprowadzoną analizę piśmiennictwa można stwierdzić, że obecnie istnieje niewielka liczba doniesień, które spełniają kryteria wiarygodności, a publikowane w nich wyniki pozwalają obiektywnie ocenić bezpieczeństwo i skuteczność TNRK. Dostępne wyniki badań nie są wystarczające do potwierdzenia zasadności powszechnego stosowania tych metod.

Słowa kluczowe: uszkodzenie rdzenia kręgowego, regeneracja neuronów, terapie naprawcze, terapie eksperymentalne

SUMMARY

Spinal cord repair therapies (SCRT) are experimental treatments which are attracting a growing interest among both spinal cord injury sufferers and their families as well as physicians and physiotherapists. Basing on current professional literature, this article presents the most important SCRT strategies. The majority of currently developed SCRTs are at the stage of experimental in vitro or animal studies. Few of these studies are in the early clinical trial stage or are being offered as non-standard commercial health care services.

Basing on a review of the literature, it can be stated that currently there are few studies which meet the criterion of reliability, and their results make possible an objective assessment of the safety and efficacy of SCRT. Available study results are insufficient to confirm the advisability of widespread application of these methods.

Key words: spinal cord injury, neuronal regeneration, repair therapies, experimental therapies

WSTĘP

Wytyczne postępowania po urazie rdzenia kręgowego (URK) obejmują stosowanie interwencji neuroprotekcyjnych i działania poprawiające wydolność funkcjonalną pacjenta poprzez wykorzystanie zachowanych czynności i sieci neuronalnych rdzenia kręgowego [1]. Istotne znaczenie w rehabilitacji ma oddziaływanie na plastyczność ośrodkowego układu nerwowego.

Ważnym nurtem badań nad leczeniem konsekwencji URK są eksperymentalne terapie zmierzające do odzyskania uszkodzonych struktur i funkcji rdzenia kręgowego. Zagadnienie to wywołuje rosnące zainteresowanie badaczy. Przeglądając bazę Entrez Pubmed pod hasłem „spinal cord repair” znaleziono 9 publikacji w 2005 roku, 18 w 2006 roku, 20 w 2007 roku i 24 ogłoszone w roku 2008.

Podstawowe problemy z powrotem czynności po URK polegają na spadku zdolności do spontanicznej regeneracji po zakończeniu procesu dojrzewania układu nerwowego, rozwoju blizny glejowej, a także ścisłej czynnościowej zależności centralnych wzorców ruchowych rdzenia kręgowego od modulacji eferentnej [2]. Znaczenie dla poprawy funkcjonalnej u osób po URK miałyby nie tylko przywrócenie przewodzenia w uszkodzonym regionie rdzenia, ale nawet uzyskanie poprawy funkcjonowania pojedynczego segmentu rdzenia, np. w odcinku szyjnym.

Celem pracy jest oparte na przeglądzie piśmiennictwa przedstawienie aktualnych koncepcji leczenia naprawczego rdzenia kręgowego ze szczególnym uwzględnieniem istniejących dowodów na skuteczność i bezpieczeństwo stosowania tych metod u ludzi.

STYMULACJA WZROSTU AKSONALNEGO

Do grupy tej zalicza się terapie zmierzające do poprawy zdolności regeneracyjnych neuronów rdzeniowych lub ponadrdzeniowych i hamowania czynników blokujących naturalne procesy regeneracyjne [2].

Czynniki hamujących wzrost neuronów w strefie wtórnego uszkodzenia rdzenia dzieli się na: czynniki związane z mieliną produkowane przez oligodendrocyty i czynniki macierzy pozakomórkowej produkowane przez astrocyty.

Czynniki związane z mieliną

W prawidłowych warunkach mielinę przyspiesza przesyłanie impulsu elektrycznego w aksonie i odpowiada za umacnianie połączeń utworzonych w procesie rozwoju układu nerwowego. Po URK białka mielinę hamują wzrost i regenerację aksonów będąc źródłem czynników, takich jak: Nogo-A, glikoproteiny związanej z mieliną (MAG), czy mielinowej gliko-

BACKGROUND

Guidelines for the management of spinal cord injury (SCI) patients include neuroprotective interventions and treatment aiming at improving patients' functional ability using preserved functions and neuronal networks of the spinal cord [1]. The stimulation of CNS plasticity is a significant factor in rehabilitation.

Experimental therapies aiming at structural and functional recovery of the spinal cord are an important direction in research concerning the treatment of SCI consequences. This issue is attracting a growing interest among researchers. An Entrez Pubmed database search for "spinal cord repair" returned 9 publications from 2005, 18 from 2006, 20 from 2007 and 24 from 2008.

Functional restoration following SCI is essentially hindered by a decreased ability of spontaneous regeneration when the process of nervous system maturation has been completed, the development of a glial scar and also the presence of a close functional relationship between the central movement patterns of the spinal cord and efferent modulation [2]. Not only the restoration of conduction within the injured area of the spine but also functional improvement of a single spinal segment, e.g. the cervical segment would be of importance for functional improvement.

The aim of the paper is to present current concepts described in relevant papers concerning repair therapy of the spinal cord, with particular regard to existing evidence on the efficacy and safety of these methods in human medicine.

STIMULATION OF AXONAL GROWTH

This group includes therapies aiming to improve the regenerative abilities of spinal or supraspinal neurons and inhibit factors which block natural regenerative processes [2].

Factors which inhibit neuronal growth in the area of secondary spinal cord injury are divided into factors associated with myelin production by oligodendrocytes and extracellular matrix factors produced by astrocytes.

Factors associated with myelin

Under normal conditions, myelin accelerates the conduction of electrical impulses in the axon and is responsible for strengthening connections formed during nervous system development. After an SCI, myelin proteins inhibit axonal growth and regeneration, producing such factors as Nogo-A, myelin-associated glycoprotein (MAG) or oligodendrocyte

proteiny oligodendrocytów (OMgp). Substancje te oddziałują przez wspólny receptor NgR [3]. Blokowanie receptora NgR indukuje proces bocznicowania aksonów zstępujących i wstępujących neuronów monoaminergicznych i peptydergicznych. NEP 1-40 (inhibitor receptora NgR) stymuluje poprawę neurologiczną u szczurów po URK [4]. Podanie wysoko oczyszczonej immunoglobuliny anti-Nogo-A poprawia przewodzenie aferentne [5]. Potencjalne znaczenie w stymulacji procesów naprawczych neuronów może mieć oddziaływanie na dalsze odcinki ścieżek sygnałowych takie jak receptor neurotrofiny p-75, białko transmembranowe LINGO-1 uczestniczące w transdukcji procesu inhibicji na cytoszkielet aksonu [6].

Błony komórkowe oligodendrocytów i zewnętrzne warstwy mieliny zawierają galaktocerebrozyd (GalC). Podanie przeciwciała wiążącego dopełniacz przeciw GalC powoduje zniszczenie i sfagocytowanie ośrodkowej mieliny w wybranym regionie. Efekt ten może być łatwo kontrolowany poprzez dobór dawki, miejsce podania i regulację czasu wlewu. Wywołana w ten sposób demielinizacja jest odwracalna [7].

Duże nadzieje wiązano z transplantacją w miejsce uszkodzenia autologicznych makrofagów i makrofagów koinkubowanych ze skórą. Są one źródłem cytokin redukujących wpływ mielinowych czynników hamujących, stymulujących odrost aksonów i hamujących wzrost blizny glejowej [8]. Według publikacji z 2005 roku ogłoszonej Knollera i wsp. z Chaim Sheba Medical Center w Izraelu metodę tę zastosowano u ludzi w ramach programu klinicznego ProCord. W przebiegu niekontrolowanego badania I fazy podjęto leczenie przed upływem 14 dni od urazu u 8 pacjentów z klinicznymi i elektrofizjologicznymi cechami pełnego deficytu neurologicznego w następstwie URK. W 12-miesięcznej obserwacji u części badanych obserwowano poprawę siły mięśniowej w stopniu nie wpływającym na wydolność funkcjonalną, cechy polepszenia w zakresie somatosensorycznych i motorycznych potencjałów wywołanych (SSEP i MEP) i redukcję obszaru uszkodzenia. Nie analizowano zmiany stanu funkcjonalnego uznając poprawę neurologiczną za dowód skuteczności klinicznej [9]. Wyniki II fazy badań nie zostały dotychczas opublikowane.

Czynniki produkowane przez astrocyty

Aktywowane w wyniku URK astrocyty uwalniają proteoglikany siarczanu chondroityny (CSPG) (np. versican i neurocan) powodujące retrakcję aksonów. Odrastające włókna nerwowe zbliżają się, ale nie wchodzą w kontakt z nowo uformowaną glejową błoną graniczną (glia limitans) stanowiącą najgłębszą warstwę blizny glejowej. Wzrastające neurony

myelin glycoprotein (OMgp). These substances act via a common NgR receptor [3]. Blocking the NgR receptor induces the sprouting of descending and ascending axons of monoaminergic and peptidergic neurons. NEP 1-40 an NgR receptor inhibitor, stimulates neurological improvement in post-SCI rats [4]. Administration of highly purified anti-Nogo-A immunoglobulin improves afferent conduction [5]. Stimulation of distal segments of signal paths, such as the p-75 neurotrophin receptor or the transmembrane protein LINGO-1 which takes part in the transduction of inhibition to the axonal cytoskeleton may be potentially significant in triggering neuronal repair [6].

Oligodendrocyte cell membranes and external layers of myelin include galactocerebroside (GalC). Administration of the complement-fixing antibody to GalC leads to the destruction and phagocytosis of central myelin in the selected region. This effect can be easily controlled by careful choice of the dose, site of administration and regulation of the duration of the infusion. Demyelination induced in this way is reversible [7].

Great hopes were placed in the transplantation of autologous macrophages and skin-coincubated macrophages to the site of injury. These cells are the source of cytokines reducing the effect of myelin inhibitory factors, stimulating axonal growth and inhibiting the growth of the glial scar [8]. According to a 2005 study by Knoller et al. from the Chaim Sheba Medical Center in Israel, this method was applied in patient participating in a clinical programme called ProCord. In the course of uncontrolled phase I trial, the therapy was started within the first 14 days post injury in 8 patients with clinical and electrophysiological signs of complete neurological deficit following an SCI. During a 12-month follow-up, several subjects demonstrated improvement of muscle strength to a degree which did not influence functional ability, evidence of improvement in somatosensory and motor evoked potentials (SSEP and MEP) and reduction of the injury area. Changes in the functional status were not analysed since neurological improvement was regarded as evidence of clinical efficacy [9]. Phase II results have not been published yet.

Factors produced by astrocytes

Astrocytes activated as a result of SCI release chondroitin sulphate proteoglycans (CSPG), e.g. versican and neurocan, which cause axonal retraction. Growing neural fibres approach, but do not contact, the newly-formed glial limiting membrane (glia limitans), which forms the deepest layer of the glial scar. Growing neurons making contact with the glia limi-

w kontakcie z glia limitans reagują formowaniem nieprawidłowych zakończeń i zmieniają kierunek wzrostu [1,10]. Osłabienie efektu hamującego CSPG uzyskać można na drodze degradacji enzymatycznej np. przy użyciu chondroitinazy ABC (ChABC), która odzepia łańcuchy glikozoaminoglikanów (GAG) od białkowego jądra [11]. Efekt ten jest wyraźniejszy po jednoczesnym miejscowym zastosowaniu DNA-azy blokującej produkcję enzymu inicjującego łańcuch GAG [12].

Innym kierunkiem terapii naprawczych jest modulacja aktywności wewnątrzkomórkowego przekźnika II-rzędu c-AMP, którego poziom jest znacznie wyższy w tkance rdzeniowej szczura przechodzącej proces regeneracji [13].

ODTWORZENIE POŁĄCZENIA NEURONALNEGO

Terapie zmierzające do stworzenia neuronalnego mostu łączącego proksymalny i dystalny odcinek rdzenia oddziałują na obszar uszkodzenia poprzez wszczepienie struktur przewodzących impulsy elektryczne, dostarczenie substratów ułatwiających wydłużanie aksonów i stymulujących remielinizację [2]. Eksperymentalne terapie spełniające powyższe założenia obejmują:

Przeszczepy nerwów obwodowych

Rekonstrukcje ogona końskiego z wykorzystaniem przeszczepów kablowych i połączenia omijające uszkodzony odcinek rdzenia z użyciem nerwów międzybrownych stosowane były w Rosji w początkach lat 80-tych XX wieku [14]. W 2004 roku Czeng i w 2008 roku Wu z ośrodków z Tajwanu donosili o pojedynczych przypadkach poprawy neurologicznej i funkcjonalnej u osób z niepełnym uszkodzeniem neurologicznym po URK leczonych przy użyciu transplantacji do rdzenia odcinków nerwu łydkowego z zastosowaniem fibrynowego kleju tkankowego wzbogaconego o kwaśny czynnik wzrostu fibroblastów (FGF-1) [15, 16]. Przeprowadzone w Uniwersytecie Sao Paolo badania 8 pacjentów z wyjściowo deficytem ruchowym, u których zastosowano takie leczenie są mniej zachęcające [17]. Nerw łydkowy wykorzystywano również jako przeszczep omijający łączący przednio-boczne kwadranty rdzenia na wysokości T7-8 z korzeniami ruchowymi L2-4 u pacjenta z paraplegią po uszkodzeniu T9. W 8 miesięcy po zabiegu stwierdzono poprawę ruchową i polepszenie w zakresie MEP [18].

Doświadczenia nad zastosowaniem przeszczepów nerwów obwodowych stanowią stadium pośrednie w badaniach nad wykorzystaniem przeszczepów

tans respond by forming abnormal endings and change the direction of growth [1,10]. Attenuation of the inhibitory effect of CSPG may be achieved by enzymatic degradation, e.g. with chondroitinase ABC (ChABC), which removes glycosaminoglycans (GAG) from the protein core [11]. This effect becomes even more distinct following concomitant local administration of the DNA-ase blocking the production of the enzyme initiating the GAG chain [12].

Another direction in repair therapies is the modulation of activity of intracellular second messenger c-AMP, whose concentration was significantly higher in the rat spinal tissue undergoing regeneration [13].

RESTORATION OF NEURONAL CONNECTIONS

Therapies aiming at creating a neuronal bridge to connect the proximal and distal spinal segments influence the area of injury via implantation of structures which conduct electrical impulses and supplying substrates that facilitate axon elongation and stimulate remyelination [2]. Experimental therapies which satisfy the above assumptions include:

Peripheral nerve grafting

Reconstructions of the cauda equina with cable grafts and connections bypassing the injured spinal segment based on intercostal nerves were employed in Russia in the early 1980s [14]. Cheng in 2004 and Wu in 2008 from centres in Taiwan reported single cases of neurological and functional improvement in persons with incomplete neurological destruction after an SCI who had received grafts of segments of the sural nerve into the spinal cord using a fibrin glue containing the acidic fibroblast growth factor (FGF-1) [15,16]. A study conducted at Sao Paolo University of 8 patients with baseline motor deficit treated in the above-described manner provided less encouraging results [17]. The sural nerve has also been used as a bypass graft connecting the antero-lateral spinal quadrants at T7-8 with the L2-4 ventral roots in a patient with paraplegia after T9 injury. Motor and MEP improvement were observed at 8 months post treatment [18].

Experiments with peripheral nerve grafting constitute an intermediate stage in studies of cellular grafts which may be genetically modified.

komórkowych, które można poddawać modyfikacji genetycznej.

Komórki Schwanna (SC)

Przesłanką do implantacji SC do uszkodzonego rdzenia kręgowego było dostrzeżenie ich udziału w odroście aksonów w uszkodzonym nerwie obwodowym. SC udaje się łatwo uzyskać i namnażać, także stosując pochodzące ze skóry komórki prekursorowe [19]. W trakcie badań na szczurach po przeszczepie SC stwierdzono poprawę funkcjonalną pod postacią odruchowego rytmicznego kroczenia [19, 20].

Problemem w stosowaniu mostów zawierających SC jest hamowanie wzrostu aksonów w trakcie przerastania przez wszczep i penetracja docelowego fragmentu rdzenia kręgowego. Efekt ten przypisano hamującemu działaniu mieliny i gromadzeniu CSPG na dystalnej granicy komórkowego implantu [21].

Glejowe komórki węchowe (OEC) posiadają zdolność remodelowania pogranicza obwodowego i ośrodkowego układu nerwowego i tworzenia sprzyjających warunków do przerastania tej granicy przez regenerujące aksony u osobnika dorosłego. Obecność przeszczepu OEC przyczynia się do redukcji rozmiarów jam syringomielicznych w miejscu uszkodzenia i poprawia miejscowe ukrwienie [22]. Opublikowane w 2004 roku przez autorów kanadyjskich wyniki badań na szczurach z uszkodzeniem strefy wejścia rogu tylnego nie potwierdzają zdolności komórek węchowych do migracji przez strefę uszkodzenia i stymulacji regeneracji aksonalnej [23]

Stosowanie OEC wzbudza kontrowersje ze względu na sprzeczne wyniki badań na ludziach. W 2006 roku Chiński zespół kierowany przez Huanga opublikował wyniki leczenia 300 pacjentów z – 222 osób z całkowitym i 78 z niecałkowitym rdzeniowym deficytem neurologicznym poddanych przeszczepieniu OEC z ludzkich tkanek płodowych stosowanych w dawce około 1 miliona komórek. Autorzy zaobserwowali znaczącą poprawę motoryczną i dotyczącą czucia, która nie wykazywała zależności od wieku, płci, czasu od URK i poziomu uszkodzenia. Metodę oceniono jako bezpieczną [24]. Badanie MR wykonane 29-42 miesiące po operacji nie wykazywało cech rozrostu w operowanej okolicy, krwawienia, obrzęku, progresji syringomielii, infekcji lub innego uszkodzenia struktur nerwowych [25]. Krytyczna praca Dobkina z 2006 roku zawierająca analizę 8 przypadków wybranych z powyższych prób wykazała niejasne kryteria doboru pacjentów (brak jednorodności grupy pod względem stopnia uszkodzenia neurologicznego i przyczyny uszkodzenia), brak korelacji lokalizacji uszkodzenia i miejsca podania OEC (np. zastosowanie wszczepu do płatów czołowych u pa-

Schwann cells (SC)

The involvement of Schwann cells in axonal growth in injured peripheral nerves was the premise for the implantation of SC into the injured spinal cord. SC are easily obtained and multiplied, e.g. by using skin-derived precursor cells [19]. Studies of rats after SC grafting revealed functional improvement in the form of involuntary rhythmical stepping [19, 20].

A problem in SC bridging is the inhibition of axonal growth through the graft and penetration of the target spinal segment. This effect was attributed to the inhibitory myelin effect and CSPG accumulation on the distal border of the cellular implant [21].

Olfactory ensheathing cells (OEC) have the ability to remodel the border between the peripheral and central nervous systems and create appropriate conditions for axons to extend through the border in adults. The presence of an OEC graft contributes to the reduction of the size of syringomyelic cavities at the site of the injury and improves local perfusion [22]. In 2004 Canadian authors published the results of a study of rats with dorsal root entry zone injury. They did not confirm the ability of olfactory cells to migrate through the injury area and stimulate axonal regeneration [23].

OEC administration is controversial in view of contradictory results of human studies. In 2006 a Chinese team led by Huang published the results of treatment of 300 patients, including 222 cases of complete and 78 cases of incomplete spinal neurological deficit, who underwent OEC grafting from human foetal tissues at a dose of approx. 1 million cells. The authors noticed significant motor and sensory improvement that was independent of age, gender, time since SCI and degree of injury. The method was regarded as safe [24]. MRI assessment performed 29-42 months after the operation did not demonstrate evidence of proliferation within the operated area, haemorrhage, oedema, syringomyelia progression, infection or any other injury to the neural structures [25]. A critical review by Dobkin (2006), who analysed 8 cases selected from the above studies, demonstrated obscure patient enrolment criteria (lack of homogeneity of the group in terms of the degree of neurological destruction and the cause of injury), lack of correlation between the injury site and the site of OEC administration (e.g. implanting grafts into the frontal lobes in a patient with cervical segment injury), presence of serious complications in 5 out of the 8 subjects, and no signs of evident and

cja po urazie w odcinku szyjnym), obecność poważnych powikłań w 5 spośród 8 badanych, brak cech ewidentnej i klinicznie użytecznej poprawy sensomotorycznej, wegetatywnej i funkcjonalnej. Zdaniem Dobkina badania te nie spełniały międzynarodowych wymogów bezpieczeństwa i obiektywności [26].

Zastrzeżenie etyczne w chińskich doniesieniach wzbudziło również masowe wykorzystywanie przeszczepów płodowych w metodzie o nieudokumentowanej skuteczności. Obecnie w większości ośrodków prowadzących badania nad zastosowaniem OEC w urazach rdzenia kręgowego wykorzystuje się autogenne przeszczepy tych komórek [27].

Lima i wsp. z Portugalii przedstawili wyniki sześćioletniej otwartej niekontrolowanej obserwacji pilotażowej grupy 7 pacjentów po URK leczonych z zastosowaniem autologicznych przeszczepów OEC po częściowym usunięciu blizny rdzeniowej. Bezpieczeństwo metody oceniono pozytywnie [28].

Istnieją dowody na większą efektywność poprawy neurologicznej w wyniku przeszczepienia OEC po upływie okresu od tygodnia do 2 miesięcy w porównaniu do rezultatu zabiegu przeprowadzonego bezpośrednio po urazie [29]. U zwierząt z eksperymentalnym zmiążdżeniem słupa tylnego istoty szarej rdzenia kręgowego w efekcie jednoczesnego stosowania przeszczepów OEC i SC osiągnięto penetrację aksonów przez barierę astroglęjową i wytwarzanie nowych połączeń synaptycznych [20].

Tkanki płodowe (nerwy obwodowe, tkanka mózgowa, rdzeniowa) wszczepiane do uszkodzonego rdzenia kręgowego osobnika dorosłego uczestniczą w tworzeniu środowiska sprzyjającego regeneracji aksonów. Z przeprowadzonych na modelu zwierzęcym badań Jefferya i wsp. opublikowanych w 2006 roku wynika, że neurony płodowe mogą wytworzyć synapsy z komórkami nerwowymi biorcy [30]. Przeszczepy tkanki rdzeniowej z 6-8 tygodniowych płodów ludzkich zastosowano u 8 pacjentów z syringomielią pourazową. W 18-miesięcznej obserwacji nie obserwowano przypadków pogorszenia neurologicznego, nawrotu jamy, i rozrostu w obrębie przeszczepu, ale też nie zanotowano klinicznie użytecznej poprawy funkcjonalnej [31].

Zespół z Nowosybirsk kierowany przez Rabinovicha w 2003 przedstawił wyniki eksperymentalnych terapii, w trakcie których u 15 osób po URK stosowano przeszczepy z mózgowych i rdzeniowych komórek płodowych, hematopoetycznych komórek wątroby z jednoczesną transplantacją OEC u 11 pacjentów. U 6 badanych obserwowano poprawę w zakresie czucia, siły mięśniowej i wydolności lokomocyjnej [32].

clinically useful sensorimotor, vegetative and functional improvement. According to Dobkin these studies had not met internationally accepted safety and objectivity requirements [26].

Some ethical reservations were also raised because of the massive use of foetal grafts in a method whose efficiency was not documented. Currently most centres conducting research on OEC use in spinal cord injuries use autologous grafts of these cells [27].

Lima et al. from Portugal presented the results of a 6-year open uncontrolled pilot observation of a group of 7 SCI patients treated by autologous OEC grafting after partial removal of the spinal scar. The method was regarded as safe [28].

There is evidence of greater neurological improvement following OEC grafting between 1 week and 2 months post-SCI as compared grafting performed immediately after an SCI [29]. A study of animals following experimental contusion of the dorsal column of the spinal grey matter found that simultaneous implantation of OEC and SC grafts led to axonal penetration into the astroglial barrier and the formation of new synaptic connections [20].

Foetal tissues (peripheral nerves, cerebral and spinal tissue) grafted into the injured spinal cord of an adult take part in creating an environment which promotes axonal regeneration. According to a study of an animal model published by Jeffrey et al. in 2006, foetal neurons are able to form synapses with the recipient's nerve cells [30]. Grafts of spinal tissue from 6- to 8-week-old human fetuses were implanted in 8 patients with posttraumatic syringomyelia. During an 18-month follow-up, the subjects did not present neurological deterioration, cavity recurrence or proliferation within the graft. However, no clinically significant functional improvement was noted [31].

In 2003, a team from Novosibirsk led by Rabinovich presented the results of experimental therapies, where 15 post-SCI patients had received grafts from cerebral and spinal foetal cells and haematopoietic liver cells with simultaneous OEC transplantation in 11 patients. 6 subjects exhibited improved sensory function, muscle strength and locomotor ability [32].

Komórki macierzyste, prekursorowe i multipotencjalne

Rdzeniowe i ponadrzeniowe aksony wykazują zdolność wrastania do wszczepów zawierających multipotencjalne komórki nerwowe [33]. Choć teoretycznie istnieją możliwości stymulacji różnicowania komórek multipotencjalnych w kierunku neuronów rdzeniowych, dotychczasowe badania wskazują, że najczęściej wykazują one tendencje do przekształcania się w komórki gleju [34,35].

Terapię z zastosowaniem miejscowej iniekcji szpikowych komórek macierzystych w połączeniu z granulocytowym i makrofagowym czynnikiem wzrostu kolonii (GM-CSF) opracowano w Korei. W trakcie otwartej nierandomizowanej próby klinicznej z udziałem 35 pacjentów z całkowitym deficytem neurologicznym w następstwie URK korzystnie oceniono bezpieczeństwo metody. W 10-miesięcznej obserwacji obserwowano poprawę w zakresie funkcji ruchowych średnio o 30,4% wartości wyjściowej punktacji w skali ASIA [36].

W warunkach kontrolowanej próby klinicznej w grupie 16 osób po URK z użyciem znakowanych autologicznych komórek CD34 (+) podanych drogą nakłucia podpajęczynówkowego udowodniono zdolność migracji tych komórek do miejsca uszkodzenia rdzenia [37].

Zespół badaczy z Czech kierowany przez Sykova ogłosił w 2006 roku wczesne wyniki podawania niemodyfikowanych komórek pochodzenia szpikowego drogą infuzji dożylną i do tętnicy rdzeniowej przedniej stosowanej w okresie 10-467 dni po URK. Obserwacja 20 pacjentów po takim zabiegu sugeruje, że wyższej skuteczności po podaniu dotętnicznym należy spodziewać się u osób, które otrzymały komórki macierzyste w okresie do 4 tygodni od urazu [38]. W 2004 roku Barros z Sao Paulo stosował podobne leczenie u 32 osób z cechami pełnego uszkodzenia neurologicznego w odległym okresie po urazie uzyskując poprawę w zakresie SSEP u połowy leczonych [17]. Zachęcające efekty 3-miesięcznej obserwacji 2 pacjentów po URK po dożylnym podaniu modyfikowanych macierzystych komórek nerwowych i prowadzonego następnie usprawniania metodami neurofizjologicznymi przedstawili autorzy z Argentyny i Paragwaju [39].

Historia stosowania komórek multipotencjalnych w ramach eksperymentalnych terapii u ludzi jest krótka. Wiedza na temat sposobów ich działania, regulacji, proliferacji i różnicowania i efektów odległych jest ograniczona, co każe zachować ostrożność w upowszechnianiu tych terapii.

Implanty syntetyczne stosowane do rdzenia kręgowego mogą funkcjonować jako nośniki wszcze-

Stem, precursor and multipotent cells

Spinal and supraspinal axons have the ability to extend into the grafts which contain multipotent nerve cells [33]. Although in theory it is possible to stimulate the differentiation of multipotent cells towards spinal neurons, available studies indicate that they most commonly tend to transform into glial cells [34, 35].

A therapy based on local injection of bone marrow stem cells and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) has been developed in Korea. The safety of the method was positively assessed during an open nonrandomized clinical trial of 35 patients with total neurological deficit following SCI. During a 10-month follow-up period, motor function improved by an average of 30.4% compared to baseline ASIA scores [36].

A controlled clinical trial of 16 subjects who received labelled autologous CD34(+) cells administered by subarachnoid injection demonstrated the ability of these cells to migrate to the site of spinal cord injury [37].

In 2006 a team from the Czech Republic led by Sykova published the early results of administration of unmodified cells originating from the bone marrow by intravenous infusion and into the anterior spinal artery performed 10-467 days post-SCI. The follow-up of 20 patients after this procedure suggests that higher efficacy after intraarterial administration is to be expected in those patients who received stem cells not later than 4 weeks post injury [38]. In 2004 Barros from Sao Paulo employed a similar treatment in 32 patients with signs of a complete neurological injury in the late post-injury period, attaining SSEP improvement in half of the subjects [17]. The encouraging effects of a 3-month follow-up of 2 SCI patients who had been intravenously administered modified nervous stem cells and then rehabilitated using neurophysiological methods were presented by authors from Argentina and Paraguay [39].

The history of experimental multipotent cell therapies in human medicine is short. Knowledge of their mechanisms of action, regulation, proliferation, differentiation and long-term effects is limited, which necessitates caution in the promotion of these therapies.

Synthetic implants grafted into the spinal cord may function as carriers of cellular grafts, neurotrophic factors and determine the direction of growth of the regenerating axons [40-42]. The results of using hydrogel directional channels filled with autologous material in laboratory animals indicate possible problems such as the obliteration and collapse of channels or syringomyelia [43].

pów komórkowych, czynników neurotroficzych i wyznaczać kierunek wzrostu regenerujących aksonów [40,41,42]. Wyniki stosowania u zwierząt laboratoryjnych hydrożelowych kanałów kierunkowych wypełnionych materiałem autologicznym wykazują potencjalne problemy pod postacią zarostania i zapanowania się kanałów i syringomieli [43].

UŁATWIENIE TRANSMISJI AKSONALNEJ

Jedną z przyczyn zaburzeń funkcji po URK jest przetrwała demielinizacja i brak remielinizacji nieuszkodzonych aksonów. Poprawa przewodnictwa aksonalnego w wyniku stymulowania procesu remielinizacji jest podkreślanym mechanizmem poprawy neurologicznej w terapiach z zastosowaniem SC i OEC. Mielina wytworzona przez SC jest stopniowo i w sposób postępujący zamieniana w mielinę oligodendrocytarną [44].

W odpowiedzi na demielinizację aksonów rdzenia kręgowego dochodzi do rekrutacji nowych oligodendrocytów z populacji komórek prekursorowych. Przeszczepienie nerwowych komórek prekursorowych nasila ten proces przyczyniając się do przyspieszenia funkcjonalnej poprawy [34]. Stwierdzono, że komórki macierzyste pochodzenia szpikowego stymulowały remielinizację uszkodzonego rdzenia kręgowego zarówno po wszczepieniu miejscowym, jak i po ogólnym stosowaniu dożylnym [45].

Po 6 tygodniach od podania małym po URK ludzkich hodowanych in vitro komórek macierzystych obserwowano różnicowanie się wszczepionych komórek w neurocyty, astrocyty i oligodendrocyty oraz cechy remielinizacji. W porównaniu z grupą kontrolną zwierzęta leczone w ten sposób wykazywały lepszą funkcję chwytaną, większą ruchomość spontaniczną, redukcję rozmiarów jam syringomielicznych [46].

Inhibitorem kanałów potasowych, którego zastosowanie poprawia przewodnictwo w neuronach rdzeniowych wykazujących różny stopień demielinizacji jest 4-aminopirydyna (4-AP) [17]. W trakcie otwartych niekontrolowanych badań z udziałem 3 osób z niepełnym deficytem neurologicznym w wyniku URK stwierdzono, że ogólne podawanie 4-AP w dawce 20-30 mg na dobę prowadzi u pacjentów do poprawy funkcji czuciowych, ruchowych i redukcję spastyczności [47]. Jensen w 2003 roku stwierdził, że lek ten jest skuteczniejszy w pokonywaniu bloku przewodzeniowego po urazie o typie rozciągnięcia niż kompresji [48]. Wyniki prac opublikowanych w latach 2004-7 dowodzą, że jakkolwiek 4-AP jest lekiem poprawiającym tolerancję glukozy u osób w odległym okresie po URK to nie ma przekonywających dowo-

FACILITATING AXONAL TRANSMISSION

One cause of post-SCI functional impairment is persistent demyelination and lack of remyelination of uninjured axons. The improvement of axonal conduction as a result of stimulation of remyelination is deemed to be an important mechanism of neurological improvement in SC- and OEC-based therapies. Myelin produced by SC is gradually and progressively transformed into oligodendrocytic myelin [44].

In response to demyelination of spinal cord axons, new oligodendrocytes are recruited from the population of precursor cells. Transplantation of precursor neural cells intensifies this process, contributing to the acceleration of functional improvement [34]. Stem cells originating from bone marrow were found to stimulate the remyelination of injured spinal cord both after local grafting and after systemic intravenous administration [45].

Six weeks after administration of in vitro cultivated human stem cells to SCI monkeys, there was differentiation of the implanted cells into neurocytes, astrocytes and oligodendrocytes and signs of remyelination. In comparison with the control group, animals treated with this method demonstrated better grip function, greater spontaneous mobility and reductions in syringomyelia cavity sizes [46].

4-aminopyridine (4-AP) is a potassium channel inhibitor whose use improves conduction in spinal neurons exhibiting different degrees of demyelination [17]. In an open uncontrolled trial including 3 patients with incomplete neurological deficit as a result of SCI, systemic administration of 4-AP at a dose of 20-30 mg per day led to improved sensory and motor function and diminished spasticity [47]. In 2003 Jensen reported that this medication was more efficient in overcoming conduction block after an extension-type injury than in the case of a compression-type injury [48]. The results of studies published in the years 2004-7 prove that although 4-AP improves glucose tolerance in patients after in the late post-SCI period, there is no satisfactory evidence to demonstrate an effect of this medication on the neurological status [49, 50].

dów na użyteczny wpływ tego preparatu na stan neurologiczny [49, 50].

WNIOSKI

1. Terapie naprawcze rdzenia kręgowego (TNRK) są modnym i coraz częściej podejmowanym tematem badań naukowych.
2. W dostępnym, w wiarygodnych bazach literaturowych, piśmiennictwie nie znaleziono zgodnych zasadami Evidence – Based Medicine dowodów potwierdzających skuteczność kliniczną TNRK.

CONCLUSIONS

1. Spinal cord repair therapy (SCRT) is a fashionable and increasingly popular research topic.
2. Available and reliable professional literature databases did not yield evidence-based proof of the clinical efficacy of SCRT.

PIŚMIENICTWO / REFERENCES

1. Tederko P, Krasuski M, Kiwerski J, Nyka I, Białoszewski D. Strategie neuroprotekcji w urazach rdzenia kręgowego. *Ortop Trumatol Rehabil* 2009; 11(2):103-110
2. Ramer LM, Ramer MS, Steeves DJ. Setting the stage for functional repair of spinal cord injuries: a cast of thousands. *Spinal Cord* 2005;43:134-61.
3. Kastin AJ, Pan W. Targeting neurite growth inhibitors to induce CNS regeneration. *Curr Pharm Des* 2005;11:1247-53.
4. Guo Q, Li S, Su B. Expression of oligodendrocyte myelin glycoprotein and its receptor NgR after the injury of rat central nervous system. *Neurosci Lett* 2007;422(2):103-8.
5. Liebscher T, Schnell L, Schnell D, Scholl J, Schneider R, Gullo M i wsp. Nogo-A antibody improves regeneration and locomotion of spinal cord injured rats. *Ann Neurol* 2005;58:706-19.
6. McKerracher L, Higuchi H. Targeting Rho to stimulate repair after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2006;23(3-4):309-17.
7. Rus H, Cudrici C, David S, Niculescu F. The complement system in central nervous system diseases. *Autoimmunity* 2006;39(5):395-402.
8. Schwartz M, Yoles E. Macrophages and dendritic cells treatment of spinal cord injury: from the bench to the clinic. *Acta Neurochir Suppl* 2005;93:147-50.
9. Knoller N, Auerbach G, Fulga V i wsp. Clinical experience using incubated autologous macrophages as a treatment for complete spinal cord injury: Phase I study results. *J Neurosurg Spine* 2005;3:173-81.
10. Tang X, Davies JE, Davies SJ. Changes in distribution, cell associations, and protein expression levels of NG2, neurocan, phosphacan, brevican, versican V2, and tenascin-C during acute to chronic maturation of spinal cord scar tissue. *J Neurosci Res* 2003;71(3):427-44.
11. Chau CH, Shum DK, Li H, Pei J, Lui YY, Wirthlin L i wsp. Chondroitinase ABC enhances axonal regrowth through Schwann cell-seeded guidance channels after spinal cord injury. *FASEB J* 2004;18(1):194-6.
12. Hurtado A, Podinin H, Oudega M, Grimpe B. Deoxyribozyme-mediated knockdown of xylosyltransferase-1 mRNA promotes axon growth in the adult rat spinal cord. *Brain* 2008;131(Pt 10):2596-605.
13. Mladinic M. Changes in cyclic AMP levels in the developing opossum spinal cord at the time when regeneration stops being possible. *Cell Mol Neurobiol* 2007;27(7):883-8.
14. Iumashev GS, Aganesov AG. Reconstructive surgery in complicated trauma of the thoracic and lumbar segments of the spine. *Vestn Khir Im I I Grek* 1989;143(11):61-4.
15. Cheng H, Liao KK, Liao SF, Chuang TY, Shih YH. Spinal cord repair with acidic fibroblast growth factor as a treatment for a patient with chronic paraplegia. *Spine* 2004;29(14):E284-8.
16. Wu JC, Huang WC, Tsai YA, Chen YC, Cheng H. Nerve repair using acidic fibroblast growth factor in human cervical spinal cord injury: a preliminary Phase I clinical study. *J Neurosurg Spine* 2008;8(3):208-14.
17. Steeves J, Fawcett J, Tuszynski M. Report of International Clinical Trials Workshop on Spinal Cord Injury February 20-21, 2004, Vancouver, Canada. *Spinal Cord* 2004;42:591-7.
18. Tadie M, Liu S, Robert R, Guiheneuc P, Pereon Y, Perrouin-Verbe B i wsp. Partial return of motor function in paralyzed legs after surgical bypass of the lesion site by nerve autografts three years after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2002;19:909-16.
19. Biernaskie J, Sparling JS, Liu J, Shannon CP, Plemel JR, Xie Y i wsp. Skin-derived precursors generate myelinating Schwann cells that promote remyelination and functional recovery after contusion spinal cord injury. *J Neurosci* 2007;27(36):9545-59.
20. Bunge MB. Novel combination strategies to repair the injured mammalian spinal cord. *J Spinal Cord Med* 2008;31(3):262-9.
21. Plant GW, Currier PF, Cuervo EP i wsp. Purified adult ensheathing glia fail to myelinate axons under culture conditions that enable Schwann cells to form myelin. *J Neurosci* 2002;22(14):6083-91.
22. Tator CH. Review of treatment trials in human spinal cord injury: issues, difficulties, and recommendations. *Neurosurgery* 2006;59(5):957-82.
23. Ramer LM, Richter MW, Roskams AJ, Tetzlaff W, Ramer MS. Peripherally-derived olfactory ensheathing cells do not promote primary afferent regeneration following dorsal root injury. *Glia* 2004;47(2):189-206.
24. Huang H, Wang H, Chen L, Gu Z, Zhang J, Zhang F i wsp. Influence factors for functional improvement after olfactory ensheathing cell transplantation for chronic spinal cord injury. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 2006;20:434-8.

25. Huang H, Chen L, Wang H, Xi H, Gou C, Zhang J i wsp. Safety of fetal olfactory ensheathing cell transplantation in patients with chronic spinal cord injury. A 38-month follow-up with MRI. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 2006;20:439-43.
26. Dobkin BH, Curt A, Guest J. Cellular transplants in China: observational study from the largest human experiment in chronic spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair* 2006;20:5-13.
27. Bianco JJ, Perry C, Harkin DG, Mackay-Sim A, Féron F. Neurotrophin 3 promotes purification and proliferation of olfactory ensheathing cells from human nose. *Glia* 2004;45(2):111-23.
28. Lima C, Pratas-Vital J, Escada P, Hasse-Ferreira A, Capucho C, Peduzzi JD. Olfactory mucosa autografts in human spinal cord injury: a pilot clinical study. *J Spinal Cord Med* 2006;29(3):191-203.
29. Plant GW, Christensen CL, Oudega M, Bunge MB. Delayed transplantation of olfactory ensheathing glia promotes sparing/regeneration of supraspinal axons in the contused adult rat spinal cord. *J Neurotrauma* 2003;20(1):1-16.
30. Jeffery ND, Smith PM, Lakatos A, Ibanez C, Ito D, Franklin RJ. Clinical canine spinal cord injury provides an opportunity to examine the issues in translating laboratory techniques into practical therapy. *Spinal Cord* 2006;44(10):584-93.
31. Wirth ED 3rd, Reier PJ, Fessler RG, Thompson FJ, Uthman B, Behrman A i wsp. Feasibility and safety of neural tissue transplantation in patients with syringomyelia. *J Neurotrauma* 2001;18:911-29.
32. Rabinovich SS, Seledtsov VI, Poveschenko OV, Senuykov VV, Taraban VY, Yarochno VI i wsp. Transplantation treatment of spinal cord injury patients. *Biomed Pharmacother* 2003;57(9):428-33.
33. Vaquero J, Zurita M. Bone marrow stromal cells for spinal cord repair: a challenge for contemporary neurobiology. *Histol Histopathol* 2009;24(1):107-16.
34. Li J, Sun CR, Zhang H, Tsang KS, Li JH, Zhang SD, An YH. Induction of functional recovery by co-transplantation of neural stem cells and Schwann cells in a rat spinal cord contusion injury model. *Biomed Environ Sci* 2007;20(3):242-9.
35. Enzmann GU, Benton RL, Talbott JF, Cao Q, Whitemore SR. Functional considerations of stem cell transplantation therapy for spinal cord repair. *J Neurotrauma* 2006;23(3-4):479-95.
36. Yoon SH, Shim YS, Park YH, Chung JK, Nam JH, Kim MO i wsp. 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* 2007;25(8):2066-73.
37. Callera F, de Melo CM. Magnetic resonance tracking of magnetically labeled autologous bone marrow CD34+ cells transplanted into the spinal cord via lumbar puncture technique in patients with chronic spinal cord injury: CD34+ cells' migration into the injured site. *Stem Cells Dev* 2007;16(3):461-6.
38. Syková E, Homola A, Mazanec R, Lachmann H, Konrádová SL, Kobylka P i wsp. Autologous bone marrow transplantation in patients with subacute and chronic spinal cord injury. *Cell Transplant* 2006;15(8-9):675-87.
39. Moviglia GA, Fernandez Vina R, Saslavsky J, Vrsalovic F, Varela G i wsp. Combined protocol of cell therapy for chronic spinal cord injury. Report on the electrical and functional recovery of two patients. *Cytotherapy* 2006;8(3):202-9.
40. Syková E, Jendelová P, Urdzíkova L, Lesný P, Hejcl A. Bone marrow stem cells and polymer hydrogels--two strategies for spinal cord injury repair. *Cell Mol Neurobiol* 2006;26(7-8):1113-29.
41. Shoichet MS, Tator CH, Poon P, Kang C, Baumann MD. Intrathecal drug delivery strategy is safe and efficacious for localized delivery to the spinal cord. *Prog Brain Res* 2007;161:385-92.
42. Fouad K, Schnell L, Bunge MB, Schwab ME, Liebscher T, Pearse DD. Combining Schwann cell bridges and olfactory-ensheathing glia grafts with chondroitinase promotes locomotor recovery after complete transection of the spinal cord. *J Neurosci* 2005;25(5):1169-78.
43. Nomura H, Katayama Y, Shoichet MS, Tator CH. Complete spinal cord transection treated by implantation of a reinforced synthetic hydrogel channel results in syringomyelia and caudal migration of the rostral stump. *Neurosurgery* 2006;59(1):183-92.
44. Franklin RJ, Ffrench-Constant C. Remyelination in the CNS: from biology to therapy. *Nat Rev Neurosci* 2008;9(11):839-55.
45. Teng YD, Liao WL, Choi H, Konya D, Sabharwal S, Langer R i wsp. Physical activity-mediated functional recovery after spinal cord injury: potential roles of neural stem cells. *Regen Med* 2006;1(6):763-76.
46. Iwanami A, Kaneko S, Nakamura M, Kanemura Y, Mori H, Kobayashi S i wsp. Transplantation of human neural stem cells for spinal cord injury in primates. *J Neurosci Res* 2005;80:182-90.
47. Potter PJ, Hayes KC, Hsieh JT, Delaney GA, Segal JL. Sustained improvements in neurological function in spinal cord injured patients treated with oral 4-aminopyridine: three cases. *Spinal Cord*. 1998;36(3):147-55.
48. Jensen JM, Shi R. Effects of 4-aminopyridine on stretched mammalian spinal cord: the role of potassium channels in axonal conduction. *J Neurophysiol* 2003;90(4):2334-40.
49. Segal JL, Thompson JF, Tayek JA. Effects of long-term 4-aminopyridine therapy on glucose tolerance and glucokinetics in patients with spinal cord injury. *Pharmacotherapy* 2007;27(6):789-92.
50. DeForge D, Nymark J, Lemaire E i wsp. Effect of 4-aminopyridine on gait in ambulatory spinal cord injuries: a double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Spinal Cord* 2004;42:674-85.

Liczba słów/Word count: 6421

Tabele/Tables: 0

Ryciny/Figures: 0

Piśmiennictwo/References: 50

Adres do korespondencji / Address for correspondence

dr Piotr Tederko

Klinika Rehabilitacji Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

05-510 Konstancin, ul. Wierzejewskiego 12, tel./fax: (0-22) 711-90-16, e-mail: pited@esculap.pl

Otrzymano / Received

16.12.2008 r.

Zaakceptowano / Accepted

14.03.2009 r.