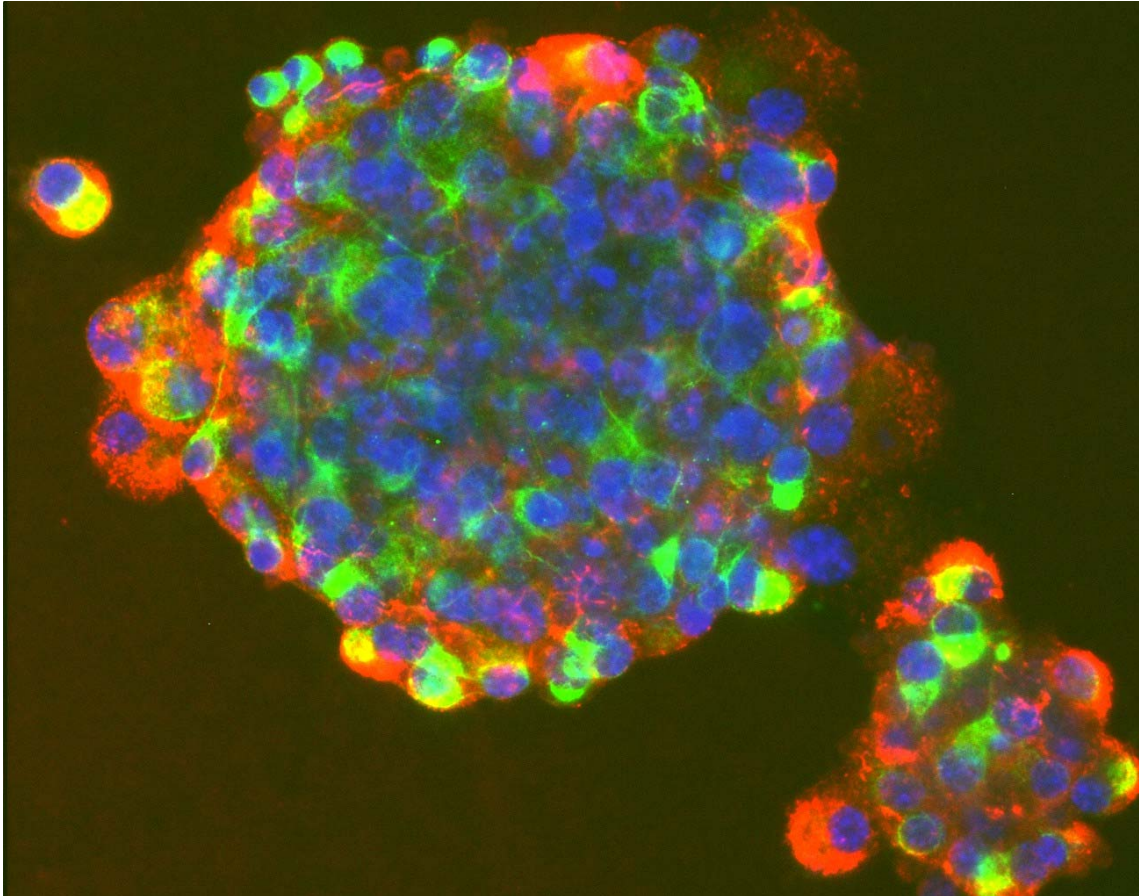


Stamceltherapie bij complete dwarslaesies van het ruggenmerg



*Afstudeeropdracht juni 2009
Opleiding Fysiotherapie, Hogeschool Utrecht*

Naam: Vera van der Sterren
Studentnummer: 1523176

Stamceltherapie bij complete dwarslaesies van het ruggenmerg

Vera van der Sterren
Afstudeeropdracht Hogeschool Utrecht, afdeling Fysiotherapie
Juni 2009

Samenvatting

Achtergrond: Jaarlijks krijgen wereldwijd 15 tot 40 personen per miljoen inwoners een traumatische dwarslaesie van het ruggenmerg. Dit heeft grootschalige gevolgen. De kwaliteit van leven van de patiënt en zijn/ haar familie neemt sterk af. Tevens brengt een dwarslaesie voor de maatschappij hoge kosten met zich mee. Ondanks de ontwikkelingen in de medische zorg en chirurgie is er nog geen behandeling gevonden die de locale beschadigingen en de beschadigingen op afstand in het ruggenmerg kan genezen. Momenteel biedt het onderzoek naar stamceltherapie hoop voor de toekomst. De huidige stand van zaken over de effecten van deze therapie op functioneel herstel worden in dit onderzoek besproken.

Vraagstelling: Wat zijn de effecten van stamceltherapie op functioneel herstel bij complete dwarslaesies van het ruggenmerg?

Methode: In diverse databanken op internet is gezocht naar relevante artikelen. Via PubMed zijn elf systematic reviews, zes randomized controlled trials en één observational studie geselecteerd. Daarnaast zijn via Google Scholar één conference report en twee clinical trials geselecteerd. De artikelen dateren van na 2004 en hebben betrekking op de vraagstelling.

Conclusie: Stamceltherapie bij chronische patiënten met een complete dwarslaesie van het ruggenmerg heeft geen effect op functioneel herstel. Bij patiënten in de acute en subacute fase lijkt stamceltherapie een verbetering op de ASIA-schaal te bewerkstelligen.

Trefwoorden: Spinal cord injury, stem cell therapy, functional recovery, physical therapy, exercise, paraplegia, adult stem cells, embryonic stem cells

Inleiding

In 2004 heeft het National Spinal Cord Injury Statistical Center (NSCISC) bekendgemaakt dat jaarlijks circa 11.000 nieuwe casussen met een traumatische dwarslaesie ontstaan. Wereldwijd komt dit neer op 15 tot 40 personen per miljoen inwoners (Lim 2007). De jaarlijkse kosten voor de maatschappij worden geschat op \$8 biljoen, waarbij de individuele kosten van een patiënt over het gehele leven een bedrag van \$1,35 miljoen kunnen bereiken (Bambakidis 2008).

In de USA zijn de belangrijkste oorzaken van een traumatische dwarslaesie, verkeersongelukken (41%), geweld (22%), vallen (21%) en sportongevallen (8%). Ondanks dat de primaire mechanische verwonding bij het ontstaan van een dwarslaesie sterk kan variëren, wordt deze altijd gevolgd door een serie vergelijkbare cellulaire en moleculaire secundaire reacties (Schultz 2005).

Het stopzetten en/of vertragen van bovenstaande reacties is momenteel de focus van klinische behandeling en wetenschappelijk onderzoek (Schultz 2005). Terwijl er is nog geen behandeling is gevonden die de locale beschadigingen en de beschadigingen op afstand in het ruggenmerg kan genezen, bieden de huidige ontwikkelingen naar stamceltherapie hoop.

Ook in het Revalidatie Centrum Amsterdam (RCA) vestigen veel revalidanten hun laatste hoop op herstel op stamceltherapie. Het doel van dit artikel is om kritisch te kijken of deze hoop terecht is. Verscheidene systematic reviews, randomized controlled trials en clinical trials met betrekking tot embryonale en volwassen stamceltherapie worden geëvalueerd, waarbij voornamelijk wordt gekeken naar de effecten op functioneel herstel. Tevens worden de eventuele gevaren van stamceltherapie in kaart gebracht. *vraagstelling luidt: Wat zijn de effecten van stamceltherapie op functioneel herstel bij complete dwarslaesies van het ruggenmerg?*

ASIA

In 1992 ontwikkelde de American Spinal Injury Association (ASIA) een classificatie om de ernst van de dwarslaesie vast te stellen. De classificatie is gebaseerd op neurologisch functieonderzoek en bevat vier componenten. Het sensorische niveau wordt bepaald door dermatomen op lichte en scherpe aanraking te testen, waarbij het gevoel normaal, gestoord of afwezig gescord kan worden. Het motorisch niveau wordt bepaald door 10 kenncspieren te testen met behulp van de MRC-schaal (0-5). Het neurologisch niveau wordt bepaald door het meest caudale segment van het ruggenmerg, waarbij sensoriek en motoriek normaal functioneren. Hoe compleet een dwarslaesie is hangt voornamelijk af van het al dan niet aanwezig zijn van neurologische functie in de laagste sacrale regio (S4 en S5), waarvan zenuwen naar de anale en perineale regio lopen.

De ASIA Impairment Scale geeft in de kliniek een gradatie voor de ernst van de dwarslaesie.

A → Compleet. Geen motorische of sensorische functie in de segmenten S4 en S5.

B → Incompleet. Sensorische, geen motorische functie behouden, inclusief segmenten S4 en S5.

C → Incompleet. Motorische functie aanwezig onder het laesieniveau, met meer dan de helft van de kenncspieren met een score van MRC < 3.

D → Incompleet. Motorische functie aanwezig onder het laesieniveau, met meer dan de helft van de kenncspieren met een score van MRC > 3.

E → Normale functie. (Liverstone 2005)

KEY MUSCLES		SENSORY KEY SENSORY POINTS	
R	L	0 = absent 1 = impaired 2 = normal NT = not testable	
C2			
C3			
C4			
C5	Elbow flexors		
C6	Wrist extensors		
C7	Elbow extensors		
C8	Finger flexors (distal phalanx of middle finger)		
T1	Finger abductors (little finger)		
T2			
T3			
T4			
T5			
T6			
T7			
T8			
T9			
T10			
T11			
T12			
L1	Hip flexors		
L2	Knee extensors		
L3	Ankle dorsiflexors		
L4	Long toe extensors		
L5	Ankle plantar flexors		
S1			
S2			
S3			
S4-S5	☐ Voluntary anal contraction (Yes/No)	☐ Any anal sensation (Yes/No)	

Figuur 1. Kenncspieren en dermatomen gebruikt bij de ASIA-schaal

Primaire en secundaire stoornissen

De biologische respons op een dwarslaesie wordt in drie verschillende fasen onderscheiden. De acute (seconden tot minuten na het trauma), subacute (minuten tot weken na het trauma) en de chronische fase (maanden tot jaren na het trauma).

Verscheidene celtypen van het zenuw-, immuun- en vaatstelsel zijn bij elke fase betrokken.

De acute fase wordt gekenmerkt door sterke daling van de bloeddruk (hypotensie), dat samengaat met een daling in het bloedvolume. Tevens vindt een verminderde zuurstofaanvoer naar de weefsels plaats, wanneer door het trauma een luchtwegobstructie of paralyse van de diafragma musculatuur optreedt.

In de acute fase kunnen patiënten zich in een spinale shock fase bevinden, waarin alle reflexen wegvallen, wat ook resulteert in verminderde zuurstof en voedingsaanvoer naar de weefsels (Liverstone 2005).

Seconden na het trauma leidt de dwarslaesie tot celdood van neuronen, oligodendrocyten, astrocyten en precursor cellen. De resulterende holtes en cysten onderbreken de opstijgende en afdalende axonbanen, terwijl de witte stof vaak gespaard blijft (Thuret 2006).

De overlevende neuronen produceren hogere ionenniveaus, waardoor het celmembraan barst en de celinhoud wordt vrijgegeven. Hierdoor kan de omgeving van de neuronen ook een toxisch ionenniveau bereiken, waardoor naastliggende neuronen doodgaan. Tevens kan de accumulatie van bepaalde neurotransmitters (o.a. glutamaat) dood veroorzaken van dichtbij liggende neuronen door een mechanisme genaamd excitotoxiciteit (Faden and Simon 1988, in Liverstone 2005). Tevens kan lokale oedeemvorming leiden tot compressie van neuronen.

In de acute fase vindt ook vasospasme plaats, wat de bloedaanvoer met circa 80% vermindert (Anthes et al., 1996 in Liverstone 2005) en trombose in de kleine bloedvaten veroorzaakt (Koyanagi et al., 1993 in Liverstone 2005). Deze vasculaire mechanismen leiden tot ischaemie. Het is mogelijk dat de grijze stof in het ruggenmerg meer necrotisch (oncontroleerde celdood) is, doordat het meer gevasculariseerd is dan de witte stof. In de grijze stof bevinden zich cellichamen van de neuronen en in de witte stof bevinden zich meer gemyeliniseerde axonen (Wolman, 1965 in Liverstone 2005).

In de subacute fase na het trauma zetten veel processen van de acute fase zich voort en wordt het verwondingsgebied sterk uitgebreid. Naast de elektrolyten shift, de oedeemvorming en necrotische celdood vinden in de subacute fase ook de vorming van vrije radicalen, vertraagde calcium influx, een immuunreactie (ontstekingsreactie) en apoptose (geprogrammeerde celdood) plaats. Apoptose is een actieve vorm van celdood die neuronen, astrocyten, oligodendrocyten en andere cellen in het ruggenmerg aantast (Liu et al., 1997; Beattie et al., 2000 in Liverstone 2005). Apoptose is bij mensen ontdekt (Emery et al., 1998) en kan in diermodellen tot een maand na het trauma aanhouden (Beattie et al., 2000 in Liverstone 2005).

In de chronische fase vinden processen op micro en macroniveau plaats. Op microniveau leidt de dood van oligodendrocyten tot verlies van geleidende capaciteit bij neuronen. Wanneer deze geleiding geheel stopt komen in het ruggenmerg de signalen tussen lichaam en hersenen niet door, ondanks dat de axonen intact zijn. Tevens ondergaan axonen veranderingen in ionenkanalen die verantwoordelijk zijn voor de geleiding van elektrische impulsen (Waxman 2001; Hains et al., 2003b in Liverstone 2005). De combinatie van het verlies van de myelineschede en de verandering in de functie van de ionenkanalen leiden in diermodellen tot chronische pijn (Liverstone 2005). Op macroniveau vormt zich langzaam een holte gevuld met vloeistof en/ of littekenweefsel. De holte of cyste creëert een fysische barrière die axongroei blokkeert en het littekenweefsel bevat stoffen die axongroei inhiberen (Liverstone 2005).

Het aangedane gebied verspreidt zich naar aanliggende gebieden, tot wel vier segmenten boven en/ of onder het initiële segment (Crowe 1997, Liu 1997, in Liverstone 2005). Dit gehele gebied vult zich met immuuncellen, waardoor een litteken wordt gevormd. De progressieve expansie van het traumagebied wordt syringomyelia genoemd en kan dodelijk zijn. Circa 4% van de dwarslaesiepatiënten ontwikkelt syringomyelia (Schurch et al., 1996; Terre et al., 2000 in Liverstone 2005).

De uiteindelijke ernst van sensorisch en motorische functieverlies hangt af van welke zenuwcellen en vezelbanen dood gaan, welke intact blijven, of cellen regenereren en of er nieuwe vertakkingen worden gevormd om het verlies te compenseren.

Momenteel wordt veel onderzoek gedaan naar behandelingen om bovenstaande secundaire stoornissen na het ontstaan van een dwarslaesie stop te zetten of te verminderen. Het huidige onderzoeksgebied richt zich met name op de aspecten neuroprotectie en neuroregeneratie.

Neuroprotectie en neuroregeneratie

Neuroprotectie wordt gedefinieerd als maatregelen die secundaire verwondingsmechanismen tegengaan en/ of de mate van beschadiging beperken veroorzaakt door zelfdestructieve cellulaire en weefselprocessen (Anderberg 2007).

Tegenwoordig wordt na het primaire trauma een decompressie en stabiliserende operatie van de wervelkolom uitgevoerd. Uit onderzoek van Pollard 2003 (in Lim 2007) bij 412 traumatische incomplete cervicale dwarslaesies wordt geen bewijs gevonden dat decompressie van de wervelkolom < 72 uur na het trauma een verbeterde neurologische status als gevolg heeft ten opzichte van decompressie > 5 dagen na het trauma. Uit dierproeven is echter gebleken dat vroegtijdige decompressie van de wervelkolom de neurologische tekortkomingen na een dwarslaesietrauma wel verminderen (Anderberg et al. 2007).

Naast decompressie wordt standaard binnen 8 uur na het trauma intraveneus MethylPrednisolone Sodium Succinate (MPSS) toegediend (Apuzzo 2002 in Anderberg 2007). Onderzoek van The National Spinal Cord Injury Study (NASCIS) toont aan dat vroege toediening een verbetering in neurologisch herstel teweegbrengt (Lim et al. 2007). Het is nog controversieel welke dosis, duur van toediening en locatie van injectie het meest geschikt zijn.

De ontdekking van de plasticiteit en het regeneratievermogen van het centraal zenuwstelsel zorgen ervoor dat er nieuwe therapeutische targets en kansen ontstaan op het gebied van neuroregeneratie.

Bij regeneratie worden verscheidene strategieën gevolgd, waaronder de promotie van de intrinsieke capaciteit van neuronen om te regenereren. Hierbij worden de neuronen tot groei gestimuleerd door een omgeving te creëren met geschikte groeifactoren, zoals NGF, BDNF, FGF, NT-3, NT-4 (Anderberg et al. 2007).

Daarnaast wordt geprobeerd het vroege inhibitiemechanisme voor axongroei tegen te gaan. In een vroeg stadium na het trauma ontstaan myelinegeassocieerde inhibitiemoleculen (NOGO-A) en factoren die de formatie van littekenweefsel versnellen. Door antilichamen (IN-1) voor NOGO-A te plaatsen wordt het inhibitie-effect geblokkeerd en wordt indirect axongroei gestimuleerd (Anderberg et al. 2007).

Een laatste strategie van neuroregeneratie is het tegengaan van het late inhibitiemechanisme voor axongroei. In het late stadium worden de uiteinden van het ruggenmerg gescheiden door een 'gap' bestaande uit littekenweefsel en/ of een cyste. Axonen kunnen deze 'gap' niet zelfstandig overbruggen. Ondersteunende structuren, zoals transplantatie van perifere zenuwen en cellen van Schwann kunnen axonverlenging veroorzaken (Bunge 2001 in Liverstone 2005), maar zijn slechts een deel van de oplossing om functionele connecties te herstellen. Een hoopvolle manier om de 'gap' te overbruggen is een combinatie van ondersteunende structuren en vervanging van cellen door middel van stamceltransplantatie (Anderberg et al. 2007).

Onderzoekers gebruiken verschillende celtypen om deze 'gap' te vullen, waaronder olfactory ensheathing cells (OEC), cellen uit de olfactory bulb die verantwoordelijk zijn voor geursignalen (Thuret 2006). Tevens worden beenmerg stromal cellen, embryonale en volwassen stamcellen gebruikt.

In dit artikel worden de resultaten van onderzoeken met embryonale en volwassen stamcellen beschreven.

Stamcellen

Embryonale stamcellen zijn genetisch identiek en bevatten een normale chromosoomset. Stamcellen zijn pluripotent en differentiëren tot drie embryonale lagen; ecto-, meso- en endoderm. Pluripotente stamcellen specialiseren zich normaliter in het blastocyst verder tot weefsel en organen, ze worden dan multipotent genoemd.

Het voordeel van embryonale stamcellen is de flexibiliteit, de cellen hebben de potentie om zich tot elk celtype te ontwikkelen (Eftekharpour et al. 2008). Daarnaast zijn voldoende embryo's beschikbaar vanuit IVF klinieken en wordt differentiatie van de cellen in vitro gecontroleerd. De nadelen van embryonale stamcellen zijn mogelijke afstotingsreacties na transplantatie, de

ethische bezwaren en eventuele tumorvorming en/ of bevordering van tumorvorming (Riess 2007 in Anderberg et al. 2007).

Naast embryonale stamcellen worden tegenwoordig ook volwassen stamcellen gebruikt.

Recentelijk is gebleken dat bij implantatie, multipotente cellen in een andere richting dan hun oorspronkelijke specialisatietype gestuurd kunnen worden door specifieke extrinsieke factoren, hoewel de resultaten nog beperkt zijn (Anderberg et al. 2007). Feitelijk blijkt dus dat multipotente cellen meer pluripotente eigenschappen bezitten dan men zou verwachten. Voordelen van volwassen stamcellen zijn de geringe kans op afstotingsreacties en het wegvallen van de genoemde ethische bezwaren (Thuret et al. 2006, Eftekharpour et al. 2008). Ook zijn deze stamcellen minder geneigd tot tumorvorming dan cellen van embryonale afkomst. Nadelen zijn dat volwassen stamcellen niet onsterfelijk zijn, moeilijker te reprogrammeren zijn naar een ander celtype (Barnabé-Heider et al. 2008) en lastiger te verkrijgen in grote aantallen.

Methode

Ter beantwoording van de vraagstelling is literatuuronderzoek gedaan. In diverse databanken, waaronder Omega-zoekmachine van de Universiteit Utrecht, LUCAS-zoekmachine van de Hogeschool Utrecht, Pubmed, Medline, Conchrane en Google Scholar is gezocht naar relevante artikelen. Via PubMed zijn alle artikelen uiteindelijk gevonden en via de universiteitsbibliotheek van Utrecht en via Google is de fulltext van de artikelen verkregen.

De zoektermen waarvan gebruik gemaakt is zijn: Spinal cord injury, stem cell therapy, functional recovery, physical therapy, exercise, paraplegia, adult stem cells, embryonic stem cells. De zoektermen zijn tevens in combinatie gebruikt.

De volgende exclusiecriteria zijn toegepast:

- Artikelen over neuroprotectie
- Single case studies
- Nederlandstalige artikelen

De volgende inclusiecriteria zijn toegepast:

- De literatuur is van voldoende wetenschappelijk niveau (type I, II, III)
- De artikelen zijn gepubliceerd tussen 2004 en 2009
- De onderzoeken zijn verricht in de acute, subacute en chronische fase na een dwarslaesie

- Gebruik van embryonale en volwassen stamcellen
 - Dierproeven en clinical trials op mensen
- De 20 gevonden artikelen bestaan uit systematic reviews, randomized controlled trials, clinical trials, een observational studie en een conference report.

Resultaten

Autogene beenmergcellen

De afgelopen jaren is aangetoond dat BMSC zich in vitro kunnen (trans)differentiëren tot neuronen en gliacellen (Chopp et al., 2000, Mezey and Chandross, 2000 in Vaquero 2009). Veel onderzoek is gedaan naar de effecten van BMSC transplantatie op herstel bij incomplete dwarslaesies in een acuut stadium (Chopp et al., 2000, Hofstetter et al., 2002 in Vaquero 2009). In klinische opzicht is het van groter belang om te effecten bij complete dwarslaesies in een chronisch stadium te onderzoeken. Zurita en Vaquero (2004, 2006) spoten 3 maanden na het aanbrengen van de dwarslaesie in volwassen Wistar ratten een zoutoplossing met BMSC in op de locatie van de laesie. De controlegroep kreeg een zoutoplossing zonder BMSC ingespoten. De dieren ondergingen een revalidatieprogramma en werden wekelijks getest met de BBB-schaal. Na een aantal weken ontstond er bij de ratten ingespoten met BMSC progressief herstel, terwijl de controleratten compleet verlamd bleven. De gemiddelde score op de BBB-schaal na 12 maanden follow-up was 17.7 ± 1.3 (de maximale score bij een dier zonder motorfunctieverlies bedraagt 21). Na een periode van één jaar stabiliseert het herstel.

Bij het gebruik van autogene beenmergcellen is onduidelijkheid over de beste manier van inbrengen van de cellen. Vaquero et al. (2006) onderzochten of er verschil is in intraveneuze toediening van de BMSC of toediening van de BMSC ter plaatse van de laesie. De resultaten tonen aan dat intraveneuze toediening van BMSC enkele graden functioneel herstel veroorzaken ten opzichte van de controlegroep, terwijl posttraumatische locale toediening van BMSC progressief functioneel herstel teweegbrengt. Significant meer herstel dan bij intraveneuze toediening.

Momenteel zijn de overwegend positieve resultaten na transplantatie van BMSC bij knaagdieren reproduceerbaar en is de therapeutische effectiviteit bevestigd in primaten (Deng et al., 2005, 2006 in Vaquero

et al., 2009). De klinische toepasbaarheid van de autogene beenmergcellen in dwarslaesiepatiënten begint en beperkte studies tonen aan dat de BMSC veilig en hoopvol zijn (Park et al., 2005, Syková et al., 2006, Yoon et al., 2007 in Vaquero 2009). Onderzoek van Yoon et al. (2007) toont aan dat 29.5% van de patiënten na BMSC transplantatie in de acute fase neurologische verbetering van ASIA A naar B of C vertoont. In de subacute fase is dit 33.3% van de patiënten. In de chronische fase vindt geen verandering in de neurologische status plaats. Op de MRI is een niet significante verbetering van 42.9% in diameter van het ruggenmerg zichtbaar, tegenover 33.3% atrofie van de diameter (Tabel 1). Syková et al. (2006) maakt in het onderzoek onderscheid tussen acute en chronische patiënten en tussen intra-arteriële en intra-veneuze toediening van de beenmergcellen. De resultaten van bovenstaand onderzoek tonen aan dat er een significante verbetering van de motorscores zichtbaar is bij alle acute en één chronische patiënt(en) bij intra-arteriële transplantatie. Bij slechts één acute patiënt die stamcellen intraveneus kreeg toegediend verbeterd de motorscore. Daarnaast vindt geen significante sensorische verbetering plaats bij patiënten in de acute, subacute en chronische fase na het trauma. Deze resultaten wijzen erop dat intra-arteriële toediening van BMSC betere resultaten vertoont, dan intraveneuze toediening van autogene beenmergcellen (Tabel 1).

In 2007 heeft Geffner et al. een onderzoek gepresenteerd met 38 dwarslaesiepatiënten (ongepubliceerde data in Vaquero 2009). Na transplantatie van autogene beenmergcellen worden duidelijke verbeteringen waargenomen in de sensibiliteit, mobiliteit en sphincterfunctie na één jaar follow-up.

Het is noodzakelijk om clinical trials uit te voeren met een grotere populatie om verdere conclusies te kunnen trekken wat betreft het effect van BMSC bij patiënten.

Momenteel loopt er een clinical trial in het Translational Research Informatics Center, Kobo, Hyogo in Japan. Dit onderzoek is gestart in juli 2005 en heeft de titel: *Clinical study of Treatment for Acute Spinal Cord Injury Using Cultured Bone Marrow Stromal Cells*. In december 2010 zou dit onderzoek afgerond moeten zijn. Daarnaast loopt er een onderzoek aan de Cairo University in Egypte. Dit onderzoek startte in mei 2005 met de titel: *Autologous Bone Marrow Derived Cell Transplant in Spinal Cord Injury Patients*. In

december 2008 is het onderzoek afgerond, de resultaten zijn nog niet gepubliceerd.

Embryonale stamcellen

Oligodendrocyte voorlopercellen worden efficiënt verkregen uit knaagdier- en menselijke ESCs (Brüstle et al., 1999, Nistor et al., 2005 in Barnabé-Heider 2008), om zich vervolgens in het centraal zenuwstelsel tot volwassen myelineproducerende oligodendrocyten te ontwikkelen (Brüstle et al., 1999, Keirstead et al., 2005 in Barnabé-Heider 2008). Onderzoek van Keirstead et al. (2005) toont aan dat oligodendrocyte voorlopercellen afkomstig uit hESC getransplanteerd in ratten differentiëren tot oligodendrocyten, tevens leiden de cellen tot remyelinisatie en verbetering in de motoriek na acute (7 dagen na trauma), maar niet na chronische (10 maanden na trauma) transplantatie (Tabel 1).

McDonald et al. (1999, 2004, 2006) initieerde embryonale stamcellen om astrocyten, oligodendrocyten en neuronen te vormen. Deze stamcellen worden in ratten geïnjecteerd, waarbij een groot deel van de cellen dood ging. 10% van de cellen bleven in het traumagebied en differentiëren tot neuronen, waarbij de proefdieren verbeteren in motorfunctie.

In 2003 implanteert Rabinovich et al. embryonale neurale stamcellen in patiënten tussen de 18 en 52 jaar. In 11 van de 15 casussen wordt de therapie gecombineerd met een operatie om bindweefselvorming rondom de cyste te verwijderen en OECs te implanteren. Dit onderzoek resulteert in contractie van enkele spieren en gedeeltelijk herstel van de sensibiliteit in 40% van de patiënten.

Een alternatief voor ESCs, waardoor geen immunosuppressie hoeft plaats te vinden, is het gebruik van iPSCs. Dit zijn pluripotente stamcellen verkregen uit de patiënt zelf (Yamanaka, 2007 in Barnabé-Heider 2008). De ethische bezwaren over embryonale stamcellen worden hierdoor teniet gedaan. Het nadeel van iPSC is de vereiste tijd om voldoende cellijnen te produceren. Deze is te lang om iPSCs te gebruiken in de acute en subacute fase na het trauma (Barnabé-Heider 2008).

Bij transplantatie van oligodendrocyte voorlopercellen verkregen uit ESCs is geen tumorvorming gerapporteerd (Barnabé-Heider 2008). Ondanks dit positieve resultaat moet het risico op tumorformatie bij getransplanteerde embryonale stamcellen gecontroleerd worden (Riess, 2007 in

Anderberg 2007). Embryonale stamcellen hebben de neiging tot tumorvorming, wanneer ze ongedifferentieerd worden geïmplant (Wachs et al., 2003, Stewart et al., 2003 in Schultz 2005).

Eind januari 2009 heeft de Food and Drug Administration (FDA) in Amerika de eerste trial met menselijke embryonale stamcellen (Geron) voor dwarslaesiepatiënten, goedgekeurd.

Olfactory Ensheathing Cells

OECs blijken een aantrekkelijke bron om als ondersteunende structuur te dienen om de 'gap' in het ruggenmerg te overbruggen (Barnett et al., 2004 in Anderberg 2007). In de olfactory bulb vindt een continue groei van axonen plaats, die wordt ondersteund door OECs. De OECs zijn geïntegreerd in het centraal zenuwstelsel, wat ze interessant maakt voor herstel bij dwarslaesies (Ramon-Cueto, 2001 in Anderberg 2007). Daarnaast scheiden OECs groeifactoren af en zijn in staat om myeline te produceren rondom regenererende axonen in het centraal zenuwstelsel. Uit onderzoek van Barnett (2007) blijkt dat niet alleen de ondersteunende rol, maar ook de mogelijkheid van OECs om synaptische plasticiteit te promoten, functioneel herstel na transplantatie bevordert. Daarnaast kunnen stamcellen uit de olfactory bulb aanwezig zijn in OEC transplantaten en bijdragen aan structureel en functioneel herstel (Murell et al., 2005 in Anderberg 2007). Lu et al. (2002) heeft in ratten met een dwarslaesie OECs getransplanteerd, waarbij 4 weken later een verbeterde motorfunctie zichtbaar was ten opzichte van de controlegroep. In 2000 transplanteert Ramon-Cueto et al. OECs in het ruggenmerg van ratten. 8 maanden na de operatie regeneerden de axonen over een afstand van 2.5 cm. De motoriek en sensorische reflexen verbeteren 3 tot 7 maanden postoperatief. De ratten behalen een klimtest en reageren op licht huidcontact op de achterpoten, dit wijst op functioneel herstel. Feron et al. (2005) hebben een clinical trial in Australië opgezet waar autogene OECs getransplanteerd worden in het ruggenmerg van chronische dwarslaesiepatiënten. Het resultaat van deze trial is dat implantatie van OECs veilig is. Er zijn geen complicaties, zoals beschadiging van het ruggenmerg, neuropathische pijn, cyste, syringomyelie of tumorvorming geconstateerd één jaar postimplantatie. In China is door Huang et al. (2003) een grootschalig onderzoek verricht

met 171 patiënten met een dwarslaesie tussen de 2 en 64 jaar. De patiënten ondergingen een intra-spinale transplantatie van OECs en verbeterden 2 tot 8 weken na transplantatie in ASIA score, op de gebieden motor, lichte en scherpe sensibiliteit onafhankelijk van de leeftijd. Tevens verrichtte Huang et al. (2006) een onderzoek bij 300 patiënten (222 complete en 78 incomplete chronische dwarslaesies), waarbij hOECs van geaborteerde foetussen werden getransplanteerd. Ook in dit onderzoek waren significante verbeteringen zichtbaar op het gebied van motorische en sensibele functie 2 tot 8 weken na transplantatie. Bij een aantal patiënten werd tevens een MRI-scan gemaakt. Op de MRI worden geen negatieve bijeffecten van de transplantatie gevonden. Het is twijfelachtig of bovenstaande onderzoeken voldoen aan de internationale standaard voor veiligheid, aldus Dobkin et al. (2006 in Lim 2007) (Tabel 1).

Volwassen neurale stamcellen

Iwanami et al. (2005) heeft in een niet-menselijke primate studie menselijke neurale stam/voorlopercellen (NSPCs) getransplanteerd naar het getraumatiseerde ruggenmerg van een klauwaapje. 8 weken later toont de histologische analyse dat de NSPCs gedifferentieerden in neuronen, astrocyten, oligodendrocyten, waarbij de holten in het ruggenmerg kleiner zijn dan in de controlegroep. Daarnaast vertonen de aapjes significant hogere grijpkracht en spontane motorische activiteit.

Transplantatie van volwassen neurale stamcellen in ratten bevorderen functioneel herstel, maar zorgen ook voor een toename in de neuropatische pijn (Hofstetter et al., 2005 in Barnabé-Heider 2008).

Teng et al. (2002 in Schultz 2005) implanteren neurale stamcellen van een muis in het ruggenmerg van ratten. De coördinatie en gewichtsteun van de achterpoten worden getest met behulp van de BBB-schaal. 56 dagen posttransplantatie tonen de ratten met neurale cellen een gemiddelde BBB van 12 ten opzichte van een gemiddelde BBB van 6 in de controlegroep.

Eftekharpour et al. (2008) experimenteert met volwassen NPCs om herstel in de subacute en chronische dwarslaesie van het ruggenmerg teweeg te brengen. Uit het onderzoek blijkt dat NPCs na transplantatie in patiënten in de chronische fase niet overleven, terwijl de omgeving in de subacute fase gastvrij is voor getransplanteerde cellen.

Barnabé-Heider et al. (2008) geeft aan dat in volwassen ruggenmerg endogene multipotente neurale stamcellen aanwezig zijn. Het is nog onmogelijk om deze cellen te moduleren tot cellen die functioneel herstel in het ruggenmerg teweegbrengen en regeneratie bevorderen.

Auteur, jaartal	Pedro-score	Design Populatie (N)	Stamcel	Meetinstrumenten	Doel	Resultaten/ Conclusies
Dobkin et al., 2006	n.v.t.	Onafhankelijke observatiestudie Patiënten, N=7	OEC	MRI, ASIA	Vergelijking van verschillende reports over patiënten met cellulaire implantatie	In- en exclusiecriteria niet duidelijk afgebakend Celinjectie plaats correleert niet met de laesiehoogte Geen functionele sensomotorische en/ of autonome verbeteringen Procedure voldoet niet aan de internationale standaard voor veiligheid van een trial
Syková et al., 2006	3/10	Niet-gerandomiseerd e fase I/II studie Patiënten, N=20	Autogene beenmergcellen	MRI, ASIA, EP	Effect van therapie mbt veiligheid, therapeutisch tijdsbestek, implantatie strategie, functioneel herstel	Geen significante verbetering in motorscore bij chronische patiënten bij intraveneuze toediening Significante verbetering motorscores alle acute en één chronische patiënt(en) bij intra-arteriële transplantatie Geen significante sensorische verbetering bij patiënten in de acute, subacute en chronische fase
Yoon et al., 2007	6/10	Niet-gerandomiseerd e fase I/II studie Patiënten, N=35	Autogene beenmergcellen	MRI, ASIA, elektrofysiologische monitoring	Bepalen van het therapeutisch effect en de veiligheid van autogene beenmergcellen in patiënten	Acute en subacute fase vertonen neurologische verbetering van ASIA A->B->C Chronische fase geen verandering in de neurologische status 28.6% vertonen een niet significante verbetering van het ruggenmerg
Carvalho et al., 2008	8/10	RCT Wistar ratten, N=55	Autogene beenmergcellen (CD45+/CD34-)	BBB, Bloed lactaatconcentratie	De functionele effecten evalueren van autogene beenmergcellen in combinatie met oefentherapie	Er wordt een significante verbetering ($P<0.008$) gevonden voor zwemtraining met celtherapie tov staande training zonder celtherapie
Keirstead et al., 2005	9/10	RCT Volwassen ratten, N=64	HESC gedifferentieerd tot OPC	BBB, vier-parametrische bewegingsanalyse	Het effect bepalen van hESC op remyelinisatie in volwassen ratten. Tevens worden de effecten van transplantatie in de acute en chronische fase na het trauma vergeleken	Proefdieren die OPCs 7 dagen na het trauma ontvingen vertoonden verbeterde remyelinisatie en herstel van de motorfunctie. Proefdieren die OPCs 10 maanden na het trauma ontvingen vertoonden geen verbetering.
Yamada et al., 2007	8/10	RCT Volwassen en embryo muizen	Embryonale stamcellen	Immunocytochemische analyse Analyse intracellulaire CA2+ concentratie	Het effect van elektrische stimulatie op de differentiatie van ESCs	Milde elektrische stimulatie beïnvloedt de bestemming van ESCs richting neuronen De ESCs differentiëren sneller richting neuronen, dan wanneer er gebruik gemaakt wordt van groeifactoren

Tabel 1. Overzicht van de Randomized Controlled Trials

Discussie

Momenteel is niet vast te stellen welk type stamcel met betrekking tot functioneel herstel bij dwarslaesiepatiënten het beste resultaat oplevert. Om dit te bepalen dient meer onderzoek te worden gedaan naar het onderliggende fysiologische mechanisme van herstel bij dwarslaesies van het ruggenmerg. Tevens is nog veel onduidelijk over de gebruikte parameters bij stamceltherapie. Onderzoekers gebruiken verschillende technieken, implantatieroutes (intraveneus en intra-arterieel) en timeframes (het is nog onbekend wat de optimale tijd na het trauma is om celtransplantaties uit te voeren). Ook worden de resultaten op verschillende manieren geanalyseerd en is er geen eenduidige manier om functioneel herstel vast te stellen. In de beschreven onderzoeken wordt geen onderscheid gemaakt tussen de grote diversiteit aan aandoeningen die binnen één niveau op de ASIA-schaal voorkomen. Hierdoor worden een aantal aspecten met betrekking tot functioneel herstel gemist. Daarnaast zijn in de onderzoeken met patiënten, ook patiënten met ASIA B en/ of C geïnccludeerd. Daarnaast wordt geen rekening gehouden met de invloed van de spinale shock fase op herstel in de acute fase na het trauma. Dit geeft een vertekend beeld.

Doordat de onderzoeken met patiënten ethisch gezien, niet geblindeerd uitgevoerd kunnen worden is de Pedro-score relatief laag ten opzichte van onderzoeken met proefdieren. De onderzoeken met patiënten gebruiken een kleine populatie (N) en vaak wordt geen controlegroep gebruikt. Om dit dilemma te voorkomen is het mogelijk dat een patiënt met langer dan 6 maanden een dwarslaesie, als eigen controlegroep kan dienen. Aangezien de situatie/ functionele baseline dan gestabiliseerd is en de patiënt zijn/ haar lichaam het best kent (Steeves et al., 2004).

In de onderzoeken gebruikt voor deze literatuurstudie is de leeftijd van de proefdieren en/ of proefpersonen variabel. De leeftijd beïnvloedt de kwantiteit van endogene neurale cellen die mede bepalend zijn voor de overleving van neuronen in het ruggenmerg. In het onderzoek van Yoon et al. (2007) bijvoorbeeld heeft de subacute patiëntengroep een lagere gemiddelde leeftijd dan de acute en chronische groep. Dit leeftijdsverschil kan een bepalende factor voor functioneel herstel zijn.

Veel beschreven onderzoeken zijn verricht op knaagdieren. Nu blijken grote verschillen te

bestaan tussen het ruggenmerg van knaagdieren en het ruggenmerg van mensen. Ze verschillen bijvoorbeeld in de pathway van motorische systemen en het gedrag dat hiermee gepaard gaat. Het is daarom van belang om studies in niet-menselijke primaten te verrichten, voordat over wordt gegaan op clinical trials bij mensen (Courtine et al., 2007 in Barnabé-Heider 2008).

Op het congres in Vancouver vindt de meerderheid van de deelnemers dat hoe meer gevaar een behandeling teweeg kan brengen, hoe belangrijker het is dat getest wordt op grootschalige diermodellen, zoals honden, katten en primaten. (Steeves et al., 2004)

Het is nog lastig om dierproeven te vertalen naar praktisch gebruik van stamcellen in klinieken. Wanneer de effectiviteit van stamceltherapie grootschaliger is bewezen, is het noodzakelijk om stamceltherapie voor ziekenhuizen makkelijker verkrijgbaar te maken. Dit kan bijvoorbeeld door het opzetten van celbanken, daarnaast moeten de technieken zo simpel mogelijk gemaakt te worden. Hierdoor heeft stamceltherapie een grote kans om wereldwijd gebruikt te worden als therapie bij dwarslaesie van het ruggenmerg (Barnabé-Heider 2008).

Het belang om de bijeffecten en effecten van de stamceltherapie over een langere follow-up vast te stellen is groot. De beschreven studies hebben maximaal 2 jaar na implantatie testgegevens bijgehouden. Dit is kort, aangezien verwacht wordt dat de patiënten nog tientallen jaren blijven leven na de therapie. Daarbij is het toepassen van stamceltherapie bij patiënten met een thoracale laesie effectiever, aangezien eventuele bijeffecten minder invloed hebben dan bij cervicale laesie. Bij een cervicale laesie kunnen negatieve bijeffecten (bv syringomyelia) een verminderde handfunctie tot gevolg hebben. Het nadeel hiervan is dat patiënten met thoracale dwarslaesies in de minderheid zijn. Uit de variëteit aan methoden en celtypen moet uiteindelijk een bruikbare, effectieve therapie worden ontwikkeld om menselijke dwarslaesies van het ruggenmerg te behandelen. Een combinatie tussen neuroprotectie en neuroregeneratie lijkt een aanbeveling voor de toekomst.

Aanbevelingen

Het onderzoek naar stamceltherapie bij complete dwarslaesies van het ruggenmerg lijkt veelbelovend. Om in de toekomst te beoordelen wat de effecten en neveneffecten van de verschillende stamceltherapieën zijn, dienen onderzoeken opgezet te worden met een langere follow-up, waarbij objectieve meetinstrumenten gebruikt worden om het functioneel herstel te bepalen. Naast de ASIA-schaal kunnen tevens testen voor de autonome functies of testen, zoals de FIM worden gebruikt. De FIM beoordeelt de ADL-zelfstandigheid, aangezien functioneel herstel niet alleen wordt bepaald door verbeterde motoriek en sensoriek.

Eveneens moet meer onderzoek worden verricht naar stamceltherapie in combinatie met oefentherapie. Onderzoek van Carvalho et al. (2008) toont aan dat ratten een significante verbetering op functioneel herstel vertonen. Zwemtraining in combinatie met celtherapie levert betere resultaten op dan staande therapie in combinatie met celtherapie. Tevens heeft Behrman et al., 2006 aangetoond dat oefentherapie bij dwarslaesiepatiënten verbeteringen in loopvaardigheid laten zien.

Conclusies

Stamceltherapie bij chronische patiënten met een complete dwarslaesie van het ruggenmerg heeft geen effect op functioneel herstel. Bij patiënten in de acute en subacute fase lijkt stamceltherapie een verbetering op de ASIA-schaal te bewerkstelligen. Hierbij is lastig te bepalen of stamcellen verantwoordelijk voor het herstel zijn.

Dankwoord

Mijn dank gaat uit naar Dr. Peter van der Wurff, voor de onmisbare begeleiding, het enthousiasme en de kritische feedback op het artikel.

Gebruikte afkortingen: ASIA: American Spinal Injury Association, EP: Evoked Potential, OEC: Olfactory Ensheathing Cells, BBB: Basso, Beattie and Bresnahan locomotor rating scale, hESC: human Embryonic Stem Cell, OPC: Oligodendrocyte Progenitor Cell, BMSC: Bone Marrow Stromal Cell, NSPC: Neural Stem/Progenitor Cell, iPSC: Induced Pluripotent Stem Cell, FIM: Functional Independence Measurement

Referenties

- 1) Anderberg L., Aldskogius H., Holtz A.: *Spinal cord injury - scientific challenges for the unknown future*. Upsala J Med Sci, 2007; 112 (3): 259-288.
- 2) Asbeck F.W.A., e.a.: *Handboek dwarslaesierevalidatie*. Bohn Stafleu van Loghum, Houten, 2007.
- 3) Bambakidis N.C., Butler J. et al.: *Stem Cell Biology and Its Therapeutic Applications in the Setting of Spinal Cord Injury*. Neurosurg. Focus, 2008; 24 (3/4): E19; 1-7.
- 4) Barnabé-Heider F., Frisé J.: *Stem Cells for Spinal Cord Repair*. Cell Stem Cell, 2008; 3: 16-24.
- 5) Behrman A.L., Bowden M.G., Nair P.M.: *Neuroplasticity After Spinal Cord Injury and Training: An Emerging Paradigm Shift in Rehabilitation and Walking Recovery*. Physical Therapy, 2006; 86 (10): 1406-1425.
- 6) Carvalho K.A.T., Cunha R.C. et al.: *Functional Outcome of Bone Marrow Stem Cells (CD45+/CD34-) After Cell Therapy in Acute Spinal Cord Injury: In Exercise Training and in Sedentary Rats*. Transplantation Proceedings, 2008; 40: 847-849.
- 7) Devillard X., Rimaud D., et al.: *Effects of Training Programs for Spinal Cord Injury*. Annales de Réadaptation et de Médecine Physique, 2007; 50: 490-498.
- 8) Dobkin B.H., Curt A., Guest J.: *Cellular Transplants in China: Observational Study from the Largest Human Experiment in Chronic Spinal Cord Injury*. Neurorehabilitation and Neural Repair, 2006; 20 (1): 5-20.
- 9) Dumont A.S., Dumont R.J., Oskouian R.J.: *Will Improved Understanding of the Pathophysiological Mechanisms Involved in Acute Spinal Cord Injury Improve the Potentials for Therapeutic Intervention?* Current Opinion in Neurology, 2002; 15: 713-720.
- 10) Eftekharpour E., Karimi-Abdolrezaei S. et al.: *Current Status of Experimental Cell Replacement Approaches to Spinal Cord Injury*. Neurosurg. Focus, 2008; 24 (3/4): E18; 1-13.
- 11) Keirstead H.S., Nistor G. et al.: *Human Embryonic Stem Cell-derived Oligodendrocyte Progenitor Cell Transplants Remyelinate and Restore Locomotion after Spinal Cord Injury*. The Journal of Neuroscience, 2005; 25 (19): 4694-4705.
- 12) Lim P., Tow A.M.: *Recovery and Regeneration after Spinal Cord Injury: A Review and Summary of Recent Literature*. Annals Academy of Medicine, 2007; 36 (1): 49-57.
- 13) Liverman, C.T., e.a., *Spinal Cord Injury: Progress, Promise, Priorities*. The National Academies Press, Washington, D.C., 2005.
- 14) McDonald J.W.: *Repairing the Damaged Spinal Cord: From Stem Cells to Activity-Based Restoration Therapies*. Clinical Neurosurgery, 2004; 51: 1-21.
- 15) Schultz S.S.: *Adult Stem Cell Application in Spinal Cord Injury*. Current Drug Targets, 2005; 6: 63-73.
- 16) Steeves J., Fawcett J., Tuszynski M.: *Report of International Clinical Trials Workshop on Spinal Cord Injury*. February 20-21, 2004, Vancouver, Canada. Spinal Cord, 2004; 42: 591-597.
- 17) Syková E., Homola A. et al.: *Autologous Bone Marrow Transplantation in Patients With Subacute and Chronic Spinal Cord Injury*. Cell transplantation, 2006; 15: 1-100.
- 18) Thuret S., Moon L.D.F., Gage F.H.: *Therapeutic interventions after spinal cord injury*. Nature Reviews, Neuroscience, 2006; 7: 628-643.
- 19) Vaquero J., Zurita M.: *Bone Marrow Stromal Cells for Spinal Cord Repair: A Challenge for Contemporary Neurobiology*. Histology and Histopathology, 2009; 24: 107-116.
- 20) Yamada M., Tanemura K., et al.: *Electrical Stimulation Modulates Fate Determination of Differentiating Embryonic Stem Cells*. Stem Cells, 2007; 25: 562-570.
- 21) Yoon S., Shim Y. et al.: *Complete Spinal Cord Injury Treatment Using Autologous Bone Marrow Transplantation and Bone Marrow Stimulation with Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor: Phase I/II Clinical Trial*. Stem Cells Express, 2007; 25: 2066-2073.