

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Využití kmenových buněk z pupečnickové krve

Martina Peřinová

Bakalářská práce

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martina Peřinová**
Osobní číslo: **C14319**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Využití kmenových buněk z pupečnickové krve**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Seznamte se s literárními údaji zabývajícími se kmenovými buňkami
2. Vypracujte přehlednou práci zabývající se využitím kmenových buněk z pupečnickové krve
3. Podrobně diskutujte využití kmenových buněk z pupečnickové krve v oblasti léčby různých nemocí.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Původní práce v recenzovaných časopisech

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce:

28. listopadu 2016

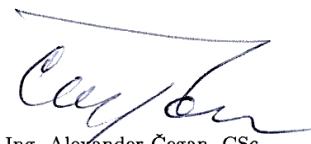
Termín odevzdání bakalářské práce:

7. července 2017



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlášení autora

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 10. 6. 2017

Martina Peřinová

Poděkování

Ráda bych tímto poděkovala vedoucímu této bakalářské práce doc. Mgr. Romanovi Kand'árovi, Ph.D. za odborné rady, věcné připomínky a vstřícný přístup během zpracovávání této práce. Dále paní Romaně Éli z Národního Centra tkání a buněk a.s. a paní Mgr. Michaele Sekyrkové z CORD BLOOD CENTER CZ, s.r.o. za poskytnuté materiály. Velké díky patří моým rodičům, za velkou podporu a umožnění studia, a v neposlední řadě bych chtěla poděkovat celé mé rodině za velkou podporu.

Anotace

Tato bakalářská práce se zabývá využitím kmenových buněk z pupečnickové krve. Je systematicky rozdělena do 4 hlavních kapitol. První část pojednává o kmenových buňkách, jejich diferenciačním potenciálu a pupečnickové krvi jako zdroji kmenových buněk. Druhá kapitola popisuje kmenové buňky nacházející se v pupečnickové krvi. Třetí část se zabývá transplantací hematopoetických kmenových buněk z pupečnickové krve, a v poslední části, je pojednáno o léčbě a regeneraci tkání kmenovými buňkami z pupečnickové krve.

Klíčová slova

kmenové buňky, pupečnicková krev, mesenchymální kmenové buňky, transplantace pupečnickové krve, *diabetes mellitus* 1. typu, dětská mozková obrna

Title

The use of stem cells from umbilical cord blood

Annotation

The following bachelor thesis is concerned with the availing of umbilical cord blood stem cells. The thesis is systematically divided into four chapters. The first chapter is focusing on the cells and their differentiation potential, umbilical cord blood as a source of stem cells. The second chapter describes stem cells found in umbilical cord blood. The third chapter is concerned with transplantation of hematopoietic umbilical cord blood stem cells. The fourth and the most important chapter of this thesis deals with the treatment and regeneration of tissues with umbilical cord blood stem cells.

Keywords

stem cells, umbilical cord blood, mesenchymal stem cells, transplantation of umbilical cord blood, type 1 *diabetes mellitus*, cerebral palsy

Obsah

Úvod.....	13
1. Kmenové buňky.....	14
1.1. Dělení kmenových buněk.....	14
1.1.1. Totipotentní kmenové buňky.....	15
1.1.2. Pluripotentní kmenové buňky.....	15
1.1.3. Multipotentní kmenové buňky.....	16
1.1.4. Unipotentní (progenitorové, prekurzorové) kmenové buňky.....	16
1.2. Zdroje kmenových buněk.....	16
1.2.1. Pupečnicková krev.....	16
2. Kmenové buňky pupečnickové krve.....	18
2.1. Krvetvorné kmenové buňky (HSC).....	18
2.2. Mesenchymální kmenové buňky (MSC).....	19
3. Transplantace hematopoetických kmenových buněk z pupečnickové krve.....	20
3.1. Autologní transplantace.....	21
3.2. Alogenní transplantace.....	22
4. Léčba a regenerace tkání kmenovými buňkami z pupečnickové krve.....	23
4.1. Regenerace nervových buněk.....	23
4.1.1. Alzheimerova choroba.....	23
4.1.2. Parkinsonova choroba.....	25
4.1.3. Dětská mozková obrna.....	26
4.1.4. Mozková mrtvice.....	31
4.2. Autoimunitní poruchy.....	34
4.2.1. Diabetes mellitus 1. typu.....	34
4.2.2. Crohnova choroba.....	38
4.3. Poruchy tvorby červených krvinek.....	41
4.3.1. Aplastická anémie.....	41

4.4. Leukemie.....	43
5. Závěr.....	45
Použitá literatura.....	46

Seznam obrázků

Obrázek 1 - Diferenciace kmenových buněk [6].	15
Obrázek 2 - Diferenciace hematopoetické kmenové buňky [8].	18
Obrázek 3 - Rozdělení transplantací dle dárce kmenových buněk.	20
Obrázek 4 - Vývoj počtu alogenních transplantací dle typu dárce u dětí v ČR (1989-2012) [11].	22
Obrázek 5 - Fotografie neurofibrilárního uzlíku (vlevo) a neuritického plaku (vpravo) pozorované na histopatologickém preparátu z mozku pacienta s AD [12].	24
Obrázek 6 - Horizontální řez středním mozkiem od pacienta s PD (P) a zdravý střední mozek (C), viditelná ztráta pigmentace substantia nigra u PD [16].	25
Obrázek 7 - Typy dětské mozkové obrny dle postižené části těla [22].	28
Obrázek 8 - Hemoragická a ischemická mozková mrtvice [26].	31
Obrázek 9 - 10 zemí, ve kterých se léčí nejvíce dětí s cukrovkou 1. typu 2015 [32].	35
Obrázek 10 - Srovnání zdravého Langerhansova ostrůvku (vlevo) s Langerhansovým ostrůvkem napadeným autoreaktivními T-buňkami (vpravo) [36].	37
Obrázek 11 - Srovnání zdravého střeva, Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy [39].	39
Obrázek 12 - Biopsie kostní dřeně, hypocelulární kostní dřeň s velkým množstvím tukových buněk [48].	41
Obrázek 13 - Akutní myeloidní leukemie, nátěr aspirátu kostní dřeně [49].	43

Seznam tabulek

Tabulka 1 - Účinky buněčné terapie UCB na hrubé motorické funkce pacientů [19].....	30
---	----

Seznam zkratek

A β	amyloid- β peptid
AA	aplastická anemie, z angl. aplastic anemia
AD	Alzheimerova choroba, z angl. Alzheimer's disease
ATG	antithymocytový globulin, z angl. antithymocyte globulin
CD	Crohnova choroba, z angl. Crohn's disease
CD34+	specifický znak hematopoetických kmenových buněk, z angl. classification determinant
CM	kondiciované médium, z angl. conditioned medium
CP	dětská mozková obrna, z angl. cerebral palsy
CsA	cyklosporin A, z angl. cyclosporine A
DM1	<i>Diabetes mellitus</i> 1. typu
DM 2	<i>Diabetes mellitus</i> 2. typu
ESC	embryonální kmenové buňky, z angl. embryonic stem cells
GDF-15	růstový diferenciační faktor 15, z angl. growth differentiation factor 15
GMFCS	stupeň zvládnání hrubých motorických úkolů, z angl. Gross Motor Function Classification System
GVHD	reakce štěpu proti hostiteli, z angl. graft versus host disease
HLA	hlavní histokompatibilní systém, z angl. human leukocyte antigen
HSC	krvetočné (hematopoetické) kmenové buňky, z angl. hematopoietic stem cells
hUCB-MNC	mononukleární buňky odebrané z lidské pupečnickové krve, z angl. human umbilical cord blood-derived mononuclear cells
hUCB-MSC	mesenchymální kmenové buňky odebrané z lidské pupečnickové krve, z angl. human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells
IBD	zánětlivé onemocnění střev, z angl. inflammatory bowel disease

IL-1, IL-6	typy interleukinů
INF- γ	interferon- γ
IPC	buňky produkující inzulín, z angl. insulin producing cells
IST	imunosupresivní terapie, z angl. immunosuppressive therapy
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina, z angl. messenger ribonucleic acid
MSC	mesenchymální kmenové buňky, z angl. mesenchymal stem cells
NK buňky	přirození zabíječi, subpopulace lymfocytů, z angl. natural killer cells
NSC	neurální kmenové buňky, z angl. neural stem cells
PD	Parkinsonova choroba, z angl. Parkinson's disease
PDX-1	inzulínový promotorový faktor 1, z angl. pancreatic and duodenal
homeobox 1	
rhEPO	rekombinantní lidský erythropoetin, z angl. recombinant human
erythropoietin	
T-buňky	T-lymfocyty
T _{H1} , T _{H2} , T _{H17}	subpopulace pomocných T _H lymfocytů, z angl. T helper cells
tPA	tkáňový plasminogenový aktivátor, z angl. tissue plasminogen activator
TNF- α	tumor nekrotizující faktor- α
Treg buňky	regulační T-lymfocyty, z angl. regulatory T cells
UCB	pupečnicková krev, z angl. umbilical cord blood

Úvod

Tato práce pojednává o terapeutickém využití kmenových buněk z pupečnickové krve. Pupečnicková krev není jediným zdrojem kmenových buněk, patří mezi ně také kostní dřev, periferní krev, embryo, tuková tkáň a nově studovaná tkáň pupečníku. Kmenové buňky jsou středem pozornosti na celém světě, hlavně díky jejich funkci sebeobnovy a diferenciaci v širokou škálu buněk. U některých zdrojů ovšem narážíme na etické problémy. Nejčastěji je tomu u embryonálních kmenových buněk, kdy je diskutována otázka, zda je embryo ještě tkáň nebo již lidské individuum. Díky bezpečnosti a etické bezproblémovosti se z kmenových buněk pupečnickové krve stal jeden z velmi využívaných zdrojů pro buněčnou terapii. Cílem této práce je představení možnosti léčby nemocí a regeneraci poškozených tkání kmenovými buňkami z pupečnickové krve.

1. Kmenové buňky

Kmenové buňky jsou nediferencované buňky schopné produkovat diferencující se buňky a současně se samy obnovovat. Z kmenových buněk tedy vznikají základy jednotlivých tkání. V dospělosti udržují tkáňovou homeostázu a zajišťují regeneraci poškozené tkáně. Kmenové buňky tyto funkce plní ve všech fázích vývoje jedince. Během vývoje vzniká celá hierarchie kmenových buněk odlišujících se svým diferenciačním potenciálem. Míru diferenciačního potenciálu kmenových buněk a tím i jejich rozdělení do čtyř základních typů určuje jejich plasticita¹ [1].

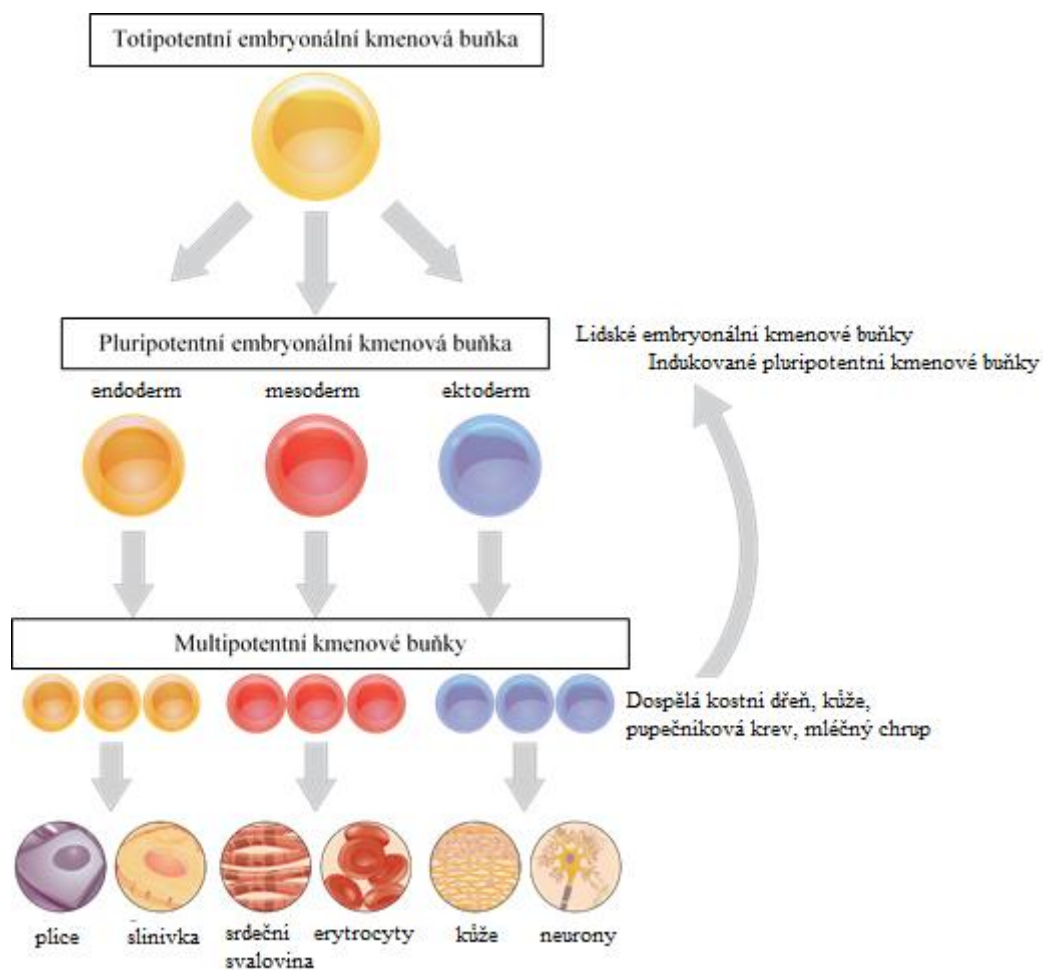
Kmenové buňky se většinou dělí asymetricky, tzn. mitózou vzniká jedna buňka se stejnými vlastnostmi jako mateřská buňka a druhá je více diferencovaná s možností vytváření specializovaných struktur. Avšak není vyloučeno, že v závislosti na potřebě organismu se mohou kmenové buňky dělit také symetricky, kdy mitotickým dělením vznikají buď 2 kmenové buňky stejného typu jako buňka mateřská nebo 2 buňky více diferencované. Asymetricky se mohou dělit všechny typy kmenových buněk [2].

1.1. Dělení kmenových buněk

Kmenové buňky dělíme dle mnoha kritérií. Jedno z hlavních rozděluje kmenové buňky na embryonální kmenové buňky (ESC), které jsou získávány z vývojových stádií oplodněného vajíčka do doby, než se uhnízdí v děloze, a adultní kmenové buňky. Dospělé kmenové buňky mají diferenciační potenciál menší než ESC, nejsou schopny vytvořit celý organismus, jsou ale schopné diferenciací do buněk orgánů a tkání organismu. Nalézáme je tedy v různých místech organismu během celého života.

Dále můžeme dělit kmenové buňky dle existence na primární (*in vivo*) a sekundární (*in vitro*), nebo dle diferenciačního potenciálu, na totipotentní, pluripotentní, multipotentní a unipotentní (progenitorové), (Obrázek 1) [3].

¹ Plasticita kmenových buněk udává, do jaké míry je kmenová buňka schopna se přeměnit na specializovanou buňku, definuje rozsah přeměny, což znamená, jestli je kmenová buňka schopná přeměnit se na specializovanou buňku jen určité tkáně, nebo více tkání.



Obrázek 1 - Diferenciace kmenových buněk [6].

1.1.1. Totipotentní kmenové buňky

Tyto kmenové buňky mají tzv. totální potenciál, schopnost diferenciaci do jakékoli buňky v těle, včetně buněk podílejících se na vytváření všech extraembryonálních tkání jako jsou placenta, pupečník, žloutkový váček apod. To znamená, že z jediné totipotentní buňky (zygoty) může vzniknout nový organismus. Totipotentní kmenové buňky jsou přítomny v nově vytvořeném embryu do stádia moruly [3, 4].

1.1.2. Pluripotentní kmenové buňky

Tyto buňky již nejsou schopny diferenciaci na buňky celého organismu, avšak jsou schopny široké diferenciaci, do buněk všech tří zárodečných listů (endoderm, mezoderm a ektoderm), nejsou schopné spontánní diferenciaci do některých jiných tkání (např. placenta) a do totipotentní kmenové buňky. Jsou lokalizovány především v embryích, v malém množství i ve tkáních novorozence (pupečnicková krev, placenta a amniová membrána) a dospělých tkáních

(méně než 1 %). Mesenchymální kmenové buňky (MSC) mají pluripotentní potenciál a jsou středem zájmu regenerativní medicíny [1, 3].

1.1.3. Multipotentní kmenové buňky

Diferenciace je limitována na určitou tkáň (podle umístění a druhu kmenových buněk). Multipotentní kmenové buňky se nacházejí v orgánech a tkáních dospělého organismu a jejich primární funkcí je obnova (regenerace) buněk tkáně, které zanikly přirozeně nebo v důsledku onemocnění [3].

1.1.4. Unipotentní (progenitorové, prekurzorové) kmenové buňky

Tyto kmenové buňky jsou schopny produkovat jen jediný typ buněk, ale mají schopnost plně se obnovit. Tyto buňky tvoří stádium mezi kmenovými a zralými buňkami [5].

1.2. Zdroje kmenových buněk

Rozlišujeme 4 základní zdroje kmenových buněk: kostní dřeň, periferní krev, embryo a pupečnicková krev.

Z kostní dřene se kmenové buňky nejčastěji získávají punkcí, nejčastěji z kosti kyčelní. K vyplavení kmenových buněk do periferní krve je nutná stimulace kostní dřene růstovými faktory. Počet takto získaných kmenových buněk je velmi variabilní a závisí na věku, pohlaví a celkovém stavu pacienta. Dalším zdrojem kmenových buněk jsou vnitřní buňky embrya ve stadiu moruly či blastocysty, asi 4.–6. den po oplození. Výhodou embryonálních kmenových buněk je dlouhodobá schopnost proliferace *in vitro*, kdy po několika dnech vznikají multicekulární shluky, tzv. embryoidní tělíska. Všechny tyto zdroje kmenových buněk mají jednu společnou nevýhodu a tou je malé množství kmenových buněk na rozdíl od pupečnickové krve, která je na kmenové buňky velmi bohatá. Dalším problémem praktického využití je etický a právní problém týkající se využití embryonálních buněk [7].

1.2.1. Pupečnicková krev

Jako pupečnickovou krev označujeme krev novorozence, která zůstala po přestřižení pupečnicku v pupeční šňůře a placentě.

Je bohatou směsicí různých typů kmenových buněk, kterých je zde více než v jakékoli jiné tkáni organismu. Tyto kmenové buňky mají obrovskou schopnost diferenciace do zralých specializovaných buněk, které tvoří tkáň a orgány, a uvolňují specifické růstové faktory a cytokiny, které podporují expanzi a diferenciaci hematopoetických buněk. Díky této

schopnosti jsou pupečnicková krev a kmenové buňky obecně využívány při léčbě a obnově poškozených tkání. Všechny kmenové buňky v pupečnickové krvi jsou adultní, takže jejich používání při léčbě a výzkumu je eticky bezproblémové.

Nevýhodou je malé množství krve, které lze z pupečníku těsně po porodu odebrat. Například při léčbě leukemie je zapotřebí transplantovat asi 120 tisíc kmenových buněk pupečnickové krve na kilogram tělesné váhy, což je asi 60 ml pupečnickové krve pro léčbu dítěte ve věku 6 až 9 let. Výhodou kmenových buněk z pupečnickové krve je jejich imunologická nezralost, což znamená lepší schopnost zdolávat imunologické bariéry dárce a příjemce, nicméně díky této vlastnosti je vyšší riziko návratu hematologického onemocnění [7].

2. Kmenové buňky pupečnickové krve

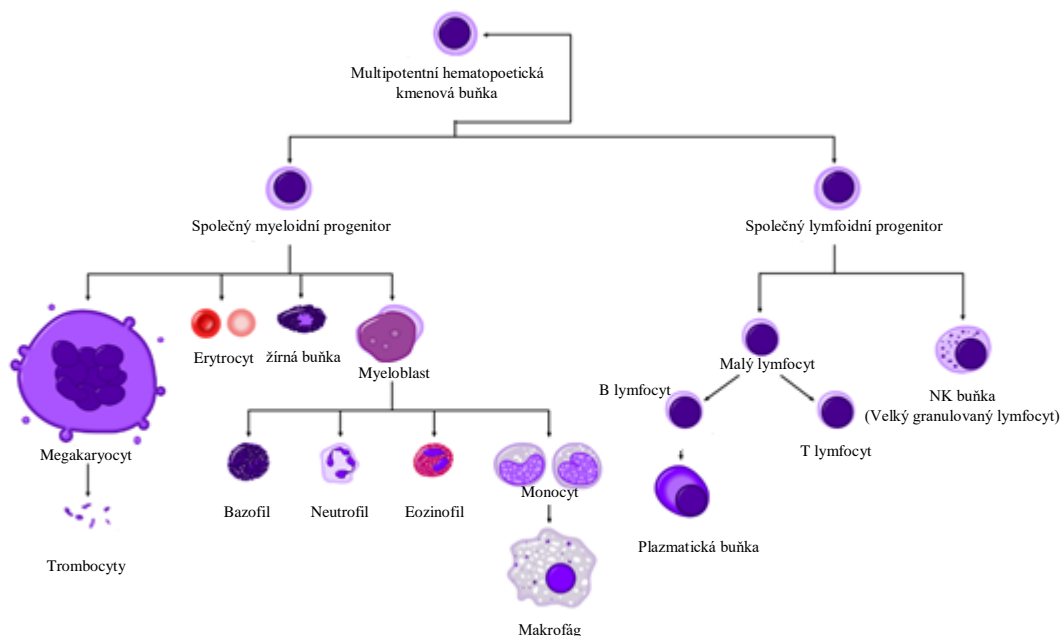
V pupečnickové krvi se nacházejí především krvetvorné kmenové buňky, v menším množství i mesenchymální kmenové buňky. Dále pak nespecifické somatické kmenové buňky a embryonálním buňkám podobné kmenové buňky, které jsou však ve velmi malém počtu, a proto je jejich význam pro použití skoro zanedbatelný [7].

2.1. Krvetvorné kmenové buňky (HSC)

Tyto kmenové buňky mají multipotentní charakter, a jsou tedy schopné se diferenciovat na všechny buňky krve, erythrocyty, leukocyty a trombocyty (Obrázek 2).

Jsou významné hlavně při různých onemocněních krve, kdy je potřebná obnova hematopoézy. Hematopoéza může být narušena z několika důvodů, například jako důsledek onemocnění (leukemie, lymfomy), otravy nebo nehody (ozáření, chemikálie). Avšak můžeme ji narušit i záměrně, například chemoterapií.

Nejčastěji se HSC používají při různých onkohematologických onemocněních. V současnosti existuje více než 80 onemocnění, při kterých se podávají HSC. Kromě pupečnickové krve se tyto buňky nacházejí i v kostní dřeni a periferní krvi [3].



Obrázek 2 - Diferenciace hematopoetické kmenové buňky [8].

2.2. Mesenchymální kmenové buňky (MSC)

V pupečnickové krvi se mesenchymální kmenové buňky nacházejí v menším počtu než HSC, jejich potenciál je však větší. Jsou pluripotentní, se schopností sebeobnovy a zároveň se diferencují např. na osteoblasty, chondroblasty, myoblasty, fibroblasty a jiné. MSC jsou nehematopoetické (primárně netvořící krevní buňky) [3, 5].

Z těchto důvodů jsou MSC středem zájmu regenerativní medicíny, která se zabývá obnovou tkání po úrazu nebo jiném poškození. Kromě pupečnickové krve se tyto buňky nacházejí i v kostní dřeni a tukové tkáni [3].

Ve tkáních se vyskytují v prostorech zvaných *niche*². Pokud dojde k narušení, nebo zničení tohoto mikroprostředí, MSC ztrácí schopnosti kmenových buněk a stávají se z nich běžné buňky dané tkáně [5].

V rámci získávání nových vědeckých poznatků aplikovatelných do praxe a probíhajících klinických studií, se léčba MSC zaměřuje na široké spektrum onemocnění, jako například dětská mozková obrna, autismus či poranění páteře v důsledku úrazu [3].

² *Niche* je mikroprostředí tkáně tvořené buňkami i extracelulárními komponentami (z fr. výklenek okénko), které obsahuje kmenovou buňku. Toto mikroprostředí ovlivňuje a reguluje chování kmenové buňky [1].

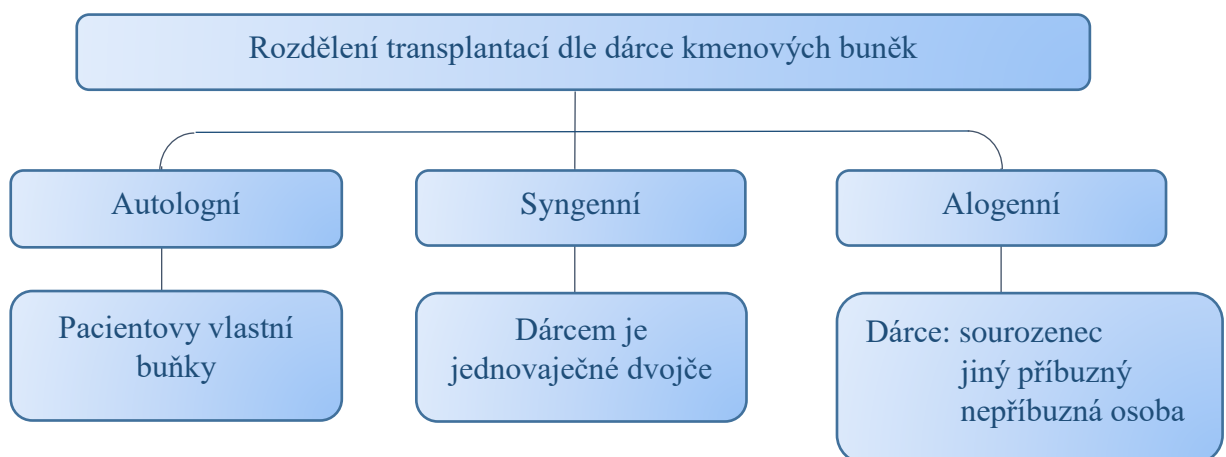
3. Transplantace hematopoetických kmenových buněk z pupečnickové krve

Transplantace je přemístění orgánu nebo jeho části (tkáně, buněk) z jednoho organismu (donor) do organismu druhého (akceptor). Cílem transplantace je nahrazení nebo obnovení nefunkčního orgánu. Při poruchách krvetvorby mluvíme o transplantaci kmenových buněk [9].

Návrh použití pupečnickové krve jako zdroj kmenových buněk pro transplantaci hematopoetických kmenových buněk byla poprvé navržena Edwardem Boysem v roce 1983. Následnými experimenty bylo zjištěno, že krev novorozných myší obsahovala dostatečné počty krvetvorných progenitorových buněk k provedení transplantace kostní dřeně. První banka pupečnickové krve byla vybudována na univerzitě v Indianě, která se zabývala uložením buněk pro možnosti transplantace kostní dřeně sourozenců. Doktorka Eliane Gluckmanová provedla v roce 1998 v Paříži první transplantaci pupečnickové krve, kdy mladší sestra darovala pupečnickovou krev svému bratrovi, který trpěl Fanconioho anémií. O rok později proběhla první transplantace pupečnickové krve ve Spojených státech. V roce 1991 společnost New York Blood Center založila první veřejnou banku pupečnickové krve. V roce 2005 bylo provedeno po celém světě více jak 6000 transplantací krvetvorných buněk z pupečnickové krve [10].

Dle dárce kmenových buněk transplantace dělíme na autologní, syngenní a alogenní (Obrázek 3).

V ČR se první transplantace krvetvorných kmenových buněk uskutečnila v roce 1994 u staršího sourozence se syndromem líných leukocytů. Transplantace pupečnickové krve od mladšího sourozence nastartovala a obnovila chlapcovu imunitu, což znamenalo chlapcovo vyléčení [3].



Obrázek 3 - Rozdělení transplantací dle dárce kmenových buněk.

Indikacemi pro transplantaci pupečnickové krve jsou tyto případy:

kostní dřev zastaví produkci a uvolňování krevních buněk do krevního oběhu (selhání kostní dřevě),

kostní dřev vytváří netypické klony krvinek, které neplní svou funkci v organismu a potlačují tvorbu zdravých krevních buněk, špatnou tkáň je proto třeba nahradit novou,

léčba onkologických onemocnění, kdy je při léčebné kúře krvetvorná tkáň výrazně poškozena až zničena a je třeba ji obnovit,

některá vrozená onemocnění, kdy tělo nedokáže zpracovat např. chemickou látku, transplantované buňky krvetvorné tkáňe mohou přinést schopnost, jak tuto látku zpracovat [9].

3.1. Autologní transplantace

Jak je uvedeno na Obrázku 3, při autologních transplantacích se využívají krvetvorné kmenové buňky samotného pacienta, protože jde o jeho vlastní buňky, není při takové transplantaci problém s inkompatibilitou, nehrozí riziko těžkých komplikací (nemoc štěpu proti hostiteli, GVHD) [1, 3].

Autologní transplantace se používá k léčebným kúram u dětí a dospělých už více jak 60 let. Vlastní krvetvorné kmenové buňky se používají častěji než buňky cizího dárce, a to asi v 60 % všech transplantací (buňky z kostní dřevě, pupečnickové krve i periferní krve). Vlastní pupečnicková krev je alternativou použití vlastní kostní dřevě nebo periferní krve. Doposud byla vlastní pupečnicková krev použita k léčbě onemocnění, jako jsou získaná aplastická anemie, neuroblastom, akutní lymfocytární leukemie, meduloblastom, retinoblastom, myelodysplastický syndrom a jiná nádorová onemocnění [3].

První autologní transplantace pupečnickové krve, která se uskutečnila na Slovensku v roce 2004, byla zároveň i první v Evropě. Půlročnímu chlapci, který měl vysoce rizikový typ meduloblastomu, byla podána autologní krev pro podporu krvetvorby, z důvodu narušení hematopoézy chemoterapií.

Výhody použití vlastní pupečnickové krve v porovnání s použitím vlastní kostní dřevě jsou: transplantát je již připraven, a proto je možné transplantaci provést okamžitě, bez čekání a rizika neúspěchu při odběru a přípravě štěpu z kostní dřevě pacienta, pupečnicková krev je ověřitelně zdravá, kdežto v kostní dřevě pacienta můžou být zbytky nádorových buněk. Použití zdravých buněk snižuje riziko recidivy [3].

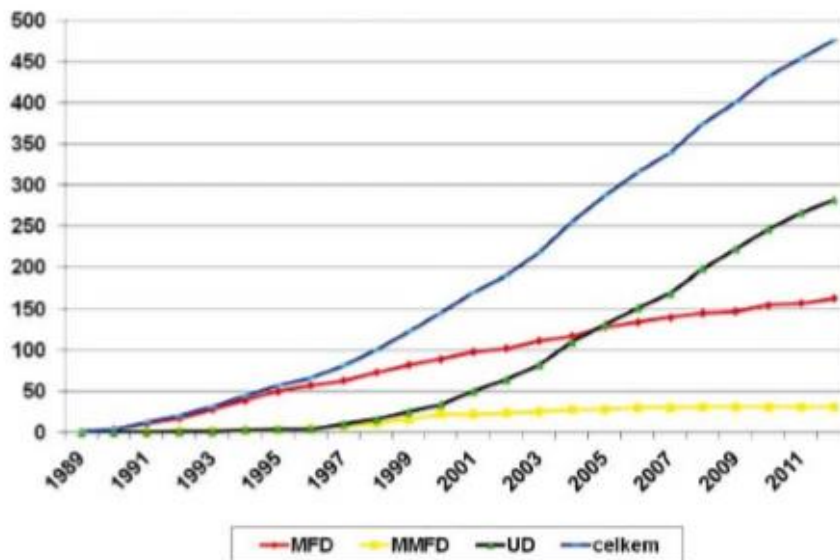
3.2. Alogenní transplantace

O alogenní transplantaci hovoříme tehdy, když transplantované krvetvorné kmenové buňky pocházejí od jiného člověka. Krvetvorné kmenové buňky dárce se využívají tehdy, když původ onemocnění může být přítomen již v kmenových buňkách, a nelze tak použít vlastní pupečnickovou krev ani kostní dřeň. Alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk je tedy léčebnou metodou u mnoha maligních či nemaligních onemocnění.

Zdravé buňky dárce nahradí chybějící, nádorové či nefunkční buňky příjemce. Imunitní systém dárce zajistí protiinfekční ochranu a zároveň sníží riziko recidivy onemocnění. Může však způsobit těžké komplikace (GVHD).

Pro uskutečnění alogenní transplantace je nutné najít dárce, který má s pacientem totožné HLA znaky. Dárce se hledá prvořadě mezi sourozenci. Zde je až 25% pravděpodobnost, že sourozenci budou kompatibilní. Pokud pacient nemá takového sourozence, vyhledává se dárce ve veřejných registrech dárců kostní dřeně a pupečnickové krve, které jsou propojeny do mezinárodních databází.

Sourozenecké transplantace mají lepší prognózu než transplantace kmenových buněk od cizího dárce. (Obrázek 4) [11].



Obrázek 4 - Vývoj počtu alogenních transplantací dle typu dárce u dětí v ČR (1989-2012) [11].

MFD – matched family donor, shodný rodinný dárce

MMFD – mismatched family donor, neshodný rodinný dárce

UD – unrelated donor, nepříbuzný dárce

4. Léčba a regenerace tkání kmenovými buňkami z pupečnickové krve

Využití kmenových buněk z pupečnickové krve není vázáno jen na onemocnění krve. V současnosti probíhá na celém světě více než 750 klinických studií. Jejich cílem je zjistit účinnost podání kmenových buněk z pupečnickové krve při různých onemocněních, jako je například *diabetes mellitus* (DM), při různých nádorech a jiných onkologických onemocněních nebo jako podpůrná léčba při chemoterapiích [3].

4.1. Regenerace nervových buněk

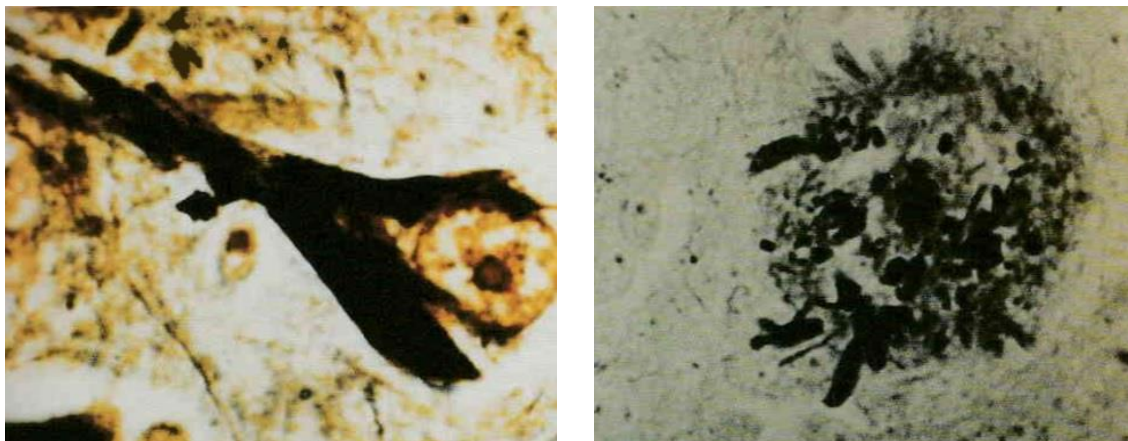
Studováním potenciálu kmenových buněk z pupečnickové krve při obnově poraněných nebo jinak poškozených tkání intenzivně zkoumá obor zvaný regenerativní medicína. Zaměřuje se zejména na poranění mozku a páteře v důsledku onemocnění nebo následkem úrazu, regeneraci kostní tkáně a chrupavky, neurologická onemocnění, ale i kardiovaskulární onemocnění [3].

4.1.1. Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba (AD) je prominentní neurodegenerativní onemocnění, u kterého neuropatologické charakteristické znaky zahrnují přítomnost extracelulárního amyloidu- β ($A\beta$) ve formě amyloidních plaků a neurofibril v postižených oblastech mozku (Obrázek 5), zejména cholinergních neuronů hippocampu, asociační oblasti neokortexu a dalších limbických struktur. AD doprovází odumírání neuronů, což je spojeno s poruchou metabolismu β -amyloidního prekursorového proteinu (APP) v mozku. Štěpení APP v endoplazmatickém retikulu nebo Golgiho aparátu produkuje amyloid- β peptid se 42 nebo 43 aminokyselinami ($A\beta_{42/43}$), který snadno agreguje a je neurotoxický. Pacienti s AD mají v mozkové tkáni signifikantně zvýšené množství agregátů $A\beta_{42/43}$. Ačkoli se mnoho autorů různých studií domnívá, že apoptózu neuronů zprostředkovává $A\beta$, mechanismus neurotoxicity doposud nebyl zcela objasněn. Některé studie naznačují, že neurotoxicita $A\beta$ je zprostředkována oxidačním stresem a aktivací glií která, předchází nástupu klinických a patologických příznaků AD [12, 13].

Mesenchymální kmenové buňky odebrané z lidské pupečnickové krve (hUCB-MSK) jsou studovány jako potenciální terapeutický prostředek k zabránění progresi neurodegenerativních chorob včetně AD. Dřívější výzkumy ukazují, že transplantace hUCB-MSK může zlepšit neurologické funkce a může chránit mozek před hypotalamovou neuronální apoptózou, navíc podporuje uvolňování protizánětlivých cytokinů v myším modelu při úžehu. Ačkoli hUCB-MSK byly navrženy pro léčbu těchto neuropatologických stavů, skutečný mechanismus působení

hUCB-MSC na AD dosud nebyl zjištěn. Na základě těchto zjištění se jihokorejsí vědci rozhodli provést výzkum, zda léčba hUCB-MSC ovlivní apoptózu, oxidační stres a zánětlivou odpověď. Zkoumali účinek transplantace hUCB-MSC na myším modelu s akutní AD [13].



Obrázek 5 - Fotografie neurofibrilárního uzlíku (vlevo) a neuritického plaku (vpravo) pozorované na histopatologickém preparátu z mozku pacienta s AD [12].

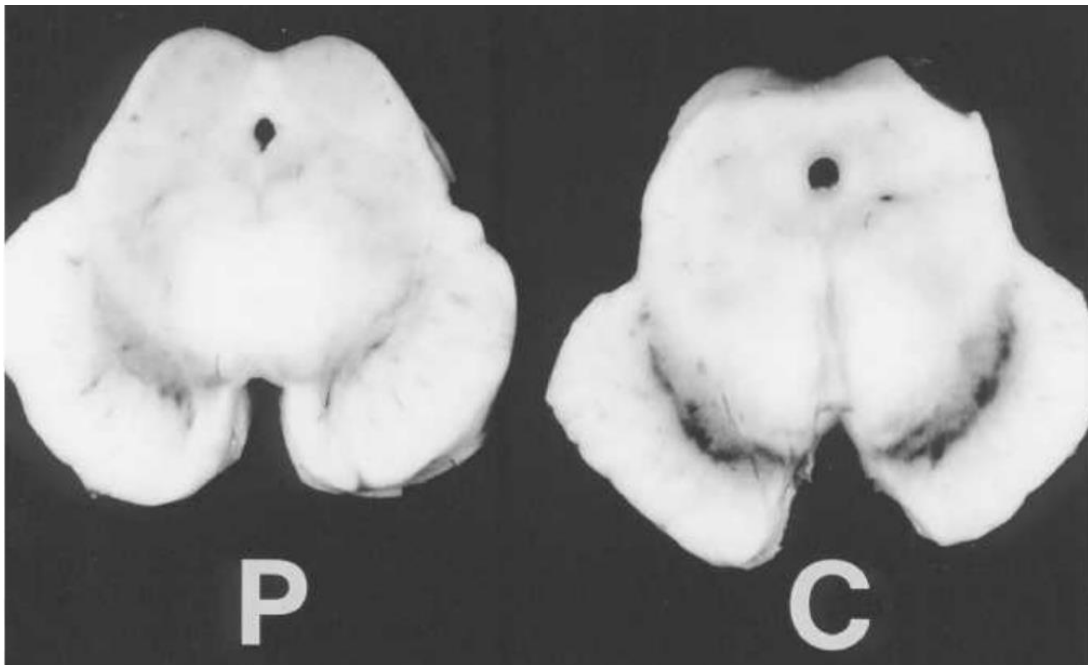
Výsledky studie naznačují, že ukazatelé aktivovaných glií, oxidačního stresu a úrovně apoptózy byly sníženy. Je zajímavé, že myši s AD léčené hUCB-MSC, prokazovaly zlepšení kognitivních funkcí, tedy obnovu funkce učení a paměti [13].

V jiné studii zjistili, že opakované intratekální podávání³ hUCB-MSC myším s AD významně ovlivňuje odstranění toxických amyloidních plaků a podporuje endogenní hipokampální proliferaci NSC, zrání neuronů a synaptickou aktivitu u zralých neuronů prostřednictvím GDF-15. Domnívají se, že by tyto poznatky mohly být využity pro budoucí klinické studie a věří, že intratekální podávání hUCB-MSC by mohlo být výhodnější než přímá aplikace do mozkového parenchymu [14].

³ Intratekální podávání, podání do prostoru mezi mozkem nebo míchou a mozkomíšními obaly, popř. do mozkových komor, provádí se jako lumbální punkce v bederní oblasti páteře [53].

4.1.2. Parkinsonova choroba

Parkinsonova choroba (PD) je druhou nejčastější neurodegenerativní nemocí, která postihuje 1 % populace ve věku nad 65 let, kdy nejvíce narušeným systémem jsou mozková bazální ganglia. Typickými příznaky PD jsou bradykinézie, rigidita a klidový třes. Hlavními patologickými znaky jsou rozsáhlé ztráty dopaminových neuronů v *substantia nigra pars compacta* (Obrázek 6) a akumulace cytoplazmatických eosinofilních inkluzí, Lewyho tělísek. Příčina degenerace dopaminových neuronů zůstává do značné míry neznámá. Všeobecně platí, že účinnost orálně podávaných léků na PD se v horizontu 5 let markantně snižuje. Navíc tato léčba neobnoví zásobení *striatum* dopaminem, proto v zájmu lepšího terapeutického účinku probíhají studie na obnovení této funkce [15].



Obrázek 6 - Horizontální řez středním mozkem od pacienta s PD (P) a zdravý střední mozek (C), viditelná ztráta pigmentace substantia nigra u PD [16].

Buněčná terapie představuje slibný terapeutický přístup k nahrazení chybějících dopaminových neuronů a obnovení motorické funkce u pacientů s PD [17].

K dosažení úspěšné buněčné terapie, jsou obecně navržena kritéria pro transplantaci buněk:

buňky by měly mít molekulární, morfologické a elektrofyzilogické vlastnosti dopaminových neuronů v *substantia nigra*,

štěpy by měly být schopny zvrátit motorické deficity PD,

terapie by měla umožnit sto tisícům a více dopaminergních neuronů dlouhodobě přežít v lidském *putamen*,

roubované buňky by měly obnovit hustou terminálovou síť v celém *striatum*, aby se funkčně integrovaly do hostitelských neuronových obvodů [15].

Nedávné studie ukázaly, že u zvířecích modelů mohou mononukleární buňky lidské pupečníkové krve (hUCB-MNC) zlepšit funkční deficity neurologických onemocnění včetně mrtvice a traumatického poranění mozku. hUCB-MNC také obsahují NSC a mohou podporovat regeneraci nervů a opravu tkání u různých neurologických onemocnění [17].

Čínští vědci vyzorovali, že dochází k významnému zlepšení chování motorické dysfunkce po transplantaci hUCB-MNC do *striatum* mozku myši s PD vyvolanou 6-hydroxydopaminem. Po 4 až 16 týdnech po transplantaci hUCB-MNC bylo pozorováno zotavení motorických deficitů. Tento účinek by mohl být přičítán diferencovaným neuronům očkovaných hUCB-MNC, jelikož byly v sekcích mozku pozorovaných myši pozorovány dopaminové neurony odvozené od lidských buněk. Zajímavostí však je, že nebyla zjištěna žádná diferenciace hUCB-MNC do dopaminových neuronů *in vitro*, z toho následně vyplývá, že hostitelské prostředí myšního mozku pravděpodobně podpořilo produkci dopaminových neuronů z hUCB-MNC *in vivo* [17].

Transplantované hUCB-MNC významně zlepšily motorické deficity PD myši. Vedle neuronální diferenciace hUCB-MNC existují další možné mechanismy pro zlepšení motorické funkce indukované hUCB-MNC. Buňky jsou schopné zabránit nekróze, zvyšují imunomodulaci, snižují periferní zánětlivou odezvu, nebo mikrogliaální odpověď, a stimulují neurogenezi [17].

Na základě výsledků studií mají transplantované hUCB-MNC u myši s PD terapeutické účinky, jelikož se diferencují na dopaminové neurony. Závěry naznačují, že modulace endogenní neurogeneze pro opravu poškozeného mozku při PD hUCB-MNC může mít významný dopad na budoucí strategie léčby [17].

4.1.3. Dětská mozková obrna

Dětská mozková obrna (CP) je nejčastější porucha spojená s perinatálním poškozením vyvíjejícího se mozku. CP je celoživotní syndrom zahrnující řadu dětských poruch souvisejících s neschopností udržet normální tělesnou pozici nebo provádět kontrolovatelné pohyby. Stejně tak CP souvisí s nemocemi, jako je například epilepsie [18].

Motorické poruchy (parézy, poruchy koordinace, nucené pohyby atd.) mohou být spojeny se změnami duševního stavu, řeči, zraku, sluchu, nebo poruch citlivosti. V dětském vývoji se

klinické projevy CP mohou lišit. Pokud CP existuje společně s dalšími patologickými stavy, jako je hydrocefalus, infekční onemocnění, intoxikace, nebo traumatické poranění mozku, onemocnění progreduje. Celková prevalence CP zůstala během posledních 40 let stabilní, a to ve 2-3 případech na 1000 živě narozených dětí, navzdory změnám v prenatální a postnatální péči [19].

Poprvé v historii se míra CP ve vyspělém světě začíná snižovat. I přes tento příznivý pokrok v prevenci je CP hlavní příčinou invalidity v raném dětství. Navzdory rozsáhlé léčbě, vede tato neurologická porucha k celoživotnímu funkčnímu deficitu [20, 21].

Existující metody léčby CP, včetně různých rehabilitačních strategií, chirurgických a farmakologických zákroků, jsou však převážně paliativní⁴ a neexistuje žádná specifická léčba zaměřená na obnovení poraněné funkce mozku [19].

Důsledky syndromu vycházejí z jeho různých klasifikací. CP může být definována podle anatomických lézí v mozku, mozkové kůře, kortikospinálním traktu, extrapyramidovém systému nebo mozečku. Klinickými příznaky jsou spasticita a dyskineze. CP můžeme klasifikovat dle topografického zapojení končetin jako monoplegii, hemiplegii, diplegii a kvadruplegii (Obrázek 7), a dle svalového tonu jako izotonický, hypotonický nebo hypertonický [18].

Podle diagnózy mají jednotlivci s mozkovou obrnou motorickou poruchu, která může být seskupena do pěti stupňů závažnosti, od ambulantní péče, až po upoutání na invalidní vozík, a to systémem GMFCS (Gross Motor Function Classification System) [21]:

GMFC I, mohou chodit po schodech bez použití zábradlí, běhat, skákat, ale rychlost, rovnováha a koordinace jsou omezené;

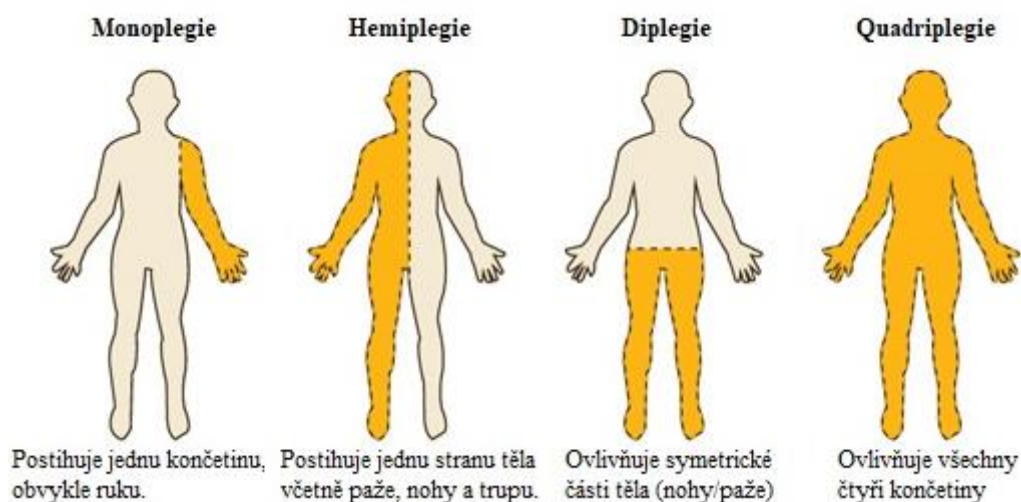
GMFC II, do schodů se drží zábradlí, mohou mít potíže s chůzí na dlouhé vzdálenosti a stabilitou na nerovném terénu, ve svahu nebo přeplněných prostorech, mají minimální možnost běhání a skákání;

GMFC III, do schodů chodí pod dohledem, na chůzi potřebují berle, nebo jiné pomůcky, na delší trasy potřebují vozíček nebo jiný dopravní prostředek;

GMFC IV, potřebují elektrický vozík nebo osobu, která bude vozík ovládat, doma mohou chodit na krátké vzdálenosti, ale s fyzickou pomocí nebo s jinými pomůckami;

⁴ Paliativní, mírnící bolest, ale neodstraňující příčinu choroby a bolesti [54].

GMFC V, děti jsou všude přepravovány vozíkem, mají omezené pohyby paží a nohou, omezenou schopnost udržet hlavu a trup vzpřímeně [22].



Obrázek 7 - Typy dětské mozkové obrny dle postižené části těla [22].

Ačkoli v současné době není dostupná žádná plně účinná terapie CP, alternativou k lékařsky ověřeným metodám pro pacienty s CP je terapie kmenovými buňkami, která byla v posledních letech předmětem mnoha výzkumů zaměřených na CP [18].

Ve studii, která probíhala od ledna 2011 do prosince 2013, byla u 55 dětských pacientů studována buněčná terapie kmenovými buňkami z UCB. Podávání buněk bylo dobře tolerováno a nebyly zaznamenány žádné akutní nebo zpožděné nežádoucí účinky. Ve výsledcích byla pozitivní dynamika pozorována u 38 pacientů (69,1%). Zlepšení neurologického stavu bylo charakterizováno snížením patologického svalového tonu u jedné, nebo více postižených končetin, zvýšením svalové síly a snížením epileptických záchvatů. Zlepšení v mentální oblasti (řeč, paměť, pozornost, intelektuální a emoční vývoj) bylo zaznamenáno v 29 (52,7%) případech. Celkem u 23 dětí (41,8%) byl prokázán pokrok ve fyzické a duševní oblasti. U 17 dětí (30,9%) se jejich neurologický nebo duševní stav během pozorování a po léčbě nezměnil. Negativní dynamika nebyla odhalena u žádného z léčených dětí. Podskupina dětí (38), které dostaly dvě nebo více infuzí buněk UCB, byla hodnocena podle stupnice GMFCS (Tabulka 1). U 18 (47,4%) dětí byl zaznamenán významný pokrok ve všeobecných motorických aktivitách [19].

Podrobná statistická analýza ukázala, že výsledky léčby závisejí na nejméně třech faktorech:

věku pacienta,

závažnosti poškození mozku,

počtu infuzí buněk z UCB [19].

Zdá se, že buněčná terapie UCB je nejúčinnější u pacientů s CP ve věku 2 až 6 let. Analýza vztahů mezi efektivitou léčby a dalšími faktory, jako je závažnost onemocnění a počet buněčných infuzí, však ukazuje, že věk pacienta není hlavní předpovědí úspěšnosti buněčné terapie. Skupina "nereagujících" sestávala převážně z pacientů trpících nejtěžšími formami CP komplikovanými jiným poškozením mozku. Od března 2004 do prosince 2009, v rámci programu transplantace dětské krve na Dukeově Univerzitě, byla testována bezpečnost intravenózně podaných autologních buněk UCB u dětí se získanými neurologickými onemocněními. Během studie dostalo celkem 184 pacientů (140 pacientů s CP) 198 transfuzí buněk UCB. Post-transfuzní komplikace se vyskytly pouze u tří pacientů. Bez ohledu na značný počet klinických důkazů, které potvrzují účinnost buněčné terapie UCB u pacientů s poraněním mozku a páteře, zůstávají mechanismy, které jsou základem jejich účinků, pochybné. Tím, že buňky UCB produkují neurotrofické faktory, mohou přispívat k regeneraci centrálního nervového systému svou regulací neuronální a gliové aktivity. Navíc buňky UCB vylučují řadu biologicky aktivních sloučenin. Předpokládá se, že parakrinní regulace, včetně stimulace neurogeneze v mozku, je hlavním mechanismem odpovědným za terapeutický účinek systémového podávání buněk UCB [19].

Terapeutické účely transfuzí UCB-MNC se zdají být praktické, bezpečné a přinášejí potenciální přínos u dětí s CP. UCB má potenciál ve svých neuroprotektivních, protizánětlivých a anti-apoptických účinků. Současné podávání rekombinantního lidského erythropoetinu (rhEPO) může zvýšit účinnost UCB, protože má neurotrofické účinky. Je zapotřebí dalších dlouhodobých klinických studií. [20, 23].

Tabulka 1 - Účinky buněčné terapie UCB na hrubé motorické funkce pacientů [19].

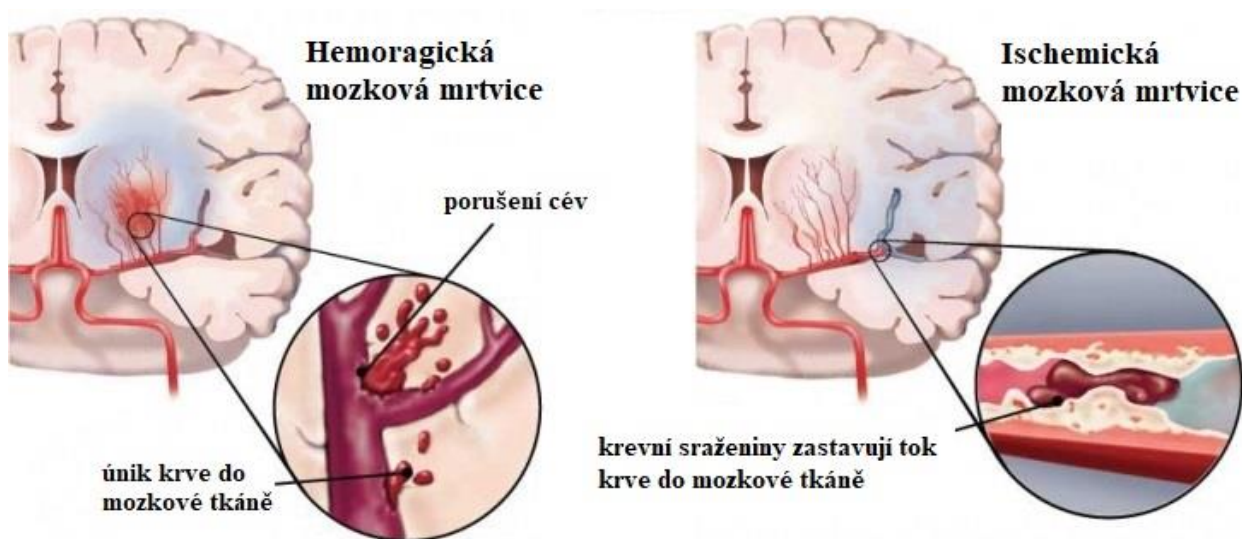
Pacient	Počet buněčných infuzí	Věk při první infuzi (roky + měsíce)	Věk poslední kontroly (roky + měsíce)	Počáteční úroveň GMFCS	Konečná úroveň GMFCS
1	2	3 + 3	4 + 0	V	V ^a
2	2	6 + 6	7 + 4	V	IV ^a
3	2	3 + 3	3 + 10	V	V ^a
4	2	1 + 9	2 + 4	V	V
5	2	2 + 3	2 + 9	V	V
6	2	1 + 3	1 + 9	V	III
7	3	1 + 1	1 + 8	V	IV
8	3	2 + 5	3 + 1	IV	IV ^a
9	3	3 + 0	3 + 8	IV	II
10	3	3 + 6	4 + 3	IV	III
11	3	4 + 0	4 + 8	IV	IV
12	3	4 + 3	5 + 0	V	V ^a
13	3	5 + 7	6 + 2	V	V ^a
14	3	6 + 5	6 + 11	IV	IV ^a
15	3	9 + 6	10 + 2	IV	II
16	3	6 + 2	6 + 9	IV	IV ^a
17	3	6 + 2	7 + 6	IV	III
18	3	4 + 6	5 + 4	IV	IV
19	4	1 + 6	2 + 6	V	V
20	4	7 + 0	8 + 1	V	V
21	4	4 + 1	5 + 4	V	V
22	4	7 + 1	8 + 2	V	V
23	4	6 + 8	7 + 6	V	IV
24	4	5 + 3	6 + 8	V	IV
25	4	3 + 7	5 + 0	V	III
26	4	2 + 0	3 + 5	V	IV
27	4	2 + 9	4 + 3	V	V
28	4	6 + 5	7 + 0	V	IV
29	4	7 + 3	8 + 6	V	V ^a
30	4	5 + 1	6 + 2	IV	IV ^a
31	5	2 + 0	2 + 9	V	IV
32	5	2 + 4	4 + 0	IV	III
33	5	7 + 5	8 + 9	V	V
34	5	7 + 5	9 + 2	IV	III
35	5	6 + 4	8 + 2	V	II
36	6	7 + 3	8 + 3	V	IV
37	6	1 + 8	3 + 4	V	III
38	6	4 + 0	6 + 10	IV	II

^a - pacienti, u kterých byla dětská mozková obrna doprovázena epilepsií

4.1.4. Mozková mrtvice

Cévní mozková příhoda je druhou nejběžnější příčinou úmrtnosti a hlavní příčinou invalidity u dospělých na celém světě. Je způsobena snížením nebo přerušением průtoku krve do mozku blokovánými nebo přerušenými cévami. To vede k mozkovému infarktu, intracerebrálnímu krvácení nebo k subarachnoidálnímu krvácení, proto se cévní mozková příhoda klasifikuje jako ischemická nebo hemoragická (Obrázek 8). V USA je hlášeno 795 000 nových nebo opakujících se případů ročně. Stárnutí je hlavním rizikovým faktorem mozkové mrtvice, kdy riziko ischemické mrtvice vzrůstá. Ve stárnoucí populaci se výskyt cévní mozkové příhody zvyšuje také kvůli progresivní ateroskleróze, vyšší incidenci srdeční arytmie, hypertenzi, hypercholesterolemii a vaskulárním změnám [24].

Trombolytická terapie je první linií léčby ischemické mrtvice. Účinnost léčby tkáňovým plasminogenovým aktivátorem (tPA) je však pouze 4,5 hodiny po postischemickém poškození, což umožňuje podání tPA pouze u 8 % pacientů s mrtvicí [25].



Obrázek 8 - Hemoragická a ischemická mozková mrtvice [26].

Charakteristickým znakem mrtvice je zánět. Produkce cytokinů TNF- α , IL-1 a IL-6. se v mozku výrazně zvyšuje v prvních 24 hodinách po mrtvici. Předchozí studie ukazují, že vhodná výchozí hladina TNF- α nebo IL-6 je nezbytná pro neurogenezi, zatímco vyšší hladiny TNF- α nebo IL-6 jsou pro neurogenezi škodlivé. To podpořilo hypotézu, že inhibice produkce cytokinů může být vhodným terapeutickým přístupem při léčbě poškození mozku. Prozánětlivé cytokiny, jako jsou TNF- α , IL-1 a IL-6, které jsou během mozkové mrtvice ve zvýšené míře produkovány, hrají zásadní úlohu při progresi ztráty neuronů a poranění mozku [27].

Novým terapeutickým přístupem v oblasti neurodegenerativních onemocnění a mozkové mrtvice je buněčná terapie, která nabízí jak náhradu buněk, tak neuroprotekcí⁵. Existují dvě terapeutické strategie, které využívají kmenové buňky: stimulace, posilování endogenních nervových progenitorových buněk, a implantace exogenních kmenových buněk. Potenciální mechanismy, které jsou základem buněčné terapie, zahrnují přímou náhradu poškozených nebo ztracených buněk, usnadnění regenerace tkáně, sekreci trofických faktorů a růstových molekul, mobilizaci endogenních kmenových buněk a imunomodulaci [24].

MSC se vyvíjejí do jiných buněčných fenotypů a podporují proliferaci endogenních NSC. Také mohou usnadnit regeneraci axonů prostřednictvím inhibice tvorby jaderných proteinů astrocytů v oblasti infarktu. Navíc je známo, že MSC podporují angiogenezi [24].

Buněčná terapie je slibnou léčbou ischemické cévní mozkové příhody. Několik studií prokázalo příznivé účinky po transplantaci kmenových buněk pocházejících z různých zdrojů, dospěle kostní dřeně, adipózní tkáně a pupečnickové krve. U pacientů s akutní ischemickou cévní mozkovou příhodou bylo prokázáno, že intraarteriální podání autologních kmenových buněk kostní dřeně (CD34) do infarktové oblasti je bezpečné a může usnadnit funkční zotavení a snížit objem lézí [28].

Mnoho preklinických studií prokázalo účinnost MNC z UCB pro léčbu mrtvice, a to buď jako hUCB-MNC, nebo jako oddělené buněčné typy (MSC, HSC). Ukázalo se, že intravenózní infuze hUCB-MNC, kratší než 72 hodin po mrtvici, zlepšila obnovu funkce chování. Terapeutický účinek intraarteriální transplantace hUCB-MNC je lepší než samotné MSC odvozené z UCB. Intraarteriální transplantace mononukleárních buněk lidské pupečnickové krve v hyperakutní fázi ischemické mrtvice zlepšuje regionální krevní průtok, cerebrovaskulární reaktivitu a vaskulární remodelaci. Transplantace hyperakutních kmenových buněk také snížila deficity chování a objem infarktu [28].

Doba od vzniku mozkové příhody až po rekonstrukci arterií výrazně ovlivňuje výsledky léčby, což vyvolává diskusi o reorganizaci systému mozkové tkáně, aby se usnadnila rychlá reperfuze, a aby byla pacientům tato léčba co nejrychleji poskytnuta. Intraarteriální infuze hUCB-MNC bezprostředně po mechanické trombektomii by mohla být potenciální adjuvantní

⁵ Neuroprotektce, strategie působící proti škodlivým biochemickým a molekulárním dějům, které, pokud zůstanou neovlivněny, vedou k ischemickému poškození mozku [55].

terapií. Prokázané zlepšení cerebrovaskulární funkce je zvláště důležité pro hyperakutní léčbu. Alogenetická povaha hUCB-MNC by mohla být praktickou volbou pro klinické použití [28].

Údaje ohledně bezpečnosti ukazují, že intravenózní infuze alogenních buněk UCB je proveditelná a dobře snášena u dospělých pacientů s akutní ischemickou mrtvicí [25, 27]. Z dokončených klinických studií transplantace kmenových buněk, které však neposkytly dostatečné důkazy podporující podstatné klinické zlepšení vyplývá, že je třeba věnovat více pozornosti problémům jako jsou, typ a zdroj buněk, dávkování buněk, optimální časování a cesty podávání [24].

4.2. Autoimunitní poruchy

U autoimunitního onemocnění dochází k poškození tkáně, nebo funkci orgánu v důsledku autoimunity, imunitní odpovědi na vlastní antigeny. Ne každá autoimunitní odpověď vyvolává autoimunitní onemocnění, především při infekci. Autoimunitní choroby bývají často dědičné, mohou být způsobeny různými druhy infekčních onemocnění, působením hormonů, některých chemikálií nebo psychickým vypětím a stresem. Buněčná terapie u autoimunitních poruch je metoda, která je zaměřována na buňky imunitního systému, aby byla obnovena imunitní bilance. Na základě potenciální užitečnosti pupečnickové krve k obnově imunitní homeostázy, je použití UCB, jako zdroje imunoregulačních buněk při léčbě autoimunitních poruch, stále oblíbenější [29].

Mezi nejznámější autoimunitní choroby patří například:

diabetes mellitus 1. typu,
Crohnova choroba,
lupénka,
Addinsonova choroba,
celiakie,
roztřesená skleróza a mnoho dalších.

4.2.1. *Diabetes mellitus* 1. typu

Diabetes mellitus 1. typu (DM1) je rozšířenou chronickou multifaktoriální autoimunitní, idiopatickou nebo genetickou poruchou slinivky břišní, která způsobuje progresivní destrukci β -buněk produkujících inzulín. Je to onemocnění dětí a dospívajících, které se obvykle objeví nejdříve ve věku 5-7 let. V tomto okamžiku může být DM1 považován za globální epidemii s nepřetržitým, prudkým nárůstem jeho prevalence a výskytu na celém světě (Obrázek 9). Zvyšuje se alarmujícím tempem – 3 % každý rok [30, 31].

Hlavní formy této chronické poruchy jsou *diabetes mellitus* typu 1 (DM1) a typu 2 (DM2). DM2 je mnohem častější (90-95%), a obvykle se objevuje ve středním věku. DM2 je odvozen z kombinace periferní inzulínové rezistence s progresivním selháním β -buněk pankreatu, vedoucím až k selhání sekrece inzulínu. Proto může DM2 po počáteční fázi, kdy převládá inzulínová rezistence, v konečném důsledku vyžadovat exogenní doplňování inzulínu při funkčním vyčerpání β -buněk. DM1 se vyskytuje v mnohem menší míře (5-10 %) [33].



Obrázek 9 - 10 zemí, ve kterých se léčí nejvíce dětí s cukrovkou 1. typu 2015 [32].

Typickými příznaky DM1 jsou polydipsie, polyurie a polyfagie se zjevnou hyperglykemií. Muži jsou postiženi častěji než ženy. Nemoc má autoimunitní povahu a je vyvolána několika faktory, jako jsou podzimní a zimní období, virové a bakteriální infekce, a v neposlední míře znečišťující látky v životním prostředí. V konečném stádiu způsobuje mnohoorgánovou dysfunkci, jako je diabetická retinopatie, ketoacidóza, nefropatie, neuropatie, hyperkoagulabilita, kardiovaskulární onemocnění, až celkové selhání orgánů [31, 34].

Inzulínová substituční terapie je v současné době jedinou známou a akceptovanou terapeutickou metodou [31]. Exogenní inzulín může progresi nemoci zpomalit, avšak nevylučuje riziko vývoje sekundárních komplikací. Proto je třeba intenzivně hledat nové postupy v léčbě onemocnění obou klinických forem [33, 34].

Další léčebné strategie zahrnují transplantaci slinivky, Langerhansových ostrůvků, genovou a buněčnou terapii. Tato terapie má omezení, jako je omezená dostupnost vhodných dárců, vysoké náklady a vysoká míra částečného, nebo úplného selhání štěpu, toxicita imunosupresiva a recidivu autoimunity [34].

Využití všech současných metod léčby *diabetes mellitus* má za cíl obnovit glukózovou homeostázu. Buňky produkující inzulín (IPC) mohou být odlišeny od kmenových buněk a nabízejí potenciální zdroj sekrece inzulínu namísto β -buněk [30].

Terapie kmenových buněk s buněčným přeprogramováním a regenerace β -buněk mohou otevřít nové léčebné metody. Mechanismus jejich účinku však vyžaduje další výzkum [31, 35].

Ideálním terapeutickým přístupem pro DM1 je obnova defektní imunitní regulace. V současné době je v klinických studiích hodnocena buněčná terapie s imunomodulačními účinky, u které se ověřuje její bezpečnost a účinnost. Výsledky naznačují, že léčba imunomodulačními buňkami, jako jsou Treg buňky (regulační T-lymfocyty) a kmenové buňky, může prodloužit klinickou remisi nebo zpomalit vývoj DM1. Buňky z UCB by mohly potlačit imunitní odpověď a obnovit imunitní toleranci. V současné době mohou být kmenové i Treg buňky zmnoženy, zatímco jejich vlastnosti a terapeutický potenciál zůstávají zachovány. Použití odvozených imunitních buněk z UCB by se mohlo stát slibnou terapií pro DM1, ačkoli by měly být provedeny rozsáhlejší kontrolované klinické testy [29].

Využití diferenciaci UCB-MSC na buňky produkující inzulín (IPC)

Vhodným postupem se z UCB-MSC mohou generovat buňky podobné IPC, které reagují na hladinu glukózy. UCB-MSC jsou tak potenciálními kandidáty na léčbu DM1 kmenovými buňkami. V současné době je prováděna spousta testů k ověření bezpečnosti použití a účinnosti autologních lidských UCB-MSC při terapii pacientů s DM1 [29].

UCB-MSC byly úspěšně diferencovány na IPC tak, že byly aktivovány některé z hlavních genů, které se na diferenciaci do IPC podílejí (hlavně PDX-1). Různé studie prokázaly, že PDX-1, také známý jako inzulínový promotorový faktor 1, je transkripčním faktorem pro vývoj a dozrávání β -buněk pankreatu. Je tzv. reprogramovacím faktorem pro vyvolání diferenciaci MSC v endokrinní buňky pankreatu. Ve většině studií se PDX-1 vkládá do cílových buněk virovými vektory. Tento postup má určitá rizika, jako je vznik mutagenese nebo imunogenicity. Proto je nelze použít v klinické praxi [30].

Cílem současných studií je vyvinout novou a bezpečnou metodu, která by zlepšila diferenciacní účinnost UCB-MSC na IPC. Příkladem je tzv. transfekce, kdy je MSC infikována mRNA PDX-1, tedy bez použití virových metod. Zvýšení diferenciacní účinnosti UCB-MSC na IPC je důležitým krokem při použití UCB-MSC v léčbě DM1 [30].

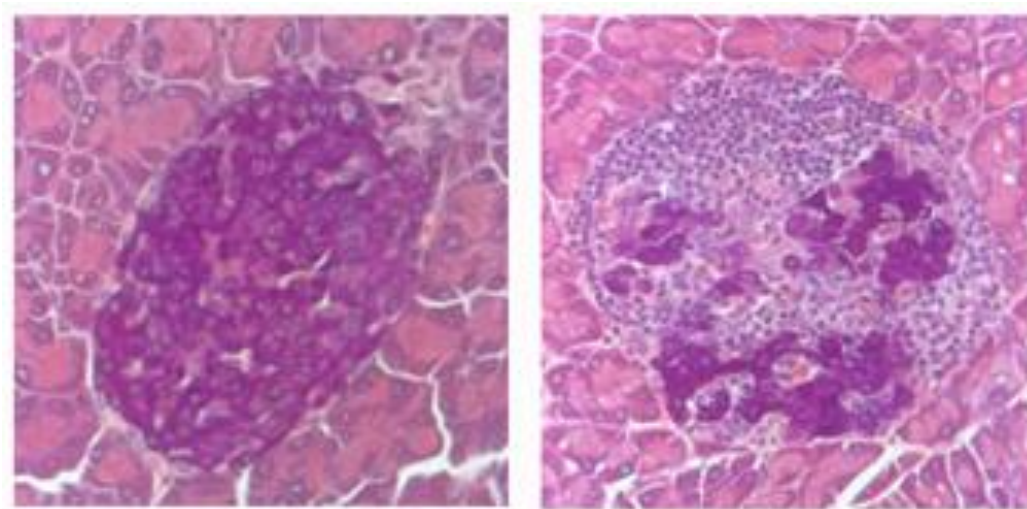
Využití kondiciovaného média pro regeneraci pankreatu

Některé studie naznačují, že kmenové buňky jsou schopné opravit tkáň díky své schopnosti vylučovat trofické faktory, které působí příznivě na poškozené tkáň. Studie o sekrečních faktorech, získaných z kmenových buněk, uvádí, že samotné vylučované faktory, bez

kmenových buněk, mohou opravovat tkáň v různých stavech poškození. Vylučované faktory lze nalézt v médiu, kde se kmenové buňky kultivují, v tzv. kondicionovaném médiu (CM). Používání CM má ve srovnání s použitím kmenových buněk několik výhod, protože může být snadno vyrobeno, zmrazeno, baleno a transportováno. Jelikož neobsahuje buňky, není třeba shody dárce s příjemcem. Proto má CM slibnou perspektivu, že bude vyráběno jako léčivo pro regenerační medicínu. CM může být také alternativou exogenního dodávání inzulínu, protože jeho aplikací můžeme obnovit strukturu a funkci β -buněk [34].

Využití Treg buněk z UCB pro obnovu imunitní tolerance

Buňky pupečnickové krve obsahují velkou populaci Treg buněk (regulačních T-lymfocytů) a různých typů kmenových buněk. Treg buňky mají zásadní úlohu při kontrole autoimunity. Jejich schopnost potlačit nežádoucí imunitní štěp vedla k myšlence použití Treg buněk k buněčné terapii pacientů s DM1. Porucha funkce T-buněk (T-lymfocytů) vede k nedostatečné regulaci autoreaktivních buněk, které ničí β -buňky pankreatických ostrůvků (Obrázek 10). Proto může být terapie, určená k stimulaci aktivity, generování a proliferaci Treg buněk, užitečná pro pacienty s DM1 [34].



Obrázek 10 - Srovnání zdravého Langerhansova ostrůvku (vlevo) s Langerhansovým ostrůvkem napadeným autoreaktivními T-buňkami (vpravo) [36].

Autologní terapie Treg buňkami u pacientů s DM1 je prozatím ve fázi klinických studií [37].

In vitro studie prokázaly, že kmenové buňky získané z UCB se úspěšně diferencují na IPC. Výsledky u zvířecích modelů s DM1 ukazují, že terapií těmito kmenovými buňkami došlo ke snížení hladiny glukózy v krvi, zmírnění insulinity a prodloužení životnosti β -buněk. Mezi

mechanismy, které jsou základem terapie kmenovými buňkami odvozené od UCB v DM1, patří:

inhibice proliferace periferních samoreaktivních diabetogenních T-buněk a zvrát autoimunitní odezvy, čímž se zastaví destrukce β -buněk,
obnova imunitní rovnováhy změnou složení cytokinu nebo buňky,
zachování funkce β -buněk diferenciací kmenových buněk na IPC, podpora regenerace β -buněk a ochrana β -buňky před apoptózou [29].

Hojnost, dostupnost, diferenciační potenciál a imunitní regulační účinek populací kmenových buněk z UCB z nich činí slibný prostředek pro klinické aplikace v léčbě DM1 [29].

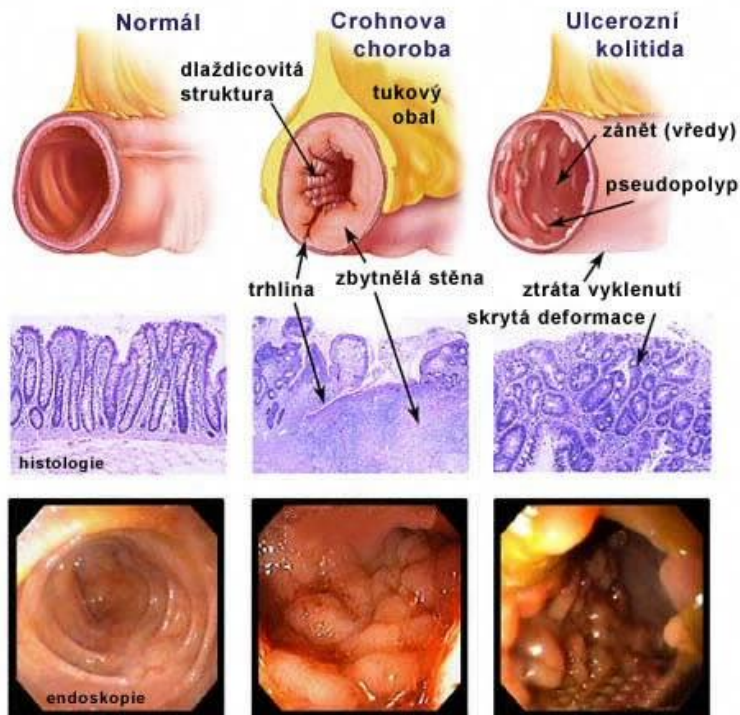
4.2.2. Crohnova choroba

Crohnova choroba (CD) je chronické nespecifické zánětlivé onemocnění střev (IBD), které postihuje celou tloušťku stěny gastrointestinálního traktu a vyžaduje dlouhodobou léčbu. CD může ovlivnit celý gastrointestinální trakt od úst ke konečníku, přičemž nejběžnějšími regiony jsou ileocekální oblast a terminální ileum [38].

Symptomy CD zahrnují průjem, ztrátu hmotnosti, bolest břicha, horečku a rektální krvácení. Onemocnění může být charakterizováno vředy, píštělemi, stenózou a střevními granulomy (Obrázek 11). Navíc tyto pacienti mohou zažívat extraintestinální projevy, jako je artritida, *erythema nodosum*, iritida nebo uveitida, *pyoderma gangrenosum* a aftózní stomatitida [40]. Častou komplikací (30-50 %) jsou perianální píštěle. Mnohé z těchto perianálních píštělí nereagují na terapii [41]. Chirurgický zákrok není vždy dobrou volbou kvůli umístění nebo rozsahu nemoci [42].

Etiologie CD zůstává nejasná, pravděpodobně zahrnuje kombinaci genetických, mikrobiologických a imunologických faktorů. Abnormální střevní imunitní odpověď u geneticky náchylného jedince má za následek střevní léze a strukturální poškození [43].

Aktuální klinické klasifikace pro CD byly navrženy Americkou gastroenterologickou asociací. Píštěle jsou rozlišeny jako jednoduché a složité. Mohou být spojeny s perianálními abscesy, rektální strikturou, proktitidou nebo spojeními s močovým měchýřem nebo vaginou. Výskyt CD je podobný u mužů a žen. Ženy však mají větší komplikace spojené s přilehlou vaginální stěnou a rizikem spojeným s porodem [42].



Obrázek 11 - Srovnání zdravého střeva, Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy [39].

Hlavním cílem léčby je dosažení a udržení remise nemoci. Imunosuprese je hlavní současnou terapií CD. Cyklosporin, potlačující T-buňky, podáván intravenózně, má výborný a rychlý účinek u až 83 % pacientů. Navzdory mnoha nedávným zlepšením, není současná léčba IBD zdaleka uspokojivá. Proto je zapotřebí nových a účinnějších terapeutických přístupů [38, 42].

Klinické studie naznačily, že buněčná terapie na bázi MSC má slibný potenciál pro léčbu IBD. Studie provedené lidskými MSC v myších modelech ukázaly, že MSC jsou účinné při zlepšení závažnosti kolitidy působením protizánětlivého a imunosupresivního účinku. Bylo prokázáno, že autologní nebo alogenní transplantace MSC je proveditelná a bezpečná při léčbě fistulóz u pacientů s refrakterní CD. Ačkoli omezený počet pacientů, analyzovaných v každé studii, neumožňuje přesvědčivou demonstraci účinnosti léčby, získané výsledky naznačují, že terapie založená na MSC má slibný potenciál regenerace tkání a lokálních protizánětlivých účinků při léčbě IBD. Ve snaze zlepšit účinnost léčby MSC se tedy probíhající studie zaměřují na hodnocení optimálního zdroje, správné dávky a cesty podávání MSC. MSC pro buněčnou terapii CD mohou být izolovány a expandovány z několika tkání, včetně kostní dřeně, tukové tkáně a pupečnickové krve [38].

Návrh kombinovaného podávání MSC s lysátem krevních destiček, získaných z pupečnickové krve jako nová strategie ke zlepšení léčby založené na MSC pro rozlišení IBD, získal klinický zájem. Krevní destičky obsahují faktory, které podporují opravu měkkých tkání. Lysát

trombocytů může rovněž nahradit zvířecí sérum pro přípravu MSC určených pro klinické studie [38].

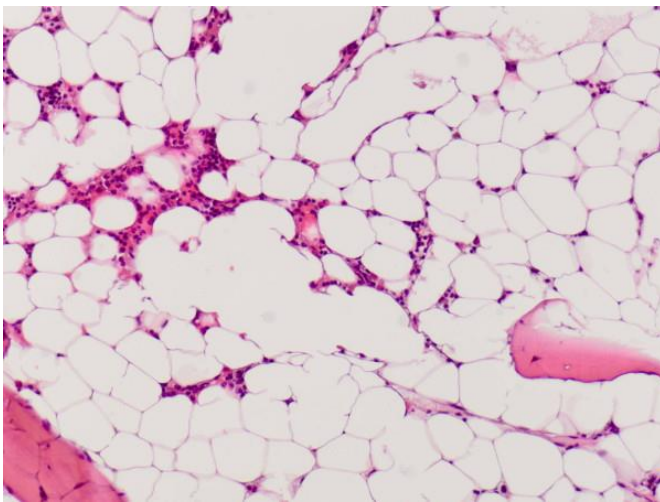
Výsledky studií prokázaly, že MSC mohou být podávány bezpečně a úspěšně topickou injekcí klystýrem. Topická injekce umožňuje přímou dodávku MSC do poškozené oblasti, kde jsou požadovány příznivé účinky. Tyto nálezy jsou klinicky významné, zejména z pohledu použití MSC u těch pacientů, u kterých je CD komplikovaná vývojem píštělí a jejich necitlivostí k současným léčebným postupům. Klinické studie naznačily, že místní injekce MSC v *submucosa* u fistulizujících lézí příznivě ovlivňuje prognózu nemoci [38].

4.3. Poruchy tvorby červených krvinek

Mezi onemocnění krve a kostní dřeně patří častá i vzácná onemocnění, většinou se ale jedná o závažné poruchy, vyžadující specifickou léčbu. Mezi nejčastější onemocnění patří anemie. Transplantace kmenových buněk z pupečnickové krve se jeví jako atraktivní strategie v léčbě onemocnění hematopoetického systému [44].

4.3.1. Aplastická anemie

Aplastická anemie (AA) je závažná život ohrožující porucha kostní dřeně charakterizovaná selháním kostní dřeně. Typickými příznaky jsou pancytopenie, hypoplazie a tuková oka v kostní dřeni (Obrázek 12). AA se považuje za poruchu způsobenou imunitním systémem, který útočí proti hematopoetickým kmenovým a progenitorovým buňkám. AA je onemocnění, u kterého může dojít k rozvinutí v jakémkoli věku, přičemž neléčená závažná AA je smrtelná [45, 46, 47].



Obrázek 12 - Biopsie kostní dřeně, hypocelulární kostní dřeň s velkým množstvím tukových buněk [48].

Transplantace krvetvorných hematopoetických kmenových buněk se považuje za primární léčbu AA. Nedostatek odpovídajících dárců, odmítnutí štěpu a špatná imunitní rekonstituce omezují úspěch transplantací HSC. Pokud není sourozenský dárcce k dispozici, je nutné vyšetřit histokompatibilní dárcce z registru dárců kostní dřeně. UCB je alternativním zdrojem hematopoetických kmenových buněk pro transplantaci [46]. U pacientů bez kompatibilního dárcce byla v klinické praxi jako primární postup použita imunosupresivní terapie (IST) s antithymocytovým globulinem (ATG) a cyklosporinem A (CsA). Bohužel míra recidivy hlášená v těchto případech je vysoká. V jedné ze studií uvádějí, že pacienti, kteří dostávali zvýšený IST plus transfuzi UCB, vykazovali vyšší účinnost léčby a sníženou rychlost relapsu.

V této studii byli dva pacienti s vážnou AA úspěšně léčeni zvýšenou imunosupresivní léčbou kombinovanou s dárcovskou UCB [44, 45].

Mesenchymální kmenové buňky izolované z kostní dřeně, tukové tkáně, pupečnickové krve a různých fetálních tkání jsou dobře známy svou schopností opravit tkáň, podporovat hematopoézu a modulovat imunitní a zánětové odpovědi. Nicméně mechanismy, kterými MSC vykazují své terapeutické účinky, zůstávají neobjasněny [45].

Některé studie uvádí, že alogenní MSC mohou být bezpečně podány v infúzi pacientům s AA a podporují jejich hematopoetické zotavení. Zatímco transfuze MSC může podpořit a zlepšit hematopoézu modulací zánětlivého mikroprostředí a distribucí podtypů T-buněk. Předpokládá se, že nerovnováha buněk T_H1 a T_H2 je zapojena do imunitní zprostředkované destrukce kostní dřeně u pacientů s chronickou AA. Buňky T_H17 byly charakterizovány jako nová podskupina T-buněk sloužících jako imunitní efekторы v různých prostředích včetně zánětu, infekce a autoimunity [45].

Studie popisuje případy 2 pacientů, kteří dostávali zvýšenou transfuzi IST plus nesouvisející transfuze hematopoetických kmenových buněk z UCB. Tito pacienti vykazovali kompletní hematologické zotavení se zvýšenou mírou smíšeného chimerismu a během dvouletého sledovaného období neprokázali žádné známky GVHD nebo relapsu [46].

V jiné studii byly MSC podávány intravenózně 15 pacientům s chronickou AA a výsledky ukázaly, že MSC modulují hladiny T_H1 , T_H2 , T_H17 a Treg buněk, stejně jako cytokiny. Tato studie ukazuje, že transfuze MSC snížila procenta buněk T_H1 a T_H17 a výrazně zvýšila procento Treg buněk v periferní krvi. Analýza provedená jeden měsíc po transfuzi MSC ukázala, že hladina hemoglobinu v séru se významně zvýšila [45].

V jiné studii byla pacientům poskytnuta zvýšená imunosupresivní léčba a jako podpůrná terapie byla použita transfuze UCB. Pacienti rychle dosáhli rekonstituce hematopoézy, celková míra přežití 3 let byla 92 %. Léčba byla označena jako intenzivní IST v kombinaci s transfuzí UCB [46].

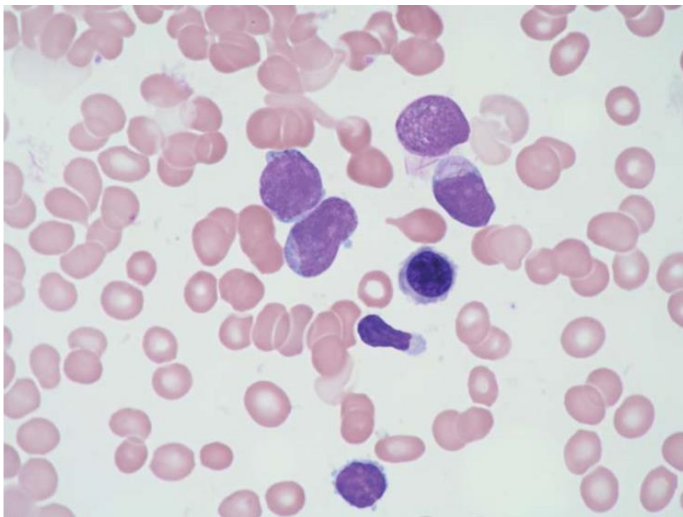
Zesílená imunosupresivní terapie kombinovaná s transfuzí UCB může být klinickou možností pro pacienty, u kterých chybí vhodný donor s HLA-shodou a mohou zvýšit míru odpovědi IST [46].

4.4. Leukemie

Pojem leukemie popisuje maligní onemocnění hematopoézy, které vzniká na úrovni hematopoetické kmenové buňky. Je charakterizováno nekontrolovanou proliferací leukemických blastů v kostní dřeni a ztrátou přirozené krvetvorby. Leukemie se liší svým klinickým průběhem, biologickými vlastnostmi, prognózou a terapií. V současnosti je nejlepších terapeutických výsledků dosahováno při léčbě akutní lymfoblastové leukemie dětského věku a akutní promyelocytární leukemie, kdy 90 % pacientů přežívá pomyslnou hranici pěti let. Avšak u některých typů leukemií, jako například u akutní myeloidní leukemie (Obrázek 13) starších pacientů (věk nad 60 let) přežívá pětiletou hranici pouze 15 % nemocných [49].

Leukemie dělíme podle postupu a vývoje buněk na akutní a chronické, a podle typu leukemických blastů na myeloidní a lymfoblastické leukemie.

Příznaky leukemií bývají obvykle nespecifické. Časté jsou projevy anemického syndromu, znaky trombocytopenie, jako jsou drobná kožní krvácení a snadná tvorba modřin, infekce jako projev neutropenie a leukocytóza nad $50\,000 \times 10^9$ leukocytů/l krve. Předpokladem úspěšné léčby je včasná diagnostika [49].



Obrázek 13 - Akutní myeloidní leukemie, nátěr aspirátu kostní dřene [49].

Přirození zabíječi (NK buňky) jsou již dlouho považovány za potenciální kandidáty pro imunoterapii a jejich všestrannost je činí atraktivními buňkami pro jejich prozkoumání. UCB je velmi zajímavým zdrojem pro buněčnou terapii při zvažování terapie NK buněk, a to díky přímé dostupnosti materiálu a vysoké prevalenci NK buněk v UCB [50, 51].

NK buňky jsou lymfocyty vrozeného imunitního systému, které vykazují cytotoxicitu vůči infikovaným nebo nádorovým buňkám. Lidské NK buňky představují 10-15 % lymfocytů periferní krve a 15-30 % lymfocytů pupečnickové krve. Mají schopnost produkovat cytokiny jako interferon- γ (IFN- γ) a tumor nekrotizující faktor- α (TNF- α) v reakci na podněty [50, 51].

Na potenciál NK buněk jako kandidátů na léčbu rakoviny bylo poprvé poukázáno v kontextu haploidentické transplantace, kde byly spojeny se sníženým selháním štěpu, snížením GVHD, relapsem a zvýšením celkového přežití. Funkce NK buněk jsou regulovány signály vysílanými prostřednictvím aktivačních a inhibičních receptorů. Na rozdíl od T-buněk jsou NK buňky schopny eliminovat cílové buňky bez předchozí stimulace. Nicméně stimulace NK buněk cytokiny vede k jejich aktivaci a podpoře funkce, zejména zvýšená cytolytická aktivita a proliferace [50, 51].

Potenciální vliv aloreaktivity NK buněk na transplantaci hematopoetických kmenových buněk navrhl americký doktor Nicholas Valiante. První důkaz, že by alogenní NK buňky mohly mít silnou antileukemickou aktivitu a dopad na výsledek haploidentické transplantace, vyplývá z italské studie, ve které připisují NK buňkám veškerou reaktivitu proti leukemickým buňkám a současně snížení rizika GVHD [52]. Jiné studie ukázaly, že samotné alogenní NK buňky mohou být zaměřeny na různé typy rakoviny, jako je akutní myeloidní leukemie, melanom, karcinom ledvinových buněk, Hodgkinův lymfom nebo karcinom prsu a vaječníků [50].

Je zajímavé, že NK buňky jsou prvními lymfocyty, které se obnovují po transplantaci HSC, včetně transplantace pupečnickové krve. Kromě toho jsou NK buňky klíčovými efekty účinnosti štěpu proti leukemii [50].

Imunoterapie je slibná léčba různých typů nádorů. UCB poskytuje zřetelné výhody a je stále atraktivnějším zdrojem pro HSCT a buněčnou terapii. NK buňky vykazovaly velký potenciál při odstraňování různých typů rakovinných buněk *in vitro* a na zvířecích modelech. V současnosti probíhá několik klinických studií, jejichž cílem je vyhodnotit bezpečnost a proveditelnost použití NK buněk UCB jako produktu pro prevenci relapsu. Výsledky těchto studií pomohou pochopit, jak maximalizovat prospěšný potenciál NK buněk UCB v léčbě hematologických malignit a jiných nádorů [50].

5. Závěr

Využití kmenových buněk z pupečnickové krve má ohromný potenciál. Díky jejich schopnosti diferenciaci a sekrece mnoha trofických faktorů, které napomáhají regeneraci tkání, se z nich stává velmi důležitý zdroj buněčné terapie. Potenciální výhody lidských kmenových buněk z pupečnickové krve pro léčbu a regeneraci jsou stále více zpracovávaným námětem klinických studií a více uznávány. Mechanismy funkčního zotavení organismu jsou cílem mnoha současných studií renomovaných vědeckých týmů. Nevýhodou pupečnickové krve, jako zdroje kmenových buněk, je malý objem, a tudíž i malý počet kmenových buněk. I přes různé kontrolované proliferace kmenových buněk, se začíná upřednostňovat výzkum kmenových buněk z tkáně pupečníku. Mezi pupečnickovými cévami je obrovské množství využitelných mesenchymálních kmenových buněk. Tyto buňky mají stejný diferenciací potenciál jako kmenové buňky pupečnickové krve. Jak uvádí tato práce, využití kmenových buněk je významné jak v regeneraci kostní dřeně, hematopoézy a mozkové tkáně, tak i v podpůrné léčbě autoimunitních onemocnění.

Odborníci v oboru tkáňového inženýrství, vývoji buněčných terapií a výzkumu využití kmenových buněk říkají: „Co platí dnes, nemusí platit zítra.“ Tak rychle progreduje výzkum a znalosti využití kmenových buněk, které mají do budoucna obrovský terapeutický potenciál.

Použitá literatura

- [1] S. Filip, I. Hruška a J. Mokry. Kmenové buňky: biologie, medicína, filozofie. Galén, Praha, 2006, 223s.
- [2] K. Smetana. Editorial - Kmenové buňky, *Kontakt*, 3, 251-254, 2010.
- [3] Interní materiály Cord blood center, Pupečnicková krev - její význam, získávání a využití, Praha.
- [4] H. Ma, Y. Yang a M. Ma. Totipotent of stem cell, *Stem Cell*, 34, 1-5, 2012.
- [5] M. Čedíková, K. Krakorová, M. Miklíková, M. Hronová, A. Balandová, P. Pitule a M. Králíčková. On-line atlas různých typů kmenových buněk a vybraných diferenciacních postupů. 2012. Dostupné z: https://www.lfp.cuni.cz/histologie/education/guides/On-line_atlas_kmenovych_bunek.pdf. [10. 3. 2017].
- [6] Institute of cell therapy. Dostupné z: <http://www.stemcellclinic.com/main-en/klinika/kletochnaya-terapiya/?lang=en>. [27. 3. 2017].
- [7] M. Huser a M. Peterenko. Kmenové buňky v gynekologii a porodnictví, *Praktická gynekologie*, 3, 15-18, 2004.
- [8] Regenerative Medicine. All Things Stem Cell, 2006. Dostupné z: <http://www.allthingsstemcell.com/category/hematopoietic-stem-cells/>. [1. 4. 2017].
- [9] A. Sakálová, A. Bátorová, M. Hrubíško a M. Mistrík. Klinická hematologie, Osveta, Martin, 2011, 312s.
- [10] J. Kenneth a J. Moise. Umbilical cord stem cells, *Obstetrics & Gynekology*, 6, 1393-1407, 2005.
- [11] P. Sedláček a P. Říha. Alogenní transplantace kmenových buněk v léčbě maligních onemocnění krvinek u dětí, *Onkologie*, 3, 121-123, 2014.
- [12] C. F. Boerkoel III. Klinické případy ilustrující genetické principy, *Klinická genetika*, TRITON, Praha, c2004, IV-V.

- [13] H. J. Lee, J. K. Lee, H. Lee, J. E. Carter, T. Sakamoto, H. K. Jin, J. S. Bae a J. W. Shin. The therapeutic potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in Alzheimer's disease, *Neuroscience Letters*, 481, 30-35, 2010.
- [14] D. H. Kim, D. Lee, E. H. Chang, J. H. Kim, J. Y. Kim, J. W. Kyung, S. H. Kim, J. S. Oh, S. M. Shim, D. L. Na, V. Oh a J. W. Chang. GDF-15 secreted from human umbilical cord blood mesenchymal stem cells delivered through the cerebrospinal fluid promotes hippocampal neurogenesis and synaptic activity in an Alzheimer's disease model, " *Stem Cells and Development*, 20, 2378-2390, 2015.
- [15] M.-H. Fu, C.-L. Li, H.-L. Lin, P.-C. Chen, M. J. Calkins, Y.-F. Chang, P.-H. Cheng a S.-H. Yang. Stem cell transplantation therapy in Parkinson's disease, *SpringerPlus*, 597, 1-8, 2015.
- [16] I. R. Mackenzie. The pathology of Parkinson's disease, *BC Medical Journal*, 3, 142-147, 2001.
- [17] C. Chen, J. Duan, A. Shen, W. Wang, H. Song, Y. Liu, X. Lu, X. Wang, Z. You, Z. Han a F. Han. Transplantation of human umbilical cord blood-derived mononuclear cells induces recovery of motor dysfunction in a rat model of Parkinson's disease, *Journal of Neurorestoration*, 4, 23-33, 2016.
- [18] A. Kułak-Bejda, P. Kułak, G. Bejda, E. Krajewska-Kułak a W. Kułak. Stem cells therapy in cerebral palsy: A systematic review, *Brain & Development*, 38, 699-705, 2016.
- [19] Y. A. Romanov, O. P. Tarakanov, S. M. Radaev, T. N. Dugina, A. A. Ryaskina, A. N. Darevskaya, Y. V. Morozova, W. A. Khachatryan, K. E. Lebedev, N. S. Zotova, A. S. Burkova, G. T. Sukhikh a V. N. Smirnov. Human allogeneic AB0/Rh-identical umbilical cord blood cells in the treatment of juvenile patients with cerebral palsy, *Cytotherapy*, 17, 969-978, 2015.
- [20] K. Min, J. Song, J. Y. Kang, J. Ko, J. S. Ryu, M. S. Kang, S. J. Jang, S. H. Kim, D. Oh, M. K. Kim, S. S. Kim a M. Kim. Umbilical cord blood therapy potentiated with erythropoietin for children with cerebral palsy: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial, *Stem Cells*, 31, 581-591, 2013.

- [21] I. Novak, K. Walker, R. W. Hunt, E. M. Wallace, M. Fahey a N. Badawi. Concise review: stem cell interventions for people with cerebral palsy: systematic review with meta-analysis, *Stem Cells*, 5, 1014-1025, 2016.
- [22] R. Palisano. Cerebral Palsy Alliance, 1997. Dostupné z: <https://www.cerebralpalsy.org.au/what-is-cerebral-palsy/severity-of-cerebral-palsy/gross-motor-function-classification-system/>. [26. 4. 2017].
- [23] Y.-H. Lee, K. V. Choi, J. H. Moon, H.-J. Jun, H.-R. Kang, S.-I. Oh, H. S. Kim, J. S. Um, M. J. Kim, Y. Y. Choi, Y.-J. Lee, H.-J. Kim, J.-H. Lee, S. M. Son, S.-J. Choi, W. Oh a Y.-S. Yang. Safety and feasibility of countering neurological impairment by intravenous administration of autologous cord blood in cerebral palsy, *Journal of Translational Medicine*, 58, 1-11, 2012.
- [24] Y. Wang, X. Ji, R. K. Leak, F. Chen a G. Cao. Stem cell therapies in age related neurodegenerative diseases and stroke, *Ageing Research Reviews*, 34, 39-50, 2017.
- [25] J. Yoo, H.-S. Kim, J.-J. Seo, J.-H. Eom, S.-M. Choi, S. Park, D.-W. Kim a D.-Y. Hwang. Therapeutic effects of umbilical cord blood plasma in a rat model of acute ischemic stroke, *Oncotarget*, 48, 79131-79140, 2016.
- [26] UF Health Shands Comprehensive Stroke Center. University of Florida Health. Dostupné z: <https://com-neurology-stroke.sites.medinfo.ufl.edu/for-patients/types-of-stroke/>. [30. 5. 2017].
- [27] Y. C.-Y. Hsuan, C.-H. Lin, C.-P. Chang a M.-T. Lin. Mesenchymal stem cell- based treatments for stroke, neural trauma, and heat stroke, *Brain and Behavior*, 10, 1-11, 2016.
- [28] L. Huang, Y. Liu, J. Lu, B. Cerqueira, V. Misra a T. Q. Duong. Intraarterial transplantation of human umbilical cord blood mononuclear cells in hyperacute stroke improves vascular function, *Stem Cell Research & Therapy*, 74, 2017.
- [29] B. He, X. Li, H. Yu a Z. Zhou. Therapeutic potential of umbilical cord blood cells for type 1 diabetes mellitus, *Journal of Diabetes*, 7, 762-773, 2015.

- [30] P. V. Pham, P. T.-M. Nguyen, A. T.-Q. Nguyen, V. M. Pham, A. N.-T. Bui, L. T.-T. Dang, K. G. Nguyen a N. K. Phan. Improved differentiation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells into insulin-producing cells by PDX-1 mRNA transfection, *Differentiation* , 87, 200-208, 2014.
- [31] A. V. Vanikar, H. I. Trivedi a U. G. Thakkar. Stem cells therapy emerging as the key player in treating type 1 diabetes mellitus, *Cytotherapy*, 18, 1077-1086, 2016.
- [32] I. D. Federation. Online version of IDF Diabetes Atlas. International Diabetes Federation, 2015. Dostupné z: <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas.html>. [15. 5. 2017].
- [33] R. Calafiore a G. Basta. Stem cells for the cell and molecular therapy of type 1 diabetes mellitus (T1D): the gap between dream and reality, *American Journal of Stem Cells*, 4, 22-31, 2015.
- [34] W. S. Nugroho, D. L. Kusindarta, H. Susetya, I. Fitriana, G. T. Mulyani, Y. H. Fibrianto, A. Haryanto a T. Budipitojo. The structural and functional recovery of pancreatic β -cells in type 1 diabetes mellitus induced mesenchymal stem cell-conditioned medium, *Veterinary World*, 5, 535-539, 2016.
- [35] D. M. Abd-Elhalim a Y. M. El-Wazir. Do the human umbilical cord blood CD34+ progenitor cells home in the pancreas and kidney of diabetic mice, *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 1, 70-74, 2016.
- [36] T. Kojaoghlanian. Researchers engineer pancreatic cell transplants to evade immune response, 2008. Dostupné z: <http://www.einstein.yu.edu/news/releases/279/researchers-engineer-pancreatic-cell-transplants-to-evade-immune-response/>. [15. 5. 2017].
- [37] A. Theil, C. Wilhelm, E. Guhr, J. Reinhardt a E. Bonifacio. The relative merits of cord blood as a cell source for autologous t regulatory cell therapy in type 1 diabetes, *Hormone and Metabolic Research*, 1, 48-55, 2015.

- [38] D. Forte, M. Cicarello, M. C. Valerii, L. De Fazio, E. Cavazza, R. Giordano, V. Parazii, L. Lazzari, S. Laureti, F. Rizzello, M. Cavo, A. Curti, R. M. Lemoli, E. Spisni a L. Catani. Human cord blood-derived platelet lysate enhances the therapeutic activity of adiposederived mesenchymal stromal cells isolated from Crohn's disease patients in a mouse model of coliti, *Stem Cell Research & Therapy*, 170, 1-16, 2015.
- [39] Crohnova choroba. 2008. Dostupné z: <http://www.zdravi4u.cz/telo-organy/travici-ustroji/5558-crohnova-choroba>. [23. 5. 2017].
- [40] C. A. DiNicola, A. Zand a D. W. Hommes. Autologous hematopoietic stem cells for refractory Crohn's disease, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 5, 555-564, 2017.
- [41] J. Panés, D. García-Olmo , G. Van Assche a další. Allogenic adipose derived stem cells present a potential novel approach for treating refractory fistulizing Crohn's disease, *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 27, 568-569, 2016.
- [42] K. A. Kelley, T. Kaur a V. L. Tsikitis. Perianal Crohn's disease: challenges and solutions, *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 10, 39-46, 2017.
- [43] M. Xie, H. Qin, Q. Luo, X. He, X. He, P. Lan a L. Lian. Comparison of adipose-derived and bone marrow mesenchymal stromal cells in a murine model of Crohn's disease, *Digestive Diseases and Sciences*, 62, 115-123, 2017.
- [44] B. Bielec a R. Stojko. Stem cells of umbilical blood cord – therapeutic use, *Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej*, 69, 853-863, 2015.
- [45] H. Li, L. Wang, Y. Pang, Z. Jian, Z. Liu, H. Xiao, H. Chen, X. Ge, H. Lan a Y. Xiao, In patients with chronic aplastic anemia, bone marrow-derived MSCs regulate the Treg/Th17 balance by influencing the Notch/ RBP-J/FOXP3/ROR γ t pathway, *Scientific Reports*, 42488, 1-10, 2017.
- [46] L.-N. Xie a F. Zhou. Unexpected unrelated umbilical cord blood stem cell engraft in two patients with severe aplastic anemia that received immunosuppressive treatment: A case report and literature review, *Experimental and therapeutic medicine*, 10, 1563-1565, 2015.

- [47] C. Luan, R. Chen, B. Chen, J. Ding a M. Ni. Umbilical cord blood transplantation supplemented with the infusion of mesenchymal stem cell for an adolescent patient with severe aplastic anemia: a case report and review of literature, *Patient Preference and Adherence*, 9, 759-765, 2015.
- [48] K. J. Stibbe, H. I. Wildschut a P. J. Lugtenburg. Management of aplastic anemia in a woman during pregnancy: A case report. 2011. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/49838786_fig1_Hypocellular-bone-marrow-showed-only-a-little-hematopoiesis-and-many-fat-cells. [26. 5. 2017].
- [49] C. Šálek. Diagnostika a léčba akutních leukemií, *Interní medicína pro praxi*, 10, 366-372, 2012.
- [50] A. Sarvaria, D. Jawdat, A. J. Madrigal a A. Saudemont. Umbilical cord blood natural killer cells, their characteristics, and potential clinical applications, *Frontiers in Immunology*, 329, 1-6, 2017.
- [51] A. Saudemont a A. J. Madrigal. Immunotherapy after hematopoietic stem cell transplantation using umbilical cord blood-derived products, *Cancer Immunol Immunother*, 66, 215-221, 2017.
- [52] L. Ruggeri, M. Capanni, E. Urbani, K. Perruccio, W. D. Shlomchik, A. Tosti, S. Posati, D. Rogaia, F. Frassoni, F. Aversa, M. F. Martelli a A. Velardi. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants, *Science*, 5562, 2097-2100, 2002.
- [53] Velký lékařský slovník, Maxdorf. Dostupné z: <http://lekarske.slovníky.cz/lexikon-pojem/intratekalni-3>. [4. 4. 2017].
- [54] Velký lékařský slovník, Maxdorf. Dostupné z: <http://lekarske.slovníky.cz/pojem/paliativni>. [24. 4. 2017].
- [55] J. Mraček, I. Holečková, P. Lavička, J. Mork, D. Štěpánek, P. Štruncová a V. Červený. Vliv neuroprotektce na mozkové metabolické parametry při karotivkové endarterektomii, *Časopis lékařů českých*, 9, 489-493, 2011.