

# „Terapeutické“ mezenchýmové kmeňové bunky v liečbe onkologických pacientov – pravda alebo omyl?

MUDr. Ján Lakota, CSc.<sup>1,2</sup>, prof. MUDr. Stanislav Špánik, CSc.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Biomedicínske centrum, Slovenská akadémia vied, Bratislava

<sup>2</sup>Oddelenie prípravy kmeňových buniek, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

<sup>3</sup>I. onkologická klinika, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

**Geneticky modifikované („terapeutické“) mezenchýmové kmeňové bunky (MSC) vykazujú na zvieracích modeloch veľmi sľubné terapeutické výsledky. Použitie „terapeutických“ MSC v liečbe onkologických pacientov je nielen neefektívne, ale pri systémovom podaní aj toxické.**

**Kľúčové slová:** „terapeutické“ MSC

**„Therapeutic“ mesenchymal stem cells in the treatment of oncological patients – truth or error?**

**On animal (rodent) models the genetically modified („therapeutic“) mesenchymal stem cells (MSCs) exhibit very interesting therapeutic results. However, the application of the „therapeutic“ MSC in the treatment of the oncological patients is ineffective, and by i.v. application rather toxic.**

**Key words:** „therapeutic“ MSC

Onkológia (Bratisl.), 2018;13(1):66-67

## Úvod

Mezenchýmové kmeňové bunky alebo mezenchýmové stromálne bunky (MSC) boli „objavené“ v roku 1966 v kostnej drene (1). Tento druh kmeňových buniek je iný ako kmeňové krvotvorné bunky. Je možné skonštatovať, že MSC sa v ľudskom organizme nachádzajú všade. Bez nich by nefungoval nijaký orgán. MSC sa izolujú pomerne jednoducho z kostnej drene (2), z tuku, z tkaniva pupočníka, zo zubnej drene, z menštruačnej krvi, kože. Pre praktické využitie v regeneračnej medicíne sú významné prvé tri lokalizácie. Pestovanie a rast v tkanivových kultúrach, teda *in vitro*, sú relatívne veľmi jednoduché (2). Pre komplexný prehľad odporúčame rozsiahlu monografiu (1).

## Využitie MSC na zvieracích modeloch pri liečbe nádorov

Pri skúmaní vlastností MSC sa zistilo, že u hlodavcov (myši, potkany) tieto bunky po systémovom podaní putujú priamo do nádoru (3). Ako experimentálny model boli použité nahé (nude) myši (tzv. xenograftový model). To znamená, že týmto myšiam (ktoré nemajú prakticky nijaký imunitný systém) boli „naočkované“ ľudské nádorové bunky malígneho

melanómu. Do MSC izolovaných z kostnej drene zdravých ľudských darcov bol vpravený adenovírusový vektor, ktorý kodoval syntézu interferónu beta. Takto sa získali geneticky modifikované MSC. Pri spoločnom podaní buniek spomenutého malígneho melanómu (A375) a geneticky modifikovaných MSC sa zistilo, že MSC putujú priamo do nádoru. Tu uvoľňujú interferón beta, ktorý nádorové bunky zabíja (3). Tento model bol overený neskôr aj na bunkách karcinómu ovária (4). V roku 2007 bola publikovaná práca, ktorá popisovala vloženie iného génu, a to génu kódujúceho enzým cytozindeaminázu do MSC získaných z ľudského tukového tkaniva (5). Samotný gén pochádzal z kvasiniek. Enzým cytozindeamináza je schopný konvertovať relatívne netoxický 5-fluorocytosín na cytostatikum 5-fluorouracil. Takéto geneticky modifikované MSC boli nazvané „terapeutické“ MSC. V prítomnosti 5-fluorocytosínu MSC so zabudovaným génom produkujú do okolia (médium, mikroprostredie nádoru) 5-fluorouracil. Ide o tzv. samovražednú bunkovú terapiu – MSC po konverzii 5-fluorocytosínu na 5-fluorouracil zomrú tiež. Autori znovu pozorovali (a potvrdili) putovanie MSC do miesta nádoru (v tomto prípade iš-

lo o bunkovú líniu karcinómu hrubého čreva – HT29) v modeli testovaného na imunokompromitovaných myšiach. Zároveň nastala aj eradikácia nádoru (5). O niečo neskôr sa objavila práca, v ktorej autori popisujú efekt ľudských MSC na bunky potkanej línie C6 gliómu (glioblastómu), ako aj ich migráciu do nádoru pri C6 glióme u potkana (6). Tu treba poznamenať, že jedna „terapeutická“ MSC dokáže v podmienkach *in vitro* (v tkani-  
vových kultúrach) zabiť maximálne 5 – 10 nádorových buniek (6). Ďalšia paradigma, opakovane pertraktovaná v odbornej literatúre, sa týka osudu MSC vpravených do krvného riečiska (7). Samotná práca (7) a prakticky všetky citácie v nej uvedené prezentujú výsledky získané na hlodavcoch, dominantne na myšiach. Podľa týchto zistení sa prakticky všetky MSC po i.v. podaní u zvierat zachytávajú v pľúcnom riečisku.

## „Terapeutické“ MSC v humánnej medicíne

V súčasnosti existuje trend tieto experimentálne pozorovania získané na imunokompromitovaných hlodavcoch mechanicky generalizovať a aplikovať aj na človeka. Čo sa týka „zachytenia“ buniek po intravenóznom podaní

v pľúcnom riečisku, u človeka nikdy nebol pozorovaný a potvrdený. Jeden z autorov (JL) uskutočnil vyše 1 300 transplantácií (alogénnych a autológnych) kmeňových krvotvorných buniek. Všetky transplantáty boli podávané intravenózne do centrálného venózneho katétra (CVK). Ani v jednom prípade nebol pozorovaný nijaké „zачytenie“ v pľúcnom riečisku. Veľmi zriedkavo (približne v jednom prípade na 50 podaní) vznikali v pľúcach drobné emboly. Klinicky sa prejavovali miernou dýchavičnosťou či opresiami na hrudníku. Po niekoľkých sekundách, vďaka fibrinolytickému systému, vymizli. Pri podávaní MSC do krvného riečiska (teda i.v.) nebol u pacientov pozorovaný nijaký príznak embolizácie (citácia 8 a nepublikované pozorovania). Napriek tomuto (či práve preto) bol uskutočnený klinický experiment, v ktorom boli „terapeutické“ MSC podané systémovo (i.v. do CVK) u pacienta, ktorý mal pľúcne metastázy pri základnej diagnóze karcinómu jazyka. U pacienta bola konkomitantná terapia 5-fluorocytosínom (9). V tomto prípade „terapeutické“ MSC vôbec neputovali do nádoru, ale takmer isto skončili v kostnej dreni, pričom vyvolali trombopéniu, resp. neutropéniu gr. II, resp. gr. III (9). Tento „terapeutický“ efekt priamo ohrozil život pacienta. Pacient dovtedy nepodstúpil nijakú chemoterapiu. Je pravdepodobné, že práve takáto „panenská“ kostná dreň zmiernila možný toxickejší efekt terapie. Ako potvrdilo CT vyšetrenie hrudníka (d+6 po podaní „terapeutických“ MSC), podanie „terapeutických“ MSC vôbec neovplyvnilo veľ-

kosť metastáz. Naopak, po niekoľkých týždňoch bola u pacienta pozorovaná progresia pľúcnych metastáz (9). O tom, že MSC neputojú u človeka do iných častí nádoru (alebo metastáz) ani pri lokálnom (teda nie systémovom) podaní, svedčia aj ďalšie (nepublikované) výsledky autorov. V tomto prípade išlo o pacientku s metastatickým karcinómom vajčkovodu, s metastázami v hepate, retroperitoneu a v brušnej stene. „Terapeutické“ MSC boli podané lokálne do dvoch metastáz v brušnej stene. Po podaní „terapeutických“ MSC (a konkomitantnom systémovom podávaní 5-fluorocytosínu) nastala čiastočná (nie úplná) nekroza oboch metastáz. Metastázy v hepate, retroperitoneu sa vôbec nezmenili, postupne progredovali a pacientka exitovala za príznakov hepatálneho zlyhania. „Terapeutické“ MSC nikam neputovali (teda do iných metastáz), spôsobili len parciálnu nekrozu metastáz v brušnej stene (teda tam, kam boli podané).

### Záver

Vyššie opísané poznatky sú zhrnuté do nasledovných bodov:

1. „Terapeutické“ MSC u človeka neputojú do nádoru či jeho metastáz, a to ani pri systémovom, ani pri lokálnom podaní.
2. „Terapeutické“ MSC u človeka pri systémovom podaní putujú do kostnej drene. Tu sú schopné („terapeuticky“) spôsobiť jej čiastočný útlm. Stupeň útlmu je pravdepodobne závislý od dávky buniek a predliečivosti pacienta.

3. „Terapeutické“ MSC sa u človeka po i.v. podaní v nijakom prípade nezachytávajú v pľúcnom riečisku.
4. Akékoľvek mechanické prenášanie výsledkov získaných na myšách či potkaních modeloch je podľa nášho názoru neprípustné a nebezpečné pre pacienta.

### Literatúra

1. Atkinson K. The Biology and Therapeutic Application of Mesenchymal Cells, Wiley- Blackwell; 1st edition, 2017.
2. Koç O, Gerson S, Cooper B, et al. Rapid hematopoietic recovery after co-infusion of autologous culture-expanded human mesenchymal stem cells (hMSCs) and PBPCs in breast cancer patients receiving high dose chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2000;18(2):307-316.
3. Studeny M, Marini FC, Champlin RE, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells as vehicles for interferon-beta delivery into tumors. *Cancer Res.* 2002;62(13):3603-3608.
4. Dembinski JL, Wilson SM, Spaeth E, et al. Tumor stroma engraftment of gene-modified mesenchymal stem cells as anti-tumor therapy against ovarian cancer. *Cytotherapy.* 2013;15(1):20-32.
5. Kucerova L, Altanerova V, Matuskova M, et al. Adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells mediated prodrug cancer gene therapy. *Cancer Res.* 2007;67(13):6304-6313.
6. Altanerova V, Cihova M, Babic M, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells expressing yeast cytosine deaminase::uracil phosphoribosyltransferase inhibit intracerebral rat glioblastoma. *Int J Cancer.* 2012;130(10):2455-2463.
7. Eggenhofer E, Luk F, Dahlke MH, et al. The life and fate of mesenchymal stem cells. *Front Immunol.* 2014;5(5): article 148.
8. Lakota J, Dubrovackova M, Bohovic R, et al. Intracoronary mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2014;176(2):547-549.
9. Lakota J, Gocarova K, Spanik S. Treatment of metastatic head and neck cancer with mesenchymal stem cells combined with prodrug gene therapy. *Exp Oncol.* 2015;37(4):298.

### MUDr. Ján Lakota, CSc.

Biomedicínske centrum SAV  
Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava  
jan.lakota@savba.sk