

BUNĚČNÁ LÉČBA PO AKUTNÍM INFARKTU MYOKARDU

Jan Horák, Michael Aschermann

II. interní klinika Všeobecné fakultní nemocnice a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha

Přes pokroky v léčbě akutního infarktu myokardu, dochází u značné části postižených pacientů k významné ztrátě kontraktálních elementů, patologické remodelaci levé komory a vývoji srdeční nedostatečnosti. Přírozený proces regenerace myokardu, který po poškození probíhá, má na tento vývoj zanedbatelný vliv. V posledních letech se objevila jako nová možná léčebná strategie u těchto nemocných transplantace kmenových buněk (buněk schopných diferenciaci v různé buněčné typy) do poškozeného myokardu s cílem regenerace částí svalových a cévních elementů a obnovy kontraktální funkce. Experimenty na zvířatech ukazují, že kmenové buňky různého původu se mohou po zachycení v infarktovém ložisku diferencovat v kardiomyocyty, zvýšit hustotu kapilár a zlepšit kontraktilitu i celkovou funkci srdce. První klinické aplikace této tzv. buněčné terapie pak naznačují, že by se mohlo jednat o efektivní metodu léčby alespoň u části nemocných s poinfarktovou srdeční dysfunkcí. Zatím nejperspektivnější se jeví implantace kmenových buněk kostní dřeně přímo intramyokardiálně nebo do koronárního řečiště v oblasti předchozího infarktu myokardu. Nicméně řada zásadních otázek kolem tohoto způsobu terapie zatím čeká na své zodpovězení. Reálné zhodnocení klinického významu buněčné léčby pak bude možné až po provedení větších randomizovaných studií.

Klíčová slova: infarkt myokardu, srdeční selhání, dysfunkce levé komory, remodelace levé komory, kmenové buňky, buněčná terapie.

CELL THERAPY AFTER MYOCARDIAL INFARCTION

Despite modern achievements in the treatment of acute myocardial infarction, in many patients it still leads to a significant loss of contractile elements, pathological remodeling of their left ventricle and subsequent development of heart failure. The natural process of myocardial regeneration, which occurs after the insult, is very limited in extent and has little influence on this sequence of events. Stem cells transplantation has emerged as a novel possible treatment strategy for these patients in recent years. It aims to regenerate at least a part of irreversibly damaged muscle and vascular elements and restore contractile function of the heart. Animal experiments proved, that stem cells of different origine can differentiate into cardiomyocytes after implantation into the infarction area, increase its vascularity and improve contractility. First clinical applications of stem cell therapy in humans suggest, that it could prove itself as an effective method of treatment in patients with post infarction left ventricular dysfunction. The most promising so far seems to be the implantation of bone-marrow derived stem cells into the area of previous myocardial infarction either by direct intramyocardial injections or by intracoronary application. Nevertheless, a long list of unresolved questions and issues around this therapeutic modality still awaits their answering. A real assessment of clinical effectiveness of cell therapy in patients with left ventricular dysfunction and of its place in daily practice will be possible only after successful conduction of large randomised studies.

Key words: myocardial infarction, heart failure, left ventricular dysfunction, left ventricular remodeling, stem cells, cell therapy.

Interv Akut Kardiolog 2004;3:17–21

Úvod

Akutní infarkt myokardu (AIM), způsobený náhlým trombotickým uzávěrem věnčité tepny s následným drastickým omezením myokardiální perfuze, vede prakticky vždy k nevratnému poškození myokardiálních buněk a nekróze alespoň části postižené svaloviny. Finální rozsah poškození závisí především na velikosti oblasti zásobené infarktovou tepnou a na délce trvání ischemie⁽¹⁾, i když je modulován ještě řadou dalších faktorů, jako například přítomností kolaterální cirkulace, zatížením myokardu⁽²⁾ nebo podanou medikací. Možnost promptní reperfúze infarktové tepny, ať už trombolytickou terapií⁽³⁾, nebo pomocí přímé koronární angioplastiky⁽⁴⁾, významně snížila časnou mortalitu a zlepšila dlouhodobou prognózu nemocných s AIM, nicméně rozsah poško-

zení kontraktální funkce myokardu je nadále kriticky závislý na době trvání ischemie, jejíž nejpodstatnější částí je doba do poskytnutí moderní reperfúzní léčby. Tato je závislá do značné míry na nemedicínských faktorech a zatím se ji nedaří podstatněji ovlivnit. U pacientů, kde k rekanalizaci uzavřené infarktové tepny dojde za více než čtyři hodiny po vzniku uzávěru, nedochází již v odstupu půl roku k významnějšímu zlepšení akutně snížené funkce levé komory⁽⁵⁾. U části nemocných navíc ani rychlé otevření infarktové tepny nemusí vést k záchraně ischemického myokardu pro možnost poškození perfúze na úrovni mikrocirkulace a časné či pozdní reperfúzní poškození⁽⁶⁾. Ztráta většího množství kontraktálního myokardu pak vede často k dlouhodobému procesu patologické remodelace levé komory, který postihuje

i zbylý myokard a vede k expanzi akinetické zóny levé komory, změně její geometrie, progresivní dilataci její dutiny a postupnému poklesu systolické funkce nad rámec akutního poškození při vlastním infarktu^(7,8). Konečným důsledkem je rozvoj srdeční insuficience – invalidizujícího onemocnění s vysokou morbiditou i mortalitou⁽⁹⁾. Současně strategie léčby AIM se zaměřují především na snížení akutní ztráty myokardiálních buněk dosažením co nejčasnější a nejdokonalejší reperfúze myokardu, kde nejefektivnější metodou je t. č. přímá angioplastika s implantací stentu⁽¹⁰⁾, na pokusy zabránit další progresivní ztrátě buněk po reperfúzi⁽¹¹⁾ a na možnosti farmakologického ovlivnění dlouhodobého procesu negativní remodelace levé komory po příhodě⁽¹²⁾. Nicméně žádná citovaná léčba či klinicky používaná

procedura nedokáže nahradit nekrotický myokard nebo již zformovanou jizvu funkční kontraktální tkáň, která by v dlouhodobější perspektivě zabránila negativní remodelaci a vedla k podstatnějšímu zlepšení celkové funkce levé komory. Z výše uvedených důvodů je proto vysoce atraktivní koncept možnosti regenerace již odumřelé myokardiální tkáň přímo v infarktovém ložisku s nahradou zaniklých kontraktálních i cévních elementů novými funkčními buňkami, které by se v místě poškození vyvinuly z vlastních nebo i cizorodých kmenových buněk. Intenzivní výzkum v této oblasti v posledních letech došel již k prvním pokusům o klinickou aplikaci této tzv. buněčné terapie.

Teoretický podklad buněčné terapie pomocí kmenových buněk

Kmenové buňky

Kmenové buňky jsou charakterizovány schopností sebeobnovy a současně schopností diferenciací do různých buněčných typů⁽¹³⁾. Tyto buňky lze získat ze dvou zdrojů: embryonální kmenové buňky z časných stadií embryonálního vývoje a kmenové buňky dospělých, které lze schematicky rozdělit na kmenové buňky obsažené v kostní dřeni a tkáňové kmenové buňky. Embryonální kmenové buňky jsou totipotentní – schopné diferenciací do všech buněčných typů včetně kardiomyocytů⁽¹⁴⁾ a mohou se neomezeně dělit. Nicméně problémy s imunitou při jejich allogenním použití spolu s etickou problematičností odsouávají jejich klinické použití zatím do neurčité budoucnosti.

Kmenové buňky dospělých jsou multipotentní s limitovanější kapacitou diferenciací⁽¹⁵⁾. Kmenové buňky kostní dřene lze velmi zjednodušeně rozdělit na hematopoietické (CD34+), které jsou prekurzory krevních a endoteliálních buněk (progenitorové endoteliální buňky) a na mezenchymální kmenové buňky (CD34-), které jsou prekurzory stromálních buněk (svalových, vazivových, kostních atd.). Jednotlivé typy jsou charakterizovány řadou markerů, které jsou stále ještě ve vývoji⁽¹⁶⁾. Experimentálně byla prokázána schopnost jednotlivých typů kmenových buněk kostní dřene diferenciovat se v kardiomyocyty ať již působením některých látek jako 5-azacytidinu⁽¹⁷⁾ nebo působením specifického prostředí myokardiálních buněk^(18, 19). Konečně kmenové buňky ve tkáních představují zásobárnu buněk, schopných diferenciací do příslušného buněčného typu při tkáňovém poškození. Z hlediska snadnosti izolace a kultivace jsou hlavním kandidátem pro využití myoblasty

kosterního svalu (tzv. satelitní buňky), které jsou schopné regenerovat příčně pruhovalé svalové buňky.

Regenerace myokardu jako přirozený proces

Až do nedávné doby platil obecný konsensus, že srdeční sval není schopen regenerace a zánik kardiomyocytů je zcela nevratný děj. Pokud v ischemickém myokardu docházelo k novotvorbě kapilár a kolaterálního řečiště, bylo tradičním předpokladem, že tato novotvorba vzniká prodlužováním a větvením stávajícího řečiště⁽²⁰⁾. Nicméně v poslední době byla tato koncepce přehodnocena. Byly nalezeny důkazy jisté mitotické aktivity v lidském myokardu po ischemickém poškození⁽²¹⁾. Fascinující je nález chimerismu myokardiálních buněk u pacienta po transplantaci srdce, u něhož dárce orgánu byla žena a u kterého bylo prokázáno, že 7–10 % myocytů a cévních buněk neslo Y chromozom⁽²²⁾. Tyto buňky nezbytně musely pocházet z kmenových buněk recipienta, cirkulujících v krvi, které se v myokardu dárce orgánu dále diferencovaly. Asahara a spol.⁽²³⁾ prokázali existenci postnatální vaskulogeneze v ischemických tkáních, na které se podlejí cirkulující progenitorové endoteliální buňky, pocházející z krevní dřene^(24, 25). Zvýšené vyplavování progenitorových endoteliálních buněk je normální odpovědí na vznik akutního infarktu u člověka⁽²⁶⁾ i u zvířat, kde se tyto buňky prokazatelně zachycují v myokardu a podílejí na jeho reparaci⁽²⁷⁾. Tento složitý proces zahrnuje mobilizaci kmenových buněk z kostní dřene do krve působením cytokinů, jako je VEGF (vascular endothelial growth factor), G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) či SCF (stem cell factor), uvolňovaných v ischemickém myokardu⁽²⁸⁾, jejich následné vychytávání v cílové tkáni (tzv. homing) a poté diferenciaci v kontraktální a cévní elementy. Stupeň regenerace myokardu, spojený s tímto procesem je však při katastrofických událostech typu akutního cévního uzávěru zanedbatelný. Cílem buněčné terapie je pak zvýšit množství kmenových buněk v místě poškození tak, aby intenzita reparačního procesu nabyla klinického významu. Potenciální mechanismy účinku buněčné terapie v poinfarktovém období při tom zahrnují vedle eventuální proliferace kardiomyocytů a potažmo zlepšení kontraktální schopnosti myokardu také zvýšenou vaskulogenezi s lepším prokrvením zbývajících ischemického myokardu, snížení apoptózy a intenzivnější formaci kolagenu, která může limitovat expanzi komory. Všechny tyto mechanismy pak mohou

vést k zastavení nebo zvrácení procesu negativní remodelace.

Možnosti aplikace kmenových buněk a experimentální výsledky jejich podání

Intravenózní aplikace a mobilizace kmenových buněk

Existence fenoménu zvýšeného vychytávání cirkulujících kmenových buněk v ischemické tkáni (homing) naznačuje možnost intravenózního podání těchto buněk. Kocher a spol. aplikovali lidské angioblasty myším s experimentálním infarktem myokardu. Infiltrace těchto buněk do poškozeného myokardu byla zjištěna již za dva dny a po 15 týdnech byla pozorována významně zvýšená vaskulogeneze ve srovnání s kontrolami. Velikost infarktu byla redukována ze 36 % u kontrol na 12 % u léčených zvířat s odpovídajícím hemodynamickým zlepšením, zmírněním remodelace a byla pozorována snížená apoptóza vlastních kardiomyocytů⁽²⁹⁾. Nicméně efektivita systémové aplikace může být limitována vychytáváním kmenových buněk v plicích a jiných orgánech – ve srovnání s cílenějším intraarteriálním podáním je podstatně méně účinná⁽³⁰⁾.

Homing fenoménu lze také využít při mobilizaci vlastních kmenových buněk z kostní dřene pomocí cytokinů. Orlic se spolupracovníky aplikovali myším s experimentálním infarktem G-CSF a SCF, které stimulují expanzi specifických populací kmenových buněk v kostní dřeni a jejich vyplavení do oběhu. Za čtyři týdny po léčbě byla mortalita léčených zvířat ve srovnání s kontrolami snížena o 68%, velikost infarktu o 40 % a diastolická velikost levé komory o 26 %⁽³¹⁾. Na primátech se však tyto výsledky nepodařilo reprodukovat vzhledem k excesivní mortalitě pokusné skupiny⁽³²⁾.

Přímá lokální aplikace kmenových buněk

Alternativou k mobilizaci kmenových buněk cytokiny je přímo odběr kostní dřene s následnou izolací kmenových buněk nebo izolace těchto buněk z periferní krve s jejich následnou expanzí (pomnožením) in vitro. Prekurzory svalových buněk (myoblasty, satelitní buňky) pak lze získat z biopsie kosterního svalu a poměrně snadno množit kultivací. Buňky pak lze aplikovat přímo do infarktového ložiska nebo do periinfarktové zóny přímou injekční technikou, eventuálně intrakoronárním podáním.

Řada autorů prokázala v experimentu na zvířatech zlepšení srdeční činnosti po transplantaci kosterních myoblastů^(33–37). Ačkoliv

dochází k diferenciaci myoblastů ve svalové buňky, nebyla pozorována žádná exprese kardiálně specifických markerů, nedochází tedy ke kardiální diferenciaci⁽³⁴⁾. Nebyly také detekovány na membránách uchycených kosterních buněk žádné můstky typu gap junctions, což svědčí pro zhoršené elektrické spojení⁽³⁵⁾. Tyto nálezy ukazují, že mezi skeletálními buňkami a buňkami myokardu nedochází k funkčnímu elektromechanickému spojení (vytváří se ostrůvek elektricky odlišné svalové tkáně), což může vést ke vzniku substrátu pro komorové re-entry arytmie. Popsaný efekt na funkci komory pak lze spíše přičíst zlepšení remodelace komory než kontribuci transplantovaných buněk ke kontraktilní schopnosti.

V poslední době se pozornost soustředila na kostní dřev jako na zdroj kmenových buněk pro přímou transplantaci do srdce. Efekt transplantace kmenových buněk dřevě na srdeční funkci byl opět potvrzen v řadě experimentálních studií. Orlie a spol. injektovali kmenové buňky kostní dřevě do periinfarktové zóny u myši pět hodin po vzniku infarktu a po 9 dnech pozorovali podstatné zlepšení srdeční kontraktility proti kontrolám⁽³⁸⁾. Obdobné výsledky publikovali i další autoři⁽³⁹⁾. Intramyokardiální injekce kultivovaných autologních dřevových buněk do ischemického myokardu u prasete zlepšuje perfuzi v ischemické zóně i regionální funkci^(40, 41). Také u krysa vede přímá injekční⁽⁴²⁾ nebo intrakoronární⁽⁴³⁾ aplikace těchto buněk po vzniku infarktu ke zlepšení celkové funkce, redukci dilatace a remodelace komory. Některé z injektovaných buněk při tom exprimují také fibroblastický fenotyp a jsou inkorporovány do jizevnaté tkáně⁽⁴³⁾, což může být jeden z mechanismů působení na proces remodelace. I když jsou výsledky těchto experimentů pozoruhodné, žádná z provedených studií zatím neposkytuje údaje o dlouhodobém přežívání transplantovaných buněk. Také identita kardiomyocytů, produkovaných kostní dřev jako skutečných kardiomyocytů není dosud zcela jednoznačná⁽⁴⁴⁾. Nicméně povzbudivé výsledky experimentálních prací vedly již ke klinickým studiím první fáze (nerandomizovaným), testujícím proveditelnost a bezpečnost této terapie.

Klinické studie buněčné terapie po infarktu myokardu

Skeletální myoblasty

Jako první byla testována možnost zlepšení srdeční funkce transplantací skeletálních myoblastů u deseti nemocných s těžkou poruchou funkce levé komory (ejekční frakce pod 35 %), kteří podstoupili revaskularizač-

ní operaci aortokoronárním by-passem⁽⁴⁵⁾. Myoblasty byly přímo injekčně aplikovány do akinetických oblastí, které nebyly revaskularizované a v nichž nebyla před implantací prokazatelná viabilita (testováno pozitronovou emisní tomografií). V průměru za 11 měsíců sledování se v 60 % akinetických segmentů objevila nějaká kontraktilita, došlo k vzestupu průměrné ejekční frakce levé komory z 24 % na 32 % a zlepšení symptomatologie pacientů. Nicméně u čtyř nemocných se po operaci objevily časté setrvalé i nesetralé komorové tachykardie a byla u nich nezbytná implantace srdečního kardioverteru-defibrilátoru. Vzhledem k tomu, že buňky byly implantovány současně s revaskularizací myokardu, nelze také odlišit jednoznačně efekt implantace od efektu provedené revaskularizační operace. Také v další studii, která používala katetrizační techniku k transendokardiální implantaci myoblastů z dutiny levé komory u pacientů po dříve proběhlém infarktu myokardu s komorovou dysfunkcí, byly zachyceny frekventní komorové arytmie a studie musela být omezena na nemocné po implantaci defibrilátoru (dosud nepublikované údaje). To ukazuje, že vývoj arytmií v důsledku elektrické inhomogenity po transplantaci myoblastů je vážným problémem, který bude významně limitovat jejich využitelnost v klinice.

Transplantace autologních kmenových buněk kostní dřevě

Oproti implantaci myoblastů, první klinické studie s autologními buňkami kostní dřevě neukazují, že by vznik arytmií byl významným problémem. Stamm se spolupracovníky⁽⁴⁶⁾ implantovali přímou injekcí autologní mononukleární buňky, obsahující jak hematopoietické, tak i multipotenciální kmenové buňky, do periinfarktové zóny šesti pacientů během aortokoronárního by-passu, který byl prováděn mezi 10 dní a 6 měsíci po prodělaném infarktu myokardu. Za 9 až 16 měsíců po výkonu došlo u čtyř pacientů k významnému zlepšení ejekční frakce levé komory (průměrná ejekční frakce souboru stoupla ze 37 % na 48 %), u pěti nemocných došlo k výraznému zlepšení vaskularity v infarktové zóně. Nedošlo však k obnovení kinetiky v centru infarktové oblasti. Všichni nemocní udávali významné zlepšení symptomatologie. Nebyly zaznamenány žádné arytmie. Opět však lze namítnout, že není možné dobře odlišit efekt provedené revaskularizace myokardu od působení buněčné terapie. Také japonští autoři u pěti obdobných pacientů nezjistili žádné vedlejší účinky, ke zlepšení ejekční frakce levé komory došlo u třech z nich⁽⁴⁷⁾.

Alternativní možností implantace kmenových buněk do infarktové oblasti je transendokardiální injekce pomocí speciálního katétru, řízeného elektromechanickou mapovací technologií, používanou v elektrofyziologii při ablačních výkonech (tzv. NOGA systém). Implantační metoda se zdá být bezpečná⁽⁴⁸⁾ a u prvních osmi takto léčených pacientů byly prokázány obdobné výsledky jako při přímé injekční aplikaci ve výše uvedených studiích⁽⁴⁹⁾. V recentní studii pak Perin a kolektiv⁽⁵⁰⁾ tímto způsobem léčili 14 pacientů s těžkým ischemickým srdečním selháváním, u nichž nebyla jiná léčebná alternativa (nemocní nebyli vhodní k revaskularizaci). Kontrolní skupinu tvořilo sedm pacientů, kteří se od léčené skupiny nijak významně nelišili. U léčených pacientů došlo za čtyři měsíce po výkonu ke vzestupu ejekční frakce levé komory z 20 % na 29 %, významnému poklesu endsystolického objemu komory, redukci celkového reverzibilního defektu, měřeného perfuzní scintigrafií a významnému zlepšení hybnosti injektovaných segmentů podle elektromechanického mapování. U neléčených nemocných k významným změnám nedošlo. Zdá se tedy, že tato metodika představuje jistou naději i pro pacienty s chronickým ischemickým srdečním selháváním, kteří nejsou vhodní k revaskularizačním výkonům. Alternativní technikou možností je intramyokardiální aplikace buněk přes venózní systém srdce pomocí speciálních injekčních katétrů, kombinovaných s intravaskulárním ultrazvukem.

Dosud nejslibnějších klinických výsledků se však dosáhlo implantací kmenových buněk kostní dřevě intrakoronárně katetrizační technikou u pacientů v období krátce po AIM. Po první zveřejněné kazuistice pacienta, u něhož intrakoronární implantace dřevových mononukleárních buněk vedla v odstupu 3 měsíců k výraznému zlepšení celkové i segmentární funkce levé komory⁽⁵¹⁾, publikoval Stauer a kolektiv výsledky u 10 pacientů s AIM, kteří byli léčeni koronární angioplastikou za více než čtyři hodiny po vzniku obětí a jimž byla následně v odstupu 5–9 dnů provedena implantace vlastních dřevových buněk (odběr z lopaty kosti kyčelní den před výkonem) katetrizační technikou přímo do infarktové tepny⁽⁵²⁾. U nemocných byla před a tři měsíce po aplikaci sledována funkce levé komory jak invazivně (levostranná ventrikulografie, kontraktilita), tak i neinvazivně (dobutaminová echokardiografie, radionuklidová ventrikulografie) spolu s perfuzí myokardu (thalliová scintigrafie). Kontrolní skupinu tvořilo 10 pacientů, kteří implantaci odmítli. U léčených pacientů došlo ke statisticky významnému zlepšení regionální funkce levé komory, zmenšení endsystolického objemu

a zlepšení kontraktility. U kontrolní skupiny ke změnám těchto parametrů nedošlo. Celková ejekční frakce se významně nezměnila, pravděpodobně však proto, že výchozí ejekční frakce byla u obou skupin vysoká (57 % resp. 60 %). Perfuzní scintigrafie prokázala významné zmenšení perfuzního defektu v léčené skupině. Nebyly zaznamenány žádné nežádoucí účinky.

Druhou dosud publikovanou prací je průběžná analýza studie STOP-CARE AML, jejímž cílem je zhodnotit efektivitu intrakoronárního podání kmenových buněk po AIM léčeném přímou angioplastikou, získaných jak aspirací dřeňových buněk, tak jejich separací z periferní krve s následnou expanzí ex vivo. K dispozici je analýza prvních 20 pacientů. Kontroly tvořila historická skupina 11 nemocných, kteří byli vybráni tak, aby odpovídali léčené skupině věkem, funkcí levé komory a zastoupením infarktových tepen a kteří měli provedenou angiografii levé komory ve stejném intervalu po příhodě, jako léčení nemocní. Pacientům po optimální rekanalizaci infarktové tepny byly v průměru za 4,5 dne po příhodě podány intrakoronárně (za místo původního uzávěru při přechodné okluzi infarktové tepny) buď dřeňové buňky získané aspirací z lopaty kosti kyčelní nebo kmenové buňky získané separací z periferní krve a expandované ex vivo kultivací s VEGF (endotelové progenitorní buňky, separované den po infarktu s následnou třídní kultivací). V odstupu čtyř měsíců byla opět hodnocena celková a segmentární funkce levé komory (levostranná ventrikulografie a dobutaminová echokardiografie), dále koronární průtoková rezerva v infarktové tepně a viabilita myokardu s použitím pozitronové emisní tomografie s fluorodeoxyglukózou (PET). U nemocných po implantaci buněk se zvýšila průměrná celková ejekční frakce (z 51 % na 61 %), zlepšila se regionální funkce v infarktové zóně a došlo k významnému poklesu endsystolického objemu komory (z 56 na 42 ml). Kvantitativní PET prokázala zlepšení myokardiální viability v infarktové oblasti. Nebyly žádné rozdíly mezi pacienty, u nichž byly použity dřeňové buňky a pacienty po implantaci buněk, získaných z periferní krve. U kontrolní skupiny se měřené parametry významněji neměnily. Nebyly opět zaznamenány žádné významnější komplikace léčby a autoři na základě těchto výsledků uzavírají, že infuze autologních kmenových buněk do infarktové tepny po AIM příznivě ovlivňuje poinfarktovou remodelaci levé komory. Výsledky dosud provedených studií jsou tedy nadějně, nicméně jejich interpretace musí být opatrná. Jedná se zatím o malé soubory nemocných, žádná ze studií nebyla randomizovaná a zcela ještě chybí

data o dlouhodobé bezpečnosti a efektivitě této léčby. Jako u všech klinických metod, definitivní místo v léčebném arzenálu mohou určit jen velké, randomizované multicentrické studie.

Problémy a nezodpovězené otázky

Výsledky experimentálních i prvních klinických studií buněčné terapie u ischemické choroby srdeční jsou jistě fascinující. Dříve, než si tato nová léčebná metodika najde cestu do běžné klinické praxe, bude však nutno vyřešit mnoho zásadních otázek jak v oblasti základního tak i klinického výzkumu. Některé z nich jsou stručně nastíněny v následujícím seznamu:

- Jaký je základní mechanismus účinku terapie pomocí kmenových buněk – dochází opravdu k diferenciaci v nové, funkční kardiomyocyty, které přispívají ke kontrakci, nebo jde spíše o vliv zlepšeného prokrvení novotvorbou kapilár, snížení apoptózy, eventuálně ovlivnění procesu tvorby jizvy a s tím souvisejícího procesu remodelace?
- Jaký je nejvhodnější typ buněk pro aplikaci – je výhodnější použití smíšených buněčných populací kmenových buněk, které mohou na složitém procesu regenerace vzájemně spolupracovat nebo bude efektivnější použití selektovaného buněčného typu, získaného separací ze smíšené populace?
- Je lepší použití nativních kmenových buněk nebo bude optimální buňky před implantací nějakým způsobem „nasměrovat“ kultivací s nějakým růstovým faktorem, jako je např. VEGF? Bude takovýto způsob manipulace s buňkami bezpečný?
- Jaká je dlouhodobá životnost transplantovaných buněk a jak se budou dlouhodobě chovat – je možná transformace v jiné, nežádoucí buněčné typy jako např. fibroblasty nebo i nádorové buňky?
- Dochází u transplantovaných buněk k plnohodnotnému elektromechanickému propojení s okolním myokardem nebo bude nová tkáň dlouhodobě potencionálním arytmogenním ložiskem?
- Jakým způsobem bychom měli vůbec sledovat osud transplantovaných buněk v klinice – dosud nebyl nalezen způsob značení, který by to dovozoval in vivo.
- Jaký je optimální počet buněk, nezbytný pro efektivní transplantaci u jednotlivých způsobů aplikace a jaká metoda aplikace je nejlepší?
- Jaká doba po ischemické příhodě je pro aplikaci buněk nejvhodnější?

- Budou se kmenové buňky chovat stejným způsobem po aplikaci v období krátce po AIM jako při aplikaci u chronických forem ischemické choroby srdeční – nemůže například aplikace do chronické jizevnaté tkáně nasměrovat diferenciaci buněk nežádoucím směrem a bude léčba stejně efektivní v širokém spektru pacientů?
- Jaká bude dlouhodobá klinická efektivita tohoto způsobu léčby z hlediska symptomatologie i prognózy pacientů?
- Jaká by měla být adjuvantní terapie, která by zajistila úspěšné uchycení a dlouhodobé přežívání transplantovaných buněk – bude výhodné použít např. některých léků, ovlivňujících apoptózu?
- Bude možné využít i u jiných typů onemocnění, vedoucích k srdeční nedostatečnosti – např. u dilatačních kardiomyopatií?
- Jakým způsobem bude nejvhodnější kombinovat buněčnou terapii s dosavadními způsoby léčby srdečního selhání?

Ke zodpovězení těchto otázek (a mnohých dalších) povede pravděpodobně ještě dlouhá cesta, nicméně vývoj v této oblasti se v posledních letech prudce zrychluje.

Závěr

Vzhledem k limitacím dosavadních způsobů léčení srdečního selhání představuje buněčná terapie novou nadějnou léčebnou strategií jak z hlediska možné prevence jeho vzniku, tak i z hlediska léčby. Jejím cílem je zvýšení počtu myocytů v selhávajícím srdci a poprvé tak máme v rukou metodu, která míří přímo na vlastní patofyziologický mechanismus vzniku srdeční nedostatečnosti, to je na ztrátu kontraktilních elementů. Bylo prokázáno, že kmenové buňky různé provenience jsou schopné diferenciaci v kardiomyocyty i cévní elementy a že mohou přispět k regeneraci poškozeného myokardu. Výsledky experimentálních studií na zvířatech přesvědčivě dokazují zlepšení srdeční funkce po jejich aplikaci u různých modelů srdečního poškození. Také první klinická data ukazují, že by se mohlo jednat o efektivní metodu léčby alespoň některých skupin pacientů se srdeční dysfunkcí. Zda bude možné tyto výsledky extrapolovat do běžné klinické praxe však v současné době ještě není možné říci. Teprve další pokrok v základním výzkumu a současně provedení prospektivních, randomizovaných klinických studií na širším spektru pacientů určí, zda jsou naděje, které jsou do buněčné terapie vkládány, plně oprávněné a zda metoda najde své pevné místo v léčbě našich pacientů.

Literatura

1. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, et al. The wavefront phenomenon of ischemic cell death I: myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 1977; 56: 786–794.
2. Reimer KA, Jennings RB. The wavefront phenomenon of myocardial ischemic cell death II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab. Invest.* 1979; 40: 633–644.
3. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. Randomised trial of intravenous Streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17 187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. *Lancet* 1988; 2: 349–360.
4. Grines CL, Brown KW, Marco J, et al. A comparison of primary angioplasty with thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 1993; 328:673–679.
5. Pfeffer MA. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Annu. Rev. Med.* 1995; 46: 455–456.
6. Roe MT, Ohman AM, Maas AC, et al. Shifting the open artery hypothesis downstream: the quest for optimal reperfusion. *J. AM. Coll. Cardiol.* 2001; 347: 9–18.
7. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: Experimental and clinical implications. *Circulation* 1990; 81: 1161–1172.
8. Ertl G, Gaudron P, Hu K. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental and clinical studies. *Basic. Res. Cardio.* 1993; 88: 125–137.
9. Ho KK, Anderson KM, Grossman W, et al. Survival after the onset of congestive heart failure in Framingham Heart Study subjects. *Circulation* 1993; 88: 107–115.
10. Keeley EC, Boura JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet* 2003; 361: 13–2.
11. Mahaffey KW, Puma JA, Barbagelata NJ, et al. Adenosine as adjunct to thrombolytic therapy in acute myocardial infarction. *J. AM. Coll. Cardiol.* 1999; 34: 1711–1720.
12. Wollert KC, Drexler H. Carvedilol Prospective Randomised Cumulative Survival (COPERNICUS) trial – Carvedilol as the sun and the center of the beta-blocker world? *Circulation* 2002; 106: 2164–2166.
13. Stanworth SJ, Newland AC. Stem cells: progress in research and adding towards the clinical setting. *Clin. Med.* 2001; 1: 378–382.
14. Thomson JA, Itskovitz EJ, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cells lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145–1147.
15. Graft T. Differentiation plasticity of hematopoietic cells. *Blood* 2002; 99: 3089–3101.
16. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ. Res.* 2002; 91: 1092–1102.
17. Makino S, Fukuda K, Myoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J. Clin. Invest.* 1999; 103: 697–705.
18. Yoon Y-A, Murayama T, Tkebuchava T, et al. Clonally expanded bone marrow derived stem cells differentiate into multiple lineages in vitro and can attenuate myocardial dysfunction post myocardial infarction. *Circulation*, 2002; 106 (suppl II): 11–51.
19. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 2002; 106: 1913–1918.
20. Buchman I, Schaper W. Arteriogenesis versus angiogenesis: two mechanisms of vessel growth. *New Physiol. Sci.* 1999; 14: 121–125.
21. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 2001; 34–I: 1750–1757.
22. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the transplanted heart. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346: 5–15.
23. Asahara T, Masuda T, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularisation. *Circ. Res.* 1999; 85:221–228.
24. Shi Q, Rafii S, Hong-De WM et al: Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood* 1998; 92: 362–367.
25. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34+ cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 2000; 95: 952–958.
26. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al. Mobilisation of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2001; 103: 2776–2779.
27. Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J. Clin. Invest.* 2001; 107: 1395–1402.
28. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilisation: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines and stromal cells. *Exp. Hematol.* 2002; 30: 973–981.
29. Kocher AA, Schuster MD, Szabo MJ, et al. Neovascularisation of ischemic myocardium by human bone-marrow derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat. Med.* 2001; 7: 430–436.
30. Barbash IM, Chouraqui P, Baron J. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium. Feasibility, cell migration and body distribution. *Circulation* 2003; 108: 863–868.
31. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilised bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2001; 98: 10334–10349.
32. Orlic D, Arai AE, Sheikh FH. Cytokine mobilise CD 34+ cells do not benefit rhesus monkeys following induced myocardial infarction. *Blood* 2002; 100 (suppl 1).
33. Chiu RC-J, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann. Thorac. Surg.* 1995; 60: 8–12.
34. Murrey CE, Wiseman RW, Schwartz SM, et al. Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J. Clin. Invest.* 1996; 98: 2512–2523.
35. Scorsin M, Hagege 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.
36. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat. Med.* 1998; 4: 929–933.
37. Hutcheson KA, Atkins BZ, Hueman MT, et al. Comparison of benefits on myocardial performance of cellular cardiomyoplasty with skeletal myoblasts and fibroblasts. *Cell Transplant* 2000; 9: 359–368.
38. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2001; 938: 221–229.
39. Kawamoto A, Gwon H-C, Iwaguro H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation* 2001; 103: 634–637.
40. Fuchs S, Baffour R, Zhou ZF, et al. Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. *J. AM. Coll. Cardiol* 2001; 37: 1726–1732.
41. 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: 1132–1135.
42. Min JY, Yang Y, Conerson KL. Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in postinfarcted rats. *J. Appl. Physiol.* 2002; 92: 288–296.
43. Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E, et al. The coronary delivery of narrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic considerations. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2001; 122: 699–705.
44. Hassink RJ, de la Riviere AB, Mummery CL, Doevendas PA. Transplantation of cells for cardiac repair. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003; 41: 711–717.
45. Menasche P. Cell transplantation for the treatment of heart failure. *Semin. Thorax. Cardiovasc. Surg.* 2002; 14: 157–166.
46. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial infarction. *Lancet* 2003; 361: 45–46.
47. Hamano K, Nishida M, Hirata K. Local implantation of bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical and preliminary results. *Jpn. Circ. J.* 2001; 65: 845–847.
48. Fuchs S, Weisz G, Kornowski R, et al. Catheter based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility and safety study. *Circulation* 2002; 106 (suppl. II): II–665.
49. Tse H-F, Kwong Y-L, Chan JKF, et al. Angiogenesis in ischemic myocardium by intramural autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003; 361: 47–49.
50. Perin EC, Dohmann HFR, Borrojevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2294–2302.
51. Stauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Intracoronary human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 2001; 126: 932–938.
52. Stauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1911–1918.