

## 10. výročný kongres Medzinárodnej spoločnosti pre bunkovú výmenu 7. – 10. máj 2004, Dublin, Írsko

Medzinárodná spoločnosť pre bunkovú liečbu je spoločnosť združujúca odborníkov z rozličných oblastí medicíny, ktorí sa zaoberajú experimentálnymi, laboratórnymi a klinickými otázkami liečby systémovou alebo lokálnou aplikáciou rôznych populácií buniek. Vzhľadom na dramatický rozvoj predovšetkým v problematike zárodočných buniek a perspektívy takejto liečby sa teší narastajúcemu záujmu. Významný posun sa v poslednom období dosiahol predovšetkým v aplikáciách liečby bunkami v oblasti kardiovaskulárnych ochorení. Tejto problematike sa venovala asi jedna tretina odborného programu.

Liečba zárodočnými bunkami izolovanými z kostnej drene, alebo periférnej krvi sa začína uplatňovať u chorých s akútnym infarktom myokardu, refraktérnou angínou pectoris a srdcovým zlyhávaním. Najviac klinických skúseností je na pracoviskách v SRN, kde sa začínajú prvé randomizované skúšky. Klinické skúsenosti prezentovali aj pracovníci z Argentíny, USA, Belgicka a Austrálie. V USA bola prvá klinická štúdia povolená pred dvoma mesiacmi. Skúsenosti s experimentálnymi modelmi regenerácie myokardu prezentoval jeden z popredných predstaviteľov výskumu v tejto oblasti Donald Orlic (New York, USA). Na jednom zo série experimentov na myšiach dokumentoval schopnosť zárodočných buniek kostnej drene diferencovať do integrovaných kardiomyocytov. Ukázal tiež schopnosť regenerácie myokardu po experimentálnom infarkte myokardu navodenom podviazaním ľavej koronárnej artérie. V skupine myší, ktorá dostávala päť dní pred vytvorením infarktu rastové faktory (stem cell factor a G-CSF), sa zistilo vytváranie nových vrstiev myokardu v zóne infarktu. V kontexte tohto experimentu spochybnil teóriu o fúzii, ako dominantnom mechanizme premeny zárodočnej bunky kostnej drene na kardiomyocyt. Novovytvorené kardiomyocyty boli totiž asi o dve tretiny menšie ako staré úplne diferencované kardiomyocyty. Rovnako počet kardiomyocytov bol rádovo väčší ako počet tých, ktoré boli nahradené. Výsledky podobných experimentov na opiciach – makakoch nie sú však tak presvedčivé. Ako model infarktu v tomto prípade slúžilo dvojhodinové podviazanie ramus interventricularis anterior. Jeden až osem týždňov dostávala jedna skupina rastové faktory. V porovnaní s kontrolnou skupinou sa nezistil rozdiel vo veľkosti infarktu ani vo funkcii ľavej komory. Tri mesiace po IM sa pri histologickom vyšetrení nenašli presvedčivé znaky myokardiálnej regenerácie. Klinickým otázkam sa venoval jeden z „workshopov“, ktorý viedol kardiochirurg **Ch. Stamm (Rostock, SRN)**. Zhrnul súčasné klinické skúsenosti s použitím zárodočných buniek izolovaných z kostnej drene alebo periférnej krvi. Väčšina v súčasnosti publikovaných správ pochádza z pracovísk v Nemecku. Bunky sa aplikujú buď vočasnej fáze po akútnom infarkte riešenom perkutánnou intervenciou, alebo peroperačne pri CABG. Na tieto účely sa používa buď neselektovaná populácia mononukleárných buniek, alebo purifikovaná populácia hemopoetických kmeňových buniek (CD 34+, CD 133+). Správy o klinickom použití mezenchýmových kmeňových buniek, ktoré sa v početných experimentoch ukázali ako veľmi nádejné, zatiaľ chýbajú. Doterajšie pilotné pozorovania preukázali uskutočniteľnosť a bezpečnosť (minimálne krátko a strednodobú) týchto postupov. Ich účinnosť v zmysle zlepšenia perfúzie a funkcie myokardu je napriek nádejným výsledkom zatiaľ neurčitá. Hodnotenie úspešnosti transferu zárodočných buniek je limitované predovšetkým otvoreným a nekontrolovaným charakterom doterajších

štúdií a skutočnosťou, že súčasne alebo v krátkom časovom intervale s aplikáciou buniek sa robí revaskularizácia. Informoval tiež o vlastných výsledkoch peroperačnej aplikácie selektovaných mononukleárných buniek z kostnej drene, ktoré podávajú mikroinjekciami počas CABG do okrajov jazvy po prechádzajúcom IM. Tento postup použili u 25 pacientov a zaznamenali zlepšenie perfúzie aj globálnej systolickej funkcie. V súčasnosti začali s druhou fázou výskumu, v ktorej plánujú porovnať výsledky u 50 pacientov, kde bude CABG kombinovaná s transferom selektovaných zárodočných buniek kostnej drene s 50 pacientmi „len“ s CABG.

Na tomto „workshope“ sme v diskusii informovali o našich prvých skúsenostiach intrakoronárnym podaním ex-vivo expandovaných autológnych mezenchýmových kmeňových buniek u chorých s pokročilým srdcovým zlyhávaním na podklade koronárnej choroby. Takýmto spôsobom sme doteraz liečili štyroch pacientov. V periprocedurálnej fáze nevznikli žiadne komplikácie. Výsledky kontrolného vyšetrenia po 10 týždňoch máme v súčasnosti u troch chorých. U všetkých sa zlepšil subjektívny stav, zvýšila sa maximálna spotreba kyslíka na vrchole záťaže a u dvoch sa zreteľne zmenšila ľavá komora. Globálna ani regionálna systolická funkcia ľavej komory sa nezmenila. Podľa experimentálnych aj prvých klinických štúdií je dominantným mechanizmom zlepšenia funkcie a perfúzie pri použití kmeňových buniek z kostnej drene alebo periférnej krvi (tzv. endotelové progenitorové bunky, EPC) neovaskularizácia (**C. Kalka, Düsseldorf, SRN**). Ukazuje sa, že EPC sa usídľujú do miest poškodených traumou alebo ischémiou, kam ich priťahujú proangiogénne chemokíny, ako je napríklad VEGF (vascular endothelial growth factor). Uhniedzujú sa v poškodených miestach, diferencujú do endotelových buniek a súčasne pravdepodobne fungujú ako zdroj rastových faktorov potrebných na vaskulogénu. Diferenciácia týchto buniek do funkčných kardiomyocytov sa zatiaľ nedokázala. O prvých klinických skúsenostiach s použitím CD34 + progenitorov izolovaných aferézou z periférnej krvi po stimulácii G-CSF (filgrastim) informovala **D. Skerrett (New York)**, pričom vlastné klinické skúšky sa realizovali v Melbourne. Vybraných bolo päť pacientov s reverzibilným perfúznym defektom so stabilnou angínou pectoris, ktorí neboli vhodní na revaskularizáciu. Bunky sa podávali infúziou do artérie, ktorá zásobuje hypoperfundovanú oblasť myokardu. Mobilizácia, separácia, ako aj samotná intrakoronárna intervencia prebehli bez komplikácií. Po troch mesiacoch sa znížil počet a intenzita anginózných záchvatov. Funkcia a perfúzia myokardu sa nezmenili. Zaujímavým zistením je skutočnosť, že pacienti s koronárnou chorobou mali po stimulácii menšiu koncentráciu CD34+ buniek v periférnej krvi ako tzv. historické kontroly. Prvá klinická štúdia v USA, zameraná na liečbu pacientov s refraktérnou angínou pectoris transendokardiálnymi miniinjekciami CD34+ buniek izolovaných z periférnej krvi, sa v decembri 2003 začala v Bostone (**DW Losordo**). Doteraz sa tento postup použil u štyroch pacientov. Autori tento spôsob liečby označili ako „biologickú revaskularizáciu“. Zatiaľ sa liečba javí ako uskutočniteľná a bezpečná, hodnotenie účinnosti je predčasné. Autori z Argentíny v spolupráci s pracoviskom Georgetown University Washington referovali o skúsenostiach s intrakoronárnym podaním CD34+ buniek selektovaných z aspirátu kostnej drene u 17 pacientov s akútnym infarktom prednej steny, ktorý sa riešil primárnou angioplastikou so stentom. Bunky do koronárnej tepny podali 7 – 12 dní po perku-

---

tánnej intervencii. Ejekčná frakcia ľavej komory bola pred výkonom 19 – 32 %, 60 dní po výkone sa u 15 chorých zlepšila o 60 – 80 %. Belgickí autori (**I. Haute, Gent**) prezentovali prvé výsledky randomizovanej štúdie intrakoronárneho podania CD34+, CD133+ zárodočných buniek selektovaných z kostnej drene. Takto selektovanú populáciu buniek použili u 12 pacientov po AIM riešenom primárnou PCI. Pri kontrolnom vyšetrení u 9 pacientov, u ktorých nenastala restenóza, zistili v porovnaní s kontrolnou skupinou s podobným rozsahom a typom IM zlepšenie perfúzie aj globálnej systolickej funkcie.

V diskusiách opakovane rezonovali otázky týkajúce sa nedostatku definitívnych a jasných experimentálnych dôkazov o mechanizme účinku a dlhodobého efektu liečby bunkami pri ochoreniach srdca a ciev a z toho vyplývajúcich rizík. Klinicky orientovaní lekári obhajovali nevyhnutnosť klinických štúdií v tejto fáze. Najdôležitejším z argumentov je skutočnosť, že v prípade, ak sa ukáže, že máme k dispozícii liečebný postup, ktorý je účinný, nemusí byť podstatné, či dôsledne poznáme jeho mechanizmus účinku, najmä v kontexte pacientov ťažko limitovaných a pacientov so zlou prognózou.

V jednom zo zamyslení nad minulosťou a budúcnosťou liečby bunkami vyjadril **AP Gee (Huston, USA)** obavy nad nenaplnením očakávaní z použitia zárodočných buniek nielen v kardiológii, ale aj neuroológii, diabetológii, hepatológii a všeobecne v tzv. regeneratívnej medicíne. Niektoré z týchto aplikácii budú určite „falošným štartom“, učíme sa však z každého z nich. Len málokto môže v súčasnosti poprieť dramatický pokrok, ktorý v krátkom čase v tejto oblasti nastal. Voľne preloženými slovami autora: „Začali sa dostihy. Bezpochyby to však nebudú rovinné preteky, ale „steepchase“. Už teraz sme konfrontovaní s prekážkami a je pravdepodobné, že skôr ako dorazíme do cieľa, ešte mnohokrát spadneme.“

Doc. MUDr. Eva Goncalvesová, CSc.

Prof. MUDr. Juraj Fabián, DrSc.

Oddelenie zlyhávania a transplantácie srdca, SÚSCH, Bratislava