

Transplantace kmenových buněk v kardiologii

R. Panovský, V. Kincl, J. Meluzín

I. interní kardo-angiologická klinika Lékařské fakulty MU a FN u sv. Anny, Brno, přednosta prof. MUDr. Jiří Vítovec, CSc., FESC

Souhrn: Transplantace kmenových buněk nemocným s kardiologickým onemocněním je relativně nová metoda. Z možností užití různých typů buněk se jeví jako nejnadějnější aplikace autologních mononukleárních buněk kostní dřeně. Po aplikaci těchto buněk do myokardu lze očekávat zlepšení funkce a perfuze myokardu levé komory diferenciací části implantovaných buněk do myocytů a do buněk tvořících nové kapiláry a cévy. Kromě zlepšení ejekční frakce byl prokázán i příznivý vliv transplantace buněk kostní dřeně na remodelaci levé komory s vytvořením silnější stěny v jizvě, zlepšením elasticity jizvy a zabráněním dilatace levé komory. Dochází i ke zmírnění symptomů srdečního selhání a ischemie myokardu. Na histologické úrovni bylo prokázáno méně apoptotických a hypertrofických myocytů v periinfarktové zóně, redukce množství kolagenu, vyšší kapilární denzita a zvýšení množství viabilního myokardu. Přes velké naděje, které tato metoda přináší, stále ještě přetrvává velké množství problémů a nevyřešených otázek. Zatím není známo, jak dlouho transplantované buňky přežívají. Není také jisté, zda je lépe aplikovat nediferencované buňky ihned po jejich separaci nebo zda by bylo lépe je nejdříve in vitro namnožit, eventuálně i diferencovat přímo v kardiomyocyty a teprve následně je aplikovat do myokardu. Nadále se hledá ideální aplikační postup buněk do dysfunkčního myokardu. Významným otazníkem zůstává i množství buněk, které je třeba implantovat, například do infarktového ložiska, aby došlo k účinné a pokud možno kompletní regeneraci poškozené tkáně. U nemocných s akutním infarktem myokardu se stále hledá optimální načasování transplantace. Je jisté, že bude muset být vynaloženo ještě hodně lidských sil a finančních prostředků k potvrzení, zda tato metoda dokáže opravdu naplnit naděje do ní vkládané a jakým konkrétním způsobem je třeba ji využít, aby byl její efekt maximální.

Klíčová slova: kmenové buňky – buněčná transplantace – srdeční selhání

The transplantation of the stem cells in cardiology

Summary: The transplantation of stem cells for the patients with cardiac diseases is relatively new method. The using of autological mononuclear cells of bone marrow appears as a brightest possibility. After application of the cells into myocardium man can expect an improvement of a left chamber myocardial function and perfusion – by differentiation of implanted cells parts into myocytes and new capillaries making cells. Besides an improvement of eject fraction we can see the positive effect of the bone marrow cells transplantation to the remodeling of left chamber with a thicker side of scar, an improvement of scar elasticity and a prevention of chamber dilatation. Also we can see an improvement of heart failure symptoms and myocardial ischemia. On histological level it is detected less apoptosis and hypertrophy of myocytes in peri-infarct zone, a reduction of collagen, higher density of capillaries and large amount of via-myocardium. Besides great optimism with setting up of the method there is a lot of problems and questions to carry over. Meanwhile we do not know the time of transplanted cells surviving. Also there is not assurance if it is better to apply non-differentiated cells immediately after their separation or if it is better to multiply them „in vitro“ before or to multiply them in cardiomyocyt and only then to apply them into myocardium. Permanently we find an ideal process of the cells application into myocardium. The important question is also an amount of cells, which is needed for the implantation – for example into an infarct centre for the reason of effective and complete regeneration of damaging tissue. It is sure it will have to be exerted still more and more human powers and financial resources to the confirmation if the method of stem cells transplantation can fill our future expectations and what actual way can reach a maximal effect.

Key words: stem cells – cell transplantation – heart failure

Úvod

V posledních letech bylo dosaženo značných pokroků ve znalostech rizikových faktorů ischemické choroby srdeční (ICHS) a její prevenci, byly a jsou vyvíjeny stále lepší léky a zlepšují se intervenční i chirurgické

postupy léčby akutních i chronických forem ICHS. Podobně se vyvíjí a zlepšuje péče o nemocné s chronickým srdečním selháním nejružnějšího původu. I přes tyto skutečnosti zůstává prevalence a incidence srdečního selhání vysoká, čekací listiny na

srdeční transplantaci obsahují více nemocných než lze očekávat dárců, významná část nemocných umírá na srdeční selhání a velké množství nemocných je srdečním selháním nebo ischemií myokardu ve svém životě limitováno. Proto jsou hledány stále

nové cesty, jak těmto nemocným zlepšit prognózu i kvalitu života.

Tento přehled je věnován aktuálnímu stavu poznatků o terapeutickém využití transplantace kmenových buněk v kardiologii, zejména v léčbě nemocných s dysfunkčním myokardem na podkladě ICHS.

Buněčná léčba – druhy buněk

Každá buňka v lidském těle obsahuje celý genetický kód, který nás činí zcela ojedinělými originály. Nicméně, během našeho vývoje a růstu se tyto buňky diferencují a specializují a potlačují v sobě všechny části své DNA s výjimkou té, která je důležitá pro jejich vlastní funkci. Jakoby buňka „zapomněla“, jak funguje zbytek těla. A tak by buňky tvořící lidské srdce nedokázaly fungovat jako ledvinové nebo jaterní buňky i přes to, že k tomu mají příslušnou část DNA k dispozici. Kmenové buňky jsou nejméně diferencovanými buňkami a jsou schopny se vyvinout v nejrůznější druhy specializovaných buněk.

Některé kmenové buňky jsou totipotentní a mají schopnost se rozvíjet do úplně všech typů lidských somatických buněk. Jiné jsou pluripotentní a mohou se diferencovat v různé, ale jen některé typy buněk lidských tkání. V lidském těle se nachází asi 200×10^{12} buněk a 200 unikátních buněčných druhů vychází z 20–30 druhů kmenových buněk. Kmenové buňky nepřetržitě vytvářejí, respektive nahrazují buňky nejrůznějších tkání [8,39].

Z hlediska izolace a dalšího využití je třeba rozlišovat dospělé a embryonální kmenové buňky [13]. Embryonální kmenové buňky jsou výhodné především pro snadnou dosažitelnost jejich velkého množství. Navíc si i v in vitro kultuře uchovávají nesmrtnost a možnost neomezené, nediferencované proliferace. V experimentech byla prokázána jejich schopnost diferencovat se na myocyty s vlastnostmi kardiomyocytů a s expresí genů a proteinů specifických

pro kardiomyocyty. Jejich terapeutické použití je však značně limitováno, a to především významnými nevyřešenými etickými a morálními problémy. Navíc by při jejich alogenním původu bylo nutno podávat imunosupresivní léky a je nutno počítat s jejich potenciálem k vytváření i jiných typů buněk, a tedy rizikem pro vznik nádorů [17,31,42,45].

Z dospělých buněk se intenzivně zkoumá využití myoblastů kosterního svalu a kmenových buněk kostní dřeně.

Skeletální myoblasty

Skeletální myoblasty, nazývané také satelitní buňky, nejsou přímo kmenovými buňkami, ale jsou prekurzory buněk kosterních svalů. Jsou méně citlivé na ischemické poškození než srdeční buňky a uchovávají si schopnost regenerace po celou dobu svého života. K jejich výhodám v buněčné léčbě patří dále relativní dostupnost autologních buněk, snadnost pěstování a rozmnožování buněk *in vitro* a absence imunologických a etických problémů. Naopak rizikem je jejich neúplná diferenciací v kardiomyocyty – buňky si i v srdeční tkáni zachovávají spíše svůj původní kosterní charakter bez můstků typu *gap junction* a bez exprese kardiálně specifických markerů. Z toho vyplývá riziko arytmiogenicity transplantovaných myoblastů [15,24,33,45].

Kmenové buňky kostní dřeně

Kmenové buňky kostní dřeně si uchovávají schopnost neomezené, nediferencované proliferace a zároveň jsou schopny vývoje do různých typů buněk, včetně kardiomyocytů [21]. Dospělé kmenové buňky se za normálních okolností vyskytují v kostní dřeni, v periferní krvi a v cílových orgánech v určité rovnováze. V případě orgánového poškození tyto buňky reagují tím, že dojde nejdříve k diferenciaci kmenových buněk již v tkáni přítomných a následně k migraci dalších kmenových buněk z kostní

dřeně a periferní krve do postižené tkáně. Bohužel, tato obnova tkání není dostatečná. Důvodem je zřejmě relativně malé množství kmenových buněk v periferních orgánech a krvi a jejich poměrně malá schopnost množení ve srovnání s jejich akutní velkou potřebou v případě náhlého poškození tkáně. Proto se hledají cesty, jak zvýšit účinnost tohoto fyziologického reparačního procesu. Jednak se pomocí některých růstových faktorů a cytokinů zkouší přivést do postižené tkáně více těchto buněk, nebo se buňky aplikují přímo do tkáně [1]. Využití těchto buněk, stejně jako kosterních myoblastů, není spojeno s etickými problémy a vzhledem k možnosti jejich odběru v dospělosti odpadá nutnost imunosupresivní léčby. Navíc již existují mnohaleté zkušenosti s jejich léčebným přínosem u nemocných s některými typy maligních myeloproliferativních onemocnění. Vzhledem k těmto přednostem se zdá, že právě dospělé kmenové buňky získané z kostní dřeně by mohly být nejsnadněji využitelnými buňkami pro terapeutickou reparaci tkání.

Avšak i zde trvá velké množství problémů a nevyřešených otázek. Zatím není známo, jak dlouho transplantované buňky přežívají. Multipotentní buňky je obtížné získat v dostatečné kvantitě, což je ještě umocněno u starších nemocných, kde počet těchto buněk v kostní dřeni výrazně klesá. Bohužel, právě mezi starší populací je nejvíce nemocných se srdečním selháním. Navíc tyto kmenové buňky se obtížně udržují a rozmnožují in vitro, protože rostou velmi pomalu. Zatím nejsou známy žádné specifické markery skutečných kmenových buněk. A i kdyby bylo možné kmenové buňky identifikovat, není jasné, které jejich subpopulace mohou umožnit maximální regeneraci myokardu [46]. Dospělé mononukleární buňky kostní dřeně obsahují různé kmenové a progenitorové buňky (méně než 1 %) –

mezodermální progenitorové buňky, hematopoetické progenitorové buňky a endoteliální progenitorové buňky. Ze zvířecích experimentů je známo, že dřevňové hemangioblasty pomáhají formování nových cév a dřevňové hematopoetické kmenové buňky se diferencují do kardiomyocytů, endotelu a buněk hladkých svalů. Buňky kostní dřevně se vyvíjejí do mezodermálních progenitorových buněk, které se dále diferencují do endoteliálních buněk. A endoteliální progenitorové buňky se mohou diferencovat do bijících kardiomyocytů. Tedy různé frakce mononukleárních buněk kostní dřevně napomáhají různým způsobem regeneraci myokardu a cév [5,7,11,18,19,26]. Proto se v experimentálních a klinických pracích využívají nejčastěji právě mononukleární buňky kostní dřevně, konkrétně buňky obsahující CD34+ a AC133+ antigeny. Nejisté je i to, zda je lépe aplikovat nediferencované buňky ihned po jejich separaci nebo zda by bylo lépe je nejdříve in vitro namnožit, eventuálně i diferencovat přímo v kardiomyocyty, a teprve následně je aplikovat do myokardu. Stejně tak je otázná podpora implantace kmenových buněk pomocí nejrůznějších růstových faktorů, cytokinů, eventuálně farmak.

Podobně není zatím znám ideální aplikační postup do dysfunkčního myokardu. Spíše ojediněle jsou pokusy o intravenózní podání buněk, zejména z důvodů očekávané nedostatečné účinnosti tohoto postupu. Naproti tomu chirurgická peroperační aplikace zřejmě není perspektivní kvůli velké zátěži pro pacienta i personál. Výjimkou by mohla být transplantace kmenových buněk doprovázející jinou, např. revaskularizační operaci. Intenzivně jsou zkoumány možnosti intramyokardiální aplikace vedené za pomoci elektro-mechanického mapování, ale zřejmě největší naděje jsou vkládány do intrakoronárního podání buněk, které i přes poměrnou jednoduchost

zajišťuje relativně vysokou koncentraci aplikovaných buněk v místě zádočného působení [30].

Významným otázníkem zůstává i množství buněk, které je třeba implantovat, například do infarktového ložiska, aby došlo k účinné a pokud možno kompletní regeneraci poškozené tkáně. Dosavadní klinické studie se liší řádově v počtu implantovaných buněk ($1,5 \times 10^6$ – $1,0 \times 10^9$) a stále není jasné, jaké množství buněk je skutečně optimální [2,12,22,29,35,38,40,41]. A v žádné z těchto studií nedošlo k úplné regeneraci poškozené tkáně. Pravděpodobně je třeba přizpůsobit počet implantovaných buněk stupni a rozsahu poškození myokardu a počty buněk použitých v dosavadních studiích jsou nedostatečné. Normálně velká levá komora dospělého člověka obsahuje přibližně $5,5 \times 10^9$ myocytů [4]. Dle rozsahu infarktového ložiska tento počet buněk klesá, je nahrazen jizvou. Při odhadu ideálního počtu kmenových buněk potřebných k regeneraci tohoto ložiska je ovšem zapotřebí započítat též nejistotu stran skutečného množství kmenových buněk mezi odseparovanými mononukleárními dřevňovými buňkami, jejich ztráty během aplikace, migraci buněk do jiných orgánů po transplantaci a jejich případnou diferenciaci v jiný druh buněk. Optimální počet implantovaných buněk tedy zůstává stále velkým problémem a je zapotřebí ještě mnoha klinických dat k jeho vyřešení [25]. Navíc je některými autory popírána závislost efektu buněčné léčby na počtu implantovaných buněk a jako nejdůležitější faktor úspěchu transplantace je zdůrazňována funkční kapacita buněk hodnocená pomocí migrační aktivity [6].

V současné době je transplantace kmenových buněk zkoušena a studována zejména u nemocných s ischemickou chorobou srdeční a dysfunkčním myokardem. Více zkušeností je s nemocnými s akutním infarktem myokardu zasahujícím významnou

část myokardu levé komory, o něco méně pak s pacienty s chronickou ischemickou chorobou srdeční a dysfunkcí levé komory. U akutního infarktu myokardu se hledá optimální načasování transplantace. Ve zvířecích experimentech bylo prokázáno, že většina buněk implantovaných velmi časně do infarktové zóny nepřežije několik prvních dnů (přežití kolem 4 dnů), nezmenší velikost jizvy a ani nezlepší funkci levé komory. Příčinou je nejspíše prudká zánětlivá reakce na akutní infarkt. Na druhou stranu se předpokládá, že efekt transplantace buněk by měl být vyšší, pokud dojde k implantaci dříve, než se vytvoření definitivní jizvy. Je zřejmé, že implantované buňky jsou senzitivní vůči svému okolí a jeho signálům. Zatímco při akutním infarktu jsou aktivovány cytokiny a růstové faktory, které směřují cirkulující progenitorové buňky do myokardu a napomáhají tam jejich usídlení a přeměně na svalové nebo cévní buňky, v době již vytvořené jizvy je velké riziko přeměny implantovaných buněk ve fibroblasty [3]. Optimální čas implantace buněk u nemocných s akutním infarktem myokardu by se tedy měl nacházet v době po odeznění zánětlivé reakce, ale ještě před vytvořením jizvy, tedy přibližně mezi 4. dnem a koncem 2. týdne [20].

Účinky transplantovaných kmenových buněk v dysfunkčním myokardu

Čeho lze v dysfunkčním myokardu po transplantaci kmenových buněk dosáhnout? Teoreticky se očekává nahrazení nefunkčních, nekrotických a apoptotických kardiomyocytů plně funkčními buňkami, zmenšení rozsahu dysfunkčního myokardu a zlepšení funkce levé komory, zvýšení počtu kontraktlních elementů, podpora místní angiogeneze a rozvoje kolaterál. V řadě zvířecích studií opravdu došlo ke zlepšení funkce a perfuze myokardu levé komory diferenciací části implantovaných bu-

něk do myocytů a do buněk tvořících nové kapiláry a cévy. Došlo tedy k podpoře angiogeneze, vaskulogeneze i myogeneze, což je velmi cenné s ohledem na omezenou schopnost dospělého srdce obnovit svůj poškozený myokard [34]. Kromě zlepšení ejekční frakce byl prokázán i příznivý vliv transplantace kmenových buněk na remodelaci levé komory s vytvořením silnější stěny v jizvě, zlepšením elasticity jizvy a zabráněním dilatace levé komory [16,32]. Na histologické úrovni bylo prokázáno méně apoptotických a hypertrofických myocytů v periinfarktové zóně, redukce množství kolagenu, vyšší kapilární denzita a zvýšení množství viabilního myokardu [18,43].

Aktuální stav klinických studií

Myoblasty kosterního svalu

Klinickým výzkumem využití kmenových a prekursorových buněk v kardiologii se v poslední několika letech ve světě zabývá několik pracovišť. Odhaduje se, že do současné doby transplantaci kmenových buněk absolvovalo řádově několik set pacientů. Úplně první transplantace se uskutečnila v nemocnici Hôpital Bichat v Paříži v červnu roku 2000, kde tým profesora Menasché [22] implantoval 72letému nemocnému po infarktu myokardu zadní stěny myoblasty odebrané z *musculus vastus lateralis*. Implantace buněk byla provedena peroperačně během revaskularizační operace. Zadní stěna levé komory byla předoperačně akinetická a neviabilní, ale za 5 měsíců po zákroku vykazovala při pozitronové emisní tomografii (PET) viabilitu a dle echokardiografie bylo prokázáno zlepšení kontraktility. U pacienta došlo také ke zmírnění symptomů ze III. na II. stupeň NYHA klasifikace. Nezachytili žádné závažné arytmie. Lze ale předpokládat, že chirurgická revaskularizace mohla sama výrazně zlepšit klinický stav pacienta, podíl transplantovaných buněk na zlepšení je nejasný.

Stejní autoři [23] nedávno zveřejnili výsledky první fáze klinického výzkumu autologní transplantace satelitních buněk u nemocných s těžkou poinfarktovou dysfunkcí levé komory. Na 10 nemocných po prodělaném infarktu indikovaných k operační revaskularizaci prokázali proveditelnost a bezpečnost perioperační implantace kosterních myoblastů do poinfarktového myokardu. Popisují 1 úmrtí bez souvislosti s procedurou a záchyt monomorfní komorové tachykardie u 4 nemocných řešený implantací kardioverteru-defibrilátoru. U nemocných došlo ke zlepšení funkční třídy NYHA (z 2,7 na 1,6), zvýšení ejekční frakce (z 24 na 32 %) a zlepšení ztlustování 14 z 22 nerevaskularizovaných, původně neviabilních segmentů.

Velmi podobný design měly i další 2 studie, které se také týkaly nemocných po prodělaném infarktu myokardu, u kterých byly skeletální myoblasty implantovány injekčně do neviabilní tkáně během revaskularizační operace. Herreros et al [14] u 12 nemocných zaznamenali 3 měsíce po výkonu zvýšení ejekční frakce levé komory (z 35 % na 53 %), zlepšení regionální kontraktility v segmentech s implantovanými buňkami (změna wall motion score index z 2,64 na 1,64) a zvýšení metabolismu v infarktové zóně při vyšetření pozitronovou emisní tomografií. Siminiak et al [36] u 10 nemocných popisují významné zlepšení regionální kontraktility 3 a 6 měsíců po výkonu. Na rozdíl od Menaschého neměli žádný závažný nežádoucí účinek. Španělští autoři nepopisují navíc vůbec žádné arytmie, v polské skupině měli 4 nemocní časně pooperačně setrvalé komorové tachykardie s nutností podávání amiodaronu. Po 3 měsících od výkonu se již žádné závažné komorové arytmie nevyskytovaly a nebylo třeba žádného pacienta léčit amiodaronem.

Během implantace mechanické podpory levé komory (LVAD – left

ventricular assist device), Pagani et al [27] aplikovali skeletální myoblasty injekčně do myokardu 5 nemocným ve stadiu refrakterního srdečního selhání na podkladu ischemické kardiomyopatie, kteří byli na čekací listině na srdeční transplantaci. Následně histologicky vyšetřili 4 explantovaná srdce a u 3 z nich prokázali myoblasty, které přežily a diferencovaly se v myofibrily.

Jinou aplikační cestu použili Smits et al [37] z Rotterdamu. 5 nemocným po prodělaném infarktu myokardu přední stěny s průkazem neviabilního dysfunkčního myokardu v povodí infarktové tepny aplikovali skeletální myoblasty transendokardiální injekcí pomocí elektromechanického mapování systémem NOGA. Procedura proběhla vždy bez komplikací, jeden nemocný měl implantován defibrilátor pro záchyt asymptomatické nesetřvalé komorové tachykardie. Ejekční frakce levé komory se nemocným zlepšila ze vstupních 36 % na 41 % po 3 měsících a na 45 % po 6 měsících. Navíc bylo magnetickou rezonancí zjištěno zlepšení regionální kontraktility cílové oblasti.

Výsledky léčebného použití myoblastů jsou nadějná, data ohledně rizika arytmií rozporupná. Plánuje se II. fáze klinického výzkumu s randomizací nemocných na léčbu skeletálními myoblasty a placebem s implantací implantabilního defibrilátoru všem nemocným [9].

Kmenové buňky kostní dřeně

V roce 2001 Hamano et al [12] z Japonska popsali implantaci buněk kostní dřeně 5 nemocným po infarktu myokardu s trvajícím akínezou postižených myokardiálních segmentů. Studii zahajovali již v roce 1999. Zárok provedli peroperačně současně s našitím bypassů, buňky implantovali do nerevaskularizovatelné oblasti. Po 1 roce sledování uvádějí zlepšení perfuze daných oblastí dle scintigrafie u 3 nemocných. Hlavním přínosem této práce bylo prokázání

bezpečnosti metody – u nemocných nezaznamenali žádné významné nežádoucí účinky, včetně arytmií.

Fuchs et al [10] z Washingtonu v roce 2003 publikovali výsledky pilotní studie na využitelnost transendokardiální aplikace autologních buněk kostní dřeně. Deseti nemocným s ICHS, se stabilní anginou pectoris III.–IV. stupně dle kanadské klasifikace (CCS), nerevaskularizovatelným významným nálezem na věnčitých tepnách a průkazem reverzibilní ischemie dle fotonové emisní počítačové tomografie (SPECT) podávali 4 týdny kultivované autologní buňky kostní dřeně do míst s prokázanou ischemií myokardu pomocí elektromechanického mapování. Výkon byl úspěšný u všech nemocných, nebyly zaznamenány žádné významné nežádoucí účinky léčby a za 3 měsíce po výkonu došlo ke zmírnění anginózních potíží (z 3,1 na 2,0 stupně dle CCS), které bylo objektivizováno prodloužením délky zátěžové testu na běhátku a zmírněním ischemie během tohoto testu.

Dalším místem ve Spojených státech amerických, kde intenzivně studují tuto tematiku, je Houston v Texasu. Ve spolupráci s vědci z Rio de Janeira v Brazílii publikovali několik prací [29,35] studujících implantaci autologních mononukleárních buněk z kostní dřeně nemocným s chronickou ICHS, dysfunkcí levé komory a reverzibilním postižením myokardu dle SPECT. Také využívali transendokardiální aplikace pomocí elektromechanického mapování. U 14 nemocných prokázali za 2 a 4 měsíce po zákroku významné zlepšení původního reverzibilního defektu myokardu dle SPECT a významné zlepšení ejekční frakce levé komory (z 20 na 29 %). U nemocných se nevyskytly žádné závažné periprocedurální problémy ani žádné následné komplikace s výjimkou jednoho nemocného, který zemřel náhlou smrtí 14 dní po implantaci buněk. Pacient, bohužel, nebyl pitván.

Stejně buňky a podobnou techniku aplikace použili Tse et al [44] z Hong-Kongu u 8 nemocných s ICHS. Za 3 měsíce po výkonu se jejich pacientům omezily epizody anginy pectoris, nemocní spotřebovali méně nitroglycerinů a dle magnetické rezonance došlo ke zlepšení perfuze a funkce myokardu levé komory v místech původní ischemie. Nebyly zaznamenány žádné závažné arytmie ani jiné komplikace léčby.

Z evropských zemích probíhá studium kmenových buněk nyní zřejmě nejintenzivněji v Německu. Stamm et al [38] z Rostocku aplikovali během bypassové operace autologní kmenové buňky z kostní dřeně 6 nemocným po infarktu myokardu (v časovém rozmezí 10. den – 3 měsíce po infarktu) do hraniční zóny infarktu. Za 3–9 měsíců po operaci došlo u pacientů ke zmírnění symptomů, perfuze myokardu se zlepšila u 5 nemocných a funkce levé komory u 4 nemocných. Z nežádoucích účinků popisovali u 2 nemocných supraventrikulární arytmie, u 1 pneumonii a u 2 perikardiální výpotek. I u této studie je problémem rozlišení účinků transplantace kmenových buněk od efektu revaskularizace myokardu, konkrétně u nežádoucích účinků je velmi pravděpodobné, že souvisely spíše s revaskularizační operací. Ve studii TOPCARE-AMI (Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction) podali frankfurští autoři [2,6] 28 nemocným 4. den po akutním infarktu myokardu (léčeném direktní angioplastikou) intrakoronárně do infarktové tepny infuzi kmenových buněk buď z kostní dřeně nebo izolovaných z periferní krve. Kmenové buňky z periferní krve byly před aplikací kultivovány a namnoženy za pomoci lidského rekombinantního VEGF (cévní endoteliální růstový faktor, vascular endothelial growth factor) a atorvastatinu na žádoucí množství. Za 4 měsíce po výkonu došlo ke zmenšení end-

systolického objemu, zvýšení ejekční frakce levé komory z 44 % na 49 %, zlepšení regionální kontraktility v oblasti infarktu myokardu, zvýšení koronární průtokové rezervy infarktové tepny a zvýšení viability myokardu v infarktové zóně oproti kontrolnímu souboru. Nebyl nalezen významný rozdíl mezi použitím kmenových buněk získaných z kostní dřeně a z periferní krve. Nezaznamenali žádné arytmie nebo jiné závažné nežádoucí účinky.

První 2 autoři tohoto článku měli možnost pobytu na univerzitě v Düsseldorfu na klinice pro kardiologii, pneumologii a angiologii, kde pod vedením profesora B. E. Strauera pracuje tým lékařů zabývající se transplantací autologních kmenových buněk kostní dřeně kardiologickým nemocným. Ve 2 základních indikacích, pacienti s větším akutním infarktem myokardu po direktní angioplastice a nemocní s chronickou ICHS a dysfunkcí levé komory, provedli již více než 40 transplantací kmenových buněk cestou intrakoronárního podání. Dle výsledků prvních 10 nemocných [40,41] po infarktu myokardu došlo 3 měsíce po transplantaci ke zmenšení infarktové oblasti dle ventrikulografie levé komory, zvýšení srdečního indexu a kontraktility infarktových segmentů. Transplantace byly provedeny 10. den po infarktu. Nebyly zaznamenány žádné závažné komplikace léčby.

V České republice se implantovaly mononukleární buňky kostní dřeně již na několika pracovištích a na dalších se podobné programy připravují. První publikovali úspěšně provedenou transplantaci dřeňových buněk Pěnička et al [28] z Kardiologické kliniky Fakultní nemocnice Královské Vinohrady Praha ve spolupráci s Ústavem hematologie a krevní transfuze (ÚHKT) v Praze. Grantový projekt zaměřený na tuto tematiku řeší v současné době pracoviště II. interní kliniky 1. LF UK a VFN Praha

ve spolupráci s ÚHK Praha a FN Královské Vinohrady, Praha. Na pracovišti autorů byl program transplantace mononukleárních buněk kostní dřeně nemocným po akutním infarktu myokardu zahájen během podzimu 2003 ve spolupráci s Interní hematologickou klinikou FN Brno, pracoviště Bohunice. Do konce června 2004 byly dřeňové buňky aplikovány 12 nemocným.

Závěr

Transplantace kmenových a prekursorových buněk do postiženého myokardu je nová metoda, která vzbuzuje velké naděje. V ideálním případě by mohla dokázat změnit některá dogmata medicíny, například nevratnost již vytvořené jizvy v myokardu. Mnoho kardiálně nemocných se špatnou prognózou a s velkými potížemi způsobenými srdečním selháním nebo těžkou ischemií myokardu má naději na zlepšení svého stavu. A mnohé zdravotní pojišťovny na celém světě mohou doufat v ušetření dlouhodobě vynakládaných finančních prostředků u nemocných s dysfunkcí levé komory za cenu jednorázového výdaje. Nicméně, výzkum této metody je ještě stále na samém začátku a k rutinní léčbě je zatím daleko. Stále ještě zbývá velké množství problémů a otázek k vyřešení a bude muset být vynaloženo ještě hodně lidských sil a finančních prostředků, aby bylo jasné, zda tato metoda dokáže opravdu naplnit naděje do ní vkládané a jakým konkrétním způsobem je třeba ji využít, aby byl její efekt maximální.

Práce vznikla za podpory stipendia České kardiologické společnosti ve spolupráci s firmou ROCHE, s.r.o.

Literatura

- Anderson DJ, Gage FH, Weissman IL. Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat Med* 2001; 7 (4): 393–395
- Assmus B, Schächinger V, Teupe C. et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106: 3009–3017.
- Bel A, Messas E, Agbulut O et al. Transplantation of autologous fresh bone marrow into infarcted myocardium: a word of caution. *Circulation* 2003; 108(Suppl II): II-247–II-252.
- Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001; 344(23): 1750–1757.
- Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell* 2001; 105: 829–841.
- Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): Mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation* 2003; 108(18): 2212–2218.
- Condorelli G, Borello U, De Angelis L et al. Cardiomyocytes induce endothelial cells to trans-differentiate into cardiac muscle: implications for myocardium regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(19): 10733–10738.
- Damme A, Van den Driessche T, Collen D et al. Bone marrow stromal cells as targets for gene therapy. *Curr Gene Ther* 2002; 2: 195–209.
- Fabián J, Gonçalvesová E. Prehľad klinických skúseností s bunkovou liečbou srdcového zlyhania a infarktu myokardu. *Interv Akut Kardiolog* 2004; 3: 70–73.
- Fuchs S, Satler LF, Kornowski R et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease. A feasibility study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(10): 1721–1724.
- Goodell MA, Jackson KA, Majka SM et al. Stem cell plasticity in muscle and bone marrow. *Ann NY Acad Sci* 2001; 938: 208–218.
- Hamano K, Nishida M, Hirata K et al. Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease. Clinical trial and preliminary results. *Jpn Circ J* 2001; 65: 845–847.
- Hassink RJ, Brutel de la Riviere A, Mummery CL et al. Transplantation of cells for cardiac repair. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(5): 711–717.
- Herreros J, Prósper F, Perez A et al. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003; 24: 2012–2020.
- Chiu RCJ, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 12–18.
- Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T et al. Improvement of collateral perfusion and regional function by implantation of peripheral blood mononuclear cells into ischemic hibernating myocardium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1804–1810.
- Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 2001; 108(3): 407–414.
- Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001; 7(4): 430–436.
- Krause DS, Thiese ND, Collector MI et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105: 369–377.
- Li RK, Mickle DAG, Weisel RD et al. Optimal time for cardiomyocyte transplantation to maximize myocardial function after left ventricular injury. *Ann Thorac Surg* 2001; 72: 1957–1963.
- Makino S, Fukuda K, Miyoshi S et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest* 1999; 103: 697–705.
- Menasché P, Hagege AA, Scorsin M et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001; 357: 279–280.
- Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1078–1083.
- Murry CE, Reinecke H. How can cellular grafts be kept alive and synchronized with the rest of the heart? *Dialogues Cardiovasc Med* 2003; 8(3): 143–147.
- Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A et al. Myocyte death, growth, and regeneration in cardiac hypertrophy and failure. *Circ Res* 2003; 92(2): 139–150.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701–705.

27. Pagani F, Der Simonian R, Zawadska A et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia damaged myocardium in humans. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 879–888.
28. Pěnička M, Widimský P, Kobylka P et al. Transplantace autologních kmenových buněk kostní dřeně po akutním infarktu myokardu, způsobeném uzávěrem kmene levé věnčité tepny. *Cor Vasa* 2003; 45(9): 465–468.
29. Perin EC, Dohmann HFR, Borojevic R et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2294–2302.
30. Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nat Med* 2003; 9(6): 702–712.
31. Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY et al. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 399–404.
32. Sakai T, Li RK, Weisel RD et al. Autologous heart cell transplantation improves cardiac function after myocardial injury. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 1074–1081.
33. Scorsin M, Hagège A, Vilquin JT et al. Comparison of the effects of fetal cardiomyocytes and skeletal myoblast transplantation on postinfarction left ventricular function. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 119: 1169–1175.
34. Schwartz Y, Kornowski R. Progenitor and embryonic stem cell transplantation for myocardial angiogenesis and functional and functional restoration. *Eur Heart J* 2003; 24: 404–411.
35. Silva SA, Dohmann HFR, Perin EC et al. Immediate and short-term safety of catheter-based autologous bone marrow mononuclear cell implantation in patients with severe ischaemic heart failure. *Abstr Eur J Heart Failure* 2003; Suppl 2(1): 137–138.
36. Siminiak T, Kalawski R, Jerzykowska O et al. Transplantation of autologous skeletal myoblasts in the treatment of patients with postinfarction heart failure – One year experience. *Eur J Heart Failure Suppl* 2004; 3(1): 123.
37. Smits PC, van Geuns RJM, Poldermans D et al. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 2063–2069.
38. Stamm C, Westphal B, Kleine HD et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45–46.
39. Stanworth SJ, Newland AC. Stem cells: progress in research and edging towards the clinical setting. *Clin Med* 2001; 1(5): 378–382.
40. Strauer BE, Brehm M, Zeus T et al. Intracoronare, humane autologe stammzelltransplantation zur myokardregeneration nach herzinfarkt. *Dtsch Med Wschr* 2001; 126: 932–938.
41. Strauer BE, Brehm M, Zeus T et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913–1918.
42. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145–1147.
43. Tomita S, Mickle DA, Weisel RD et al. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123: 1132–1140.
44. Tse HF, Kwong YL, Chan JKF et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003; 361: 47–49.
45. Van Meter CH, Claycomb WC, Delcarpio JB et al. Myoblast transplantation in the porcine model: a potential technique for myocardial repair. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110: 1442–1448.
46. Verfaillie CM. Can human hematopoietic stem cells be cultured ex vivo? *Stem Cells* 1994; 12: 466–476.
47. Zhang M, Methot D, Poppa V et al. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: graft cell death and anti-death strategies. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 907–921.

MUDr. Roman Panovský, Ph.D.

www.fnusa.cz

e-mail: roman.panovsky@fnusa.cz

Doručeno do redakce: 27. 1. 2004

Přijato po recenzi: 24. 6. 2004