

Stem cells in Erectile Dysfunction

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΩΝ ΕΟΕ
ΝΙΜΤΣ 17/6/2015



Β. ΠΡΩΤΟΓΕΡΟΥ
ΕΠ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΚΟ ΙΑΤΡΕΙΟ
Β' ΠΑΝ. ΟΥΡΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ
ΑΤΤΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ

TABLE 1: Number of published stem cells for erectile dysfunction studies.

Years	2004–2011	2012–2013	2004–2013
	Number of studies		
Total	15	20	35
Disease model			
Aging	2	1	3
CN injury	7	12	19
Hyperlipidemia	1	0	1
T1DM	2	6	8
T2DM	2	0	2
TA injury	0	2	2
SC type			
ADSC	5	13 ^a	18
BMMNC	1	0	1
BMSC	4	5	9
EPC ^b	1	0	1
ESC	1	0	1
SkMSC	2	1	3
Testis SC	0	1	1
UCBSC	1	0	1

^aIncluding 2 studies using SVF cells.

^bProbably BMMNC.



- 1^η μελέτη 2004.
- Μέχρι 2013 άλλες 34.
- 2004-2011: 15 μελέτες
- 2011-2013: 20 μελέτες!
- Κλινικές μελέτες:1
- **French trial** (Identifier:NCT01089387) autologous bone marrow mononucleated cells (BMMNC) in post-RP ED patients.
- **US trial** (Identifier: NCT01601353) autologous ADSC in patients with organic ED.

Είδη Βλαστοκυττάρων



Ανάλογα με τη δυνατότητα διαφοροποίησης

- Pluripotent: διαφοροποιούνται σε όλα τα είδη κυττάρων
- Multipotent: σε πολλά αλλά όχι σε όλα.

Ανάλογα με την προέλευση

- Embryonic (ESC) : από το εσωτερικό της Βλαστοκύστης.
- Adult (ASC): από διάφορους ιστούς που εξελίχθησαν.
- ESC: pluripotent
- ASC: multipotent
- Τα ASC διακρίνονται περαιτέρω σε: hematopoietic, neural, epithelial, mesenchymal.

ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (MSC)



- Διαφοροποιούνται σε μεσεγχυματικούς ιστούς: λίπος, οστό, χόνδρο.
- Αρχικά βρέθηκαν στο μυελό των οστών αλλά πρακτικά υπάρχουν σχεδόν παντού όπως σκελετικούς μύες και λιπώδη ιστό.
- Λόγω της εντόπισης τους γύρω από τα αγγεία προτάθηκε η μετονομασία σε V(ascular)SC. (“cells that reside within the blood vessel wall and can differentiate into all of the cell types that constitute a functional blood vessel”).
- Αυτά μπορούν να διαφοροποιηθούν σε pericytes, smooth muscle cells, endothelial cells και στη συνέχεια να οργανωθούν σε αγγεία κατά την αγγειογένεση ή νεοαγγειογένεση.

Επίσης μπορούν να διαφοροποιηθούν και σε άλλους ιστούς για να διατηρηθεί η ομοιόσταση σε περίπτωση π.χ. ιστικής βλάβης.

Συμβαίνει όντως η διαφοροποίηση;



- In vitro έχουμε αρκετά στοιχεία. In vivo όμως δεν υπάρχουν σαφές αποδείξεις ότι όντως τα βλαστικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε άλλα κύτταρα και έτσι επιτυγχάνουν το θεραπευτικό τους αποτέλεσμα. Πολύ πιθανόν να είναι καθαρά τεχνικό/εργαστηριακό πρόβλημα.
- Άλλη θεωρία: Παρακρινική δράση.
 - Έκκριση ουσιών που μπορούν:
 - Να διεγείρουν την αναγέννηση των γύρω ιστών.
 - Να τροποποιούν τους τοπικούς και συστηματικούς μηχανισμούς φλεγμονής.
 - Να κινητοποιούν κύτταρα του ξενιστή (κυρίως κύτταρα του μυελού των οστών) για να επιδιορθώνουν βλάβες

ΤΟΤΕ ΓΙΑΤΙ ΝΑ ΜΗ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕ ΜΟΝΟ ΤΙΣ ΠΑΡΑΚΡΙΝΙΚΕΣ ΑΥΤΕΣ ΟΥΣΙΕΣ;

Είδη βλαστοκυττάρων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν



- Embryonic Stem Cell (ESC)
- Bone Marrow Stem Cell (BMSC-μεσεγχυματικά)
- Bone Marrow Mononuclear Cell (BMSC)
- Endothelial Progenitor Cell (EPC)
- Umbilical Cord Blood Stem Cell (UCBSC-Αιμοποιητικά αλλά και Μεσεγχυματικά)
- Skeletal Muscle-Derived Stem Cell (SkMDSC)
- **Adipose-Derived Stem Cell (ADSC)**
- Testis-Derived Stem Cell

Θέματα ανοσοκαταστολής



- Autologous
- Allogeneic
- Xenogeneic
- Ειδικά στα ADSC μπορούν να χρησιμοποιηθούν το υλικό από τις αμέτρητες λιποαναρροφήσεις που γίνονται παγκοσμίως.
- Τα MSC διαθέτουν ανοσοκατασταλτικές και ανοσορρυθμιστικές ιδιότητες και επίσης δεν έχουν τα αντιγόνα του συστήματος MHC (Major Histocompatibility Complex- II) και έτσι δεν προκαλούν ανοσολογική αντίδραση στον ξενιστή.



- Μετρια έκφραση των αντιγόνων του major histocompatibility complex class I.
- Δεν εκφράζουν τα αντιγόνα του major histocompatibility complex class II.
- Παράλληλα έχουν ισχυρή ανοσοκατασταλτική δράση μέσω cell-cell contact και έκκριση ουσιών όπως nitric oxide, indoleamine 2, 3-dioxygenase και heme oxygenase-1.
- Αλληλεπιδρούν με ουδετερόφιλα, δενδριτικά κύτταρα, natural killer cells, ηωσινόφιλα και μακροφάγα καταστέλοντας τη δράση τους.
- Καταστέλνουν δράση ουδετερόφιλων μέσω έκκριση IL-6.
- Αναστέλνουν τη διαφοροποίηση των μονοκυττάρων σε δενδριτικά κύτταρα.
- Συνκαλλιέργεια MSC και natural killer cells μειώνει την παραγωγή IFN- γ κατά 80%.

Τρόποι χορήγησης



- Ενδοσηραγγώδη ένεση.
- Ένεση στο MPG (major pelvic ganglia) σε ποντίκια (για αποκατάσταση νευρογενούς ΣΔ)
- Συνδυασμός των ανωτέρω.
- Διεγχειρητική τοποθέτηση SC στα νεύρα και κάλυψη τους με scaffolds.
- Ένεση περιπροστατικά με ή χωρίς ενδοσηραγγώδη ένεση.
- Ακυτταρικό συνθετικό μόσχευμα εμποτισμένο με SC για την αποκατάσταση βλάβης των σηραγγωδών νεύρων.
- Ενδοφλέβια χορήγηση.
- Χρήση SIS μοσχεύματος εμποτισμένο με ADSC σε v. Peyronie.
- Ένεση στον ινώδη χιτώνα του πέους ADSC για να μειωθεί η ανάπτυξη ίνωσης σε v.Peyronie.

Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων



- Μέτρηση ICP (Intracavernous Pressure)
- Ιστοχημικές μετρήσεις
- Για τα ενδοθηλιακά κύτταρα του πέους: CD31, eNOS, RECA-1, and vWF.
- Για τα σηραγγώδη νεύρα: IHC or IF χρώση για έκφραση του nNOS.
- Για τα λεία μυϊκά κύτταρα: smooth muscle actin, Alexa fluor-conjugated phalloidin.

Αποτελέσματα



- ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ.

- 1 κλινική μελέτη:

- 7 ασθενείς με Σακχ. Διαβήτη τύπου II, 57-87 ετών.
 - Χρήση UBSC.
 - Στον 1 μήνα 3 ασθενείς επανάκτησαν πρωινές στύσεις και στους 3 μήνες ακόμα άλλοι 3 ασθενείς.
 - Παρόλα αυτά για επαφή χρειάζονταν σιλδεναφίλη.
 - Στους 11 μήνες 1 ασθενής μπορούσε να έχει επαφή χωρίς σιλδεναφίλη.
 - Σε όλους πλην του πιο ηλικιωμένου ασθενή, μειώθηκαν τα επίπεδα του σακχάρου και της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης.



- Προ κλινικές μελέτες
- Χρησιμοποίησαν ADSC, EPC, BMSC γενικά έδειξαν αύξηση του ICP.



ΝΕΥΡΟΓΕΝΟΥΣ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΜΟΝΤΕΛΑ

- EPC, SkMSC, BMSC, ADSC, ADSC/PLGA scaffold
- Ενδοσηραγγώδης, intra MPG, seeded cells on an acellular matrix, ενδοφλεβίως.
- Γενικά θετικά αποτελέσματα με αύξηση της ICP.

Μηχανισμός δράσης



1. Κυτταρική διαφοροποίηση

τα κύτταρα εξαφανίζονται από το σημείο χορήγησης!

2. Παρακρινική δράση

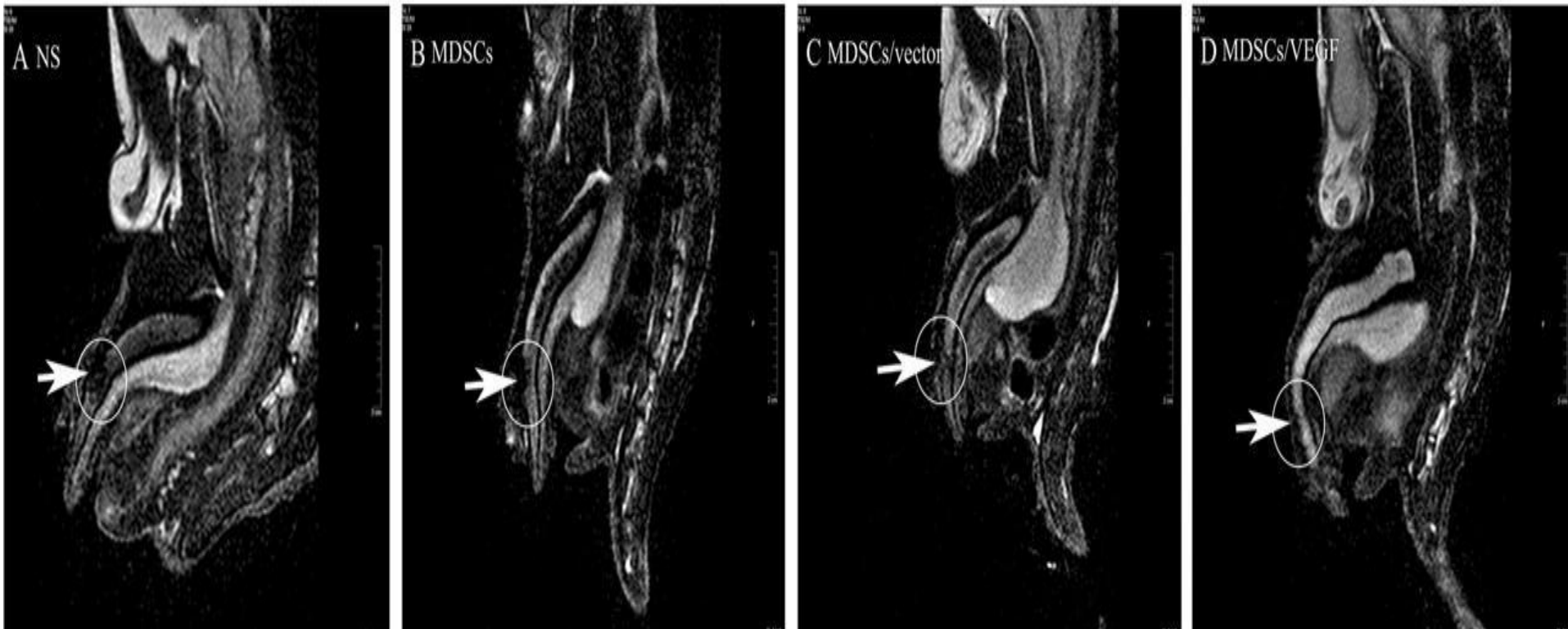
- BMSC: εκκρίνουν basic fibroblast growth factor.
- Lysate από τα ADSC ήταν μόνη της εξίσου θεραπευτική όσο και τα ADSC.
- ADSC εκκρίνουν κυτοκίνη CXCL5 με αγγειογεννητικές και νευροτροφικές ιδιότητες.
- ADSC που τους αφαιρέθηκε η ιδιότητα να παράγουν adrenomedullin έχασαν την ιδιότητα να αποκαθιστούν τη στυτική λειτουργία σε διαβητικούς ποντικούς.

The Therapeutic Role of VEGF(vascular endothelial growth factor)-Expressing **Muscle-Derived Stem Cells** in Acute Penile Cavernosal Injury.

- Combination of **MDSCs** injected with **VEGF gene**.
- **Intracavernosal** transplantation of **MDSCs/VEGF** can promote the survival of the transplanted MDSCs and increase the number of α -SMA-positive cells, vWF-positive cells, and capillaries density. This treatment can **remodel penile tissue** structure and **ameliorate erectile function**.

• J Sex Med 2012;9:1988–2000

A



Both Immediate and Delayed Intracavernous Injection of Autologous Adipose-derived Stromal Vascular Fraction Enhances Recovery of Erectile Function in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury

- Adipose-derived stem cells (ADSCs) are multipotent, self-renewing cells with the potential to differentiate into several cell types. ADSCs are isolated from the stromal vascular fraction (SVF).
- Use of Cultured cells in human subjects includes risk of contamination, unexpected cell differentiation, and tumorigenesis.
- SVF is a heterogeneous fraction containing preadipocytes, mature endothelial cells, vascular smooth muscle cells, macrophages, fibroblasts, and a large population of stem/progenitor cells.
- Autologous SVF injected immediately or 4wk after CN crush improved erectile function, promoted nerve regeneration, and prevented fibrosis of the corpus cavernosum following CN injury.
- Liposuction and injection of SVF during the same procedure as RP may be a reasonable treatment option for preoperatively motivated patients.

Intracavernous Delivery of Freshly Isolated Stromal Vascular Fraction Rescues Erectile Function by Enhancing Endothelial Regeneration in the Streptozotocin-Induced Diabetic Mouse.

- Significant **improvement in erectile function** was noted in diabetic mice treated with SVF.
- Local delivery of SVF significantly increased cavernous endothelial cell proliferation, eNOS phosphorylation, and cGMP expression compared with that in the untreated group.
- Intracavernous injection of SVF increased cavernous VEGF-A expression and induced recruitment of CD34(+)CD31(-) progenitor cells.
- Some SVF underwent differentiation into cavernous endothelial cells.
- SVF-induced promotion of cavernous angiogenesis
- **Short lived -2 weeks.**

J Sex Med 2012;9:3051–3065

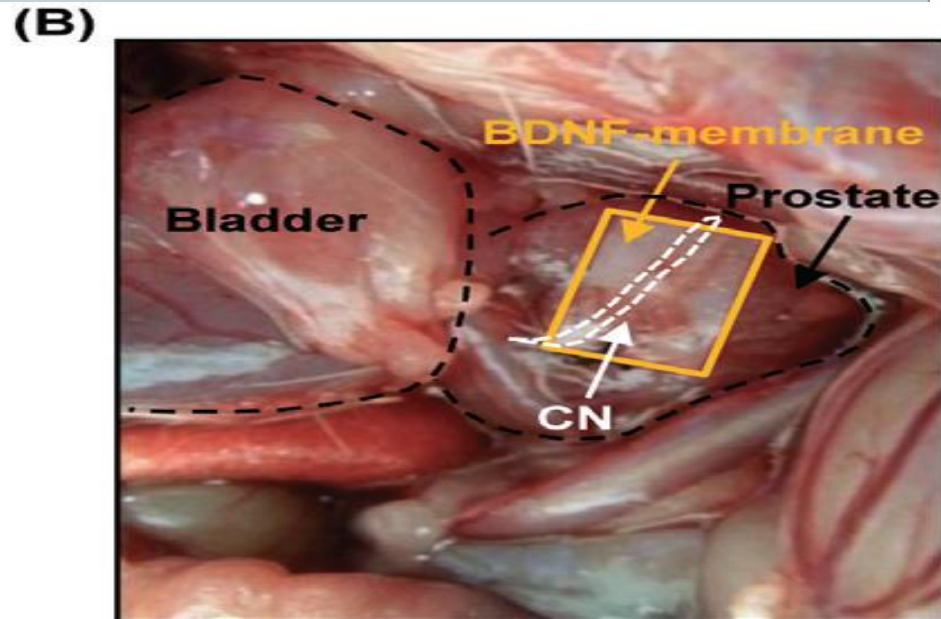
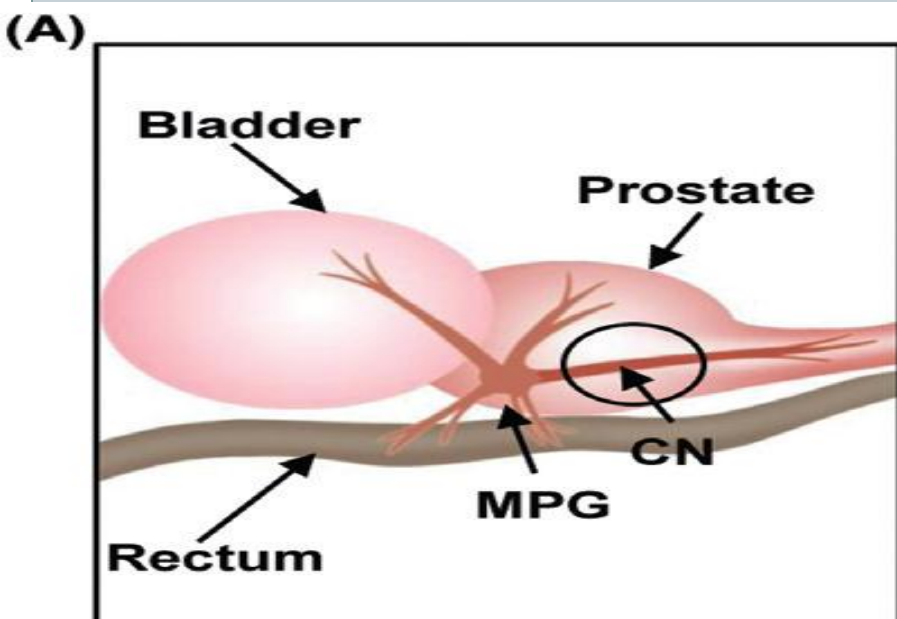
Effect of an **adipose-derived stem cell** and **nerve growth factor**-incorporated **hydrogel** on recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury.

- Immediately after the **nerve crush** procedure, a preparation of **human ADSC** was applied over the **area of injury** and covered with **hydrogel impregnated with nerve growth factor (NGF)**. The hydrogel consisted of biocompatible and biodegradable material with the added beneficial ability to bind proteins in the extracellular matrix and on the cell surface. In addition, pilot studies indicated that the hydrogel matrix released NGF for more than 30 days under tissue culture conditions.
- After 4 weeks, animals receiving **combined** treatment of **ADSC and NGF** exhibited statistically significant, but modestly **higher**, erectile activity than those treated with **ADSC** alone or **NGF** alone.
- **ADSCs localized to the cavernous nerve**. These findings indicated **engraftment** of ADSCs to the cavernous nerve.
- All treatment groups had significantly **better erectile responses** when compared with **untreated** animals with nerve injury

Therapeutic Effect of **Adipose-Derived Stem Cells** and (brain-derived neurotrophic factor) **BDNF-immobilized PLGA**(*Poly-Lactic-Co-Glycolic*) Membrane in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury.

- In the ADSC/BDNF-membrane group, erectile function was significantly elevated, compared with the BDNF and other treated groups. ADSC/BDNF-membrane treatment significantly **increased smooth muscle/collagen ratio, nNOS content, phospho-eNOS protein expression**, compared with the BCNI and other treated groups.

J Sex Med 2012;9:1968–1979.



Combined Therapeutic Effect of Udenafil and Adipose-derived Stem Cell (ADSC)/Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF) Membrane System in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury.

- **AB/udenafil** treatment significantly increased nNOS expression, VEGF expression, and elevated cGMP level, compared with the udenafil group and AB group.
- **4 weeks.**

UROLOGY 81:1108.e7e1108.e14, 2013

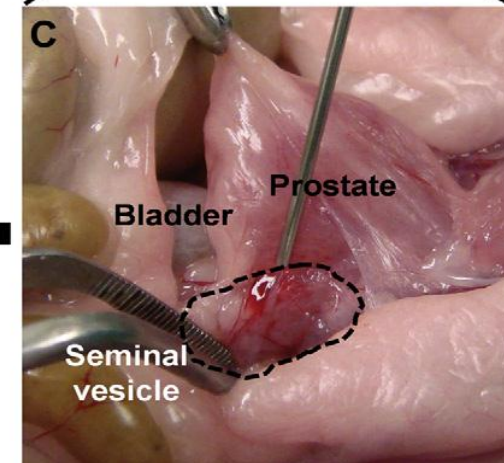
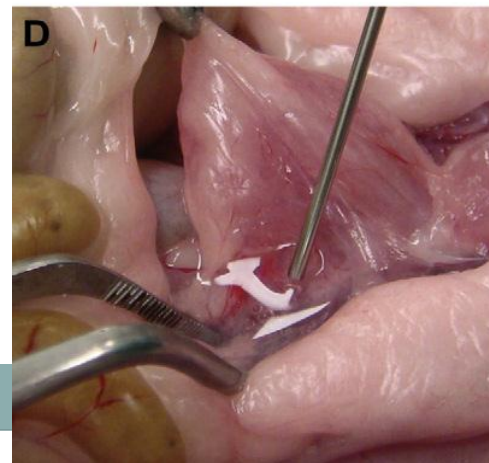
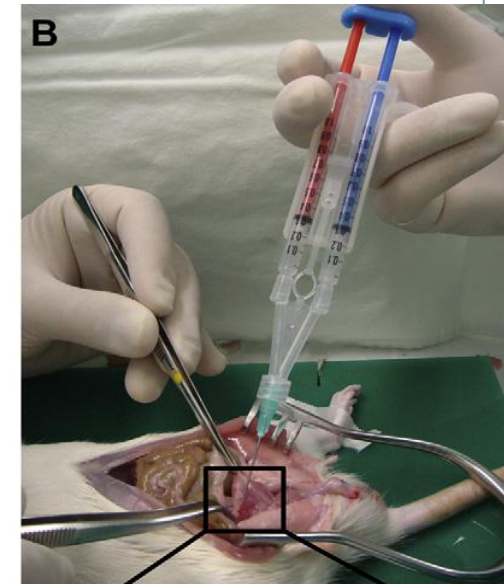
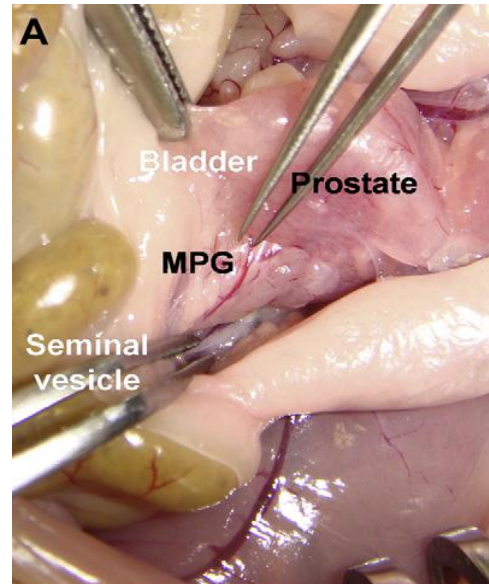
Periprostatic Implantation of Human *Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells* Potentiates Recovery of Erectile Function by Intracavernosal Injection in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury

ICI of **hBMSCs** slightly improved erectile function compared with the control group, but a combination of **PPI and ICI significantly improved** erectile function.

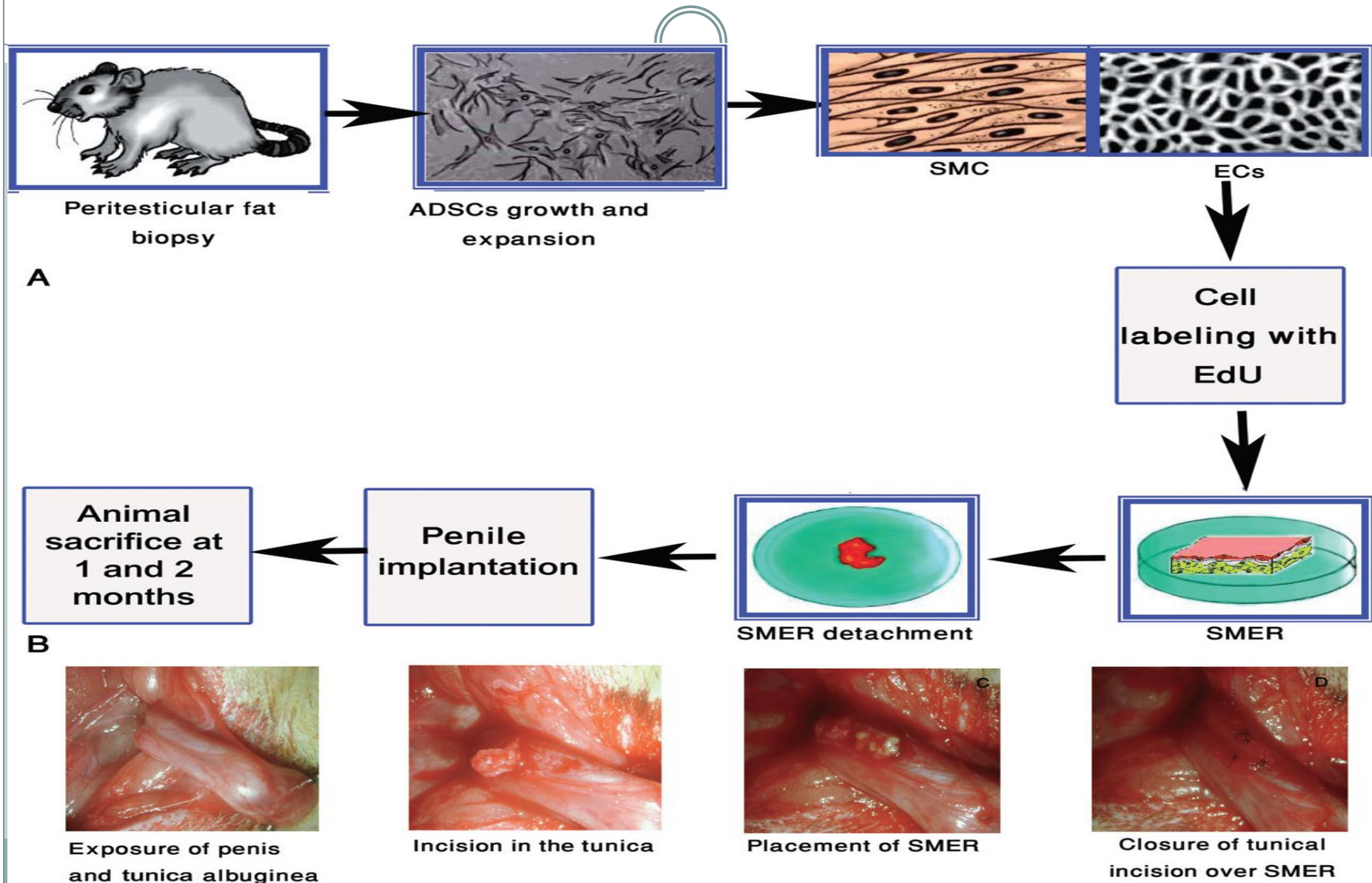
The number of nNOS-positive nerve fibers increased significantly in the PPI + ICI group.

The smooth muscle/collagen ratio increased significantly after stem cell therapy in the ICI and PPI + ICI groups.

UROLOGY 81: 104e110, 2013



Scaffoldless Tissue Engineering of Stem Cell Derived Cavernous Tissue for Treatment of Erectile Function





- The **formed** tissue (SMER: Smooth Muscle Endothelial Reconstruct) exhibited architecture **comparable to penile cavernous** tissue with **SMC** and **ECs** and extracellular matrix formation.
- The implanted cells survived in significant numbers in the penis after **1 and 2 months**.

J Sex Med 2012;9:1522–1534.

ΣΥΜΕΡΑΣΜΑΤΑ



- ADSC τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα.
- Allogeneic ή xenogeneic λόγω αφθονίας κι ευκολίας χρήσης.
- Δεν φαίνεται να υπάρχουν προβλήματα ιστοσυμβατότητας.
- 70% αποτελεσματικότητα σε σχέση με ομάδα ελέγχου. Είναι κλινικά αρκετό;
- Ενδοσηραγγώδης χορήγηση συχνότερα και απλούστερα. Εναλλακτικά iv, scaffolds, περιπροστατικές ενέσεις.
- Μηχανισμός δράσης; Παρακρινικός;