

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

7. Kassell NF, Torner JC. Aneurysmal rebleeding: a preliminary report from the Cooperative Aneurysm Study. *Neurosurgery* 1983;13:479-81.
8. Hillman J, von Essen C, Leszniewski W et al. Significance of "ultra-early" rebleeding in subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1988;68:901-7.
9. Ando T, Sakai N, Yamada H et al. Analysis of reruptured cerebral aneurysms and the prophylactic effects of barbiturate therapy on the early stage. *Neurol Res* 1989;11:245-8.
10. Aoyagi N, Hayakawa I. Study on early re-rupture of intracranial aneurysms. *Acta Neurochir* 1996;138:12-8.
11. Brillstra EH, Rinkel GJ, Algra A et al. Rebleeding, secondary ischemia, and timing of operation in patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurology* 2000;55:1656-60.
12. Laidlaw JD, Siu KH. Ultra-early surgery for aneurysmal subarachnoid hemorrhage: outcomes for a consecutive series of 391 patients not selected by grade or age. *J Neurosurg* 2002;97:250-8.
13. Roos YBWEM, Rinkel GJE, Vermeulen M et al. Antifibrinolytic therapy for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. (Cochrane Review). I: The Cochrane Library, Issue 2, 2003. Oxford: Update Software.

Stamcelleterapi ved iskæmisk hjertesygdom

1. reservelæge Axel Cosmus Pyndt Diederichsen,
1. reservelæge Jacob Eifer Møller,
reservelæge Malthe A.M. Kristiansen,
reservelæge Susanne Gjørup Sækmose,
professor Torben Barington, overlæge Lars M. Videbæk,
professor Moustapha S. Kassem & overlæge Per Thayssen

Odense Universitetshospital, Center for Stamcellebehandling,
Kardiologisk Afdeling B, Endokrinologisk Afdeling M og
Klinisk Immunologisk Afdeling

Ventrikulær remodelering og ultimativt hjertesvigt er hyppige konsekvenser af større myokardieinfarkter. Indtil for nylig har man formodet, at hjertet ikke havde mulighed for at regenerere. De senere år er der dog fundet flere subpopulationer af stamceller i knoglemarven, og i dyremodeller kan disse stamceller differentiere til endotelceller og kardiomyocytter og derved bidrage til både nydannelse af kar og dannelse af nye funktionelle myocytter. Denne opdagelse har ført til kliniske undersøgelser med anvendelse af stamceller fra knoglemarven ved kronisk iskæmisk hjertesygdom og i efterforløbet af akut myokardieinfarkt (AMI). Disse to tilstande adskiller sig ved, at der ved kronisk iskæmisk hjertesygdom ofte findes store områder med bevaret myokardievæv, der fungerer dårligt grundet aterosklerotisk småkarssygdom, hvorimod der ved AMI ses udtalt cellenekrose. Hypotesen har været, at stamceller kunne afhjælpe disse tilstande ved at medvirke til dannelse af nye kargebeter og erstatte nekrotiske myocytter.

Da man endnu ikke ved, hvilken stamcelletype der har det største behandlingspotentiale, har man i de fleste kliniske undersøgelser anvendt hele den mononukleare cellefraktion fra et autologt knoglemarvspirat eller fra perifert blod efter granulocytolonistimulerende faktor (G-CSF)-stimulation. Denne fraktion indeholder ud over stamceller også modne og umodne myeloide og lymfoide celler. Antallet af stamceller er meget lavt og udgør afhængigt af typen fra 0,01% til 2% af det samlede antal celler. Disse stamceller har i in vitro-for-

søg vist sig at kunne differentiere til såvel endotelceller som myocytter.

I undersøgelser med mennesker har patienter med akut og kronisk iskæmisk hjertesygdom fået implanteret ovenstående celleprodukt i et eller flere iskæmiske områder af hjertet på tre forskellige måder: injiceret i koronararkar ved selektiv koronarkateterisation, direkte i hjertemusklen i forbindelse med koronar bypassoperation eller endokardialt via et kateter i venstre ventrikel. Resultaterne har været opmuntrende med forbedringer af venstre ventrikels funktion og myokardialperfusion. Efter intrakoronar injektion har man i dyremodeller fundet et relativt lille antal stamcellederivede myocytter og endotelceller (<4%) i infarktområdet, hvilket næppe forklarer den gunstige effekt af behandlingen. Virkningsmekanismen er fortsat uklare, men flere muligheder er nævnt: stimulation af angiogenesen, nydannelse af myocytter eller beskyttelse af genuine myocytter (ved sekretion af cytokiner/vækstfaktorer eller en immunmodulatorisk effekt).

Formålet med denne statusartikel er at give et overblik over de kliniske patientundersøgelser, der er udført med stamceller ved iskæmisk hjertesygdom (**Tabel 1**).

Kronisk iskæmisk hjertesygdom

I tre ikke-randomiserede undersøgelser [1-3] inkluderede man i alt 32 patienter med stabil angina pectoris, der var maksimalt medicinsk og invasivt behandlet. Stamceller fra knoglemarv blev injiceret via venstre ventrikel (transendokardialt) i områder med reversibel iskæmi (identificeret ved *single photon emission computed tomography* og elektromekanisk *mapping*). Patienterne oplevede aftagende angina [1-3] og åndenød samt

Hos patienter med akut myokardieinfarkt behandlet med primær perkutan koronar intervention vil koronar infusion af knoglemarvsstamceller kunne forebygge tab af systolisk venstre ventrikel-funktion ved at beskytte genuine myocytter.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

havde forbedret maksimal arbejdskapacitet; desuden fandt man forbedring i uddrivningsfraktionen (EF) (fra 20% til 29%), forbedret vægbevægelighed og regional myokardieperfusion [2]. Man fandt ingen betydende komplikationer ved behandlingen. Resultaterne er overvejende hypotesegenererende, og om end de er opmuntrende, er de svære at tolke, da populationerne var meget små, og da der ikke fandt en regelret randomisering sted. Patienterne fungerede som egenkontrol [1, 3] eller blev sammenlignet med lignende patienter [2]. I en anden undersøgelse inkluderede man seks patienter med stabil angina pectoris [4]. I forbindelse med *coronary artery by-pass grafting*-operation injicerede man stamceller i cirkumferensen af infarktområdet, også her rapporteredes der om forbedret EF (fra 36% til 49%) og myokardieperfusion. Resultatet er betydelig begrænset pga. manglende kontrolgruppe og samtidig intervention i form af koronar revaskularisering.

Akut myokardieinfarkt

Til dato er der er publiceret tre ikke-randomiserede undersøgelser [5-7] med i alt 34 patienter, der var blevet behandlet med primær perkutan koronar intervention (PCI) for ST-elevations-AMI. Patienterne fik i forbindelse med efterfølgende koronar angiografi injiceret stamceller i den infarktrelaterede arterie. Patienterne modtog enten celler fra knoglemarv [5, 6] eller - efter at de var blevet behandlet med injektion af G-CSF i fire dage - celler fra perifert blod [7]. Efter 3-6

Behandling med knoglemarvsstamceller af patienter med iskæmisk hjertesygdom synes at være uden betydende bivirkninger på kort sigt, og det tyder på, at der sker såvel subjektiv lindring som objektiv bedring af venstre ventrikel systoliske funktion.

måneder fandt man i undersøgelser stigende EF (henholdsvis stigende fra 52% til 60% [6] og fra 48% til 55% [7]), forbedret regional bevægelighed og myokardieperfusion. I studiet, hvor man forbehandlede patienterne med G-CSF [7], fandt man imidlertid et forøget antal *in stent*-stenoser, hvorfor studiet blev stoppet. Disse *in stent*-stenoser har man ikke kunnet genfinde i andre studier, men fundet [7] giver anledning til forsigtighed med brug af G-CSF til patienter, hos hvem der er foretaget PCI. Der var i øvrigt ikke nogen betydende bivirkninger ved behandlingen.

Disse præliminære undersøgelser har dannet grundlag for to randomiserede undersøgelser. I den europæiske BOOST-undersøgelse [8] indgik der i alt 60 patienter med ST-elevations-AMI, behandlet succesfuldt med primær PCI (**Figur 1**). Ved randomisering blev 30 patienter inden for fem dage ublindet behandlet med intrakoronar stamcelleinfusion. Stamcellerne blev høstet ved knoglemarvspunktur (i gennem-

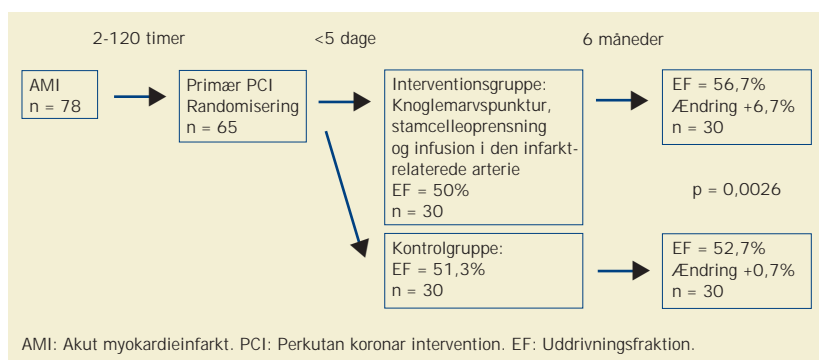
Tabel 1. Oversigt over de publicerede kliniske undersøgelser med stamcelleterapi ved iskæmisk hjertesygdom.

Studie	Sygdom	Celletype	Infusion	Patientantal/ randomisering	Opfølgningstid	Resultat	Komplikationer
Tse et al [1]	Angina pectoris	Knoglemarv	Transendokardialt EMM-vejledt	8/ingen	3 måneder	Aftagende angina Uændret EF Mindre perfusionsdefekt	Ingen
Perin et al [2]	Kronisk iskæmisk hjertesvigt	Knoglemarv	Transendokardialt EMM-vejledt	14/ingen	4 måneder	Aftagende åndenød og smerter Øget EF fra 20% til 29%	Ingen
Fuchs et al [3]	Angina pectoris	Knoglemarv	Transendokardialt EMM-vejledt	10/ingen	3 måneder	Aftagende angina Uændret EF	Ingen
Stamm et al [4]	AMI	Knoglemarv	Intramyokardial under CABG	6/ingen	3 måneder	Øget EF 36% til 49% Mindre perfusionsdefekt	Ingen
Strauer et al [5]	AMI	Knoglemarv dyrket i 1 døgn	Intrakoronar	10/ingen	3 måneder	Uændret EF Mindre ventrikelvolumen Mindre perfusionsdefekt	Ingen
Assmus et al [6]	AMI	Knoglemarv/ Perifert blod dyrket 3 døgn	Intrakoronar	9 + 11/ingen	4 måneder	Øget EF 52% til 60% Øget viabilitet	Ingen
Kang et al [7]	AMI	Perifert blod efter 3 dages G-CSF-injektion	Intrakoronar	10/7	6 måneder	Øget EF fra 48% til 55% Mindre perfusionsdefekt	Ingen
Wollert et al [8]	AMI	Knoglemarv	Intrakoronar	30/30	6 måneder	Øget EF fra 50% til 57% p = 0,0026	Ingen
Chen et al [9]	AMI	Knoglemarv dyrket 7-10 dage	Intrakoronar	34/35	6 måneder	Øget EF fra 53% til 67%, p<0,05 Mindre perfusionsdefekt	Ingen

EMM: elektromekanisk mapping. AMI: Akut myokardieinfarkt. G-CFS: granulocytolonistimulerende faktor. CABG: *coronary artery by-pass grafting*. EF: uddrivningsfraktion.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Figur 1. Forløb ved BOOST-undersøgelsen.



snit 128 ml knoglemarv). Knoglemarvsaspiratet blev oprenset og indeholdt herefter $24,6 \times 10^8$ celler, heraf $9,5 \times 10^6$ CD34⁺-celler og $3,6 \times 10^6$ hæmatopoietiske kolonidannende celler. Umiddelbart efter oprensning blev cellesuspensionen infunderet i den infarktrelaterede arterie via et *over-the-wire*-ballonkateter. Under celleinfusionen blev arterien okkluderet i 2½-4 minutter, og dette blev gentaget 4-5 gange i samme seance. Efter seks måneder fandt man ved vurdering med magnetisk resonans-skanning en signifikant større stigning i EF i den stamcellebehandlede gruppe end i den gruppe, der ikke var blevet behandlet med stamceller (fra 50% til 56,7% versus fra 51,3% til 52%, $p = 0,0026$). Slutdiastolisk volumen steg i begge grupper og mest i stamcellegruppen, men ikke signifikant. Der blev ikke fundet signifikante forskelle i udvikling af *in stent*-stenoser. I en lignende kinesisk undersøgelse [9] indgik der 69 patienter med ST-elevations-AMI behandlet med primær PCI. På ottendedagen efter AMI blev knoglemarven høstet (60 ml knoglemarv) og derefter dyrket i 7-10 dage. Herefter fik 34 patienter injiceret cellesuspensionen ($8-10 \times 10^9$ celler), mens 35 fik saltvandsinfusion i den infarktrelaterede arterie via et *over-the-wire*-ballonkateter. Under stamcelleinfusionen blev koronararterien okkluderet i to minutter. Man påviste efter seks måneder en signifikant øget EF (fra 49% til 67% versus fra 48% til 54%, $p < 0,05$), aftagende slutdiastolisk og slutsystolisk volumen af venstre ventrikel, forbedret vægbevægelse og regional myokardieperfusion. Disse studier er lovende. Det er dog i BOOST-undersøgelsen påfaldende, at EF ikke steg i kontrolgruppen, hvor man ville forvente en spontan stigning i EF i månederne efter et AMI, og desuden betænkeligt, at slutdiastolisk volumen steg, da dette ofte er forbundet med en forøget risiko for at få hjertesvigt. Med denne korte observationstid fandt man i disse studier ikke nogen betydende bivirkninger.

Risiko ved stamcellebehandling

Som tidligere anført er der i G-CSF-studiet [7] påvist udvikling af *in stent*-stenoser, men derudover er der ikke påvist korttidbivirkninger. I hundeforsøg er der beskrevet mikroinfarkter, men der har ikke været holdepunkter for dette i de kliniske undersøgelser. Ved anvendelse af celler derivet fra

tværstribet muskulatur er der set forekomst af alvorlige arrytmier, og nyere data har bevirket bekymring for, at anvendelse af embryonale stamceller kan være forbundet med forøget risiko for udvikling af neoplasier. Med henblik på afklaring af risici er yderligere studier ønskelige.

Konklusion

Sammenfattende kan det siges, at stamcelleterapi er en lovende nytænkende terapiform, hvor der for første gang synes at være potentiale for at regenerere myokardievæv og deraf følgende mulighed for forbedret venstre ventrikels funktion ved iskæmisk hjertesygdom. Ved kronisk iskæmisk hjertesygdom er den nuværende viden mangelfuld, og der er stort behov for velkontrollerede randomiserede undersøgelser. Ved akut iskæmisk hjertesygdom er evidensen bedre, om end de randomiserede studier er små. Der er endnu ingen undersøgelser, hvori hårde endepunkter belyses, men meget tyder på, at stamcelleterapi øger EF. Til sammenligning er der i tidligere banebrydende kardiologiske studier som det danske DANAMI-2-studie med 1.572 patienter (PCI versus trombolyse) ikke fundet signifikant ændret EF (data er endnu ikke publiceret), mens man i de ældre randomiserede trombolysestudier (\pm trombolyse) påviste let stigende EF (4-5%). Baseret på de potentielle gener for patienterne og risiko for bivirkninger på langt sigt er der dog krav om betydeligt bedre evidensniveau før behandlingen kan implementeres som standardbehandling.

Korrespondance: Axel Cosmus Pyndt Diederichsen, Kardiologisk Afdeling B, Odense Universitetshospital. E-mail: a.diederichsen@dadlnet.dk

Antaget: 11. juli 2005
Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

1. Tse HF, Kwong YL, Chan J et al. Angiogenesis in ischemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear transplantation. *Lancet* 2003;361:47-9.
2. Perin EC, Dohmann HFR, Borojevic R et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003;107:2294-302.
3. Fuchs S, Sattler 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.

4. Stamm C, Westphal B, Kleine HD et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003;361:45-6.
5. 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.
6. Assmus B, Schachinger V, Teupe C et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106:3009-17.
7. Kang H-J, Kim H-S, Zhang S-Y 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.
8. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004;364:141-8.
9. Chen SF, Fang WW, Qian J et al. Improvement of cardiac function after transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in patients with acute myocardial infarction. *Chin Med J* 2004;117:1443-8.

Retskemi

Analytiske udviklingstendenser og farmakologiske aspekter

Professor Kristian Linnert

Københavns Universitet, Retsmedicinsk Institut

Retskemi omfatter analyse og farmakologisk fortolkning af prøver i retslig sammenhæng. Det drejer sig om post mortem-prøver udtaget ved retslige obduktioner og prøver fra personer, der er involveret i politisager, f.eks. trafikksager eller straffesager. Ofte er der tale om analyse for alkohol, lægemidler og rusmidler. Området omfatter også analyse af illegale stoffer beslaglagt af politiet. Endelig er der tradition for at foretage opgørelser over udviklingen i forgiftnings- og misbrugs mønstre.

Analytiske udviklingstendenser

I de senere år er sædvanlige analyseteknikker som gas- og væskechromatografi i stadig højere grad blevet erstattet af kombinerede procedurer, hvori der indgår massespektrometri, som er karakteriseret ved, at de udviser øget specificitet og sensitivitet, ligesom ukendte stoffer kan identificeres ved sammenligning af et optaget massespektrum med massespektre lagret i biblioteker [1]. Stofidentifikation ud fra eksakt massebestemmelse ved kvadrupol-*time-of-flight*-massespektrometri er også en mulighed.

I forbindelse med indførelse af akkreditering af analyselaboratorier er der kommet øget fokus på analysevalidering, kvalitetssikring og usikkerhedsvurdering af analyseresultater. Ofte er det hensigtsmæssigt at følge internationale standarder eller retningslinjer publiceret af organisationer som International Standards Organization, International Federation of Clinical Chemistry, Clinical Laboratory Standards Institute, Society of Forensic Toxicology m.fl. På basis heraf kan der angives en standardiseret vurdering af usikkerheden (*uncertainty* (u)) ved analyseresultater. Denne består i princippet af

en præanalytisk (PA), analytisk (A) og sporbarhedsrelateret (SP) usikkerhedskomponent ($u = [u_{PA}^2 + u_A^2 + u_{SP}^2]^{0.5}$) [2]. Ud fra u kan der angives et approksimativt 95% sikkerhedsinterval som $\pm 2u$ omkring måleværdien. I retskemi udgør den præanalytiske variationskomponent ofte et særligt problem pga. post mortem-redistribution og diffusion af visse lægemidler som f.eks. tricykliske antidepressiva, hvor blodkoncentrationen kan stige postmortelt og dermed vanskeliggøre den toksikologiske fortolkning. Specificering af usikkerhed har betydning ved relatering af resultater til publicerede referenceintervaller eller til grænseværdier for toksicitet. En særlig problemstilling er fastlæggelse af detektionsgrænsen ved påvisning af lægemidler. Denne fastlæggelse bør foretages på en standardiseret måde, hvor der tages hensyn til både type I- og type II-fejlniveauer [2].

Farmakokinetiske aspekter i relation til intoksikationer: interaktioner og genetisk betinget variation

Forgiftninger kan være akutte, oftest begået med overlæg, eller kroniske, oftest relateret til ikkeintenderet, kronisk akkumulation af et lægemiddel. For sidstnævnte kategori har lægemidler og rusmidlers omsætningsforhold betydning, og fokus har her været på det vigtigste enzymomsætningsystem, cytochrom P450 (CYP) – specielt aspekter relateret til genetisk variation og interaktioner. Det har her været overvejet, i hvor høj grad manglende funktion af CYP-enkeltzymer måtte bidrage til intoksikation. Manglende funktion kan være et resultat af genetisk polymorfi eller hæmning pga. andre stoffer (farmakokinetisk interaktion). Der har været særlig fokus på genetisk polymorfe enzymer (som f.eks. CYP2D6) rolle i relation til psykofarmaka og misbrugsstoffers omsætning, idet 7% af kaukasiderne mangler enzymet (»langsomme omdannere« mht. CYP2D6-substrater). Nogle kasuistiske meddelelser har tydet på, at fravær af CYP2D6-aktivitet pga. genetisk polymorfi eller interaktioner i visse tilfælde kan føre til et kro-