



Primena matičnih ćelija u lečenju neuroloških oboljenja – da li je budućnost već stigla?

Stem cells use in the treatment of neurologic disorders – Has the future already arrived?

Dragana Obradović*, Bela Balint[†], Evica Dinčić*, Ranko Raičević*,
Slobodan Obradović[‡], Gordana Tončev[§], Vladimir Kostić^{||}

Vojnomedicinska akademija, *Klinika za neurologiju, [†]Institut za transfuziologiju, [‡]Klinika za urgentnu internu medicinu, Beograd; **Klinički centar Kragujevac**, [§]Klinika za neurologiju, **Kragujevac**; **Klinički centar Srbije**, ^{||}Institut za neurologiju, **Beograd**

Ključne reči:

nervni sistem, centralni, bolesti; nervni sistem, periferni, bolesti; kičmena moždina, povrede; transplantacija matičnih ćelija.

Key words:

central nervous system diseases; peripheral nervous system diseases; spinal injuries; stem cell transplantation.

Uvod

Velika naučna dogma o nemogućnosti neurogeneze, odnosno nemogućnosti stvaranja novih neurona nakon embrionalnog i ranog postnatalnog razvoja u centralnom nervnom sistemu (CNS), odbačena je tek sredinom devedesetih godina, kada je otkriveno postojanje neurogeneze u ograničenim područjima CNS odraslih sisara, uključujući i čoveka¹⁻³. Nosioci neurogeneze u adultnom CNS su matične ćelije (MĆ) – neuralne progenitorske ćelije, koje imaju sposobnost samoobnavljanja, tj. stvaranja identične ćerke-ćelije, ali i diferencijacije ka ćelijama neuronskog ili glijalnog tipa^{4, 5}. Broj ovih ćelija relativno je mali i ograničen na dve regije adultnog CNS – hipokampus, odnosno subgranularnu zonu (SGZ)⁶ *gyrus dentatus* i subventrikularnu zonu lateralnih komora (SVZ)⁷. Neuralne progenitorske ćelije izolovane su i iz drugih delova CNS kao odgovor na oštećenje, s tim što se u ovim regijama ne odvija spontani proces neurogeneze⁶.

Količina MĆ, kao i brzina neurogeneze u adultnom CNS nisu dovoljni za reparaciju i regeneraciju oštećenja koja postoje kod neuroloških oboljenja, iako je dokazano da neurogenezu stimuliše oštećenje moždanog tkiva, kao i pojedini hormoni i neurotransmiteri, ali i da u krvi postoji cirkulišuća populacija MĆ koja bi mogla da vrši dopunu neuralnih progenitorskih ćelija adultnog CNS^{3, 8}.

Mogući terapijski egzogeni izvori MĆ su embrionalne i fetalne matične ćelije, ćelije pupčane vrpce, masno tkivo, ko-

stna srž i kloniranje⁹. Primena embrionalnih i fetalnih MĆ, pored etičke dileme, nosi rizik od formiranja teratoma nakon CNS transplantacije. Kloniranje podrazumeva transfer jedra iz somatske ćelije u jajnu ćeliju iz koje je uklonjeno jedro, što bi omogućilo stvaranje velikog broja MĆ za autolognu transplantaciju, s tim što ostaju zakonska i etička ograničenja vezana za ovu proceduru. Matične ćelije iz pupčane vrpce uzete nakon rođenja i pohranjene u banku MĆ predstavljaju značajan izvor ovih ćelija, koje se mogu koristiti u slučaju kasnijeg razvoja bolesti¹⁰. Kostna srž ostaje najveći i najdostupniji izvor MĆ, uz mogućnost relativno lakog sakupljanja i krioprezervacije ovih ćelija¹¹, sa ili bez njihove *in vitro* diferencijacije i naknadne transplantacije u ciljni deo CNS. Nedavni eksperimentni radovi pokazali su veliki potencijal transdiferencijacije ovih ćelija, odnosno mogućnost ekspresije neuronskih markera i posledičnu funkcionalnost ćelija nakon ciljane fokalne aplikacije¹²⁻¹⁴. Ostaje pitanje da li eksprimirani neuronski markeri predstavljaju posledicu ćelijske fuzije ili se zbilja radi o ekstremnoj plastičnosti ovih ćelija, odnosno mogućnosti njihove raznolike transdiferencijacije, popularno označene kao „pretvaranje krvi u mozak“^{12, 15}. U svakom slučaju, publikovani rezultati potvrđuju postojanje funkcionalnog oporavka, koje je često u disproporciji sa postignutom reparacijom, odnosno stepenom zamenjenosti oštećenih ćelija novoformiranim iz MĆ¹³. To bi značilo da je zamena oštećenih ćelija samo jedan od mehanizama ćelijske terapije, moguće i manje značajan, dok bi ključni faktor

predstavljalo delovanje MĆ na faktore lokalnog miljea u smislu neuroprotekcije i indukovanja mehanizama samozaštite i oporavka^{13, 15}. Najviše kliničkih iskustava ima sa primenom MĆ u infarktu miokarda, pri čemu objavljeni rezultati govore u prilog značaja parakrinog delovanja MĆ^{16, 17}.

Parkinsonova bolest

Kod Parkinsonove bolesti (PB) dolazi do progresivne degeneracije dopaminergičkih neurona u *pars compacta substantia nigra* sa posledičnom denervacijom strijatumata i kliničkom slikom bradikinezije, rigiditeta, tremora i posturalne nestabilnosti. Osnova lečenja je supstitucija L-dopom, s tim što vremenom dolazi do slabljenja postignutih terapijskih rezultata i pojave neželjenih efekata lečenja¹⁸.

Pokazano je da se simptomi PB ispoljavaju tek kada nivo dopamina u strijatumu padne ispod 70%, tako da se transplantacija fetalnih mezencefaličnih dopaminergičkih neurona, odnosno supstitucija degenerisanih dopaminergičkih neurona, činila kao logičan izbor u pokušaju lečenja, pre svega kod medikamentno rezistentnih i uznapredovalih formi PB^{19, 20}. Rezultati prvih, malih kliničkih studija sa intrastrijatalnom transplantacijom fetalnih dopaminergičkih neurona pokazali su da transplantirani neuroni preživljavaju, otpuštaju dopamin i reinervišu strijatum^{21–23}. Što se tiče kliničkog efekta, kod pojedinih bolesnika postignuta je dobra i dugotrajna kontrola PB^{23, 24}. Pokazano je, na autopsijskom materijalu transplantiranih, da je za dobar klinički oporavak potrebno preživljavanje bar 100 000 dopaminergičkih neurona u putamenu, odnosno reinervacija 1/3–1/2 putamena²². Ovi prvi pozitivni rezultati inicirali su randomizovanu placebo-kontrolisanu studiju u koju je bilo uključeno 40 bolesnika sa teškom formom PB (kod 20 je rađena implantacija fetalnog mezencefaličnog tkiva u putamen bilateralno, a kod drugih 20 „lažna neurohirurgija – bez implantacije“) ²⁵. Rezultati su bili neočekivano skromni. Naime, izvesno poboljšanje postignuto je kod bolesnika mladih od 60 godina, ali je došlo do razvoja distonije i diskinezija kod 15% transplantiranih bolesnika nakon godinu dana²⁵. Istovremeno, potvrđeno je preživljavanje i očuvanost funkcije transplantiranih MĆ bogatih dopaminom. U drugoj placebo-kontrolisanoj studiji koja je takođe obuhvatala bolesnike sa uznapredovalom PB, čak 56% bolesnika razvilo je diskinezije, a postignuto kliničko poboljšanje bilo je na granici statističke značajnosti²⁶. Naknadnom analizom utvrđeno je da je loš ishod bio kod onih bolesnika kod kojih je i preoperativno postojala degeneracija dopaminskih neurona u delovima gde nije implantiran graft, kao i da implantacija MĆ ne zaustavlja dalju degeneraciju dopaminskih neurona u neimplantiranim regionima²⁷. Neuroni poreklom iz grafta nisu podlegali procesu degeneracije^{26, 27}. Za graftom-indukovane diskinezije utvrđeno je da nisu posledica preteranog otpuštanja dopamina iz grafta, već moguće posledica neravnomerne i delimične reinervacije strijatumata^{27, 28}. Dakle, bolja selekcija bolesnika, odnosno odabir onih sa manje uznapredovalom bolešću, omogućio bi i bolje kliničke efekte nakon transplantacije. Upotreba MĆ iz kostne srži koje bi *in vitro* bile umnožene i diferencirane ka dopaminskim neuronima, značajno bi unapredila transplantaciju u

PB, obzirom na etička ograničenja koja nosi primena fetalnih MĆ i činjenicu da je potreban veći broj fetusa za jednu transplantaciju²⁴. Takođe, neophodno je pre same transplantacije locirati mesta degeneracije dopaminskih neurona korišćenjem¹⁸ F-dopa pozitron emisije tomografije (*positron emission tomography* – PET) i nakon toga vršiti ciljne multiple implantacije MĆ u te delove, što bi rezultovalo boljim kliničkim oporavkom i odsustvom diskinezija²⁷. Nedavno su objavljeni ohrabrujući rezultati primene *glial cell line-derived neurotrophic factor* (GDNF) u vidu direktnih infuzija u putamen obolelih od PB tokom godinu dana²⁹. Ovaj faktor rasta ekspimiraju transplantirane MĆ u eksperimentnom modelu PB. Pokazano je da on ispoljava snažno neuroprotektivno delovanje, utičući na oporavak disfunkcionalnih dopaminergičkih neurona, što otvara mogućnost njegove primene u kombinaciji sa transplantacijom MĆ kod PB²⁹.

Interesantno je pitanje neurogeneze kod PB. Naime, pokazano je da klasičnoj kliničkoj slici PB prethodi period depresivnosti, poremećaja prostorne orijentacije i poremećaja mirisa, s tim šta su ovi simptomi nezavisni od nivoa dopamina i, uglavnom, prođu neopaženo³⁰. Pojedini autori skloni su da ih pripišu insuficijentnoj neurogenezi u SVZ i SGZ, s obzirom da se indentični simptomi izazivaju eksperimentnom inhibicijom neurogeneze u ovim područjima^{30, 31}. Pokazano je da dopamin stimuliše adultnu neurogenezu preko D2 receptorima sličnih receptora, prisutnih na neuralnim progenitorskim ćelijama u SVZ³⁰. Kod obolelih od PB u autopsijskom materijalu nađena je redukcija broja neuralnih progenitorskih ćelija u SVZ i SGZ, što može biti posledica deplecije dopamina i razlog za insuficijentnu neurogenezu kod PB³². Mogućnost aplikacije dopamimetičkih lekova sa ciljem stimulacije endogene neurogeneze u SVZ i SGZ predstavlja značajan potencijal za lečenje PB stimulacijom reparacionih procesa. U adultnoj *substantia nigra* obolelih od PB identifikovane su progenitorske neuralne ćelije sa sposobnošću diferencijacije u neurone³³. Stimulacija svrsishodne i dovoljne neurogeneze na ovom nivou, značila bi verovatno ključni pomak u lečenju i izlečenju PB.

Alchajmerova bolest

Kod Alchajmerove bolesti (AB) dolazi do progresivnog propadanja neurona i neuralnih sinapsi u različitim delovima mozga – korteks, hipokampus, amigdala, *nucleus basalis* Meynert. Naročito je značajna deplecija holinergičkih neurona u *nucleus basalis* Meynert, s obzirom da je ova regija zadužena za holinergičku inervaciju korteksa i hipokampusa i upravo se manjak acetilholina smatra ključnim za nastanak i ispoljavanje AB. Kliničku sliku karakteriše progresivni gubitak pamćenja i drugih kognitivnih funkcija sa posledičnom demencijom. Raspoloživa terapija se zasniva na pojačavanju holinergičke funkcije u mozgu primenom inhibitora acetilholin esterase, ali ima skroman i ograničen učinak. U radovima na eksperimentnom modelu AB pokazano je da postoji insuficijencija neurogeneze u hipokampusu³⁴. S druge strane, u nedavno objavljenoj studiji na humanom materijalu AB, u hipokampusu nađen je povećan broj ćelija koje ekspimiraju rane, razvojne neuronalne markere, što bi se moglo

tumačiti kao povećanje neurogeneze kod AB³⁵. Ovo bi moglo da bude od ključnog kliničkog i terapijskog značaja imajući u vidu ulogu hipokampusa u procesu učenja i pamćenja. Već je pokazano da sa starenjem dolazi do smanjenja neurogeneze u hipokampusu i to u korelaciji sa poremećajem pamćenja, kao i da estrogen i kognitivno stimulišuće aktivnosti smanjuju rizik od razvoja AB³⁶⁻³⁸. Eksperimentalno je dokazano da se transplantacijom neuralnih progenitorskih ćelija u mozak pacova popravlja poremećaj pamćenja izazvan procesom starenja³⁹. Dakle, hipokampus, odnosno stimulacija neurogeneze u hipokampusu mogla bi da bude terapijski cilj u lečenju AB. Prema podacima dobijenim na eksperimentalnim životinjama, neurogenezu u hipokampusu stimulišu učenje, socijalni kontakti, fizička aktivnost, visok nivo estrogena, dijetetski režim ishrane, dok kortikosteroidi, stres, inflamacija i podređeni, inferiorni položaj jedinke deluju inhibitoryno³⁶. Interesantno, u depresiji smanjena je neurogeneza, a svi poznati antidepressivi, čak i elektrokonvulzivna terapija, stimulišu neurogenezu^{36,40}.

Druga terapijska opcija kod AB je primena NGF (*Nerve Growth Factor*), koji sprečava propadanje holinergičkih neurona, deluje neuroprotektivno i dovodi do poboljšanja pamćenja na animalnom modelu AB⁴¹. Objavljeni su rezultati I faze kliničke studije sa primenom NGF u lečenju AB kod ljudi⁴². Naime, rađena je autologa transplantacija genetski modifikovanih fibroblasta – korišćenjem retrovirusa kao vektora osposobljeni su da proizvode NGF, pri čemu je vršena njihova stereotaksična aplikacija u širi region *nucleus basalis* Meynert. Nisu registrovani neželjeni efekti terapije nakon dve godine praćenja, a nađeno je značajno usporenje napredovanja kognitivnih oštećenja. Kod bolesnika u ranoj fazi AB nađen je smanjen broj cirkulišućih CD34+ ćelija, odnosno hematopoetskih MĆ⁴³. Imajući u vidu potencijal hematopoetskih MĆ da se diferenciraju prema neuronima, ovaj nalaz bi mogao da govori u prilog insuficijenciji hematopoetskih MĆ u uslovima pojačane potrebe za reparacijom oštećenih delova kod AB^{12,44}. Na ovaj način bi čak i sistemska aplikacija hematopoetskih MĆ, ili pak mezenhimnih MĆ imala opravdanje u lečenju AB. Dakle, čini se da buduća ispitivanja i kliničke studije kod AB mogu ići u nekoliko pravaca – stimulacija neurogeneze u hipokampusu i SVZ, ali i u delovima mozga gde se ona ne odvija spontano, a gde postoje MĆ koje mogu biti indukovane ka daljoj diferencijaciji; primena faktra rasta koji imaju neuroprotektivni potencijal korišćenjem genetski modifikovanih MĆ. Zbog difuznosti procesa i raznolikosti oštećenih neurona lokalna ili sistemska aplikacija MĆ, predstavlja najveći terapijski izazov.

Amiotrofična lateralna skleroza

Kod amiotrofične lateralne skleroze (ALS) dolazi do degeneracije motornih neurona i u kičmenoj moždini (donji motorni neuron), i u velikom mozgu i moždanom stablu (gornji motorni neuron) sa posledičnim progresivnim razvojem mišićne slabosti, respiratornom insuficijencijom i smrću nakon par godina. Kod oko 5% slučajeva radi se o dominantnom nasleđivanju mutacije u genu za Cu-Zn (bakar-cink) superoksid-dizmutazu (SOD1). Ne postoji terapija koja

bi značajnije usporila napredovanje bolesti. S obzirom da se radi o neuronima koji imaju najduže aksone (desetine centimetara), primena MĆ sa ciljem njihove diferencijacije i zamene oštećenih motoneurona ima malo izgleda za uspeh. Ali, kao što je već pomenuto, zamena oštećenih ćelija matičnim ćelijama najverovatnije i nije ključni mehanizam evidentiranog funkcionalnog oporavka^{13,15}. Kao i kod drugih neurodegenerativnim bolesti, i kod ALS veoma je bitna interakcija između neurona – motoneurona i glijalnih ćelija za održavanje morfološke i funkcionalne sposobnosti neurona⁴⁵. Naime, na eksperimentnom modelu – analog familijarne SOD1 forme ALS, pokazano je da je neophodno prisustvo mutacije za SOD1 i u motoneuronima i u glijalnim ćelijama da bi se bolest ispoljila, odnosno degeneracija SOD1+ motoneurona bila je značajno usporena ukoliko su u njihovom okruženju bile glijalne ćelije koje ne ekspimiraju SOD1 mutaciju^{46,47}. Ovo govori u prilog neuroprotektivnog delovanja glijalnih ćelija, a upravo MĆ imaju sposobnost da indukuju promene u lokalnom okruženju, stimulišući neuroprotektivno delovanje i/ili diferencirajući se ka ćelijama glije^{15,24}. Nedavno su objavljeni rezultati koji potvrđuju da transplantacija neuralnih progenitorskih ćelija kod SOD1 transgenog miša – analog ALS, dovodi do diferencijacije u neurone i integracije donorskih ćelija u kičmenu moždinu, kao i pojačane produkcije faktora rasta IGF-1 (*Insulin Growth Factor 1*) i VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) sa posledičnim pozitivnim kliničkim efektom⁴⁸.

Na animalnom modelu pokazano je da intravenska aplikacija humanih MĆ iz pupčane vrpce i kostne srži dovodi do produženja života i to dozno zavisno, kao i da MĆ nakon intravenske aplikacije migriraju ka oštećenim motoneuronima^{47,49}. Ovi nalazi su i inicirali prve pokušaje lečenja pomoću MĆ koje potiču iz kostne srži kod obolelih od ALS. Tako, kod tri bolesnika urađena je intratekalna aplikacija autologih CD34+ ćelija poreklom iz kostne srži, pri čemu nije bilo neželjenih efekata, ali nije registrovan ni pozitivan klinički pomak nakon 12 meseci⁵⁰. Autologa transplantacija MĆ iz kostne srži u spinalnu regiju T7–T9 kod sedam bolesnika, bila je praćena prolaznim dizestetičnim smetnjama, pri čemu je nakon tri meseca kod šest bolesnika evidentiran pozitivan klinički efekat – usporavanje mišićne slabosti kod četvoro i čak pojačavanje mišićne snage kod dvoje⁵¹. Nakon tri godine u ovoj grupi bolesnika, pozitivan klinički efekat i dalje je prisutan⁵². Stimulacija neurogeneze u SGZ hipokampusa i SVZ lateralnih komora, ali i u delovima mozga gde se normalno ne odvija neurogeneza (cerebralni korteks i kičmena moždina), predstavlja važno potencijalno mesto terapijskog delovanja u ALS. Na animalnom modelu ALS pokazano je da dolazi do stimulacije neurogeneze na spinalnom nivou, i to ne samo na nivou stvaranja novih neuralnih progenitora, nego i njihove migracije i dalje diferencijacije u područja degeneracije motoneurona⁵³.

Nedavno je razvijena i neurohirurška endoskopska metoda za izolaciju neuralnih progenitora iz SVZ bočnih komora, uz mogućnost njihove i *in vitro* ekspanzije pre naknadne transplantacije^{47,54}. Ovaj sofisticiraniji, usmereni pristup mogao bi da bude od značaja u slučajevima sa značajnom lokalnom degeneracijom motornih neurona, dok dosadašnji re-

zultati iniciranih kliničkih studija i ispitivanja vijabilnosti MĆ iz kostne srži ALS bolesnika, govore u prilog autologe sistemske aplikacije MĆ, s obzirom na očuvanu sposobnost diferencijacije MĆ⁵⁵.

Povreda kičmene moždine

Povrede kičmene moždine dovode do prekida uzlaznih i silaznih aksonskih puteva sa posledičnom kliničkom slikom motorne slabosti, gubitka senzibiliteta i autonomne disfunkcije ispod mesta povrede. Lokalno, dolazi do gubitka neurona, glije, inflamacije i demijelinizacije, inicijalno zbog povrede, a kasnije i kao posledica sekundarne degeneracije. Ne postoji uspešna terapija. Dva su osnovna pravca u reparaciji oštećene kičmene moždine kada je u pitanju ćelijska terapija: transplantacija (ne)diferenciranih MĆ i stimulacija endogene neurogeneze. Praćenje transplantiranih MĆ pomoću magnetne rezonancije (MR) na eksperimentnom modelu pokazalo je da nezavisno od načina aplikacije, MĆ tokom prve nedelje migriraju ka mestu oštećenja i vidljive su u tom regionu oko 30 dana, što je praćeno funkcionalnim oporavkom i smanjenjem veličine lezije⁵⁶. Studije na eksperimentnom modelu pokazale su da transplantirane embrionalne MĆ preživljavaju, diferenciraju se i dovode do funkcionalnog oporavka, najverovatnije putem sekrecije trofičkih faktora i remijelinizacije⁵⁷⁻⁵⁹. Rezultati ovih studija ukazuju na rizik koji sa sobom nosi nekontrolisana diferencijacija MĆ nakon transplantacije. Naime, postoji mogućnost ekscesivne diferencijacije u astrocite i aberantno grananje aksona sa posledičnim razvojem alodinije⁶⁰. Dodatno je pitanje optimalnog vremena za transplantaciju MĆ, odnosno postizanja boljih kliničkih efekata u slučaju akutne ili hronične povrede. Zna se da je intenzitet inflamatorne reakcije na mestu povrede kičmene moždine kod nižih primata čak deset puta veći nego kod sisara, kao i da oni imaju sposobnost potpunog funkcionalnog oporavka nakon povrede⁶¹. Istraživanja su pokazala da ovaj inflamatorni odgovor na mestu oštećenja u velikom broju čine autoreaktivni T limfociti, upereni na antigene nervnog tkiva, kao oni u multiploj sklerozi⁶¹. Takođe, administracijom autoreaktivnih T limfocita u eksperimentnom modelu u periodu do 15 dana od povrede, postiže se gotovo potpuna reparacija organa i oporavak funkcije^{61, 62}. Ovo se najverovatnije postiže sekrecijom neurotrofina – faktora rasta i diferencijacije od strane autoreaktivnih T limfocita^{61, 62}. Polazeći od ovih rezultata, Moviglia i sar.⁶³ pokazali su da u zajedničkoj kulturi, autoreaktivni T limfociti uzeti od bolesnika sa povredom kičmene moždine, uzrokuju diferencijaciju mezenhimnih MĆ porekla iz kostne srži u neurone – neuralne MĆ. Ovi autori otišli su i korak dalje, pa su bolesnicima sa hroničnom povredom kičmene moždine preko spinalne arterije nivoa povrede, ubacili autologe autoreaktivne T limfocite, a nakon 48 sati i transdiferencirane neuralne MĆ (nastale kokulturom mezenhimnih MĆ i autoreaktivnih T limfocita)⁶⁴. Nakon šest meseci praćenja postignut je značajan oporavak motornih i senzitivnih funkcija kod oba bolesnika⁶⁴. Olfaktorne *ensheathing* ćelije (OEC) predstavljaju jedinstvene ćelije glije prisutne samo u olfaktornom sistemu, poseduju izuzetnu plastičnost i nosioci su neurogeneze za granični deo

perifernog nervnog sistema i CNS u olfaktivnom regionu⁶⁵. Najviše se koriste upravo u povredama kičmene moždine, s obzirom na dokazan lokalni neuroprotektivni efekat, stimulišu rast i remijelinizaciju aksona, kao i angiogenezu⁶⁵. Njihovom transplantacijom – graftingom u područje povrede, kod sedam bolesnika sa hroničnom povredom kičmene moždine postignut je oporavak na skali motornih i senzitivnih funkcija, izvestan oporavak autonomnih funkcija, kao i MR verifikovano delimično ili potpuno ispunjenje lezije⁶⁶. U slučaju povrede kičmene moždine (eksperimentni model), procesom endogene neurogeneze dolazi do diferenciranja progenitorskih MĆ u oligodendrocite i astrocite, sa posledičnom remijelinizacijom i izvesnim stepenom funkcionalnog oporavka⁶⁷. Stimulacija ovog procesa određenim faktorima rasta i diferencijacije, omogućila bi lokalnu *in situ* reparaciju sa željenim oporavkom oštećenih funkcija⁶⁸.

Multipla skleroza

Multipla skleroza (MS) predstavlja imunoposredovano/autoimuno oboljenje CNS, koje pogađa osobe mlađeg životnog doba i vremenom dovodi to teškog invaliditeta⁶⁹. U patogenezi bolesti ulogu igraju faktori sredine za koje se smatra da pokreću aberantni autoimuni odgovor kod osoba sa izvesnom genetskom predispozicijom⁷⁰. Autoimuni odgovor, dominantno posredovan autoreaktivnim CD4+ T ćelijama, uzrokuje inflamaciju i demijelinizaciju unutar CNS, s tim da je nedavno utvrđeno postojanje i primarne degeneracije aksona u ranoj fazi bolesti, što govori u prilog neurodegenerativne komponente MS^{69, 71}. Najveći broj bolesnika pripada grupi remitentno-relapsnih (RR) (80%), s tim da nakon 5–15 godina većina ovih bolesnika prelazi u sekundarno-progresivnu formu MS, dok primarno progresivnu formu bolesti ima do 15% bolesnika. Ne postoji efikasan lek za MS, a postojeći koncept lečenja zasniva se na imunosupresiji i imunomodulaciji. Za RR formu bolesti koriste se interferon beta i glatiramer acetat, koji imaju za cilj da spreče pojavu novih pogoršanja MS i time uspore napredovanje bolesti, s tim što se kod 30–40% lečenih bolesnika ne postiže željeni efekat⁷². Za terapijski rezistentne i progresivne forme bolesti, koristi se citostatik mitoksantron, koji s obzirom na kumulativni kardiotskični efekat ima dozno ograničenu primenu. Tako, jedan značajan broj bolesnika po iscrpljivanju navedenih terapijskih režima, ostaje bez efikasnog lečenja.

Po analogiji sa drugim autoimunim bolestima, razmatrana je, a 1995. godine prvi put i urađena, autologa transplantacija matičnih ćelija (ATMĆ) nakon prethodno sprovedene imunoablativne terapije⁷³. Do sada je urađeno oko 300 ATMĆ u svetu⁷⁴⁻⁷⁷. Kriterijume i protokol za ATMĆ kod MS predložilo je 2000. godine Evropsko udruženje neurologa⁷⁸. Osnovna postavka ove terapije je poništavanje autoreaktivnog, patološkog imunog sistema intenzivnim imunoablativnim režimom – kombinacijom citostatika i naknadnom ATMĆ, poreklom iz periferne krvi samog bolesnika, radi uspostavljanja novog funkcionalnog imunog sistema⁷⁹. Dakle, cilj je da se zaustavi dalje inflamatorno, imunološki posredovano oštećenje u CNS, dok još nije postignuta kritična deplecija aksona sa postizanjem ireverzibilnih neuroloških ošteće-

nja. Ovakav vid ATMĆ predstavlja transplantaciju CD34+, odnosno hematopoetskih MĆ. Pomenuto je da su neka istraživanja pokazala njihov potencijal diferencijacije i u progenitore neuralnih i ćelija glije, što bi značilo da pored restitucije novog imunog sistema dolazi možda i do ćelijske reparacije (proces remijelinizacije demijelinizovanih aksona, regeneracije ćelija lokalnog *milieu* i nastanak novih neurona)¹². U prilog ovoj tezi govore nalazi *post mortem* studija osoba transplantiranih zbog leukemije, gde su donori bili HLA podudarni, ali drugog pola od primaoca, tako da se bojenjem polnih hromozoma mogu indentifikovati ćelije donora godinama kasnije. Naime, kod ovih osoba je desetinama godina posle transplantacije u brojnim tkivima, uključujući mozak i mišiće, nađeno prisustvo ćelija koje potiču od donora, visokodiferenciranih i funkcionalno integrisanih u lokalnu sredinu⁸⁰.

Analiza prvih 85 objavljenih ATMĆ pokazala je da čak 74% bolesnika nema pogoršanja u periodu od tri godine, značajno je redukovan broj aktivnih lezija registrovanih MR pregledom (sa 33 na 8%), poboljšanje EDSS skora, (*Expanded Disability Status Scele*) koji predstavlja meru težine neurološkog deficita, za 0,5, a kod 20% bolesnika čak više od 1,0⁸¹. Najveći rizik ovakvog lečenja je preproceduralni mortalitet zbog imunoablacije, koji je u ovoj analizi iznosio 6%, starost iznad 45 godina, EDSS skor iznad 6,0 (teško pokretni bolesnici) i ekstenzivna T-deplecija, definisani su kao faktori rizika⁸¹. U toku je evropska studija – ASTIMS trial (*Autologous Stem Cell Transplantation International Multiple Sclerosis*), koja direktno poredi efikasnost mitoksantrona i ATMĆ na zaustavljanje progresije terapijski rezistentnih, progresivnih fromi MS⁸². Klinike za neurologiju i hematologiju, kao i Institut za transfuziologiju Vojnomedicinske akademije (VMA) učesnici su ove studije. Pre dve godine urađena je prva ATMĆ u VMA (neobjavljeni podaci). Van ove evropske studije, u toku su monocentrične studije u SAD i Kanadi⁷⁴.

Stimulacija remijelinizacije i neuroprotekcija aksona predstavljaju ključne terapijske ciljeve kod MS, za razliku od sada prisutnih lekova koji se baziraju na menjanju imunog odgovora i supresiji inflamacije^{24, 83}. Spontana remijelinizacija odvija se tokom trajanja bolesti i to zahvaljujući postojanju prekursora oligodendrocita (POD) u sivoj i belojoj masi CNS odraslih, te bi se ona mogla smatrati jedinstvenom endogenom terapijom MĆ. Najintenzivnija je u ranoj fazi RR forme MS, pri čemu je reč o vrlo efikasnom regenerativnom procesu sa ponovnim uspostavljanjem morfologije i funkcije lediranih aksona⁸⁴⁻⁸⁶. Remijelinizacija se odvija u prisustvu inflamatornih ćelija, te se čini da inflamacija ne deluje inhibitorno na POD, već da je čak i neophodna za remijelinizaciju⁸³. U hroničnim plakovima postoje inaktivni, retki POD, mnoštvo astrocita, mikroglija i retke inflamatorne ćelije. U njima se gotovo i ne odvija remijelinizacija, ali je na eksperimentnom modelu pokazano da bi transplantacija egzogenih POD mogla da dovede do remijelinizacije, pod uslovom da postoji dovoljan broj očuvanih aksona⁸³. S obzirom da hronični plakovi predstavljaju korelat teškog, ireverzibilnog neurološkog oštećenja, ovakav vid terapije bio bi izuzetno značajan i potencijalno predstavlja jedini mogući vid morfološ-

kog i funkcionalnog oporavka kod teških i najtežih lezija CNS.

Dakle, terapija bi trebalo da se zasniva na stimulaciji remijelinizacije od strane POD i otkrivanju i uklanjanju faktora koji je onemogućavaju. Pokazano je da hijaluronan pokrećem od astrocita, koji se nagomilava u demijelinizacionim lezijama, sprečava maturaciju endogenih POD²⁴. Interesantno je da sami oligodendrociti nemaju sposobnost remijelinizacije, već isključivo njihovi progenitori⁸⁶.

Remijelinizacija bi se mogla pospešiti transplantacijom MĆ, moguće i hematopoetskih CD34+, izvesno adultnih i embrionalnih POD i mezenhimnih MĆ (MMĆ). Pokazano je da sistemski date neuralne MĆ migriraju do ognjišta demijelinizacije, neke se diferenciraju u POD i remijelinizuju aksona, dok druge ostaju nediferencirane i deluju imunosupresivno^{24, 87}. Takođe, embrionske POD i POD iz adultnog ljudskog mozga vrše remijelinizaciju demijelinizovanog mozga i kičmene moždine^{24, 88}. Naravno, reč je o eksperimentnim modelima MS. Izdvajanje pobrojanih ćelija i njihova naknadna fokalna ili sistemska aplikacija kod ljudi, skopčana je sa brojnim tehničkim ograničenjima⁸³.

Posebno je interesantna mogućnost transplantacije MMĆ koje imaju dokazan i siguran potencijal transdiferencijacije u prekursora neurona i OD, uz to su i lako dostupne, s obzirom da se nalaze u kostnoj srži⁸⁹. Tamo ih ima u daleko manjem broju nego hematopoetskih, 1 : 10 000, nešto se teže izdvajaju, ali se relativno lako mogu umnožiti *in vitro* i naknadno plasirati intratekalnim ili sistemskim putem⁹⁰. Rezultati studija na eksperimentnom modelu MS govore da intravenska aplikacija MMĆ dovodi do zaustavljanja demijelinizacije i inflamacije i kliničkog oporavka bolesnih životinja⁹¹. Pokazano je njihovo imunomodulatorno delovanje – supresija T, B i NK (*Natural Killer*) ćelijskog odgovora, anergija T limfocita i sekrecija *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) sa efektom na proliferaciju OD prekursora⁹². Ovi rezultati inicirali su prve pilot studije sa autologom transplantacijom MMĆ u MS, bez prethodne imunoablativne terapije⁹⁰. Iranski autori objavili su rezultate svoje pilot studije na 10 bolesnika rezistentnih na standardnu terapiju, kojima su intratekalno date MMĆ iz kostne srži, ekspanzirane *in vitro*⁹³. U periodu praćenja od 13 do 26 meseci, kod četiri bolesnika nije bilo kliničkih promena, jedan se značajno popravio (EDSS od 5 na 2,5), kod petoro je došlo do povećanja EDSS skora (od 0,5 na 2,5, što znači da su potpuno funkcionalno aktivni), dok je MR nalaz bio stacionaran kod devet bolesnika⁹³. Ozbiljniji komentar opravdanosti i efikasnosti ovakvog lečenja zahteva rezultate drugih, započetih pilot studija. Mogućnost primene MMĆ se ne ograničava samo na MS, već i na druge neurodegenerativne i inflamatorne neurološke oblasti.

Da li je i neurogeneza u MS insuficijentna? Ukoliko je suditi po broju perifernih CD34+ ćelija, odgovor bi bio potvrdan⁹⁴. Tok bolesti govori u prilog suficijentne neurogeneze u ranoj fazi MS, kada još dolazi do reparacije oštećenog mijelina i funkcionalnog oporavka. U svakom slučaju, MĆ iz SVZ i SGZ, sa dokazanom sposobnošću migracije, parakrinog delovanja i diferencijacije ka POD, doprinose samo ograničeno reparaciji demijelinizacionih lezija, pa se MĆ iz

SVZ smatraju odgovornim za remijelinizaciju ograničenu na regiju *corpus calosum*⁸⁶. Iako je pokazano da pojava nove demijelinizacione lezije dovodi do četverostrukog porasta broja pluripotentnih MĆ, tzv. B ćelija i trenutne ekspresije markera POD⁹⁵, ova vrsta autoreparacije očigledno nije dostatna za saniranje lezija kod MS. Pojedini autori smatraju da stimulacija neurogeneze u SGZ i SVZ ne bi znatnije doprinela procesu remijelinizacije u udaljenim demijelinizacionim lezijama, s obzirom da bi moglo da dođe do kompeticije sa lokalnim POD i uzajamne inhibicije⁸³, dok drugi nemogućnost *in situ* reparacije, čak lokalizaciono bliskih periventri-

kularnih demijelinizacionih lezija, objašnjavaju prostornim promjenama unutar SVZ koje su uzrokovane inflamacijom, što dovodi do terminalne diferencijacije ćelija⁹⁵.

Zaključak

Budućnost ćelijske terapije u lečenju neuroloških bolesti je počela. Ostaju važna pitanja na koja odgovor mogu dati samo dobro osmišljene međunarodne studije, a tiču se vrste ćelija, načina njihovog umnožavanja i aplikacije, kao i optimalnog vremenskog okvira za ovakvu vrstu lečenja.

L I T E R A T U R A

- Rakić P. Limits of neurogenesis in primates. *Science* 1985; 227(4690): 1054–6.
- Jobansson CB, Svensson M, Wallstedt L, Janson AM, Frisén J. Neural stem cells in the adult human brain. *Exp Cell Res* 1999; 253(2): 733–6.
- Ming GL, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 2005; 28: 223–50.
- Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000; 287(5457): 1433–8.
- Temple S. The development of neural stem cells. *Nature* 2001; 414(6859): 112–7.
- Elder GA, De Gasperi R, Gama Sosa MA. Research update: neurogenesis in adult brain and neuropsychiatric disorders. *Mt Sinai J Med* 2006; 73(7): 931–40.
- Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM. Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci* 2002; 22(3): 629–34.
- Ortiz-Gonzalez XR, Keene CD, Verfaillie CM, Low WC. Neural induction of adult bone marrow and umbilical cord stem cells. *Curr Neurovasc Res* 2004; 1(3): 207–13.
- Rice CM, Halppenny CA, Scolding NJ. Stem cells for the treatment of neurological disease. *Transfus Med* 2003; 13(6): 351–61.
- Škorić D, Balint B, Petakov M, Sindić M, Rodić P. Collection strategies and cryopreservation of umbilical cord blood. *Transfus Med* 2007; 17(2): 107–13.
- Balint B, Ivanović Z, Petakov M, Taseski J, Jovčić G, Stojanović N, et al. The cryopreservation protocol optimal for progenitor recovery is not optimal for preservation of marrow repopulating ability. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23(6): 613–9.
- Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA, McKercher SR. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science* 2000; 290(5497): 1779–82.
- Zhao LR, Duan WM, Reyes M, Keene CD, Verfaillie CM, Low WC. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. *Exp Neurol* 2002; 174(1): 11–20.
- Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res* 2000; 61(4): 364–70.
- Tai YT, Svendsen CN. Stem cells as a potential treatment of neurological disorders. *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4(1): 98–104.
- Schächinger V, Erbs S, Eksässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Hölschermann H, et al. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J* 2006; 27(23): 2775–83.
- Obradović S, Rusović S, Balint B, Ristić-Andelković A, Romanović R, Baškot B, et al. Autologous bone marrow-derived progenitor cell transplantation for myocardial regeneration after acute infarction. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61(5): 519–29.
- Kostić VS, Marinković J, Svetel M, Stefanova E, Pržedoborski S. The effect of stage of Parkinson's disease at the onset of levodopa therapy on development of motor complications. *Eur J Neurol* 2002; 9(1): 9–14.
- Geraerts M, Kryshchukina O, Debysse Z, Baekelandt V. Concise review: therapeutic strategies for Parkinson disease based on the modulation of adult neurogenesis. *Stem Cells* 2007; 25(2): 263–70.
- Fillmore HL, Holloway KL, Gillies GT. Cell replacement efforts to repair neuronal injury: a potential paradigm for the treatment of Parkinson's disease. *NeuroRehabilitation* 2005; 20(3): 233–42.
- Lindvall O, Rehncrona S, Brundin P, Gustavii B, Astedt B, Widner H, et al. Human fetal dopamine neurons grafted into the striatum in two patients with severe Parkinson's disease. A detailed account of methodology and a 6-month follow-up. *Arch Neurol* 1989; 46(6): 615–31.
- Kordover JH, Freeman TB, Snow BJ, Vingerboets FJ, Mufson EJ, Sanberg PR, et al. Neuropathological evidence of graft survival and striatal reinnervation after the transplantation of fetal mesencephalic tissue in a patient with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1995; 332(17): 1118–24.
- Picini P, Brooks DJ, Björklund A, Gunn RN, Grasby PM, Rimoldi O, et al. Dopamine release from nigral transplants visualized *in vivo* in a Parkinson's patient. *Nat Neurosci* 1999; 2(12): 1137–40.
- Lindvall O, Kokaia Z. Stem cells for the treatment of neurological disorders. *Nature* 2006; 441(7097): 1094–6.
- Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001; 344(10): 710–9.
- Olanow CW, Goetz CG, Kordover JH, Stoessl AJ, Sossi V, Brin MF, et al. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003; 54(3): 403–14.
- Picini P, Pavese N, Hagell P, Reimer J, Björklund A, Oertel WH, et al. Factors affecting the clinical outcome after neural transplantation in Parkinson's disease. *Brain* 2005; 128(Pt 12): 2977–86.
- Carlsson T, Winkler C, Lundblad M, Cenci MA, Björklund A, Kirik D. Graft placement and uneven pattern of reinnervation in the striatum is important for development of graft-induced dyskinesia. *Neurobiol Dis* 2006; 21(3): 657–68.
- Gill SS, Patel NK, Hottel GR, O'Sullivan K, McCarter R, Bunnage M, et al. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med* 2003; 9(5): 589–95.
- Borta A, Höglinger GU. Dopamine and adult neurogenesis. *J Neurochem* 2007; 100(3): 587–95.

31. Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 2003; 301(5634): 805–9.
32. Höglinger GU, Rizk P, Muriel MP, Duyckaerts C, Oertel WH, Caillé I, et al. Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci* 2004; 7(7): 726–35.
33. Lie DC, Dzięczapolski G, Willboite AR, Kaspar BK, Shults CW, Gage FH. The adult substantia nigra contains progenitor cells with neurogenic potential. *J Neurosci* 2002; 22(15): 6639–49.
34. Wang R, Dineley KT, Sweatt JD, Zheng H. Presenilin 1 familial Alzheimer's disease mutation leads to defective associative learning and impaired adult neurogenesis. *Neuroscience* 2004; 126(2): 305–12.
35. Jin K, Peel AL, Mao XO, Xie L, Cottrell BA, Henshall DC, et al. Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(1): 343–7.
36. Elder GA, De Gasperi R, Gama Sosa MA. Research update: neurogenesis in adult brain and neuropsychiatric disorders. *Mt Sinai J Med* 2006; 73(7): 931–40.
37. Cholerton B, Gleason CE, Baker LD, Asthana S. Estrogen and Alzheimer's disease: the story so far. *Drugs Aging* 2002; 19(6): 405–27.
38. Wilson RS, Mendes De Leon CF, Barnes LL, Schneider JA, Bienias JL, Evans DA, et al. Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *JAMA* 2002; 287(6): 742–8.
39. Hodges H, Veizovic T, Bray N, French SJ, Rashid TP, Chadwick A, et al. Conditionally immortal neuroepithelial stem cell grafts reverse age-associated memory impairments in rats. *Neuroscience* 2000; 101(4): 945–55.
40. Malberg JE. Implications of adult hippocampal neurogenesis in antidepressant action. *J Psychiatry Neurosci* 2004; 29(3): 196–205.
41. Fischer W, Wictorin K, Björklund A, Williams LR, Varon S, Gage FH. Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. *Nature* 1987; 329(6134): 65–8.
42. Tuszyński MH, Thal L, Pay M, Salmon DP, U HS, Bakay R, et al. A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease. *Nat Med* 2005; 11(5): 551–5.
43. Maler JM, Spitzer P, Lewczuk P, Kornhuber J, Herrmann M, Wiltfang J. Decreased circulating CD34+ stem cells in early Alzheimer's disease: Evidence for a deficient hematopoietic brain support? *Mol Psychiatry* 2006; 11(12): 1113–5.
44. Cogle CR, Yachnis AT, Laywell ED, Zander DS, Wingard JR, Steindler DA, et al. Bone marrow transdifferentiation in brain after transplantation: a retrospective study. *Lancet* 2004; 363(9419): 1432–7.
45. Silani V, Cona L, Corbo M, Ciammola A, Polli E. Stem-cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 2004; 364(9429): 200–2.
46. Clement AM, Nguyen MD, Roberts EA, Garcia ML, Boillée S, Rule M, et al. Wild-type nonneuronal cells extend survival of SOD1 mutant motor neurons in ALS mice. *Science* 2003; 302(5642): 113–7.
47. Ende N, Weinstein F, Chen R, Ende M. Human umbilical cord blood effect on sod mice (amyotrophic lateral sclerosis). *Life Sci* 2000; 67(1): 53–9.
48. Corti S, Locatelli F, Papadimitriou D, Del Bo R, Nizzardo M, Nardi M, et al. Neural stem cells LewisX+ CXCR4+ modify disease progression in an amyotrophic lateral sclerosis model. *Brain* 2007; 130(Pt 5): 1289–305.
49. Garbuzova-Davis S, Willing AE, Zigova T, Saporta S, Justen EB, Lane JC, et al. 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(3): 255–70.
50. Janson CG, Ramesh TM, During MJ, Leone P, Heywood J. Human intrathecal transplantation of peripheral blood stem cells in amyotrophic lateral sclerosis. *J Hematother Stem Cell Res* 2001; 10(6): 913–5.
51. Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R, Mareschi K, Oliveri G, Olivieri C, et al. Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a methodological approach in humans. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2003; 4(3): 158–61.
52. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, Vassallo E, Oliveri G, Boccaletti R, et al. Autologous mesenchymal stem cells: clinical applications in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Res* 2006; 28(5): 523–6.
53. Chi L, Ke Y, Luo C, Li B, Gozal D, Kalyanaraman B, et al. Motor neuron degeneration promotes neural progenitor cell proliferation, migration, and neurogenesis in the spinal cords of amyotrophic lateral sclerosis mice. *Stem Cells* 2006; 24(1): 34–43.
54. Westerlund U, Moe MC, Varghese M, Berg-Johnsen J, Ohlsson M, Langmoen LA, et al. Stem cells from the adult human brain develop into functional neurons in culture. *Exp Cell Res* 2003; 289(2): 378–83.
55. Svendsen CN, Langston JW. Stem cells for Parkinson disease and ALS: replacement or protection? *Nat Med* 2004; 10(3): 224–5.
56. Syková E, Jendelová P. Magnetic resonance tracking of transplanted stem cells in rat brain and spinal cord. *Neurodegener Dis* 2006; 3(1–2): 62–7.
57. McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, Liu S, Mickey SK, Turetsky D, et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat Med* 1999; 5(12): 1410–2.
58. Cummings BJ, Uchida N, Tamaki SJ, Salazar DL, Hooshmand M, Summers R, et al. Human neural stem cells differentiate and promote locomotor recovery in spinal cord-injured mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(39): 14069–74.
59. Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T, Miyao S, Watanabe M, Nakamura M, et al. Transplantation of in vitro-expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats. *J Neurosci Res* 2002; 69(6): 925–33.
60. Hofstetter CP, Holmström NA, Lilja JA, Schweinhardt P, Hao J, Spenger C, et al. Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell grafts; directed differentiation improves outcome. *Nat Neurosci* 2005; 8(3): 346–53.
61. Moalem G, Leibowitz-Amit R, Yoles E, Mor F, Cohen IR, Schwartz M. Autoimmune T cells protect neurons from secondary degeneration after central nervous system axotomy. *Nat Med* 1999; 5(1): 49–55.
62. Hauben E, Butovsky O, Nevo U, Yoles E, Moalem G, Agranov E, et al. Passive or active immunization with myelin basic protein promotes recovery from spinal cord contusion. *J Neurosci* 2000; 20(17): 6421–30.
63. Moviglia GA, Varela G, Gaeta CA, Brizuela JA, Bastos F, Saslowsky J. Autoreactive T cells induce in vitro BM mesenchymal stem cell transdifferentiation to neural stem cells. *Cytotherapy* 2006; 8(3): 196–201.
64. Moviglia GA, Fernández Viña R, Brizuela JA, Saslowsky J, Vrsalovic F, Varela G, et al. Combined protocol of cell therapy for chronic spinal cord injury. Report on the electrical and functional recovery of two patients. *Cytotherapy* 2006; 8(3): 202–9.
65. Richter MW, Roskams AJ. Olfactory ensheathing cell transplantation following spinal cord injury: hype or hope? *Exp Neurol* 2008; 209(2): 353–67.
66. Lima C, Pratas-Vital J, Escada P, Hasse-Ferreira A, Capucho C, Peduzzi JD. Olfactory mucosa autografts in human spinal cord injury: a pilot clinical study. *J Spinal Cord Med* 2006; 29(3): 191–203.
67. Yang H, Lu P, McKay HM, Bernot T, Keirstead H, Steward O, et al. Endogenous neurogenesis replaces oligodendrocytes and as-

- trocytes after primate spinal cord injury. *J Neurosci* 2006; 26(8): 2157–66.
68. *Johansson BB*. Regeneration and plasticity in the brain and spinal cord. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007; 27(8): 1417–30.
 69. *Dorđević D, Raičević R, Marić D, Jovičić A*. Multiple sclerosis – a new approach to pathophysiology, diagnosis and therapy. *Vojnosanit Pregl* 1995; 52(4): 377–87. (Serbian)
 70. *Dinčić E, Živković M, Stanković A, Obradović D, Alavantić D, Kostić V*, et al. Association of polymorphisms in CTLA-4, IL-1ra and IL-1beta genes with multiple sclerosis in Serbian population. *J Neuroimmunol* 2006; 177(1–2): 146–50.
 71. *Tončev G, Miličić B, Tončev S, Samardžić G*. Serum uric acid levels in multiple sclerosis patients correlate with activity of disease and blood-brain barrier dysfunction. *Eur J Neurol* 2002; 9(3): 221–6.
 72. *Obradović D, Dinčić E, Raičević R*. Modern therapy of multiple sclerosis evidence based. In: *Proceedings – Main Lectures. Mihačević J*, editor. Proceedings of the introductory lectures on the major topics of the 12th Congress of Neurologists of Serbia and Montenegro with foreign participants; 2004 Oct 6–10; Novi Sad, Serbia. Novi Sad: 2004. p. 61–8. (Serbian)
 73. *Fassas A, Anagnostopoulos A, Kazis A, Kapinas K, Sakellari I, Kimiskidis V*, et al. Peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of progressive multiple sclerosis: first results of a pilot study. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20(8): 631–8.
 74. *Freedman MS*. Bone marrow transplantation: does it stop MS progression? *J Neurol Sci* 2007; 259(1–2): 85–9.
 75. *Burt RK, Traynor AE, Cohen B, Karlin KH, Davis FA, Stefoski D*, et al. T cell-depleted autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis: report on the first three patients. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21(6): 537–41.
 76. *Saiž A, Carreras E, Berenguer J, Yagüe J, Martínez C, Marín P*, et al. MRI and CSF oligoclonal bands after autologous hematopoietic stem cell transplantation in MS. *Neurology* 2001; 56(8): 1084–9.
 77. *Mancardi GL, Saccardi R, Filippi M, Gualandi F, Murialdo A, Inglese M*, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation suppresses Gd-enhanced MRI activity in MS. *Neurology* 2001; 57(1): 62–8.
 78. *Comi G, Kappos L, Clanet M, Ebers G, Fassas A, Fazekas F*, et al. Guidelines for autologous blood and marrow stem cell transplantation in multiple sclerosis: a consensus report written on behalf of the European Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Charcot Foundation. *BMT-MS Study Group. J Neurol* 2000; 247(5): 376–82.
 79. *Fassas A, Kimiskidis VK*. Stem cell transplantation for multiple sclerosis: what is the evidence? *Blood Rev* 2003; 17(4): 233–40.
 80. *Scolding N, Marks D, Rice C*. Autologous mesenchymal bone marrow stem cells: practical considerations. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 111–5.
 81. *Fassas A, Passweg JR, Anagnostopoulos A, Kazis A, Kozak T, Havrdova E*, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. A retrospective multicenter study. *J Neurol* 2002; 249(8): 1088–97.
 82. *Saccardi R, Kozak T, Bocelli-Tyndall C, Fassas A, Kazis A, Havrdova E*, et al. 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(6): 814–23.
 83. *Duncan ID*. Replacing cells in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 89–92.
 84. *Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, Rauschkka H, Schmidbauer M, Laursen H*, et al. Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain* 2006; 129(Pt 12): 3165–72.
 85. *Franklin RJ*. Why does remyelination fail in multiple sclerosis? *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(9): 705–14.
 86. *Zhao C, Zawadzka M, Roulois AJ, Bruce CC, Franklin RJ*. Promoting remyelination in multiple sclerosis by endogenous adult neural stem/precursor cells: defining cellular targets. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 12–6.
 87. *Pluchino S, Zanotti L, Rossi B, Brambilla E, Ottoboni L, Salani G*, et al. Neurosphere-derived multipotent precursors promote neuroprotection by an immunomodulatory mechanism. *Nature* 2005; 436(7048): 266–71.
 88. *Windrem MS, Nunes MC, Rasbbaum WK, Schwartz TH, Goodman RA, McKhann G 2nd*, et al. Fetal and adult human oligodendrocyte progenitor cell isolates myelinate the congenitally dysmyelinated brain. *Nat Med* 2004; 10(1): 93–7.
 89. *Giordano A, Galderisi U, Marino IR*. From the laboratory bench to the patient's bedside: an update on clinical trials with mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol* 2007; 211(1): 27–35.
 90. *Karussis D, Kassis I, Kurkalli BG, Slavin S*. Immunomodulation and neuroprotection with mesenchymal bone marrow stem cells (MSCs): a proposed treatment for multiple sclerosis and other neuroimmunological/neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 131–5.
 91. *Zhang J, Li Y, Chen J, Cui Y, Lu M, Elias SB*, et al. Human bone marrow stromal cell treatment improves neurological functional recovery in EAE mice. *Exp Neurol* 2005; 195(1): 16–26.
 92. *Spaggiari GM, Capobianco A, Becchetti S, Mingari MC, Moretta L*. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. *Blood* 2006; 107(4): 1484–90.
 93. *Mohyeddin Bonab M, Yazdanbakhsh S, Lotfi J, Alimoghaddom K, Talebian F, Hooshmand F*, et al. Does mesenchymal stem cell therapy help multiple sclerosis patients? Report of a pilot study. *Iran J Immunol* 2007; 4(1): 50–7.
 94. *Papadaki HA, Tsagournisakis M, Mastorodemos V, Pontikoglou C, Damianaki A, Pyrovolaki K*, et al. Normal bone marrow hematopoietic stem cell reserves and normal stromal cell function support the use of autologous stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36(12): 1053–63.
 95. *Pluchino S, Martino G*. The therapeutic plasticity of neural stem/precursor cells in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 105–10.

Rad je primljen 5. II 2008.