

Typy kmeňových buniek potenciálne využiteľných pri hojení chronických diabetických rán

MUDr. Alexander Hudák, MUDr. Lucia Lakyová, PhD., prof. MUDr. Jozef Radoňak, CSc.

I. chirurgická klinika, LF UPJŠ a UN L. Pasteura, Košice

Neustála snaha o zdokonalenie a urýchlenie hojenia chronických, často diabetických rán posúva liečbu do oblasti cieľeného ovplyvnenia biochemických a patofyziologických procesov prebiehajúcich pri hojení rany. Tieto deje je možné ovplyvniť použitím rôznych rastových faktorov, acelulárnych náhrad alebo priamo využitím rôznych typov buniek. Obzvlášť kmeňové bunky produkciou rôznorodých látok môžu komplexne ovplyvniť prostredie rany a napomôcť pri urýchlení hojenia. Hoci sa v experimentoch skúšajú viaceré typy kmeňových buniek s rôznym efektom, začínajú sa už aplikovať aj v klinickej praxi. Doposiaľ ale nie je známy presný mechanizmus účinku a dlhodobé výhody a nevýhody tejto metodiky. Množstvo veľkých klinických štúdií by malo v budúcnosti preukázať potenciál takto cielenej terapie.

Kľúčové slová: kmeňové bunky, diabetes mellitus, chronická rana.

Types of stem cells potentially available in chronic diabetic wound treatment

There is a constant endeavour to improve and accelerate the healing of chronic, often diabetic wounds. This moves the treatment towards the aim of affecting the biochemical and pathophysiological processes included in wound healing. These processes can be manipulated by usage of different growth factors, acellular scaffolds or directly by usage of different cell types. Especially stem cells with their production of wide variety of substances can affect wound bed environment and help to speed-up healing process. Several types of stem cells have been used in different experiments with appropriate results. Although there are some clinical trials, the exact mechanism of their function and long-term effects are not known till now. Only the future clinical trials will show us the potentiation of such a therapy.

Key words: stem cells, diabetes mellitus, chronic wound.

Slov. chir., 2014; roč. 11(4): 132–135

Úvod

Medzi najčastejšie chronické komplikácie u pacientov s diabetes mellitus patria dlhodobó nehojace sa rany, až syndróm diabetetickej nohy. U týchto pacientov sa postupne prejaví celé spektrum poškodenia tkanív ako angiopatia, neuropatia, zhoršená schopnosť organizmu reagovať na prebiehajúcu infekciu a spomalená reparácia postihnutých tkanív.

V súčasnom období existuje veľké množstvo terapeutických prostriedkov na podporu a urýchlenie hojenia rán, obzvlášť chronických, často diabetických. Jedným z nich je aj využitie kmeňových buniek. Existuje viacero štúdií skúmajúcich možnosti využitia rôznych druhov kmeňových buniek, fibroblastov a keratinocytov (1). Tieto terapie sa javia ako sľubná modalita zameraná na podstatné patofyziologické deje odohrávajúce sa pri hojení rán. Ukazuje sa, že kmeňové bunky majú schopnosť mobilizácie a usídlenia sa v ischemických a poranených tkanivách, kde secernujú cytokíny a rastové faktory podporujúce angiogénu, remodeláciu extracelulárnej matrix a vytvárajú prostredie vhodné na hojenie rany (2).

Kmeňové bunky

Diferencované bunky majú obmedzenú, často krátku životnosť, a preto musia byť po uplynutí určitého času nahradené. Táto obnova prebieha proliferáciou niektorých bunkových

subpopulácií – kmeňových buniek. Sú to nediferencované bunky, ktoré majú možnosť sa neustále obnovovať a v priebehu vzniku, vývoja a počas života organizmu z nich vznikajú diferencovanejšie bunky, ktoré plnia v organizme špecifické funkcie. Jediný prirodzený spôsob ako vznikne špecializovaná bunka je jej diferenciácia z kmeňovej bunky (3).

Systematické štúdium kmeňových buniek začali práce Tilla a McCullocha v šesťdesiatych rokoch minulého storočia (4 – 6). Termín „krvné kmeňové bunky“ (*stem cells in blood*) bol použitý prvýkrát v roku 1962 Goodmanom a Hodgsonom, ktorí definovali vzťah týchto buniek k obnove krvotvorby u myší po celotelovom ožiarení (7). Dnes je jasné, že kmeňové bunky sa nachádzajú vo viacerých, ak nie vo všetkých tkanivách u dospelých ľudí a prispievajú k obnove tkanív a udržaniu homeostázy (8). Sú prítomné nielen v tkanivách dospelého organizmu, v ktorých sa neustále tvorí veľké množstvo nových buniek, ale aj v tkanivách s pomalou obnovou (9).

Hierarchicky podľa schopnosti vytvárať rôzne druhy buniek môžeme kmeňové bunky rozdeliť na totipotentné, pluripotentné, multipotentné a unipotentné (progenitorové). Za totipotentnú bunku je považovaná zygota a bunky vznikajúce pri jej prvých deleniach. Zygotu však nepokladáme za kmeňovú bunku, keďže nemá schopnosť

sebaobnovy (9). Potomkami totipotentných buniek sú pluripotentné kmeňové bunky, ktoré majú schopnosť premeny na akúkoľvek bunkovú líniu okrem totipotentných a extraembryonálnych. Produkujú veľké množstvo bunkových fenotypov. Príkladom môžu byť mezenchymálne kmeňové bunky. Multipotentné kmeňové bunky sú tkanivovo-špecifické bunky, z ktorých môžu vzniknúť len určité bunkové línie. Medzi multipotentné kmeňové bunky patria hematopoetické kmeňové bunky, ktoré sú prekursorom pre všetky krvné bunkové línie. Progenitorové alebo unipotentné kmeňové bunky umožňujú vznik len jedného typu buniek.

Proliferačná aktivita kmeňových buniek v priebehu embryonálneho vývoja prispieva k zväčšovaniu celkového počtu buniek a rastu organizmu. Z experimentálnych výsledkov bolo odvodnené, že hlavnými úlohami kmeňových buniek v dospelých tkanivách je udržať konštantný počet diferencovaných buniek v tkanive, náhrada odumretých buniek a zaistenie homeostázy. Ich charakteristickým rysom je produkcia ako kmeňových buniek, tak buniek určených na terminálnu diferenciáciu – asymetrická replikácia (9).

Rozdelenie kmeňových buniek

Podľa zdroja získania kmeňových buniek vo vzťahu k pacientovi ich môžeme rozdeliť na alogénne a autológne. Alogénne kmeňové

bunky zahŕňajú embryonálne kmeňové bunky (*embryonal stem cells* – ESCs) a mezenchymálne kmeňové bunky derivované z amnia alebo placenty. Autológne kmeňové bunky sa vyskytujú v kostnej dreni, rozličných tkanivách, ale aj cirkulujúce v krvi. Medzi autológne bunky derivované z kostnej drene patria: endotelové progenitorové bunky (*endothelial progenitor cells* – EPCs), mezenchymálne kmeňové bunky (*bone-marrow derived mesenchymal stem cells* – BM-MSCs) a hematopoetické kmeňové bunky (*hematopoietic stem cells* – HSCs). Z iných tkanív sa dajú izolovať napríklad mezenchymálne kmeňové bunky derivované z tukového tkaniva (*adipose tissue-derived stromal cells* – AT-SCs) (2). Spomedzi cirkulujúcich kmeňových buniek sú v liečbe diabetických komplikácií dosiaľ najdôležitejšie endotelové progenitorové bunky a mezenchymálne kmeňové bunky.

Embryonálne kmeňové bunky

Embryonálne kmeňové bunky (ESCs) sú pluripotentné, sebaobnovujúce sa bunky derivované z vnútornej masy *in vitro* oplodnených embryí. ESCs sa dajú uložiť vo forme nediferencovaných bunkových línií a môžu byť indukované na diferenciáciu na akúkoľvek bunkovú líniu (10). Pri pokuse na potkanoch s indukovaným diabetom, Lee et al., demonštrovali urýchlené hojenie excízných rán pri topickej aplikácii nediferencovaných ESCs (11). V takto liečených ranách bolo v porovnaní s neliečenými ranami opísané zvýšenie hladín rastových faktorov, obzvlášť epidermálneho rastového faktora (EGF), vaskulárneho, endotelového faktora (VEGF), fibronektínu a ďalších faktorov zapojených do procesu hojenia rán (12). Nedostatok klinických štúdií na ľudských diabetických ranách súvisí s kontroverzným zdrojom získavania týchto buniek, a to zo znehodnotených *in vitro* oplodnených embryí. Pri pokračovaní vo výskume a širšom využívaní týchto typov buniek vyvstáva viacero etických, ale aj imunologických prekážok a nedoriešených otázok.

Kmeňové bunky z placenty, pupočníka a pupočníkovej krvi

Ľudská placenta, pupočník a pupočníková krv sú zdrojom, z ktorého môžu byť jednoducho získané hematopoetické kmeňové bunky, ako aj pluripotentné mezenchymálne kmeňové bunky (13 – 15). Podobným zdrojom mezenchymálnych kmeňových buniek (*mesenchymal stem cells* – MSCs) môže byť aj amniová tekutina (16). Tieto bunky je relatívne jednoduché získať a majú unikátny diferenciálny potenciál, čo ich pred-

určuje na využitie v regeneračných terapiách. Boli využité v mnohých animálnych štúdiách zameraných na regeneráciu viacerých tkanív (2). Napríklad MSCs derivované z pupočníkovej krvi boli aplikované do kožných rán, kde preukázali urýchlenie hojenia takýchto rán u myši (17). Tark et al., vykonali podobný pokus na diabetických myšiach, keď opísali urýchlené hojenie rán po lokálnom injikovaní MSCs derivovaných z ľudskej pupočníkovej krvi (18).

Mezenchymálne kmeňové bunky

Mezenchymálne kmeňové bunky (MSCs), tiež známe ako multipotentné mezenchymálne stromálne bunky, sú podskupinou buniek, ktoré sa nachádzajú hlavne v kostnej dreni (BM-MSCs), ale aj v iných fetálnych alebo dospelých tkanivách (19). Napríklad v amniovej tekutine, pupočníkovej krvi, tukovom tkanive, synoviálnej tekutine, traumatizovanom svalu a kompaktnej kosti (20). Nachádzajú sa tiež v solídnych orgánoch ako pečeň, slezina alebo pľúca (15).

Funkčnou charakteristikou MSCs je ich kapacita pre sebaobnovovanie, schopnosť diferenciácie na tkanivá mezodermálneho pôvodu a imunomodulačná schopnosť (21). Zdá sa, že *in vivo* podporujú regeneráciu mnohých tkanív ako dôsledok rôznych trofických mechanizmov, ktoré sa aktivujú, keď sú bunky vystavené biochemickým faktorom charakteristickým pre prostredie rany (22). MSCs vykazujú obrovský terapeutický potenciál, pretože okrem ich schopnosti diferencovať sa na sval, nervové prekursor, kardiomyocyty a iné typy buniek sú schopné migrovať a usídiť sa v poškodených tkanivách. Tu regenerujú tkanivo, vylučujú rastové faktory, parakrinne mediátory, a navyše, interagujú s imunitným systémom, obzvlášť dendritickými bunkami, T lymfocytmi a NK bunkami. Výsledkom tejto interakcie je inhibícia TNF- α a INF- γ a vzostup antiinflatórného cytokínu interleukínu-10 (IL-10) (23). Vedia sa vyhnúť alebo aktívne potlačiť imunologické odpovede spôsobujúce rejekciu transplantovaných buniek. Vďaka imunomodulačným schopnostiam sa MSCs môžu využívať ako alogénne aj ako autológne transplantáty (24). MSCs sú schopné podporovať angiogézu *in vivo* aj *in vitro* (15). Kinnaird et al., demonštrovali schopnosť MSCs secernovať veľké množstvo arteriogénnych a angiogénnych cytokínov, ktoré prispievajú k remodelácii ischemickej končatiny cez parakrinne pôsobenie (25).

Na rozdiel od amniálnych alebo placentárnych MSCs je získavanie kmeňových buniek z kostnej drene invazívne a technicky, ale aj finančne náročnejšie (2). Tento proces zahŕňa

ich aspiráciu, oddelenie a starostlivosť o rast. Kvalita takto odobratých buniek od diabetikov môže byť znížená, čo bolo opísané v experimente s odberom BM-MSCs od diabetických potkanov. Jin et al., zistili pri takto odobratých MSCs ich značne porušenú proliferáciu a diferenciáciu schopnosť, zmenené vylučovanie cytokínov a schopnosť odolávať apoptóze (26).

Systémové aj lokálne podanie MSCs zlepšuje hojenie diabetických rán u potkanov a myši. Dochádza k zvýšenej produkcii rastových faktorov (EGF, PDGF, VEGF) a kolagénu s následkom zvýšenia pevnosti rany v ťahu (27). Použitie MSCs získaných z kostnej drene preukázalo účinnosť pri hojení chronických rán tak pri pokusoch na myšiach, ako aj pri aplikácii u ľudí (28). Viacerí autori s úspechom skúmali aj využitie BM-MSCs v experimente pri liečbe končatinovej ischémie (2).

Endotelové progenitorové bunky

Endotelové progenitorové bunky (EPCs) sú charakterizované expresiou CD34, VEGFR-2 (vascular endothelial growth factor receptor 2) a CD133, ktorý sa nachádza na primitívnych bunkách, no nie na diferencovaných (29). EPCs môžu byť izolované z ľudskej periférnej a pupočníkovej krvi, ale aj z aspirátu kostnej drene. Endotelové progenitorové bunky z kostnej drene (BM-EPCs – *bone-marrow derived endothelial progenitor cells*) sú atraktívnym kandidátom na využitie v regeneračnej medicíne pre svoju dôležitosť v angiogéze a revascularizácii rany. BM-EPCs sa do krvného obehu dostávajú ako reakcia na poškodenie tkaniva alebo jeho ischémii. Z krvného obehu sa presúvajú na miesto poškodenia tkaniva, usídľujú sa tu a podporujú hojenie a angiogézu (30). Podobne ako MSCs, tieto bunky secernujú aj parakrinne pôsobiace mediátory ako interleukíny, rastové faktory a chemokíny, ktoré spoločne regulujú CD14+ bunky, urýchľujú tvorbu ciev a urýchľujú hojenie (31). Avšak EPCs získané od diabetických pacientov vykazujú znížený proliferatívny potenciál (32). *In vitro* vykazovali redukovanú schopnosť integrácie do rúrok endotelových buniek, v porovnaní s EPCs od nediabetických pacientov (15). Týmto sa stávajú diabetickí pacienti s periférnymi vaskulárnymi komplikáciami ťažšie liečiteľnými týmto typom autológnych kmeňových buniek.

Hematopoetické kmeňové bunky

Najširšie zastúpenie spomedzi buniek kostnej drene majú hematopoetické kmeňové bunky. HSCs môžu byť získavané ako z kostnej drene, tak z periférnej krvi po podaní stimulačného rastového faktora GM-CSF (*granulocyte macrophage*

colony-stimulating factor), vďaka ktorému sa mobilizujú z kostnej drene. Tento typ kmeňových buniek bol dokonca získaný aj z pupečnicovej krvi (33). Pre HSCs je typický povrchový znak CD34+. Tak ako ostatné bunky kostnej drene, aj tieto boli s dobrým efektom vo viacerých štúdiách využité pri podpore hojenia diabetických rán (34, 35). Môžu ovplyvniť aj zápalovú, aj proliferáciu fázu hojenia rany. V experimente na diabetických myšiach s excíznymi ranami bol demonštrovaný vzostup progenitorových buniek kostnej drene v periférnej krvi, a to najprv vzostup vaskulárnych progenitorov nasledovaný vzostupom hematopoetických progenitorov. Čím bol počet progenitorových buniek v periférnej krvi vyšší, tým vyšší bol aj v lôžku rany (35). HSCs boli tiež využité pri hojení diabetických ulkusov u ľudí, no nie samostatne, ale spolu s trombocytmi a kolagénovou matrix. V štúdiu Ravari et al., opísali urýchlenie hojenia rán za pomoci takejto zmesi (36).

Stromálne bunky derivované z tukového tkaniva

Sľubnou možnosťou získavania kmeňových buniek je aj tukové tkanivo (37, 38). Kmeňové bunky tukového tkaniva označujeme ako „mezenchymálne bunky z tukového tkaniva“ (AT-SCs). Hoci kostná dreň je z pohľadu získavania kmeňových buniek oveľa viac preštudovaná a na klinické aplikácie lepšie charakterizovaná, tukové tkanivo sa zdá byť nedoceneným zdrojom. Oproti kostnej dreni má viacero výhod, napríklad minimálna morbidita pri získavaní buniek a klinicky relevantný počet získaných buniek s možným odpadnutím potreby ďalšej *in vitro* propagácie. Frekvencia výskytu kmeňových buniek v tukovom tkanive je pri porovnaní s kostnou dreňou signifikantne vyššia (2 % oproti 0,002 %) (37). Taktiež proliferácia schopnosť AT-SCs je oproti BM-SCs vyššia.

AT-SCs sa môžu diferencovať do viacerých bunkových typov vrátane kardiomyocytov, endotelových buniek, adipocytov, osteocytov, chondrocytov a myocytov (2). AT-SCs, ktoré zvýšene exprimovali „stromal derived factor 1“, boli s dobrým efektom využité v experimente pri autológnych transplantáciách priamo do diabetických rán, kde podporili hojenie (39). Topicky aplikované AT-SCs do modelových diabetických rán u potkanov boli schopné sa uchýtiť v derme a subdermálnom tkanive a urýchliť hojenie rany (40). Zaujímavé v tejto štúdiu bolo, že použitie AT-SCs síce urýchlilo hojenie, no nezvýšilo množstvo kapilár alebo kolagénových vlákien v rane. Naopak, Kim et al., porovnávali terapeutický potenciál transplantácie rovnakých množstiev AT-SCs s BM-SCs na my-

šacom modeli ischemických končatín a zistili, že AT-SCs vykázali lepší biologický efekt na zvýšenie krvného prietoku, hoci oba typy buniek signifikantne zvýšili prietoky v ischemických končatinách (41). Prvá štúdia opisujúca pozitívny efekt intramuskulárneho podania autológnych AT-SCs u šiestich pacientov s Burgerovou chorobou bola publikovaná v roku 2010. Po 24 týždňoch liečby bol pozorovaný zlepšený klinický stav pacientov a zníženie pokojových bolestí (42).

Aplikácia kmeňových buniek

Na uspokojivý účinok kmeňových buniek je potrebné, aby tieto bunky ovplyvňovali priamo prostredie rany. Možnosťou je ich systémové alebo lokálne podanie, každé so svojimi výhodami a nevýhodami. Pri systémovom – intravenóznom podaní kmeňových buniek riskujeme ich rozptýlenie do organizmu, uchytenie sa v iných orgánoch, až rozvoj malignity. Po ich podaní do cirkulácie sa na dosiahnutie želaného efektu musia dostať k cieľovým tkanivám, cievy musia byť priechodné a bunky schopné prestúpiť z cirkulácie do spojivového tkaniva. Vstup kmeňových buniek do rany je u diabetikov navyše ovplyvnený artério-venóznym shunting-om (43). Bunky, ktoré sa dostanú na žiadané miesto, sa musia vysporiadať s nepriaznivým prostredím chronickkej rany. Pri lokálnom podaní môžeme buď aplikovať bunky injekčne subkutánne do spodiny rany a jej okolia, priamo na spodinu rany, alebo využiť nosné médium tzv. „lešenie“ (*scaffold*). Kvôli spomínaným nepriaznivým faktorom je potrebné vyvinúť spoľahlivú techniku alebo nosič, ktorý tieto bunky udrží v chronickkej rane, podporí ich usídlenie a umožní uplatniť ich regeneračné schopnosti a parakrinné pôsobenie (44). V oblasti regeneračnej medicíny zohráva dôležitú úlohu aj tkanivové inžinierstvo, ktoré vyvíja materiály, ktoré slúžia ako podporné matrice, nosiče a kostry budúcich transplantovaných tkanív a orgánov a tieto materiály spája s kmeňovými bunkami. Tieto materiály zaisťujú nasadeným kmeňovým bunkám dočasnú alebo trvalú podporu pre ich migráciu, rast a sprostredkujú stimuly pre bunkové pochody. Nosiče alebo nosné médiá môžu byť pripravené z rôznych materiálov biologického alebo syntetického pôvodu. Pripravujú sa buď z natívnych tkanív (kolagén, fibrín, kyselina hyalurónová, citosan, alginát), z acelulárnej tkanivovej matrix, alebo syntetických polymérov (kyselina polyglykolová, kyselina polykrolaktonová), rôznych syntetických nanomateriálov, ako aj z anorganických látok (hydroxiapatit, kalciumfosfát). Možné sú aj kombinácie jednotlivých materiálov (3).

V experimente na myšiach, ale aj u ľudí bol úspešne využitý fibrínový sprej ako nosič autológnych MSCs do rán (28). Nevýhodou využitia fibrínu ako tmelu je, že jeho zvýšená koncentrácia negatívne ovplyvňuje bunkovú proliferáciu. Pri vyšších koncentráciách sa stáva hustejšie sieťovaný, čo kladie odpor šíreniu sa buniek, ktoré je pre proliferáciu esenciálne (45). Inou technológiou použitou s MSCs sú syntetické materiály, najčastejšie polyetylén glykol. Jeho výhoda spočíva v tom, že nevyvoláva v organizme reakciu imunitného systému na jeho prítomnosť a možnosti absorpcie veľkého množstva vody. Nevýhodou takéhoto materiálu je zníženie životnosti MSCs v ňom uzavretých a neoptimálna dezintegrácia materiálu (46).

Výskum sa zameriava aj na využitie makromolekul extracelulárnej matrix, napríklad kolagénu, elastínu, glykosaminoglykánov a adhezívnych komponentov. Kolagénový gél bol použitý s kmeňovými bunkami derivovanými z tukového tkaniva na urýchlenie hojenia rán u myší. Tento experiment preukázal možnosť proliferácie buniek, ich diferenciáciu a urýchlenie hojenia rany (2).

Mechanizmus pôsobenia kmeňových buniek

Pri poruchách hojenia rán dochádza k excesívnej infiltrácii polymorfonukleárnymi leukocytmi, nedostatočnej formácii granulačného tkaniva, deficitu kolagénu a nevyváženej expresii rastových faktorov, čo vyúsťuje do zníženej biomechanickej pevnosti rany (47).

Pri pokusoch na potkanoch so streptozotocínom indukovaným diabetom Kwon et al., opísali, že MSCs derivované z kostnej drene urýchlujú hojenie rán. Liečba týmito bunkami zvýšila expresiu rastových faktorov dôležitých na hojenie a reguláciu poškodeného tkaniva (EGF, VEGF, PDGF). Došlo tak k signifikantnému zvýšeniu hladín kolagénu (typov I – V), a s tým súvisiacej zvýšenej pevnosti rany v ťahu (27).

Proinflamačné mediátory ako TNF- α , IL-1 β a IFN- γ počas inflamačnej fázy môžu aktivovať regulačné funkcie v MSCs, ktoré im umožňujú modulovať imunitnú odpoveď. MSCs môžu inhibovať proliferáciu a biologickú aktivitu mastocytov, T a B lymfocytov a NK buniek, a tak utlmiť akútnu imunitnú odpoveď na poranenie. Zápalové prostredie rany v MSCs indukuje COX-2 aktivitu, čo vedie k produkcii prostaglandínu E2 (PGE2). PGE2 ovplyvňuje aktivitu leukocytov v rane, a tým znižuje expresiu IL-2 a INF- α a zvyšuje expresiu IL-4 a IL-10. Táto zmena v prospech antiinflamačných cytokínov podporuje ranové fibroblasty v ich expresii metaloproteináz a znížením produkcie

kolagénu. To vedie k produkcii menej denzného granulačného tkaniva v lôžku rany. MSCs produjú viacero faktorov vrátane fibroblastového rastového faktora, vaskulárneho endotelálneho rastového faktora-A a adrenomedulínu, ktoré podporujú proliferáciu mikrovaskulárnych endotelových buniek, cievnú stabilitu a rozvoj dlho funkčnej vaskulárnej siete. Produkujú aj ďalšie faktory ako IL-10, MMP-9, ktoré podporujú zmeny extracelulárnej matrix, proliferáciu keratinocytov a inhibíciu diferenciácie myofibroblastov.

Nakoniec teda, MSCs prispievajú k tvorbe vysoko kvalitného, dobre zásobeného granulačného tkaniva, podpore reepitelizácie a zoslabeniu tvorby fibrotického jazvovitého tkaniva (20). Hoci MSCs neboli nájdené v cievnych štruktúrach diabetických rán, je dokumentované, že po ich aplikácii došlo k zvýšeniu hustoty kapilár, a teda podporujú aj angiogénu (43).

Záver

Liečba diabetických chronických rán zahŕňa zlepšenie cirkulácie krvi, kontrolu infekcie a dostatočnú kompenzáciu hyperglykémie. Transplantácia kmeňových buniek za účelom urýchlenia hojenia diabetických defektov je nová terapeutická možnosť, ktorá je čím ďalej, tým častejšie aplikovaná v animálnych experimentoch, no už aj v klinických štúdiách. U niektorých pacientov prináša výrazný benefit oproti štandardnej liečbe. Hoci terapeutický efekt a bezpečnosť liečby kmeňovými bunkami u diabetických pacientov bol iniciálne potvrdený, a nie sú opísané výrazné vedľajšie účinky a komplikácie, dosiaľ nám nie sú jasné všetky mechanizmy a efekty liečby. Za účelom pochopenia mechanizmov, štandardizácie postupov a zistenia možných aj napríklad dlhodobých nežiaducich účinkov je potrebný ďalší výskum.

Postupne narastá počet štúdií skúmajúcich rôzne techniky vylepšujúce liečbu chronických nehojajúcich sa rán, pričom väčšina z nich porovnáva „novodobú“ modalitu jedného typu oproti klasickému štandardu. Keďže hojenie rany je komplexný proces aj liečba by mala byť zameraná na komplexné využitie moderných poznatkov a vzájomnú kombináciu jednotlivých modalít s cieľom efektívne zasiahnuť všetky fázy hojenia rany.

Literatúra

- Pradhan L, Andersen ND, Nabzdyk Ch, LoGerfo FW, Veves A. Wound-healing Abnormalities in Diabetes and New Therapeutic Interventions. *US endocrine disease*. 2007.
- Blumberg SN, Berger A, Hwang L, Pastar I, Warren SM, Chen W. The role of stem cells in the treatment of diabetic foot ulcers. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012;96(1):1–9.
- Brichta I, Fialová M. Kmeňové bunky v chirurgii. *Slovenská chirurgia*. 2012;9(2):4.

- Till JE, Mc CE. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res*. 1961;14:213–222.
- Siminovich L, McCulloch EA, Till JE. The Distribution of Colony-Forming Cells among Spleen Colonies. *J Cell Physiol*. 1963;62:327–336.
- Becker AJ, Mc CE, Till JE. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature*. 1963;197:452–454.
- Goodman JW, Hodgson GS. Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood*. 1962;19:702–714.
- Cha J, Falanga V. Stem cells in cutaneous wound healing. *Clin Dermatol*. 2007;25(1):73–78.
- Filip S, Mokřý J, Hruška I. *Kmeňové bunky*. Praha: Galen; 2006.
- Klimanskaya I, Chung Y, Becker S, Lu SJ, Lanza R. Human embryonic stem cell lines derived from single blastomeres. *Nature*. 2006;444(7118):481–485.
- Lee KB, Choi J, Cho SB, et al. Topical embryonic stem cells enhance wound healing in diabetic rats. *J Orthop Res*. 2011;29(10):1554–1562.
- Lee MJ, Kim J, Lee KI, Shin JM, Chae JI, Chung HM. Enhancement of wound healing by secretory factors of endothelial precursor cells derived from human embryonic stem cells. *Cytotherapy*. 2011;13(2):165–178.
- Grommes J, Binnebosel M, Klink CD, et al. Comparison of Intestinal Microcirculation and Wound Healing in a Rat Model. *J Invest Surg*. Dec 28, 2012.
- Vellasamy S, Sandrasaigaran P, Vidyadaran S, George E, Ramasamy R. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells derived from human placenta tissue. *World J Stem Cells*. 2012;4(6):53–61.
- Jiang XY, Lu DB, Chen B. Progress in stem cell therapy for the diabetic foot. *Diabetes Res Clin Pract*. 2012;97(1):43–50.
- Klein JD, Fauza DO. Amniotic and placental mesenchymal stem cell isolation and culture. *Methods Mol Biol*. 2011;698:75–88.
- Luo G, Cheng W, He W, et al. Promotion of cutaneous wound healing by local application of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord blood. *Wound Repair Regen*. 2010;18(5):506–513.
- Tark KC, Hong JW, Kim YS, Hahn SB, Lee WJ, Lew DH. Effects of human cord blood mesenchymal stem cells on cutaneous wound healing in leprdb mice. *Ann Plast Surg*. 2010;65(6):565–572.
- Volarevic V, Arsenijevic N, Lukic ML, Stojkovic M. Concise review: Mesenchymal stem cell treatment of the complications of diabetes mellitus. *Stem Cells*. 2011;29(1):5–10.
- Jackson WM, Nesti LJ, Tuan RS. Concise review: clinical translation of wound healing therapies based on mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1(1):44–50.
- Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*. 2007;110(10):3499–3506.
- Caplan AL. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *J Pathol*. 2009;217(2):318–324.
- Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*. 2005;105(4):1815–1822.
- Ryan JM, Barry FP, Murphy JM, Mahon BP. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *J Inflamm (Lond)*. 2005;2:8.
- Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms. *Circ Res*. 2004;94(5):678–685.
- Jin P, Zhang X, Wu Y, et al. Streptozotocin-induced diabetic rat-derived bone marrow mesenchymal stem cells have impaired abilities in proliferation, paracrine, antiapoptosis, and myogenic differentiation. *Transplant Proc*. 2010;42(7):2745–2752.
- Kwon DS, Gao X, Liu YB, et al. Treatment with bone marrow-derived stromal cells accelerates wound healing in diabetic rats. *Int Wound J*. 2008;5(3):453–463.
- Falanga V, Iwamoto S, Chartier M, et al. Autologous bone marrow-derived cultured mesenchymal stem cells delivered in a fibrin spray accelerate healing in murine and human cutaneous wounds. *Tissue Eng*. 2007;13(6):1299–1312.
- Schatteman GC, Awad O. Hemangioblasts, angioblasts, and adult endothelial cell progenitors. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2004;276(1):13–21.
- Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*. 1999;5(4):434–438.
- Jarajapu YP, Grant MB. The promise of cell-based therapies for diabetic complications: challenges and solutions. *Circ Res*. 2010;106(5):854–869.
- Albiero M, Menegazzo L, Boscaro E, Agostini C, Avogaro A, Fadini GP. Defective recruitment, survival and proliferation of bone marrow-derived progenitor cells at sites of delayed diabetic wound healing in mice. *Diabetologia*. 2011;54(4):945–953.
- Pedroso DC, Tellechea A, Moura L, et al. Improved survival, vascular differentiation and wound healing potential of stem cells co-cultured with endothelial cells. *PLoS One*. 2011;6(1):e16114.
- Awad O, Dedkov EI, Jiao C, Bloomer S, Tomanek RJ, Schatteman GC. Differential healing activities of CD34+ and CD14+ endothelial cell progenitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(4):758–764.
- Fiorina P, Pietramaggiore G, Scherer SS, et al. The mobilization and effect of endogenous bone marrow progenitor cells in diabetic wound healing. *Cell Transplant*. 2010;19(11):1369–1381.
- Ravari H, Hamidi-Almadari D, Salimifar M, Bonakdaran S, Parizadeh MR, Koliakos G. Treatment of non-healing wounds with autologous bone marrow cells, platelets, fibrin glue and collagen matrix. *Cytotherapy*. 2011;13(6):705–711.
- Strem BM, Hedrick MH. The growing importance of fat in regenerative medicine. *Trends Biotechnol*. 2005;23(2):64–66.
- Fraser JK, Wulur I, Alfonso S, Hedrick MH. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotechnol*. 2006;24(4):150–154.
- Di Rocco G, Gentile A, Antonini A, et al. Enhanced healing of diabetic wounds by topical administration of adipose tissue-derived stromal cells overexpressing stromal-derived factor-1: biodistribution and engraftment analysis by bioluminescent imaging. *Stem Cells Int*. 2010;2011:304562.
- Maharlooie MK, Bagheri M, Solhjoui Z, et al. Adipose tissue derived mesenchymal stem cell (AD-MSC) promotes skin wound healing in diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;93(2):228–234.
- Kim Y, Kim H, Cho H, Bae Y, Suh K, Jung J. Direct comparison of human mesenchymal stem cells derived from adipose tissues and bone marrow in mediating neovascularization in response to vascular ischemia. *Cell Physiol Biochem*. 2007;20(6):867–876.
- Hong SJ, Traktuev DO, March KL. Therapeutic potential of adipose-derived stem cells in vascular growth and tissue repair. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15(1):86–91.
- Wu Y, Chen L, Scott PG, Tredget EE. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis. *Stem Cells*. 2007;25(10):2648–2659.
- Gnecchi M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res*. 2008;103(11):1204–1219.
- Weiss E, Yamaguchi Y, Falabella A, Crane S, Tokuda Y, Falanga V. Un-cross-linked fibrin substrates inhibit keratinocyte spreading and replication: correction with fibronectin and factor XIII cross-linking. *J Cell Physiol*. 1998;174(1):58–65.
- Fisher OZ, Khademhosseini A, Langer R, Peppas NA. Bio-inspired materials for controlling stem cell fate. *Acc Chem Res*. 2010;43(3):419–428.
- Lakyová L, Radoňák J. Využitie kmeňových buniek kostnej drene pri hojení chronických kožných rán – review. *Slovenská chirurgia*. 2013;10(2):48–51.

MUDr. Alexander Hudák

I. chirurgická klinika LF UPJŠ
a UN L. Pasteura
Trieda SNP 1, 040 01 Košice
alexhudak@gmail.com