

PRIMENA STEM ĆELIJA U TERAPIJI AKUTNOG INFARKTA MIOKARDA

Sladana Raković

Akutni infarkt miokarda (AIM) je oblik koronarne bolesti srca koji nastaje zbog potpune okluzije koronarne arterije. Najčešći uzrok naglog prekida cirkulacije u nekoj koronarnoj arteriji ili grani koronarne arterije je aterosklerotična lezija, praćena rupturom endotela i trombozom. Subendokardni miokard je tkivo sa velikim metaboličkim potrebama, veoma osetljivo na ishemiju, tako da ireverzibilno oštećenje kardiomiocita nastupa već posle 15-20 minuta od koronarne okluzije. Usled ishemije miokarda najpre nastaju funkcionalne, a potom i morfološke promene, i konačno dolazi do gubitka dela srčanog tkiva. Fibroziranje i stvaranje ožiljka dovodi do remodelovanja neishemičnog tkiva (uglavnom komora), koje počinje u prvim satima i nastavlja se danima i mesecima posle inicijalnog događaja. Ovaj proces dovodi do dilatacije komora i progresivnog slabljenja funkcije srca.

Akutni infarkt miokarda predstavlja urgentno stanje koje zahteva neodložnu terapiju, koja u zavisnosti od veličine infarkta, stanja pacijenta i faze u kojoj je započeta može biti: a) rutinska, a podrazumeva primenu kiseonika, gliceril-trinitrata, analgetika i sedativa, i b) interventna, čiji je cilj da se rastvaranjem tromba zaustavi proces nekroze i smanji veličina infarkta. Interventna terapija obuhvata: antikoagulantne lekove (heparin, niskomolekulski heparini), antiagregacione lekove (acetil-salicilnu kiselinu) i trombolitičke enzime (streptokinazu, urokinazu, alteplazu) čija je primena indikovana u prvih 6 časova od inicijalnog događaja). Osim toga, u terapiji infarkta miokarda koriste se i procedure kojima se obezbeđuje mehanička revaskularizacija miokarda: perkutana transluminalna koronarna angioplastika (PTKA) i urgentni by-pass, uglavnom kod mehaničkih komplikacija AIM.

Međutim, svi navedeni lekovi i hirurške intervencije imaju za cilj da spreče dalju nekrozu srčanog tkiva i smanje veličinu infarkta, pri čemu je nastalo oštećenje ireverzibilno, a ožiljak koji se formira trajan. S obzirom na to da ireverzibilno oštećenje dovodi do slabljenja funkcije srca, bilo je potrebno tragati za novim metodama lečenja. Najznačajnija otkrića su u oblasti regenerativne medicine, odnosno primena stem-ćelija u lečenju infarkta miokarda.

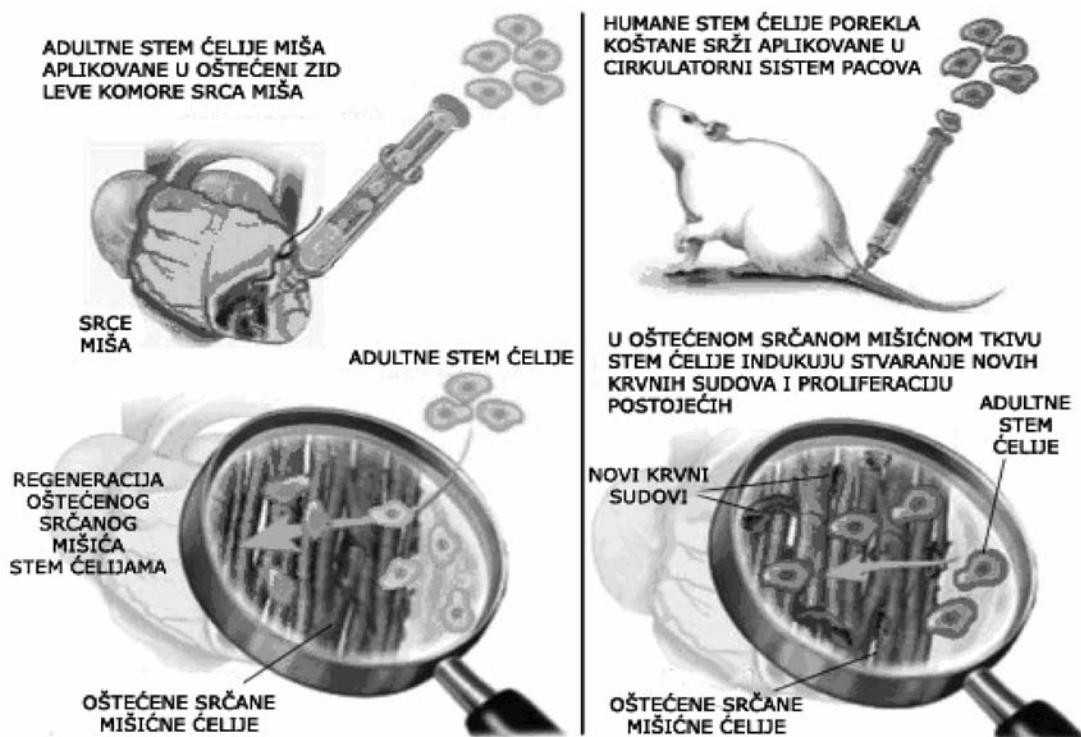
Osnovna specifičnost stem-ćelija je njihova sposobnost da se dele, i pod određenim uslovima da diferenciraju u ćelijske linije koje preuzimaju specifične ćelijske funkcije. Pored toga, one imaju veliki regenerativni potencijal, tj. sposobnost samoobnavljanja tokom dužeg vremenskog perioda.

Izvori stem ćelija mogu biti adultni organi, kao što su: kostna srž, skeletni mišići, jetra, krvni sudovi i mozak, ili embrionalne ćelije (1). Adultne stem ćelije se izdvajaju od drugih ćelija koje se nalaze u adultnim tkivima, zatim gaje u kulturi i pod dejstvom selektivnih i specifičnih faktora rasta diferenciraju u neke ćelijske linije (ali ne sve), tako da su adultne matične ćelije multipotentne. Za razliku od njih, embrionalne matične ćelije (hESC) su pluripotentne, tako da mogu diferencirati u sve tipove ćelija koji se mogu razviti iz tri klicina lista. Oba tipa stem ćelija imaju svoje prednosti i nedostatke, što ih čini manje ili više pogodnim za terapijsku primenu.

Sposobnost hESC da se diferenciraju u sve tipove ćelija predstavlja njihovu osnovnu prednost. Osim toga, one lako rastu u kulturi, pa se mogu dobiti u velikom broju, što je od velikog značaja za terapiju. Međutim, transplantacija hESC od donora recipijentu, može pokrenuti imunske procese i uzrokovati reakciju odbacivanja, što predstavlja osnovni problem kod primene ovih ćelija.

Nasuprot tome, pri primeni adultnih stem ćelija, sam pacijent je izvor transplantiranih ćelija tako da one ne pokreću imunske reakcije. Stem ćelije se izoluju iz kostne srži pacijenta i ubrizgavaju u srčano tkivo. Mogućnost izolovanja adultnih stem ćelija, njihovog zamrzavanja i čuvanja do upotrebe, stvara uslove da se kod pacijenata kod kojih je procenjeno da postoji povećani rizik od AIM pripreme ćelije koje će se u slučaju potrebe iskoristiti (1, 2). Pored ograničene diferencijacije, nedostatak adultnih stem ćelija je što su one retke u adultnim tkivima i teže rastu u uslovima *in vitro*, pa se ne mogu dobiti u tako velikom broju kao embrionalne.

Najranija istraživanja u ovoj oblasti vršena su u eksperimentalnom modelu infarkta miokarda koji je izazvan kod eksperimentalnih životinja. U jednom modelu, kod miševa kod kojih je indukovano AIM (3) ispitivana je sposobnost ćelija kostne srži (engl. BMSCs - Bone Marrow Stem Cells) da diferenciraju u kardiomiocite. Ishemija je izazvana postavljanjem ligature u predelu descedentne grane leve koronarne arterije (LCA). Pet časova posle postavljanja ligature u područje ishemije ubrizgane su BMSCs, obeležene zelenim fluorescentnim proteinom eGFP (engl. green fluorescent protein), kako bi se omogućilo praćenje distribucije ovih ćelija u miokardnom tkivu (Slika 1) (4). Evaluacija procesa regeneracije vršena je 9 dana posle intervencije, pri čemu su praćeni sledeći parametri: a) prisustvo obeleženih ćelija u pojedinim organima, kako bi se utvrdilo postojanje migracije stem



Slika 1. Eksperimentalni modeli koji ilustruju puteve aplikacije adultnih stem ćelija obeleženih specijalnim bojama, koje omogućavaju njihovo praćenje posle aplikacije

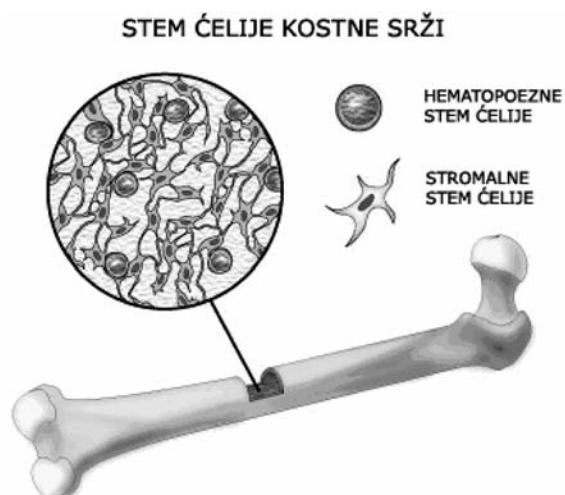
ćelija, b) ekspresija kardijalno-specifičnog transkripcionog faktora, miozina i drugih proteina specifičnih za kardiomiocite, radi detekcije procesa diferencijacije, c) sposobnost kontraktilne aktivnosti ćelija na osnovu vezivanja antitela specifičnih za teški lanac miozina, alfa-aktinin, desmin i troponin (svi proteini su nađeni u srčanom tkivu), d) postojanje električne aktivnosti, promena nivoa kalcijuma u ćeliji i kontraktilni odgovor na kateholaminsku stimulaciju, i e) vrednosti end-dijastolnog pritiska leve komore, kako ci se utvrdilo da li postoji poboljšanje funkcije nakon primene stem ćelija. Za sve navedene parametre vršeno je poređenje sa kontrolnom grupom.

Značajna otkrića na animalnim modelima ostvarena su i u ispitivanju *faktora mikrookoline* koji su uključeni u migraciju stem ćelija, na osnovu čega su predložena dva modela. U jednom je pretpostavljeno da prisustvo nekroze u miokardnom tkivu izaziva otpuštanje određenih signala u cirkulaciju, koji mobilišu stem ćelije iz pula koštne srži. Posle mobilizacije, receptori ćelija oštećenog tkiva, mogli bi da izazovu ateziju stem ćelija i da pokrenu kaskadu diferencijacije. Drugi model pretpostavlja da su stem ćelije stalno prisutne u cirkulaciji, a samo u periodu ishemijske infiltruju srčano tkivo. Faktori koji bi mogli imati značajniju ulogu u mobilizaciji stem ćelija iz koštne srži u područje infarkta su: engl. Stem Cell Factor (SCF), c-kit (tirozin kinaza receptor) i matrix-

metaloproteinaza 9 (3).

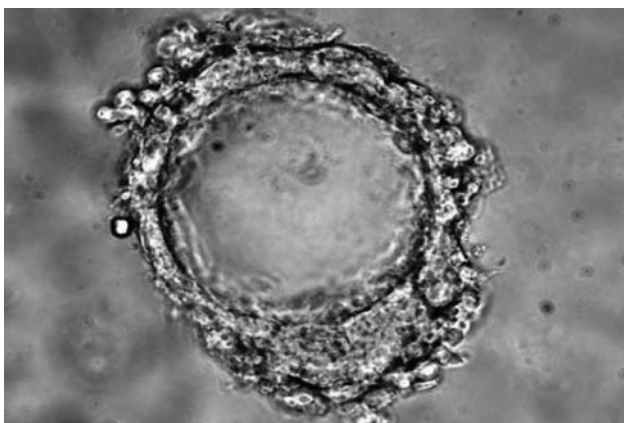
Pored embrionalnih matičnih ćelija, u literaturi se navodi postojanje dve grupe adultnih stem ćelija koje su kandidati za korišćenje u terapiji AIM. To su: skeletni mioblasti i ćelije koštne srži. Skeletni mioblasti su predstavljali prvi izbor, pre svega zbog velike mitotske aktivnosti, koja omogućava da lako rastu u kulturi i da se dobiju u velikom broju. To su ćelije koje dobro podnose ishemiju, što je od velikog značaja u terapiji, jer se plasiraju u područje u kome ishemija postoji. Upotreba autolognih mioblasta bila bi skoro idealna, jer se do njih lako dolazi (biopsijom pacijenta) i mogu biti vraćene pacijentu posle *in vitro* ekspanzije (5). Međutim, kod primene mioblasta pojavio se problem nemogućnosti stvaranja međućelijskih veza tipa *gap junctions*, koje postoje između ćelija srca i omogućavaju lako širenje akcionih potencijala, odnosno, funkcionisanje srca kao sincicijuma. Ovakve strukturne razlike, kao i razlika u mehanizmu generisanja akcionog potencijala, refraktornom periodu i aritmogeni potencijal skeletnih mioblasta, u animalnim modelima su prouzrokovale elektromehaničku disocijaciju i pojavu fatalnih ventrikularnih aritmija (Slika 2) (6,7).

Progenitorne ćelije koštne srži obuhvataju hematopoezne (HSCs) i mezenhimne stem ćelije (MSCs) (Slika 3). Diferencijacija mezenhimnih stem ćelija može ići u pravcu hondrocita, osteocita ili



Slika 2. Skeletni mioblast obeležen fluorescentnom zelenom bojom (mikroskopski prikaz)

adipocita, ali je u nekim ispitivanjima pokazano da mogu diferencirati u sve tri vrste ćelija u srčanom tkivu (glatke mišićne ćelije, endotelne ćelije i kardiomiocite) (8).



Slika 3. Shematski prikaz stem ćelija koje se mogu dobiti iz kostne srži

Postoje četiri puta aplikacije stem ćelija u terapiji akutnog infarkta miokarda: a) intramiokardni, b) transendokardijalni, c) intrakoronarni i d) intravenski. Intramiokardnom injekcijom, stem ćelije se ubrizgavaju direktno u miokard, u predeo granične zone infarkta, odakle migriraju u centralnu zonu. Ovakav način aplikacije predstavlja invazivnu proceduru, tokom koje se pacijenti podvrgavaju hirurškoj intervenciji. Prednost ove metode je što se izvodi pod direktnom vizualizacijom i omogućava inspekciju target zone. Međutim, stem ćelije aplikovane na ovaj način mogu stvoriti ostrvca ćelija u predelu zone infarkta, koja postaju supstrat električne nestabilnosti i ventrikularne tahiaritmije (6, 9). Za transendokardni metod aplikacije potrebno je elektromehaničko mapiranje, kojim se putem

inkorporisanog tkivnog katetera, precizno određuje target zona i zona oko infarkta u koju se plasiraju stem ćelije (9). Perkutani transluminalni koronarni kateter se koristi za intrakoronarnu administraciju stem ćelija. Prednost ove tehnike ogleda se u postizanju maksimalne koncentracije stem ćelija u području infarkta, već pri prvoj pasaži. Međutim, prisustvo stem ćelija u koronarnoj cirkulaciji, može stvoriti okluziju malih krvnih sudova, dajući mikroinfarkte, što je glavni nedostatak (10). Intravenski put je najjednostavniji i najmanje invazivan, ali se pri korišćenju tog pristupa javlja problem zadržavanja stem ćelija u drugim organima (jetri, slezini, plućima i limfoidnom tkivu), tako da samo mali broj dolazi do ciljanog tkiva (9).

Primena stem-ćelija predstavlja budućnost terapije akutnog infarkta miokarda jer će, za razliku od dosadašnjih terapijskih protokola, omogućiti regeneraciju oštećenog miokardnog tkiva.

LITERATURA

1. Lee MS, Makkar RR. Stem-Cell Transplantation in Myocardial Infarction: A Status Report. *Annals of Internal Medicine* 2004; 140: 729-37.
2. Saha M, Zbinden R, Redwood SR, Marber MS. Stem cells to repair the broken heart: much ado about nothing. *Heart* 2006; 92: 1717-9.
3. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circulation Research* 2002; 91: 1092-102.
4. Winslow T, Kibiuk L. Heart Muscle repair with Adult Stem Cells. 2001.
5. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001; 357: 279-80.
6. Herreros J, PrÆsper F, Perez A et al. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *European Heart Journal* 2003; 24(22): 2012-202.
7. Zhang YM, Hartzell C, Narlow M, et al. Stem cell-derived cardiomyocytes demonstrate arrhythmic potential. *Circulation* 2002; 106: 1294-9.
8. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal Stem Cells and Their Potential as Cardiac Therapeutics. *Circulation Research* 2004; 95: 9-20.
9. Perin EC, Geng YJ, Willerson JT. Adult Stem Cell Therapy in Perspective. *Circulation* 2003; 107: 935-8.
10. 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: 1913-8.