

Buněčná léčba ischemické choroby srdeční: přehled poznatků, limitace, perspektivy*

Část první. Úvod, způsoby transplantace buněk do myokardu, kosterní myoblasty

Martin Pěnička, Petr Widimský, Tomasz Siminiak*, Otto Lang**, Karol Čurila, Kateřina Hesová

III. interní-kardiologická klinika, Kardiocentrum, **Klinika nukleární medicíny, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika, *Kardiologická klinika, Lékařská fakulta, Krajská nemocnice, Poznaň, Polsko

Pěnička M, Widimský P, Siminiak T*, Lang O**, Čurila K, Hesová K (III. interní-kardiologická klinika, Kardiocentrum, **Klinika nukleární medicíny, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika, *Kardiologická klinika, Lékařská fakulta, Krajská nemocnice, Poznaň, Polsko). **Buněčná léčba ischemické choroby srdeční: přehled poznatků, limitace, perspektivy. Část první. Úvod, způsoby transplantace buněk do myokardu, kosterní myoblasty.** *Cor Vasa* 2006;48(5):186–190.

Tento přehledový článek pojednává o současném pohledu na buněčnou léčbu ischemické choroby srdeční a možnostech regenerace myokardu. V článku shrnujeme poznatky z experimentálních a pilotních klinických studií, podrobně rozebíráme limitace buněčné léčby a nastiňujeme její pravděpodobný další vývoj. Příspěvek je rozdělen do dvou částí. První část je věnována úvodu do problematiky, způsobům transplantace buněk do myokardu a kosterním myoblastům. Druhá část pojednává o kmenových buňkách a perspektivách buněčné léčby.

Klíčová slova: Regenerace myokardu – Kmenové buňky – Myoblasty – Ischemická choroba srdeční

Pěnička M, Widimský P, Siminiak T*, Lang O**, Čurila K, Hesová K (Department of Medicine-Cardiology III, Kardiocentrum, **Department of Nuclear Medicine, Královské Vinohrady University Hospital and Charles University Medical School 3, Prague, Czech Republic, *Dept Cardiology, University School of Medical Sciences, District Hospital, Poznan, Poland). **Cellular therapy of coronary heart disease: a summary of state of the art, limitations and prospects. Part One. Introduction, techniques of myocardial cell transplantation, skeletal myoblasts.** *Cor Vasa* 2006;48(5):186–190.

The review article examines the state of the art in cellular therapy of coronary heart disease and options of myocardial regeneration. The article summarizes data from experimental and pilot clinical studies, discusses in detail the limitations of cellular therapy, and provides an outline of future developments. The paper is divided into two parts. Part one provides background information and addresses the issue of cell transplantation into the myocardium and skeletal myoblasts. Part two covers the issue of stem cells and prospects of cellular therapy.

Key words: Myocardial regeneration – Stem cells – Myoblasts – Coronary heart disease

Adresa: MUDr. Martin Pěnička, Ph.D., III. interní-kardiologická klinika, Kardiocentrum, FN KV a 3. LF UK, Šrobárova 50, 100 34 Praha 10, Česká republika, e-mail: penicka@fnkv.cz

Akutní infarkt myokardu s následnou remodelací levé komory srdeční (LKS) je hlavní příčinou městnavého srdečního selhání a úmrtí v rozvinutých zemích.⁽¹⁾ Souvisí to jednak se stárnutím populace, jednak se zlepšenou péčí o pacienty s akutními koronárními syndromy. Mechanismy, které spojují infarkt myokardu se špatnou prognózou, jsou všeobecně známy a dobře popsány.^(2–3) akutní ischemie myokardu – infarkt – ztráta kontraktilní masy LKS – dilatace LKS – srdeční selhání – špatná dlouhodobá prognóza. Nepříznivá remodelace LKS je v současné

době nalézána až u 30 % pacientů léčených primární perkutánní koronární intervencí (PCI), přestože infarktová tepna zůstane trvale průchodná.⁽⁴⁾ Tyto výsledky naznačují, že samotná revaskularizace často nezabrání rozvoji dilatace LKS se všemi jejími následky. Kausální léčba infarktu myokardu by rovněž měla nahradit ztrátu kardiomyocytů.

V současnosti je velice intenzivně studována možnost záchrany ohroženého myokardu pomocí transplantace různých typů autologních buněk u akutních nebo chronických forem ischemické choroby srdeční.

*Tato práce byla podpořena grantem Evropské komise č. LSSM-CT-2004-511992 a Výzkumným záměrem Univerzity Karlovy v Praze č. MSM 00 21620817, uděleným Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

Tato metoda sleduje tři hlavní cíle: neovaskularizaci, náhradu zaniklých kardiomyocytů a navození reverzní remodelace LKS.^(5,6) Preklinické studie prokázaly u několika typů buněk potenciál „opravit“ akutně nebo chronicky postižený myokard. Jedná se o embryonální kmenové buňky,^(7,8) kosterní myoblasty,^(9–12) kmenové buňky kostní dřeně^(13–22) a rezidentní srdeční kmenové buňky.^(23–27) Na základě nadějných výsledků experimentálních studií byly provedeny pilotní klinické studie. Nejvíce dostupných údajů je pro kosterní myoblasty a kmenové buňky (KB) kostní dřeně. Cílem tohoto přehledu je seznámit čtenáře se současnými poznatky o buněčné léčbě poškozeného myokardu se zaměřením na kosterní myoblasty a KB kostní dřeně.

ZPŮSOBY TRANSPLANTACE BUNĚK DO MYOKARDU

Transplantaci buněk do postiženého myokardu lze provést několika způsoby: intrakoronární injekce,⁽²⁸⁾ přímá injekce do myokardu (chirurgicky, perkutánně s použitím speciálního katetru z dutiny LKS nebo přes koronární sinus)^(29–31) a mobilizace z kostní dřeně pomocí růstových faktorů.^(32,33)

Intrakoronární injekce je bezpečná, jednoduchá, a proto ve studiích s KB nejčastěji používaná. Lze ji provést jak u akutního infarktu myokardu, tak u chronických forem ischemické choroby srdeční.^(28,30) Intrakoronární injekce je vhodná zejména pro transplantaci KB a cirkulujících progenitorových buněk. Intrakoronárně nelze podávat kosterní myoblasty, které jsou příliš velké a mohly by ucpat kapiláry s rozvojem infarktu myokardu. Koncepce intrakoronární transplantace KB je založena na předpokladu záchytu buněk v infarktovém ložisku během průchodu koronární tepnou. Experimentální i klinické studie potvrdily extravazaci KB do infarktového ložiska po intrakoronárním podání.^(34,35) Migrace KB do infarktu je regulována chemokiny a adhezními molekulami, které jsou indukovány ischemickým poškozením. Faktor 1 ze stromálních buněk (SDF-1) a β 2 integriny jsou klíčové pro „homing“ KB do myokardu.^(36–38) Transplantace KB do povodí infarktové tepny se provádí v odstupu 2–10 dnů po akutním infarktu myokardu. Používá se angioplastický balonek s centrálním lumen (systém „over-the-wire“). Balonek se nejprve zavede do stentu v infarktové tepně, kde se několikrát nafoukne (4–6krát) na dobu 3 minut. Při každé okluzi tepny se aplikuje objem 4–6 ml suspenze kmenových buněk (celkem obvykle 20–30 ml) centrálním lumen katetru do infarktové tepny distálně od nafouknutého balonku. Tento postup zajistí prodloužený kontakt KB s endotelem kapilár. Po každé okluzi se balonek vyfoukne na 3 minuty k zajištění reperfuze.

Dalším způsobem transplantace buněk do myokardu je přímá injekce do dysfunkčních segmentů myokardu v průběhu koronárního bypassu, katetrizačně z dutiny LKS nebo přes koronární sinus (*obrázek 1*).^(29–31) Tuto techniku lze použít pro transplantaci KB i kosterních myoblastů. Důležitou podmínkou efektivního zachycení implantovaných buněk je přítomnost viabilní tkáně v místě injekce, neboť v jizevnaté tkáni s nedostatkem kyslíku a nutrientů buňky vesměs umírají.⁽³⁹⁾ Proto se při injekci z dutiny LKS



Obr. 1 Injekční katetr NOGA Myostar k perkutánní implantaci buněk z dutiny levé komory srdeční; obvykle se v jednom sezení aplikuje 10–20 injekcí po 2 ml

používá simultánní mapování elektromechanických vlastností tkáně speciálním katetrem, které umožní transplantaci KB do viabilního, byť dysfunkčního myokardu.^(30,40,41) Významnou limitací této metody je únik podaných buněk otvorem po injekci zpět do dutiny LKS nebo, v případě chirurgické cesty, do perikardu. Injekci buněk do myokardu nelze použít u akutního infarktu pro riziko perforace infarzované tkáně.

Poslední možností je mobilizace KB z kostní dřeně pomocí G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) u akutního infarktu myokardu. Podává se šest subkutánních injekcí G-CSF (10 μ g/kg tělesné váhy) během 6 dnů po infarktu. Tento postup vede k dvacetinásobnému vzestupu koncentrací KB v periferní krvi. Vyplavené KB jsou vychytávány v infarktovém ložisku. Přes eleganci tohoto neinvazivního postupu jsou publikované výsledky kontroverzní. Studie MAGIC⁽³²⁾ musela být zastavena předčasně pro významný nárůst restenóz ve stentech u 7 z 10 nemocných po akutním infarktu myokardu. Jiná randomizovaná studie FIRSTLINE-AMI⁽³³⁾ u 30 pacientů s akutním infarktem myokardu zvýšený výskyt restenóz nepozorovala. Navíc, u skupiny léčené G-CSF došlo k vzestupu ejekční frakce a stabilizaci enddiastolického rozměru LKS v průběhu sledování ve srovnání s kontrolní skupinou.

Shrnutí: Perkutánní přístup je v současnosti preferovaný. Intrakoronární cesta se používá nejvíce u nemocných s akutním infarktem myokardu, zatímco přímá injekce do myokardu u chronických forem ICHS.

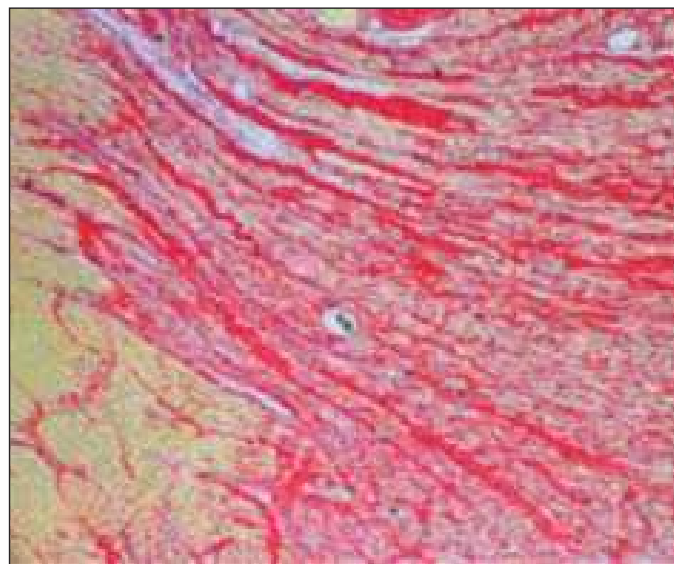
KOSTERNÍ MYOBLASTY

Kosterní myoblasty (satelitní buňky) jsou prekurzory kosterních svalů. Za normálních okolností jsou v neaktivním stavu uloženy pod bazální membránou svalových vláken. Při poškození kosterního svalu se myoblasty aktivují, dělí se, diferencují a regenerují poškozený kosterní sval. Kosterní myoblasty jsou velice odolné k ischemii a apoptóze, protože za normálních okolností je kapilární síť kosterního svalstva chudá. Velká odolnost myoblastů je důležitá pro jejich přežívání v ischemicko-fibrotické tkáni postiženého myokardu. Kosterní myoblasty se získávají biopsií ze stehenního svalu (10–15 g tkáně) v místní anestezii. Poté se buňky kultivují 2 až 3 týdny v médiu s telecím fetálním nebo autologním sérem, četnými růstovými

faktory a hormony. Tímto způsobem lze získat přibližně 500–1 000 milionů buněk charakterizovaných povrchovým antigenem CD56. Myoblasty se transplantují do myokardu přímou injekcí (viz výše).

PREKLINICKÉ STUDIE

Výsledky více než 30 experimentálních studií primárně zahrnujících modely infarktu myokardu byly podrobně zpracovány v několika přehledných článcích.^(42,43) Výsledky jsou konzistentní a prokazují diferenciaci implantovaných myoblastů do vláken kosterního svalu a chybění funkčního spojení (coupling)



Obr. 2 Ovčí model infarktu myokardu po 4 měsících od transplantace myoblastů; původně kulovité myoblasty se diferencovaly do typických mnohoaderných vláken kosterního svalu

s okolními kardiomyocyty (obrázek 2). Kosterní myoblasty vedou ke zlepšení regionální a globální funkce LKS, a to i přesto, že se v myokardu uchytí a přežívá pouze 1–10 % transplantovaných buněk.⁽⁴⁴⁾ Funkční účinky jsou proporcionální počtu implantovaných buněk.

MECHANISMUS ÚČINKU

Jak již bylo řečeno, myoblasty se nediferencují do kardiomyocytů, nýbrž tvoří okrsky kosterního svalu.⁽⁹⁾ Tyto ostrůvky působí jako pasivní elastická opora, která zabraňuje expanzi infarktového ložiska a dilataci LKS. Svalová vlákna se však i aktivně stahují, a tak přispívají ke zlepšení regionální i globální kontraktilní funkce. Jelikož kosterní sval netvoří connexin 43, hlavní protein funkčních spojení (gap junction) kardiomyocytů, nemůže dojít k elektrické a mechanické integraci s okolním myokardem.^(45,46) Přesto je pozorována aktivní kontrakce kosterních svalových vláken. Mechanismus je zřejmě pasivní napnutí ostrůvku kosterního svalu stahem okolního myokardu s následnou reflexní kontrakcí ostrůvku. Vlákna kosterního svalu rovněž tvoří řadu cytokinů a parakrinních faktorů, které inhibují metaloproteinázy, brání apoptóze přežívajících kardiomyocytů a atrahují cirkulující KB s navozením neovaskula-

rizace.^(46,47) Mechanismy účinků transplantovaných myoblastů jsou tudíž komplexní.

KLINICKÉ STUDIE

První zmínka o použití kosterních myoblastů v humánní medicíně se objevila teprve v roce 2001.⁽¹⁰⁾ Kosterní myoblasty byly transplantovány do jizvy na spodní stěně LKS v průběhu koronárního bypassu. Po 5 měsících došlo k obnovení kontraktilní funkce a viability v injikované jizevnaté tkáni. Také další studie používající chirurgický přístup^(46,48–50) potvrdily zlepšení kontrakce v segmentech, kam byly transplantovány myoblasty. Hlavní námitkou je, že zmíněné funkční účinky mohou být navozeny současnou revaskularizací a nikoliv implantovanými buňkami. Nicméně, ke zlepšení kontrakce došlo i při použití perkutánní transplantace myoblastů katetrizačně z dutiny LKS, kdy žádná revaskularizace provedena nebyla.^(11,30) Ani jedna z těchto studií nebyla randomizovaná. Nyní netrpělivě očekáváme výsledky multicentrické randomizované placebem kontrolované studie MAGIC, koordinované průkopníkem této metody P. Menache. Zajímavou práci publikoval Pagani,⁽⁴⁶⁾ který implantoval myoblasty u pacientů čekajících na transplantaci srdce. Histologická analýza nativního srdce potvrdila u člověka diferenciaci myoblastů do funkčních vláken kosterního svalu. Přežilo méně než 1 % transplantovaných buněk. Viabilní myoblasty byly v myokardu přítomny i po 191 dnech od implantace. Tato studie prokázala, že myoblasty mohou dlouhodobě přežívat a fungovat v postiženém lidském myokardu. Typický pacient pro transplantaci kosterních myoblastů je nemocný s chronickou ischemickou chorobou srdeční, ejekční frakcí pod 35 %, přítomností akinetické postinfarktové jizvy, ale i ischemické viabilní tkáně a indikací pro koronární bypass. Další skupinou jsou nemocní s nemožností revaskularizace (nadměrné operační riziko, technická neschůdnost atd.), u kterých se myoblasty implantují z dutiny LKS.

BEZPEČNOST

Velkým problémem spojeným s transplantací kosterních myoblastů je indukce maligních komorových arytmií, které jsou pozorovány zhruba u 14 % pacientů.^(11,48–51) Po smutných zkušenostech z pilotních studií, kdy několik prvních pacientů zemřelo náhlou smrtí, je v některých centrech prováděna současná implantace defibrilátoru podle kritérií studie MADIT II. Tento postup však není všeobecně přijímán. Jiní autoři^(31,52) podávají profylakticky antiarytmikum amiodaron po dobu tří měsíců po transplantaci a komorové arytmie nepozorují. Maligní arytmie vznikají typicky v prvním měsíci po injekci myoblastů a pak vymizí. Příčina arytmií je jednak elektrická, jednak zánětlivá. Je třeba si uvědomit, že po transplantaci jsou vedle sebe v myokardu dvě tkáně, které jsou elektricky nesourodé a nejsou funkčně spojené (obrázek 2). Vzniká zde tedy substrát pro tachykardie typu reentry. Navíc, v okolí injekčního vpichu se rozvíjí zánětlivá reakce, která může spouštět maligní arytmie. Zánětlivá reakce je větší, pokud se myoblasty kultivují v telecím fetálním séru. Proto se doporučuje používat výlučně autologní sérum.

LITERATURA

1. Cohn JN, Bristow MR, Chien KR, et al. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Special Emphasis Panel on Heart Failure Research. *Circulation* 1997; 95:766–70.
2. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. *Circulation* 1990;81:1161–72.
3. St John Sutton M, Pfeffer MA, Moya L, et al. for the SAVE Investigators. Quantitative two-dimensional echocardiographic measurements are major predictors of adverse cardiovascular events after acute myocardial infarction. *Circulation* 1994;89:68–75.
4. Bolognese L, Neskovic AN, Parodi G, et al. Left ventricular remodeling after primary coronary angioplasty: Patterns of left ventricular dilation and long-term prognostic implications. *Circulation* 2002;106:2351–7.
5. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res* 2002;91:1092–102.
6. Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells to heart. *Circ Res* 2005;96:151–63.
7. Mummery C, Ward-van Oostwaard D, Doevendans P, et al. Differentiation of human embryonic stem cells to cardiomyocytes: role of coculture with visceral endoderm-like cells. *Circulation* 2003;107:2733–40.
8. Lev S, Kehat I, Gepstein L. Differentiation pathways in human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. *Ann NY Acad Sci* 2005;1047:50–65.
9. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998;4: 929–33.
10. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;357:279–80.
11. Smits PC, Van Geuns RJ, Poldermans D, et al. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:2063–9.
12. Winitzky SO, Gopal TV, Hassanzadeh S, et al. Adult murine skeletal muscle contains cells that can differentiate into beating cardiomyocytes in vitro. *Plos Biology* 2005;3:e87.
13. 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. *Nat Med* 2001;7:430–6.
14. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701–5.
15. Tomita S, Li R-K, Weisel RD, Micjke DAG, Jia ZQ. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation* 1999;100 (Suppl): II247–II256.
16. 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;123:1132–40.
17. Badorff CC, Brandes RP, Popp R, et al. Transdifferentiation of blood-derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes. *Circulation* 2003;107:1024–32.
18. Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001;107:1395–402.
19. 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.
20. Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, et al. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *Ann Thorac Surg* 2002;73:1919–25.
21. Silva GV, Litovsky S, Assad JA, et al. Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model. *Circulation* 2005;111:150–6.
22. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 2002;105:93–8.
23. Dawn B, Stein AB, Urbanek K, et al. Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate infarcted myocardium, and improve cardiac function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:3766–71.
24. Urbanek K, Torella D, Sheikh F, et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:8692–7.
25. Linke A, Muller P, Nurzynska D, et al. Stem cells in the dog heart are self-renewing, clonogenic, and multipotent and regenerate infarcted myocardium, improving cardiac function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102: 8966–71.
26. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev* 2005;85:1373–416.
27. Messina E, De Angelis L, Frati G, et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res* 2004;95:911–21.
28. 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.
29. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003;361:45–6.
30. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, et al. Transcatheter, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart disease. *Circulation* 2003;107:2294–302.
31. Siminiak T, Fiszler D, Jerzykowska O, et al. Percutaneous trans-coronary-venous transplantation of autologous skeletal myoblasts in the treatment of post-infarction myocardial contractility impairment: the POZNAN trial. *Eur Heart J* 2005;26:1188–95.
32. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilized with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomized clinical trial. *Lancet* 2004;363:751–6.
33. Ince H, Petzsch M, Kleine DH, et al. Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction. Final 1-year results of the Front-Integrated Revascularization and Stem cell Liberation IN Evolving Acute Myocardial Infarction by granulocyte colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI) trial. *Circulation* 2005;112 (Suppl I):I-73–I-80.
34. Saito T, Kuang JQ, Lin CC, Chiu RC. Transcatheter implantation of bone marrow stromal cells ameliorates cardiac function after myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:114–23.
35. Aicher A, Brenner W, Zuhayra M, et al. Assessment of the tissue distribution of transplanted human endothelial progenitor cells by radioactive labeling. *Circulation* 2003;107:2134–9.
36. Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through hif-1 induction of sdf-1. *Nat Med* 2004;10:858–64.
37. Chavakis E, Aicher A, Heeschen C, et al. Role of b2-integrins for homing and neovascularization capacity of endothelial progenitor cells. *J Exp Med* 2005;201:63–72.
38. De Falco E, Porcelli D, Torella AR, et al. Sdf-1 involvement in endothelial phenotype and ischemia-induced

- recruitment of bone marrow progenitor cells. *Blood* 2004;104:3472–82.
39. Beauchamp JR, Morgan JE, Pagel CN, Partridge TA. Dynamics of myoblast transplantation reveal a discrete minority of precursors with stem cell-like properties as the myogenic source. *J Cell Biol* 1999;144:1113–22.
 40. Tse HF, Kwong YM, Chan JKF, et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003;361:47–9.
 41. Fuchs S, Satler L, Kornowski R, et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1721–4.
 42. Dowell JD, Rubart M, Pasumarthi KBS, et al. Myocyte and myogenic stem cell transplantation in the heart. *Cardiovasc Res* 2003;58:333–47.
 43. Menache P. Skeletal muscle satellite cells transplantation. *Cardiovasc Res* 2003;58:3517.
 44. Bouchentouf M, Benabdallah BF, Tremblay JP. Myoblast survival enhancement and transplantation success improvement by heat-shock treatment in mdx mice. *Transplantation* 2004;77:1349–56.
 45. Ghostine S, Carrion C, Souza LC, et al. Long-term efficacy of myoblast transplantation on regional structure and function after myocardial infarction. *Circulation* 2002;106 (12 Suppl 1):I131–I136.
 46. Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A, et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemiadamaged myocardium in humans. Histological analysis of cell survival and differentiation. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:879–88.
 47. Menache P. Cell transplantation in myocardium. *Ann Thorac Surg* 2003;75:S20–S8.
 48. Siminiak T, Kalawski R, Fiszer D, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for the treatment of postinfarction myocardial injury: phase I clinical study with 12 months of follow-up. *Am Heart J* 2004;148:531–7.
 49. Menache P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1078–83.
 50. Dib N, Michler RE, Pagani FD, et al. Safety and feasibility of autologous myoblast transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy: four-year follow-up. *Circulation* 2005;112:1748–55.
 51. Serruys PW. Pilotní zkušenosti s perkutánní transplantací kosterních myoblastů u chronické ischemické choroby srdeční. Přednáška na Workshop on Bone Marrow Stem Cells. Capri, Italy 2003.
 52. Herreros J, Prósper F, Perez A, et al. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003;24:2012–20.

Došlo do redakce 8. 1. 2006

Přijato k otištění 23. 2. 2006