

Plasticita myokardu

Poznámky k otázce regenerace kardiomyocytů

Myocardial plasticity

Update on the cardiomyocyte regeneration

Jan F. Voják

1. interní kardiologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Kardiologie Bulovka, s. r. o., Praha

Motto:

„Po řadu let jsem vedl spor se svým tchánem genetikem MUDr. Vladimírem Zeleným, CSc., zda se buňky myokardu obnovují během života, či zda musíme dožít s kardiomyocyty, s nimiž jsme se narodili.

Po krátkou dobu jsme v rámci výzkumného projektu transkorporární aplikovali kmenové buňky kostní dřeně nemocným po infarktu myokardu s úspěšnou primární koronární angioplastikou a těžkou poruchou funkce levé komory.“

Úvod

Je překvapivé, že v jedné z poměrně základních otázek kardiologické patofyziologie, týkající se regenerace kardiomyocytů za různých okolností, zůstává poměrně mnoho nejasností a události poslední doby učinily stávající situaci ještě méně přehlednou.

Kardiologové se dlouho, a v posledních 15 letech velmi intenzivně, zabývají otázkou, zda se u člověka během jeho života myokard obnovuje či zda v krátké době po narození je regenerace kardiomyocytů ukončena.

Problém možnosti regenerace kardiomyocytů je dlouhodobě předmětem výzkumu, a to jednak v experimentu na tkáňových kulturách a na zvířeti, a v posledních 15 letech i v klinickém výzkumu a přechodně i v praktické klinické aplikaci v rámci implantace různých typů autologních kmenových buněk izolovaných z kostní dřeně u nemocných s těžkou poruchou regionální funkce levé komory po akutním infarktu myokardu a u nemocných s těžkým srdečním selháním. V otázce plasticity myokardu (tabulka 1) je řešena regenerace kar-

diomyocytů nebo jejich jednotlivých stavebních jednotek během života; reparační schopnosti myokardu po jeho poškození zánětem, infarktem, toxickými vlivy nebo autoimunitním onemocněním, stejně jako otázky reakce srdce na tlakovou či objemovou zátěž ve smyslu hypertrofie, dilatace nebo remodelace myokardu (tabulka 1).

Výchozí experimentální práce

Klasické práce vycházející z experimentů druhé poloviny dvacátého století měly za to, že u dospělých savců schopnost regenerovat srdeční sval u modelů poranění, včetně infarktu myokardu, popálení, zmrazení či po mechanickém nebo chemickém poškození, je velmi omezená (Kikuchi K, Poss KD. Cardiac regenerative capacity and mechanisms. Annual review of cell and developmental biology 2012; 28: 719–741). Klíčovým omezením regenerace srdečního svalu je špatná schopnost kardiomyocytů dospělých savců vstoupit do buněčného cyklu a podstoupit dělení. Kardiomyocyty srdce plodu savců jsou jednojaderné a proliferativní; ale krátce po

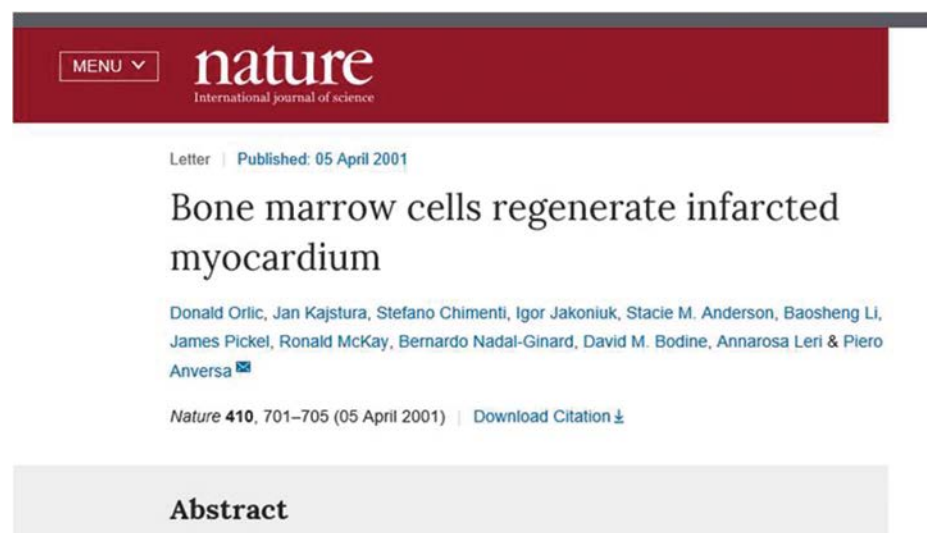
narození drtivá většina kardiomyocytární replikace DNA nastává bez dělení buněk či jader. Tak většina kardiomyocytů jsou dvoujaderné s diploidním jádrem u dospělých myších srdcí a jednojaderné s polyploidním jádrem u dospělého lidského srdce (Laflamme MA, Murry CE. Heart regeneration. Nature 2011; 473: 326–35). Po této postnatální změně kardiomyocyty vstupují jen raritně do buněčného cyklu. Jako možný mechanismus inhibice proliferace kardiomyocytů identifikoval v roce 2017 Yuka Morikawa dystrofinový glykoproteinový komplex sequestrů Yap (Morikawa Y, Heallen T, Leach J, Xiao Y, Martin JF. Dystrophin Glycoprotein Complex Sequesters Yap to Inhibit Cardiomyocyte Proliferation. Nature 2017; 547(7662): 227–231. doi: 10.1038/nature22979).

Byla zkoumána i možnost, zda poškození myokardu může ovlivnit u dospělých savců sklon k obnově kardiomyocytární regenerace. V experimentu s transgenními myši, u nichž byly označeny kardiomyocyty, však tyto označené kardiomyocyty byly nalezeny nedaleko hra-

Tab. 1. Plasticita myokardu

Plasticita myokardu	
■	regenerace kardiomyocytů
■	obnova synchronizované kontraktilní schopnosti kardiomyocytů
■	regenerace jednotlivých stavebních jednotek kardiomyocytů
■	změny ostatních buněk srdce
■	reparační schopnosti myokardu po jeho poškození
■	zánětem
■	infarktem
■	toxickými vlivy
■	autoimunitním onemocněním
■	reakce srdce
■	na tlakovou zátěž
■	objemovou zátěž
■	hypertrofie
■	dilatace
■	remodelace
■	změna funkce srdečních komor po infarktu
■	změna funkce srdečních komor u srdečního selhání

Obr. 1. Dopis Orlice, Kajstury, Leriho a Anversy redakci časopisu Nature o převratném objevu, týkajícího se možnosti regenerace kardiomyocytů



Abstract

Myocardial infarction leads to loss of tissue and impairment of cardiac performance. The remaining myocytes are unable to reconstitute the

nice zóny poškození myokardu zcela výjimečně (0,0083 %) (Kikuchi K, Poss KD, 2012).

Možnost regenerace myokardu u lidí

Kapacita pro obnovu kardiomyocytární regenerace po poškození u lidského srdce nebyla hodnocena, vzhledem k omezením experimentálního výzkumu lidských tkání.

Je samozřejmě možné, že lidé, kteří žijí mnohem déle než hlodavci, mohou mít jinou výměnu kardiomyocytů. Obrat buněk myokardu u lidí je obtížné studovat pro nemožnost použití označených nukleotidů a jiných strategií běžně používaných u pokusných zvířat. Omezené funkční obnovení po ztrátě myokardu a skutečnost, že nádory myokardu jsou krajně vzácné, ukazují

rovněž na chybějící významnou reprodukci buněk u dospělého lidského srdce (Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. Science. 2009; 324(5923): 98–102. doi: 10.1126/science.1164680).

Jonas Frisén se spolupracovníky z Oddělení celulární a molekulární biologie z Karolinska Institutet ve Stockholmu však v roce 2000 přišel s nápadem měření radioizotopu uhlíku ^{14}C , který se objevoval v rostlinách a ve tkáních živočichů v důsledku radioaktivity vzniklé z pokusných nadzemních výbuchů atomových bomb při testech během studené války (Bergmann et al., 2009). Úroveň ^{14}C v atmosféře zůstávala relativně stálá až do doby studené války, kdy nad nadzemními testy atomové bomby vznikla dramatická zvýšení.

I když pokusy byly prováděny na omezeném počtu míst, hladina zvýšení ^{14}C v atmosféře se nad celou zeměkouli rychle vyrovnala ve formě $^{14}\text{CO}_2$. Po dohodě o zákazu jaderných testů v roce 1963 se hodnoty ^{14}C exponenciálně snížily, a to jednak kvůli radioaktivnímu rozkladu (poločas je však 5 730 let), ale hlavně difúzí z atmosféry. Jak je zmíněno výše, v atmosféře ^{14}C reaguje s kyslíkem na $^{14}\text{CO}_2$, který je pak zachycen v rostlinách a nakonec začleněn do lidských tkání prostřednictvím potravního řetězce. Vzhledem k tomu, že DNA je stabilní poté, co buňka prošla posledním buněčným dělením, úroveň ^{14}C v DNA slouží jako odhad data, kdy buňka vznikla a může být použita retrospektivně k datování stáří buněk v lidském srdci (Bergmann et al., 2009).

Koncentrace ^{14}C byly měřeny v jádrech kardiomyocytů po extrakci DNA a stanovení hodnot ^{14}C pomocí hmotnostní spektrometrie, což umožnilo retrospektivní datování stáří kardiomyocytů. Byly hodnoceny kardiomyocyty od zemřelých lidí různého věku. Analyzováním dat jedinců narozených před rokem 1955 bylo možné stanovit, do jakého věku pokračuje syntéza DNA. Vzhledem k tomu, že kardiomyocyty tvoří jen asi 20 % všech buněk v lidském myokardu, není možné vyvodit z těchto údajů, zda jde o obnovu kardiomyocytů, nebo zda obrat buněk v myokardu je omezen na jiné buňky (Bergmann et al., 2009).

Matematické modelování těchto údajů naznačilo, že lidské kardiomyocyty se obnovují celý život s kapacitou, která postupně klesá od 1 % ročního obratu u osob ve věku 25 let do 0,3 % ve věku 75 let. Z těchto údajů lze tedy vyvodit, že během průměrné doby lidského života je obměněno méně než 50 % kardiomyocytů (Bergmann et al., 2009).

Na výročním sjezdu American Heart Association v roce 2000 Dr. Piero Anversa prezentoval výsledky, doplněné velkým množstvím barevných diapositivů, které změnily jedno ze základních paradigmat kardiologie – ukazovaly, jak se myši kmenové buňky mění v kardiomyocyty, dále se dělí a mohou regenerovat myokard – tato převratná skutečnost byla brzy publikována v prestižním časopisu Nature jako dopis redakci (obrázek 1) a později jako odborné sdělení (Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodelling. Nature 2002; 415: 240–243; Leri A, Kajstura J, Anversa P. Role of cardiac stem cells in cardiac pathophysiology: a paradigm shift in human myocardial biology. Circ Res. 2011; 109(8): 941–

Obr. 2. Reklamní billboard University of Miami Hospital na transkorporární implantaci kmenových buněk (12)



961. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.243154. Review. Retraction in: Circ Res. 2019 Feb 15; 124(4): e24).

Práce Piero Anversy a kolegů publikovaná v časopise Nature v roce 2002 prokazovala, že kmenové buňky z kostní dřeně dovedou v experimentu na myši regenerovat myokard postižený nekrotizací při infarktu. Tito autoři začali pracovat s hypotézou, že nezralé kmenové buňky mohou v prostředí určitého orgánu dávat vznik zralým buňkám příslušné řady. V té době spolu bez určitého závěru soupeřila dvě protichůdná mínění o růstu srdečního svalu:

- jeden názor se díval na srdce jako na statický orgán charakterizovaný velkým množstvím kardiomyocytů, které jsou přítomny od narození a přetrvávají po dobu života organismu bez další obnovy,
- opačný názor se díval na srdce jako na vysoce plastický orgán, ve kterém kompartment kardiomyocytů je schopen obnovy několikrát v průběhu života.

Později skupina Anversa, Leri, Kajstura v experimentu demonstrovala, že myokard má své vlastní primitivní nezralé kardiomyocytární kmenové buňky, tyto mohou být izolovány, množeny v Petriho miskách a aplikovány zpět do myokardu, kde vedou k reparaci po proběhlé nekrotizaci v experimentu na myších (Schoenfeld M, Frishman WH, Leri A, Kajstura J, Anversa P. The Existence of Myocardial Repair: Mechanistic Insights and Enhancements. *Cardiol Rev.* 2013; 21(3): 111–120. doi:10.1097/CRD.0b013e318289d7a9). Tyto buňky byly nazvány Cardiac Stem Cells (CSCs), identifikovány, izolovány a byly označeny jako klonogenní, „self-renewing“ a multipotentní (Schoenfeld M, Frishman WH, Leri A, Kajstura J,

Anversa P. The Existence of Myocardial Repair: Mechanistic Insights and Enhancements. *Cardiol Rev.* 2013; 21(3): 111–120. doi: 10.1097/CRD.0b013e318289d7a9; Kajstura J, Bai Y, Cappetta D, et al. Tracking chromatid segregation to identify human cardiac stem cells that regenerate extensively the infarcted myocardium. *Circ Res.* 2012 Sep 14; 111(7): 894–906. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.273649. Epub 2012 Jul 31. Erratum in: *Circ Res.* 2015 Dec 4; 117(12): e131. Retraction in: *Circ Res.* 2019 Feb 15; 124(4): e29).

Pokusy ostatních výzkumníků reprodukovat uvedené nálezy však skončily vesměs neúspěšně.

Po publikování výsledků Piero Anversy a spolupracovníků se tak objevilo několik prací, které naopak popíraly možnost, že by hematopoetické kmenové buňky měly schopnost transdiferenciace do srdečních myocytů u nemocných po infarktu myokardu.

V roce 2004 Murry se spolupracovníky z *University of Washington* publikovali práci, že hematopoetické kmenové buňky se netransdiferencují na srdeční myocyty u infarktu myokardu (Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004 Apr 8; 428(6983): 664–668. Epub 2004 Mar 21). Tito autoři poukazovali na to, že savčí srdce má velmi omezenou regenerativní kapacitu a hojí se pouze formací jizvy. Murry se spolupracovníky transplantoval u 145 normálních nebo poraněných dospělých myších srdcí hematopoetické kmenové buňky a nenašel žádné náznaky jejich přeměny na srdeční fenotyp, a proto doporučoval uvážlivost pro potvrzení názorů opravňujících k implantaci kmenových buněk u nemocných s infarktem myokardu.

Balsam ze *Stanfordu* zveřejnil v témže roce rovněž v *Nature* práci o tom, že hematopoetické kmenové buňky v ischemickém myokardu mají osud dospělých hematopoetických buněk a v žádném případě ne kardiomyocytů (Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004 Apr 8; 428(6983): 668–673. Epub 2004 Mar 21).

Možnost transdiferenciace hemopoetických buněk do neočekávaných fenotypů, jako jsou skeletální svaly, hepatocyty, epitelální buňky, neurony, endotelální buňky a kardiomyocyty v odpovědi na poškození tkáně nebo přemístění buněk do nového prostředí se nepodařilo prokázat.

Na základě prací Piero Anversy a spolupracovníků se rychle rozběhlo několik velkých klinických studií, ve kterých byly získávány kmenové buňky z kostní dřeně a vstřikovány intrakoronárně u nemocných po rekanalizaci infarktové věnčité tepny při přetrvávající poruše kinetiky levé komory (video 1–6). Celý spor se vyostřil i s ohledem na probíhající klinické využití kmenových buněk u nemocných po infarktu myokardu a se srdečním selháním. Využití kmenových buněk u nemocných po infarktu myokardu bylo rychle nabízeno i na komerčním základě (obrázek 2).

Traduje se, že ve sporu o existenci schopnosti dělení kardiomyocytů v dospělosti Dr. Murry zpochybnil závěry Dr. Anversy. Ukázal negativní výsledky dělení srdečních buněk ze své laboratoře a vedle snímků srdečních buněk podstupujících mitózu z laboratoře dr. Anversy. Pak ukázal svoje výsledky upravené ve Photoshopu a obrázky byly shodné s diapositivy dr. Anversy. Dr. Anversy se tehdy zastal jeho spolupracovník a spoluautor doktor Bernardo Nadal-Ginard: „Miluji Plácida Dominga“ řekl. „Chtěl bych zpívat jako Plácido Domingo. Zkousím to, zkouším, ale nezpívám jako Plácido Domingo“. „Vy,“ řekl doktorovi Murrymu, „nejste Plácido Domingo“. Tato vyhrčená diskuze vešla ve všeobecnou známost jako „virtuózní obrana“ (Kolata G. *The New York Times* Oct. 29, 2018).

Informace o retrakci prací skupiny Anversa, Leri, Kajstura

Rozuzlení přišlo v roce 2012, kdy J. Kajstura ze skupiny Piero Anversy opakoval výzkum se stanovením radioaktivního izotopu uhlíku, který měl potvrdit, že srdce během života může regenerovat. Spolupracoval s Brucem Buchholzem z *Lawrence Livermore National Laboratory*, který měřil úroveň izotopů uhlíku ^{14}C v 36 srdcích od lidí ve věku od 2 do 78 let. Výzkum měl rovněž posoudit účinky jaderného testování v padesátých letech minulého století, starší lidé byli vystaveni větší radioaktivitě než mladší lidé. Pokud by neprobíhala produkce nových srdečních buněk, množství radioaktivního uhlíku by mělo být vyšší v buňkách srdce starších lidí (obrázek 3). Kajstura publikoval práci s daty ukazujícími stejné koncentrace radioaktivního uhlíku u mladých i starších srdcí. Bruce Buchholz z *Lawrence Livermore National Laboratory* však zjistil, že publikovaná data Kajstury se radikálně liší od dat, která jeho laboratoř poskytla, článek musel být retrahován

Obr. 3. Retrakce článku o potvrzení regenerace kardiomyocytů u člověka pomocí radioaktivního izotopu ^{14}C z časopisu *Circulation*

RETRACTED ARTICLE

See: [Retraction Notice](#)

Circulation. 2012 Oct 9;126(15):1869-81. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.116380. Epub 2012 Sep 6.

Cardiomyogenesis in the aging and failing human heart.

Kaishura J¹, Rota M, Cappetta D, Oqorek B, Arranto C, Bai Y, Ferreira-Martins J, Signore S, Sanada F, Matsuda A, Kostly J, Caballero MV, Fiorini C, D'Alessandro DA, Michler RE, del Monte F, Hosoda T, Perrella MA, Leri A, Buchholz BA, Loscalzo J, Anversa P.

Author information

Retraction in

Notice of retraction. [*Circulation*. 2014]

Abstract

BACKGROUND: Two opposite views of cardiac growth are currently held: one views the heart as a static organ characterized by a large number of cardiomyocytes that are present at birth and live as long as the organism, and the other views the heart as a highly plastic organ in which the myocyte compartment is restored several times during the course of life.

METHODS AND RESULTS: The average age of cardiomyocytes, vascular endothelial cells (ECs), and fibroblasts and their turnover rates were measured by retrospective (^{14}C) birth dating of cells in 19 normal hearts 2 to 78 years of age and in 17 explanted failing hearts 22 to 70 years of age. We report that the human heart is characterized by a significant turnover of ventricular myocytes, ECs, and fibroblasts, physiologically and pathologically. Myocyte, EC, and fibroblast renewal is very high shortly after birth, decreases during postnatal maturation, remains relatively constant in the adult organ, and increases dramatically with age. From 20 to 78 years of age, the adult human heart entirely replaces its myocyte, EC, and fibroblast compartment ≈ 8 , ≈ 6 , and ≈ 8 times, respectively. Myocyte, EC, and fibroblast regeneration is further enhanced with chronic heart failure.

CONCLUSIONS: The human heart is a highly dynamic organ that retains a remarkable degree of plasticity throughout life and in the presence of chronic heart failure. However, the ability to regenerate cardiomyocytes, vascular ECs, and fibroblasts cannot prevent the manifestations of myocardial aging or oppose the negative effects of ischemic and idiopathic dilated cardiomyopathy.

Obr. 4. Článek v *New York Times* o rozhodnutí Harvardské Univerzity o stažení 31 vědeckých prací od roku 2001 a vypořádání s *Department of Justice* k vyrovnaní obviňujících skutečností, které vedly k nepřesné charakterizaci srdečních kmenových buněk, nepřesné nebo záměrně zavádějící práci s daty a diskrepancím a fabrikaci výzkumných dat a pořízených obrázků (Kolata G. *The New York Times* Oct. 29, 2018)



Top Stories

October 29, 2018

nytimes.com

TOP STORIES

A Harvard researcher claimed he could grow new heart cells. Now his lab is accused of fabricating data. How did it go on for so long?

Monday, October 29, 2018 9:26 PM EST

Researchers worldwide once hailed Dr. Piero Anversa's research as revolutionary, promising the seemingly impossible: a way to grow new heart cells to replace those lost in heart attacks and heart failure.

But Harvard Medical School and Brigham and Women's Hospital in Boston, his former employers, this month accused Dr. Anversa and his laboratory of extensive scientific malpractice.

(obrázek 3) a Harvardská Univerzita zahájila vyšetřování výzkumů v laboratoři Piero Anversy. Výsledky vyšetřování byly oficiálně oznámeny v září roku 2018 (Kolata G. *The New York Times* Oct. 29, 2018) (obrázek 4) s tím, že bylo odvoláno celkem 31 publikací týkajících se falšovaného výzkumu regenerace myokardu a byla pozastavena probíhající randomizovaná studie. Vědecké pochybení bylo zjištěno u 31 vědeckých prací od roku 2001, tyto články byly retrahová-

ny a *Department of Justice* – americké ministerstvo spravedlnosti – oznámilo, že *Brigham and Women's Hospital* a jiné, s Harvardskou Univerzitou spojené nemocnice, zaplatí deset milionů dolarů k vyrovnaní obviňujících skutečností, které vedly k nepřesné charakterizaci srdečních kmenových buněk, nepřesné nebo záměrně zavádějící práci s daty a diskrepancím a fabrikaci výzkumných dat a pořízených obrázků (Kolata G. *The New York Times* Oct. 29, 2018).

Aplikace kmenových buněk po infarktu myokardu

Mezitím nezávisle proběhly studie hodnotící benefit aplikace kmenových buněk po infarktu myokardu a to jak v experimentu na zvířeti (Meluzin J, Vlašin V, Groch L, et al. Intracoronary Delivery of Bone Marrow Cells to the Acutely Infarcted Myocardium. Optimization of the Delivery Technique. *Cardiology* 2009; 112: 98–106, doi: 10.1159/000141462), tak i u nemocných – většinou po prvním infarktu myokardu, po úspěšné primární koronární angioplastice a s přetrvávající poruchou funkce levé komory srdeční (video 1–6). Byl hodnocen vývoj funkce levé komory (Panovsky, R, Meluzin J, Janousek S. Cell Therapy in Patients with Left Ventricular Dysfunction Due to Myocardial Infarction ECHOCARDIOGRAPHY, Volume 25, September 2008: 888–897.) a hledány optimální postupy aplikace kmenových buněk. Studie s vyšetřením myokardu pomocí izotopů ukázala, že během 12měsíčního sledování došlo ke zlepšení ejekční frakce levé komory u nemocných po aplikaci kmenových buněk pouze u nemocných s vyšším *up-takem* sestamibi (Kaminek M, Meluzin J, Panovský R, Metelkova I, Budikova M, Richter M. Long-term results of intracoronary bone marrow cell transplantation: the potential of gated sestamibi SPECT/CT PET imaging to select patients with maximum benefit from cell therapy. *Clin Nucl Med*. 2010 Oct; 35(10): 780–787. doi: 10.1097/RLU.0b013e3181e4d9c5).

Souhrn klinických studií a konsensus skupiny expertů z roku 2017

Publikované metaanalýzy a systematické přehledy studií konstatují, že zlepšení ejekční frakce a remodelace levé komory byly pozorovány ve většině, ale ne ve všech studiích. Rozsah zlepšení kolísá mezi studii a přínos buněčné terapie kmenovými buňkami nebyl výrazný (Mei Yang, Quanfu Xu, Bo Liu, Xiu Chen, Yigang Li. Methodological exploration of bone marrow stem cell therapy in acute myocardial infarction – how to achieve greater benefit on cardiac outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Adv Clin Exp Med*. 2018; 27(1): 21–37).

Konsensus expertů z roku 2017

(Eschenhagen T, Bolli R, Braun T, Field LF, Fleischmann BK, Frisén J, Giacca M, Hare JM, Houser S, Lee RT, Marbán E, Martin JF, Molkentin JD, Murry CHE, Riley PR, Ruiz-Lozano P. Cardiomyocyte

Regeneration: A Consensus Statement. Circulation 2017; 136(7): 680–686. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029343. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029343) se oprostil od experimentů, které jsou nyní považovány za vy-fabrikované a racionálně shrnul dosavadní pro-kazatelné poznatky o možnostech regenerace kardiomyocytů za různých okolností.

Buněčná léčba oproti všem dosud proběhlým kontroverzím zůstává velice nadějnou metodou pro obnovení poškozené srdeční svaloviny a musíme učinit závěry z 15 let probíhajícího dosavadního intenzivního výzkumu i přes všechny možné slepé cesty. Je shoda, že injekce nebo infuze implantátů založených na tkáňových kulturách nejrůznějších buněčných typů může mít léčebné účinky a je všeobecný souhlas, že jsou potřeba další molekulární, translační a klinické studie, aby byla definována optimální zdrojová buněčná linie, metoda podání a základní mechanismy účinku. Je důležité zdůraznit, že toto doporučení je **konsensus je založeno na obnově kardiomyocytů a ne na buněčné terapii všeobecně. Termín obnovení kardiomyocytu je definován jako schopnost nahradit ztracené kardiomyocyty novými.** Je zcela rozdílný od obratu srdečních proteinů a/ nebo od tvorby polyploidních kardiomyocytů (to je těch, které kotví více než dva sety chromozomů). A ta vzniká dělením jádra se vznikem multinukleace nebo duplikací DNA bez jaderného dělení se vznikem polyploidních jader.

Růst srdce během embryonického a fetálního vývoje zahrnuje absolutní vzestup počtu kardiomyocytů a je způsoben diferenciací prekurzorových buněk a dělením relativně nezralých kardiomyocytů.

Hlodavčí srdce pokračuje v růstu prostřednictvím proliferace kardiomyocytů (hyperplastický růst) v časném postnatálním období. Během krátkého postnatálního okna do sedmi dnů u hlodavců poškození srdce vyvolává regenerativní odpověď, která má za následek náhradu ztracených kardiomyocytů novými. Studie ukazují, že tento typ regenerace myokardu je zprostředkován primárně proliferací kardiomyocytů. Zůstává nejasné, jestli toto

regenerativní okno je přítomno i u velkých zvířat a u lidí.

Obnova kardiomyocytů a mechanismus jejich růstu během života probíhá u savců v postnatálním srdci především jako zvětšení velikosti kardiomyocytů. U zdravého dospělého člověka a u nepoškozeného myšího srdce celkový počet kardiomyocytů zůstává esenciálně stabilní a obrat kardiomyocytů je v současné době odhadován na 0,5 až 2 % za rok u obou druhů.

Jednou z nabízejících se příležitostí experimentálně sledovat obnovu kardiomyocytů z extrakardiálních zdrojů je „sex-mismatched“ srdeční transplantace nebo „sex-mismatched“ transplantace kostní dřeně. Zatímco výsledky nejsou úplně konzistentní, studie naznačují, že hladina kardiomyocytárního chimerizmu po transplantaci je menší než 1 % a nastává alespoň částečně především fúzí buněk.

Většina studií naznačuje, že infuze, injekce nebo implantace založená na podání kmenových buněk různého původu přináší terapeutický benefit pro poškozené srdce. Buněčná léčba může ovlivnit endogenní obnovu kardiomyocytů a/nebo přímo vytvářet nové kardiomyocyty z transplantovaných buněk. Stupeň formace nových kardiomyocytů záleží na buněčném typu, na retenci a přežití podaných buněk v srdci. Retence neselektovaných buněk kostní dřeně v srdci je extrémně nízká (méně než 3 %) a je přibližně desetinásobná pro buňky typu CD34+ jednu hodinu po podání infuze. Může být vyšší po injekci buněk do myokardu než po podání infuze a současná injekce kotvícího materiálu a použití tkáňového inženýrství může stupeň retence ještě zvýšit.

Stupeň zachycení a diferenciaci transplantovaných buněk v kardiomyocyty nesouvisí s funkčním zlepšením srdeční funkce, což dává podnět k úvaze, že se mohou účastnit i další mechanismy. Mechanismus zlepšení srdeční funkce po experimentální transplantaci kmenových buněk zůstává nejasný a může zahrnovat parakrinní působení, exosomální efekty na existující srdeční tkáň, stejně jako na buňkách závislé posttranslační proteinové modifikace. Transplantace kardiomyocytů odvozených z pluripotentních

kmenových buněk může vytvořit nový myokard, který se stahuje synchronně s myokardem příjemce a může přispět ke zlepšení systolické funkce, ačkoliv stupeň tohoto příspěvku zatím nebyl přesně definován. Převažující důkazy svědčí pro to, že nefrakcionované buňky kostní dřeně se nestanou kardiomyocyty, pokud jsou podány injekčně nebo infuzí do srdce.

Pluripotentní kmenové buňky.

Pluripotentní kmenové buňky (embryonální kmenové buňky – ESC) a/nebo indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC) proliferují do nediferenciováných stavů bez omezení a po vystavení specifickým podmínkám tkáňové kultury se mohou diferencovat téměř do všech buněčných typů včetně kardiomyocytů. Intenzita této diferenciaci přesahuje 80 %. Nediferenciované pluripotentní kmenové buňky mohou tvořit teratomy, pokud jsou podány do srdce imuno-kompromitovaných organismů.

Tento konsensus rovněž navrhuje další směry výzkumu (Thomas Eschenhagen, Roberto Bolli, Thomas Braun et al., 2017):

- identifikovat mechanismy endogenního obnovení kardiomyocytů u savců jako cíl léčby včetně mechanismu proliferace kardiomyocytů a charakterizace populací proliferovaných kardiomyocytů,
- definovat relativní roli diferenciaci progenitorových buněk versus proliferace kardiomyocytů v regeneraci poškozeného myokardu,
- objasnit mechanismus benefitu vycházejícího z buněčné léčby včetně kontribuce pro nové kardiomyocyty, angiogenezi, protizánětlivé účinky, antifibrotické účinky, antiapoptotické účinky a jiné efekty,
- definovat parakrinní mechanismy a imunologickou odpověď příjemce, které vytvářejí mnoho příznivých účinků buněčné terapie,
- zlepšit efektivitu buněčné léčby vzhledem ke způsobu podání, lepšího usídlení a diferenciaci,
- definovat poměr rizika a přínosu geneticky modifikovaných kmenových buněk, pluripotentních kmenových buněk a kombinační léčby.



videozáznamy ke sdělení na www.iakardiologie.cz