



# Nystart för experimentella NERVCELLSTRANSPLANTATIONER vid Parkinson

Försök med att reparera hjärnan genom transplantation av omogna nervceller startade i slutet av 80-talet. Men efter att två studier inte uppnått sina studiemål avstannade den fortsatta kliniska tillämpningen. Bland annat kopplades en ny typ av besvärande ofrivilliga rörelser till transplantationerna. Nu har en längre tids uppföljning av alla nervcellstransplanterade patienter påvisat kliniskt mycket viktiga effekter. Ett arbete med att försöka tillvarata dessa effekter och samtidigt undvika de negativa effekterna har lett till en ny multicenterstudie med optimerade tekniker – TransEuro. Här ger överläkare **Håkan Widner**, Neurologiska kliniken, Skånes universitetssjukhus en kort översikt av bakgrunden till TransEuro.

**Möjligheter att reparera** hjärnan och nervsystemet efter skador och sjukdomar har varit ett eftertraktat mål för forskare och kliniker. Hjärnans egna reparativa förmåga är mycket begränsad, men i djurförsök och en del kliniska tillämpningar har transplantation av omogna nervceller kunna ersätta förlorade nervceller vid flera olika tillstånd. Längst har tillämpningarna kommit vid Parkinsons sjukdom.

Tidiga försök under 1980- och 90-talet med implantation av dopaminproducerande celler till patienter med Parkinsons sjukdom har visat att cellerna kan integrera sig till fungerande neuronala nätverk och ge upphov till meningsfulla kliniska effekter som bestått under många år. Emellertid har effekterna varit svåra att förutse och endast en begränsad andel, 25–30 procent patienter, har uppnått tillräckliga effekter för att motivera ingreppet.

I två amerikanska kontrollerade studier uppnåddes inte de primära målen

under den definierade studietiden och i en studie utvecklade ett begränsat antal patienter negativa effekter som kopplades till implantationen.

I praktiken upphörde de kliniska transplantationerna efter det att de två studierna publicerades. I öppna fortsatta uppföljningar av transplanterade patienter i dessa och andra studier visade det sig dock att ett större antal patienter senare uppnådde effekter som var kliniskt viktiga.

## TRANSEURO STARTADE 2010

Ett systematiskt arbete började då med syfte att analysera faktorer som talade emot respektive för möjligheterna att uppnå framgångsrika nervcellstransplantationer. En ansökan till EU:s sjunde ramprogram blev framgångsrik och ett studieprogram kallat TransEuro startades 2010.

Huvudmålen med TransEuro är:

- att visa att optimerade tekniker för vävnadsbehandling, implantationstek-

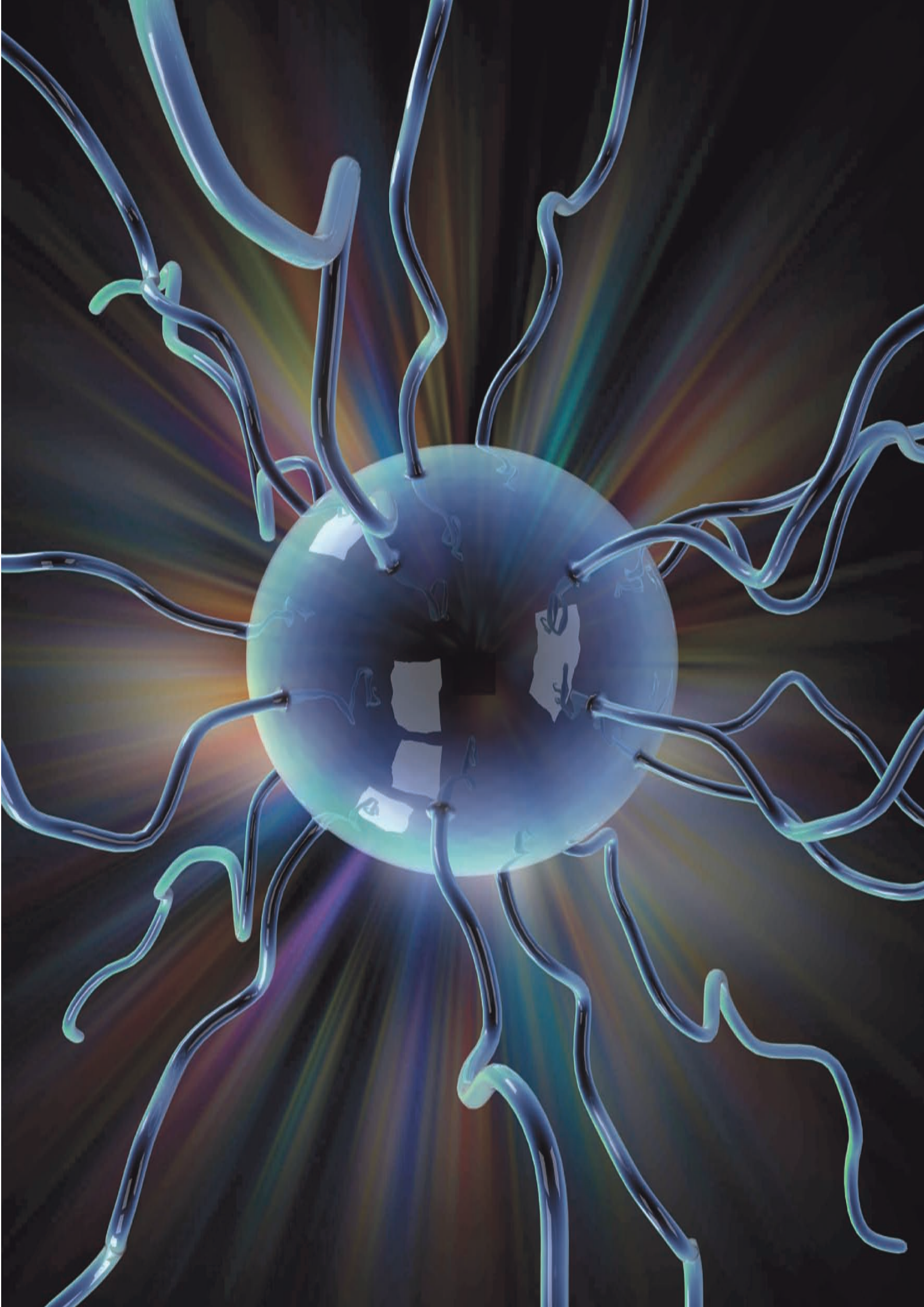
nik, patienturval och immunhämning leder till förutsägbara och konsistenta effekter vid celltransplantation vid Parkinsons sjukdom;

- att transplantationerna är säkra och inte leder till utvecklingen av ofrivilliga rörelser (transplantatframkallade dyskinesier);

- att utveckla ett transplantationsprotokoll som kan komma att användas för kommande stamcellstransplantationer, och att etiska aspekter på celltransplantation belyses.

## UPPTÄCKT AV DOPAMINET

Dopaminets centrala roll för funktioner i de basala ganglierna beskrevs först av Arvid Carlsson i slutet på 50-talet, vilket lade grunden för behandling med dopaminersättande läkemedel. Falck-Hil-larpmetoden var en unik histokemisk färgningsteknik som kunde identifiera nervceller med ledning av dess signal-



ämne och med denna teknik var det möjligt att visa att även nervceller i det centrala nervsystemet uppvisade vissa men begränsade reparativa fenomen. Nervsystem som utvecklades uppvisade de tydligaste plastiska effekterna.

I en djurmodell med unilateral dopamindefekt kunde i slutet av 1970-talet två svenska forskargrupper, Anders Björklund med medarbetare i Lund och Lars Olson och medarbetare i Stockholm, visa att transplanterade omogna nervceller överlevde och återskapade nerv-nervkontakter i hjärnan och återställde en del av symtomen av dopaminbristen.

Efter systematiska studier i djurmodeller, där bland annat de viktigaste neurobiologiska, tillika de viktigaste immunologiska begränsande faktorerna kartlades, bedömdes det vara möjligt att försöka genomföra kliniska försök.

Under ledning av neurologen Olle Lindvall i Lund, upprättades i slutet av 1980-talet ett program för att tillvarata vävnad, implantera det neurokirurgiskt och utvärdera effekterna. Däremellan hade kliniska försök med att implantera autologa binjuremargsceller som bildar mindre mängder dopamin genomförts i Stockholm och Lund, men med begränsade effekter.

En slutsats var att den celltyp som hade störst potential för att kunna reparera hjärnan var omogna nervceller, med dess förvånande förmåga att till en viss andel trots allt överleva flera dygn utan cirkulation i speciella näringsfattiga lösningar i kyla. När de första försöken planerades var stamceller i hjärnan inte kända och det var och är fortsatt nödvändigt att hämta donatorsvävnaden från rester efter aborter.

I samarbete med forskare i Uppsala som studerade möjligheterna att transplantera omogna ö-celler till patienter med diabetes, gjordes en hemställan till berörda myndigheter, bland annat Statens medicinsk-etiska råd och Läkarsällskapets etiska råd. Så småningom har transplantation av vävnadsrester efter aborter reglerats i den nu gällande Transplantationslagen och definierar kvinna som söker abort som den som kan donera vävnadsresterna.

De två första patienterna uppnådde inte tillräckliga kliniska effekter och efter ytterligare förbättringar av tekniken

transplanterades ytterligare två patienter. Kliniskt viktiga effekter kunde påvisas redan efter sex månader, men fortsatt transplantatutveckling kunde fortsatt påvisas under flera år. I Lund har vi transplanterat sammanlagt 18 patienter i olika serier i försök att demonstrera de principiella möjligheterna att reparera hjärnan.

För att försöka påvisa transplantatmekanismer har det således i uppföljande studier visats att dopamin frisätts från de transplanterade cellerna i målområdet och att funktionell integration i ett neuronalt nätverk är nödvändigt för att uppnå goda kliniska effekter. På senare tid har det i obduktionsmaterial påvisats att en liten andel, mindre än 5 procent, av överlevande transplanterade nervceller, minst 15 år gamla, utvecklat tecken till bildning av inklusionskroppar med alfasynuklein, så kallade Lewyinklusioner, som ett tecken antingen på skademekanismer i cellerna eller en överförd sjukdomsprocess till de nya cellerna. Implikationerna av detta för hur Parkinsons sjukdom uppstår och progredierar studeras för närvarande intensivt.

**”Effekterna var tydliga och viktiga och visade på att en biologisk princip med reparation av hjärnan var möjlig.”**

## FLERA GRUPPER STARTADE FÖRSÖK

Dessa försök och mekanismer ledde till att flera grupper världen över startade nervcellstransplantationer – med varierande grad av seriositet och effekter.

I syfte att med evidensbaserade metoder klarlägga effekterna påbörjades i slutet av 90-talet två kontrollerade studier i USA, med randomisering mellan en kontrollgrupp och transplantationer. I korthet betraktades interventionen med transplantationen som en behandling som om den var en färdig entitet och studierna lades upp på samma sätt som studier för läkemedel som planeras för registrering.

De två studierna skilde sig åt på flera sätt, med olika vävnadspreparering, implantationsteknik och patienturval. Effekterna av dessa studier var emellertid nedslående och de primära målen uppnåddes inte. I den första av studierna utvecklade cirka 15 procent av de transplanterade patienterna – i en öppen förlängning av studien – ofrivilliga rörelser som var oberoende av medicineringen mot Parkinson.

Dessa biverkningar var betydande och krävde korrigerande kirurgi med DBS (deep brain stimulation) för att kontrollera de ogynnsamma effekterna, vilket dock var framgångsrikt. Den andra amerikanska studien gav också upphov till ofrivilliga rörelser, men mer till följd av att studiedesignen inte stipulerade läkemedelsreduktioner.

Precis som för ett läkemedel med två negativa randomiserade kontrollerade studier och konstaterade biverkningar var celltransplantationer inte längre ett behandlingsalternativ som attraherade vare sig patienter eller forskningsgrupper.

Emellertid har öppna långtidsuppföljningar vid flera center påvisat att be-

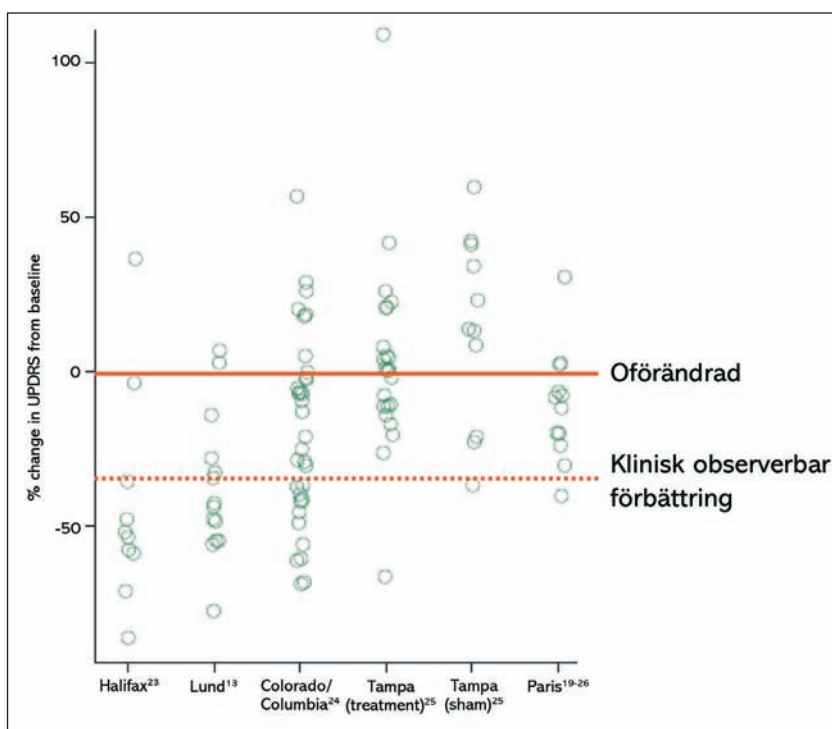
tydande kliniska effekter utan större biverkningar kan utvecklas efterhand. Det finns således patienter som varit helt utan all anti-parkinsonmedicinering över tio år, utan att ha varit i off eller upplevt större fluktuationer i sin behandlingseffekt.

Dessa observationer ledde till att diskussioner startades om att söka förbättra teknikerna och söka komma till klarhet med vad som orsakat dels de gynnsamma effekterna, dels de ovanligare biverkningarna.

## ”DATA MINING”

Efter att de två negativa amerikanska studierna publicerats samlades först en

## METAANALYS ÖVER NERVCELLSTRANSPLANTATION



Figur 1. Metaanalys av resultat från fem studiecenter med förändring i procent från baseline mätt som UPDRS (Unified Parkinsons Disease Rating Scale). Avser de längst observerade tidpunkterna. Naturalförloppet för Parkinsons sjukdom är en ökning av UPDRS med 1,5 poäng per år eller motsvarande 3 procent för motoriska symtom. Lundapatienter har observerats upp till 15 år, med en i vissa fall femtioprocentig förbättring mot en förväntad försämring om 3 procent per år. En schablonmässig gräns för att kompensera för placeboeffekter på 30 procent räknas ofta bort och endast effekter över detta kan med en konservativ hållning anses vara kliniskt relevanta effekter. En patient i Tampa – i den sham-opererade (placebo) gruppen – uppnådde en sådan grad av förbättring efter 24 mån.

del av de europeiska grupperna, senare också grupperna i USA och Kanada, för att i detalj diskutera och analysera olika faktorer som kan antas ha betydelse för att en nervcellstransplantation skall vara effektiv. Under nära nog fem år pågick detta arbete med så kallad "data mining", med kortare möten i London ett par gånger per år. Det var mycket öppna diskussioner där alla fakta lades på bordet och vreds och vändes på. Efterhand kunde flera kritiska faktorer identifieras som sannolikt är avgörande för effekter och biverkningar.

Bland annat var det möjligt i djurförsök och hos patienter med transplanterad framkallade ofrivilliga rörelser att koppla det till antalet serotonininnehållande nervceller i transplanterat. Genom att ge ett medel som hämmar serotoninfrisättning kunde de ofrivilliga rörelserna minska. Vävnadspreparationen kunde förbättras och minska risken för att

omogna serotoninbildande nervceller implanterades.

En metaanalys av resultat från de öppna och kontrollerade studierna som kunde analyseras i detalj har nyligen publicerats<sup>1</sup> (figur 1). Denna visar att det i vissa fall är möjligt att uppnå tydliga transplantateffekter, men att det är oförutsägbart och att det är för få för att det skall vara kliniskt motiverat.

Effekterna var dock tydliga och viktiga och visade på att en biologisk princip med reparation av hjärnan var möjlig. Vid en jämförelse mellan transplanterat och DBS har det i en öppen jämförelse visat sig att effekterna har varit jämförbara och i samma paritet, men med helt olika biologiska egenskaper.

### ETT OPTIMERAT PROTOKOLL

Slutsatsen av detta arbete med data mining var att det behövdes en ny kontrollerad studie för att komma vidare. Ett

optimerat protokoll som omfattar alla delar av transplantationstekniken behövdes.

Varje steg, över 200, i en transplantation diskuterades och olika varianter av tekniker jämfördes och resultaten bedömdes. När det saknades information gjordes en lista med återstående frågeställningar som behövde besvaras för att komma vidare.

En rad kritiska faktorer har identifierats och de optimala omständigheterna för att få effekter karakteriserats.

Detaljerade protokoll har upprättats för vävnadsegenskaper, implantationsteknik, patienturval, och uppföljningar och försök för att klarlägga de oklara faktorerna. Allt detta har ställts samman i ett stort forskningsprojekt som grund för en ny serie nervcellstransplantationer. De kvarvarande kritiska försöken som kvarstod listades med en serie experimentella försök som möjliga lösningar. För att lösa uppgifterna har ett forskningskonsortium bildats med 15 deltagande enheter, TransEuro (figur 2).

Arbetet har skett i nära samarbete med ett annat EU-stött projekt – Neuro Stemcell – för möjligheterna att utnyttja stamceller i stället för rester efter aborter. Slutsatsen har varit att det ännu inte finns stamcellsberedningar som är lämpliga för klinisk tillämpning och att en studie med embryonala celler är nödvändig för att uppnå målen med högre andel svarande patienter utan biverkningar.

### STUDIENDESIGN

Vikten av hur en studie med komplexa tekniker designas illustreras av de två amerikanska studierna som var dubbelblinda, randomiserade kontrollerade studier med en "sham-kontroll"-grupp, det vill säga en grupp som fick imitationskirurgi. Patienterna förbereddes alla på samma sätt och sövdes, och lotades till antingen en partiell passage genom skallbenet eller en egentlig implantation intracerebralt. Operationerna tog lika lång tid och efteråt var det endast kirurgen som hade kunskap om vilket ingrepp som skett.

Emellertid medförde ansträngningarna att försöka hålla blindningen till att man kompromissade om andra delar av implantationstekniken. I den ena stu-

## TRANSEURO – FORSKNINGSKONSORTIUM KRING PARKINSONFORSKNING



Figur 2. Ett forskningskonsortium med 15 deltagande enheter har bildats under namnet TransEuro. Medverkande är universitet och sjukhus i Storbritannien, Tyskland, Frankrike och Sverige, samt företag, bland annat forskningsföretag för PET/MR undersökningar, kognitiva tester, kemiska reagenser och kirurgiska instrument.

dien valde man till exempel bort immunhämmande behandling och i den andra höll man denna begränsad till ett medel under en kortare period för att kunna ge en placebobehandling. Flera andra kompromisser förekom, som kan ha påverkat utfallet.

Valet av slutparameter var också avgörande för det negativa utfallet – en av studierna hade frågan ”är du bättre efter ingreppet än före” som primärt studieutfall, vilket kan vara beroende av en rad faktorer som inte har direkt med ingreppet eller eventuellt överlevande nervceller i hjärnan.

För att möta en del av dessa studie-designrelaterade utmaningar diskuterades olika modeller ingående. Den viktigaste faktorn var att det inte skulle kompromissas med faktorer vad gäller implantationens eventuella effekter och möjligheterna att återskapa dopamin-nervcellernas nätverk.

Även andra faktorer togs hänsyn till. Bland annat de välkända placeboeffekterna som är kopplade till dopamin-effekter men också andra systematiska felkällor.

Den studiedesign som till slut valdes var en utvärdering av effekter efter 24 månader med 12 mån observation före i en grupp patienter ( $n=20$ ) och direkta kontroller till dem ( $n=20$ ). Dessa patienter lottas från en större observationsgrupp om 150 patienter som följs under samma period på 36 månader (figur 3a och b).

De allmänna inklusionskriterierna är desamma för den större gruppen, men en ytterligare karakterisering sker av transplantationsgruppen och de direkta kontrollerna med bland annat omfattande PET- (positronemissionstomografi) och MRT-undersökningar (magnetresonanstomografi).

Patienternas motoriska symtom mäts och bedöms med standardiserade tester under standardiserade förhållanden. Testerna videoinspelas och försök görs för att dölja eventuella synliga ingrepp. Ett omfattande batteri av inventeringar av icke-motoriska och kognitiva symtom genomförs i on- respektive off-faser.

Videobandens ordning kommer att kastas om i slumpmässig följd, och de motoriska symtomen kommer att bedö-

mas av två granskare som är obekanta med vilken behandling som getts och vid vilken tidpunkt.

Målet med studierna är således att söka uppnå goda kliniska anti-parkinson-effekter, utan att ogynnsamma biverkningar utvecklas. De mest avgörande skillnaderna jämfört med tidigare studier har varit patienturvalet. Således är det patienter som har sjukdomen och som har en pågående behandling med medicinering men som är helt utan redan utvecklade ofrivilliga rörelser, dyskinesier.

Det handlar således om patienter med relativt kort sjukdomsduration och med en ålder under 60 år vid inklusionen. Noggranna tester med avseende på denervationsmönster förenliga med Parkinsons sjukdom, och avsaknad av kognitiva störningar ingår också och utgör specifika inklusionskriterier.

#### ÖVRIGA STUDIER

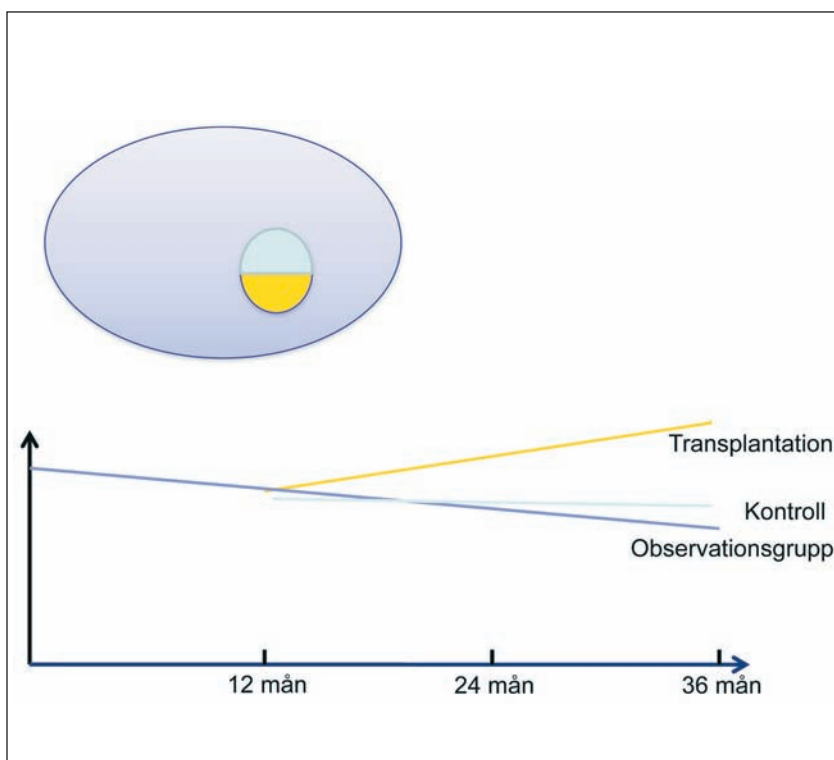
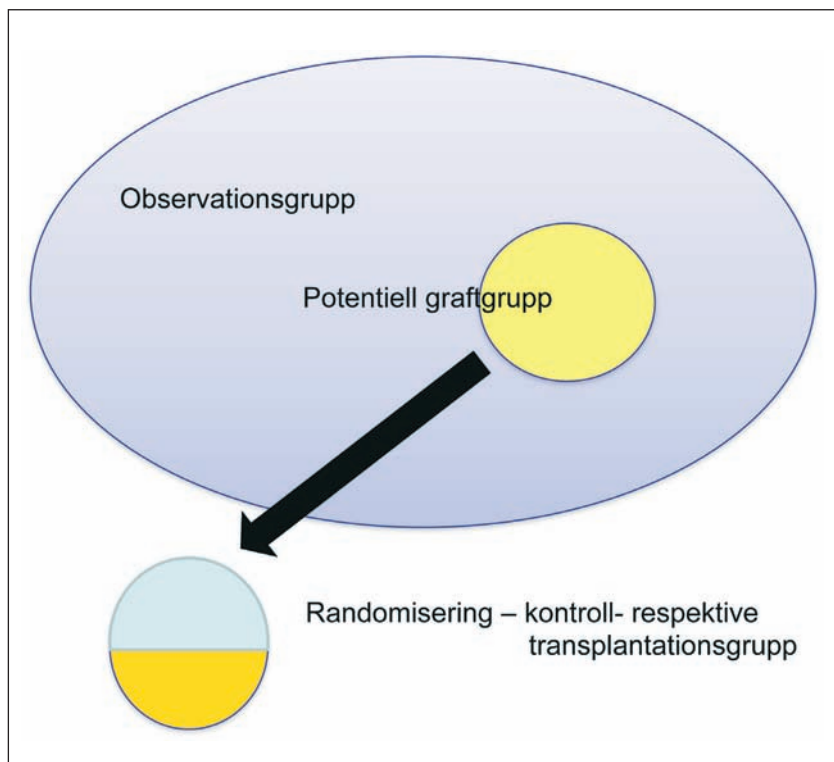
Till konsortiet är kopplat internationella etnologiska studier. Fokusgrupper har bildats i respektive land, vanligen på 5–8 personer. En lista med frågor är förberedda och sedan samtalar gruppen kring ett ämne. Fokusgrupperna består både av personer som ska representera allmänheten och personer som har sjukdomen.

Målsättningen är att komma åt vad det är som kan vara problematiskt ur etisk synpunkt med terapier inom Parkinsons sjukdom, och att undersöka vilken attityd människor har till de metoder som används för att ta fram nya behandlingar. I Lund är det forskare vid Etnologiska institutionen som arbetar med dessa aspekter med en koordinerande funktion av dessa studier i Wien.

#### SAMMANFATTNING

TransEuro är en omfattande studie i syfte att söka optimera och vetenskapligt påvisa effekter av nervcellstransplantation vid Parkinsons sjukdom. Det är också en studie som har som syfte att visa att det är möjligt att med cellterapi återskapa funktioner i en sjukdomsdrabbad hjärna. Studieresultaten kommer därför att vara viktiga för kommande eventuella tillämpningar av stamceller, då dessa kommande studier kan jämföras med TransEuro-resultaten och kontrollgrupperna.

**TRANSEURO – EFFEKT AV TRANSPLANTATION AV NERVCELLER TILL PATIENTER MED PARKINSONS SJUKDOM.**



Figur 3 a-b. Studiedesign med en observationsgrupp med samma allmänna inklusionskriterier som för transplantations/kontrollgrupperna (a). Observationsgruppen med 150 individer följs under 36 mån. Efter 12 månader sker en randomisering av dem som fortsatt klarar inklusionskriterierna till en kontroll respektive en transplantationsgrupp. Dessa undersöks och följs med ytterligare tekniker (bland annat MR- och PET-undersökningar). Jämförelser sker efter 24 mån med möjliga förlopp mellan grupperna, enligt skissen (b).

Om cirka 2,5 år räknar vi med att resultaten är klara, och fram till dess är det ett stort arbete som fortsatt kommer att göras.



**HÅKAN WIDNER**  
överläkare, adjungerad professor,  
Neurologiska kliniken,  
Skånes universitetssjukhus  
hakan.widner@skane.se

**REFERENSER**

1. RA Barker, J Barrett, SL Mason, A Björklund. Fetal dopaminergic transplantation trials and the future of neural grafting in Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2013; 12: 84–91