

Magdalena Justyna Kacperska,
Dominika Książek-Winiarek,
Karol Jastrzębski, Andrzej Głąbiński

Received: 03.06.2013

Accepted: 12.06.2013

Published: 28.06.2013

Próby wykorzystania komórek macierzystych w terapii wybranych chorób układu nerwowego

The attempts to use stem cells in the therapy of selected disorders of the nervous system

Klinika Neurologii i Epileptologii z Oddziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Adres do korespondencji: Klinika Neurologii i Epileptologii z Oddziałem Udarowym, Uniwersytet Medyczny w Łodzi,
ul. Żeromskiego 113, 90-549 Łódź, e-mail: magda-kacperska@o2.pl

Praca finansowana przez UM w Łodzi z zadania badawczego nr 502-03/5-062-01/502-54-111

Streszczenie

Do drugiej połowy XX wieku panował pogląd, że po okresie rozwoju ośrodkowy układ nerwowy pozbawiony jest jakiegokolwiek zdolności regeneracyjnej, a neurogeneza (*neurogenesis*, „narodziny neuronów”) wieku dorosłego (postnatalnego) z całą pewnością nie istnieje. Odkrycie w dojrzałym mózgu aktywnych proliferacyjnie nerwowych komórek macierzystych (*neural stem cells*, NSCs) otworzyło nowe możliwości między innymi dla neurologii. Proces neurogenezy osób dorosłych jest unikatowym zjawiskiem i odgrywa znaczącą rolę w różnych procesach. Wiele obserwacji wskazuje także na to, że proces neurogenezy może wspomagać odpowiedź formacji hipokampa na stres i zapobiegać między innymi wystąpieniu depresji. W chwili obecnej w mózgu dorosłych ssaków zidentyfikowano trzy obszary, gdzie mają miejsce procesy proliferacji komórkowej. Są to: strefa przykomorowa (*subventricular zone*, SVZ), strefa przyziarnista (*subgranular zone*, SGZ) oraz tylna strefa okołokomorowa (*posterior periventricular area*, PPv). Tkanką podlegającą bardzo sprawnej regeneracji jest układ krwionośny. Jest to przeciwieństwo układu nerwowego, który przez to, że jest bardzo skomplikowanym systemem biologicznym pod względem cytoarchitektury, sieci neuronalnej, lokalizacji ośrodków funkcjonalnych oraz integracji, posiada słabą zdolność do regeneracji. Zaburzenia tak złożonego systemu są widoczne w takich schorzeniach ośrodkowego układu nerwowego, jak: stwardnienie rozsiane, udar niedokrwienny mózgu, choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, stwardnienie zanikowe boczne czy guzy mózgu. Naukowcy nie poprzestali na identyfikacji komórek macierzystych w mózgu, prowadzonych jest obecnie wiele badań poświęconych potencjalnemu wykorzystaniu komórek macierzystych o różnym pochodzeniu w nowych terapiach regeneracyjnych chorób ośrodkowego układu nerwowego.

Słowa kluczowe: neurogeneza, komórki macierzyste, ośrodkowy układ nerwowy, regeneracja, pozyskiwanie komórek macierzystych

Summary

Until the second half of the twentieth century there was a view that central nervous system, after its evolution, was unable to any further regeneration. Moreover, it was said that neurogenesis (the development of nerve tissues) of an adult (postnatal) did not exist. However, in the course of time, some findings indicated that the process of new neurons was continuously formed in mature brains of primates as well as human beings. A breakthrough discovery of active, proliferating neural stem cells existing in a fully developed brain has given grave possibilities

to modern neuroscience. The process of neurogenesis among adults is an extraordinary phenomenon. It plays an important role in a few processes. There is also evidence that neurogenesis may help answer the hippocampus to stress and prevent any onset of depression. Nowadays, it is identified to be three areas in the adult mammalian brain where processes of cell proliferation take place. These areas are: subventricular zone (SVZ), subgranular zone (SGZ) and posterior periventricular area (PPv). By excessive forming new tissues circulatory system is the opposite to the nervous system. Although the latter is the complex biological system with its cytostructure, neural network, the location of the functional centers and its integration it has a poor ability to regeneration. Because of the complexity of the central nervous system a few disorders can be distinguished such as: multiple sclerosis, ischemic stroke, Alzheimer's disease, Parkinson's disease or brain tumors. At present stem cells are matters of interest to scientists. Not only are stem cells being observed by researchers but also they are to be conducted studies on. The end result of these findings could be primarily usable for CNS regenerative therapies.

Key words: neurogenesis, stem cells, central nervous system, regeneration, stem cell isolation

WSTĘP

Najnowsze osiągnięcia w badaniach nad komórkami macierzystymi potwierdzają ich ogromny potencjał w różnych dziedzinach nauki, szczególnie widoczny w medycynie. Wszystkie terapie oparte na wykorzystaniu komórek macierzystych zakładają wymianę wszelkich starych, uszkodzonych i „zepsutych” komórek nerwowych na nowe. Zaangażowane są one również w regenerację poszczególnych tkanek i organów. Jednocześnie wiadomo, że komórki macierzyste niosą ze sobą ogromny potencjał terapeutyczny w przypadku leczenia między innymi chorób genetycznych i zwyrodnieniowych. Po wcześniejszej modyfikacji genetycznej mogą być również wykorzystywane jako komórki dostarczające leki do uszkodzonych tkanek czy organów. Obecnie najważniejsze wydaje się zoptymalizowanie warunków izolacji, ekspansji i różnicowania się ludzkich komórek macierzystych w poszczególne komórki wyspecjalizowane. Terapie komórkowe ośrodkowego układu nerwowego (OUN) uznawane są za znaczące terapie ułatwiające powrót do prawidłowego funkcjonowania organizmu po jego uszkodzeniu^(1,5). Komórki macierzyste dają możliwość rozległych badań *in vitro* i *in vivo* prowadzących do zmniejszenia ryzyka terapii w praktyce klinicznej. Obecnie istnieje coraz więcej schorzeń neurologicznych, w których poczyniono pierwsze kroki dotyczące terapii komórkami macierzystymi. Liczne badania potwierdzają rolę komórek macierzystych w procesach regeneracyjnych w przypadku nieuleczalnych dotychczas chorób neurologicznych. Pojawiają się również doniesienia o roli naprawczej komórek macierzystych między innymi szpiku kostnego⁽⁶⁾. Wykazano, iż komórki macierzyste mogą odgrywać rolę wspomagającego źródła czynników troficznych w przypadku uszkodzonej tkanki nerwowej⁽⁶⁾. Podawanie komórek macierzystych bezpośrednio do mózgu, dotętniczo lub dożylnie jest jedną ze stosowanych obecnie metod. Inną wypróbowywaną metodą jest stymulacja i mobilizacja komórek macierzystych poprzez podawanie różnych cytokin, np. G-SCF (czynnik stymulujący

kolonie granulocytarne), chemokin, np. SDF-1, ale również czynników troficznych i wzrostowych, np. EPO (erytropoetyna), BDNF (mózgowy czynnik neurotroficzny) i GDNF (glejowy czynnik neurotroficzny)⁽⁶⁾. Nerwowe unipotentne komórki macierzyste zlokalizowane są w układzie nerwowym między innymi w endymie oraz w nabłonku węchowym. Wykazano, iż w przypadku ostrego lub przewlekłego uszkodzenia tkanki nerwowej w obrębie OUN dochodzi do patofizjologicznego uaktywnienia pewnej „zdeponowanej” puli komórek macierzystych w celach regeneracyjnych⁽⁷⁾. Jest to widoczne w naprawie uszkodzonych struktur u noworodków i małych dzieci, ale również u osób starszych⁽⁷⁾. Zauważono, że u pacjentów w starszym wieku, np. po udarze niedokrwinnym, w chorobie Parkinsona czy Alzheimerza dochodzi do znacznej poprawy stanu klinicznego bez interwencji terapeutycznej, co wskazuje na obecną aktywność komórek macierzystych u osób w tym wieku⁽⁷⁾. Świadczyć to może o tym, iż w organizmie znajduje się pula komórek macierzystych, które uaktywniają się w stanach patologicznych. Poniżej zostaną przedstawione wybrane schorzenia neurologiczne, w których próbowano stosować bądź już zastosowano terapie komórkami macierzystymi.

KOMÓRKI MACIERZyste

Każdy sprawnie funkcjonujący i w pełni wykształcony organizm, narząd lub tkanka powstaje z komórek macierzystych (*stem cells*, SC). Jest to specyficzny rodzaj komórek posiadający jedyną w swoim rodzaju zdolność do samoodnowy i proliferacji. Cechą charakterystyczną SC jest zdolność do podziałów przez bardzo długi czas. Wiemy, że większość komórek ciała, np. komórki skóry, serca, nerek, jest wyspecjalizowana w pełnieniu konkretnej dla organizmu funkcji. SC pozostają niewyspecjalizowane, dopóki nie otrzymają odpowiedniego sygnału. Nim tak się stanie, przechodzą kilka etapów pośrednich (plastyczność, potencja). Największą plastyczność wykazują komórki embrionalne – pluripotentne (mogą

z nich powstać komórki wszystkich tkanek budujących nasz organizm). Ogromny potencjał i właściwości komórek macierzystych sprawiły, że znalazły one zastosowanie w medycynie regeneracyjnej, w leczeniu śmiertelnych i opornych na tradycyjne leki chorób oraz w inżynierii tkankowej. Z powodu tak szerokiego spektrum zastosowania pojawiło się wiele problemów związanych z ich wykorzystaniem, m.in. działania niepożądane, takie jak powstawanie tkanek nowotworowych.

Komórki macierzyste stanowią rezerwar komórek o różnym stopniu rozwoju, potencjalności oraz zróżnicowania i dlatego kwalifikujemy je do trzech grup, obejmujących komórki: embrionalne, płodowe i dorosłego człowieka (tabela 1).

Komórki macierzyste embrionalne, szczególnie w pierwszych stadiach rozwoju, mają ogromne możliwości różnicowania. Każda z tych komórek posiada zdolność do utworzenia całego organizmu. Komórki macierzyste multipotentne mogą się różnicować w tkanki i narządy w obrębie jednego z trzech listków zarodkowych. Po narodzinach człowieka w jego organizmie są obecne komórki macierzyste somatyczne, które wykazują zdolność do odtwarzania komórek w obrębie danej tkanki⁽⁸⁾.

Komórki macierzyste krążą wraz z krwią po całym organizmie pomiędzy zgrupowaniami danej tkanki, zlokalizowanymi w różnych odległych od siebie miejscach. Zasadlają one tak zwane nisze (gniazda), głównie w szpiku kostnym, i mogą ze sobą o daną niszę konkurować. Migracja SC w obrębie ludzkiego organizmu jest regulowana poprzez interakcję chemokina – receptor chemokiny⁽⁹⁾. Liczba krążących komórek macierzystych może ulegać zmianom, np. być zwiększona przez uwalnianie ich ze szpiku kostnego do krwi obwodowej w odpowiedzi na fizjologiczny lub patofizjologiczny stres (ćwiczenia fizyczne, uraz, stan zapalny czy uszkodzenie narządu). Między innymi podczas udaru mózgu dochodzi do uwolnienia komórek macierzystych tkanki nerwowej z odległych miejsc, przede wszystkim ze szpiku kostnego, który stanowi zdecydowanie największy rezerwar SC⁽⁸⁻¹¹⁾. Komórki te są przyciągane do uszkodzonej tkanki przez uwalnianie w miejscu uszkodzenia specyficzne mediatorzy (np. cytokiny, interleukiny, chemokiny i inne). Jak wykazano, mogą one brać aktywny udział w fizjologicznych

mechanizmach jej regeneracji. Ostatnio w celach terapeutycznych zaczęto wykorzystywać możliwość sztucznego zwiększenia puli krążących SC we krwi obwodowej za pomocą farmakologicznych środków indukujących ich mobilizację⁽¹²⁾. Komórki macierzyste w miarę dojrzewania i nabywania określonych, specyficznych cech tracą możliwość proliferacji i zmiany „toru” swojego rozwoju. Stają się z czasem w pełni zróżnicowanymi i niemitycznie komórkami tkanki docelowej.

Szpiczek kostny zasiedlany jest także przez komórki macierzyste mezenchymalne (niehematopoetyczne). To one stanowią źródło największego zainteresowania naukowców, gdyż są najmniej poznane⁽¹³⁾. Wiedza o możliwościach i metodach ukierunkowywania rozwoju niehematopoetycznych komórek macierzystych w określony, wybrany przez nas sposób pozwoliłaby na utworzenie niezliczonych rozwiązań terapeutycznych. Nie ulega wątpliwości, iż specyficzne ukierunkowanie różnicowania SC mogłoby pomóc osobom z różnego rodzaju schorzeniami, w tym pacjentom z chorobami neurologicznymi.

SPOSOBY POZYSKIWANIA KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Wiedza o komórkach macierzystych zdobywana jest głównie dzięki badaniom *in vivo*. Komórki macierzyste pozyskuje się bardzo często z hodowli *in vitro*, co wzbudza niekiedy etyczne kontrowersje. Wykazano, że ludzkie komórki macierzyste (SC) mogą być otrzymywane z:

- embrionów uzyskiwanych metodą zapłodnienia *in vitro*;
- embrionów uzyskiwanych metodą klonowania;
- tkanki płodu po poronieniu czy aborcji;
- krwi pępowinowej podczas porodu;
- organizmu ludzkiego, w którym występują komórki macierzyste dojrzałe⁽¹⁴⁾.

Pojawiają się też doniesienia o możliwości pobierania komórek macierzystych na drodze autopsji⁽¹⁵⁾.

Dużym zainteresowaniem badawczym cieszą się komórki pochodzące z wczesnych embrionów, tj. w stadium blastocysty. Blastocysta składa się z trofoblastu i wężła zarodkowego (embrioblast). Z komórek wężła zarodkowego ssaków uzyskuje się hodowle zarodkowych komórek macierzystych. Posiadają one cechę toti- lub pluripotencjalności,

Komórki macierzyste		
Embrionalne	Płodowe	Dojrzałe
Komórki wewnętrznej warstwy blastocysty	Komórki płynu owodniowego	Komórki tkanki tłuszczowej
	Komórki łożyskowe	Komórki szpiku kostnego
	Komórki krwi pępowinowej	Komórki tkankowo-specyficzne
	Komórki tkankowo-specyficzne (wątroby, szpiku kostnego)	

Tabela 1. Podział komórek macierzystych ze względu na pochodzenie

a w przypadku klonowania są immunologicznie zgodne z dawcą jądra. Daje to możliwość zastosowania ich u tego dawcy (w celach regeneracyjnych czy terapeutycznych)⁽¹⁴⁾. Rozwijająca się wiedza o komórkach macierzystych podważyła panujący dotąd pogląd, że raz „ukierunkowana” komórka nie jest w stanie w żaden sposób zmienić swojego zdeterminowania^(16,17).

Bardzo łatwo dostępnym źródłem komórek macierzystych jest krew pępowinowa, pozostająca po porodzie w naczyniach łożyska i łożyskowej części pępowiny^(18,19). Komórki macierzyste z krwi pępowinowej są na obecnym etapie rozwoju nauki o wiele trudniejsze do uzyskania czy zastosowania klinicznego niż embrionalne komórki macierzyste. Wykorzystanie tych komórek nie budzi jednak jakichkolwiek zastrzeżeń etycznych. Innym sposobem pozyskiwania komórek macierzystych jest – kontrowersyjne z powodów etycznych – klonowanie embrionów ludzkich. Embrionalne komórki macierzyste pozyskuje się z 5- lub 6-dniowych płodów, tworzących w tym okresie rozwoju blastocystę⁽²⁰⁾. Komórki zewnętrzne blastocysty utworzą łożysko, a komórki wewnętrzne to te, które dadzą początek wszystkim tkankom i narządom ustroju.

Komórki macierzyste embrionów otrzymywane metodą zapłodnienia *in vitro* wymagają pokonania bariery zgodności tkankowej u ewentualnych biorców przeszczepów. Obecnie zainteresowano się klonowaniem embrionów metodą wymiany jądra, czyli wprowadzenia w miejsce jądra komórki jajowej jądra pobranego z komórek dawcy⁽²¹⁾. Jako argumenty na rzecz klonowania przywołuje się przewidywane olbrzymie korzyści terapeutyczne dla milionów ludzi dotkniętych nieuleczalnymi chorobami^(22,23). Z punktu widzenia etyki tego typu metody uzyskiwania i wykorzystywania komórek macierzystych budzą jednak liczne zastrzeżenia, dlatego większość badaczy opowiada się za prowadzeniem tego typu eksperymentów na zwierzętach. W przypadku pozyskiwania komórek macierzystych dojrzałych sytuacja jest odmienna, gdyż znajdują się one w wyształconych tkankach. Występują głównie w takich narządach, jak szpik kostny, naczynia krwionośne, krew obwodowa, skóra, wątroba oraz mięśnie szkieletowe. Uzyskane z nich komórki, niezależnie od ich typu, poddaje się hodowaniu w ściśle określonych warunkach laboratoryjnych, umożliwiających im wzrost oraz prawidłowy rozwój. Komórki macierzyste są przechowywane w specjalnych bankach. Wymagane jest, aby były one pobrane w odpowiedni sposób i właściwie zamrożone. Daje to możliwość przechowywania ich przez bardzo długi okres. W Polsce kilka lat temu Komitet Badań Naukowych przyjął stanowisko w sprawie badań nad komórkami macierzystymi i wykorzystania ich w medycynie⁽²⁴⁾.

KOMÓRKI MACIERZYSTE A UKŁAD NERWOWY

Ośrodkowy układ nerwowy to skomplikowany system, a regeneracja tkanki nerwowej jest procesem silnie

ograniczonym, regulowanym głównie przez właściwości środowiska tkankowego. Komórki macierzyste rozwijającego się mózgu dają początek trzem subpopulacjom komórkowym OUN: neuronom, astrocytom i oligodendrocytom. Nerwowe komórki macierzyste (*neural stem cells*, NSCs) proliferują w strefie komorowej, a następnie podkomorowej (*subventricular zone*, SVZ) w sposób ciągły, w dalszej kolejności zaś migrują poprzez rostralny strumień do nabłonka węchowego. Aktualnie prowadzi się wiele badań nad komórkami macierzystymi o różnym pochodzeniu, głównie w celach terapeutycznych i regeneracyjnych dla OUN. Obecne w szpiku kostnym komórki macierzyste typu UTKM (ukierunkowane tkankowo komórki macierzyste)⁽²⁵⁾ i VSEL (*very small embryonic-like stem cells*, małe komórki macierzyste pochodzenia embrionalnego) mogą stanowić źródło komórek macierzystych w przypadku procesów uszkadzających tkankę nerwową. Proces uszkodzenia tkanki nerwowej prowadzi do zwiększenia w jej obrębie produkcji czynników chemotaktycznych dla UTKM. Po zadziałaniu bodźca dochodzi do wzrostu liczby krążących UTKM, które przemieszczają się do uszkodzonej tkanki, aby tam uczestniczyć w procesach regeneracyjnych. Między innymi na tej podstawie wysunięto wniosek, iż tkanka, która wydziela najwięcej chemoatraktantów, przyciąga najwięcej komórek macierzystych^(25,26).

Znane są nowatorskie działania zmierzające do wypracowania skutecznych strategii terapii komórkowej w chorobach neurodegeneracyjnych w modelu ksenograficznym, tj. u zwierząt, jednakże przy zastosowaniu ludzkich komórek jednojądrzastych. W ostatnim czasie pojawia się coraz więcej prac o patofizjologii odbudowy tkanki nerwowej za sprawą komórek macierzystych⁽²⁷⁾. Jedno z doświadczeń, wykorzystujące ludzkie komórki CD34+ krwi pępowinowej (podane dożylnie myszom SCID w 48 godzin po wywołaniu u nich udaru niedokrwienego mózgu), wykazało silne działanie neowaskularyzacyjne w strefie graniczącej z obszarem niedokrwienia. W ciągu 14 dni od wystąpienia udaru zauważono poprawę ukrwienia, zaobserwowano także wystąpienie zjawiska nasilonej migracji neuronalnych komórek progenitorowych w kierunku strefy niedokrwienia oraz odbudowy uszkodzonych neurocytów⁽¹⁶⁾. W kolejnym doświadczeniu u szczurów po chirurgicznym zamknięciu tętnicy środkowej mózgu (w celu wywołania udaru niedokrwienego mózgu), po 48 godzinach od chwili wystąpienia udaru podano dożylnie komórki ludzkiej krwi pępowinowej wzbogacone we frakcję niehematopoetycznych komórek macierzystych (CD45+CD34+). Badanie histologiczne wykazało obecność ludzkich komórek w obszarze niedokrwienia, jak również znaczną gęstość włókien nerwowych penetrujących strefę uszkodzenia, pochodzących najprawdopodobniej z nieuszkodzonych struktur⁽²⁸⁾.

Dotychczas osiągnięto stosunkowo pozytywne wyniki w próbach leczenia za pomocą komórek macierzystych takich schorzeń, jak choroba Parkinsona⁽²⁹⁾, stwardnienie zanikowe boczne⁽³⁰⁾ czy choroba Huntingtona⁽³¹⁾. Wyniki tych

wstępnych badań wskazują jednak, że osiągnięcie pełnej rekonstrukcji połączeń nerwowych i odbudowy uszkodzonej tkanki nerwowej wymaga dalszych prac doświadczalnych i klinicznych. Za sprawą komórek macierzystych pojawiła się nadzieja na rozwój skuteczniejszych terapii dla osób dotkniętych ciężkimi schorzeniami neurologicznymi.

UDAR NIEDOKRWIENNY MÓZGU

Udar niedokrwienny mózgu jest trzecią co do częstości przyczyną śmierci w populacji ludzkiej oraz główną przyczyną trwałego kalectwa i braku samodzielności u osób dorosłych^(32,33). Może być on wynikiem niedrożności głównych tętnic zaopatrujących mózg lub niewystarczającego przepływu krwi przez określony obszar mózgu. Do zamknięcia tętnicy może doprowadzić zakrzep powstały w miejscu niedrożności lub materiał zatorowy, który przemieścił się do naczynia mózgu. Do powstawania zatorów mózgowych przyczyniają się również niektóre choroby serca oraz zmiany miażdżycowe w innych tętnicach, ulegające fragmentacji i przemieszczeniu do tętnic mózgowych⁽³⁴⁾. W przypadku ludzi obszar niedokrwienia zajmuje w większości przypadków 28–80 mm³, co stanowi od 4,5 do 14% półkuli ipsilateralnej mózgu⁽³⁵⁾. Głównymi procesami patologicznymi prowadzącymi do uszkodzenia tkanki nerwowej podczas udaru niedokrwienego są zatrzymanie produkcji energii, zaburzona homeostaza jonów wapnia, ekscytotoksyczność, stres oksydacyjny oraz powstające w tym miejscu zapalenie⁽³⁶⁾. Najważniejszym i podstawowym czynnikiem uszkadzającym neurony jest brak tlenu oraz glukozy. Brak energii w postaci ATP powoduje zaburzenia w depolaryzacji błony komórkowej neuronu i prowadzi ostatecznie do zwiększenia w komórce stężenia jonów sodu (Na⁺), wapnia (Ca²⁺) i chloru (Cl⁻), a jonów potasu (K⁺) w przestrzeni międzykomórkowej⁽³⁷⁾. Wzrost stężenia jonów Ca²⁺ w komórce jest kluczowym elementem niedokrwienego uszkodzenia komórek nerwowych, gdyż skutkuje ono aktywacją zależnych od wapnia enzymów, takich jak: kinaza proteinowa C, fosfolipaza A2, fosfolipaza C, cyklooksigenaza, zależna od wapnia syntetaza tlenu azotu, kalpaina, oraz szereg innych proteaz i endonukleaz prowadzących do apoptozy i nekrozy⁽³⁸⁾. W trakcie udaru niedokrwienego mózgu dochodzi także do rozwoju reakcji zapalnej w parenchymie, zainicjowanej przez jej niedotlenienie⁽³⁹⁾. Uszkodzenie bariery krew-mózg (BBB) jest kolejną patologiczną zmianą w przebiegu udaru niedokrwienego mózgu. Czynnikiem uszkadzającymi BBB są metaloproteiny macierzy międzykomórkowej uwalniane m.in. przez komórki zapalne, czynniki prozapalne, wolne rodniki wydzielane przez komórki zapalne, czynniki mechaniczne i niedotlenienie uszkadzające śródbłonek naczyń⁽³⁹⁻⁴¹⁾. Uszkodzona BBB staje się przepuszczalna dla leukocytów indukujących procesy zapalne. Dochodzi do obrzęku naczyń mózgowych, co może przekładać się na obrzęk tkanki nerwowej i zwiększenie ciśnienia śródczaszkowego.

Okazuje się, że udar niedokrwienny mózgu wywołuje mobilizację komórek macierzystych ukierunkowanych neuralnie (komórek zawierających takie markery linii neuralnej, jak: GFAP, beta-III-tubulina, Nestin, NeuN)⁽⁴²⁾. Podjęto próby kliniczne mające na celu leczenie pacjentów z udarem niedokrwienym mózgu z użyciem komórek macierzystych zawartych we frakcji komórek jednojądrzastych. Mimo osiągnięcia spektakularnych efektów takiej terapii w modelach zwierzęcych, u ludzi na razie uzyskuje się tylko częściową poprawę stanu neurologicznego⁽⁴³⁻⁴⁵⁾. Pierwsza próba zastosowania terapii komórkowej u ludzi po udarze niedokrwienym dotyczyła pacjentów z wszczepionymi komórkami hNT wyprowadzonymi z linii NT2-N. Osoby te przeżyły udar niedokrwienny mózgu w poprzedzającym terapię okresie od 6 miesięcy do 6 lat⁽⁴⁶⁾. Jak wykazano, po 3–4 dniach od wystąpienia udaru niedokrwienego dochodzi do wzrostu proliferacji komórek w strefach SGZ, SVZ, PPv, przy czym należy wspomnieć, że proces ten powraca do stanu wyjściowego po 3–5 tygodniach od udaru^(47,48).

Wiele badań przeprowadzono dotychczas na modelu zwierzęcym. W modelach tych komórki macierzyste podawano różnymi drogami, np. dożylnie lub drogą ogniskowej iniekcji (uzyskując pewną poprawę funkcjonalną). Naukowcy zaczęli podejmować próby wspomaganie endogennej naprawy uszkodzonych komórek nerwowych. Wykazano, iż egzogenne podawanie komórek zdolnych do neurogenezy chorym z udarem niedokrwienym ma na celu wspomaganie endogennej neurogenezy lub podtrzymanie przeżycia dojrzałych neuronów. Przeprowadzono transplantację domózgową komórek wywodzących się z linii neuralnych na modelach szczurzych. Na tej podstawie wyciągnięto następujący wniosek – metoda ta u ludzi daje korzyści, które jednak wymagają dalszych i dokładniejszych badań⁽⁴⁹⁾. Podawano również pacjentom dożylnie autologiczne komórki macierzyste szpiku kostnego⁽⁵⁰⁾. Badanie to wykazało bezpieczeństwo takiego podania i zaobserwowano poprawę funkcjonalną tych pacjentów⁽⁵⁰⁾. Szczegółowe mechanizmy prowadzące do korzystnych efektów stosowania komórek macierzystych w udarze niedokrwienym nie zostały jeszcze poznane. Wymagane są dalsze badania zarówno na modelu zwierzęcym, jak i badania z udziałem ludzi. Wykazano jednakże, iż komórki macierzyste mogą odgrywać znaczącą rolę w procesach naprawczych i regeneracyjnych, co przynosi nadzieję na skuteczniejszą terapię osób po udarze niedokrwienym mózgu.

URAZY RDZENIA KRĘGOWEGO

Blisko połowa urazów rdzenia kręgowego powstaje w wyniku wypadków komunikacyjnych. Około 80–85% chorych z urazami rdzenia to mężczyźni, a 61% przypadków dotyczy ludzi pomiędzy 16. a 30. rokiem życia. Najczęściej urazom ulega odcinek szyjny, co wiąże się ze znaczną ruchomością tego segmentu kręgosłupa. Drugie miejsce

zajmują urazy rdzenia na pograniczu piersiowo-lędźwiowym. Wyróżnia się dwa podstawowe mechanizmy urazu rdzenia kręgowego: uraz zamknięty i uraz penetrujący. Badając chorego po urazie rdzenia kręgowego, należy określić poziom uszkodzenia oraz stwierdzić, czy jest ono całkowite czy częściowe⁽⁵¹⁾.

W następstwie mechanicznego urazu rdzenia kręgowego dochodzi do zainicjowania procesów patologicznych, które z kolei prowadzą do wtórnego uszkodzenia tkanki nerwowej [niedokrwienie i obrzęk rdzenia, pobudzenie toksyczne, napływ jonów wapniowych (Ca^{2+}) do komórek nerwowych i synteza wolnych rodników]. Zmiany te są bardzo podobne do występujących przy urazowych uszkodzeniach mózgu. Wiadomo również, że rdzeń ssa-ków charakteryzuje się słabą zdolnością endogennej regeneracji, głównie za sprawą hamującego regenerację aksonów bliznowacenia glejowego oraz braku odpowiednich troficznym mechanizmów wspomaganie odbudowy po uszkodzeniu⁽⁵²⁾.

W modelach doświadczalnych, nawet gdy uraz dotyczył tylnej powierzchni rdzenia, najbardziej nasilone zmiany krwotoczne i niedokrwienne obserwowano w jego obszarze centralnym. Ogromnym sukcesem byłoby znalezienie skutecznej i pewnej metody, która pomogłaby sprawnie funkcjonować osobom z uszkodzeniami rdzenia kręgowego. W związku z powyższym jednym z możliwych mechanizmów regeneracyjnych jest ochrona lub odnowa osłonki mielinowej włókien rdzenia, które przetrwały uszkodzenie⁽⁴²⁾. Podobnie jak w przypadku udaru niedokrwinnego mózgu, natychmiast po zadziałaniu bodźca uszkadzającego rdzeń dochodzi do nagromadzenia dużej ilości czynników zapalnych, w tym: IL-1, IL-17, IL-2, IL-6 i TNF- α i wielu innych. Wykazują one właściwości neurotoksyczne i indukują aktywność astrocytów⁽⁵³⁾. W badaniach na szczurach namnażano *in vitro* płodowe NSPCs, które wykazywały aktywność mitogenną i neurogenezę, gdy były wszczepiane nie wcześniej niż 9 dni po uszkodzeniu. Zatem ostra faza nie stanowi dobrego momentu dla wszczepiania komórek macierzystych⁽⁵⁴⁾. Faza przewlekła po uszkodzeniu również nie stanowi optymalnego okresu, co wynika z tworzenia się torbieli i bliznowacenia glejowego, które mogą hamować regenerację aksonalną⁽⁵⁴⁾. Przeprowadzono również badania z użyciem autologicznych macierzystych komórek mezenchymalnych w urazach rdzenia. Ilość tych badań w chwili obecnej jest niewielka, a wyniki niejednoznaczne^(55,56). Uzyskano jednak wyraźną poprawę funkcjonalną rdzenia kręgowego po zastosowaniu terapii komórkami szpiku kostnego. Terapie komórkowe w urazach rdzenia nie zawsze przynoszą oczekiwane skutki i mogą wiązać się z powikłaniami, takimi jak np. ból neuropatyczny⁽⁵⁷⁾. Stosowano również namnażane *in vitro* neuralne komórki macierzyste/progenitorowe (NSPCs). Włączano mieszaną populację neuralnych komórek macierzystych (NSCs) i neuralnych komórek prekursorowych wyprawdzanych z komórek embrionalnych (ES) lub komórek

progenitorowych oligodendrocytów (OPCs) wyhodowanych z ludzkich komórek embrionalnych. Zastosowano dotychczas tę metodę w modelach zwierzęcych⁽⁵³⁻⁵⁸⁾. Okazało się, że aktywność przeszczepionych komórek prowadziła do poprawy sprawności funkcjonalnej zwierząt, jednak mechanizm, dzięki któremu wszczepiane komórki miały przynieść efekty terapeutyczne, nie jest do końca znany. Jak wynika z przedstawionych powyżej badań, komórki macierzyste mogą odgrywać znaczącą rolę w procesach naprawczych, regeneracyjnych i terapeutycznych w przypadkach uszkodzenia rdzenia kręgowego, dlatego niezbędne są dalsze badania nad ich rolą i skutecznym zastosowaniem.

STWARDNIENIE ROZSIANE

Stwardnienie rozsiane (łac. *sclerosis multiplex*, SM) jest demielinizacyjną chorobą z neurodegeneracją rozwijającą się przeważnie w 20.–40. roku życia. Charakteryzuje się m.in. demielinizacją, wielogniskowym zapaleniem, reaktywną gliozą oraz utratą oligodendrocytów i aksonów⁽⁵⁹⁾. Procesy te skutkują zaburzeniem funkcjonowaniem układu nerwowego, objawiającym się występowaniem rozsianych objawów neurologicznych. SM jest sporadyczną chorobą układu nerwowego, postępującą w różnorodny sposób, w której niejednorodne zmiany degeneracyjne oraz zapalne występują w mózgu oraz w rdzeniu kręgowym. Wyróżnia się cztery kliniczne formy tej choroby: remitująco-nawracająca, wtórnie postępująca, pierwotnie postępująca oraz postępująco-nawracająca. Formy remitująco-nawracająca oraz wtórnie postępująca występują u około 80–85% pacjentów, ponadto forma wtórnie postępująca zazwyczaj jest formą rozwijającą się u osób, u których pierwotnie stwierdzono remitująco-nawracającą postać tej choroby⁽⁶⁰⁾.

Pomimo wieloletniego zainteresowania badaczy wciąż nie jest znana przyczyna rozwoju stwardnienia rozsianego, jak również nie opracowano skutecznej terapii dla tej jednostki chorobowej⁽⁶¹⁾. Liczne badania wskazują na znaczenie interakcji pomiędzy czynnikami genetycznymi a środowiskowymi. Nierównomierne występowanie SM na świecie, częstsze zachorowania obserwowane u kobiet w porównaniu z mężczyznami oraz u osób białych zdają się potwierdzać to przypuszczenie^(62,63). Wyniki badań genetycznych, szczególnie prowadzonych z udziałem bliźniąt oraz rodzin, w których występują liczne zachorowania na SM, dowiodły istnienia genów predysponujących do rozwoju choroby bądź genów protekcyjnych, wskazując na istotny modulujący wpływ czynników środowiskowych. Spośród wielu badanych genów najbardziej istotne wydają się geny kodujące cząsteczki MHC (*major histocompatibility complex*). Genami wykazującymi największy związek z rozwojem SM są geny kompleksu II HLA, w szczególności HLA-DRB5*0101-HLA-DRB1*1501-HLA-DQA1*0102-HLA-DQB1*0602⁽⁶⁴⁾.

Uważa się, że do czynników środowiskowych zwiększających ryzyko zachorowania na SM należą m.in. położenie geograficzne, pochodzenie etniczne oraz płeć (kobiety chorują częściej niż mężczyźni)⁽⁶³⁾. Wielu naukowców uważa, że na rozwój stwardnienia rozsianego duży wpływ mają przebyte infekcje wirusowe. Do najczęściej badanych wirusów należą wirus odry, różyczki, świnki oraz wirusy *Herpes*, m.in. wirus Epsteina-Barr (EBV), *Herpes simplex* (HSV) 1 oraz 2, wirus ospy wietrznej czy HHV6. Wyniki badań epidemiologicznych oraz laboratoryjnych wskazują na istotną rolę EBV w patogenezie SM, prawdopodobnie w wyniku zjawiska zwanego mimikrą antygenową⁽⁶⁵⁻⁶⁷⁾.

Dostępność licznych modeli zwierzęcych stwardnienia rozsianego pozwoliła na dokładniejsze poznanie patomechanizmu tej choroby. Niezwykle ważna rola limfocytów T dla rozwoju SM została odkryta dzięki eksperymentom przeprowadzonym z wykorzystaniem modeli zwierzęcych, m.in. indukcji doświadczalnego autoimmunologicznego zapalenia mózgu i rdzenia (*experimental autoimmune encephalomyelitis*, EAE). Aktywowane komórki T obecne u pacjentów z SM wykazują zwiększoną ekspresję molekuł adhezyjnych, dzięki którym komórki te łatwiej przenikają przez BBB i kierują odpowiedzią zapalną skierowaną przeciwko antygenom mielinowym OUN. Transmigracja komórek przez BBB jest procesem wieloetapowym, w którym ważne funkcje pełnią cząsteczki adhezyjne, chemokiny i metaloproteinazy macierzy (*matrix metalloproteinases*, MMP). MMP są odpowiedzialne nie tylko za przerwanie bariery krew-mózg, ale również za degradację macierzy zewnątrzkomórkowej oraz błon podstawnych, a także biorą udział w procesie demielinizacji, aktywacji cytokin oraz uszkodzenia aksonów^(68,69).

Główną rolę w patogenezie SM przypisuje się limfocytom T CD4+ mielinowo specyficznym, które ulegają ponownej aktywacji w OUN dzięki prezentacji antygenów mielinowych przez lokalne komórki APC. Reaktywacja komórek CD4+ skutkuje sekrecją między innymi cytokin prozapalnych, które zwiększają przepuszczalność BBB i stymulują chemotaksję, powodując wtórny napływ komórek zapalnych do OUN⁽⁷⁰⁾. Sugeruje się, że przewlekły stan zapalny obecny w mózgu pacjentów z SM tworzy mikrośrodowisko, które sprzyja zasiedlaniu i retencji komórek zapalnych w obrębie tego przedziału^(71,72). Komórki autoreaktywne migrujące przez BBB doprowadzają do uszkodzenia neuronów i ich osłonek mielinowych oraz aksonów. Prowadzi to do zakłócenia przewodzenia impulsu nerwowego w miejscu demielinizacji⁽⁷³⁾. W obrębie populacji komórek T CD4+ wyróżnia się subpopulacje, które pełnią zróżnicowane funkcje w patogenezie stwardnienia rozsianego. W wyniku aktywacji dziewicze limfocyty T różnicują się w komórki o odmiennych funkcjach efektorowych. Komórki Th1 wydzielają cytokiny prozapalne, takie jak IFN- γ , które aktywują makrofagi do zabijania wewnątrzkomórkowych patogenów. Z kolei komórki Th2 wydzielają cytokiny przeciwzapalne,

takie jak IL-4, i pełnią istotną funkcję w usuwaniu zewnątrzkomórkowych patogenów⁽⁷⁴⁾. Długo uważano, że zaburzona równowaga pomiędzy cytokinami wydzielanymi przez komórki Th1 i Th2 w dużym stopniu odpowiada za immunopatogenezę SM. Nowo odkryta subpopulacja komórek T – komórki Th17 – zmodyfikowała ten pogląd. Limfocyty te wydzielają prozapalne cytokiny IL-17A oraz IL-17F⁽⁷⁵⁾. Wyniki wielu badań sugerują, że stosunek komórek Th1 do Th17 jest kluczową determinantą zapalenia w OUN (wysoki stosunek komórek Th17 do Th1 wiąże się z infiltracją komórek T oraz reakcją zapalną w parenchymie mózgu)⁽⁶³⁾. Fenotypowa charakterystyka limfocytów Th17 wykazała wyższą ekspresję markerów aktywacji oraz cząstek adhezyjnych i kostymulujących u tych komórek w porównaniu z Th1, wskazując na wysoki potencjał patogenny limfocytów Th17⁽⁷⁶⁾. Kolejną subpopulacją komórek CD4+ zaangażowaną w patogenezę SM jest grupa limfocytów T regulatorowych – Treg. U osób chorych w porównaniu z grupą kontrolną nie zmienia się liczba tych komórek we krwi oraz płynie mózgowo-rdzeniowym. Zmianie ulega natomiast zdolność Treg do tłumienia aktywacji specyficznych mielinowo limfocytów T na obwodzie^(77,78).

Limfocyty T CD8+ również uczestniczą w rozwoju SM. Oligoklonalny rozrost komórek CD8+ o fenotypie komórek pamięci został zaobserwowany w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z SM⁽⁷⁹⁾. Ponadto zaobserwowano, że komórki te znajdują się w bezpośrednim sąsiedztwie aksonów pozbawionych osłonki mielinowej, z wakuolami zawierającymi granzym B skierowanymi w ich stronę⁽⁸⁰⁾. Limfocyty B mogą bezpośrednio uczestniczyć w procesie demielinizacji poprzez wydzielanie patogennych przeciwciał, które skierowane są przeciwko oligodendrocytom, w obecności lub pod nieobecność komplementu⁽⁸¹⁾. Autoreaktywne przeciwciała mogą być również skierowane przeciwko neuronalnym komponentom, takim jak tubulina czy neurofilamenty⁽⁸²⁾.

Ważnym procesem w rozwoju stwardnienia rozsianego jest demielinizacja. Proces demielinizacji jest zróżnicowany i obejmuje specyficzny immunologiczny atak skierowany przeciwko aksonom, obecność mediatorów takich jak proteazy, cytokiny czy wolne rodniki, będące częścią środowiska zapalnego, oraz brak czynników neurotroficzych⁽⁷¹⁾. Utrata aksonów jest istotnym patologicznym procesem w rozwoju SM, który koreluje z progresją choroby oraz trwałą niepełnosprawnością⁽⁸³⁾. Gdy tylko mechanizm prowadzący do uszkodzenia aksonów został zainicjowany, dochodzi do przepływu jonów, dysfunkcji mitochondriów, aktywacji proteaz prowadzących do degradacji białek cytoszkieletu i dezintegracji aksonów⁽⁸⁴⁾.

Badania na modelach zwierzęcych wskazują na potencjalne właściwości przeciwzapalne komórek macierzystych implantowanych lub podawanych dożylnie w środowisku zapalnym. Mają one również wpływ na proces remielinizacji w przypadku środowiska z przewagą procesów neurodegeneracyjnych⁽⁸⁵⁾. W terapii SM bardzo

cenne wydają się komórki progenitorowe oligodendrocytów (*oligodendrocyte precursor cells*, OPC), odpowiedzialne za spontaniczną remielinizację. Posiadają one zdolność do różnicowania się w neurony, astrocyty i komórki Schwanna⁽⁸⁶⁾. Niestety, ich zdolność do migracji w obrębie mózgu jest silnie ograniczona.

Dużym zainteresowaniem cieszą się obecnie neuronalne komórki macierzyste szpiku kostnego nakierowywane przed transplantacją na różnicowanie się do oligodendrocytów⁽⁸⁷⁾. Wykazano, iż komórki macierzyste krwi nie przenikają do miejsca zapalenia i uszkodzenia samodzielnie, towarzyszą im m.in.: reaktywne astrocyty, zapalne komórki śródbłonna i limfocyty T⁽⁸⁸⁾. Komórki macierzyste wykazują również zdolność przeciwdziałania nadmieremu bliznowaceniu glejowemu w OUN⁽⁸⁹⁾. U chorych z SM dokonywano zasiedlania szpiku kostnego mezenchymalnymi komórkami macierzystymi po wcześniejszym usunięciu autoimmunoreaktywnych limfocytów T. Badania te pozostawiają jednak wiele pytań, dotyczących m.in. odpowiedniego czasu dla przeprowadzenia takich zabiegów czy warunków, które pacjenci musieliby spełnić, aby być do nich zakwalifikowani^(90,91). Badacze zastanawiają się także nad możliwością modulacji przebiegu reakcji zapalnej u osób z SM za sprawą komórek macierzystych. Potencjał tych komórek w tym zakresie jest ogromny, jednak nie posiadamy obecnie na tyle obszernej i sprawdzonej wiedzy, by odpowiednio go wykorzystać.

CHOROBA ALZHEIMERA

Choroba Alzheimer (Alzheimer disease, AD) jest związanym z wiekiem schorzeniem neurodegeneracyjnym odpowiedzialnym za większość rozpoznawanych przypadków otępienia u pacjentów w podeszłym wieku. Klinicznymi objawami tej choroby są osłabienie zdolności poznawczych, utrata umiejętności językowych i motorycznych oraz zmiany w zachowaniu. Wyróżnia się dwie podstawowe formy AD: sporadyczną i rodzinną. Postać sporadyczna obserwowana jest u 90% chorych z AD, podczas gdy pozostałe 10% stanowią zachorowania o podłożu genetycznym. W ramach każdej z podstawowych postaci AD można wyróżnić formę wczesną, która dotyka osoby poniżej 60. roku życia, i późną, rozwijającą się u osób starszych. Postać rodzinna związana jest z mutacjami w genie dla białka prekursorowego amyloidu (*amyloid precursor protein*, APP)⁽⁹²⁾, a także w genach dla preseniliny 1 oraz preseniliny 2⁽⁹³⁾, które przyczyniają się do zwiększonej produkcji amyloidu $\beta(1-42)$ oraz wcześniejszego rozwoju choroby⁽⁹⁴⁾. Preseniliny 1 i 2 stanowią element katalityczny γ -sekreazy, a ich mutacje prowadzą do obniżonej aktywności tego enzymu^(95,96). Również mutacja w genie dla apolipoproteiny E (APOE) jest związana ze wzrostem ryzyka rozwoju AD^(97,98). Mutacja w genie APOE związana jest z wieloma czynnikami wpływającymi na rozwój tej choroby, takimi jak dysfunkcja cytoszkieletu, wadliwe funkcjonowanie mitochondriów czy niskie zużycie glukozy⁽⁹⁹⁾.

W kontekście patologii choroba Alzheimer charakteryzuje się utratą komórek neuronalnych, obecnością zewnątrzkomórkowych blaszek starczych oraz wewnątrzkomórkowych splotów neurofibrilarnych (*neurofibrillary tangles*, NFT), a także utratą połączeń synaptycznych w obrębie wężomózgowia, które z czasem obejmują również hipokamp i korę mózgu^(100,101). Głównym składnikiem blaszek starczych jest amyloid beta ($A\beta$)⁽¹⁰²⁾. Białko to, zbudowane z 40–42 aminokwasów, powstaje w wyniku proteolitycznego cięcia białka błonowego APP przez β - i γ -sekreazy. $A\beta(1-40)$ oraz $A\beta(1-42)$ stanowią przeważającą większość wszystkich $A\beta$ obecnych w ludzkim mózgu i uważa się, że odgrywają one istotną rolę w rozwoju i progresji choroby Alzheimer⁽¹⁰²⁾. Badania *in vitro* oraz *in vivo* sugerują, że $A\beta(1-42)$ jest białkiem o wyższej toksyczności w porównaniu z $A\beta(1-40)$ ^(103,104). Z kolei NFT zbudowane są ze sparowanych włókien helikalnych, których składową jest hiperfosforylowane białko tau⁽¹⁰⁵⁾. Tau jest białkiem neuronalnym odpowiedzialnym za łączenie się i stabilizację mikrotubul^(106,107), którego funkcja regulowana jest na drodze fosforylacji. Nieprawidłowa fosforylacja białka tau prowadzi do zaburzenia jego funkcji względem mikrotubul oraz do powstawania jego agregatów w postaci splotów neurofibrilarnych⁽¹⁰⁸⁾. Hiperfosforylowane tau jest odpowiedzialne również za odcinanie prawidłowych cząsteczek tego białka i uniemożliwia odbudowę właściwej organizacji mikrotubul⁽¹⁰⁹⁾.

Uważa się, że blaszki starcze oraz NFT są powiązane z reaktywnymi astrocytami oraz aktywacją mikrogleju⁽¹¹⁰⁾, prowadzącymi do zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu (*reactive oxygen species*, ROS)⁽¹¹¹⁾. Ze wzrostem poziomu ROS związane jest nieprawidłowe funkcjonowanie mitochondriów, często obserwowane u pacjentów z AD⁽¹¹²⁾. Zaburzony poziom enzymów OXPHOS (*oxidative phosphorylation*), szczególnie obniżenie ekspresji genów dla kompleksu oddechowego I, jest w głównej mierze odpowiedzialny za zmniejszenie produkcji energii w mózgu pacjentów z AD^(113,114).

Zmiany patologiczne związane z białkiem tau pojawiają się pierwotnie w obszarze wężomózgowia, skąd rozprzestrzeniają się do hipokampa i jądra migdałowatego, a następnie do obszarów kory nowej. Złogi amyloidu beta pojawiają się pierwotnie w korze nowej. Wydaje się, że obie formy inkluzji powstają niezależnie, jednakże sploty powstają jako pierwsze. W późniejszej fazie rozwoju choroby rozległe złogi $A\beta$ w korze nowej prawdopodobnie poprzedzają ciężkie zmiany patologiczne związane ze splotami⁽¹¹⁵⁾, co sugeruje, że odkładanie się $A\beta$ wzmacnia związane z wiekiem zmiany patologiczne spowodowane gromadzeniem się nieprawidłowego białka tau.

Badania *in vitro* wskazują, iż APP (*apolipoprotein*), które jest naturalnie występującym białkiem przezbłonowym w chorobie Alzheimer, podlega rozszczepieniu do wewnątrzkomórkowego i zewnątrzkomórkowego amyloidu beta. Wykazanie, że posiada ono właściwości neurotroficzne,

wskazywałoby na to, iż powoduje ono proliferację komórek, wzrost neurytów, a także wzmacnia migrację komórek macierzystych⁽¹⁰⁴⁾. Wszczepianie egzogennych transplantów złożonych z neuralnych komórek macierzystych w środowisku mózgowia osoby z AD powoduje ich różnicowanie do gleju, utrudniające spełnianie swoistych dla nich funkcji⁽¹¹⁴⁾. Najwłaściwszym miejscem do implantowania komórek są prawdopodobnie zwoje podstawy⁽¹¹⁵⁾. Większość badań przeprowadzono dotychczas na modelach zwierzęcych, ich wyniki są bardzo obiecujące. Ważnym zagadnieniem jest znalezienie odpowiednich modeli zwierzęcych, aby na ich podstawie można było podejmować bezpieczne próby podobnych terapii u chorych⁽¹¹⁴⁾. We wstępnych badaniach potwierdzono, że wszczepianie ludzkich neuronalnych komórek macierzystych powoduje poprawę funkcjonowania zwierząt doświadczalnych⁽¹¹⁴⁾. Nie ulega wątpliwości, że aby to potwierdzić, konieczne są kolejne badania wykonywane zarówno na modelu zwierzęcym, jak i z udziałem osób chorych.

Dotychczas podjęto niewiele prób znalezienia strategii komórkowych w chorobie Alzheimera⁽¹¹⁴⁻¹¹⁶⁾ – były to przeszczepy komórkowe dostarczające czynników neuroprotektynowych. W jednym z badań nad myszami transgenicznymi anty-NGF, którym podawano brakujący czynnik wzrostu, wykazano, iż hamował on rozwój choroby Alzheimera. W pojedynczym badaniu klinicznym pacjentom z łagodną postacią choroby Alzheimera wszczepiano do przodomózgowia autologiczne fibroblasty genetycznie zmodyfikowane do produkcji NGF. NGF okazał się czynnikiem bezpiecznym, poprawiał metaboliczną aktywność obszarów połączonych ze zwojami podstawy i zwalniał proces otępienny^(117,118). Od tego czasu badania te są kontynuowane i potwierdzają ogromne znaczenie komórek macierzystych.

PODSUMOWANIE

Współczesna nauka pozwala na zbadanie i wykorzystanie niezwykle cennych właściwości i możliwości komórek macierzystych. Za sprawą komórek macierzystych można próbować leczyć wiele różnych, często bardzo ciężkich chorób, w tym również schorzenia neurologiczne. Główne zainteresowanie komórkami macierzystymi wiąże się z ich ogromnymi zdolnościami do transformacji oraz samoodnowy. Szczególnym wyzwaniem dla medycyny klinicznej jest perspektywa regeneracji tkanki nerwowej w chorobach zwyrodnieniowych ośrodkowego układu nerwowego. Wielką nadzieją w tym zakresie staje się rozwój terapii komórkowej. Poznawanie kolejnych aspektów patofizjologicznych determinujących odbudowę tkanki nerwowej w warunkach *in vivo* jest niezbędne dla optymalizacji protokołów terapeutycznych i wdrożenia ich do działań klinicznych. Być może w przyszłości uda się opracować techniki rekonstrukcji niektórych narządów w warunkach *ex vivo* i ich następczej transplantacji w celu zastąpienia organu uszkodzonego na skutek choroby lub zniszczenia.

PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Miller R.H.: The promise of stem cells for neural repair. *Brain Res.* 2006; 1091: 258–264.
2. Miller R.H., Bai L., Lennon D.P., Caplan A.I.: The potential of mesenchymal stem cells for neural repair. *Discov. Med.* 2010; 9: 236–242.
3. Bai L., Lennon D.P., Eaton V. i wsp.: Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce Th2-polarized immune response and promote endogenous repair in animal models of multiple sclerosis. *Glia* 2009; 57: 1192–1203.
4. Sharp J., Keirstead H.S.: Stem cell-based cell replacement strategies for the central nervous system. *Neurosci. Lett.* 2009; 456: 107–111.
5. Auletta J.J., Bartholomew A.M., Maziarz R.T. i wsp.: The potential of mesenchymal stromal cells as a novel cellular therapy for multiple sclerosis. *Immunotherapy* 2012; 4: 529–547.
6. Hess D.C., Borlongan C.V.: Stem cells and neurological diseases. *Cell Prolif.* 2008; 41 suppl. 1: 94–114.
7. Corti S., Locatelli F., Papadimitriou D. i wsp.: Somatic stem cell research for neural repair: current evidence and emerging perspectives. *J. Cell. Mol. Med.* 2004; 8: 329–337.
8. Kucia M., Zhang P.Y., Reza R. i wsp.: Cells enriched in markers of neural tissue-committed stem cells reside in the bone marrow and are mobilized into the peripheral blood following stroke. *Leukemia* 2006; 20: 18–28.
9. Kucia M., Jankowski K., Reza R. i wsp.: CXCR4-SDF-1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion. *J. Mol. Histol.* 2004; 35: 233–245.
10. Paczkowska E., Larysz B., Rzeuski R. i wsp.: Human hematopoietic stem/progenitor-enriched CD34⁺ cells are mobilized into peripheral blood during stress related to ischemic stroke or acute myocardial infarction. *Eur. J. Haematol.* 2005; 75: 461–467.
11. Machaliński B., Paczkowska E., Koziarska D., Ratajczak M.Z.: Mobilization of human hematopoietic stem/progenitor-enriched CD34⁺ cells into peripheral blood during stress related to ischemic stroke. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2006; 44: 97–101.
12. Cottler-Fox M.H., Lapidot T., Petit I. i wsp.: Stem cell mobilization. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2003; 419–437.
13. Kucia M., Wysoczynski M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z.: Identification of very small embryonic like (VSEL) stem cells in bone marrow. *Cell Tissue Res.* 2008; 331: 125–134.
14. Pojda Z.: Kliniczne zastosowania komórek macierzystych – stan obecny i perspektywy: nowotwory. *J. Oncol.* 2002; 52: 145–150.
15. Morciniec P.: Ocalić (obraz) człowieka: istota dyskusji o komórkach macierzystych. W: Ocalić cywilizację – ocalić ludzkie życie. Kraków 2002: 119–129, 124.
16. Majka M., Michałowska A., Ratajczak M.Z.: Próba izolacji ludzkich komórek macierzystych mięśni szkieletowych. *Postępy Biol. Komórki* 2003; 30 (supl. 21): 17–24.
17. Kucia M., Majka M., Ratajczak M.Z.: Plastyczność nieembryonalnych komórek macierzystych: fakt czy artefakt? *Postępy Biol. Komórki* 2003; 30 (supl. 21): 3–16.
18. Pojda Z., Machaj E.K., Gajkowska A. i wsp.: Badanie potencjalnej przydatności klinicznej komórek macierzystych uzyskiwanych z krwi pępowinowej. *Postępy Biol. Komórki* 2003; 30 (supl. 21): 127–138.
19. Wiktor-Jędrzejczak W., Urbanowska E., Rokicka M. i wsp.: Wstępna ocena możliwości wykorzystania krwiotwórczych komórek macierzystych pozyskanych z różnych dawców krwi pępowinowej do jednoczesnego przeszczepiania u biorców dorosłych. *Postępy Biol. Komórki* 2003; 30 (supl. 21): 139–147.
20. Korohoda W.: Biologia i inżynieria komórkowa na przełomie wieków. *Kosmos. Probl. Nauk Biol.* 2000; 49: 403–412.
21. Modliński J.A., Karasiewicz J.: Klonowanie ssaków: mity i rzeczywistość. W: Chyrowicz B. (red.): Klonowanie człowieka. Lublin 1999: 23–92.

22. Komórki macierzyste – życie za życie? Debata w Ministerstwie Nauki i Informatyzacji, 15 XII 2003 r. Adres: http://kbn.icm.edu.pl/komorki_macierzyste/20040217.html: 1–31.
23. Karasiewicz J., Modliński J.: Komórki macierzyste ssaków: potencjalne źródło zróżnicowanych komórek do transplantacji. *Postępy Biol. Komórki* 2001; 28: 219–242.
24. Biesaga T.: Antropologiczny status embrionu ludzkiego. W: Biesaga T. (red.): *Podstawy i zastosowania bioetyki*. Wydawnictwo PAT, Kraków 2001: 101–102.
25. Kucia M., Goździk J., Majka M. i wsp.: Szpik kostny jako źródło niehematopoetycznych komórek macierzystych. *Acta Haematol. Pol.* 2005; 36 suppl. 2: 19–31.
26. Park I.H., Arora N., Huo H. i wsp.: Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 2008; 134: 877–886.
27. Taguchi A., Soma T., Tanaka H. i wsp.: Administration of CD34⁺ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J. Clin. Invest.* 2004; 114: 330–338.
28. Xiao J., Nan Z., Motooka Y., Low W.C.: Transplantation of a novel cell line population of umbilical cord blood stem cells ameliorates neurological deficits associated with ischemic brain injury. *Stem. Cells Dev.* 2005; 14: 722–733.
29. Suon S., Yang M., Iacovitti L. i wsp.: Adult human bone marrow stromal spheres express neuronal traits in vitro and in a rat model of Parkinson's disease. *Brain Res.* 2006; 23: 46–51.
30. Garbuzova-Davis S., Willing A.E., Zigova T. i wsp.: Intravenous administration of human umbilical cord blood cells in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: distribution, migration, and differentiation. *J. Hematother. Stem. Cell Res.* 2003; 12: 255–270.
31. Lescaudron L., Unni D., Dunbar G.L. i wsp.: Autologous adult bone marrow stem cell transplantation in an animal model of Huntington's disease: behavioral and morphological outcomes. *Int. J. Neurosci.* 2003; 113: 945–956.
32. Whisnant J.P., Basford J.R., Bernstein E.F. i wsp.: Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of cerebrovascular diseases III. *Stroke* 1990; 21: 637–676.
33. Warlow C., Sudlow C., Dennis M. i wsp.: *Stroke*. *Lancet* 2003; 362: 1211–1224.
34. Adams H.P. Jr, Bendixen B.H., Kappelle L.J. i wsp.: Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993; 24: 35–41.
35. Goldstein L.B., Jones M.R., Matchar D.B. i wsp.: Improving the reliability of stroke subgroup classification using the Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) criteria. *Stroke* 2001; 32: 1091–1098.
36. Ryglewicz D.: *Epidemiologia udaru mózgu*. W: Szczudlik A., Członkowska A., Kwieciński H., Słowik A. (red.): *Udar mózgu*. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2007: 85–95.
37. Chan P.H.: Role of oxidants in ischemic brain damage. *Stroke* 1996; 27: 1124–1129.
38. Lee J.M., Zipfel G.J., Choi D.W.: The changing landscape of ischaemic brain injury mechanisms. *Nature* 1999; 399 (supl.): A7–A14.
39. Józwicka M., Głąbiński A.: Poszukiwanie biomarkerów zapalnych udaru niedokrwiennego mózgu. *Aktualn. Neurol.* 2011; 11: 106–110.
40. Emerich D.F., Dean R.L., Bartus R.T.: The role of leukocytes following cerebral ischemia: pathogenic variable or bystander reaction to emerging infarct? *Exp. Neurol.* 2002; 173: 168–181.
41. Józwicka M., Głąbiński A.: Modele doświadczalne udaru niedokrwiennego mózgu. *Aktualn. Neurol.* 2012; 12: 195–200.
42. Shen L.H., Li Y., Chen J. i wsp.: Intracarotid transplantation of bone marrow stromal cells increases axon-myelin remodeling after stroke. *Neuroscience* 2006; 137: 393–399.
43. Mendonça M.L., Freitas G.R., Silva S.A. i wsp.: [Safety of intra-arterial autologous bone marrow mononuclear cell transplantation for acute ischemic stroke]. *Arq. Bras. Cardiol.* 2006; 86: 52–55.
44. Kang K.S., Kim S.W., Oh Y.H. i wsp.: A 37-year-old spinal cord-injured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically: a case study. *Cytotherapy* 2005; 7: 368–373.
45. Moviglia G.A., Fernandez Viña R., Brizuela J.A. i wsp.: Combined protocol of cell therapy for chronic spinal cord injury. Report on the electrical and functional recovery of two patients. *Cytotherapy* 2006; 8: 202–209.
46. Kondziolka D., Wechsler L., Goldstein S. i wsp.: Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 2000; 55: 565–569.
47. Tonchev A.B., Yamashima T., Guo J. i wsp.: Expression of angiogenic and neurotrophic factors in the progenitor cell niche of adult monkey subventricular zone. *Neuroscience* 2007; 144: 1425–1435.
48. Zhu D.Y., Liu S.H., Sun H.S., Lu Y.M.: Expression of inducible nitric oxide synthase after focal cerebral ischemia stimulates neurogenesis in the adult rodent dentate gyrus. *J. Neurosci.* 2003; 23: 223–229.
49. Rice C.M., Halfpenny C.A., Scolding N.J.: Stem cells for the treatment of neurological disease. *Transfus. Med.* 2003; 13: 351–361.
50. Bang O.Y., Lee J.S., Lee P.H.: Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann. Neurol.* 2005; 57: 874–882.
51. Kozubski W., Liberski P.P.: *Choroby układu nerwowego*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2004.
52. Wang L., Zhang Z., Wang Y. i wsp.: Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. *Stroke* 2004; 35: 1732–1737.
53. Syková E., Jendelová P., Urdziková L. i wsp.: Bone marrow stem cells and polymer hydrogels – two strategies for spinal cord injury repair. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2006; 26: 1113–1129.
54. Okano H., Kaveko S., Okada S. i wsp.: Regeneration-based therapies for spinal cord injuries. *Neurochem. Int.* 2007; 51: 68–73.
55. Yoon S.H., Shim Y.S., Park Y.H. i wsp.: Complete spinal cord injury treatment using autologous bone marrow cell transplantation and bone marrow stimulation with granulocyte macrophage-colony stimulating factor: Phase I/II clinical trial. *Stem Cells* 2007; 25: 2066–2073.
56. Lima C., Pratas-Vital J., Escada P. i wsp.: Olfactory mucosa autografts in human spinal cord injury: a pilot clinical study. *J. Spinal Cord Med.* 2006; 29: 191–203.
57. Noseworthy J.H., Lucchinetti C., Rodriguez M., Weinshenker B.G.: Multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343: 938–952.
58. Compston A., Coles A.: Multiple sclerosis. *Lancet* 2008; 372: 1502–1517.
59. Weinshenker B.C.: Epidemiology of multiple sclerosis. *Neurol. Clin.* 1996; 14: 291–308.
60. Noseworthy J.H.: Progress in determining the causes and treatment of multiple sclerosis. *Nature* 1999; 399: A40–A47.
61. Bulman D., Ebers G.: The geography of multiple sclerosis reflects genetic susceptibility. *J. Trop. Geogr. Neurol.* 1992; 2: 66–72.
62. Hillert J., Olerup O.: HLA and MS. *Neurology* 1993; 43: 2426–2427.
63. Ascherio A., Munger K.L., Lennette E.T. i wsp.: Epstein-Barr virus antibodies and risk of multiple sclerosis: a prospective study. *JAMA* 2001; 286: 3083–3088.
64. Cepok S., Zhou D., Srivastava R. i wsp.: Identification of Epstein-Barr virus proteins as putative targets of the immune response in multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.* 2005; 115: 1352–1360.
65. Levin L.I., Munger K.L., Rubertone M.V. i wsp.: Temporal relationship between elevation of Epstein-Barr virus antibody titers and initial onset of neurological symptoms in multiple sclerosis. *JAMA* 2005; 293: 2496–2500.
66. Lee M.A., Palace J., Stabler G. i wsp.: Serum gelatinase B, TIMP-1, TIMP-2 levels in multiple sclerosis. A longitudinal clinical and MRI study. *Brain* 1999; 122: 191–197.

67. Waubant E., Goodkin D.E., Gee L. i wsp.: Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI activity in relapsing multiple sclerosis. *Neurology* 1999; 7: 1397–1401.
68. Linington C., Bradley M., Lassmann H. i wsp.: Augmentation of demyelination in rat allergic encephalomyelitis by circulating mouse monoclonal antibodies directed against a myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Am. J. Pathol.* 1988; 130: 443–454.
69. Krumbholz M., Theil D., Derfuss T. i wsp.: BAFF is produced by astrocytes and up-regulated in multiple sclerosis lesions and primary central nervous system lymphoma. *J. Exp. Med.* 2005; 201: 195–200.
70. Meinel E., Krumbholz M., Derfuss T. i wsp.: Compartmentalization of inflammation in the CNS: A major mechanism driving progressive multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.* 2008; 274: 42–44.
71. Fletcher J.M., Lalor S.J., Sweeney C.M. i wsp.: T-cells in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clin. Exp. Immunol.* 2010; 162: 1–11.
72. Mosmann T.R., Cherwinski H., Bond M.W. i wsp.: Two types of murine helper T cell clone: I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.* 1986; 136: 2348–2357.
73. Korn T., Bettelli E., Oukka M., Kuchroo V.K.: IL-17 and Th17 cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2009; 27: 485–517.
74. Stromnes I.M., Cerretti L.M., Liggitt D. i wsp.: Differential regulation of central nervous system autoimmunity by Th1 and Th17 cells. *Nat. Med.* 2008; 14: 337–342.
75. Brucklacher-Waldert V., Stuermer K., Kolster M. i wsp.: Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain* 2009; 132: 3329–3341.
76. Tsaknaris L., Spencer L., Culbertson N. i wsp.: Functional assay for human CD4⁺CD25⁺ Treg cells reveals an age-dependent loss of suppressive activity. *J. Neurosci. Res.* 2003; 74: 296–308.
77. Vigiotta V., Baecher-Allan C., Weiner H.L., Hafler D.A.: Loss of functional suppression by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J. Exp. Med.* 2004; 199: 971–979.
78. Jacobsen M., Cepok S., Quak E. i wsp.: Oligoclonal expansion of memory CD8⁺ T cells in cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. *Brain* 2002; 125: 538–550.
79. Neumann H., Medana I.M., Bauer J., Lassmann H.: Cytotoxic T lymphocytes in autoimmune and degenerative CNS diseases. *Trends Neurosci.* 2002; 25: 313–319.
80. O'Connor K.C., Appel H., Bregoli L. i wsp.: Antibodies from inflamed central nervous system tissue recognize myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J. Immunol.* 2005; 175: 1974–1982.
81. Silber E., Sharief M.K.: Axonal degeneration in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.* 1999; 170: 11–18.
82. Frohman E.M., Filippi M., Stuve O. i wsp.: Characterizing the mechanisms of progression in multiple sclerosis: evidence and new hypotheses for future directions. *Arch. Neurol.* 2005; 62: 1345–1356.
83. Trapp B.D., Ransohoff R., Rudick R.: Axonal pathology in multiple sclerosis: relationship to neurologic disability. *Curr. Opin. Neurol.* 1999; 12: 295–302.
84. Dutta R., McDonough J., Yin X. i wsp.: Mitochondrial dysfunction as a cause of axonal degeneration in multiple sclerosis patients. *Ann. Neurol.* 2006; 59: 478–489.
85. Uccelli A., Zappia E., Benvenuto F. i wsp.: Stem cells in inflammatory demyelinating disorders: a dual role for immunosuppression and neuroprotection. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2006; 6: 17–22.
86. Zawadzka M., Franklin R.J.: Myelin regeneration in demyelinating disorders: new developments in biology and clinical pathology. *Curr. Opin. Neurol.* 2007; 20: 294–298.
87. Akiyama Y., Radtke C., Honmou O. i wsp.: Remyelination of the spinal cord following intravenous delivery of bone marrow cells. *Glia* 2002; 39: 229–236.
88. Pluchino S., Zanotti L., Martino G.: Rationale for the use of neural stem/precursor cells in immunemediated demyelinating disorders. *J. Neurol.* 2007; 254 (supl. 1): 1/23–1/28.
89. Saccardi R., Kozak T., Bocelli-Tyndall C. i wsp.: Autoimmune Diseases Working Party of EBMT: Autologous stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: update of the European Group for Blood and Marrow Transplantation autoimmune diseases working party database. *Mult. Scler.* 2006; 12: 814–823.
90. Samijn J.P., te Boekhorst P.A., Mondria T. i wsp.: Intense T cell depletion followed by autologous bone marrow transplantation for severe multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 2006; 77: 46–50.
91. Brown J.: Mutations in amyloid precursor protein gene and disease. *Lancet* 1991; 337: 923–924.
92. Hutton M., Hardy J.: The presenilins and Alzheimer's disease. *Hum. Mol. Genet* 1997; 6: 1639–1646.
93. Selkoe D.J.: Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol. Rev.* 2001; 81: 741–766.
94. Verdile G., Gandy S.E., Martins R.N.: The role of presenilin and its interacting proteins in the biogenesis of Alzheimer's beta amyloid. *Neurochem. Res.* 2007; 32: 609–623.
95. Citron M., Westaway D., Xia W. i wsp.: Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat. Med.* 1997; 3: 67–72.
96. Farrer L.A., Cupples L.A., Haines J.L. i wsp.: Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 1997; 278: 1349–1356.
97. Hardy J.: Molecular genetics of Alzheimer's disease. *Acta Neurol. Scand. Suppl.* 1996; 165: 13–17.
98. Mahley R.W., Weisgraber K.H., Huang Y.: Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2006; 103: 5644–5651.
99. Wisniewski H.M., Wegiel J., Kotula L.: Review. David Oppenheimer Memorial Lecture 1995: Some neuropathology aspects of Alzheimer's disease and its relevance to other disciplines. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1996; 22: 3–11.
100. Glenner G.G.: Alzheimer's disease. The commonest form of amyloidosis. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1983; 107: 281–282.
101. Drake J., Link C.D., Butterfield D.A.: Oxidative stress precedes fibrillar deposition of Alzheimer's disease amyloid beta-peptide (1–42) in a transgenic *Caenorhabditis elegans* model. *Neurobiol. Aging* 2003; 24: 415–420.
102. Lambert J.C., Mann D.M., Harris J.M. i wsp.: The –48 C/T polymorphism in the presenilin 1 promoter is associated with an increased risk of developing Alzheimer's disease and an increased Aβ load in brain. *J. Med. Genet.* 2001; 38: 353–355.
103. Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Tung Y.C. i wsp.: Abnormal phosphorylation of the microtubule associated protein τ (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1986; 83: 4913–4917.
104. Wischik C.M., Novak M., Thøgersen H.C. i wsp.: Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1988; 85: 4506–4510.
105. Lee V.M., Balin B.J., Otvos L., Trojanowski J.Q.: A68: a major subunit of paired helical filaments and derivatized forms of normal tau. *Science* 1991; 251: 675–678.
106. Alonso A., Zaidi T., Novak M. i wsp.: Hyperphosphorylation induces self-assembly of τ into tangles of paired helical filaments/straight filaments. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2001; 98: 6923–6928.
107. Iqbal K., Zaidi T., Bancher C., Grundke-Iqbal I.: Alzheimer paired helical filaments. Restoration of the biological activity by dephosphorylation. *FEBS Lett.* 1994; 349: 104–108.

108. Iqbal K., Alondo Adel C., Chen S. i wsp.: Tau pathology in Alzheimer's disease and other tauopathies. *Biochim. Biophys. Acta* 2005; 1739: 198–210.
109. McGeer E.G., McGeer P.L.: Chronic inflammation in Alzheimer's disease offers therapeutic opportunities. *Expert Rev. Neurother.* 2001; 1: 53–60.
110. Weiner H.L., Frenkel D.: Immunology and immunotherapy of Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2006; 6: 404–416.
111. Nunomura A., Perry G., Aliev G. i wsp.: Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001; 60: 759–767.
112. Beal M.F.: Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Biochim. Biophys. Acta* 1998; 1366: 211–223.
113. Manczak M., Park B.S., Jung Y., Reddy P.H.: Differential expression of oxidative phosphorylation genes in patients with Alzheimer's disease: implications for early mitochondrial dysfunction and oxidative damage. *Neuromolecular Med.* 2004; 5: 147–162.
114. Price J.L., Morris J.C.: Tangles and plaques in nondemented aging and "pre-clinical" Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* 1999; 45: 358–368.
115. Valenzuela M.J., Sidhu K.S., Dean S.K. i wsp.: Neural stem cell therapy for neuropsychiatric disorders. *Acta Neuropsychiatr.* 2007; 19: 11–26.
116. Heese K., Low J.W., Inoue N.: Nerve growth factor, neural stem cells and Alzheimer's disease. *Neurosignals* 2006; 15: 1–12.
117. Zietlow R., Lane E.L., Dunnett S.B., Rosser A.E.: Human stem cells for CNS repair. *Cell Tissue Res.* 2008; 331: 301–322.
118. Tuszynski M.H., Thal L., Pay M. i wsp.: A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease. *Nat. Med.* 2005; 11: 551–555.



4th International Conference

“Advances in Clinical Neuroimmunology” – ACN 2014

27–28 June 2014
Cracow, Poland

Dear Colleagues,

After successful three previous ACN Conferences in 2007, 2010 and 2012 it is my big pleasure and honour to invite you to participate in the 4th International Conference “Advances in Clinical Neuroimmunology” – ACN 2014 (www.acn2014.eu), which will take place on 27–28 June 2014 in Cracow, Poland.

The main advantage of these Conferences is their high scientific quality, avoidance of parallel scientific sessions, enough planned time for discussion, specialized topic-clinical neuroimmunology, which develops very rapidly, interesting social programme. During the Conference the lectures will be presented by international experts and will cover recent advances in pathology, diagnosis and therapy of neuroimmunological disorders. Short communication sessions will give an opportunity to present current research.

See you in wonderful Cracow.

*Prof. dr Jacek Losy, M.D., Ph.D.
Chairman of the Organizing Committee*