

## Abstrakt

Navzdory intenzivnímu vědeckému úsilí zůstává poranění míchy těžkým neurologickým stavem, které nemá žádnou léčbu. V současné době je terapie založena na zmírnění tlaku chirurgickou dekompresí míchy, podávání methylprednisolonu a fyzioterapie. Tato práce se zabývá terapeutickými účinky protizánětlivých sloučenin a tří typů kmenových buněk v modelu balónkové kompresní léze míchy u potkanů. Přírodní sloučeniny epigallocatechin-3-galát (EGCG) nebo kurkumin jsme aplikovali *in situ* a poté intraperitoneálně každý den až po dobu 28 dnů. Lidské mesenchymální kmenové buňky z kostní dřeně (MSC), lidské spinální neurální prekursorů (SPC-01) a neurální prekursorů derivované z lidských indukovaných pluripotentních kmenových buněk (iPS-NP) jsme transplantovali intratekálně (MSCs) nebo pomocí spinální injekce potkanům 7 dní po indukci míšního poranění. Změny motoriky a citlivosti zadních končetin jsme hodnotili behaviorálními testy. Sledovali jsme rovněž míru zachování šedé/bílé hmoty a velikost kavity léze. Přežití a diferenciaci transplantovaných buněk, aktivaci klasické dráhy NFκB, gliovou jizvu (GFAP+) a růst axonálních kolaterál (GAP43+) jsme studovali pomocí imunohistochemie. Pro stanovení hladin sekretovaných cytokinů a chemokinů (MIP1α, IL-4, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-12p70, TNFα, RANTES) jsme použili analýzu Luminex. Hodnotili jsme i změny transkripce endogenních genů souvisejících s regenerací tkáně v prvním měsíci léčby. Zjistili jsme, že po míšním poranění dochází ke zvýšení aktivity NFκB ve dvou vlnách a to 3 a 28 dní po poranění, které doprovází zvýšení zánětlivých cytokinů. Obě protizánětlivé sloučeniny silně potlačily aktivaci NFκB (p65), zatímco buněčná terapie (SPC-01, MSC) inhibovala druhou vlnu aktivity 28 dní po poranění. Všechny testované způsoby léčby vedly ke zlepšení motorických funkcí, nejlepší výsledky byly pozorované u zvířat transplantovaných neurálními prekursorů z iPS. EGCG i kurkumin snížily produkci chemokinů MIP1α a RANTES, což bylo pozorováno i po aplikaci obou typů neurálních prekursorů. Všechny léčebné přístupy snížily produkci prozánětlivých TNFα, IL-2 a IL-1β s výjimkou EGCG, kde došlo k počátečnímu nárůstu těchto proteinů a jejich postupnému snižování. Neuroprotektivní IL-4 byl významně zvýšen po léčbě EGCG a SPC-01. Zvýšená produkce IL-6 a IL-12p70 u zvířat léčených kurkuminem a oběma typy neurálních prekursorů korelovala s výrazným růstem axonálních kolaterál a funkčním zotavením, ale nikoliv s klasickou dráhou NFκB. To naznačuje, že tyto cytokiny jsou regulovány jinými transkripčními faktory aktivovanými míšním poraněním. Všechny terapie s výjimkou EGCG vedly ke snížení astrogliózy. Naše výsledky ukazují na silné

imunomodulační účinky všech testovaných terapií, které vedou ke zlepšení pohybových schopností léčených potkanů a k regeneraci míšní tkáně po poranění.

**Klíčová slova**

Míšní poranění, zánět centrálního nervového systému, kanonická dráha NFκB (p65), imunomodulace, EGCG, kurkumin, terapie kmenovými buňkami, neuroregenerace