

Amyotrofik Lateral Sklerozda Kök Hücre Uygulamaları

Stem Cell Applications in Amyotrophic Lateral Sclerosis

H. Özden Şener¹, Yeşim Parman², İhsan Şengün³, Filiz Koç⁴, Piraye Oflazer²

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Istanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

⁴Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Turk Norol Derg 2009;15:105-108

ÖZET

Amyotrofik lateral skleroz (ALS)'un ilerleyişini durdurabilmek ve mümkünse işlev kaybını geri döndürebilmek için üzerinde çalışılan tedavi metodlarından biri de kök hücre uygulamasıdır. Deneysel motor nöron hastalığı modellerinde bugüne kadar farklı metodlarla kök hücre uygulanmış; olumlu veya olumsuz olmak üzere birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. ALS'li hastalara kök hücre uygulaması ile ilgili, uluslararası indekslere giren dergilerde yayımlanmış az sayıdaki insan çalışmalarının sonuçları ya olumsuz ya da metodolojik olarak ciddi eksiklikleri bulunan çalışmalardır. ALS hastalığında kök hücre uygulamasının tedavi edici etkisi olup olmadığının insanda araştırılabilmesi için gerekli ve yeterli laboratuvar verisi veya klinik veri bugün mevcut değildir.

Anahtar Kelimeler: Kök hücreler, amyotrofik lateral skleroz, motor nöron hastalığı.

ABSTRACT

Stem Cell Applications in Amyotrophic Lateral Sclerosis

H. Özden Şener¹, Yeşim Parman², İhsan Şengün³, Filiz Koç⁴, Piraye Oflazer²

¹Department of Neurology, Faculty of Medicine, University of Ankara, Ankara, Turkey

²Department of Neurology, Istanbul Faculty of Medicine, University of Istanbul, Istanbul, Turkey

³Department of Neurology, Faculty of Medicine, University of Dokuz Eylül, İzmir, Turkey

⁴Department of Neurology, Faculty of Medicine, University of Cukurova, Adana, Turkey

Stem cell application is one of the potential treatment methods for seizing the progression of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and for returning motor function if ever possible. Several different methods of stem cell application have been performed in experimen-

tal motor neuron disease models; the beneficial effects of these studies are controversial. There are few stem cell studies on ALS patients reported in the literature. The results of these studies either negative or have serious methodological problems. There is no sufficient laboratory or clinical data for designing a stem cell application trial in ALS patients for today.

Key Words: Stem cells, amyotrophic lateral sclerosis, motor neuron disease.

Amyotrofik lateral skleroz (ALS) yaygın üst ve alt motor nöron dejenerasyonu ile seyreden, semptomların başlangıcından itibaren ortalama üç yıl içinde, genellikle solunum yetmezliğine bağlı olarak ölümlü sonuçlanan bir hastalıktır (1). Progresif motor nöron harabiyetine mikrogliyal aktivasyon, astrositoz, lenfosit infiltrasyonu ve dendritik hücreler eşlik etmektedir (2). Etiyopatogenezinde oksidatif stres ve glutamat eksitoksisitesi, viral enfeksiyonlar, otoimmün mekanizmalar, glial anormal aktivite, trofik faktörlerde azalma hipotezlerine dair farklı derecede kanıtlar mevcut ise de hastalığın nedeni bilinmemektedir (3).

Kesin ALS tanısı genellikle başlangıç semptomlarından itibaren 1-2 yıl gibi bir süre geçtikten sonra koyulabilir. Hastalığın bilinen tek tedavisi riluzoldür. Riluzol, bir glutamat antagonistidir. Bu ilacı kullanan hastalarda, kullanmayanlara göre ömür yaklaşık %20 uzamış olarak saptanmıştır (1). Başka ajanlarla bugüne kadar 20 civarında klinik çalışma yapılmıştır. Kimi moleküller hayvan çalışmalarında yüz güldürücü sonuçlar sağlasa da, insanda ALS'nin riluzolden bilinen başka bir tedavisi yoktur (4).

Hastalığın ilerleyişini durdurabilmek ve mümkünse işlev kaybını geri döndürebilmek için üzerinde çalışılan tedavi metodlarından biri de kök hücre uygulamasıdır. Kök hücrelerin kayıp motor nöronların yerini alarak nöral ağa entegre olması gerçekçi bir beklenti değildir. Umut edilen daha ziyade motor nöron ölümünün durmasıdır (5).

LABORATUVARDAKİ DURUM

ALS tedavi araştırmaları için kullanılan hayvan modeli SOD1^{G93A} farelerdir. SOD1 gen mutasyonu yaratılan bu farelerde insandaki ALS hastalığındakine benzer klinik ve histopatolojik bulgular ortaya çıkmaktadır. ALS'de kök hücre tedavisi çalışmalarında da bu fareler kullanılmaktadır.

Motor nöron hastalığı modelinde kök hücre çalışmalarında birbirinden farklı metodlar kullanılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir (6). Başlıca farklılıklar şu başlıklar altında sınıflanabilir:

- Modellerde sıçan, fare veya ışınlanmış fare kullanılmıştır.
- Kimi çalışmada presemptomatik, kiminde semptomatik hayvan kullanılmıştır.
- Her çalışmada farklı hücre kaynakları tercih edilmiştir: İnsan kortikal nöral kök hücre, insan servikal nöral kök hücre, insan mezenşimal kök hücre, insan umbilikal kord

kan hücresi, fare kemik iliği hücresi, fare embriyonik kök hücre, fare nöral kök hücre, Sertoli hücre, insan teratokarsinoma hücre.

- Kök hücre enjeksiyon yerleri farklıdır: Unilateral lomber omurilik (tek bölge), bilateral lomber omurilik (tek bölge), bilateral lomber omurilik (iki bölge), bilateral lomber omurilik (dört bölge), intratekal enjeksiyon, retrooküler enjeksiyon, intraperitoneal enjeksiyon.

- Enjekte edilen hücre miktarı her çalışmada farklıdır: 120.000, 50.000, 100.000, 60.000, 10.000, 20.000, 35.000.000, 5.000.000, 30.000.000, 75.000 hücre/bölge gibi değişik sayıda hücre kullanılmıştır.

- Çalışmalarda elde edilen histolojik değişiklikler farklıdır: Kimi çalışmada omurilikte yeni matür nöronlar izlenmiş, bu nöronların ilgili kasa ulaştığı görülmüştür. Kimi çalışmada tersine yeni matür nöron izlenmemiştir.

- Klinik sonuçlar farklıdır: Etkisiz, hastalık başlangıcında gecikme, ortalama ömürde uzama, paralizinin kısmen düzelmesi.

Doğrudan kök hücre nakli dışında, bir de büyüme faktörlerinin santral sinir sistemine ulaştırılması çalışmaları vardır ki bunlar daha umut vericidir. Bu amaçla yapılan laboratuvar çalışmalarında da benzer metod ve sonuç farklılıkları mevcuttur (6):

- Kimi çalışmada presemptomatik, kiminde semptomatik hayvan kullanılmıştır.

- Her çalışmada farklı faktörler nakledilmiştir: IGF-1, IGF-1 ve GAG, GDNF, VEGF, CNTF, CNTF ve BDNF, NT3, NT3 ve CNTF, CT-1, CT-1 ve GDNF.

- Nakil yolları farklıdır: İntramusküler, subkütan, intraperitoneal, intraserebroventriküler, intravenöz (IV).

- Enjekte edilen faktör miktarı ve enjeksiyon uygulama süresi her çalışmada farklıdır: 0.1 µg/kg'dan 5 mg/kg'a kadar ve bir seferden yedi aya kadar.

- Klinik sonuçlar olumludur; yine de birbirinden farklıdır: Hastalık başlangıcında gecikme, ortalama ömürde uzama, paralizinin kötüleşmesinin yavaşlaması.

Bu çalışmalar, kök hücre uygulamalarının başka tedavi yöntemleri ile kombine edilmesi halinde motor nöron hastalıklarında daha yararlı sonuçlar alınacağını düşündürmektedir. Bunlar arasında viral vektörlerle gen nakli, farmakolojik ajanlar, büyüme faktörleri nakli sayılabilir (7).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda elde edilen laboratuvar verileri, ALS'nin kök hücreyle tedavisi yolunda umut vericidir. Ancak, bu amaca ulaşabilmek için prelinik çalışmaların daha kesin sonuçlar vermesi gereklidir. İnsanda kök hücre etkinliği çalışmalarından önce güvenilirlik süreçleri, optimal doz ve uygulama yolu hakkında daha net verilere sahip olunmalıdır (8).

ALS HASTALARINDA KÖK HÜCRE UYGULAMALARINDA BUGÜNKÜ DURUM

ALS'li hastalara kök hücre uygulaması ile ilgili, uluslararası indekslere giren dergilerde yayınlanmış az sayıda çalışma mevcuttur (9-12). Bu çalışmalarda kullanılan yöntemler ve çalışmaların sonuçları ile ilgili başlıca değerlendirmeler şöyle sıralanabilir:

- Öncelikle, literatürdeki deneysel ALS kök hücre çalışmaları genellikle süperoksid dismutaz-1 (SOD1) mutasyonu fareler üzerinde yapılmıştır. SOD1-ALS ve sporadik ALS'de dejenerasyon mekanizmalarının aynı olduğuna dair kesin kanıtlar yoktur. Bu nedenle SOD1 hayvan modelinin bu çalışmalar için ideal model oluşturduğu net değildir. Ayrıca kök hücre transplantasyonu yapılan ALS'li hastalarda SOD1 mutasyonu olup olmadığına bakılmamıştır.

- İnsanda yapılmış çok az sayıdaki çalışmaya bakıldığında, araştırmalarda çalışmaya dahil edilme ve dışlama kriterleri açısından tam bir netlik sağlanamadığı görülmektedir. Çalışmaya alınan hastaların anamnez, nörolojik muayene ve laboratuvar verileri ışığında yeteri kadar irdelenmediği anlaşılmaktadır. Hastaların ALS-fonksiyonel değerlendirme skalası ışığında değerlendirilmediği, ayrıca zorlu vital kapasite, solunum fonksiyon testi, kan gazı, hastalık süresi, başlangıç yaşı, transplante edilen hücrelerin tipi ve konsantrasyonu gibi parametrelerin oldukça değişiklik gösterdiği görülmektedir. Kök hücre tedavisinden sonraki izlem sırasında ise, düzelmeye olduğu bildirilen hastaların yazarıda belirtilen klinik ve laboratuvar parametrelerinde ne gibi değişiklikler olduğu iyi dokümanite edilmemiş ve objektif veriler sunulmamıştır (13).

- Kök hücre implantasyonunun yeri ve transplantın verilmesi yolu açısından (örn. spinal, beyin, intratekal, IV veya intraarteryel yol vb.) tam fikir birliği yoktur. Ayrıca hangi kök hücrenin (örn. embriyonik kök hücre, erişkin kök hücre, hematopoietik kök hücre vb.) uygulanacağı, yöntemlerin birbirine üstünlüğü de netlik kazanmamıştır. Nitekim insanda yapılmış bazı çalışmalarda kemik iliği kökenli hücreler kullanılırken bir diğer çalışmada da modifiye olmamış hematopoietik kök hücreleri kullanılmıştır. Modifiye olmamış hematopoietik kök hücreleri ile yapılan bu çalışma, nöroinflamasyonu bastırmak ve gelecekte yapılacak olası gen tedavilerine ışık tutacak bir ön çalışmayı içermektedir. Ayrıca, hematopoietik kök hücre ile yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar ışığında yazarların yorumu, bu tedavinin ALS'li hastalarda halen olumlu olmadığı yönündedir.

- Kök hücre uygulaması sonrası yapılan hasta takipleri yeterli değildir. Bazı çalışmalarda tedavi sonrası hastaların bir kısmına hiç vizit yapılmadığı, bu hastalardan klinik gidış konusunda telefon ile bilgi alındığı bildirilmiştir.

- Kök hücre transplantasyonu yapıldıktan sonra kaybedilen hastaların bir kısmının hastalığın progresyonuna bağlı olarak kaybedildikleri, bazı hastaların ise infeksiyon nedeniyle öldükleri bildirilmiştir. Bu ölümlerin kök hücre transplantasyonu ile ilişkili olup olmadığı (en azından infeksiyon nedeniyle kaybedilen hastalarda) detaylı olarak irdelenmemiştir.

- Çalışmaya alınan ve kaybedilen hastaların hepsine postmortem inceleme yapılmamıştır. Dolayısıyla verilen kök hücrelerin sinir sisteminde ne gibi histopatolojik değişikliklere yol açtığı net olarak ortaya konamamıştır (14,15).

- Çalışmalar açık uçlu olup kontrol grupları oluşturulmamıştır.

- Appel ve arkadaşlarının çalışmasında hastalar, merkezin arşivindeki hastalardan cinsiyet, yaş, hastalık başlangıç yaşı, klinik tutulum şiddeti, zorlu vital kapasite gibi parametrelere göre eşleştirilen kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır (9). Bu çalışmada, IV yolla allojenik kök hücre uygulaması sonucunda kök hücrelerin omuriliğe ulaştığı gösterilmiştir. Yine de; hastaların yaşam süreleri uzamamıştır.

Konuya dünyadaki hasta dernekleri açısından bakıldığında da Dünya ALS Birliği (www.alsmndalliance.org), Amerikan Kas Hastalıkları Derneği ALS Birimi (www.alsmda.org), İngiliz ALS-MND Derneği (www.mndassociation.org) gibi kuruluşlarda ALS'de kök hücre uygulamalarının umut verici olduğu ancak uygulamanın bugün için bir tedavi olarak algılanamayacağı, bir tedavi olarak yerini alabilmesi için bilimsel çalışmaların sürmesi gerektiği konusunda hastalar uyarılmaktadır. Ayrıca, İngiltere Sağlık Bakanlığı 4 Aralık 2008 tarihinde yaptığı açıklama ile vatandaşlarını, uluslararası internet sayfaları aracılığı ile "kök hücre tedavisi" veya "kök hücre çalışmaları"na katılma çağrılarına karşı uyarılmıştır (<http://www.dh.gov.uk/en/PublicHealth/Scientificdevelopmentgeneticsandbioethics/Stemcell/index.htm>).

ALS'nin fatal bir hastalık olduğu göz önüne alındığında, cerrahi yolla omurilik içerisine kök hücre implantasyonunun tedavi edici etkisini ortaya koymak için, yalnızca cerrahi uygulanan kontrol grubu ile bir karşılaştırma yapmak da söz konusu edilmektedir. Bununla ilgili etik sorunlar henüz çözümlenmemiştir.

Yöntemin santral sinir sistemi hastalarında kullanımının emniyeti ile ilgili kuşkular vardır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi, torakal omurilik tam kesisi olan 12 hastaya embriyonik kök hücre kaynaklı oligodendrosit prekürsörlerinin implantasyonuna ilişkin bir faz I emniyet çalışmasına izin vermiş de, bu konudaki endişeler sürmektedir (16). Zira,

çok yeni bir makalede, embriyonik kök hücre implantasyonu uygulanan bir ataksi telenjektazi hastasında, verici kaynaklı tümör geliştiği bildirilmiştir (17).

Yapılan çalışmalardaki hasta sayısı ve sunulan veriler olumlu yorum yapmak için yeterli görülmemektedir. Mevcut hayvan deneyleri ve insan çalışmalarının sonuçları, ALS'li hastalarda kök hücre uygulamasına yönelik yeni insan çalışmaları için gerekli ve yeterli bilimsel temel oluşturmamaktadır. Her bir hasta için oldukça yüklü maliyet gerektiren bu uygulamaları bir tedavi protokolü olarak belirlemeden önce kök hücrelerin ALS'deki etkisini görmek için bu konuda iyi planlanmış, geniş bütçeli, etik ve kontrollü çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Ancak bundan da önce, yeni insan çalışmaları için, hayvan çalışmalarından daha net ve somut veriler sağlanması gerekmektedir.

SONUÇ

Hayvan çalışmalarında henüz deneysel motor nöron hastalığında kök hücre nakli için kullanılacak ideal bir yöntem (doz, uygulama yeri, kök hücre nitelikleri, nakil tekrar sayısı) belirlenebilmiş değildir. Az sayıdaki insan çalışmalarının sonuçları ya olumsuz ya da bilimsel olarak zayıf ve geçerlilikleri hakkında ciddi şüpheler uyandıran çalışmalardır. ALS hastalığında kök hücre uygulamasının, yalnız başına veya gen tedavisi, büyüme faktörleri nakli gibi diğer başka metodlarla birlikte kullanılmasının tedavi edici etkisi olup olmadığının insanda araştırılabilmesi için gerekli ve yeterli laboratuvar verisi veya klinik veri bugün mevcut değildir. Bu nedenlerle mevcut bilimsel veriler ışığında bugün için "ALS'li hastalarda kök hücre uygulaması" deneyine başlamak uygun değildir.

KAYNAKLAR

1. Eisen A. Amyotrophic lateral sclerosis: A 40-year personal perspective. *Clin Neurosci* 2009;16:505-12.
2. Henkel JS, Engelhardt JI, Siklós L, Simpson EP, Kim SH, Pan T, et al. Presence of dendritic cells, MCP-1, and activated microglia/macrophages in amyotrophic lateral sclerosis spinal cord tissue. *Ann Neurol* 2004;55:221-35.
3. Bruijn LI, Miller TM, Cleveland DW. Unraveling the mechanisms involved in motor neuron degeneration in ALS. *Annu Rev Neurosci* 2004;27:723-49.
4. Miller RG, Bouchard JP, Duquette P, Eisen A, Gelinis D, Harati Y, et al. Clinical trials of riluzole in patients with ALS. *ALS/Riluzole Study Group-II. Neurology* 1996;47(Suppl 2):86-90.
5. Kim SU, de Vellis J. Stem cell-based cell therapy in neurological diseases: A review. *J Neurosci Res Early View (Articles online advance of print)* 2009 Mar 19.
6. Hedlund E, Hefferan MP, Marsala M, Isacson O. Cell therapy and stem cells in animal models of motor neuron disorders. *Eur J Neurosci* 2007;26:1721-37.
7. Lepore AC, Maragakis NJ. Targeted stem cell strategies in ALS. *Neurochem Int* 2007;50:966-75.
8. Garbuzova-Davis S, Sanberg PR. Feasibility of cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol* 2009;216:3-6.
9. Appel SH, Engelhardt JI, Henkel JS, Siklos L, Beers DR, Yen AA, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 2008;71:1326-34.
10. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, Vassallo E, Oliveri G, Nasuelli N, et al. Stem cell treatment in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 2008;265:78-83.
11. Deda H, Inci MC, Kürekçi AE, Sav A, Kayihan K, Özgün E, et al. Treatment of amyotrophic lateral sclerosis patients by autologous bone marrow-derived hematopoietic stem cell transplantation: A 1-year follow-up. *Cytotherapy* 2009;11:18-25.
12. Martinez HR, Gonzalez-Garza MT, Moreno-Cuevas JE, Caro E, Gutierrez-Jimenez E, Segura JJ. Stem-cell transplantation into the frontal motor cortex in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Cytotherapy* 2009;11:26-34.
13. Bek S, Kasikci T, Odabasi Z. Reinnervation cannot be interpreted as an indicator of electrophysiologic improvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Cytotherapy* 2009;11:256-7.
14. Badayan I, Cudkovic ME. Is it too soon for mesenchymal stem cell trials in people with ALS? *Amyotroph Lateral Scler* 2008;9:321-2.
15. Mazzini L, Vercelli A, Mareschi K, Ferrero I, Testa L, Fagioli F. Mesenchymal stem cells for ALS patients. *Amyotroph Lateral Scler* 2009;10:123-4.
16. Patoine B. Nerve Center: Stem cells surge forward to clinical trials, but fears remain. *Ann Neurol* 2009;65:9-11.
17. Amariglio N, Hirshberg A, Scheithauer BW, Cohen Y, Loewenthal R, Trakhtenbrot L, et al. Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient. *PLoS Med* 2009;6:e1000029.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Prof. Dr. H. Özden Şener

İbn-i Sina Hastanesi Nöroloji Bölümü

K-3 06100 Sıhhiye, Ankara/Türkiye

E-posta: senerozden@gmail.com

geliş tarihi/received 23/07/2009

kabul edilmiş tarihi/accepted for publication 06/08/2009