

***Bunková terapia kritickej
končatinovej ischémie***

Talapková Renáta, Šinák I., Ivanko M.

***Oddelenie cievnej chirurgie
Univerzitná nemocnica Martin***

Martin

Kritická končatinová ischemia

- *Úspešná chirurgická a/alebo endovaskulárna revaskularizácia zachraňuje končatinu, zmierňuje bolesti a zlepšuje kvalitu života*
- *Ale často nie je možná pre nerekonštruovateľné arteriálne pomery*
- *Napriek technickému pokroku zostáva vysoký počet pacientov s CLI, u ktorých je amputácia jedinou možnosťou*

Prvé pilotné štúdie s terapeutickou angiogenézou u pacientov s ischemickou končatinou sa datujú 16 rokov dozadu

Tateishi-Yuyama E, et al.:

Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study Investigators. Lancet 2002; 360: 427– 435

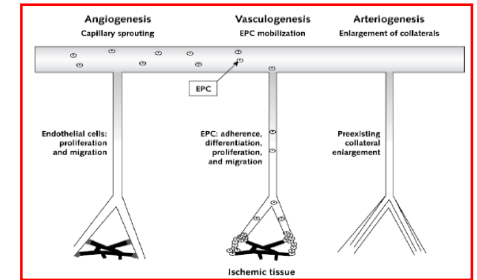
Articles

Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T., Imaizumi T. Lancet 2002;360:427-35.

Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial

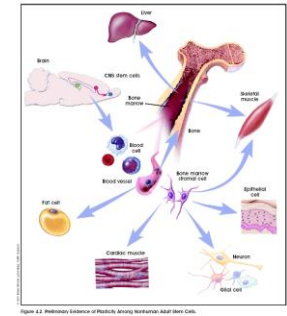
*Eriko Tateishi-Yuyama, Hiroaki Matsubara, Toyooki Murohara, Uichi Ikeda, Satoshi Shintani, Hiroya Masaki, Katsuya Amano, Yuji Kishimoto, Kohji Yoshimoto, Hidetoshi Akashi, Kazuyuki Shimada, Toshiji Iwasaka, Tsutomu Imaizumi, for the Therapeutic Angiogenesis using Cell Transplantation (TACT) Study Investigators**

Angiogenéza



- *je fyziologický proces nevyhnutný na hojenie rán. Nastupuje prakticky ihneď po vzniku poranenia*
- *Je iniciovaný mnohými molekulárnymi signálmi (faktory hemostázy, zápalu, cytokíny, rastové faktory a interakcie medzi bunkovými matrix)*
- *Nové kapiláry proliferujú kaskádou biologických procesov za účelom vytvorenia granulačného tkaniva*

Angiogenéza



- *Tento proces trvá až do zhojenia rany, kedy je angiogenéza zastavená zníženou hladinou rastových faktorov, ústupom zápalu, stabilizáciou bunkovej matrix a endogénnymi inhibítormi angiogenézy.*
- *Kmeňové bunky získané z dospelej kostnej drene významnou mierou prispievajú k angiogenéze. Tieto bunky sú známe ako endotelové progenitorové bunky.*

Projekt na pracovisku cievnej chirurgie UN Martin

- *Terapeutická angiogenéza u kritickej ischémie dolných končatín prostredníctvom autológnej transplantácie krvotvorných buniek*
- *Grant MZ SR*
- *Od novembra 2007*

Ciele

- **Hlavný cieľ**

*zhodnotiť **účinnosť** terapeutickej angiogenézy u pacientov s kritickou končatinovou ischémiou - záchrana končatiny pred amputáciou s využitím progenitorových buniek autológnej kostnej drene*

- **Vedľajší cieľ**

*zhodnotiť **bezpečnosť** danej liečebnej modality (výskyt AP, CMP, akútnej arteriálnej/venózne trombózy DK, infekčných komplikácií na DK...)*

Metodika

. výber pacientov

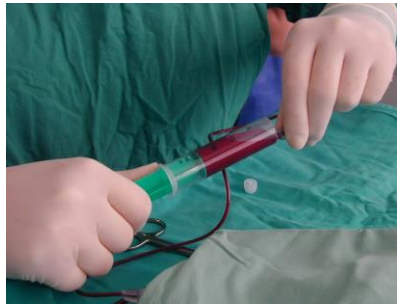
PAO III. a IV. št. – kandidáti na amputáciu

- 1. bez možnosti chirurgickej / endovaskulárnej revaskularizácie***
- 2. s uzáverom predchádzajúcej revaskularizácie***

. exklúzne kritériá

- 1. Ťažký mozgový deficit, imobilita, demencia***
- 2. Závažná komorbidita, limitovaná dĺžka života (<6 mes.)***
- 3. Stav vyžadujúci amputáciu pre záchranu života pacienta***
- 4. Choroby kostnej drene (MPS, lymfóm, leukémia...)***
- 5. Trofické lézie s aktívnym (postupujúcim) zápalom***
- 6. Diabetická noha bez známk ischemie***
- 7. Chronické obličkové zlyhávanie v dialyzačnom programe***
- 8. Neoplastický proces v anamnéze pacienta za posledných 5 rokov***

Postup

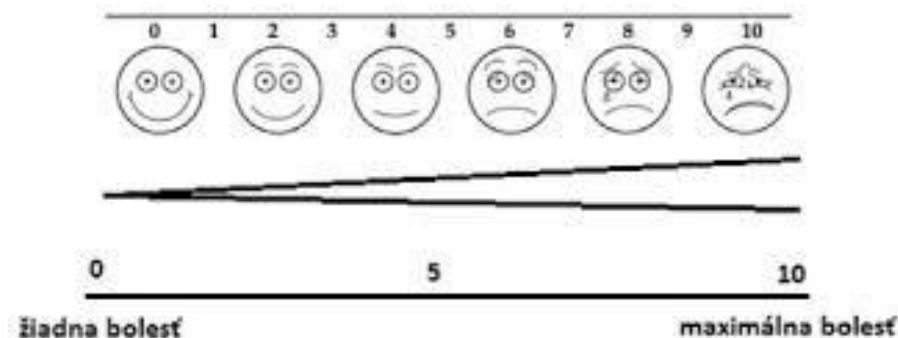


Separácia buniek (CS3000, Baxter)



End points

- Hard
- Vysoká amputácia do 1 roka od podania
- Soft
- ABI, klaudikačná vzdialenosť, úľava od bolestí, komplikácie...



November 2007 – november 2017, t.j. 10 rokov

- 87 autológnych transplantácií kmeňových buniek u 73 pacientov (58 M/ 15 Ž)
- vek pacientov 35-86 rokov
- z toho opakovane u 12 pacientov (s odstupom minimálne 6 mesiacov od predchádzajúceho podania)
 - u 10 pacientov 2x
 - u 2 pacientov 3x

Charakteristika súboru

Počet	% z počtu pp.
Fajčiar/ stopfajčiar	41%
DM	37%
Morbus Burger	13%
Systémové ochorenie	3%

Výsledky

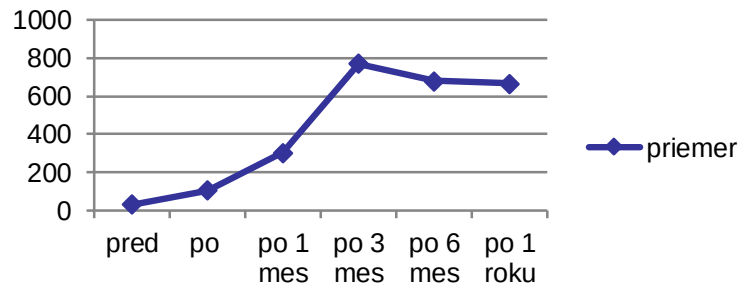
	N.	% z počtu podaní
končatina bez vysokej amputácie do 1 roku	57	76 %
vysoká amputácia do 1 roku	21	24 %
exitus	2	2 %
komplikácie	0	0

Štatisticky významné zlepšenie

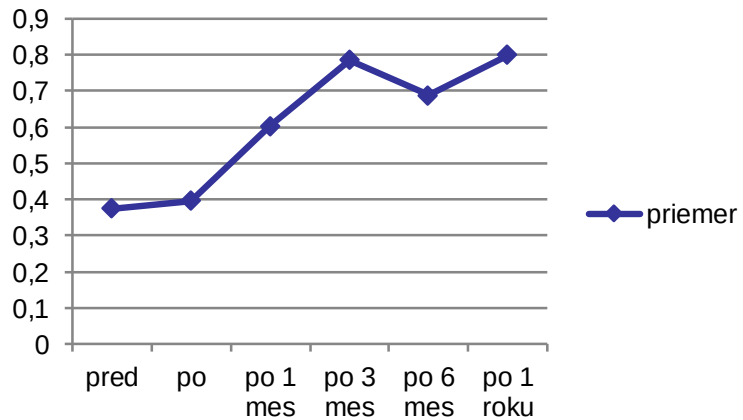
- členkovo- ramenný index
- klaudikačná vzdialenosť
- redukcia bolesti
- „not due to the placebo effect, as no changes in ankle blood pressure or ankle-brachial index were found in the contralateral legs of the subjects.“

Výsledky

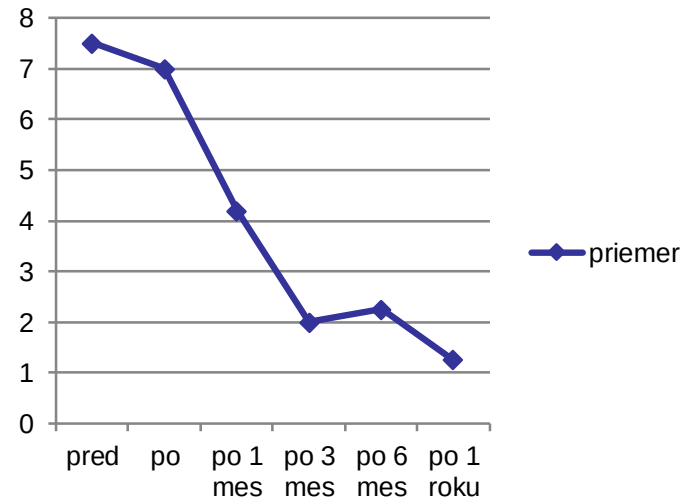
klaudikačná vzdialenosť (m)



ABI



intenzita bolesti



Patient 11





Patient 15



Pacient 20 a 29



Patient 27

Patient 75

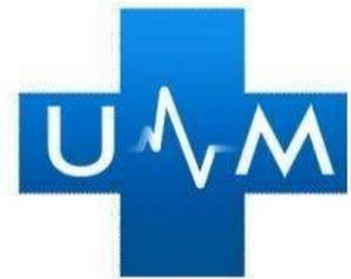


Osud pacientov s CLI

- *bez liečby (podľa TASC II)*
 - *do 6 mesiacov*
 - *približne 40 % stratí končatinu*
 - *asi 20 % zomrie*
- *v našom súbore*
 - *do roka od podania 24 % vysokých amputácií*
 - *2% úmrtie*

Doterajšie skúsenosti s terapeutickou angiogenezou

- *Dobrá tolerancia zo strany pacienta*
- *Bezprostredný analgetický účinok*
- *Zlepšené hojenie defektov*
- *Zlepšenie pohybovej aktivity*
- *Nepozorované komplikácie*



Dá sa diskutovať...

- the factors potentially influencing the clinical improvement

1. spontaneous improvement

(is more than rare)

2. placebo effect

(but wound healing, ABI and pletysmography are parameters objective)

3. medicament therapy

(medicament therapy was not changed periprocedurally)

Publikácie nášho tímu



- Talapková R, Hudeček J, Šinák I, Kubisz P, Laca Ľ, Hlinka Ľ, Zeleňák K: Záchrana ischemickej končatiny terapeutickou angiogenezou.
Vnitřní lékařství, marec 2009, roč. 55 (3), s. 179-183
- Talapková R, Hudeček J, Hlinka Ľ, Šinák I, Patkaňová L, Zeleňák K, Kubisz P, Laca Ľ: Využitie autológnej transplantácie kmeňových buniek pri záchrane ischemickej končatiny.
Vaskulárna medicína, 2010, roč. 1(2)
- Peter Chudý, Daniela Chudá, Jan Hudeček, Jana Fedorová, Igor Sinák, Luboš Hlinka, Renáta Talapková, Ludovít Laca, Peter Kubisz
Therapeutic angiogenesis for the critical limb ischemia decreases platelet activation. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2013 Dec 2
Platelets Mar 27 (Impact Factor: 2.24). 03/2013
- Chudý P, Chudá D, Ivanková J, Sinák I, Talapková R, Staško J, Kubisz P.
Therapeutic angiogenesis improves fibrinolytic imbalance in patients with critical limb ischemia.
Blood Coagul Fibrinolysis. 2013 Dec 2.
- Viacero prednášok na slovenských a českých fórach cievnych chirurgov, angiológov, hematológov, transplantačných a spoločností pre hojenie rán ...

Pozitíva

- **Prospektívna štúdia**
- Vlastný protokol vychádzajúci z pilotnej práce japonských autorov, ktorí odštartovali používanie KB v liečbe CLI
- **Prvé pracovisko na Slovensku**
- Follow-up 1 mesiac až 10 rokov
- **Opakované podania**
- Tesná medziodborová spolupráca – cievny chirurg, hematológ, internista, intervenčný rádiológ...
- **Vlastný spôsob spracovania a aplikácie koncentrátu KB-overená viabilita KB**



Charakteristika suspenzie buniek

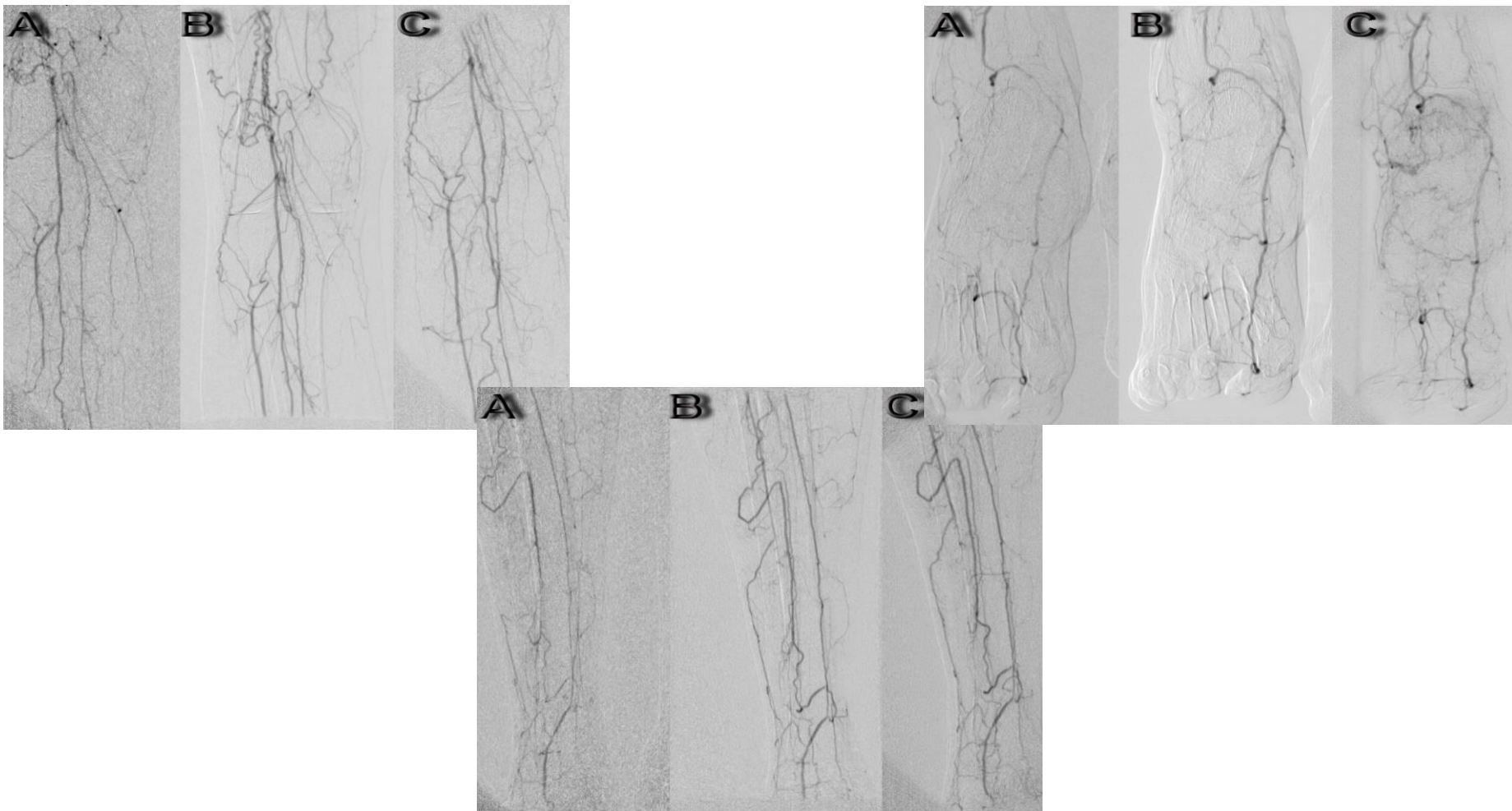
- Prietoková cytometria
- Koncentrácia CD34+ a CD133+/CD34- buniek (mezenchymálne kmeňové bunky) je **6x** vyššia ako v kostnej dreni, čo porovnateľné s inými spôsobmi spracovania (napr. Harvest)
- Viabilita kmeňových buniek v porovnaní so 100% viabilitou pri odbere je v deň podania **80%.**

Limity

- Nie je dvojito zaslepená, randomizovaná
- Nemožnosť merať tcPO₂
- Význam kontrolných DSA na detekciu nových kapilár sporný

Otázky vyvstávajú

- optimálna dávka?
- spôsob podania
- za akú dobu opakovať?
- nežiadúce účinky?
- dĺžka účinku?
- kto je non responder?
- tumorigénny potenciál?
- potreba DSA?



RB van Tongeren, JF Hamming, S le Cessie, AR van Erkel, JH van Bockel. **Limited value of digital subtraction angiography in the evaluation of cell-based therapy in patients with limb ischemia.** Int Cardiovasc Imaging (2010) 26:19–25

„digital subtraction angiography is not suitable for the evaluation of therapeutic angiogenesis.“

J De Haro, F Acin, A Lopez-Quintana, A Florez, E Martinez-Aguilar, C Varela.
**Meta-analysis of randomized, controlled clinical
and cell therapy in peripheral arterial disease**
Heart Vessels (2009) 24:321–328

analysis of **six** randomized,
double-blind placebo-controlled trials of
any therapeutic angiogenesis modality vs
placebo in **543** patients with
PAD with at least 6 months of follow-up

J De Haro, F Acin, A Lopez-Quintana, A Florez, E Martinez-Aguilar, C Varela. **Meta-analysis of randomized, controlled clinical and cell therapy in peripheral arterial disease**
Heart Vessels (2009) 24:321–328

- The results support the conclusion that patients suffering from PAD experience significantly **clinical improvement** when treated with therapeutic angiogenesis instead of placebo.
- Particularly, therapeutic angiogenesis was associated with a clearly significant improvement **in ulcer healing and pain relief** in critical limb ischemia patients as compared to placebo, with an acceptable grade of tolerability.

Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation **reduces long-term major amputation risk** in patients with critical limb ischemia: a comparison of atherosclerotic peripheral arterial disease and Buerger disease.

- [Idei N](#), [Soga J](#), [Hata T](#), [Fujii Y](#), [Fujimura N](#), [Mikami S](#), [Maruhashi T](#), [Nishioka K](#), [Hidaka T](#), [Kihara Y](#), [Chowdhury M](#), [Noma K](#), [Taguchi A](#), [Chayama K](#), [Sueda T](#), [Higashi Y](#).
- [Circ Cardiovasc Interv.](#) 2011 Feb 1;4(1):15-25.
- 4-ročné sledovanie, 51 pacientov (25 PAD a 26 Burgerova choroba)
- 48% bez amputácie u PAD, 95% u Burgerovej choroby

Review Article. Cell Therapy in Patients with Critical Limb Ischemia

- Rita Compagna, Bruno Amato, Salvatore Massa, Maurizio Amato, Raffaele Grande, Lucia Butrico, Stefano de Franciscis, Raffaele Serra
- Hindawi Publishing Corporation, Stem Cells International Volume 2015, Article ID 931420, 13 pages
- The intramuscular administration Stem Cells seems preferable maybe because cells could hardly reach the target tissue when infused intra-arterially in severely compromised arterial beds.

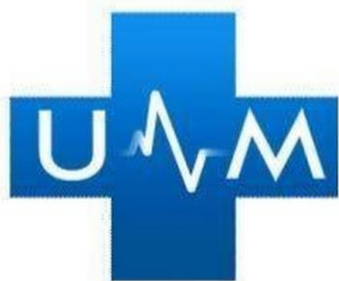
„Cell therapy dramatically reduces amputation rate“

- Rigato M, Monami M, Fadini GP:
Autologous Cell Therapy for Peripheral Arterial Disease: Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized, Non-Randomized, and Non-Controlled Studies, Circulation Research, Dec. 2016

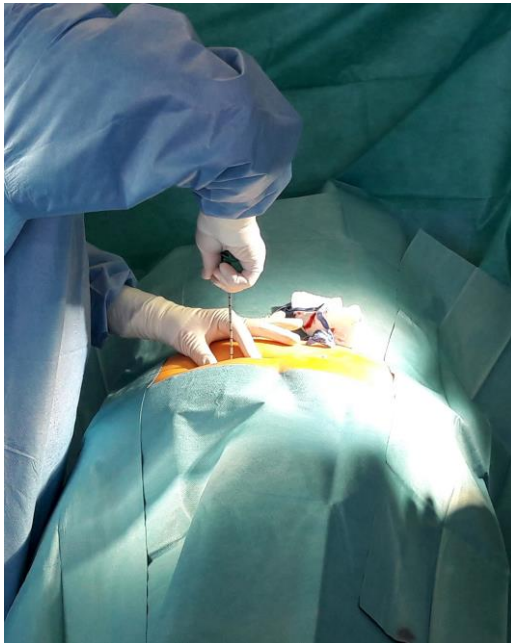
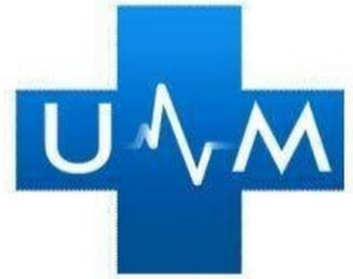
Vychádzajúc z našich 10-ročných skúseností a svetovej literatúry na danú tému možno povedať, že terapeutická angiogenéza je príslubom v liečbe CLI - ako posledný pokus o záchranu končatiny u pacientov nerevaskularizovateľných resp. po zlyhaní pokusov o cievnu rekonštrukciu.

Nádejná budúcnosť

- Novonadviazaná spolupráca
- Univerzitná nemocnica Martin & Slovenské centrum tkanív a buniek
- Technológia Harvest



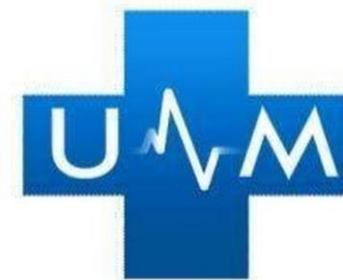
Odber kostnej drene 240 ml



Spracovanie technológiou Harvest



Aplikácia koncentrátu v množstve 40 ml



Design našej „novej“ štúdie

- Prospektívna, s kontrolnou skupinou
 1. Skupina A- pacienti s autológnoú transplantáciou koncentrátu kostnej drene intramuskulárne
 2. Skupina B- pacienti liečení štandardne
- K meraným parametrom pribudne TcPO₂
 1. Zmena hodnoty TcPO₂ o ≥ 10 mm Hg.
 2. Zmena hodnoty ABI o $\geq 0,1$

Ďakujem za pozornosť

