

Szpital św. Łukasza to prywatna wieloprofilowa placówka medyczna skupiająca się między innymi na ortopedii. Poza nowoczesną bazą diagnostyczną w szpitalu działa innowacyjnie wyposażony blok operacyjny w którym realizowane są procedury medyczne. W ramach oddziału ortopedycznego funkcjonują ośrodki badawczo rozwojowe:

BJRD – ośrodek biologicznej rekonstrukcji stawów (*Biological Joint Reconstruction Department*)

SULD – departament barku i kończyny górnej (*Shoulder and Upper Limb Department*)

Lekarze z ośrodka biologicznej rekonstrukcji stawów (BJRD) we współpracy z PKBM realizują w szpitalu projekt badawczy w ramach zatwierdzonego przez Komisję Bioetyczną Eksperymentu Medycznego. Dotychczasowe wyniki kliniczne tego projektu są zadawalające, co potwierdzają dane diagnostyczne pozyskane w obrazowaniu w rezonansie magnetycznym oraz relacje zoperowanych Pacjentów.

Ogólny opis prowadzonego projektu badawczego.

Tytuł prowadzonego w Szpitalu św. Łukasza eksperymentu medycznego:

Zastosowanie mezenchymalnych komórek macierzystych osadzanych na matrycy z kwasu hialuronowego pozyskanych z galarety Whartona sznura pępowinowego od niezgodnego dawcy niespokrewnionego, w leczeniu pacjentów z degeneracyjnymi i urazowymi uszkodzeniami chrząstki stawu kolanowego oraz łątkotki metodą artroskopii suchej, u których zastosowane wcześniej leczenie zachowawcze lub operacyjne nie przyniosło poprawy stanu klinicznego

Cel eksperymentu

Celem eksperymentu medycznego jest poprawa stanu zdrowia pacjentów z urazowymi i degeneracyjnymi uszkodzeniami chrząstki stawu kolanowego, oraz łątkotki, u których dotychczasowe leczenie nie przyniosło satysfakcjonujących rezultatów, za pomocą allogenicznych komórek macierzystych wyizolowanych z galarety Whartona sznura pępowinowego osadzanych na matrycy z kwasu hialuronowego wykonanych metodą artroskopii suchej. Komórki dostarczane są śródoperacyjnie dla pacjentów wymagających operacyjnej rekonstrukcji chrząstki stawowej lub łątkotki z wykorzystaniem matryc z kwasu hialuronowego. Do badania zaproszeni są Pacjenci, u których zastosowane wcześniej leczenie zachowawcze lub operacyjne nie przyniosło satysfakcjonującej poprawy stanu klinicznego. Leczenie za pomocą mezenchymalnych komórek macierzystych, może przyczynić się do zmniejszenia bądź eliminacji dolegliwości bólowych, a także normalizacji funkcji stawu w większym stopniu niż obecnie stosowane metody leczenia.

Epidemiologia uszkodzeń chrzęstnych

Obecnie, według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), choroby ortopedyczne, reumatyczne i układu mięśniowo-szkieletowego są głównymi przyczynami niepełnosprawności społeczeństwa, a chorobę zwyrodnieniową stawów zalicza się do grupy chorób cywilizacyjnych. Szacuje się, że ok. 5-7% społeczeństwa w Polsce cierpi na dolegliwości w obrębie stawów (Gazeta Lekarska nr. 05/2013). Standardowe leczenie

uszkodzeń chrząstki stawowej i łąkotec często nie daje zadowalających efektów klinicznych. Tkanka chrzęstna stawu kolanowego oraz łąkotki stawu kolanowego, ulegają częstym uszkodzeniom w wyniku urazów, stanów zapalnych czy przeciążenia i zużycia związanego z wiekiem lub aktywnością fizyczną. Brak zadowalającego gojenia uszkodzeń tych struktur wynika w dużej mierze z powodu braku unaczynienia ww. tkanek. Odżywianie następuje głównie poprzez płyn stawowy, a unaczyniona jest jedynie warstwa podchrzęstna kości oraz wąska tzw. strefa czerwona łąkotki. Takie odżywianie w konsekwencji nie pozwala na dobre gojenie się i regenerację chrząstki i łąkotki. Uszkodzenia tych struktur nieodzwrotnie prowadzą do poważnych konsekwencji, głównie choroby zwyrodnieniowej stawów (OA - osteoarthritis).

Dotychczasowe metody leczenia uszkodzeń chrzęstnych

Dolegliwości pacjentów związane z uszkodzeniami chrząstki stawowej są najczęściej leczone zachowawczo. Stosowane są leki (m.in. NLPZ - niesterydowe leki przeciwzapalne), które zmniejszają tylko objawy, z którymi borykają się pacjenci: czasowo zmniejszają ból i stan zapalny, natomiast nie regenerują uszkodzonej chrząstki. Ponadto wywierają objawy uboczne.

Leczenie chirurgiczne uszkodzeń chrząstki i łąkotki nadal cechuje się niezadowalającą skutecznością, pomimo dynamicznego rozwoju nowych metod leczenia. W leczeniu chirurgicznym chrząstki wykorzystuje się: mikrołamania warstwy podchrzęstnej kości (technika mikrofrakturacji), przeszczepy autogeniczne chrząstki, przeszczepy namnożonych laboratoryjnie chondrocytów oraz rekonstrukcję z wykorzystaniem błon hialuronowych lub kolagenowych. Wyniki, zwłaszcza odległe, są niezadowalające, głównie z powodu tworzenia się niskiej jakości blizny łącznotkankowej, czasem blizny chrzęstnej, jednak składającej się głównie z chrząstki włóknistej, nie szklistej. Ponieważ powierzchnie stawowe nie zostają prawidłowo odtworzone, rozwija się stan zapalny błony maziowej, a w konsekwencji choroba zwyrodnieniowa stawów.

Aktualne trendy w leczeniu uszkodzeń chrząstki

W przypadku uszkodzeń chrząstki, dynamicznie rozwinęła się w ostatnich latach rekonstrukcja z wykorzystaniem membran hialuronowych i kolagenowych, ze względu na lepszy efekt kliniczny i mniejszą inwazyjność w porównaniu do innych metod. Również uszkodzenie łąkotki ma większą szansę na prawidłową regenerację, jeśli wykorzystana zostanie jednocześnie "płaszcz" z membrany hialuronowej lub kolagenowej. W obu przypadkach membrany mogą być nasączone aspiratem szpiku kostnego, odwirowanymi komórkami mezenchymalnymi z tkanki tłuszczowej, osoczem bogatopłytkowym z czynnikami wzrostu płytek krwi (PRP - Platelets Rich Plasma) lub samą krwią. Nasączenie membrany preparatem komórek macierzystych o wysokiej jakości (potencjałe różnicowania) i w wysokim stężeniu (nieporównywalnym z dotychczas stosowanymi metodami) powinno wpłynąć pozytywnie na wynik kliniczny operacyjnej rekonstrukcji chrząstki kolana lub biodra oraz łąkotki kolana. W leczeniu degeneracyjnych (zwyrodnieniowych) uszkodzeń chrząstki wykorzystuje się dziś iniekcje z: kwasu hialuronowego, osocza bogatopłytkowego z czynnikami wzrostu (PRP - Platelets Rich Plasma), Orthokine (ACS - Autologous Conditioned Serum z blokerem receptora dla interleukiny 1) oraz rozwijających się dynamicznie preparatów zbliżonych do komórek macierzystych - pozyskanych z odwirowanego szpiku kostnego lub tkanki tłuszczowej. Skuteczność w zmniejszaniu bólu i zwiększaniu ruchomości stawów po leczeniu tymi preparatami jest udowodniona. Nie wpływa jednak na odbudowę grubości chrząstki. Zastosowanie komórek macierzystych z galarety Whartona od niespokrewnionego dawcy do stawu kolanowego, powinno cechować się wyższą skutecznością, poprawą struktury tkanki chrzęstnej, a być może także odbudową grubości chrząstki. Do tej pory duża grupa pacjentów poddanych iniekcjom dostawowym lub leczeniu operacyjnemu, pomimo usilnych działań lekarzy i fizjoterapeutów, ostatecznie poddana zostaje

zabiegowi alloplastyki (endoprotezoplastyki) chorego stawu. Liczba endoprotezoplastyk w Europie, USA oraz w samej Polsce z każdym rokiem znacząco wzrasta. Z drugiej strony międzynarodowe konferencje, liczne publikacje naukowe i wyniki badań laboratoryjnych i klinicznych uświadamiają szybki rozwój medycyny regeneracyjnej w ortopedii, w tym z wykorzystaniem komórek macierzystych. Dlatego minimalnie inwazyjne procedury polegające na dostawowych iniekcjach komórek macierzystych, bądź zastosowanie komórek macierzystych podczas zabiegów operacyjnych, stają się naturalnym kolejnym krokiem w leczeniu chorób stawów. Powinny zwiększyć ruchomość stawu, poprawić jakość życia pacjenta oraz wydłużyć czas do pierwotnej endoprotezoplastyki lub całkowicie wyeliminować taką konieczność. Byłoby to korzystne zarówno z punktu widzenia pacjenta, jak i społecznego i ekonomicznego.

Wyniki badań przedklinicznych, jak również akumulujące się dowody z badań klinicznych z zastosowaniem komórek macierzystych, w tym izolowanych z galarety Whartona sznura pępowinowego, wykazują bezpieczeństwo i funkcjonalną poprawę czynności uszkodzonego stawu. Prowadzony medyczny eksperyment leczniczy dotyczący regeneracji chrząstki stawu kolanowego oraz łąkotki stawu kolanowego, opierając się na wcześniejszych dowodach korzystnego ich wpływu na procesy regeneracji tkanki, ma na celu udowodnienia słuszności tej tezy.

Właściwości mezenchymalnych komórek z galarety Whartona sznura pępowinowego

Regeneracja tkanek w oparciu o tzw. dorosłe komórki macierzyste coraz częściej jest uważana za bardzo obiecujące narzędzie w medycynie regeneracyjnej przynosząc nowe rozwiązania problemów leczenia ubytków chrzęstnych. Dorosłe komórki macierzyste mogą pochodzić z różnych źródeł, takich jak szpik kostny, tkanka tłuszczowa lub tkanki popłodowe w tym galareta Whartona sznura pępowinowego (WJ-MSC – Wharton’s Jelly Mesenchymal Stem Cells). Początkowo skupiono się głównie na potencjalnym wykorzystaniu MSC izolowanych ze szpiku kostnego, u których, przy odpowiedniej stymulacji, potwierdzono efektywną chondrogenezę. Dotychczas terapie z wykorzystaniem MSC odbywały się w większości w układzie autologicznym, co wiązało się dla pacjenta z dodatkowym zabiegiem i potencjalnymi komplikacjami. Stąd, coraz częściej podejmowane są próby z wykorzystaniem komórek pochodzących od niespokrewnionych dawców.

WJ-MSC mają charakterystykę oraz właściwości podobne do mezenchymalnych komórek macierzystych z innych źródeł. Przy tym, w porównaniu do komórek mezenchymalnych szpiku czy tłuszczu, pozyskanie WJ-MSC ze sznura pępowinowego (dotychczas standardowo utylizowanego po porodzie) jest znacznie łatwiejsze, nie jest źródłem bólu, nie stwarza konfliktów natury etycznej i w przeciwieństwie do zarodkowych komórek macierzystych (ESC), nie mają takiego potencjału tumorogennego.

Uprzywilejowanie immunologiczne komórek MSC izolowanych z galarety Whartona sznura pępowinowego

W chwili obecnej, zastosowanie WJ-MSC możliwe jest niemalże wyłącznie w układzie allogenicznym, w którym biorca nie jest jednocześnie dawcą. Wraz ze wzrostem popularności bankowania komórek macierzystych, możliwości zastosowania autologicznego będą wzrastały. Mezenchymalne komórki macierzyste (MSC) pozyskiwane z tkanek pozazarodkowych – oводni, łożyska, sznura pępowinowego stanowią pośredni rodzaj komórek macierzystych, które częściowo zachowują pluripotencjalne właściwości. Dla zastosowania WJ-MSC w układzie allogenicznym ważne są wyjątkowe cechy mezenchymalnych komórek macierzystych galarety Whartona, przede wszystkim WJ-MSC są uprzywilejowane

immunologicznie. Pomimo tego, że wykazują, choć niską, ekspresję antygenów zgodności tkankowej MHC klasy I, to ze względu na brak cząsteczek kostymulujących - CD 40, CD80 i CD86 i niespotykanie wysoki poziom inhibitorów odpowiedzi immunologicznej IDO, PGE2 nie dochodzi do pełnej aktywacji limfocytów alloreaktywnych. Dodatkowo syntetyzują podtyp G6 antygeny HLA (nie wykrywanego w komórkach MSC izolowanych ze szpiku), który wydaje się brać udział w ochronie płodu przed działaniem układu immunologicznego matki. Ponadto, nie obserwuje się na ich powierzchni antygenów MHC klasy II. W konsekwencji komórki te są bardzo dobrze tolerowane przez system immunologiczny allogenicznych (niespokrewnionych), ale co ciekawsze, również ksenogenicznych (gatunkowo różnych) biorców.

Różnicowanie WJ-MSC w chondrocyty

Fakt, że WJ-MSC pochodzą z bardzo młodych tkanek pozazarodkowych – sprawia, że wydają się być bardziej prymitywne (mniej ukierunkowane, zróżnicowane) i mają większy potencjał do różnicowania w inne tkanki niż ich odpowiedniki izolowane z tkanek dorosłych dawców. Zademonstrowano, że różnicowanie ludzkich WJ-MSC w chondrocyty nie zmieniło poziomu ekspresji wyżej wymienionych genów poza nieznacznym, wzrostem poziomu MHC klasy II i kostymulatorów. Allogeniczny i xenogeniczny przeszczep zróżnicowanych w chondrocyty WJ-MSC nie wywołał odpowiedzi immunologicznej, dowodząc, że komórki te są uprzywilejowane immunologicznie i bezpieczne w zastosowaniach allogenicznych. Co ciekawsze w badaniach *in vitro* wykazano wyższy potencjał WJ-MSC do różnicowania w kierunku chondrogennym niż komórki MSC izolowanych ze szpiku.

ABSTRACT:

Cartilage lesions of the knee (and other joints) are a frequent finding. However, treatment options that are capable of restoring hyaline-like tissue are not routinely used. Currently, reliable methods of treatment that provide long-lasting cartilage repair are lacking. Marrow stimulation techniques such as microfracture are frequently used and at the end if this does not help, the endoprosthesis is the treatment of choice.

Stem Cells-based technology such as mesenchymal stem cells' implantation may in some cases provide durable cartilage repair. But what's important - the cells must be placed exactly in the location of the lesion.

There have been promising outcomes reported with the use of scaffolds seeded with Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells concentrate in cases of chondral injury. There are clear advantages to cell-based cartilage repair techniques that are performed as a single-stage procedure, particularly when the repair technology can be used in a minimally invasive manner.

In the summary it's presented an arthroscopic technique of cartilage repair using a hyaluronic acid-based scaffold associated with Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells. This technique is a minimally invasive, single-stage procedure that has the potential for routine use in a wide range of cartilage lesion types and locations.