

Kalp dokusunda kök hücre naklinde kullanılan yöntemler

The delivery methods used in cardiac stem cell therapy

Dr. Yelda Tayyareci, Dr. Berrin Umman, Dr. Yılmaz Nişancı

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Kardiyolojide kök hücre tedavisi, iskemik kalp hastalığı nedeniyle gelişen kalp yetersizliğinin tedavisinde umut veren, alternatif bir tedavi yaklaşımıdır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda kalp dokusuna kök hücre naklinin kısa dönemde sol ventrikül fonksiyonları ve neovaskülarizasyon üzerine olumlu etkileri gösterilmişse de, günümüzde bu tedavinin uzun dönem sonuçları tartışmalıdır. Kalp dokusuna kök hücre naklinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Tüm bu yöntemler ile olumlu sonuçlar elde edilmişse de, farklı uygulama tekniklerinin etkinliklerini karşılaştıran yeterli sayıda çalışma yoktur. Kök hücre tedavisinin etkinliğini artırmak için, farklı uygulama teknikleriyle nakledilen kök hücrelerin hedef organda belirlenmesini sağlayacak davranışları ve etkinliklerini ortaya koyacak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: Kök hücre nakli/yöntem; injeksiyon, intra-arteriyel; miyokard iskemisi/terapi; neovaskülarizasyon, fizyolojik; rejenerasyon.

Kalp dokusuna kök hücre nakli günümüzde, akut ve kronik koroner arter hastalığı zemininde gelişmiş olan patolojik sol ventrikül yeniden şekillenmesini (remodeling) önlemeyi, yeni damar ve miyosit oluşumu ile sol ventrikül fonksiyonlarında iyileşmeyi hedefleyen alternatif bir tedavi yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Bugüne kadar yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda kök hücre tedavisi ile kalp kasının kontraksiyonlarında iyileşme, miyokardiyal nekroz alanında azalma ve yeni kollateral damar oluşumunda artış sağlandığı gösterilmiştir.^[1-6] Bu çalışmalarda kullanılan kök hücreler başlıca iskelet kası kaynaklı kök hücreler (miyoblast), kemik iliği kaynaklı kök hücreler (mononükleer hücreler, mezenkimal hücreler, stromal hücreler) ve periferik kan kaynaklı kök hücrelerdir.^[7-9]

Kardiyolojide kök hücre nakli çalışmaları temel olarak akut miyokard infarktüsü sonrası sol ventrikü-

Cardiac stem cell therapy is considered a promising alternative for the treatment of heart failure resulting from ischemic heart disease. Although short-term results demonstrate the beneficial effects of cardiac stem cell therapy on left ventricular functions and neovascularization, long-term effects have yet to be established. Various methods have been used for cardiac stem cell therapy, yielding varying degrees of success. However, the number of studies that compare the efficacy of these delivery approaches is still inadequate. Further studies are required to increase the efficiency of stem cell therapy, to delineate the pros and cons of different delivery techniques, and to provide more insight into identification, localization, and efficacy of transplanted cells within the target organ.

Key words: Stem cell transplantation/methods; injections, intra-arterial; myocardial ischemia/therapy; neovascularization, physiologic; regeneration.

lün yeniden şekillenmesinin önlenmesi, iskemik kardiyomiyopati hastalarda miyogenezin iyileştirilmesi ile kardiyak fonksiyonların iyileştirilmesi ve revaskülarizasyon şansı olmayan kronik koroner arter hastalarında yeni damar oluşumunun artırılması ile miyokard perfüzyonunun iyileştirilmesi, böylece angina sıklığının azaltılmasını hedeflemektedir. Bu bağlamda, farklı hasta gruplarında hedeflenen etkinliğe yönelik hücrelerin ve bu hücrelerin uygulanmasında kullanılacak yöntemlerin seçimi önemli konulardan biri haline gelmiştir.

Kalp dokusuna kök hücre nakli çalışmaları, gerek kullanılan hücre tipi gerekse uygulama yöntemleri açısından büyük bir çeşitlilik göstermektedir. Farklı hasta gruplarında farklı hücre tipleri ve uygulama yöntemleri denenmiş ve çeşitli düzeylerde etkinlik elde edilmiştir. Bu alanda kök hücre çalışma-

Geliş tarihi: 11.03.2006 Kabul tarihi: 14.08.2006

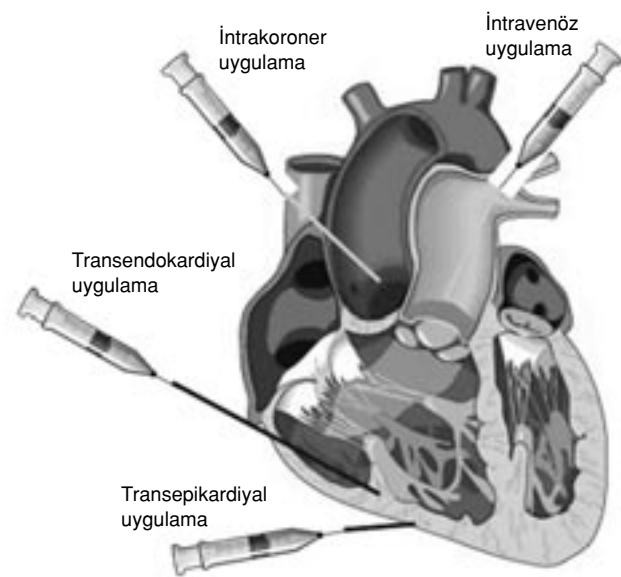
Yazışma adresi: Dr. Yelda Tayyareci, Merzifon Devlet Hastanesi, Kardiyoloji Kliniği, 05300 Merzifon, Amasya.
Tel: 0358 - 513 44 44 / 201 Faks: 0358 - 514 08 30 e-posta: yeldatayyareci@hotmail.com

ları açısından bir homojenizasyon sağlanamamıştır. Ayrıca, farklı hücre tiplerini ve uygulama yöntemlerini, aynı hasta grubu üzerinde bire bir karşılaştıran çalışmalar da bulunmamaktadır. Bu nedenle, günümüzde kök hücrelerin hasarlanmış miyokarda verilmiş yollarından ya da kök hücre tiplerinden hangisinin daha etkili olduğu henüz aydınlatılmamış bir konudur.

Günümüzde kullanılan kök hücre uygulama yöntemleri tranvasküler yaklaşımlar ve doğrudan injeksiyon teknikleri olmak üzere iki grupta sınıflandırılabilir (Şekil 1).

Transvasküler yaklaşımlar

Transvasküler yaklaşımlar içerisinde koroner arter yolu ve venöz yol ile uygulamalar yer almaktadır. Venöz yol ile uygulamalar arasında, periferik ven yolu ile uygulama, koroner sinus veninden uygulama ve kök hücre mobilizasyon yöntemleri yer almaktadır. Tüm bu uygulamaların ortak yanı, nakledilen kök hücrelerin hedeflenen miyokard dokusuna doğrudan değil de dolaylı olarak ulaştırılmasıdır. Kök hücre naklinde, nakledilen hücrelerin hedef dokuya göçü, yerleşmesi ve burada tutunabilmesi (homing) oldukça önemlidir. Bu nedenle, transvasküler yaklaşımların, özellikle kemoatraktan ve hücre adezyon molekülleri gibi hedef miyokard alanına hücre yerleşimini artıracak maddelerin (stromal hücre kaynaklı faktör 1: SDF-1, SDF-1 reseptörü: CXCR4) ortamda yüksek konsantrasyonda bulun-



Şekil 1. Hüresel kardiyomiyoplasti yöntemleri: İntrakoroner, intravenöz, transendokardiyal, transepikardiyal uygulama yöntemlerinin şematik gösterimi.

duğu yeni infarktüs geçirmiş veya revaskularize edilmiş hastalarda kullanımının uygun olduğu düşünülmektedir.^[10-12]

İntrakoroner arteryel infüzyon

Over-the-wire balon kateter aracılığıyla, infarktüs bölgesine giden koroner arterden kök hücre infüzyonu yapılır. *Stop-flow* tekniği ile iskemi engellenebilmektedir (Şekil 1).

Bu teknikle genel olarak kullanılan hücre tipi, kemik iliği kaynaklı ve periferik kan kaynaklı kök hücrelerdir. Bu yöntemin üstünlükleri, hedef miyokard alanına seçici olarak ve yüksek konsantrasyonda hücre nakli yapılabilmesi ve deneyimli kişilerce uygulandığında güvenilir, kolay uygulanabilir, işlem süresi kısa ve komplikasyon oranı düşük bir yöntem oluşudur. Bu yöntemin temel sorunu, hücrelerin koroner arter içine verildikten sonra sırasıyla peri-infarkt ve infarkt alanını geçmek ve burada tutunmak zorunluluğudur. Ayrıca, intrakoroner yol ile nakledilen hücrelerin bir kısmının venöz sisteme dağılması da sözkonusudur. Bu nedenle, tutunmayı artıracak granülosit koloni stimüle edici faktör (GCSF) ve diğer sitokinlerin ortamda yüksek konsantrasyonda bulunduğu veya tedaviye eklendiği durumlarda etkinlik artabilir.

İntrakoroner kök hücre infüzyonu günümüzde özellikle akut miyokard infarktüsü sonrası erken dönemde kök hücre nakli uygulamalarında tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir.^[3,13] İntrakoroner kök hücre nakli ilk kez Strauer ve ark.^[1] tarafından insan üzerinde uygulanmış ve komplikasyonsuz başarı sağlanabilmiştir. Akut anterior miyokard infarktüsü bir olguda, infarktüsün beşinci gününde otolog kemik iliği kaynaklı mononükleer kök hücreler sol ön inen arter aracılığıyla uygulanmış ve 10. hafta sonunda bazal değerler ile karşılaştırıldığında, teknesyum- MIBI SPECT ile transmural infarktüs alanında %24.6'dan %15.7'ye gerileme olduğu, eko-kardiyografik olarak değerlendirilen atım hacmi indeksinde istatistiksel olarak anlamlı artış ($p=0.010$) izlenmiştir. Bu çalışmanın ardından hasta sayısı nispeten yüksek olan TOPCARE-AMI^[3] (Transplantation of Progenitor Cells And Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction) ve kontrol grubu içeren BOOST^[2] (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) çalışmaları yapılmıştır. Her iki çalışmada da sol ventrikül fonksiyonları ve perfüzyonu üzerinde olumlu gelişmeler izlenmiştir. BOOST çalışmasının 18 aylık takip sonuçlarında, altıncı ayda sol ventrikül ejeksi-

yon fraksiyonu intrakoroner kök hücre nakli yapılan grupta kontrol grubuna göre anlamlı iyileşme göstermişse de, 18 aylık takiplerde iki grup arasında anlamlı fark görülmemiştir. Akut miyokard infarktüsülü hastalarda intrakoroner kök hücre naklinin uzun dönem takip sonuçlarını araştıran REPAIR-AMI (Remodelling in Acute Myocardial Infarction) ve BOOST-2 çalışmaları günümüzde devam etmektedir.

Intravenöz infüzyon

Uygulama yolu olarak venöz sistem kullanılır.

Periferik ven yolu ile hücre infüzyonu. Tüm yöntemler içinde uygulaması en kolay olanıdır. Bu yöntemin en büyük dezavantajı, hücreler periferik venden verildiği için infarktüstten sorumlu koroner artere, dolayısıyla hasarlı miyokard dokusuna ulaşmasının ancak belirli bir zaman ve aşamalar sonucunda meydana gelecek olmasıdır. Bu süre içerisinde kök hücrelerin diğer organlara dağılması sözkonusu olduğu için miyokard dokusuna ulaştığında hücre sayısı belirgin olarak azalacaktır. Bu nedenle, kök hücrelerin hasarlı miyokard dokusuna yerleşmesini kolaylaştıracak ajanlar (G-CSF, VEGF: vasküler endotelial büyüme faktörü, vb.) ile birlikte kullanılması gerekmektedir. Murohara ve ark.^[14] kemik iliği ve periferik kandan elde edilen endotelial progenitor hücreleri bu yöntemle uygulamışlar ve bu hücrelerin iskemik bölge ile yüzeyel olarak birleşip olgun endotelial hücrelere dönüşerek ventrikül fonksiyonlarını artırdıklarını göstermişlerdir.

Kök hücre ve progenitor hücrelerin mobilizasyonu. Akut miyokard infarktüsünde vücutta infarktüs bölgesine kök hücre ve progenitor hücrelerin doğal bir yol ile göç ettikleri ve burada sınırlı da olsa bir tamir mekanizması oluşturdukları bilinmektedir.^[15,16] Kök hücre ve progenitor hücrelerin sitokinler (G-CSF) aracılığıyla infarktüs bölgesine mobilizasyonu non-invaziv bir kardiyak rejenerasyon stratejisi olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu konuda yapılan ilk insan çalışmalardan biri olan MAGIC CELL çalışmasında (Myocardial Regeneration and Angiogenesis in Myocardial Infarction With G-CSF and Intra-Coronary Stem Cell Infusion), akut miyokard infarktüsü sonrası hastalara G-CSF verilmiş; ancak, dördüncü ay takiplerinde infarktüstten sorumlu arterde tekrarlayan darlık oranının yüksek oluşu nedeniyle çalışma tamamlanmadan sonlandırılmıştır.^[4] Bu çalışmada tekrarlayan darlık oranının yüksek oluşunun çalışmanın metodolojisinde yapılan bazı hatalardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim, bu çalışmadan sonra daha geniş hasta gruplarında yapılan çalışma-

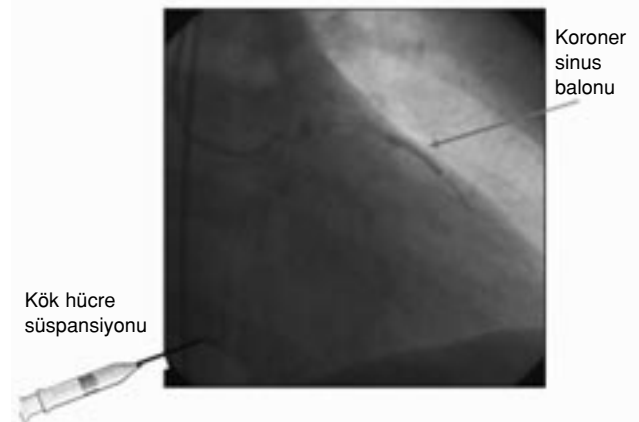
larda tekrarlayan darlık oranlarında istatistiksel bir artış saptanmamış ve G-CSF uygulamasının akut miyokard infarktüsü sonrası sol ventrikül fonksiyonları ve perfüzyonu üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.^[15]

Retrograd olarak koroner sinus veninden uygulama. Yeni denenenekte olan bir yöntemdir. Infarktüstten sorumlu arter aracılığıyla verilen kök hücrelerin bir kısmının venöz sistem yoluyla dağılımı sözkonusu olduğundan, hücrelerin venöz sistemden retrograd uygulanmasının infarktüs bölgesine ulaşan hücre sayısını arttıracaklığı düşünülmektedir. Bu amaçla, koroner sinus ve koroner venlerden hücre nakli denenmektedir. Bu yöntem ile yapılmış ve etkinliği gösterilmiş deneysel çalışmalar vardır.^[17,18] Ayrıca, koroner arter yapısının perkütan invaziv girişime uygun olmadığı durumlarda, kök hücre nakli koroner sinus veninden retrograd olarak uygulanabilir (Şekil 2).

Ventrikül duvarına doğrudan injeksiyon teknikleri

Transepikardiyal injeksiyon. Transepikardiyal hücre injeksiyonları koroner arter baypas greft (KABG) cerrahisine ek olarak uygulanır. Girişim açık kalp cerrahisi ile kalp pompası desteğinde veya atan kalpte yapılabilmektedir. Açık kalp cerrahisi sırasında injeksiyonun avantajı, skar dokusu ve skar dokusu ile canlı miyokard dokusu arasındaki alanların doğrudan görülerek hücrelerin bu alanlara uygulanabilmesidir.

Bu yöntemle, kök hücrelerin taşınma ve yerleşme gibi aşamalara ihtiyaç duymadan hemen etkinlik göstermesi mümkündür. Transepikardiyal injeksi-



Şekil 2. Retrograd olarak koroner sinus veninden uygulama: Koroner sinusa yerleştirilen ve *over-the-wire* balon özelliği taşıyan özel bir balon kateter aracılığıyla kök hücre süspansiyonu balon şişik iken uygulanır. (Yılmaz Nişancı ve ark.na ait bir olgu görüntüsü, İstanbul Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı. 2005)

yon yöntemi klinik olarak ilk kez Menasche ve ark.^[19] tarafından bir hasta üzerinde miyoblast hücreler kullanılarak uygulanmış ve metabolik ve mekanik olarak fonksiyonsuz skar dokusunun beşinci ay sonunda pozitron emisyon tomografisi (PET) ile canlı ve fonksiyonel hale geldiği gösterilmiştir. Bu olgudan yola çıkılarak, ejeksiyon fraksiyonu %35'in altında olan 10 kişilik bir grupta yine miyoblastlar transepikardiyal yol ile kalpteki skar alanlarına injekte edilmiş ve beşinci ay sonunda hastaların fonksiyonel kapasitesinde ve ejeksiyon fraksiyonunda anlamlı iyileşme saptanmıştır.^[20] Bu çalışmada karşılaşılan en büyük sorun ise, bir hastada ani ölüm görülmesi, dört hastada ise erken dönemde gelişen devamlı ventriküler taşikardi atakları nedeniyle ICD implantasyonu gerekmiş olmasıdır. Ancak, bu hastalarda meydana gelen malign aritmilerin, doğrudan injeksiyon tekniğinden ziyade miyoblast hücrelerin kardiyak miyositler ile birleşme alanlarında re-entri odaklarının ortaya çıkmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim, miyokard infarktüsü sonrası, baypas ameliyatına ek olarak hasarlı miyokarda CD133 (+) hücreler verilerek yapılan çalışmalarda, buna benzer komplikasyonlar görülmemiş ve yine ejeksiyon fraksiyonunda ve neovaskülarizasyonda anlamlı artış, SPECT ile nekroz alanında azalma saptandığı gösterilmiştir.^[6,21,22] Bu yöntemde hemen her zaman KABG ameliyatı da yapıldığından kök hücrelerin etkinliğini değerlendirmek güç olmaktadır.

Transendokardiyal injeksiyon. Transtorasik yaklaşıma göre daha az invazivdir. Bu işlem için özel olarak üretilmiş kateterlerle, floroskopi eşliğinde femoral arterden girilerek uygulanır. Bu amaçla üçboyutlu haritalamada NOGA kateter sistemi kullanılmaktadır. Haritalama yöntemiyle, canlı miyokard alanlarının belirlenmesi ve bu alanlara doğrudan injeksiyon olanağı bulunmaktadır. İntrakoronar yöntemde kaçınılmaz olan iskemi transendokardiyal yöntemde sözkonusu olmadığından, az miktarda iskemiye bile tolere edemeyecek geniş infarktüsülü, düşük ejeksiyon fraksiyonlu, kronik kalp yetersizliği olan hastalarda kullanımı daha güvenli olabilir. Yine, koroner anatomisi perkütan invaziv girişime uygun olmayan ve cerrahi açısından yüksek riskli olan hasta gruplarında transendokardiyal yöntemlerin kullanımı tercih edilebilir. Bu yöntemin etkinlik ve güvenilirliğini gösteren geniş hayvan çalışmaları vardır. Fuchs ve ark.nın^[23] domuzlarda yaptığı bir çalışmada, otolog kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin transendokardiyal injeksiyon ile hasarlı miyokarda

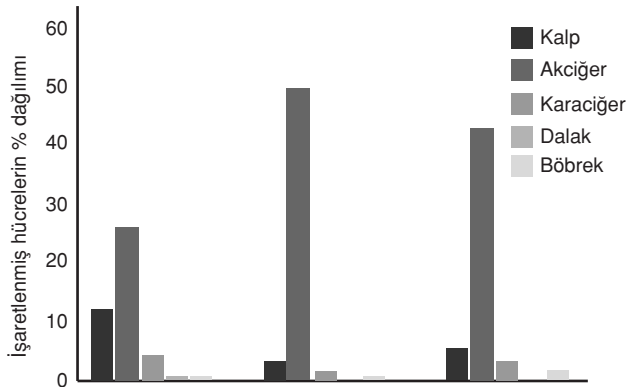
naklinden dört hafta sonra, aynı bölgede kollateral dolaşımın iyileştiği, neovaskülarizasyonun belirteçleri olan VEGF ve makrofaj kemoatraktan protein düzeylerinde artış olduğu, adenozin stres testi ile miyokard duvar kalınlığında %50 artış olduğu gösterilmiştir.

İnsanlar üzerinde NOGA kateteri kullanılarak yapılan çalışmalarda, transendokardiyal yol ile uygulanan kök hücre naklinin ejeksiyon fraksiyonunda, duvar hareketleri ve duvar kalınlığında artışa, sistolik volümlerde azalmaya yol açtığı ve elektromekanik haritalama yöntemiyle infarkt alanlarında mekanik iyileşme olduğu gösterilmiştir.^[24,25]

Transkoroner venöz injeksiyon. Bu yöntemde, ucunda rehberlik edecek bir ultrason ve miyokardiyal injeksiyonu yapacak iğnesi bulunan özel bir kateter (Transaccess kateter) sistemi kullanılmaktadır. Bu sistemi ilk kez Thompson ve ark.^[26] normal domuz miyokardı üzerinde denemişler ve komplikasyonsuz başarı sağlamışlardır. Yine, çok yakın bir zamanda, iskemik kardiyomiyopatili hasta grubunda miyoblastlar transkoroner venöz injeksiyon ile canlılığı olmayan miyokard alanlarına uygulanmış ve altıncı ay sonunda hastaların efor kapasitelerinde belirgin iyileşme ve ejeksiyon fraksiyonunda hafif artış izlenmiştir.^[27]

Kök hücrelerin işaretlenmesi ve vücut içindeki dağılım ve fonksiyonlarının incelenmesi

Deneysel ve klinik çalışmalar, kök hücre nakli ile infarktüs alanında perfüzyonun arttığını ve ventrikül fonksiyonlarının iyileştiğini göstermişse de, nakledilen bu hücrelerin vücut içindeki dağılımının nasıl olduğu, bu hücrelerin hedef dokuda hangi oranlarda tutunabildikleri ve ne kadar süre canlı kalabildikleri günümüzde henüz tam olarak aydınlatılmamış sorulardır. Kök hücre naklinde ideal uygulama yöntemi seçiminde, hedef dokuya mümkün olan en yüksek miktarda hücrenin ulaştırılabilmesi ve diğer dokulara dağılımının en az olması dikkate alınmalıdır. Hedef dokuya fazla miktarda hücre ulaşması lokal etkinliği artıracak, vücut içindeki dağılımın az olması ise hedef olmayan diğer dokularda meydana gelebilecek olası zararlı etkileri azaltacaktır. Bu nedenle, doğrudan veya dolaylı uygulanan kök hücre nakli yöntemlerinin etkinliklerinin karşılaştırılması, bu yollar ile vücuda nakledilmiş hücrelerin vücut içindeki dolaşımı ve yerleşiminin belirlenmesi ile mümkün olabilir. Günümüzde, çeşitli maddelerle işaretlenen kök hücreler manyetik rezonans görüntüleme veya PET gibi görüntüleme



Şekil 3. İyaretlenmiş kök hücrelerin ana organlarda dağılım oranları.^[29]

yöntemleriyle takip edilmeye çalışılmaktadır. Bu konuda yapılmış deneysel çalışmalar içinde en önemlisi, Hou ve ark.nın^[28] domuzlar üzerinde üç farklı kök hücre uygulama yöntemini karşılaştırdıkları çalışmadır. Bu çalışmada deneklerin sol ön inen arterlerinde anjiyoplasti kateteri kullanılarak 45 dakikalık koroner oklüzyon ile deneysel miyokard infarktüsü oluşturulmuştur. İnsan periferik kanından izole edilen periferik progenitor hücreler ¹¹¹indium-

oxine ile iyaretlenmiş ve miyokard infarktüsünden altı gün sonra bir grup deneye intrakoroner, bir gruba doğrudan enjeksiyon (intramusküler), bir gruba da retrograd olarak internal juguler venden uygulanmıştır. Kök hücre naklinden bir saat sonra öldürülen denekler tüm vücut PET ile taranmış, tüm major viseral dokular (kalp, karaciğer, akciğerler, dalak ve böbrekler), iskelet kası örnekleri ve periferik kan örnekleri incelenmiştir. Bu analizler sonucunda, çalışmada kullanılan tüm yöntemlerde kök hücrelerin büyük bir yüzdesinin akciğerlere (intramusküler %26, intrakoroner %47, retrograd %43), daha düşük oranlarda hücrenin ise diğer organlara yerleştiği görülmüştür (Şekil 3). Ayrıca, intramusküler enjeksiyon ile intrakoroner enjeksiyon karşılaştırıldığında, intramusküler yol ile uygulandığında kök hücrelerin kalp dokusuna daha çok yerleştikleri (intramusküler %11.3, intrakoroner %2.6; p<0,05) gösterilmiştir. Retrograd venöz uygulama (%3.2) ile karşılaştırıldığında, kök hücrelerin intramusküler enjeksiyon ile kalp dokusunda daha yüksek oranda tutundukları; ancak, iki yöntem arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan kök hücrelerin insan kaynaklı olması ve vücut taramasının işlemde bir saat sonra

Tablo 1. İnsanda dolaylı yöntemler ile (intravenöz ve intrakoroner yöntem) daha önceden iyaretlenmiş kök hücrelerin nakli sonrası erken dönemde PET ile değerlendirilmesi^[30]

Protokol 1 ve 2'de non-selektif mononükleer kök hücre, Protokol 3'te CD34(+) hücreden zenginleştirilmiş hücre hazırlanması							İyaretleme ve hücre transferi		
Hastalar	Kemik iliği aspirasyonu (ml)	Hücre fraksiyonu	Hacim (ml)	Hücre sayısı (x10 ⁸)	CD34+ (x10 ⁶)	CD34+ (%)	İyaretlenmiş hücre popülasyonu (%)	Spesifik aktivite Bq/10 ³	Hücrelerin miyomarda tutunma yüzdesi (%)
Protokol 1– İyaretlenmiş selektif olmayan mononükleer kök hücrelerin intrakoroner nakli									
1	143	Selektif değil	29	36.7	14.9	0.55	5	0.4	1.3
2	145	Selektif değil	26	21.1	13.5	0.57	5	1.8	2.6
3	126	Selektif değil	25	18.5	8.7	0.62	5	0.8	2.3
Protokol 2– İyaretlenmiş selektif olmayan mononükleer kök hücrelerin yarısının intravenöz (İV), diğer yarısının intrakoroner (İK) yol ile nakli									
4	121	Selektif değil	25	20.9	10.4	0.50	5	1.3	0 (İV), 1.8 (İK)
5	120	Selektif değil	28	25.5	4.0	0.14	5	0.6	0 (İV), 4.3 (İK)
6	131	Selektif değil	21	26.5	8.6	0.61	5	1.0	0 (İV), 5.3 (İK)
Protokol 3– İyaretlenmiş selektif CD34 (+) hücrelerin intrakoroner yol ile nakli									
7	336	CD34 ⁺	3	0.30	21.3	70.3	100	10	39
		CD34 ⁻	90	45.5	6.4	0.14			
8	320	CD34 ⁺	3	0.20	14.7	74.4	100	18	14
		CD34 ⁻	110	42.5	1.3	0.03			
9	277	CD34 ⁺	3	0.22	12.0	55.0	100	21	24
		CD34 ⁻	60	41.8	5.2	0.13			

gibi erken dönemde yapılmış olması nedeniyle sonuçların güvenilirliği tartışılabilir. Bu amaçla kök hücrelerin uzun dönemde kardiyak fonksiyonlar üzerindeki etkinliğini değerlendirecek ve bu yöntemleri bire bir karşılaştıracak insan çalışmalarına ihtiyaç vardır. Ayrıca, insan kök hücrelerinin insan vücudu içindeki dolaşımı ile domuzdaki dolaşımı arasında farklılıklar olması beklenebilir.

Bu konuda önemli bir adım ise Hofmann ve ark.^[29] tarafından yapılan ve 2005 yılında yayınlanan küçük çaplı bir insan çalışması ile atılmıştır. Dokuz hasta üzerinde yapılan bu çalışmada, ilk kez olarak, değişik oranlarda flor-18 florodeoksiglukoz (FDG) ile işaretlenen kemik iliği kaynaklı kök hücreler intrakoronar ve intravenöz yöntemlerle hastalara verildikten 60-75 dakika sonra PET ile izlenmiştir. Çalışmada hastalar üç gruba ayrılmıştır. Hastaların kendinden elde edilen kemik iliği aspirasyon materyali kullanılmış ve bir grup hastaya selektif olmayan kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin %5'i işaretlenerek intrakoronar infüzyon ile verilirken, ikinci gruba yine selektif olmayan kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin %5'i işaretlenip, bu hücrelerin yarısı intravenöz injeksiyon ile, diğer yarısı ise intrakoronar infüzyon ile verilmiştir. Üçüncü grupta, kemik iliği aspirasyon materyalinden selektif CD34 (+) hücre izolasyonu yapılmış ve hücrelerin %100'ü işaretlenerek intrakoronar infüzyon yolu ile nakil yapılmıştır (Tablo 1).

Sonuçta, tek başına intravenöz yol ile kök hücre nakli yapıldıktan ortalama bir saat sonra PET ile miyokard dokusunda işaretlenmiş hücre oranı %0 bulunurken, intrakoronar yol ile uygulandığında ortalama %2.1 bulunmuş, selektif hücreler kullanıldığında ve daha yüksek oranda kök hücre işaretlendiğinde ise bu oranın belirgin olarak arttığı (%25.7) görülmüştür. İlk olarak bu çalışma ile, miyokard dokusuna dolaylı yöntemlerle yapılan kök hücre nakli sonucunda kök hücrelerin miyokard dokusuna ilk bir saat içindeki ulaşma ve burada yerleşme oranı hakkında fikir elde edilebilmiştir. Gerek hücrelerin işaretlenme oranları, gerekse vücuda nakilden kısa bir zaman dilimi sonra değerlendirme yapılmış olması nedeniyle elde edilen bilgiler kısıtlı olsa da, bu çalışma kök hücre işaretleme tekniklerinin gelişimi açısından önemli bir adım olarak nitelendirilmelidir.

Sonuçları kısa bir süre önce açıklanmış diğer bir çalışmada ise mezenkimal kök hücreler kullanılarak intrakoronar, intravenöz ve endokardiyal yöntemler karşılaştırılmıştır.^[30] İridyum ile işaretlenmiş

mezenkimal kök hücreler üç farklı yol ile deney hayvanlarına nakledildikten 14 gün sonra yeniden incelenmiş ve infarktüs alanında en yüksek işaretlenmiş kök hücre sayısının intrakoronar infüzyon yolu ile elde edildiği görülmüştür ($p<0.001$). İnfarktüs alanında daha yüksek konsantrasyonda hücre sağlanması açısından endokardiyal yöntemin intravenöz yöntemden üstün olduğu; ancak, intrakoronar infüzyon ile sağlanan hücre konsantrasyonuna ulaşmadığı gösterilmiştir. Anılan çalışmada, endokardiyal yöntemle nakledilen hücrelerin intrakoronar ($p=0.06$) ve intravenöz ($p=0.02$) yöntemlere göre daha az miktarda akciğerlere yayıldığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak, kardiyolojide kök hücre tedavisi, akut miyokard infarktüsü sonrası yeniden şekillenmenin engellenmesini, kronik kalp yetersizliği tedavisi ve kronik iskemik kalp hastalıklarında neovaskülarizasyonun artırılmasını hedefleyen umut verici yeni bir tedavi yöntemidir. Kök hücre nakli çalışmalarının geliştirilmesinde temel hedeflerden biri de kök hücre uygulama tekniklerinin geliştirilmesi olmalıdır. Bu konuda yeni uygulama tekniklerinin yanı sıra var olan yöntemlerin etkinliğini karşılaştırmalı olarak ortaya koyan daha kapsamlı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Farklı hasta grupları için ideal hücre tipi ve yöntemlerin belirlenmesiyle, kök hücre tedavisinin, gelecekte kalp hastalıklarının tedavisinde alternatif bir yöntem olmaktan çok temel tedavi yöntemleri arasında yer alması beklenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Gattermann N, Hernandez A, Sorg RV, et al. Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction. Dtsch Med Wochenschr 2001;126:932-8. [Abstract]
2. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: randomised controlled clinical trial. Lancet 2004;364:141-8.
3. Schachinger V, Assmus B, Britten MB, Honold J, Lehmann R, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. J Am Coll Cardiol 2004;44:1690-9.
4. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial

- infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet* 2004;363:751-6.
5. Sakai T, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Tomita S, et al. Autologous heart cell transplantation improves cardiac function after myocardial injury. *Ann Thorac Surg* 1999;68:2074-80.
 6. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003;361:47-9.
 7. Tomita S, Mickle DA, Weisel RD, Jia ZQ, Tumiaty LC, Allidina Y, 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.
 8. Yau TM, Fung K, Weisel RD, Fujii T, Mickle DA, Li RK. Enhanced myocardial angiogenesis by gene transfer with transplanted cells. *Circulation* 2001;104(12 Suppl 1):I218-22.
 9. Suzuki K, Murtuza B, Smolenski RT, Sammut IA, Suzuki N, Kaneda Y, et al. Cell transplantation for the treatment of acute myocardial infarction using vascular endothelial growth factor-expressing skeletal myoblasts. *Circulation* 2001;104(12 Suppl 1):I207-12.
 10. Taylor DA. Cell-based myocardial repair: how should we proceed? *Int J Cardiol* 2004;95 Suppl 1:S8-12.
 11. Liesveld JL, Rosell K, Panoskaltsis N, Belanger T, Harbol A, Abboud CN. Response of human CD34+ cells to CXC, CC, and CX3C chemokines: implications for cell migration and activation. *J Hematother Stem Cell Res* 2001;10:643-55.
 12. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. *Exp Hematol* 2002;30:973-81.
 13. Tayyareci Y, Nisanci Y, Olcay A, Sezer M, Umman B, Oncul A, et al. Intracoronary stem cell transplantation after acute myocardial infarction in patients with low ejection fractions-a randomized study. In: 6th International Congress on Coronary Artery Disease From Prevention to Intervention; October 29-November 1, 2005; Istanbul, Turkey. *Journal of Coronary Artery Disease* 2005;6(1):23.
 14. Murohara T, Ikeda H, Duan J, Shintani S, Sasaki K, Eguchi H. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J Clin Invest* 2000;105:1527-36.
 15. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2001;103:2776-9.
 16. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10344-9.
 17. Suzuki K, Murtuza B, Fukushima S, Smolenski RT, Varela-Carver A, Coppen SR, et al. Targeted cell delivery into infarcted rat hearts by retrograde intracoronary infusion: distribution, dynamics, and influence on cardiac function. *Circulation* 2004;110(11 Suppl 1):II225-30.
 18. Suzuki K, Murtuza B, Smolenski RT, Yacoub MH. Selective cell dissemination into the heart by retrograde intracoronary infusion in the rat. *Transplantation* 2004;77:757-9.
 19. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;357:279-80.
 20. Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1078-83.
 21. Stamm C, Kleine HD, Westphal B, Petzsch M, Kittner C, Nienaber CA, et al. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction. *Thorac Cardiovasc Surg* 2004;52:152-8.
 22. Ozbaran M, Omay SB, Nalbantgil S, Kultursay H, Kumanlioglu K, Nart D, et al. Autologous peripheral stem cell transplantation in patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004;25:342-50.
 23. Fuchs S, Baffour R, Zhou YF, Shou M, Pierre A, Tio FO, et al. Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1726-32.
 24. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003;107:2294-302.
 25. Smits PC, van Geuns RJ, Poldermans D, Bountiokos M, Onderwater EE, Lee CH, 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.
 26. Thompson CA, Nasser BA, Makower J, Houser S, McGarry M, Lamson T, et al. Percutaneous transvenous cellular cardiomyoplasty. A novel nonsurgical approach for myocardial cell transplantation. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1964-71.
 27. Siminiak T, Fiszer D, Jerzykowska O, Grygielska B, Rozwadowska N, Kalmucki P, 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.
 28. Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, Zhang P, Rogers P, Price ET, et al. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical tri-

- als. *Circulation* 2005;112(9 Suppl):I150-6.
- 29 Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, Menke A, Arseniev L, Hertenstein B, et al. Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium. *Circulation* 2005;111:2198-202.
30. Freyman T, Polin G, Osman H, Crary J, Lu M, Cheng L, et al. A quantitative, randomized study evaluating three methods of mesenchymal stem cell delivery following myocardial infarction. *Eur Heart J* 2006; 27:1114-22.