

Význam a perspektívy kmeňových buniek v urológii

doc. MUDr. Jozef Marenčák, PhD.

Bratislava

Kmeňové bunky (SCs – stem cells) sú nediferencované bunky, ktoré sú schopné samoobnovenia a diferenciácie, a preto prispievajú k obnoveniu a oprave tkanív. Ich schopnosť delenia, diferenciácie a regenerácie tkanív je veľmi závislá od okolitého prostredia. Niekoľko predklinických a klinických štúdií využilo SCs pri urologických poruchách. Tento článok je prehľadom súčasného stavu používania SCs pri benígnych a malígnych urologických ochoreniach a sumarizuje výsledky predklinických a klinických štúdií, ktoré prebehli.

Kľúčové slová: kmeňové bunky, urologické ochorenia.

The importance and perspectives of stem cells in urology

Stem cells (SCs) are undifferentiated cells that are capable of self-renewal and differentiation and that therefore contribute to the renewal and repair of tissues. Their capacity for division, differentiation, and tissue regeneration is highly dependent on the surrounding environment. Several preclinical and clinical studies have utilized SCs in urological disorders. This article is a review the current status of SCs use in benign and malignant urological diseases and summarizes the results of the preclinical and clinical trials that have been conducted.

Key words: stem cells, urological diseases.

Úvod

Kmeňové bunky (SCs – stem cells) sú primárne nediferencované bunky, ktoré majú schopnosť premeniť sa (diferencovať) na iný, špecializovanejší druh buniek (1). Táto schopnosť umožňuje telu vytvoriť nové bunky a nahradit tak napr. tkanivá, ktorých bunky sa už deliť nedokážu. U ľudí sú v súčasnosti dostupné najmä **tri autológne dospelé SCs: 1. kostná dreň** vyžaduje odber z kostného systému (najmä z femuru alebo z os illium); **2. tukové tkanivo (tukové bunky)** sa získava s pomocou liposukcie; **3. krvné SCs** sa môžu odobrať z pupočníkovej krvi ihneď po narodení (1, 2). Dospelé kmeňové bunky sa často používajú v rôznych liečebných postupoch (napr. pri transplantácii kostnej drene a pod.) a môžu sa aj umelo pestovať a transformovať do špecializovaných typov buniek konzistentných s bunkami rôznych tkanív (svaly, nervy atď.). Výskum SCs

„vyrastal“ z výsledkov prác Ernesta McCullocha a Jamesa Tilla na univerzite v Toronte v šesťdesiatych rokoch 20. storočia (1, 2).

Podrobnejšia klasifikácia kmeňových buniek a predpokladaný mechanizmus ich účinku

Pre nedostatok definovaných morfológických a molekulárnych charakteristík nie je klasifikácia SCs jednoduchá, ale je ich **možné triediť na základe ich diferenciačného potenciálu** (tabuľka 1, obrázok 1) (1, 2). **Ich schopnosť delenia, diferenciácie, regenerácie tkanív a ďalších je veľmi závislá od okolitého prostredia.** Keď dôjde k poškodeniu tkaniva, SCs (ktoré sú za normálnych okolností pokojné) sa stimulujú, aby podstúpili bunkové delenie a zlepšili bunkovú regeneráciu. **Mikroprostredie SCs, známe aj ako „niche“,**

je pre tento proces rozhodujúce. Vlastnosti „niche“ (blízkosť krvného obehu, prítomnosť určitých cytokínov a rastových faktorov, nízke napätie kyslíka a iné fyzikálne, chemické vlastnosti) umožňujú/neumožňujú optimálnu interakciu medzi SCs a ich susediacimi stromálnymi alebo epitelovými bunkami a extracelulárnou matrix. Predpokladané základné mechanizmy pôsobenia kmeňových buniek ukazuje schéma 1 (1, 2, 3).

Perspektívy liečby kmeňových buniek pri benígnych urologických ochoreniach

Erektálna dysfunkcia

Erektálna dysfunkcia (ED) je definovaná ako trvalá (minimálne po obdobie 6 mesiacov trvajúca) neschopnosť dosiahnuť alebo udržať erekciu penisu umožňujúcu uspokojivý pohlavný



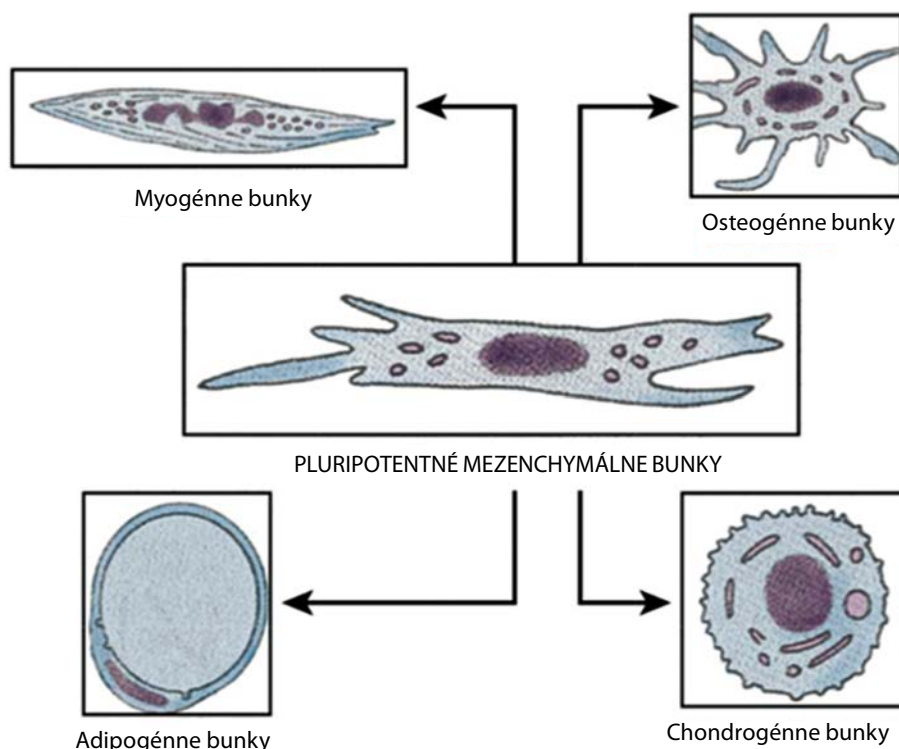
KORESPONDENČNÁ ADRESA AUTORA:
doc. MUDr. Jozef Marenčák, PhD., jozef.marencak@gmail.com
Zadunajská cesta 6/A, 851 01 Bratislava

Cit. zkr: Urol. praxi 2019; 20(2): 76–82
Článok prijat redakci: 30. 1. 2019
Článok prijat k publikaci: 26. 3. 2019

Tab. 1. Klasifikácia (typy) kmeňových buniek na základe ich diferenciálného potenciálu (1, 2)

Typy kmeňových buniek	Charakteristika
Totipotentné	Tieto SCs majú najvyšší potenciál a môžu sa diferencovať na akýkoľvek typ tkaniva, bez ohľadu na pôvod (ekto/mezo/endodermálny). Príkladom tohto typu sú napr. zygota* a morula**
Pluripotentné	Tieto SCs sa môžu diferencovať na bunky z troch rôznych vrstiev zárodočných buniek a gonádálnej líšty, ale nie do extraembryonálnych tkanív. Príkladom sú embryonálne SCs (ESCs)***, ktoré sú derivátom vnútornej bunkovej hmoty blastocysty****
Multipotentné	Tieto SCs sú schopné samoobnovenia a môžu sa rozlišovať na typy orgánovo-súvisiacich buniek. Príklady zahŕňajú hematopoetické SCs, mezenchymálne SCs a neurálne SCs
Unipotentné	Tieto SCs majú limitovanú kapacitu pre samoobnovenie a môžu vyvolať iba jeden definovaný bunkový typ – epitelálne bunky
Indukované pluripotentné	Tieto SCs sú „reprogramované“ bunky, t. j. diferencované bunky, ktoré sú manipulované (zmenené) v laboratóriu na expresiu génov, ktoré sú normálne prítomné v ESCs a ktoré sa preto aj správajú ako ESCs. Indukované pluripotentné SCs sa môžu diferencovať na bunky všetkých orgánov a tkanív

ESCs – embryonic stem cells (embryonálne kmeňové bunky); SCs – stem cells (kmeňové bunky)
 *oplodnená vajíčková bunka
 **guľovitý zhluk buniek vznikajúci v prvotných fázach ontogenézy delením oplođeného vajíčka
 ***pri používaní embryonálnych kmeňových buniek (ESCs) vznikajú etické obavy z dôvodu potreby zničiť embryá na izoláciu týchto buniek
 ****je skoré štádium ontogenézy človeka (vytvára sa z moruly na začiatku 5. dňa po oplodnení; v morule sa vytvára dutina – tzv. dutina blastocysty)

Obr. 1. Schematický rodokmeň diferenciácie pluripotentných mezenchymálnych buniek získaných z tkaniva (1)

styk. Mechanizmus vzniku a vývoja ED sa mení podľa príčiny. Všetky doteraz využívané liečebné postupy ED vedú skôr k symptomatickej úľave, ale neriešia problém kauzálnu. Kuratívnym postupom terapie ED by mohlo byť práve využitie SCs. **Potenciálna úloha niekoľkých typov SCs sa skúmala pomerne intenzívne v predklinickej (experimentálnej) liečbe ED pri pokusoch na laboratórnych zvieratách**

(1, 2, 3). **Embryonálne SCs (ESCs)** síce zlepšujú erektilnú funkciu pri neurogénne podmienenej ED, ale etické problémy obmedzujú ďalší výskum s pomocou tohto typu buniek (4). Niekoľko predklinických štúdií preukázalo **priaznivý účinok SCs z kostnej drene (BMSCs – bone marrow stem cells)** na erektilnú funkciu pri rôznych potkaních modeloch (vrátane diabetes mellitus, poškodenia kavernózných nervov, prípadne

v dôsledku starnutia a pod.). Ďalším typom SCs experimentálne skúšaným v liečbe ED boli **SCs odvodené od kostrových svalov (SKMSCs – skeletal muscle derived stem cells)**. Výhodou SKMSCs je možnosť jednoducho ich získať (pomocou svalovej biopsie) a efektívnosť (zlepšenie erektilnej funkcie napr. u potkanov s poškodením kavernózných nervov a tiež u starších zvierat v porovnaní s mladšími). **SCs získané priamo z nervového tkaniva (nervovej líšty)** ukázali jednoznačný potenciál diferenciácie na hladké svalové a endotelové bunky penisu u potkanov (6). **SCs odvodené z tukového tkaniva (ADSCs – adipose tissue derived stem cells)** sa dajú jednoducho izolovať z bohatých zdrojov tukových tkanív a v súčasnosti sú najpoužívanejším typom SCs vo výskume ED (7). ADSCs zlepšujú erektilnú funkciu podporou angiogenézy, ďalej prostredníctvom priamej celulárnej transformácie a tiež uvoľňovaním stimulačných cytokínov, ako sú napr. vaskulárny endotelový rastový faktor (VEGF – vascular endothelial growth factor) a fibroblastový rastový faktor (FGF – fibroblast growth factor). V súvisi s ED sa už skúmali aj **testikulárne a ľudské močové SCs** (1, 2, 3).

Existujú viaceré **metódy aplikácie SCs, čo zrejme ovplyvňuje aj ich efektívnosť**. Vlastnosti SCs je možné podľa potreby laboratórne upraviť (napr. manipuláciou s ich génmi alebo ich inkubáciou s rastovými faktormi alebo inými látkami). Terapeutický účinok injekcie SCs sa dá objasniť migráciou takto aplikovaných buniek do miesta poranenia. Na liečenie ED je možné využiť aj aplikáciu kmeňových buniek priamo do toporivých telies penisu. Rovnako sa však preukázala efektívnosť (zlepšenie erektilnej funkcie) intravenózne podaných ADSCs. Regeneračný účinok SCs sa dosiahne buď sekréciou rastových faktorov do krvného obehu, alebo priamou migráciou SCs do veľkých nervových ganglií v oblasti malej panvy. Určité pozitívne výsledky sa zaznamenali tiež pri periprostatickej injekcii s, ale aj bez súčasnej intrakorporálnej aplikácie SCs (1, 2, 3, 6).

Do roku 2017 boli publikované štyri klinické štúdie u ľudí s poruchami erekcie s pomerne povzbudivými výsledkami a bez nepriaznivých vedľajších účinkov (tabuľka 2) (5). „Transplantácia“ SCs pri ED môže v penise hypoteticky „doplniť“ objem vyčerpaných endotelových buniek alebo kavernózných hladkých svalových buniek, podporiť ich regeneráciu a obnoviť správne interakcie medzi nimi prostredníctvom parakrinného

Tab. 2. Zhrnutie štyroch publikovaných klinických štúdií zhodnocujúcich liečbu kmeňovými bunkami u mužov s erektilnou dysfunkciou (2)

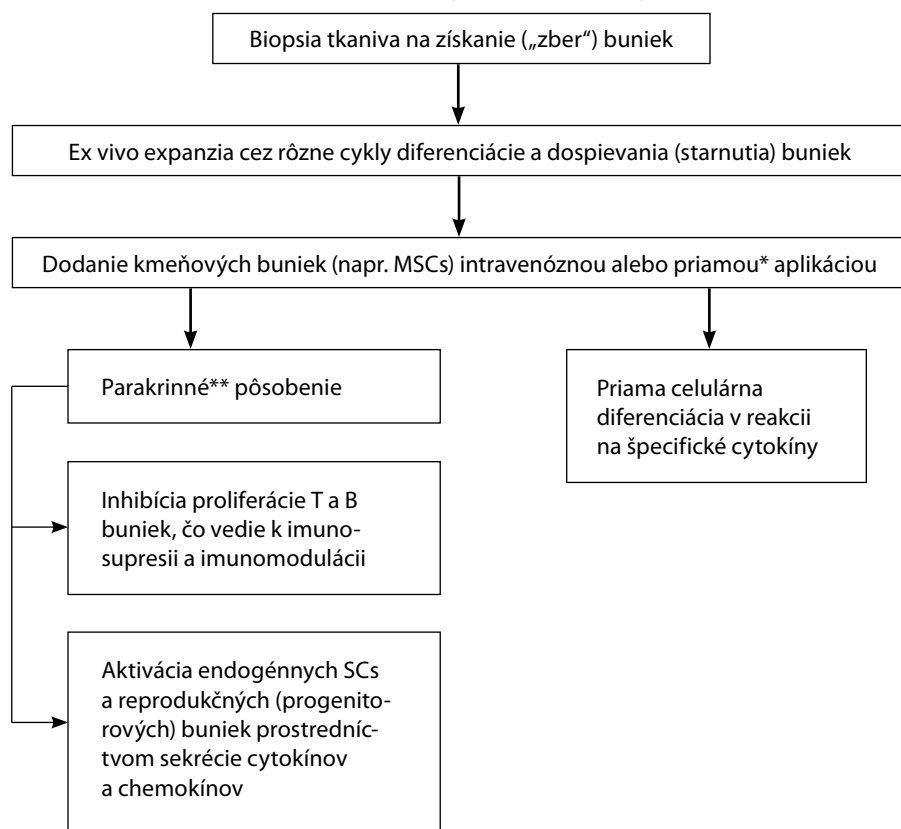
Prvý autor (rok)	n	Príčina ED	Liečba	Zhodnotenie terapie	Výsledky
Bahk (2010)	7	Diabetes mellitus	SCs z umbilikálnej krvi	IIEF-5; SEP; GAQ	Zlepšenie rigidity* penisu u 2 zo 7 mužov
Levy (2016)	8	Organická príčina	SCs získané z placenty	PSV; IIEF	Zlepšená erekcia** u 3 z 8 mužov
Haahr (2016)	17	5–18 mesiacov po RP	ADSCs	IIEF-5	Obnovenie*** erekcie u 8 z 11 kontinentných mužov
Yiou (2016)	12	22 mesiacov po RP	BMMCs	IIEF-5; EHS; CDU	Tuhá erekcia u 1 z 12; 9 z 12 potrebovali ICI, IPDE5 alebo VCD; zlepšenie EHS a IIEF

ADSCs – adipose tissue derived stem cells (kmeňové bunky odvodené z tukového tkaniva); BMMCs – bone marrow mononuclear cells (mononukleárne bunky kostnej drene); CDU – color Doppler ultrasound (farebný dopplerský ultrazvuk); ED – erektilná dysfunkcia; EHS – Erectile Hardness Score (skóre tuhosti erekcie – dotazník); GAQ – Global Assessment Question (otázka celkového hodnotenia – dotazník); ICI – intracavernous injection (intrakavernózna injekcia); IIEF – International Index of Erectile Function (Medzinárodný index erektilnej funkcie – dotazník); IPDE5 – inhibitor phosphodiesterase type 5 (inhibitor fosfodiesterázy 5. typu); n – počet liečených pacientov; PSV – peak systolic velocity (maximálna systolická rýchlosť krvného prúdu) pri CDU; RP – radikálna prostatektómia pre karcinóm prostaty; SCs – stem cells (kmeňové bunky); SEP – Sexual Encounter Profile (profil sexuálneho styku – dotazník); VCD – vacuum constriction device (vákuový konstriktčný prístroj – „vákuová pumpa“)

*schopných penetrácie do vagíny s pomocou IPDE5

**nesignifikantné zmeny v IIEF dotazníku

***ale 0 (žiadny) zo 6 inkontinentných mužov

Schéma 1. Predpokladané základné mechanizmy pôsobenia kmeňových buniek (1, 2, 3)

MSCs – mesenchymal stem cells (mezenchymálne kmeňové bunky); SCs – stem cells (kmeňové bunky)

* do poškodeného tkaniva

** parakrinná sekrécia je druh sekrécie, pri ktorej bunka svojimi látkami (produktmi) s funkciou hormónov ovplyvňuje bunky v bezprostrednom okolí; (na rozdiel od endokrinnnej sekrécie, pri ktorej je hormón vylučovaný do krvi a tou je prenášaný aj k vzdialeným bunkám); parakrinná sekrécia sa uplatňuje najmä pri autoregulačných procesoch vo vnútri tkaniva, napr. pri rastových faktoroch, pri riadení činnosti rôznych orgánov a pod.

účinku. Intrakorporálna injekcia sa zatiaľ javí ako najpriateľnejšia a klinicky najefektívnejšia (1, 2, 5, 6). Stále však **zostáva niekoľko zásadných otázok** (napr. výška dávky, typ, zdroj a spôsob izolácie SCs, dlhodobá bezpečnosť aplikácie SCs, možné riziko onkogenézy a pod.), **ktoré čakajú na odpoveď**. Etické obavy vznikajú pri používaní ESCs z dôvodu potreby zničiť embryá na izoláciu týchto buniek. Stále chýbajú dlhodobé kvalitné štúdie na väčšom počte pacientov.

Peyronieho choroba

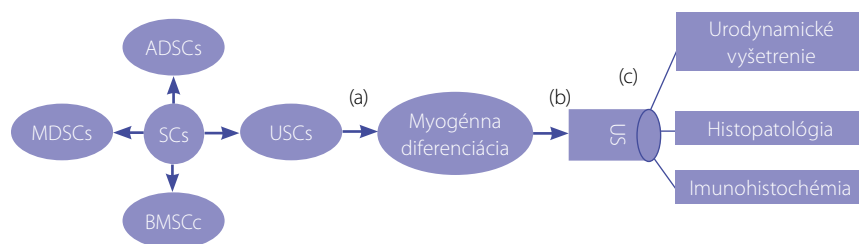
Peyronieho choroba (PD – Peyronie’s disease) je získané ochorenie spojivového tkaniva tunica albuginea obaľujúceho corpus cavernosum penis, ktoré je charakterizované rozsiahlou fibrózou a tvorbou plakov. PD môže mať za následok významné fyzické a psychologické postihnutie s nepriaznivým vplyvom na partnerské vzťahy. Mechanizmus vzniku a presná patogenéza PD nie sú známe. Regeneračná

urológia s potenciálnym terapeutickým prínosom SCs predstavuje novú a nádejnú metódu v liečbe PD (1, 2, 5, 6). Vzhľadom na „vonkajšie“ umiestnenie penisu je aplikácia SCs technicky jednoduchá a ľahko uskutočniteľná. Pri PD sa využívajú **pluripotentné mezenchymálne SCs (MSCs)** – pre ich ľahkú dostupnosť a **možnosť použiť autológne bunky** (pochádzajúce z toho istého individua, čo zabráni iniciácii antigénnej nezlučiteľnosti) a tiež pre absenciu možných etických problémov (na rozdiel od ESCs) (2, 5, 6). **Po aplikácii ADSCs u potkanov došlo k významnej redukcii tkanív bežných a typických pre PD** (napr. „neusporiadaný“ kolagén typu III a elastínové vlákna) (2, 6, 7). Výhodou **ADSCs** je aj ich jednoduchá izolácia (napr. liposukciou) z dostatočných zásob v organizme (8). Presný mechanizmus účinku SCs pri PD však nie je celkom jasný. Predpokladá sa, že SCs sa môžu diferencovať a nahradiť poškodené tkanivo, ďalej zrejme zvyšujú lokálnu produkciu cytokínov a rastových faktorov, znižujú zápal a oxidačný stres a/alebo modulujú extracelulárnu matrix. SCs migrujú do miesta poškodenia, a to pravdepodobne v dôsledku reakcie na signalizáciu, ktorú vysielajú z poškodenej oblasti cytokíny. Práve tieto poznatky by mohli byť základom pre budúci výskum využitia SCs pri liečbe PD u ľudí, s predpokladom a nádejou na prerušenie patogenézy tohto ochorenia ešte skôr, než sa prejaví vo svojej pokročilej podobe.

Infertilita

Príčiny mužskej infertility sú rôznorodé a častokrát býva prítomná kombinácia viacerých faktorov. **Potenciálna efektivita SCs pri liečbe neplodnosti sa už dnes využíva ako preventívny postup. Izolácia a kryoprezervácia spermatogonálnych SCs získaných zo se-**

Obr. 2. Protokol liečby stresovej inkontinencie moču kmeňovými bunkami použitý v experimentálnych štúdiách na zvieratách (9)



ADSCs – adipose tissue derived stem cells (kmeňové bunky odvodené z tukového tkaniva); BMSCs – bone marrow derived stem cells (kmeňové bunky odvodené z kostnej drene); SCs – stem cells (kmeňové bunky); US – urinary sphincter (močový zvierač); USCs – urine stem cells (kmeňové bunky získané z moču)

Vo väčšine experimentálnych štúdií, ktoré skúmajú kmeňové bunky ako potenciálnu možnosť terapie stresovej inkontinencie moču, je potrebné stanoviť nasledujúce kritériá: (a) polypotentné kmeňové bunky majú plasticitu na diferenciáciu na funkčné bunky a na ďalšiu proliferáciu in vitro, myogénna diferenciácia je preukázaná s pomocou imunofarbenia expresiou desmínu, aktínu a kostrového svalstva; (b) svalové bunky sa potom injikujú periuretrálne a migrujú do oblasti poškodeného vonkajšieho uretrálneho zvierača; (c) terapeutické účinky transplantácie kmeňových buniek sa následne hodnotia pomocou urodynamického testovania a dôkazom morfológických zmien močovej rúry a (zmrazené) vzorky uretry boli pred a po transplantácii kmeňových buniek podrobené histopatologickému a imunohistochemickému vyšetreniu

menníka pred cytotoxickou liečbou dáva nádej mladým jedincom (ale aj deťom), u ktorých je nutná sterilizačná terapia (napr. pre nádor semenníka a pod.). Táto technika vyžaduje testikulárnu biopsiu a technicky bezchybnú, niekedy aj dlhodobú kryokonzerváciu. Potom, vo vhodnom čase, môžu byť spermatogonálne SCs použité na indukciu spermatogenézy in vitro alebo autológne transplantované napr. do ponechaného semenníka pacienta. Tento postup sa úspešne replikoval na mnohých modeloch experimentálnych zvierat (2, 6, 7).

Inkontinencia moču

Inkontinencia moču (UI – urinary incontinence) je definovaná ako akýkoľvek nedobrovoľný únik (strata) moču. Perorálna farmakoterapia stresovej UI (SUI – únik moču po náhlom zvýšení vnútrobrušného tlaku – napr. pri kašli, kýchnutí, prudkom pohybe atď.) zvyčajne zlyhá a nedá sa na ňu spoľahnúť. Efektívnejšími, ale aj invazívnejšími formami **liečby SUI**, sú viaceré chirurgické postupy, v súčasnosti sa využívajú najmä tzv. suburetrálne slučky (slingy). Napriek maximálnej šetrnosti stále existuje potreba a snaha vyvinúť ešte prijateľnejšiu alternatívu, ktorou môže byť napr. terapeutická aplikácia SCs. Potvrdilo sa, že priečne pruhovalé a hladké svalové bunky sú výrazne redukované pri zvieracích modeloch s vytvorenou SUI. Pretože SCs sa môžu diferencovať na svaly rôzneho typu, niekoľko experimentálnych štúdií na zvieratách využilo SCs pri liečbe SUI na doplnenie práve týchto defektných buniek (obrázok 2) (9). Navyše, SCs

vylučujú muskulogénne a angiogénne rastové faktory, ktoré sú schopné ďalej zvyšovať ich regeneračný účinok. Rovnako sa preukázalo, že **ADSCs skvalitnili a zlepšili („spevnili“) uretrálne spojivé tkanivo** (9, 10). **Všetky typy SCs (SKMSCs, BMSCs, ADSCs, SCs odvodené z ľudského plodového vaku a pod.) použité v predklinických štúdiách na experimentálnych zvieratách viedli k zlepšeniu SUI po aplikácii prostredníctvom periuretrálnej injekcie** (9, 10, 11). V jednej štúdii bol intravenózný prístup rovnako efektívny v zlepšení udržania moču ako periuretrálne podanie SCs (12). Účinnosť aplikácie kmeňových buniek pri SUI navodenej u rôznych experimentálnych zvierat sa hodnotila funkčne, histologicky, imunohistochemicky atď. (obrázok 2) (9).

V ľudských klinických štúdiách sa SCs (ADSCs, SKMSCs) najčastejšie aplikovali transuretrálne, ale aj periuretrálne a väčšinou s rovnakým a vcelku priaznivým (60–90 %) liečebným efektom u oboch pohlaví. Funkčné hodnotenie v ľudských klinických skúškach sa realizovalo stanovením hmotnosti inkontinencie vložky/vložiek, ďalej hodnotením kvality života a záznamov v mikčnom denníku pacientov, ultrasonografickými (najmä meranie objemu postmikčného reziduálneho moču) a urodynamickými štúdiami (napr. uroflowmetrické stanovenie maximálneho prietoku moču, stanovenie maximálneho uzatvárajúceho tlaku močovej rúry a pod.) (1, 9, 13). **Potrebné sú však ďalšie klinické skúšky a štúdie na väčšom počte pacientov.**

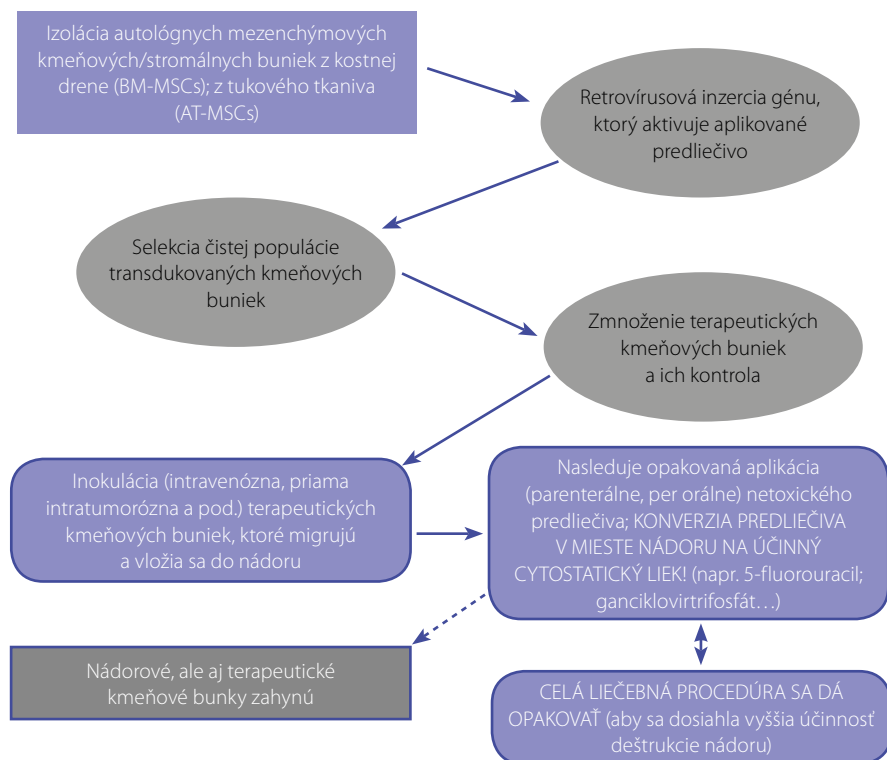
Obštrukcia hrdla močového mechúra s fibrózou močového mechúra a s hyperaktivitou jeho svaloviny (detruzora)

Obštrukciu výtoky močového mechúra spôsobuje ukladanie kolagénu a môže často-krát vyústiť do fibrózy močového mechúra a do abnormálnej kontrakcie a funkcie (compliance) jeho svaloviny. Lee a kol. (14) zaznamenali zlepšenie základnej funkcie močového mechúra po transplantácii MSCs do steny močového mechúra v experimente u potkanov. Terapia **s pomocou SCs a s využitím rastových faktorov a tkanivového štetu** výrazne pozitívne ovplyvnila prúd moču remodeláciou krčka močového mechúra pri viacerých zvieracích modeloch. Napriek všetkému však v súčasnosti zostáva výskum SCs pre obštrukciu močového mechúra prevažne v experimentálnej rovine. Väčšina autorov vkladá **viac nádeje do tkanivového inžinierstva**, ktoré sa považuje za oveľa perspektívnejšie pri rekonštitúcii, regenerácii a vyriešení dysfunkcie močového mechúra (2, 9, 12, 13).

Znížená aktivita svaloviny močového mechúra

Zníženú činnosť svaloviny močového mechúra (BU – bladder underactivity) je aj v súčasnosti ťažké priaznivo ovplyvniť farmakami. Pozitívny efekt SCs sa tiež skôr zaznamenal pri hyperaktívnom močovom mechúre (OAB – overactive bladder) ako pri BU. V poslednom čase však bolo publikovaných niekoľko predklinických (experimentálnych) štúdií s vcelku povzbudivými výsledkami – zvýšením kontraktility detruzora u zvierat s navodenou BU. **Lokálna aplikácia ADSCs zlepšila funkciu močového mechúra podporou angiogenézy a zrejme aj zvýšením cholinergickej inervácie** (2, 12, 13, 15). Hoci histologicky sa potvrdila väčšia hustota nervových a krvných ciev, veľa otázok zatiaľ nie je zodpovedaných. Štúdie však ukázali, že SCs sú schopné iniciovať močový mechúr na remodelovanie a niektoré SCs prežívajú a diferencujú sa do tkanív hladkého svalstva, čím sa zvýrazní ich úloha pri parakrinnej sekrécii (schéma 1) (1, 2, 3). SCs v kombinácii s regeneračnou technológiou a génovou terapiou môžu zlepšiť kontraktilitu detruzora až temer do normálneho stavu (2, 7). Zlepšené mikčné parametre sa preukázali najmä pri využití SKMSCs pri zvieracích modeloch s po-

Schéma 2. *Príprava a aplikácia terapeutických kmeňových/stromálnych buniek na liečbu nádorov (2)*



AT-MSCs – adipose tissue mesenchymal stem cells; BM-MSCs – bone marrow mesenchymal stem cells

škodeným detruzorom. Levanovich a kol. (16) referovali o **prvom ľudskom pokuse s využitím injekcie autológnych svalových (MD – muscle derived) SCs u pacienta s BU. Avšak doteraz publikované literárne údaje z humánných klinických štúdií nie sú zatiaľ dostatočné.**

Neurogénny močový mechúr

Neurogénny mechúr sa vyvíja v dôsledku chronických neurologických ochorení, ako sú spina bifida, sclerosis multiplex, Parkinsonova choroba, poranenia miechy a pod. Nedostatočná („zlá“) prispôsobivosť (compliance) močového mechúra vedie k vývoju nízkokapacitného, vysokotlakového systému s možnosťou progresívneho zlyhania obličiek. Primárnym cieľom pri manažmente neurogénneho močového mechúra je dosiahnutie nízkeho tlaku v uropetickom systéme pri zachovaní kontroly močenia. Súčasné možnosti liečby neurogénnych močových dysfunkcií sú mnohokrát neúčinné. Existuje však nádej, že **terapia MSCs** by mohla byť dobrou alternatívnou liečebnou modalitou (1, 6, 7). Jedna experimentálna práca najskôr preukázala prechodný pozitívny účinok na dysfunkciu močového mechúra po aplikácii humánných xenogénnych MSCs z kostnej drene do strednej časti predného mozgu potkaních mo-

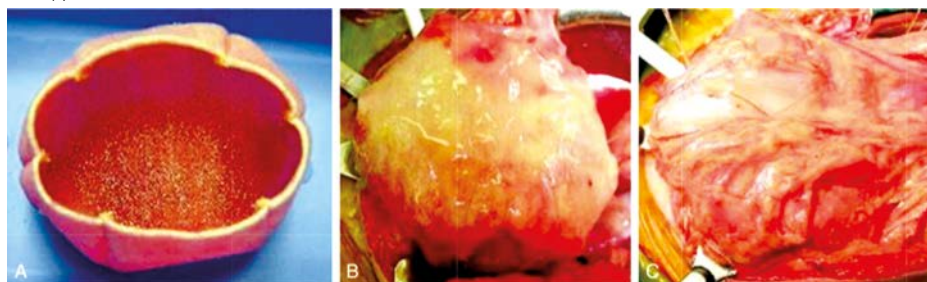
delov Parkinsonovej choroby (6). Následná štúdia potvrdila, že aj transplantácia MSCs odvodených z kostnej drene potkanov do substantia nigra modelu Parkinsonovej choroby potkanov viedla k zlepšeniu viacerých urodynamických parametrov (vrátane zníženia intravezikálneho tlaku) ešte 42 dní po injekcii (7). **Použitie MSCs pri liečbe poranení miechy** (SCI – spinal cord injury) sa tiež pomerne intenzívne skúmalo. Väčšina týchto štúdií sa zamerala najmä na zlepšenie senzorio-motorickej funkcie dysfunkčného močového mechúra. Nedávno bola publikovaná klinická štúdia zahŕňajúca 40 pacientov s cervikálnym SCI. Na liečbu u nich sa použili BMSCs, ktoré sa aplikovali do oblasti poranenia. Výsledkom bolo významné zníženie reziduálneho objemu moču z pôvodných $235,4 \pm 54,0$ ml oproti $173,9 \pm 75,8$ ml ($p < 0,01$) (7). Perspektívou môže byť aj aplikácia **kombinácie Schwannových buniek + BMSCs** u pacientov, ktorí utrpeli poranenia miechy (1, 2, 11). Obnovenie funkčnej kapacity dolných močových ciest po neurologickom poškodení nie je tak vôbec jednoduché. Pozitívne efekty terapie s **využitím SCs boli zatiaľ len minimálne a výsledky neboli jednoznačné (1, 6, 7, 11). Ale vzhľadom na to, že prakticky neexistuje žiadna terapia na zvrátenie neurogénneho poškodenia močového mechúra,**

využitie SCs sa stále vníma ako nádejná alternatíva u tejto skupiny inak neriešiteľných pacientov. Nutný je ďalší základný výskum, ktorý by efektívnosť viac priblížil k praktickému použitiu SCs v humánnej medicíne.

Perspektívy liečby kmeňových buniek pri malígnych urologických ochoreniach

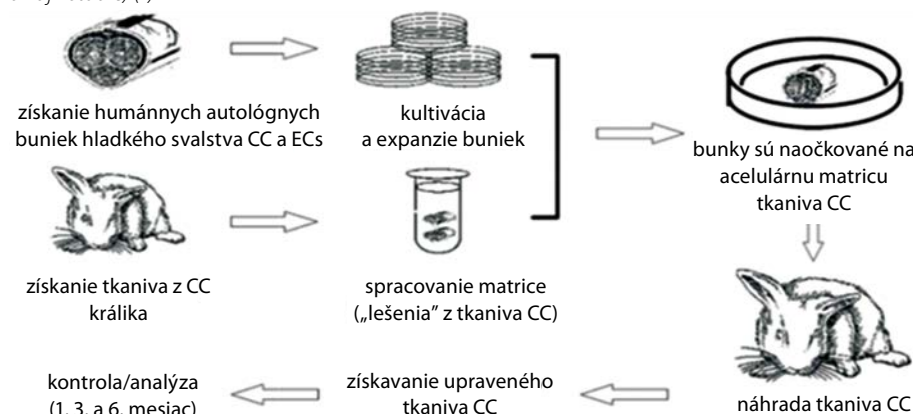
Hypoteticky sa predpokladá, že nádory vznikajú transformáciou kmeňových alebo progenitorových buniek, ktoré sú schopné diferenciácie vo viacerých líniiach. Tumorózne kmeňové bunky však predstavujú len malé percento akéhokoľvek nádoru, ale aj táto malá populácia buniek je rozhodujúca pre prežitie nádoru. Sumárne je možné predpokladať, že sanáciou (zablokovaním/odstránením) týchto buniek je možné eradikovať celý nádor aj s jeho prípadnými metastázami (1, 2). **MSCs (izolované z kostnej drene, tukového tkaniva a pod.) rozoznávajú nádor ako poškodenie tkaniva (niečo ako „nehojaca sa rana“) a putujú do miesta vznikajúceho tumoru a k prípadným metastázam v snahe toto poškodenie napraviť.** Predpokladá sa, že MSCs migrujú smerom k nádorovým bunkám v dôsledku pôsobenia viacerých rozpustných faktorov a zápalových signálov uvoľňovaných z neoplazmy. **Migračná schopnosť MSCs sa dá využiť na transport liekov alebo na génovú terapiu priamo v nádore. MSCs sa preto geneticky modifikujú tak, že sa do ich DNA (deoxyribonucleic acid – kyselina deoxyribonukleová) vloží gén, ktorý nesie informáciu pre tvorbu enzýmu, ktorý konvertuje napr. netoxické predliečivo na cytostatikum** (1, 2, 11, 17, 18). Premena MSCs na bunky terapeutické spočíva teda vo vložení „samovražedného“ génu v podobe retrovírusového vektora do DNA týchto buniek (19). Hlavnou výhodou takejto liečby je mimoriadne vysoká terapeutická špecifickosť. Viacerí autori v predklinických štúdiách potvrdili, že liečebnými génmi modifikované MSCs si zachovali schopnosť migrácie do všetkých solídnych ľudských nádorov, ktoré sa doteraz testovali (napr. kolorektálny karcinóm, **karcinóm prostaty**, glioblastóm, melanóm, **karcinóm močového mechúra** a pod.) (1, 2, 11). Terapeutické SCs zabíjajú ľudské nádorové bunky tým, že kontinuálne produkujú letálnu koncentráciu cytostatika (napr. 5 fluorouracilu a iné), vylučujú špeciálne antitumorózne nanopartikuly

Obr. 3. Experimentálna rekonštrukcia močového mechúra využívajúca princípy tkanivového inžinierstva (1)



(A) materiál „lešenia“ naočkovaný kmeňovými bunkami na použitie pri oprave močového mechúra; (B) „lešenie“ s už diferencovanými a ďalej rozmnoženými kmeňovými bunkami je prišité na natívnu časť pôvodného mechúra s využitím atraumatických 4–0 polyglykolových stehov; (C) implantát už pokrytý fibrinovým lepidlom a omentom

Obr. 4. Izolácia a kultivácia autológnych buniek kavernózných telies pre tkanivové inžinierstvo (celkový dizajn štúdie) (1)



CC – corpora cavernosa (kavernózne telesá); ECs – endothelial cells (endotelálne bunky)

(exozómy). Napriek tomu, že predliečivo sa pri intravenóznom podaní nachádza v celom systéme, cytostatikum vzniká len v mieste nádoru vo vysokej koncentrácii a usmrcuje deliace sa nádorové bunky (2). Účinnosť terapie je závislá od počtu SCs, ktoré sa dostanú do tumoru. V prípade priamej aplikácie SCs do nádoru dochádza k veľmi intenzívnej deštrukcii neoplazmy. Pri intravenóznom podaní sa kmeňové bunky krátko zhromaždia v pľúcach, potom sa distribuujú do celého tela, postupne však vymiznú zo všetkých orgánov a v priemere po 7 dňoch sa dajú dokázať už len v nádore (2). Aj to by mohlo vysvetliť, že zatiaľ nebola zaznamenaná výraznejšia vedľajšia systémová toxicita. Pripravu a aplikáciu terapeutických kmeňových/stromálnych buniek ukazuje schéma 2 (2).

Rekonštrukcia dolného močového traktu

Tkanivové inžinierstvo v urológii sa do značnej miery zameralo na vytvorenie močového mechúra a uretrálnej steny a ich zväčšenie (augmentáciu) s použitím buniek urotelu alebo hladkého svalstva. Existujúce

stratégie využívajú na rekonštrukciu dolných močových ciest rôzne druhy štepov (s alebo bez oporných štruktúr – oporného „lešenia“; s alebo bez naočkovaných buniek). V súčasnosti sa na opravu porúch skúša veľké množstvo materiálov (od syntetických až po prírodné, od acelarizovaných až po mnohobunkové, aplikovaných už v tubulárnom tvare alebo len v podobe náplastí a pod.). Doterajšie experimentálne štúdie v uretrálnom tkanivovom inžinierstve preukázali povzbudzujúce dlhodobé výsledky (anatomické a funkčné zlepšenie) práve pri aplikácii kmeňových buniek priamo do oporného „lešenia“. ESCs alebo BMSCs inokulované do alebo na submukózu tenkého čreva výrazne uľahčili regeneráciu čiastočne odstráneného močového mechúra (1, 2, 11). Predklinické štúdie na zvieratách potvrdili priaznivú rekonštrukciu močového mechúra s využitím tenkého čreva so submukózne naočkovanými BMSCs (obrázok 3) (1). Zlepšená regenerácia močového mechúra sa zaznamenala po použití ADSCs inokulovaných na acelulárnu maticu (1, 11). Priaznivý potenciál bol dokumentovaný aj pri aplikácii MDSCs na syntetické oporné štruktúry (1, 11, 20). Rovnako

MSCs sa po inokulácii do štepu mechúra rýchlo diferencovali do buniek hladkého svalstva s vyšším počtom nervových štruktúr a s minimálnou fibrózou. Vrastanie ciev a nervov však bolo lepšie pri objemovo a plošne menších štepoch (1, 11). Nedávno bol referovaný prvý experimentálny úspech po aplikácii SCs pri rekonštitúcii kavernózných telies pohlavného údu (obrázok 4) (1). **Zatiaľ však chýbajú dlhodobé údaje o bezpečnosti týchto nových techník. Nezodpovedané zostávajú otázky „osudu“ ďalšej diferenciácie alebo nediferenciácie buniek, možnosti potenciálnej tumorigenézy, dlhodobých funkčných a histologických výsledkov atď.**

Využitie kmeňových buniek a perspektívy tkanivového inžinierstva v detskej populácii

Pediatrickí pacienti s neurogénym močovým mechúrom spôsobeným vývojovými abnormalitami (najmä v dôsledku *spina bifida*) vykazujú chronické urologické problémy. Zväčšenie kapacity močového mechúra sa dosahuje chirurgickou enterocystoplastikou, ktorá sa však spája s významnými klinickými komplikáciami. Preto sa preskúmavali alternatívne možnosti s využitím SCs v stratégii tkanivového inžinierstva. Najviac skúseností je zatiaľ s použitím **BMSCs**, ktoré preukázali významný pokrok v regenerácii anatomických a aj molekulárnych štruktúr močového mechúra (obnovenie urotelu, hladkého svalstva, ciev a periférnych nervov dolných močových ciest). Napriek všetkému však **výskum SCs v detskej populácii ani zďaleka nedostačuje na to, aby sa dal využiť v klinickej praxi**. Je to však určite oblasť s veľkou perspektívou, najmä pri riešení niektorých vrodených vývojových defektov (1, 11, 21).

Bezpečnosť a etické hľadiská v súvislosti s využitím kmeňových buniek

Predbežné údaje z experimentálnych a ľudských štúdií naznačujú sľubný efekt a perspektívu SCs, ako aj tkanivového inžinierstva v liečbe rôznych mikčných a sexuálnych porúch a dysfunkcií. Napriek tomu je ďalší výskum stále potrebný a nutný. Viacerí autori sa zhodujú v názore, že SCs sa môžu plne integrovať do klinickej praxe v oblasti urológie. Avšak potenciálna úloha SCs pri napomáhaní funkčného zotavenia pri rôznych ochoreniach urogenitálneho systému

zostáva ešte nedostatočne pochopená a objasnená a doteraz zverejnené údaje sú niekedy aj protichodné. Podľa Kanadskej skupiny kritikov starostlivosti v klinických štúdiách (Canadian Critical Care Trials Group) **sa aplikácia MSCs javí ako bezpečná metóda. Nepozorovalo sa zvýšenie akútnej toxicity (napr. aj po infúznej aplikácii SCs), nezaznamenali sa žiadne závažné komplikácie v orgánových systémoch.** Potvrdil sa len **súvis medzi MSCs terapiou a prechodným výskytom zvýšenej teploty.** Presný mechanizmus vzniku horúčky nie je známy. Existuje však **niekoľko problémov, ktoré sa týkajú dlhodobej bezpečnosti, efektivity a kvality liečby s využitím SCs.** Veľa sa diskutuje o **riziku iniciácie a rozvoja nádoru alebo teratému (a to najmä pri použití ESCs)** v dôsledku predpokladaných dlhodobých zmien genómu alebo epigenetických alterácií. Možný je aj **vznik infekcií**, ako aj potenciálne **nebezpečenstvo neželaných imunitných reakcií. Bezpečnostné riziká (napr. kontaminácie a/alebo neočakávanej genetickej modifikácie a iné) je potrebné**

identifikovať čo najskôr. Nedostatočná efektívnosť a vznik vedľajších (neželaných) účinkov bývajú častejšie v prípadoch, keď sa SCs nepodávajú priamo do poškodeného miesta. V dôsledku všetkého uvedeného je potrebné **dôkladnejšie preskúmať a zhodnotiť súčasné výskumné prístupy a vypracovať aktuálne klinické predpisy a všeobecne záväzné usmernenia pre aplikáciu SCs** (1, 2, 6, 7, 11, 22, 23).

Záver

Liečba založená na SCs rozhodne má potenciál zmeniť mechanizmus základnej choroby, regenerovať tkanivo a ponúknuť priaznivý klinický výsledok. Predpokladané **hlavné terapeutické mechanizmy činnosti SCs sú bunková diferenciácia a/alebo parakrinný účinok. Užitočnosť liečby založenej na SCs sa potvrdzuje aj v oblasti urológie.** To evokuje potrebu ešte presnejšieho pochopenia rôznych mechanizmov a klinických účinkov, pomocou ktorých SCs „zasahujú a účinkujú“ v rôznych typoch tkanív a u subjektov s niek-

torými ochoreniami. Liečba s využitím SCs preukázala efektívnosť a perspektívu v experimentálnych štúdiách na zvieratách pri ED, PD, SUI, dysfunkcii močového mechúra, ale tiež v oblasti urotelového tkanivového inžinierstva. Podobné výsledky sa začínajú objavovať aj v humánnej medicíne s vcelku minimálnymi nepriaznivými účinkami. SCs sa skúmajú ako potenciálna možnosť liečby urologických malignít. Stále však platí, že **spoľahlivosť terapeutického efektu SCs, bezpečnostné riziká** s možnými genómovými alebo epigenetickými zmenami, ako aj potenciálne riziko neželaných imunitných reakcií a infekcií **je potrebné identifikovať v dlhšom časovom horizonte v klinických štúdiách s prísnejšími kritériami.** Naďalej je rozumné pristupovať k tejto problematike zdržanlivo, pretože doteraz neprebela žiadna kvalitná klinická štúdia fázy III, ktorá by potvrdila účinnosť terapie rôznymi typmi kmeňových buniek v humánnej medicíne.

Autor prohlašuje, že zpracovanie článku nebylo podpořeno žádnou společností.

LITERATÚRA

- Atala A. Principle of tissue engineering. In: Wein A, Kavoussi L, Partin A, et al. Campbell – Walsh Urology, 11th ed. Saunders Elsevier 2016: 482–497.
- Altaner Č, Altanerová V. Princípy liečby nádorov kmeňovými bunkami. In: Kaušitz J, Ondruš D a kol. Všeobecná onkológia. 1. vyd. Bratislava: MEDUCA 2017: 520–523.
- Chung E. Stem cell-based therapy in the field of urology: a review of stem cell basic science, clinical applications and future directions in the treatment of various sexual and urinary conditions. Expert Opin Biol Ther 2015; 15(11): 1623–1632.
- Gur S, Abdel-Mageed A, Sikka S, et al. Advances in stem cell therapy for erectile dysfunction. Expert Opin Biol Ther 2018; 18(11): 1137–1150.
- Reed-Maldonado A, Lue T. The current status of stem – cell therapy in erectile dysfunction: a review. World J Mens Health 2016; 34(3): 155–164.
- Wiafe B, Metcalfe P, Adesida A. Stem cell therapy: current applications and potential for urology. Curr Urol Rep 2015; 16(11): 77.
- Alwaal A, Hussein A, Lin Ch, et al. Prospects of stem cell treatment in benign urological disease. Korean J Urol 2015; 56(4): 257–265.
- Kim J, Lee H, Song Y. Mesenchymal stem cell-based gene therapy for erectile dysfunction. Int J Imp Res 2016; 28(1): 81–87.

- Zhou S, Zhang K, Atala A, et al. Stem cell therapy for treatment of stress urinary incontinence: the current status and challenges. Stem Cells Int 2016; Article ID 7060975, 7 pages.
- Amend B, Vaegler M, Fuchs K, et al. Regeneration of degenerated urinary sphincter muscles: improved stem cell – based therapies and novel imaging technologies. Cell Transplant 2015; 24(11): 2171–2183.
- Gonzalzo M, Sfanos K, Meeker A. Molecular genetics and cancer biology. In: Wein A, Kavoussi L, Partin A, et al. Campbell – Walsh Urology, 11th ed. Saunders Elsevier 2016: 459–481.
- Vinarov A, Atala A, Yoo J, et al. Cell therapy for stress urinary incontinence: present – day frontiers. J Tissue Eng Regen Med 2018; 12(2): e1108–e1121.
- Yang L, Geng Z, Nickel T, et al. Differentiation of human induced – pluripotent stem cells into smooth – muscle cells: two novel protocols. Plos One 2016; 11(1): e0147155.
- Lee H, Won J, Doo S, et al. Inhibition of collagen deposit in obstructed rat bladder outlet by transplantation of superparamagnetic iron oxide labeled human mesenchymal stem cells as monitored by molecular magnetic resonance imaging (MRI). Cell Transplant 2012; 21(5): 959–970.
- Yu A, Campeau L. Bone marrow mesenchymal stem cell therapy for voiding dysfunction. Curr Urol Rep 2015; 16(7): 49.
- Levanovich P, Diokno A, Hasenau D, et al. Intradetrusor injection of adult muscle derived cells for the treatment of

underactive bladder: pilot study. Urol Nephrol 2015; 47(3): 465–467.

- Bielecka Z, Maliszewska-Olejniczak K, Safir I, et al. Three-dimensional cell culture model utilization in cancer stem cell research. Biol Rev 2017; 92(3): 1505–1520.
- Maliszewska-Olejniczak K, Brodaczewska K, Bielecka Z, et al. Three-dimensional cell culture model utilization in renal carcinoma cancer stem cell research. In: Baratta M, et al. Epithelial cell culture. Methods Mol Biol, Humana Press New York: 2018: 47–66.
- Kučerová L, Matušková M, Pastoráková A, et al. Cytosine deaminase expressing human mesenchymal stem cells mediated tumour regression in melanoma bearing mice. J Gene Med 2008; 10(10): 1071–1082.
- Snow-Lisy D, Diaz E, Bury M, et al. The role of genetically modified mesenchymal stem cells in urinary bladder regeneration. Plos One 2016; 10(9): e0138643.
- Iannaccone P, Galat V, Bury M, et al. The utility of stem cells in pediatric urinary bladder regeneration. Ped Res 2018; 83(1): 258–266.
- Viltsboll A, Mouritsen J, Jensen L, et al. Cell-based therapy for the treatment of female stress urinary incontinence: an early cost – effectiveness analysis. Regen Med 2018; 13(3): 321–330.
- Gill B, Sun D, Damaser M. Stem cells for urinary incontinence: functional differentiation or cytokine effects? Urology 2018; 117(1): 9–17.