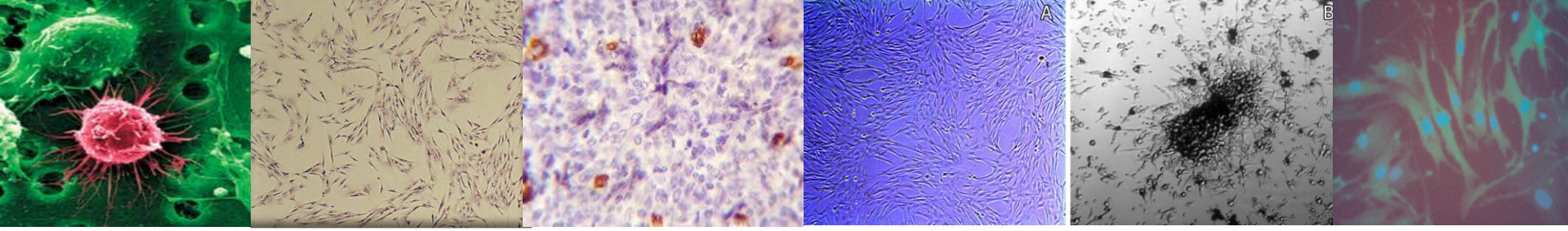


Opakovaná bunková liečba u pacienta s M.Buerger – „proof of concept“

J.Maďarič, Ľ.Postulková, A.Gažová, J.Kyselovič

Klinika kardiológie a angiológie NÚSCH, a LF SZU

Ústav farmakológie a klinickej farmakológie LF UK, Bratislava

Kritická končatinová ischémia

ŠK, 50 ročný pacient

Január 2014: 50-ročný pacient s CLI HK

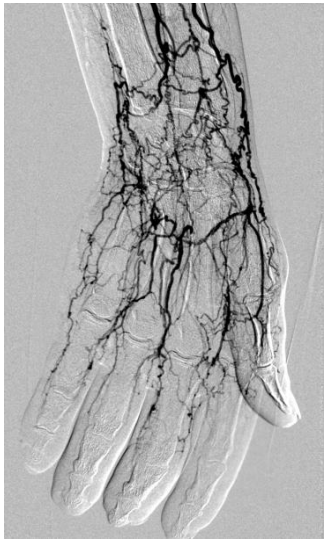
- fajčiar
- **liečený od 3/2013, vrátane inf. alprostadilom**, pretrvávanie neznesitelných bolestí – odporúčaná amputácia
- silné bolesti prstov ĽHK, suché nekrózy II., III., IV. prstu, edém (obtiažne zmeranie $tcpO_2$ pre intenzívnu bolesť);

Pred aplikáciou BMAC
$tcpO_2$=12 mmHg

Kritická končatinová ischémia

ŠK, 50 ročný pacient

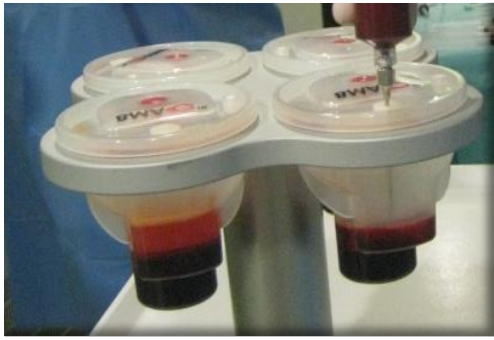
Angiografia: oblterácia a.ulnaris, a.radialis distálne, oblit. tepien karpo-metakarpálne, prietok zabezpečený cestou a.interossea; prítomné tzv. vývrtkové kolaterály – susp. M.Buerger



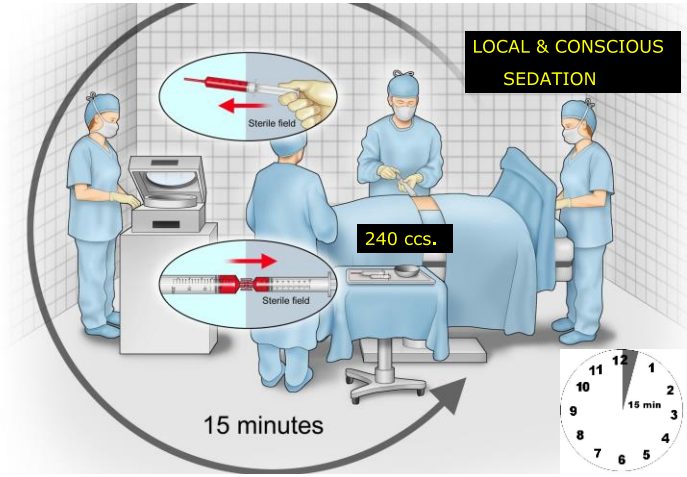
Aplikácia BMC i.a. 31.1.2014

HARVEST SmartPReP2 BMAC System

Point of Care Separation Technology



- **240 ml aspirátu kostnej drene** (v analgosedácii)
- **SmartPreP2 Concentrate System** (Harvest, Plymouth, MA)
- **40 ml bunkový koncentrát (15 min)** (MNC, Tr)
- **intra-arteriálna/intramuskulárna** aplikácia



- *Amann B, et al. (Cell Tansplant 2009)*
- *Prochazka V, et al. (Cell Tansplant 2010)*
- *Kolvenbach R, et al. (Ann Vasc Surg 2010)*
- *Iafrati MD, et al. (J Vasc Surg 2011)*
- *Klepanec A, et al. (Cell Transplant 2012)*

Kritická končatinová ischémia

ŠK, 50 ročný pacient

Júl 2014 – 6 mesačná ambulantná kontrola:

- bez bolesti
- hojenie nekróz
- vzostup $tcpO_2$

6 mesiacov po BMAC
$tcpO_2$=20 mmHg

Kritická končatinová ischémia

ŠK, 50 ročný pacient

Október 2014 – progresie ischémie DK bilat.

- silné pokojové bolesti nôh bilat. 1 mesiac
- gangréna 1.prstu PDK a 5.prstu ĽDK
- LABI 0.24, RABI 0.3
- $tcpO_2$ dx 4mmHg, sin 1mmHg (ťažko merateľné pre potrebu zvesenia DK pre bolesť)

Kritická končatinová ischémia

ŠK, 50 ročný pacient

- **Angiografia art.DK 14.10.2014:**
  - nezávažný nález fem.-pop.bilat., obliterácia predkolenných tepien s výnimkou prox. ½ ATA vľavo a prox. ½ ATP vpravo, obliterácia ADP a a.plantaris bilat.
- Nález na PDK hodnotený ako závažnejší

v prvom slede aplikácia BMC i.m. do PDK (16.10.2014)

Kritická končatinová ischémia

ŠK, 50 ročný pacient

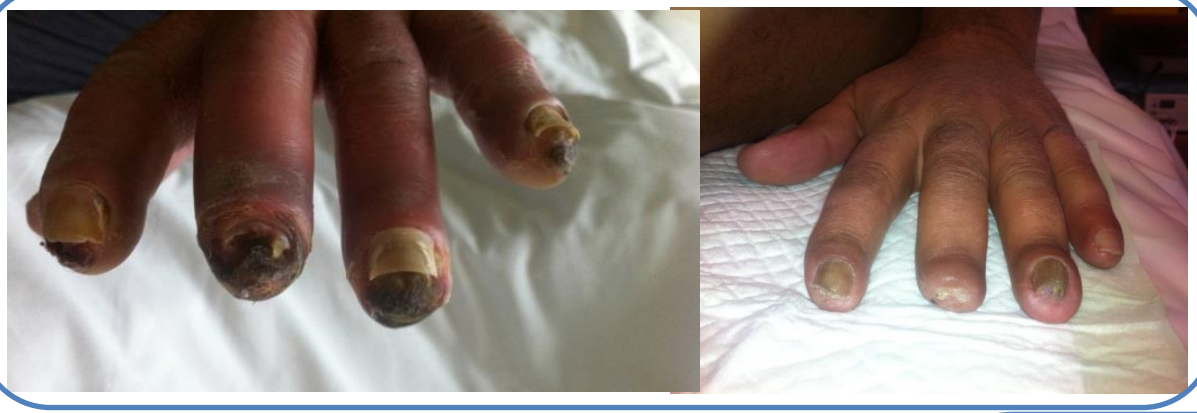
Ambulantná kontrola 19.11.2014

- ústup bolesti PDK (tcpO_2 9mmHg)
- progresia nálezu na ĽDK, amputácia 5.prstu, hroziaca vysoká amputácia (tcpO_2 1mmHg)

BMC aplikácia i.m. do ĽDK (26.11.2014)

Kritická končatinová ischémia

ŠK, 50 ročný pacient



Január 2015

1 rok po BMC IA (31.1.2014)

$tcpO_2$ 37mmHg

3 mesiace po BMC IM aplik. (16.10.2014)

$tcpO_2$ 24mmHg, RABI 0.57

2 mesiace po BMC IM aplik. (21.11.2014)

$tcpO_2$ 20mmHg, LABI 0.67

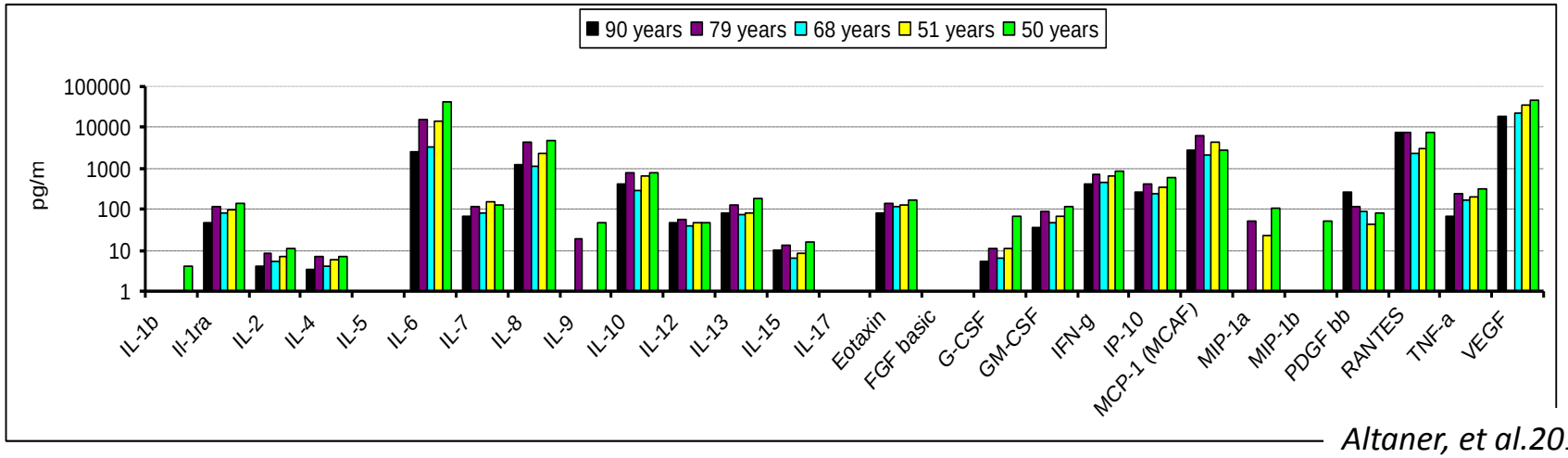
Kritická končatinová ischémia

ŠK, 50 ročný pacient

November 2015

Znížený počet a funkčnosť kmeňových buniek

Vek: produkcia rastových faktorov klesá s vekom

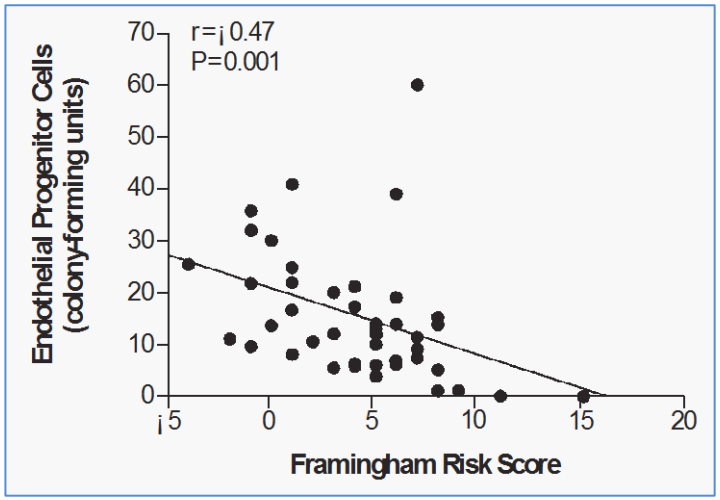


Altaner, et al.2011

Kardiovaskulárne rizikové faktory (Framingham score)

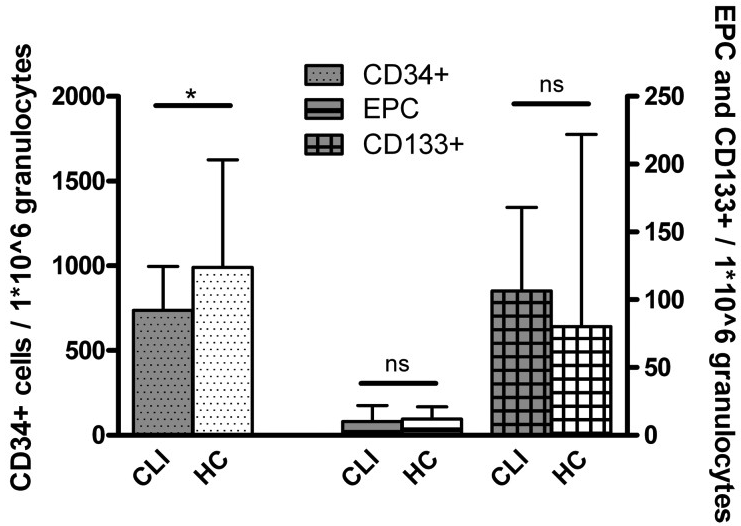
- pokles počtu a mobility EPC
- fajčenie – redukcia funkcie MNC, migračnej kapacity

- *Takeshita et al. Circ J 2008*
- *Hill et al. NEJM 2003*

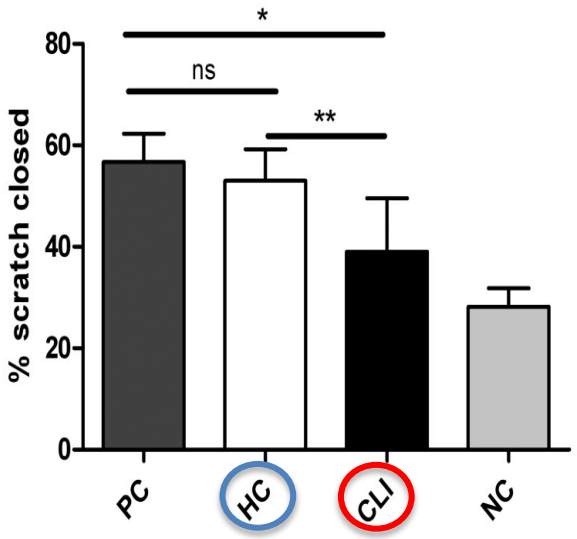


Znížený počet a funkčnosť kmeňových buniek u pacientov s CLI

Redukovaný počet CD34+ progenitorových buniek kostnej drene u pacietnov s CLI



Redukovaná parakrinná funkcia angiogénnych buniek v perifernej krvi u pacientov s CLI



- CD34+ cells were significantly reduced (*p<0.05) in CLI patients compared to healthy controls
- No significant (ns) differences in CD133+-cells and CD34+KDR+ EPC in the BM

Percentage of scratch wound closure stimulated with conditioned medium from circulating angiogenic cell from CLI pts (n = 33) was significantly reduced (P<0.0001) compared to healthy control (n = 25)

Teraa M et al. PLoS One 2013

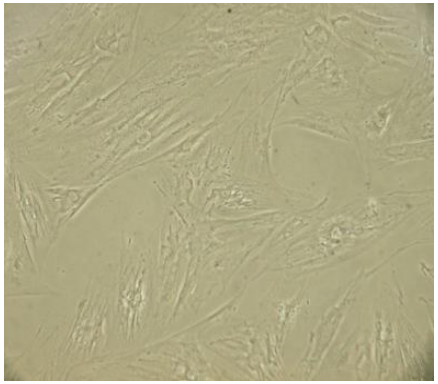
Kritická končatinová ischémia

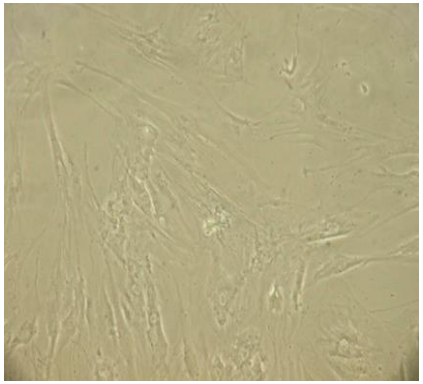
ŠK, 50 ročný pacient

- **Bunkový materiál – 16.10.2014**

Analýza prietokovou cytometriou (MACSQuant Analyzer, Miltenyi Biotec, Nemecko)

– kvantita a kvalita suspenzií buniek
– prítomnosť a množstvo CD markerov na povrchu buniek (CD – Cluster of diffrentition)
– stanovenie životaschopnosti buniek (interkalačné činidlo Propidium iodide (PI)
– identifikácia a stanovenie počtu MSC





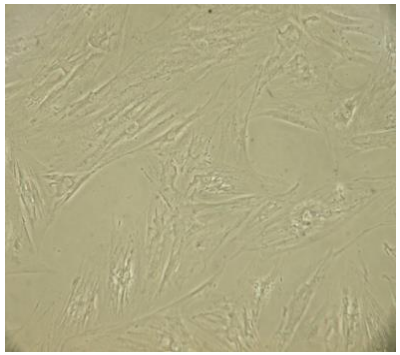
Kritická končatinová ischémia

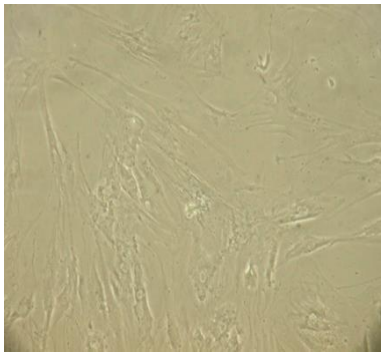
ŠK, 50 ročný pacient

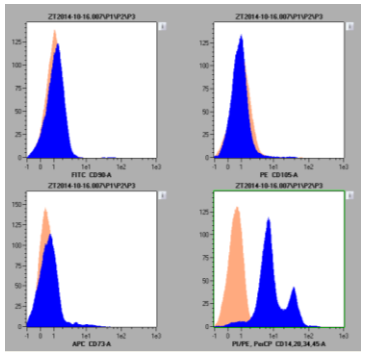
- **Bunkový materiál – 16.10.2014**

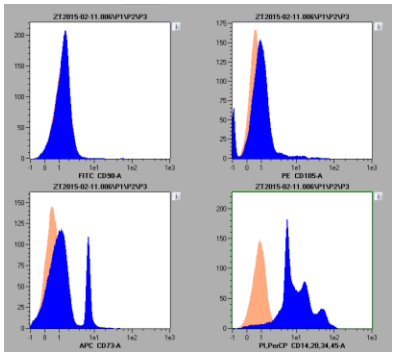
Vzorka	Celkový počet buniek (úlomky,zhluky,mŕtve b.)/ml	Životaschopnosť/ml	% životaschopnosť z celkového počtu b.	MSC/ml	MSC (%)
BM64	1,94E+07	1,77E+07	91,40%	1,00E+04	0,057%

Vzorka	Počet buniek pozitívnych na							
	CD90		CD105		CD73		CD14, CD20, CD34, CD45	
	Count/ml	%	Count/ml	%	Count/ml	%	Count/ml	%
BM64	2,61E+04	1,47%	2,83E+03	0,16%	1,17E+05	6,60%	1,62E+06	91,36%









Kritická končatinová ischémia

ŠK, 50 ročný pacient

“Proof of principles”

1. **Účinnosť** bunkovej liečby
2. Účinnosť **i.a. aj i.m.** bunkovej aplikácie
3. **Lokálny, nie systémový klinický efekt** bunkovej liečby

ĎAKUJEM ZA POZORNOSŤ

TÉMY:

- KRITICKÁ KONČATINOVÁ ISCHÉMIA – „UP TO DATE“
- VENÓZNY TROMBOEMBOLIZMUS
- RENÁLNA SYMPATIKOVÁ DENERVÁCIA
- „VAŠI NAŠI PACIENTI“ – KLINICKÉ KAZUISTIKY

ZAHRANIČNÝ HOSŤ:

MUDr. Václav Procházka, PhD.
FN Ostrava-Poruba, Česká republika

MIESTO KONANIA:

Národný ústav srdcových a cievnych chorôb, a. s.
Pod Krásnou hôrkou 1, 833 48 Bratislava
Konferenčná sála (-2. poschodie)

ORGANIZUJE:

- Pracovná skupina periférnej cirkulácie Slovenskej kardiologickej spoločnosti
- Slovenská angiologická spoločnosť
- NÚSCH, a. s.

KOORDINÁTOR ODBORNÉHO PROGRAMU:

doc. MUDr. Juraj Maďarič, PhD.

HODNOTENIE CME: 6 kreditov