

---

# Celulárna kardiomyoplastika. Reálne východisko alebo únik z reality?

EVA GONCALVESOVÁ, JÁN LAKOTA\*, VILIAM FRIDRICH, JURAJ FABIÁN  
Bratislava, Slovenská republika

---

GONCALVESOVÁ E, LAKOTA J, FRIDRICH V, FABIÁN J. **Celulárna kardiomyoplastika. Reálne východisko alebo únik z reality?** *Cardiol* 2004;13(2):100–106

Chronické srdcové zlyhanie je vzhľadom na jeho hrozivú incidenciu, prevalenciu a predovšetkým zlú prognózu v centre pozornosti mnohých experimentálnych a klinických výskumov. Zásadné zlepšenie prognózy a kvality života predovšetkým chorých s pokročilým ochorením možno očakávať len od metód, ktoré zásadným spôsobom ovplyvnia podstatu chronického srdcového zlyhania. Tou je strata funkčných kardiomyocytov. Jedným z takýchto liečebných prístupov je transplantácia buniek. Autori podávajú prehľad o celulárnych transplantáciách, predovšetkým zárodočných buniek kostnej drene pri ťažkých a inak neriešiteľných poškodeniach myokardu s prejavmi zlyhávania srdca.

**Kľúčové slová:** celulárna kardiomyoplastika – zárodočné bunky kostnej drene

GONCALVESOVA E, LAKOTA J, FRIDRICH V, FABIAN J. **Cellular cardiomyoplasty. Real chance, or escape from reality?** *Cardiol* 2004;13(2):100–106

Considering the menacing incidence, prevalence and, most of all, the poor prognosis of chronic heart failure, it is not surprisingly in the spotlight of many experimental and clinical studies. Substantial improvement of the prognosis and quality of life of the patients with advanced disease can be expected only from those methods that substantially affect the nature of chronic heart failure. This is the loss of functioning cardiomyocytes. One of the therapeutic approaches is cell transplantation. The authors give a review on cellular transplantations, mostly of of bone marrow stem cells, in severe and irreparable myocardial damage with heart failure sings.

**Key words:** Cellular cardiomyopathy – Embryonic cells of the bone marrow

---

Chronické srdcové zlyhanie (CHSZ) je vzhľadom na jeho incidenciu, prevalenciu a mortalitu jedným z najväznejších problémov kardiológie a ekonomicky vyspelých krajín všeobecne. V najbližších rokoch, ak vezmeme do úvahy prognózu vývoja populácie, bude tento problém stále narastať (1). Najčastejšími príčinami CHSZ je pokročilá koronárna choroba a kardiomyopatie. V tejto práci sa sústreďujeme predovšetkým na možnosti riešenia CHSZ koronárneho pôvodu.

Úspechy konzervatívnej, intervenčnej aj chirurgickej liečby, ktoré sa v tejto oblasti dosiahli, sú nepopierateľné. Konvenčná revaskularizácia, či už chirurgická alebo perkutánna, má však dve hlavné obmedzenia. Predpokladmi úspechu sú rekonštruovateľné tepny a viabilný myokard. Ak nie sú tieto podmienky splnené, konvenčná revaskularizácia je nemožná, alebo neúčinná.

Inou možnosťou je klasická transplantácia srdca (HTx), ktorá však má svoje obmedzenia. K nim patrí predovšetkým nedostatok darcov, nutnosť pooperačnej

imunopresie, ako aj ekonomická náročnosť. Preto je riešením len pre zanedbateľnú časť pacientov, ktorí trpia ťažkým CHSZ. Neustále sa hľadajú nové metódy, ktoré by „etiologickým“ spôsobom riešili podstatu CHSZ, teda pomocou ktorých by sa dosiahla náhrada afunkčného morfológicky devastovaného myokardu novým funkčným myokardom.

Jedným z týchto spôsobov je transplantácia/transfer buniek – celulárna transplantácia. Pre tieto metódy sa často používa aj výstižný termín celulárna kardiomyoplastika.

Okrem „celulárnej kardiomyoplastiky“ našla celulárna transplantácia už skôr uplatnenie aj v iných „extrakardiálnych“ oblastiach. Rekonštrukcia poškodených tkanív pomocou zárodočných buniek sa s úspechom už desaťročia uplatňuje pri liečbe porúch hemopoézy a iných systémov. Transplantácia buniek priečne pruhovaných svalov je jednou z metód liečby Duchenovej muskulárnej dystrofie. Transplantácia hepatocytov otvára možnosti pre liečbu ochorení pečene. Transplantácia Langerhansových ostrovčekov sa uplatňuje pri liečbe diabetu a mozgového tkaniva pri Parkinsonovej a Huntingtonovej chore (2).

Koncept revitalizácie myokardu bunkovými elementami je mimoriadne príťažlivý, vyriešiť však treba ešte množstvo otázok. Prvou a zásadnou je, či aplikované bunkové elementy sú schopné diferenciácie do funkčných

---

Z Transplantačného oddelenia Slovenského ústavu srdcových a cievnych chorôb v Bratislave a \*Oddelenia transplantácie kostnej drene Národného onkologického ústavu v Bratislave

Do redakcie došlo dňa 11. 8. 2003; prijaté dňa 30. 1. 2004

**Adresa pre korešpondenciu:** Doc. MUDr. Eva Goncalvesová, CSc., Transplantačné oddelenie, SÚSCH, Pod Krásnou hôrkou 1, 833 48 Bratislava, e-mail: goncal@susch.sk

kardiomyocytov a či tieto vytvoria účinné funkčné spojenia s pôvodným tkanivom.

Cieľom tohto prehľadu je zhrnúť dostupné informácie o experimentálnych a klinických skúsenostiach s celulárnou kardiomyoplastikou.

### Myoblasty kostrového svalstva

Problematika transplantácie myoblastov je experimentálne pomerne dobre rozpracovaná. Myoblasty kostrového svalstva sú mononukleárne prekursor myofibril priečne pruhovaných svalov, ktoré sú schopné regenerovať kostrový sval po poškodení. Velkou výhodou je skutočnosť, že ich možno izolovať zo svalu konkrétneho pacienta a expandovať *in vitro*. Pri ich opätovnom použití na transplantáciu do srdca odpadajú zábrany v súvislosti s histokompatibilitou a následnou imunosupresiou.

Početné experimenty na rôznych zvieracích modeloch ukázali, že myoblasty izolované z kostrového svalstva po naočkovaní do myokardu nielen prežívajú, ale aj proliferujú (2 – 4). Vo väčšine prác sa však ukázalo, že funkčná integrácia myoblastov v myokarde je sporná. Nevytvárajú sa elektromechanické junkcie, a preto chýba excitačno-kontrakčné spojenie medzi skeletálnymi a kardiálnymi myocytmi (3, 4). Napriek týmto pozorovaniam Taylor a spol. (5) v experimente na králikoch dokázali, že autológne myoblasty izolované z kostrového svalstva, aplikované do myokardu poškodeného zmrazením, zlepšujú regionálnu funkciu. Podobný účinok intramyokardiálnej aplikácie myoblastov do zóny experimentálne navodeného infarktu myokardu pozorovali aj iní autori (6).

Myoblasty kostrového svalstva sa použili aj v klinických experimentoch. Menasché a spol. (7) publikovali v roku 2001 správu o úspešnej implantácii myoblastov u 72-ročného muža. Do jazvového tkaniva na spodnej stene myokardu, ktoré bolo akinetické a neviabilné, injikovali pri chirurgickej rekonštrukcii koronárnych tepien myoblasty kostrového svalstva. Niekoľko týždňov po výkone sa časť predtým afunkčného myokardu, do ktorej sa aplikovali myoblasty, začala kontrahovať a zaznamenala sa metabolická aktivita, ktorá zodpovedá funkčným myocytom. Rovnakí autori (8) nedávno zverejnili výsledky prvej fázy klinického skúšania autológnej transplantácie skeletálnych myoblastov u chorých s ťažkou ischemickou kardiomyopatiou. Primárnym cieľom tejto štúdie bola uskutočniteľnosť a bezpečnosť výkonu. Vybralo sa desať pacientov, ktorí mali starý infarkt myokardu (IM) a u ktorých sa indikovala chirurgická revaskularizácia oblastí mimo predchádzajúceho IM. Pacientom sa uro-

bila biopsia zo svalov stehna a izolovali sa myoblasty. Tieto sa po expanzii *in vitro* injikovali počas operácie priamo do oblasti infarktu. V priemere sa podalo 871 miliónov buniek v 5,7 ml suspenzie v 37 miniinjekciách do plochy 29 cm<sup>2</sup>. Výskum sa zameriaval predovšetkým na hodnotenie bezpečnosti metódy. Jeden z desiatich pacientov zomrel náhle bez súvislosti s výkonom. Z deviatich ostatných pacientov sa u štyroch objavila monomorfna komorová tachykardia a následne im bol implantovaný kardioverter defibrilátor. Súvislosť medzi transplantáciou myoblastov a pozorovanými komorovými dysrytmiami nemožno s istotou potvrdiť, pre malý počet pacientov a chýbanie kontrolnej skupiny.

Obavy zo zvýšeného rizika tachydysrytmií vyslovili na základe experimentálnych pozorovaní aj iní autori (9). Skeletálne myoblasty nevytvárajú plnohodnotné bunkové spojenia s okolitými kardiomyocytmi a pravdepodobne tak vzniká nový substrát pre komorové re-entry tachykardie.

Sledovanie účinnosti transplantácie myoblastov, teda zmeny funkcie myokardu, nebolo prvoradým cieľom práce Menaschého a spol. (8). Interpretáciu zmien ukazovateľov funkcie sťažuje predovšetkým chirurgická revaskularizácia, v priebehu ktorej sa robila transplantácia myoblastov. Priemer ejekčnej frakcie ľavej komory sa zvýšil z 23,8 % na 32,1 %. Na vyhodnotenie prínosu transplantácie je však relevantnejšia analýza zmien v regionálnej funkcii. Implantácia myoblastov sa uskutočnila spolu v 22 echokardiograficky hodnotených segmentoch, ktoré neboli revaskularizované. V 14 z nich sa zistilo zlepšenie kontraktility v porovnaní so záznamom urobeným pred výkonom.

Mechанизmus, ktorým sa zlepšuje regionálna funkcia, nie je jasný, pretože myofibrily vytvorené z implantovaných myoblastov netvoria junkcie, ktoré umožňujú synchronizované elektromechanické spojenie s okolitými kardiomyocytmi. Jedným zo špekulatívnych vysvetlení je, že podnetom ku kontrakcii sú mechanické a nie elektrické stimuly (10).

Klinický výskum v tejto oblasti vychádza predovšetkým z nepriamych – funkčných dôkazov efektívnosti celulárnej kardiomyoplastiky. Nedávno publikovali prvý histologický dôkaz o prežívaní autológnych myoblastov v myokarde (11). Trom pacientom s ischemickou kardiomyopatiou podali súčasne s implantáciou podporného systému ľavej komory do oblasti prednej steny ľavej komory myoblasty priečne pruhovaných svalov. Implantovanie podporného systému vytvorilo možnosti pre transplantáciu srdca. Po transplantácii sa histologicky skúmalo explantované srdce príjemcu. V ťažko fibrotickom pôvodnom myokarde preživali skeletálne myoblasty, diferencované do zreých myofibril.

## Zárodočné bunky

Vyriešením niektorých nevýhod a problémov transplantácie myoblastov môže byť použitie zárodočných buniek. Zárodočné bunky (stem cells) sú nezrelé, nediferencované tkanivové prekurzory. Ich základnými vlastnosťami je schopnosť sebaobnovy a diferenciacie do rôznych fenotypov, na základe stimulov z okolitého prostredia. Môžu pochádzať z embryí alebo kostnej drene. Tu sa nachádza malý počet pluripotentných elementov, ktoré sú vďaka svojej plasticite schopné diferencovať, respektíve transdiferencovať do zrelých buniek rôznych orgánov a tkanív.

Embryonálne zárodočné bunky možno získať z blastocysty. Experimentálne štúdie ukázali, že sú schopné diferenciacie do kardiomyocytov (12). Použitie týchto elementov vo výskume u ľudí však naráža predovšetkým na etické problémy, ktoré vyplývajú z ich získavania. Druhou bariérou sú imunologické otázky. Podobne ako pri iných alogénnych transplantáciách hrozí rejekcia a bola by potrebná imunosupresia. Niektorí autori upozorňujú aj na nebezpečenstvo malígnej transformácie buniek embryonálneho pôvodu. Zistilo sa tiež, že kardiomyocyty, pochádzajúce z embryonálnych zárodočných buniek, majú arytmogénny potenciál (13). Preto je ich použitie v klinickej praxi v súčasnosti málo pravdepodobné. Určitým východiskom je použitie zárodočných embryonálnych buniek z pupočníkovej krvi. Tieto možno v hlbokozmrazenom stave uchovávať pre budúcu potrebu. V blízkej budúcnosti budú pravdepodobne vznikať „banky“, kde sa bude uschovávať hlboko zmrazená pupočníková krv. V prípade potreby ju neskôr bude možné použiť pri liečbe rôznych ochorení.

Ďalším, v súčasnosti podstatne prijateľnejším zdrojom buniek s podobným potenciálom, sú *zárodočné bunky kostnej drene* (hemopoetické a mezenchýmové).

### Koncept regenerácie tkanív pluripotentnými bunkami kostnej drene

Jestvujú dôkazy o tom, že zárodočné bunky kostnej drene sú vďaka svojej „plasticite“ schopné diferencovať do bunkových línii rôznych tkanív, a tak regenerovať vzdialené orgány. Quaini a spol. (14) zistili, že značná časť myocytov a buniek vaskulatury transplantovaného srdca pochádza od príjemcu. Vo svojej práci analyzoval vzorky myokardu získané pri endomyokardiálnych biopsiách. Zistili, že v myokarde štepov od darcov ženského pohlavia, ktoré transplantovali mužským príjemcom, 14–20 % myocytov, endotelových buniek a buniek hlad-

kej svaloviny, obsahuje chromozóm Y. To znamená, že tieto bunky pochádzajú od príjemcu. Zdá sa, že kolonizácia štepu bunkami príjemcu začína veľmi skoro po transplantácii a že zdrojom migrujúcich buniek sú zárodočné bunky kostnej drene. Signálom je pravdepodobne ischemicko-reperfúzne poškodenie štepu. Toto pozorovanie potvrdili aj iní autori (15, 16). Treba však pripomenúť, že nie všetci (17). Stále nie je definitívne vyriešená otázka, či bunky v jadrách, pri ktorých sa dokazuje chromozóm, sú kardiomyocyty, podporné bunky alebo bunky infiltrujúce transplantát, napríklad pri rejekcii.

Koncept schopnosti čiastočnej regenerácie poškodených tkanív z „vlastných“ zdrojov podporujú ďalšie pozorovania. Devine SM a spol. (18) podali venózne po letálnom celotelovom ožiareni opiciam autológne, ex vivo pomnožené, označované mezenchýmové kmeňové bunky. Po troch týždňoch zvieratá utratili a v tkanivách gastrointestinálneho traktu, obličiek, pľúc, pečene aj inde našli diferencované bunky pochádzajúce z podaných zárodočných. V experimente na myšiach iní autori dokázali, že mobilizované bunky kostnej drene sa zúčastňujú na regenerácii srdca po infarkte myokardu a zlepšujú jeho funkciu (19). V týchto pokusoch sa myšiam osem dní jedenkrát denne podávali rastové faktory buniek kostnej drene. Na piaty deň sa urobila ligácia ľavej koronárnej artérie. V porovnaní s kontrolnou skupinou sa u myší liečených rastovými faktormi pozoroval menší rozsah infarktu, lepšia systolická funkcia ľavej komory a zmenšila sa jej dilatácia aj napätie v stene ľavej komory. Mortalita myší v liečenej skupine bola menšia o 68 %. V zóne infarktu sa tiež zistila neoformácia ciev a myocytov.

### Experimenty in vitro

V experimentoch sa na celulárne kardiomyoplastiky používajú rôzne typy/populácie buniek kostnej drene. Môžu to byť hemopoetické kmeňové bunky (CD 34+), rozličné typy selektovaných prekurzorov (napríklad ACC 133+), zárodočné bunky strómy kostnej drene (mezenchýmové bunky), alebo neselektované mononukleárne bunky kostnej drene, ktoré sú zmesou viac alebo menej diferencovaných prekurzorov krvných buniek a buniek strómy (20).

Dôležitým objavom v tejto oblasti bolo, že sa v experimentálnych podmienkach in vitro podarilo zo zárodočných buniek strómy kostnej drene (mezenchýmové kmeňové bunky) izolovať a kultivovať spontánne sa kontrahujúce elementy podobné kardiomyocytom (21).

Bandorf a spol. (22) nedávno dokázali aj transdiferenciačný potenciál endotelových progenitorových bu-

niek. Z periférnej krvi dobrovoľníkov izolovali endotelové progenitorové bunky (CD34+). Tieto následne šesť dní kultivovali s kardiomyocytmi, ktoré izolovali zo srdca novonarodených potkanov. Endotelové progenitorové bunky postupne nadobudli morfológický aj imunocytochemický charakter kardiomyocytov.

Tieto a podobné práce sú základom pre koncept celulárnej kardiomyoplastiky použitím kmeňových buniek kostnej drene a východiskom pre ďalšie výskumy na zvieratách aj v klinickej medicíne. Výhodou týchto buniek je, že ich možno jednoducho získať, možno ich kultivovať a množiť *in vivo*, čím sa dosiahne ich dostatočný počet. Majú autológny pôvod, odpadá teda problém imunosupresie. Aktuálne nie sú ani etické otázky, ktoré znemožňujú prácu s embryonálnymi zárodočnými bunkami. Podstatnou prednosťou zárodočných buniek oproti myoblastom je ich plasticita. Zárodočné bunky kostnej drene diferencujú nielen do kardiomyocytov, ale aj do ostatných buniek (endotelové bunky, bunky hladkého svalstva, fibroblasty), ktoré sú nevyhnutné na vytvorenie/regeneráciu funkčného myokardu.

### Experimenty na zvieracích modeloch

V početných pokusoch na rozličných experimentálnych modeloch (myši, potkany, prasatá) sa zistilo, že po injekčnom podaní mezenchýmových buniek kostnej drene, expandovaných *in vitro* do zóny infarktu myokardu, nastáva ich uhniesdenie, diferenciácia do kontraktívnych elementov a súčasne neoangiogenéza, ako aj tvorba podporného väziva (23 – 26).

Podobné výsledky sa dosiahli aj po aplikácii mezenchýmových buniek do koronárnych tepien, aorty alebo dutiny ľavej komory. C. Toma a spol. (27) podali do dutiny ľavej komory myši ľudske mezenchýmové bunky. Týždeň po výkone boli v myokarde prítomné diferencované kardiomyocyty pochádzajúce z použitých buniek. Iní autori (28) injikovali zárodočné bunky strómy kostnej drene do ascendentej aorty potkanov dva týždne po proximálnej oklúzii ľavej koronárnej artérie. Po štyroch týždňoch v mieste jazvy diferencovali pôvodné bunky s charakteristikami fibroblastov a v jej okolí bunky charakteristikami kardiomyocytov. Časť buniek sa inkorporovala do endokardu a endotelu novovytvorených kapilár. Zistilo sa, že jednou z podmienok efektívnej regenerácie myokardu je jeho predchádzajúca revaskularizácia (29).

V jednej z priekopníckych prác Kocher a spol. (30) použili ľudske zárodočné bunky kostnej drene s fenotypickými charakteristikami angioblastov. Tieto podali i.

v. atymickým potkanom, u ktorých vyvolali infarkt myokardu podviazaním prednej interventrikulárnej tepny (RIA). V poškodenom myokarde došlo v porovnaní s kontrolnou skupinou k neoangiogenéze a revaskularizácii, ďalej sa zmenšilo ložisko infarktu a zlepšila sa funkcia srdca.

Dôležitou a doposiaľ nevyriešenou otázkou je, ktorá subfrakcia zárodočných buniek kostnej drene je pre potreby celulárnej kardiomyoplastiky ideálna a či možno tieto bunky získať v dostatočnom množstve a kvalite. S úspechmi sa použili nefrakcionované mononukleárne bunky, mezenchýmové bunky a aj prekursori endotelu. Pre voľbu vhodnej frakcie bude pravdepodobne rozhodujúci cieľ, ktorý sa má dosiahnuť. Iné zárodočné bunky budú vhodné, ak cieľom bude neoangiogenéza a revaskularizácia ischemického myokardu a iné budú potrebné pre regeneráciu myokardu. Preklenutím tejto dilemy môže byť aplikácia definovanej „zmesi“ buniek. R. B. Thompson a spol. (31) injikovali v experimente na kráľíkoch zmes 80 % mezenchýmových a 20 % hemopoetických buniek do myokardu dva týždne po IM. U všetkých liečených zvierat v porovnaní s kontrolami sa zlepšila systolická funkcia ľavej komory. Histologické vyšetrenie dokázalo uhniesdenie a diferenciáciu injikovaných buniek.

V ostatnom čase sa objavilo niekoľko menej optimistických pozorovaní. Zdá sa, že viabilita a schopnosť uhniesdenia natívných mezenchýmových buniek v zóne infarktu je pomerne malá a podľa niektorých pozorovaní viac ako 99 % buniek odumiera do štyroch dní po transplantácii (32).

### Klinické použitie zárodočných buniek kostnej drene

Klinické skúsenosti s celulárnou kardiomyoplastikou so zárodočnými bunkami kostnej drene sú ojedinelé.

B. E. Strauer a spol. (33) publikovali skúsenosti s intrakoronárnym podaním mononukleárných buniek kostnej drene chorým po akútnom IM. Desiatim pacientom v priemere sedem dní po akútnom IM robili perkutánnu koronárnu intervenciu (PCI) artérie, ktorá zásobuje infarktové ložisko. Počas PCI opakovane injikovali do koronárnej artérie za stenózu mononukleárne bunky kostnej drene, ktoré získali aspiráciou a kultiváciou deň pred PCI. Kontrolnú skupinu tvorilo 10 porovnateľných pacientov, u ktorých po IM vykonali „len“ PCI. Po troch mesiacoch sa v skupine s bunkovou liečbou významne zmenšilo ložisko infarktu, zvýšila sa kontraktilita aj perfúzia v infarktovej oblasti a zmenšil sa objem ľavej komory na konci systoly.

**Tabuľka 1** Výsledky klinických skúšok s celulárnou kardiomyoplastikou**Table 1** Results of clinical tests with cellular cardiomyoplasty

Autor (Author) Zdroj (Source)	Pacienti (Patients) dg/počet (Dg/number)	Typ buniek (Type of cells)	Spôsob aplikácie (Method of application)	Výsledok (Result)
Stauer B AHA 2003	AIM/20 ↑	mononukleárne z KD (Mononuclearly from BM)	intrakoronárne (Intracoronary)	perfúzia (Perfusion) funkcia (Function)
Zeiber A AHA 2003	AIM/59 ↑	mononukleárne z KD (Mononuclearly from BM) cirkulujúce CD34+ (Circulating CD34+)	intrakoronárne (Intracoronary)	perfúzia (Perfusion) funkcia (Function)
Tse HF (42)	IKMP/8 ↑	mononukleárne z KD (Mononuclearly from BM)	transendokardiálne (Transendocardially)	perfúzia (Perfusion)
Stamm C (41)	IKMP/6 ↑	AC133+, CD34-	myokardiálne pri CABG (Myocardially in CABG)	perfúzia (Perfusion) funkcia (Function)
Perin E (39)	IKMP/21 ↑	mononukleárne z KD (Mononuclearly from BM)	transendokardiálne (Transendocardially)	funkcia (Function)
Walert K AHA 2003	AIM/30/30 bunky/placebo (Cells/placebo) ↑	mononukleárne z KD (Mononuclearly from BM)	intrakoronárne (Intracoronary)	funkcia (Function)

AIM – akútny infarkt myokardu (AMI – Acute myocardial infarction), IKMP – ischemická kardiomyopatia (ICMP – Ischaemic cardiomyopathy), KD – kostná dreň (BM – Bone marrow), CABG – Coronary artery bypass grafting, ↑ – zlepšenie (Improving), AHA 2003 – Plenary session II: Mending the Broken Heart: Resident and Non-resident Primitive Cells. Scientific sessions of AHA. Orlando, Nov 10<sup>th</sup> 2003

Podobné skúsenosti publikovali aj iní autori. Assmus a spol. (34) aplikovali zárodočné bunky 20 pacientom v priemere štyri dni po AIM. Tento v akútnej fáze riešili implantáciou stentu. Suspenziu buniek injikovali distálne za stentom. U deviatich pacientov získali progenitorové bunky separáciou z periférnej krvi a následnou kultiváciou. V absolútnej prevahe boli elementy s charakteristikami endotelových prekursorov. U 11 použili heterogénnu populáciu mononukleárných buniek získaných aspiráciou drene z bedrovej kosti. Po štyroch mesiacoch sa zistilo evidentné zlepšenie regionálnej kontraktility aj koronárnej prietokovej rezervy. Nezaznamenali sa rozdiely v závislosti od typu použitých buniek.

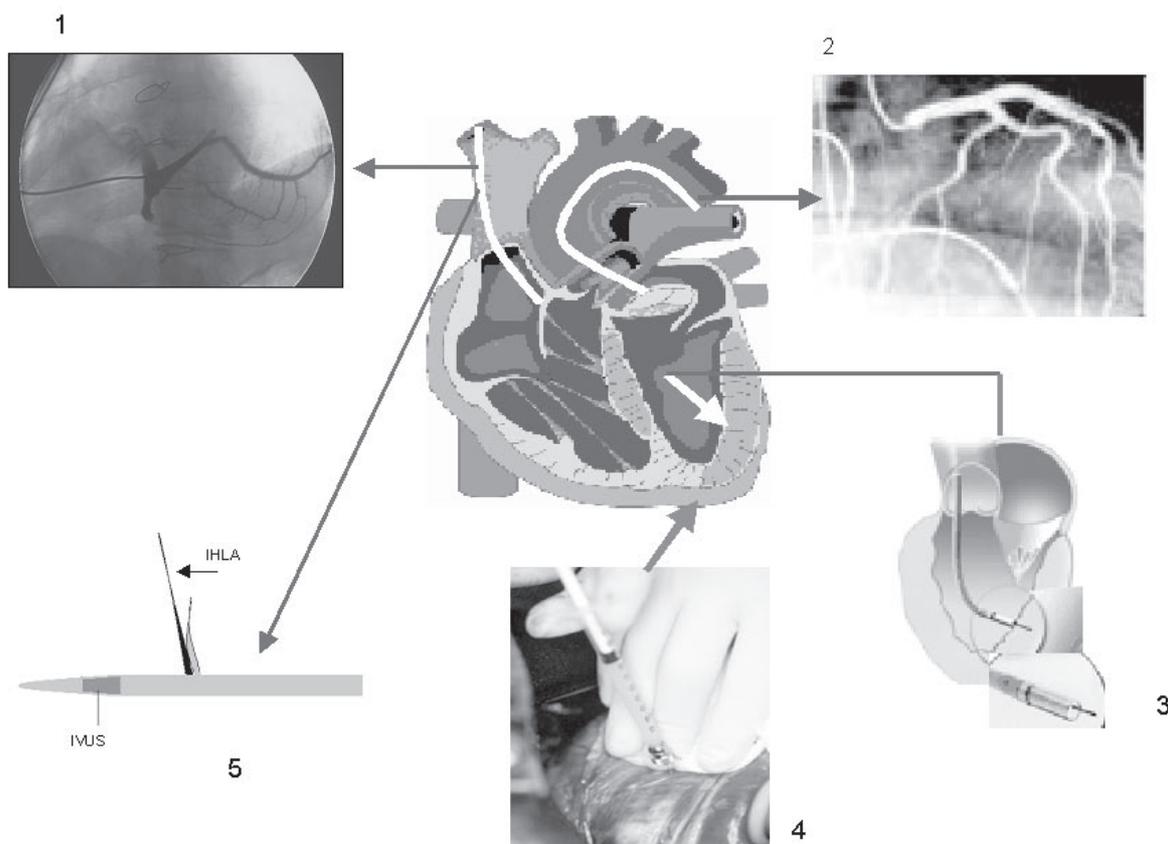
V inej práci (35) autori 14 pacientom so srdcovým zlyhaním na podklade nerekonštruovateľnej koronárnej choroby injikovali špeciálne upraveným injekčným katétrom mononukleárne bunky kostnej drene transendokardiálne z dutiny ľavej komory. U každého pacienta do hypoperfundovanej zóny myokardu ľavej komory aplikovali 15 mikroinjekcií a priemerne  $25 \times 10^6$  buniek. Sedem pacientov tvorilo kontrolnú skupinu. Po štyroch mesiacoch sa u liečených pacientov zistilo signifikantné zvýšenie ejekčnej frakcie aj kinetiky v oblastiach aplikácie buniek. Došlo tiež k reverzii remodelácie, čo sa prejavilo zmenšením objemu ľavej komory na konci systoly. V žiadnej z opísaných prác nezaznamenali nepriaznivé vedľajšie účinky, respektíve komplikácie výkonu (**tabuľka 1**).

Jednou z pragmatických otázok, ktorá je zásadná pre klinické použitie bunkovej liečby, je otázka optimálneho aplikačného spôsobu (**obrázok 1**). V súčasnosti pripadajú do úvahy štyri spôsoby.

Priame intramyokardiálne, transepikardiálne podanie je možné, ak sa plánuje chirurgický výkon. Výhodou je predovšetkým priama kontrola zrakom, nevýhodou potreba otvorenej intervencie.

Najbezpečnejšie a najjednoduchšie je podanie buniek intrakoronárne. Výhodou je, že bunky takto možno aplikovať cielene do vybraných oblastí koronárneho riečiska. Problémom môže byť udržanie buniek v kapilárach veľmi dlho na to, aby prenikli do okolitého tkaniva. Tento prístup nie je vhodný pre aplikáciu väčších buniek (napríklad myoblastov) vzhľadom na možné mikroembolizácie. Inou možnou formou intravaskulárnej aplikácie je instilácia do koronárneho sínusu s jeho následnou krátkou oklúziou (36 – 38).

Inými možnosťami intramyokardiálnej aplikácie je transendokardiálne podanie špeciálnym injekčným katétrom z dutiny ľavej komory alebo injekcie do myokardu injekčným katétrom zavedeným do koronárneho sínusu pri súčasnej kontrole intravaskulárnym ultrazvukom. Posledné dve metódy majú všetky výhody perkutánnych intervencií, ich použitie je však obmedzené na ojedinelé pracoviská a považuje sa za experimentálne (39, 40).



**Obrázok 1** Klinické spôsoby transplantácie buniek. Intravenózne do sinus coronarius (1), intrakoronárne (2), intramyokardiálne transendokardiálne z dutiny ľavej komory špeciálne modifikovaným injekčným katetrom (3), intramyokardiálne pri otvorenom chirurgickom výkone (4), intramyokardiálne cez sinus koronarius špeciálne upraveným injekčným katetrom pri kontrole intravaskulárnym ultrazvukom (IVUS) (5).

**Figure 1** Clinical methods of cell transplantation. Intravenously into the sinus coronarius (1), intracoronary (2), intramyocardially transendocardially from left ventricular cavity by a specially modified injection catheter (3), intramyocardially in open surgical intervention (4), intramyocardially through the sinus coronarius by a specially modified injection catheter under the control of intravascular ultrasonography (IVUS) (5).

Transplantácie buniek sú revolučnou zmenou v liečbe ochorení srdca. Po prvýkrát sa ukazuje reálna príležitosť nie „len“ rekonštruovať či nahrádzať pôvodné tkanivá, alebo orgány, či už od iných jednotlivcov alebo umelými náhradami, ale vytvárať nové, prirodzené a organizmu vlastné a funkčné štruktúry. Ďalší pokrok v tejto oblasti je možný len pri úzkej spolupráci výskumníkov z oblasti celulárnej biológie, molekulárnej genetiky s klinickými kardiológmi špecializovanými predovšetkým v problematike srdcového zlyhania, intervenčnej kardiológie, elektrofyziológie a transplantológie. Výsledky experimentálnych prác aj prvé klinické skúsenosti sú nádejné. Na vyriešenie však čaká množstvo otázok a problémov. K najaktuálnejším patria: Ktorí pacienti sú vhodní na takúto liečbu? Aký typ zárodočných buniek použiť? V akom množstve, koncentrácii a akým spôsobom? Aké je dlhodobé prežívanie týchto buniek? Je použitie zárodočných buniek bezpečné aj vzhľadom na prípadnú neoplastickú transformáciu?

V súčasnosti sú prvé klinické aplikácie najpriateľnejšie u chorých so zlou krátkodobou prognózou, u ktorých sa vyčerpali dostupné konvenčné liečebné postupy a konečné riešenie transplantáciou srdca nie je možné, alebo je, z akýchkoľvek dôvodov, v nedohľadne. Na druhej strane treba rátať s tým, že práve u týchto pacientov s ťažkým poškodením myokardu môže mať celulárna kardiomyoplastika iba obmedzený účinok (význam).

V súvislosti so súčasnými poznatkami sa zdá, že celulárne transplantácie môžu byť reálnym východiskom pre liečbu niektorých ochorení srdca, ktoré odolávajú všetkým snahám o ich priaznivé ovplyvnenie. Ich reálne postavenie v klinickej medicíne ukáže budúcnosť.

S úplnou istotou už teraz možno povedať, že nás čaká vzrušujúce obdobie poznávania, hľadania a vytvárania nových ciest na liečbu ochorení, a to nielen ochorení srdca.

---

## Literatúra

1. Levy D, Kenchaiah S, Larson MG, et al. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. *N Engl J Med* 2002;347:1397–1402.
2. Hagège AA, Vilquin JT, Bruneval P, et al. Regeneration of the myocardium. A new role in the treatment of ischemic heart disease? *Hypertension* 2001;38:1413–1415.
3. ElOakley RM, Ooi OC, Bongso A, et al. Myocyte transplantation for myocardial repair: A few good cells can mend a broken heart. *Ann Thorac Surg* 2001;71:1724–1733.
4. Minami E, Reinecke H, Murry CE, et al. Skeletal muscle meets cardiac muscle. Friends or foes? *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1084–1086.
5. Taylor DA, Atkins AY, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: Improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nature medicine* 1998;4:929–933.
6. Jain M, DerSimonian H, Brener DA, et al. Cell therapy attenuates deleterious ventricular remodeling and improves cardiac performance after myocardial infarction. *Circulation* 2001;103:1920–1927.
7. Menasché P, Hagere AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;357:279–280.
8. Menasché P, Hagere A, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1078–1083.
9. Hassink RJ, de la Riviere AB, Mummery CL, et al. Transplantation of cells for cardiac repair. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:711–717.
10. Scorsin M, Souza LCG. Cellular transplantation for the treatment of heart failure. *State of the Art Arq Bras Cardiol* 2001;77:103–106.
11. Pagani FD, DerSimonian H, Yawadzka A, et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to infarcted human myocardium: Histological analysis of cell survival and differentiation. *J Heart Lung Transplant* 2003;22:S78.
12. Li RK, Zau TM, Weisel RD, et al. Cardiomyocyte transplantation improves heart function. *Ann Thorac Surg* 1996;62:654–660.
13. Zhang ZM, Hartzell C, Narlow M, et al. Stem cell-derived cardiomyocytes demonstrate arrhythmic potential. *Circ* 2002;106:1294–1299.
14. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 2002;346:5–15.
15. Muller P, Pfeiffer P, Seelan U, et al. Non-cardiac cells in human transplanted hearts rebuild cardiomyocytes. *Eur Heart J* 2002;23(Suppl):379.
16. Deb A, Wang S, Skeldin KA, et al. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart. *Circ* 2003;107:1247–1250.
17. Taylor DA, Hruban R, Rodriguez ER, et al. Cardiac chimerism as a mechanism for self-repair. Does it happen and if so to what degree? *Circ* 2002;106:2–4.
18. Devine SM, Cobbs C, Jennings M, et al. Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusion into nonhuman primates. *Blood* 2003;101:2999–3001.
19. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701–705.
20. Chiu RCJ. Bone-marrow stem cells as a source for cell therapy. *Heart Failure Rev* 2003;8:247–251.
21. 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.
22. Badorff C, Brandes RP, Popp R, et al. Transdifferentiation of blood-derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes. *Circ* 2003;107:1024–1032.
23. Wang JS, Shum-tim D, Galipeau J, et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:999–1006.
24. Shake JG, Gruber PJ, William A, et al. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *Ann Thorac Surg* 2002;73:1919–1926.
25. Yau TM, Tomita S, Weisel RD, et al. Beneficial effect of autologous cell transplantation on infarcted heart function: comparison between bone marrow stromal cells and heart cells. *Ann Thorac Surg* 2003;75:169–177.
26. Tomita S, Mickle DA, Weisel RD, et al. Myogenesis, and angiogenesis following autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation improved heart function. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;122:963–971.
27. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circ* 2002;105:93–98.
28. Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E, et al. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: Pathophysiologic and therapeutic implications. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;122:699–705.
29. Ziegelhoeffer T, Voswinckel R, Heil M, et al. Bone marrow derived stem cells are not an arterial wall constituting but rather supporting cells during collateral vessel growth in mice. *Europ J Heart Fail* 2003;2:138.
30. 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. *Nature medicine* 2001;7:430–436.
31. Thompson RB, Emeni S, Colgrove S, et al. Transplantation of a mixed population of bone marrow-derived progenitor cells improves regional systolic function in a rabbit model of cryoinjured myocardium. *J Heart Lung Transplant* 2003;22:S80.
32. Mangi A, Noiseux N, Kong D, et al. Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts. *Nature Med* 2003;9:1195–1201.
33. Stauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circ* 2002;106:1912–1918.
34. Assmus B, Schächinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction. *Circ* 2002;106:3009–3017.
35. Perin EC, Dohman HFR, Borojevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circ* 2003;107:2294–2302.
36. Suzuki K, Murtuza B, Suzuki N, et al. Intracoronary infusion of skeletal myoblasts improves cardiac function in doxorubicin-induced heart failure. *Circ* 2001;104(Suppl. 1):I-213–I-217.
37. Suzuki K, Murtuza B, Smolenski RT, et al. Efficiency of retrograde intracoronary infusion for cell transplantation to the heart. *J Heart Lung Transplant* 2003;22:S126.
38. Vicario J, Piva J, Pierini A, et al. Transcoronary sinus delivery of autologous bone marrow and angiogenesis in pig model with myocardial injury. *Cardiovasc radiat Med* 2002;3:91–94.
39. Perin EC, Yong-Jian G, Willerson JT. Adult stem cell therapy in perspective. *Circ* 2003; 107:935–938.
40. Thompson CA, Nasser BA, Makower J, et al. Percutaneous transvenous cellular cardiomyoplasty. A novel nonsurgical approach for myocardial cell transplantation. *J Am Coll Cardiol*;200:1964–1971.
41. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003;361:45–46.
42. Tse HF, Kwong YL, Chan JKF, et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003;361:47–48.