

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

Medizinische Klinik III, Abteilung für Kardiologie
am Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität
- Direktor: Prof. Dr. med. A.M. Zeiher -

**Monitoring der intrakoronaren Zelltherapie:
Umfang und Determinanten der Aufnahme von
¹¹¹In-markierten endothelialen Progenitorzellen in das Myokard**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

vorgelegt von
Rainer Joachim Kurt Röver
aus Oberursel

Frankfurt am Main
2009

Dekan:	Prof. Dr. Josef M. Pfeilschifter
Referent:	Prof. Dr. Volker Schächinger
Korreferent:	Prof. Dr. Thomas J. Vogl
Tag der mündlichen Prüfung:	09. Februar 2009

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1 Allgemeines	6
1.2 Die Koronare Herzkrankheit (KHK)	8
1.2.1 Definition	8
1.2.2 Epidemiologie.....	8
1.2.3 Ätiologie	9
1.2.4 Pathogenese	9
1.3 Der akute Myokardinfarkt (AMI)	12
1.3.1 Definition	12
1.3.2 Epidemiologie.....	13
1.3.3 Ätiologie	13
1.3.4 Pathogenese	13
1.4 Kardiales (Linksventrikuläres-) Remodeling	15
1.4.1 Definition	15
1.4.2 Pathophysiologie	15
1.5 Kardiale Stamm- oder Progenitorzelltherapie.....	17
1.5.1 Allgemeines	17
1.5.2 Charakterisierung von Stammzellen	17
1.5.3 Applikationswege	18
1.5.4 Mögliche Effekte der Stamm- und Progenitorzellen	18
1.5.4.1 Vaskulogenese.....	19
1.5.4.2 Umwandlung in Kardiomyozyten	19
1.5.4.3 Zellfusion.....	19
1.5.4.4 Parakrine Effekte	20
1.5.4.4.1 VEGF.....	20
1.5.4.4.2 SDF-1 und CXCR4	20
2. Fragestellung	21

3.	Patienten, Material und Methoden	22
3.1	Patienten.....	22
3.1.1	Einschlußkriterien:.....	23
3.1.2	Ausschlußkriterien:	23
3.2	Zellaufbereitung und -markierung	24
3.3	Herzkatheterprotokoll	26
3.3.1	Diagnostik.....	26
3.3.2	Koronare Intervention.....	27
3.3.3	Kathetersystem	27
3.3.4	Zellinfusion	28
3.4	Ganzkörperszintigraphie und SPECT	28
3.5	¹⁸ F-Fluorodeoxyglucose Positronenemissionstomographie.....	29
3.6	Statistik.....	30
4.	Ergebnisse.....	31
4.1	Klinische Patientenmerkmale	31
4.2	Progenitorzellbezogene Patientenmerkmale	32
4.3	Prädiktive Faktoren des Homings	33
5.	Diskussion und Schlussfolgerung	38
6.	Zusammenfassung.....	43
6.1	Zusammenfassung in deutscher Sprache	43
6.2	Abstract in English	45
7.	Abkürzungen und Akronyme	47
8.	Literaturverzeichnis.....	50
8.	Literaturverzeichnis.....	50
9.	Danksagungen	58
10.	Curriculum Vitae	59
11.	Ehrenwörtliche Erklärung.....	61

1. Einleitung

1.1 Allgemeines

Die chronisch ischämische Herzkrankheit, der Akute Myokardinfarkt und die sich häufig aus diesen entwickelnde Herzinsuffizienz gehören seit Jahren zu den häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrienationen. Im Jahr 2006 starben in Deutschland etwa 185.000 Menschen an den oben genannten Erkrankungen. ^[9]

Tabelle 1a: Todesursachen in der Bundesrepublik Deutschland 2006

Todesursachen	Gestorbene	
	Anzahl	Anteil in %
Chronische ischämische Herzkrankheit	77 845	9,5
Akuter Myokardinfarkt	59 938	7,3
Herzinsuffizienz	47 079	5,7
Bösartige Neubildung der Bronchien und der Lunge	40 744	5
Schlaganfall, nicht als Blutung oder Infarkt bezeichnet	28 566	3,5

Quelle: Statistisches Bundesamt ^[9]

Insbesondere die Behandlungsstrategien des Akuten Koronarsyndroms sind in den letzten Jahren einer dynamischen Entwicklung unterworfen, die unter anderem durch die zunehmende Verbreitung von ständig besetzten Herzkatheterlaboren und die dadurch gestiegene Möglichkeit zur frühzeitigen perkutanen Koronarintervention (PCI) gekennzeichnet ist. Nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie stellt die schnellstmögliche Reperfusion verschlossener Herzkranzgefäße mittels PCI oder medikamentöser Fibrinolyse die vordringlichste Maßnahme zur Behandlung des akuten Koronarsyndroms dar. ^[1]

Dennoch kommt es meist, auch nach erfolgreicher Reperfusionstherapie, in der Folgezeit nach abgelaufenem Myokardinfarkt zum Umbau des betroffenen Ventrikels, dem so genannten „Cardiac Remodeling“, auf dessen Boden sich eine Herzinsuffizienz entwickeln kann. Neue Behandlungsstrategien müssen

deshalb auch darauf abzielen, den Umfang dieses Remodelings zu begrenzen und insbesondere die linksventrikuläre Herzfunktion zu verbessern.

In diesem Zusammenhang haben verschiedene Untersuchungen die Vermutung nahe gelegt, dass körpereigene Stamm- oder Progenitorzellen in der Lage sein könnten, zur Regeneration der Herzfunktion beizutragen.

Eine Vielzahl von klinischen Studien hat sich in den vergangenen Jahren damit befasst, solche Progenitorzellen zur Regeneration des Myokards oder der das Herz versorgenden Koronargefäße einzusetzen. Dabei wurden experimentell sowohl eine Reihe verschiedener Zellen wie Knochenmarksstammzellen (BMC), zirkulierende endotheliale Progenitorzellen (EPC) und Skelettmyoblasten als auch verschiedene Transplantationsverfahren angewendet, die von der reinen Mobilisierung der entsprechenden Zellen in das Gefäßsystem über die intrakoronare Applikation mittels „Stop-Flow-Technik“ bis zur direkten intramyokardialen Injektion reichen. ^[2]

Die Ergebnisse einer Vielzahl von Studien lassen mehrheitlich auf einen günstigen Effekt der Stammzelltherapie auf das ischämisch geschädigte Herz schließen. ^[45] Doch wengleich die Datenlage klinischer Studien auch auf das Potential der kardialen Stammzelltherapie hinweist, bleiben insbesondere in Bezug auf die Mechanismen, durch die die verabreichten Progenitorzellen ihre Wirkung entfalten, viele Fragen offen. Verschiedene Optionen werden in diesem Zusammenhang diskutiert. Denkbar erscheinen sowohl die Differenzierung der Vorläuferzellen in Kardiomyozyten, also die direkte kardiale Regeneration, als auch die Ausbildung neuer Gefäße in den geschädigten Arealen. Sehr wahrscheinlich sind parakrine Effekte der Zellen auf das sie umgebende Gewebe, wengleich die experimentellen Befunde hierüber widersprüchlich sind. ^[4] All diese Mechanismen setzen jedoch voraus dass Progenitorzellen in das geschädigte Gewebe migrieren und sich dort vermehren; ein Vorgang der häufig mit dem Begriff „Homing“ bezeichnet wird.

Einige Studien haben sich mit dem Nachweis dieses Homings durch unterschiedliche bildgebende Verfahren beschäftigt. Dabei wurden mit Radionukliden markierte Zellen mittels Gamma Camera ^[5] oder Single-Photon Emission Computed Tomography (SPECT) ^[6] ebenso wie mit ¹⁸F-Fluorodeoxyglucose markierte Zellen mittels Positronen-Emissions-Tomographie (¹⁸FDG-PET) ^[7] ebenso verfolgt wie mit Eisenpartikeln markierte Zellen in der Magnetresonanztomographie (MRT).

Die dieser Arbeit zugrunde liegende Studie widmete sich dem Nachweis des Homings von ¹¹¹Indium-markierten, ex-vivo kultivierten, zirkulierenden endothelialen Progenitorzellen die einem Kollektiv von 17 Patienten mit akutem oder abgelaufenem Myokardinfarkt intrakoronar appliziert wurden. Ziel der Studie war es, den Umfang des Homings im vorgeschädigten Herzen und die Faktoren zu identifizieren, die es beeinflussen.

1.2 Die Koronare Herzkrankheit (KHK)

1.2.1 Definition

Die Koronare Herzkrankheit (KHK) resultiert aus der Atherosklerose der Herzkranzarterien und der daraus folgenden Koronarinsuffizienz, bei der es zu einem dauerhaften Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf im Myokard kommt. ^[10]

1.2.2 Epidemiologie

Die Koronare Herzkrankheit ist die häufigste Todesursache in den westlichen Industrienationen. Im Jahr 2006 starben 77.845 Menschen in der Bundesrepublik Deutschland an der KHK. Die Lebenszeitprävalenz beträgt für

Männer 30% und für Frauen 15%. ^[9,10] Zu den häufigsten Erstmanifestationsformen einer KHK gehören:

- Angina pectoris (~ 40%)
- Akutes Koronarsyndrom (ACS) und Myokardinfarkt (~ 40%)
- Plötzlicher Herztod (~ 20%)

1.2.3 Ätiologie

Für die Entstehung einer Koronaren Herzkrankheit ist eine Reihe von Risikofaktoren mitverantwortlich. Zu diesen Risikofaktoren gehören:

- Zigarettenrauchen
- Arterielle Hypertonie
- LDL-Hypercholesterinämie
- HDL-Hypocholesterinämie
- Lebensalter (m \geq 45 Jahre, w \geq 55 Jahre)
- KHK oder Herzinfarkte bei erstgradigen Familienangehörigen
- Diabetes mellitus

Darüber hinaus gibt es weitere Risikofaktoren, die die Entstehung einer Koronarsklerose begünstigen, wie Adipositas, Lipidstoffwechselstörungen, Thromboseneigung oder Hyperhomocysteinämie. ^[10]

1.2.4 Pathogenese

Die KHK ist die koronare Manifestation der Atherosklerose, welche in mehreren Stufen verläuft. Ihr Ausgangspunkt ist eine endotheliale Dysfunktion, die den Eintritt von oxidiertem LDL und die Anlagerung von Makrophagen an das geschädigte Gefäßendothel begünstigt. Mit fortschreitendem Krankheitsverlauf wandern die Makrophagen in die Gefäßwand ein und bilden zwischen

Endothelzellen und Tunica media die sog. Neointima. Gemeinsam mit proliferierenden glatten Muskelzellen phagozytieren sie vermehrt die dort abgelagerten Lipidpartikel und entwickeln sich zu sog. Schaumzellen. Es entsteht eine „Fatty-Streak“-Läsion.

Im weiteren Verlauf wächst der atherosklerotische Plaque durch zunehmende Einlagerung von Lipiden, Makrophagen und die weitere Proliferation von glatten Muskelzellen. Diese wandeln sich nun in Zellen um, die aktiv Grundsubstanz sezernieren und somit eine fibröse Kappe um die Plaque bilden. Da die Endothelschicht der Neointima unter anderem ihre antikoagulatorischen Eigenschaften verloren haben, kommt es zur vermehrten Anlagerung von Thrombozyten auf der Gefäßwand. Somit entsteht das Vollbild der Atherosklerose, die das Gefäßlumen einengt. ^[13]

Die zunehmende Einengung der Koronargefäße bleibt jedoch in der Regel über Jahre asymptomatisch und manifestiert sich erst bei einer Stenose von mehr als 75%. Bei einigen Patienten verläuft die KHK selbst bei höhergradiger Einschränkung asymptomatisch (stumme Ischämie).

Anatomisch betrachtet sind die Lokalisation einer Stenose und der koronare Versorgungstyp von mitunter entscheidender Bedeutung für die mittel- und langfristigen Folgen einer chronischen Ischämie oder eines Myokardinfarktes. Die Blutversorgung des Herzens erfolgt dabei aus den drei großen Koronararterien und ihren Abgängen:

- RCA (right coronary artery): Ursprung direkt aus dem Aortenbulbus und verzweigt sich in den RIVP (Ramus interventricularis posterior) und RPLD (Ramus posterolateralis dexter).
- RIVA (Ramus interventricularis anterior): Entsteht aus dem linken Hauptstamm und verzweigt sich in Diagonal- und Septaläste
- RCX (Ramus circumflexus): Zweigt ebenfalls vom linken Hauptstamm ab und verzweigt sich in Seiten- oder Marginaläste sowie den RPLS (Ramus posterolateralis sinister).

Abhängig davon, welches dieser drei Hauptgefäße erkrankt ist, spricht man von einer koronaren Ein-, Zwei- oder Dreigefäßerkrankung. Anhand der Areale, die von den genannten Gefäßen versorgt werden, lassen sich so genannte Versorgungstypen unterscheiden. Am weitaus häufigsten (75%) ist hierbei der ausgeglichene Versorgungstyp, bei dem Vorderwand (RIVA) und Kammerseptum (RCX) im Wesentlichen aus dem linken Hauptstamm, die diaphragmale Hinterwand und der rechte Ventrikel hingegen aus der rechten Koronararterie (RCA) versorgt werden. ^[12] In Unterscheidung hiervon existieren jedoch auch ein Links- (11%) bzw. Rechtsversorgungstyp (14%) bei denen jeweils ein Schenkel ein größeres Versorgungsgebiet besitzt. ^[12] In diesem Zusammenhang seien auch die Ausbildung von Kollateralgefäßen zwischen den genannten Arterien erwähnt, die für die Auswirkungen einer subtotalen Stenose oder einer vollständigen Verschlusses von großer Bedeutung sind, weil sie gegebenenfalls einen Ausfall der Blutversorgung teilkompensieren können - eine Fähigkeit, die auch für die intrakoronare Stammzelltherapie von Bedeutung ist.

Die Durchblutung der Herzmuskulatur erfolgt transmural von epikardial nach subendokardial. Sie wird durch den Perfusionsdruck auf der einen, und den Koronarwiderstand auf der anderen Seite beeinflusst. Letzterer setzt sich aus drei Komponenten zusammen:

- Die proximale Komponente ist abhängig von der Lumenweite epikardialer Arterien und verändert sich durch das Vorhandensein von Stenosen.
- Die distale Komponente wird bestimmt vom Widerstand der intramyokardialen Widerstandsgefäße, die im Wesentlichen einer Autoregulation unterworfen sind.
- Die extravasale Komponente wird zum großen Teil durch den enddiastolischen Druck des linken Ventrikels (LVEDP) bestimmt, und beeinflusst den transmuralen Widerstandsgradienten.

Die Fähigkeit des Herzens, seine Durchblutung im Bedarfsfall zu steigern wird in der Hauptsache durch die Dilatation der intramyokardialen Widerstandsgefäße gewährleistet und als Koronarreserve bezeichnet.

Für die hämodynamische Relevanz einer Koronarstenose sind verschiedene Faktoren verantwortlich, die sich in statische und dynamische Komponenten unterscheiden lassen.^[11] Die statische Komponente ist dabei in der Hauptsache durch den Grad der Stenose bestimmt, der sich in vier Stufen unterscheiden lässt:

Grad I:	25-40% (ohne klinische Bedeutung)
Grad II:	50-74% (signifikante Stenose)
Grad III:	74-99% (kritische Stenose)
Grad IV:	100% (vollständiger Verschluss)

Hinzu treten die dynamischen Faktoren Vasokonstriktion, mikrovaskuläre Dysfunktion und Thrombose, die Einfluss auf die Koronardurchblutung haben, und die Entstehung von stabiler Angina pectoris oder eines Akuten Koronarsyndroms (ACS) begünstigen.

1.3 Der akute Myokardinfarkt (AMI)

1.3.1 Definition

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle entsteht ein Akuter Myokardinfarkt (AMI) auf dem Boden einer lange vorher bestehenden koronaren Herzerkrankung, und ist dennoch häufig ihre Erstmanifestation. Nach WHO-Definition liegt ein AMI vor, wenn bei gleichzeitig bestehender instabiler Angina pectoris enzymatische Marker einer Myokardischämie nachweisbar sind.^[10]

1.3.2 Epidemiologie

Mit 59.938 Todesfällen in 2006 stellt der Akute Myokardinfarkt die zweithäufigste Todesursache in der Bundesrepublik Deutschland dar. ^[9] Die Inzidenz beträgt in Deutschland etwa 300 Infarkte pro 100.000 Einwohner pro Jahr. ^[10]

1.3.3 Ätiologie

Ursache eines Akuten Myokardinfarktes ist in der Regel eine lange vorbestehende KHK. Seltener Ursachen stellen thrombembolische Geschehen durch z.B. paradoxe Embolien oder disseminierte intravasale Gerinnung (DIC), entzündliche Gefäßerkrankungen wie das Kawasaki-Syndrom oder kardiale Traumata dar.

1.3.4 Pathogenese

Auf dem Boden einer KHK können körperliche Anstrengung, erhöhte myokardiale Kontraktilität, gesteigerte Herzfrequenz, erhöhter Blutdruck und vermutlich Vasokonstriktion zu einer Ruptur der unter 1.2.4 beschriebenen Plaques führen. ^[15] In der Folge einer Plaqueruptur kommt es dann zum subtotalen oder totalen Verschluss des Herzkranzgefäßes und zur akuten Minderperfusion des distalen Myokardabschnitts. ^[14]

In den meisten Fällen rupturieren Plaques in der sog. Schulterregion zwischen gesunder Intima und fibröser Deckkappe, da hier die mechanische Belastung am größten ist. Oftmals sind dabei feinste Risse ausreichend, um die entzündlich hochaktive subendotheliale Matrix freizulegen und die Gerinnungskaskade im Blut in Gang zu setzen. Es kommt zur primären Hämostase, die gekennzeichnet ist durch Thrombozytenadhäsion über den GP-Ib-Rezeptor und zur Aktivierung der Thrombozyten über den von-Willebrand-Faktor mit daraus resultierender Freisetzung von Thromboxan A₂ und Serotonin. In der Folge kommt es zur Aktivierung des GP-IIb/IIIa-Rezeptors, der

Fibrinogen bindet und zur Thrombozytenaggregation führt. Darüber hinaus kommt es zur sekundären Hämostase, die über freierwerdendes Kollagen und Gewebsthrombokinase im Blut mit Faktor VIIa reagiert und die plasmatische Gerinnungskaskade aktiviert. Es folgt die Bildung von Thrombin (Faktor IIa) und die Ablagerung von Fibrin. ^[15]

Myokardinfarkte lassen sich auf verschiedene Weise differenzieren. Wir unterscheiden in diesem Zusammenhang einen transmuralen Myokardinfarkt, der das Gefäß proximal verschließt und alle Wandschichten betrifft vom nicht-transmuralen Myokardinfarkt, der seinen Ursprung weiter distal hat und beispielsweise nur eine subendokardiale Ischämie hervorruft. Auch die Lokalisation des Infarktes in Bezug auf sein Versorgungsgebiet dient der Unterscheidung:

Tabelle 1b: Differenzierung des AMI nach Infarktlokalisierung

Koronararterie	Infarktlokalisierung
RIVA proximal	Großer Vorderwandinfarkt
RIVA nach Abgang der Diagonaläste	Anteroseptaler Infarkt
Diagonalast / Posterolateralast	Lateralwand
RCX	Posteriorer Hinterwandinfarkt
RCA	Inferiorer Hinterwandinfarkt, rechtsventrikulärer Infarkt.

Quelle: Herold et al.: Innere Medizin ^[10]

Anhand ihres Erscheinungsbildes im EKG unterscheiden wir den ST-Hebungsinfarkt (STEMI), dessen Infarktzeichen direkt im EKG sichtbar sind und der in 3 Stadien verläuft vom Nicht-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI) der durch Enzymanstieg bewiesen werden kann. ^[10]

1.4 Kardiales (Linksventrikuläres-) Remodeling

1.4.1 Definition

Unter dem Begriff „Remodeling“ versteht man Umbaumechanismen, insbesondere des linken Ventrikels (LV), die in Folge einer akuten oder chronischen Myokardischämie auftreten.

1.4.2 Pathophysiologie

Bereits in der Akutphase einer myokardialen Ischämie kommt es zu einer systolischen und diastolischen Dysfunktion des Herzens. Sind diese Phänomene spontan reversibel, sprechen wir von „stunning“, bilden sie sich erst nach Wiederherstellung des Blutflusses zurück von „hibernating myocardium“. ^[16] Da die Ischämietoleranz des Myokards längstens 30 Minuten beträgt, kommt es bei länger andauernder Ischämie zu irreversiblen Myokardschäden, bei denen verschiedene zelluläre, molekulare und neurohormonelle Mechanismen eine Rolle spielen. ^[14,16]

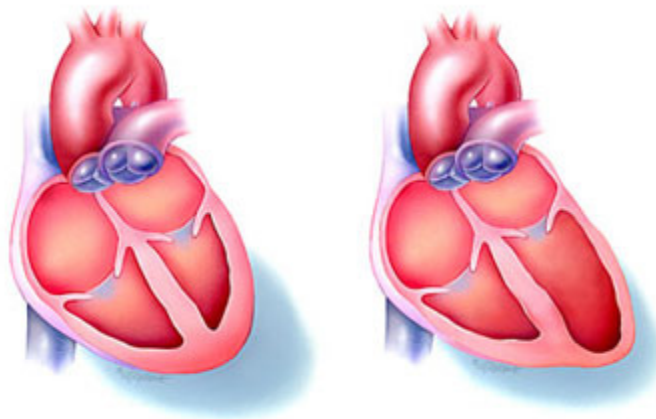
Der infolge einer Ischämie entstehende oxidative Stress führt zur Bildung freier Sauerstoffradikale und Zytokinfreisetzung (TNF-alpha), die zusätzlich zum nekrotischen Zelluntergang auch den programmierten Zelltod, die Apoptose, in Gang setzen. Es kommt zum fortschreitenden Verlust von Kardiomyozyten. Die übrig gebliebenen Kardiomyozyten hypertrophieren, während es im Bereich des untergegangenen Gewebes zur Narbenbildung und zum fibrotischen Gewebsumbau durch Einwanderung von Fibroblasten und die vermehrte Bildung von fibrillärem Kollagen kommt.

In der frühen Post-Infarkt-Phase stellt das kardiale Remodeling zunächst einen Anpassungsmechanismus dar, der hilft, eine Volumenüberlastung des linken Ventrikels zu kompensieren.

Makroskopisch betrachtet kommt es in Reaktion auf die Volumenüberlastung zu einer Dilatation des linken Ventrikels, die jedoch von einer nur unzureichenden Hypertrophie der Kardiomyozyten begleitet wird. Die Folge ist eine Zunahme sowohl des endsystolischen als auch des enddiastolischen linksventrikulären Volumens und eine Abnahme der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF), die sich klinisch im Bild einer Herzinsuffizienz manifestieren. ^[16]

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die Kombination verschiedener Medikamente (ACE-Hemmer, Beta-Blocker, Aldosteron-Antagonisten, Statine) geeignet ist, das Ausmaß des kardialen Remodelings zu verringern. Auch immunmodulatorische Therapieverfahren könnten hierbei künftig eine Rolle spielen. ^[16, 17]

Abbildung 1: Ventrikulärer Umbau durch „Cardiac Remodeling“



Quelle: Heart Rhythm Society ^[44]

1.5 Kardiale Stamm- oder Progenitorzelltherapie

1.5.1 Allgemeines

In den vergangenen Jahren haben diverse Studien gezeigt, dass die intrakoronare oder intramyokardiale Stammzelltherapie eine weitere, viel versprechende Therapieoption bei chronischer KHK oder nach stattgehabtem Myokardinfarkt darstellt. So zeigte unter anderem die Auswertung der 1-Jahres Follow-Up Daten der REPAIR-AMI Studie eine signifikante Reduktion der kumulativen klinischen Endpunkte Tod, Myokardinfarkt oder Revaskularisierung bei Patienten, die innerhalb von 3-7 Tagen nach stattgehabtem Myokardinfarkt Knochenmarksstammzellen erhalten hatten ^[3].

Grundsätzlich kommen bei der kardialen Stamm- oder Progenitorzelltherapie sowohl unterschiedliche Zelltypen als auch verschiedene Applikationsverfahren in Betracht.

1.5.2 Charakterisierung von Stammzellen

Grundsätzlich lassen sich im Zusammenhang mit der Zelltherapie zunächst embryonale Stammzellen (ES) und adulte Stamm- oder Progenitorzellen voneinander differenzieren. Der Einsatz Embryonaler Stammzellen ist jedoch zurzeit sowohl aus rechtlichen und ethischen Gesichtspunkten (Verbot des Klonens embryonaler Stammzellen) sowie aus praktischen Erwägungen (Gefahr der Infektübertragung, Teratombildung) schwierig, und soll in dieser Arbeit deshalb nicht weiter thematisiert werden. ^[18]

Diverse Studien haben gezeigt, dass verschiedene Arten adulter Stamm- oder Progenitorzellen experimentell und therapeutisch eingesetzt werden können. Die ersten, in diesem Zusammenhang verwendeten Zellen waren Skelettmyoblasten, die aus Muskelbiopsien gewonnen wurden. Nach ihrer Gewinnung wurden diese autologen Zellen für mehrere Tage oder Wochen ex-vivo kultiviert und anschließend direkt in den Herzmuskel appliziert. Die heute

am häufigsten eingesetzten Zellen sind bone-marrow-derived progenitor cells (BMCs) und endotheliale Progenitorzellen (EPCs). Letztere werden in klinischen Studien sowohl im zur kardialen Regeneration, als auch zur Therapie der peripheren Arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) eingesetzt. ^[4]

1.5.3 Applikationswege

Die Wege, auf denen die oben genannten Stammzellen appliziert wurden, hingen im Wesentlichen von deren individuellen Fähigkeiten ab. Während EPCs und BMCs die Fähigkeit besitzen, das Gefäßsystem zu verlassen, und in das umgebende Gewebe zu migrieren, sind Skelettmyoblasten hierzu nicht in der Lage. Ihre Applikation erfolgte daher im Wesentlichen auf chirurgischem Weg - entweder durch direkte oder katheter-basierte intramyokardiale Injektion, verbunden mit den entsprechenden Risiken wie der Perforation des Ventrikels.

Für die Applikation der EPCs und BMCs hat sich heute die intrakoronare Applikation mittels Ballon-Kathetern, wie sie zur PTCA verwendet werden, durchgesetzt. Dabei werden die Zellen nach der Okklusion des Gefäßes („Stop-Flow-Technik“) appliziert, um ein kurzzeitiges Sistieren des Blutflusses und damit eine bessere Anhaftung der Zellen an die Gefäßwand zu erreichen.

Wenngleich es sich hierbei zwar um einen weniger invasiven Applikationsweg handelt, bringt die intrakoronare Applikation den Nachteil mit sich, dass nicht durchblutete Myokardareale auf diese Weise nicht direkt, sondern bestenfalls über Kollateralgefäße erreicht werden können. ^[4]

1.5.4 Mögliche Effekte der Stamm- und Progenitorzellen

Die Frage, auf welche Weise die applizierten Stamm- und Progenitorzellen ihre Wirkung entfalten, wird vielfach diskutiert. Verschiedene Hypothesen sind in diesem Zusammenhang denkbar:

1.5.4.1 Vaskulogenese

Die Neovaskularisierung im adulten Organismus wird im Wesentlichen von Angiogenese, Arteriogenese und Vaskulogenese vermittelt. Während sich der Begriff Angiogenese auf die Neubildung von Kapillaren durch Aussprossung aus bereits bestehenden Blutgefäßen bezieht, bezeichnet man mit Arteriogenese das strukturelle Remodeling bestehender Kapillargefäße bei der Ausbildung von Kollateralen. Die tatsächliche Neuausbildung von Gefäßen unter Beteiligung endothelialer Progenitorzellen bezeichnen wir als Vaskulogenese. ^[18]

1.5.4.2 Umwandlung in Kardiomyozyten

Während Embryonale Stammzellen noch in der Lage sind, spontan in Kardiomyozyten zu differenzieren, ist den Adulten Stamm- oder Progenitorzellen diese Fähigkeit abhanden gekommen. Zwar gelang es, mesenchymale Stammzellen (MSCs) in vitro durch Zugabe von 5'-Azacytidine zu Kardiomyozyten zu differenzieren. Für EPCs gelang dies bislang jedoch nur im Co-Kultur-Ansatz, weswegen ein Beweis der vollen Funktionsfähigkeit der in Richtung Kardiomyozyt differenzierten Zellen aussteht. ^[18,19]

1.5.4.3 Zellfusion

Ein weiterer Mechanismus, über den aus adulten Stamm- und Progenitorzellen Kardiomyozyten entstehen können, ist die Zellfusion von Progenitorzelle und Kardiomyozyt. Nach heutigem Kenntnisstand spielen beide Mechanismen, Transdifferenzierung und Zellfusion eine Rolle. Dennoch ist die Fusion keine unabdingbare Voraussetzung der Differenzierung von EPCs in Kardiomyozyten. ^[19]

1.5.4.4 Parakrine Effekte

Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass parakrine Effekte eine wichtige Rolle bei der Zelltherapie spielen. Dabei handelt es sich sowohl um solche Effekte, die von den Progenitorzellen ausgehen, und Mechanismen beeinflussen, die, wie die Apoptose, im Zusammenhang mit dem Remodeling stehen. Darüber hinaus konnte jedoch auch gezeigt werden, dass parakrine Aktivitäten adulter Progenitorzellen die Expression kardialer Gene fördern und chemotaktische, ebenso wie immunmodulatorische Wirkung haben. ^[4]

1.5.4.4.1 VEGF

Die Mitglieder der Gruppe der Vaskulär Endothelialen Wachstumsfaktoren (VEGF) sind sowohl an der Vaskulogenese als auch an der Angiogenese im menschlichen Organismus beteiligt.

Die Gruppe besteht aus den Wachstumsfaktoren VEGF A-F sowie aus den Plazenta Wachstumsfaktoren (PIGF). ^[39]

Ihre Wirkung entfalten die VEGF durch Bindung an einen VEGF-Rezeptor, der zur Gruppe der Tyrosinkinase. In vitro stimuliert VEGF die Mitose und Migration von Endothelzellen, in vivo wirkt es auch vasodilatierend über die Ausschüttung von Stickstoffmonoxid (NO). ^[40]

1.5.4.4.2 SDF-1 und CXCR4

Der stromal-cell derived factor 1 (SDF-1) ist ein Zytokin mit einer hohen chemotaktischen Wirkung auf Lymphozyten ^[42] und bewirkt die Mobilisierung von EPCs aus dem Knochenmark durch Bindung an seinen Rezeptor CXCR4. ^[41] Darüber hinaus spielt er ebenfalls eine Rolle bei der Elektrophysiologie von Neuronen und bei der Neovaskularisierung von Karzinomen. ^[43]

2. Fragestellung

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss endothelialer Progenitorzellen auf die Durchblutung und die Leistung des durch chronische KHK oder AMI vorgeschädigten Herzens zu untersuchen. Dazu waren für die Untersucher drei Fragestellungen von besonderer Bedeutung:

1. Welches Ausmaß und welcher zeitliche Verlauf charakterisiert das Homing der ¹¹¹Indium-markierten, ex-vivo kultivierten, zirkulierenden endothelialen Progenitorzellen nach intrakoronarer „Stop-Flow“ Infusion?
2. Welche klinischen Faktoren beeinflussen die Aufnahme und Verteilung der Progenitorzellen im Myokard, aber auch in anderen Organen und Geweben?
3. Welche Unterschiede bestehen zwischen Patienten mit chronisch ischämischer KHK und nach Akutem Myokardinfarkt?

3. Patienten, Material und Methoden

3.1 Patienten

Im Zeitraum von Oktober 2005 bis Mai 2006 wurden 20 Patienten in die zugrunde liegende Studie eingeschlossen, die aufgrund eines Akuten Myokardinfarktes oder bei chronischer KHK stationär im Klinikum der Johann-Wolfgang-Goethe Universität Frankfurt aufgenommen wurden.

Bei 17 Patienten wurden ¹¹¹In-markierte endotheliale Progenitorzellen (EPCs) in das Infarktgebiet injiziert, entweder über das mittels Ballondilatation und Stent-Implantation revaskularisierte Gefäß oder über einen vorhandenen Bypass.

Das Alter des Infarktes variierte zwischen 5 Tagen und 17 Jahren, und teilte sich wie folgt auf:

- 8 Patienten wurden in der akuten Phase behandelt (AMI \leq 14 Tage)
- 4 Patienten wurden in einer intermediären Phase behandelt (Alter des Infarktes $>$ 14 Tage und \leq 1 Jahr)
- 5 Patienten wurden bei chronischer KHK behandelt (AMI $>$ 1 Jahr)

Bei zwei Patienten wurden die Zellen in ein nicht mit dem Infarkt in Zusammenhang stehenden Gefäß injiziert, nachdem angiographisch sichtbare Kollateralen zum Infarktgebiet dargestellt werden konnten.

Ein Patient wurde aus der Studie ausgeschlossen, da er die nuklearmedizinische Untersuchung mittels Gamma-Camera und SPECT nicht unterlaufen konnte.

Die unter 4. aufgeführten Ergebnisse beziehen sich deshalb, sofern nicht ausdrücklich anders erwähnt, auf die oben beschriebenen 17 Patienten.

Folgende Ein- und Ausschlusskriterien wurden definiert:

3.1.1 Einschlusskriterien:

- Patienten im Alter von 50 bis 80 Jahren
- Patienten nach Myokardinfarkt (n = 10)
- Patienten mit diffuser ischämischer KHK (n = 10)
- Unterschriebene Einwilligungserklärung

3.1.2 Ausschlusskriterien:

- Bestehende Tumorerkrankung oder Anzeichen eines Tumorrezidivs innerhalb der letzten 5 Jahren
- Aktive Infektion
- Aktive innere Blutung
- Schlaganfall innerhalb der letzten 2 Jahre
- Operative Eingriffe oder Traumen innerhalb der letzten 2 Monate
- Unkontrollierter Bluthochdruck über 160/100 mmHg
- Arteriovenöse Missbildungen oder Aneurysmen
- HIV – Infektion
- Hinweis auf bedeutsame Nieren oder Leberinsuffizienz (Kreatinin > 2.0 mg/dl, GPT > 2x oberer Normwert)
- Thrombopenie (< 100 000/ μ l)
- Anämie (Hämoglobin < 8.5 g/dl)
- Mentale Retardierung
- Teilnahme an einer anderen klinischen Untersuchung
- Frauen in gebärfähigem Alter sowie Schwangerschaft und Stillzeit
- Chronische inflammatorische Erkrankung

Für das Studienprotokoll wurde die Zustimmung der Ethikkommission des Klinikums der Johann-Wolfgang-Goethe Universität Frankfurt und des

Bundesamtes für Strahlenschutz erteilt. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Eine unterschriebene Einwilligungserklärung wurde von allen Patienten eingeholt.

3.2 Zellaufbereitung und -markierung

Aus 250 ml peripherem venösem Blut wurden die mononukleären Zellen durch Ficollisierung isoliert und für vier Tage in mit Fibronectin-beschichteten Zellkulturflaschen in X-VIVO™ 15 Medium (Fa. BioWhittaker, Belgien) mit 20 % Eigenserum kultiviert. Dieses Medium ist für die adoptive Immuntherapie vorgesehen, und wurde bereits in Vorversuchen erfolgreich zur in vitro Isolation von funktionell aktiven EPCs benutzt. Zusätzlich wurden rekombinant hergestelltes Carrier-freies VEGF (Fa. R&D Systems Inc., USA) und der HMG-CoA-Reduktase-Inhibitor Atorvastatin (Sortis®, 0.1 µM, Fa. Pfizer, Schweiz) zugesetzt. Wie Voruntersuchungen ergeben haben, sind beide Faktoren in der Lage, die Anzahl der EPCs zu erhöhen und ihre Funktion zu verbessern. [20]

Die komplette Isolation erfolgte unter sterilen Bedingungen in einer eigens dafür reservierten Sterilbank (Reinraumbank, Fa. Hereaus) in speziellen Zellkulturgefäßen mit eingebautem Sterilfilter (Fa. Greiner). Die Sterilität wurde zusätzlich durch Mischung des Zellkulturüberstands mit einer Blutkultur und Urikut-Test (Bakterien und Pilze) überprüft.

Nach 3 bis 4-tägiger Kultur wurden die Zellen mit 0,5 mmol/l EDTA Lösung abgelöst und nach Zentrifugation zweimal mit Medium gewaschen. Das Zellpellet wurde in 10 ml X-VIVO™ 10 Medium mit 20 % Eigenserum aufgenommen und die Zellzahl bestimmt.

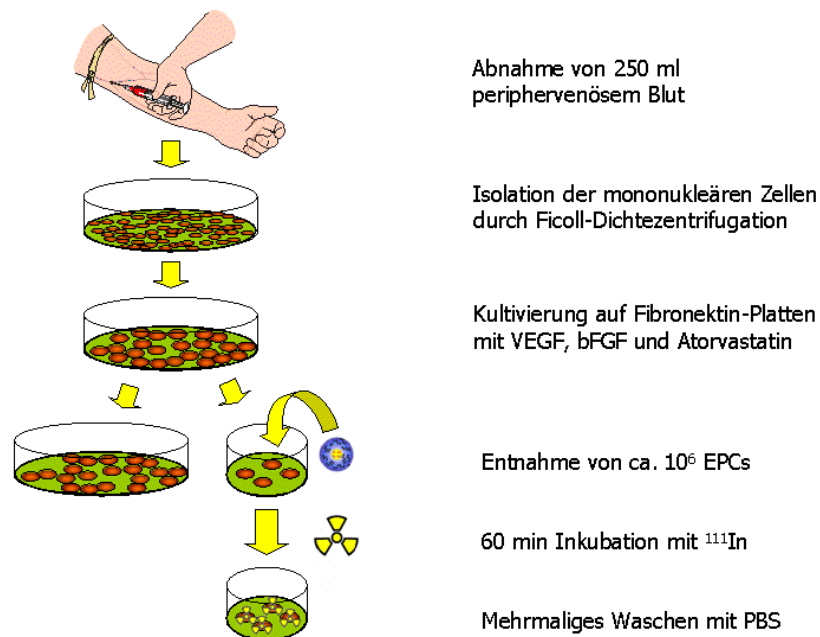
Zehn Prozent der zur Reinfusion bereitgestellten Zellen (etwa 10^6 EPCs) wurden abgenommen, mit PBS gewaschen und in 5 ml X-VIVO™ 10 Medium resuspendiert. Anschließend wurden ~ 25 MBq ^{111}In -Oxin (Halbwertszeit 2,8 Tage, Gammaenergie 171 keV und 245 keV, 37 MBq/ml, Tyco Healthcare, Deutschland) zugesetzt und das Gemisch 60 Minuten bei 37 Grad Celsius inkubiert [5]. Um nicht-zellgebundene Radioaktivität nach der

Inkubationsperiode zu entfernen, wurden die Zellen zweimalig mit PBS gewaschen.

Anschließend wurden die ^{111}In -Oxin-markierten EPCs in 8 ml X-VIVOTM 10 Medium resuspendiert und in eine Spritze gefüllt. Die Markierungsausbeute wurde mit einem Dosiskalibrator gemessen, die Viabilität der Zellen wurde mittels des Trypanblau-Ausschlusstest bestimmt. [21] Die nicht markierten Zellen wurden ebenfalls gewaschen, in 8 ml X-VIVOTM 10 Medium resuspendiert und in eine separate Spritze abgefüllt.

Die injizierte Aktivität wurde nach Rückmessung der leeren Spritze berechnet und zur Bestimmung der individuellen Strahlenexposition des Patienten dokumentiert. Die komplette Markierung der Zellen erfolgte entsprechend der Umgangsgenehmigung für radioaktive Stoffe im Heisslabor der Klinik für Nuklearmedizin der Johann-Wolfgang-Goethe Universität unter den üblichen sterilen Bedingungen, wie sie bei der Markierung von Blutbestandteilen wie Leukozyten und Thrombozyten mit ^{111}In -Oxin oder anderen Radiopharmaka regelmässig zum Einsatz kommen.

Abbildung 2: Zellaufbereitung und -markierung mit ^{111}In Indium-Oxin



3.3 Herzkatheterprotokoll

3.3.1 Diagnostik

Zur Beurteilung der koronaren Durchblutung wurde die koronare Flussreserve durch Infusion von Adenosin selektiv intrakoronar durch den Infusionskatheter getestet. Adenosin (Adrekar[®], Sanofi Winthrop) bewirkt eine maximale Dilatation der koronaren Widerstandsgefäße und damit eine maximale Blutflusssteigerung (Dosis: 240 µg/min selektiv i.c.). Simultan wurde in zwei Ebenen eine (biplane) Koronarangiographie zur Bestimmung der Gefäßweite (Quantitative Koronarangiographie; CMS-Medis System) durchgeführt. Die Instrumentierung des zu testenden Koronargefäßes mit einem Doppler-Draht (Flowire[®], Cardiometrics) erlaubte es, die Blutflussgeschwindigkeit zu messen. Durch Multiplikation der Flussgeschwindigkeit mit dem angiographisch bestimmten Gefäßlumen ergab sich ein Maß für den volumetrischen Blutfluss, welcher vor und nach pharmakologischer Stimulation mit Adenosin (absolute koronare Flussreserve) bestimmt wurde. Die koronare Flussreserve wurde in dem Gefäß gemessen in dem die EPCs infundiert wurden und zu Vergleichszwecken in einem benachbarten, nicht von der Infusion betroffenen, Referenzgefäß. Der Quotient aus der Flussreserve im EPC-infundierten Gefäßbereich und dem Referenzgefäß ergab die relative Flussreserve.

Während Injektion von ca. 30 ml Kontrastmittel in den linken Ventrikel wurde ebenfalls eine biplane Angiographie durchgeführt. Durch automatische Detektion und Ausmessung der systolischen und diastolischen Kontur des linken Ventrikels (CMS Medis System) wurde die LV-Funktion bestimmt.

Während der Okklusion wurde der Druck im distal des Ballons liegenden Abschnitt des Koronargefäßes durch einen speziellen 0,014" Draht mit Drucksensor (PressureWire, Radi Medical Systems, Langenhagen) gemessen, der ersatzweise anstelle eines 0,014" Koronar-Führungsdrahtes verwendet wurde. Dadurch sollte später eine Aussage über die eventuell vorhandene

Kollateralisierung eines Gefäßes und deren Einfluss auf das Zellhoming getroffen werden können.

3.3.2 Koronare Intervention

Bei zwei Patienten wurde im Rahmen der Zelltherapie auch eine koronare Intervention mittels Ballondilatation und Stenteinlage zur Behandlung einer signifikanten Koronarstenose durchgeführt.

3.3.3 Kathetersystem

Bei früheren Studien war zu diesem Zweck ein kommerziell erhältlicher und CE-zertifizierter Ballonkatheter (z.B. Opensail[®], Guidant) verwendet worden, wie er zur koronaren Intervention und Dilatation von Koronarstenosen eingesetzt wird. Da eine Dilatation des Gefäßes (mit üblicherweise etwa 10-14 bar) im Rahmen der Zelltherapie jedoch unerwünscht ist, wurde zur Applikation der Zellen eigens für diese Studie ein spezieller Ballonkatheter zur intrakoronaren Infusion von Progenitorzellen von der Firma Guidant entwickelt. Im Gegensatz zu den früher verwendeten Kathetersystemen erlaubte es der BOIC (Balloon-Occlusion-Infusion-Catheter, Guidant), das Gefäß mittels Niederdruck-Balloninsufflation (etwa 2 bar), atraumatisch passager zu verschließen, um den Zellen Zeit zum Homing zu geben.

Darüber hinaus verfügte der Katheter über ein separates Lumen für Führungsdraht beziehungsweise PressureWire[®] und Zellinfusion, welches zum einen die Sicherheit erhöhte, da der Ballon im Falle einer Dislokation bei der Insufflation über den verbleibenden Führungsdraht geschient blieb und eine eventuelle Repositionierung während der Untersuchung technisch einfacher durchgeführt werden konnte. Des Weiteren wurde es möglich, über das zusätzliche Lumen, den intrakoronaren Druck während der Okklusion zu messen (siehe oben).

3.3.4 Zellinfusion

Die Zellen wurden mittels der bereits erwähnten „Stop-Flow-Technik“ appliziert. Dabei erhielten die mit Acetylsalicylsäure und Clopidogrel vorbehandelten Patienten nach der Punktion der A. femoralis zwischen 7.500 und 10.000 IE Heparin.

Zunächst erhielten die Patienten die ¹¹¹In-Oxin-markierten Zellen in zwei Einzeldosen á 4 ml, anschließend die unmarkierten Zellen, ebenfalls 2x4 ml.

Dazu wurde das oben beschriebene Kathetersystem in die das Infarktgebiet versorgende Arterie eingeführt, und der Blutfluss mittels Niederdruck-Balloninflation für 3 Minuten unterbrochen um die Progenitorzellen zu applizieren. Nach Wiederherstellung des Blutflusses für weitere 3 Minuten erfolgte die Gabe der 2., 3. und 4. Zellfraktion nach demselben Schema.

3.4 Ganzkörperszintigraphie und SPECT

Die Szintigraphie wurde zuerst als Ganzkörperszintigraphie mit einer Grossfeld-Doppelkopf-Gammakamera und hochauflösenden Mittelenergiekollimatoren durchgeführt, um so die Verteilung der EPCs im Körper zu erfassen. Anschließend wurden SPECT-Aufnahmen des Thorax mit einer SPECT-fähigen Doppelkopfgammakamera (beides DST XL-i, General Electric) akquiriert und Kurzachsen- sowie horizontale und vertikale Längsachsenschnitte zur Beurteilung der verschiedenen Wandabschnitte des linken Ventrikels rekonstruiert. Dies erlaubte eine Beurteilung der EPC-Anreicherung im Vergleich zur Infarktzone, die auf entsprechenden Schnittbildern der prätherapeutischen Positronen-Emissions-Tomographie identifiziert werden konnte. Um die zeitliche Verteilung der transplantierten EPCs zu dokumentieren, waren Aufnahmen zu drei Zeitpunkten vorgesehen, und zwar 1 Stunde sowie 24 und 72 Stunden nach Injektion der radiomarkierten EPCs.

Die Auswertung der Szintigraphie erfolgte visuell und semiquantitativ mit Hilfe der region-of-interest (ROI) Technik. Mittels ROIs über Herz, Lunge, Leber,

Nieren, Milz, Gehirn und Knochenmark (ROI über dem Os sacrum) konnte anhand der Ganzkörperaufnahmen die prozentuale Organaktivität im Vergleich zur Ganzkörperaktivität gemessen und so die örtliche Verteilung wie auch die zeitliche Umverteilung der EPCs dokumentiert werden. Von der ¹¹¹Indium-Aktivität in diesen Organen wurde die Hintergrundstrahlung subtrahiert und die Ergebnisse wurden für die Untersuchungszeitpunkte zerfallskorrigiert.

Die SPECT-Aufnahmen erlaubten aufgrund der dreidimensionalen Darstellung der Herzabschnitte und aufgrund der höheren räumlichen Auflösung eine Darstellung der EPC-Verteilung innerhalb des Herzens. Auch hier konnten mittels ROI-Technik die Aktivitäten verschiedener Wandabschnitte unter Zuhilfenahme des 17-Segment-Modells (AHA) als Maß für die EPC-Anreicherung getrennt bestimmt werden. [46]

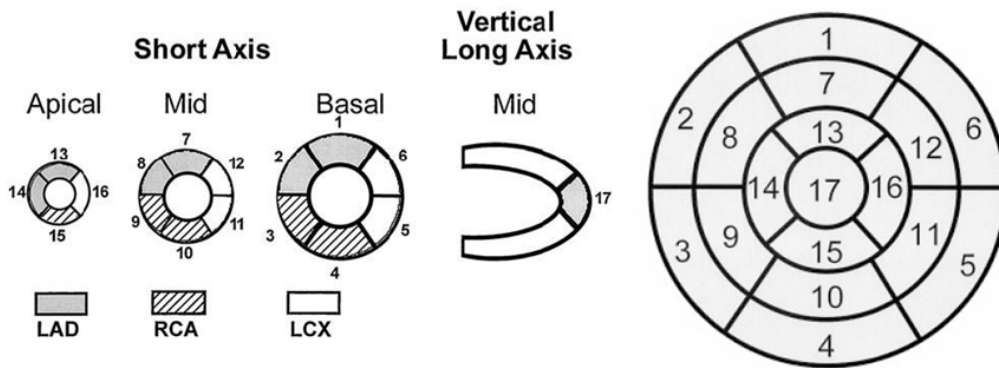
3.5 ¹⁸F-Fluorodeoxyglucose Positronenemissionstomographie

Zur kardialen Vitalitätsdiagnostik unterliefen die Patienten am Tag nach der Progenitorzelltherapie eine ¹⁸F-Fluorodeoxyglucose Positronenemissionstomographie (¹⁸FDG-PET) mit einem Ganzkörper-PET-Scanner (ECAT EXACT 47, Siemens CTI).

Dabei erhielten die Patienten eine Einzeldosis von 250 mg Acipimox (Olbetam[®], Fa. Pfizer) 2 Stunden vor der Gabe von ¹⁸FDG. Die Datenerfassung wurde 45 Minuten nach der ¹⁸FDG-Applikation begonnen.

Die Ergebnisse wurden wie in Szintigraphie (siehe oben) mittels der region-of-interest (ROI)-Technik nach dem 17-Segment-Modell (AHA) und unter Bestimmung der mittleren Signalintensität (MSI, mean signal intensity) erfasst. Vom Infarkt betroffene Segmente wurden visuell, in Anlehnung an die Anatomie der Koronargefäße, definiert. [22]

Abbildung 4: Definition der Segmente in PET und SPECT in Anlehnung an die Koronar Anatomie



Quelle: Cerqueira et al. American Heart Association [46]

3.6 Statistik

Alle kontinuierlichen Variablen sind (falls nicht anders bezeichnet) angegeben als Mittelwerte (mean) \pm Standardabweichung (SD). Falls erforderlich, wurden kontinuierliche und kategoriale Variablen mittels der verteilungsfreien (nicht-parametrischen) Testverfahren Mann-Whitney-U-Test und Kruskal-Wallis-Test verglichen. Die Korrelation der kontinuierlichen Variablen wurde mittels Spearmans Rangkorrelationskoeffizient bestimmt. Alle angegebenen p-Werte sind zweiseitig, das Signifikanzniveau wurde angenommen bei $p < 0,05$.

Alle statistischen Analysen wurden unter Verwendung der Software SPSS (Version 14.0, SPSS Inc.) durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1 Klinische Patientenmerkmale

In die Ergebnisauswertung wurden jene 17 Patienten einbezogen, die ¹¹¹In-Oxin-markierte Progenitorzellen in das Infarkt- oder ein direkt mit diesem in Verbindung stehenden Bypass erhalten hatten. Die Charakteristika der zwei Patienten, die die Progenitorzellen über Kollateralen erhielten, die aus einem nicht infarzierten Gefäß hervorgingen, sind der Vollständigkeit halber aufgeführt. Die klinischen Merkmale des ausgeschlossenen Patienten wurden nicht aufgeführt. Die klinischen Patientenmerkmale sind der folgenden Tabelle zu entnehmen:

Tabelle 4a: Klinische Patientenmerkmale

Patient	Zeit seit Myokardinfarkt	Infarkt-gefäß	Alter	Bypass	m/w	Arterielle Hypertonie	Diabetes	Nikotinabusus	py	LVEF in der QLVA (%)
1	5 Tage	RIVA	64		w	ja		Raucher	15	57
2	5 Tage	RIVA	67		w	ja				57
3	7 Tage	RIVA	64		m	ja	NIDDM	Ex-Raucher	100	51
4	8 Tage	RIVA	60		w					50
5	8 Tage	RCA	61		w	ja		Ex-Raucher	18	44
6	10 Tage	RIVA	64		m			Ex-Raucher	40	53
7	11 Tage	RIVA	51		m	ja		Raucher	45	64
8	14 Tage	RIVA	50		w			Raucher	33	51
9	36 Tage	LCA	53		m			Ex-Raucher	15	53
10	45 Tage	RCX	58		m			Raucher	35	41
11	100 Tage	RIVA	67		m	ja				50
12	278 Tage	RIVA	58		m			Ex-Raucher	70	
13	3,5 Jahre	RIVA	53		m	ja	IDDM	Ex-Raucher	45	49
14	4,8 Jahre	RCA	67		m					46
15	11,6 Jahre	RIVA	61	ja	m	ja		Ex-Raucher	45	28
16	12,9 Jahre	RIVA	65	ja	w		IDDM	Ex-Raucher	40	38
17	17,2 Jahre	RCX	60		m	ja		Ex-Raucher	35	43
18 *	227 Tage	RIVA *	68		m					29
19 *	stumm	RIVA *	47	ja	m		NIDDM	Ex-Raucher	100	59

* Zellinfusion in Kollateralgefäße, Patienten wurden nicht in die Auswertung einbezogen.

Das durchschnittliche Alter der ausgewerteten Patienten betrug $60,2 \pm 5,6$ Jahre. Bei 75% der Patienten erfolgte die Zellinfusion in den RIVA, bei 13% in den RCX und jeweils 6,5% der Patienten erhielten die Progenitorzellen in die RCA oder in den linken Hauptstamm.

Die Prävalenz für Diabetes mellitus betrug 17,6%, für Arterielle Hypertonie 52,9% sowie für aktuellen oder aufgegebenen Nikotinkonsum 76,5%. Dabei betrug die konsumierten packyears $41,2 \pm 23,1$ Jahre.

4.2 Progenitorzellbezogene Patientenmerkmale

Die auf die Zellaufbereitung und -markierung bezogenen Daten sind der folgenden Tabelle zu entnehmen:

Tabelle 4b: Progenitorzellbezogene Patientenmerkmale

Patient	¹¹¹ In Aktivität bei Inkubation	¹¹¹ In Aktivität der markierten Zellen	Viabilität der ¹¹¹ In-markierten Zellen	Zellzahl (insgesamt) x 10 ⁶	Viabilität in der PET (%)
1	25,3	5,7	95	11	58
2	22,6	1,7	78	22	62
3	28,4	3,3	93	12	n.a.
4	25,2	6,3	89	14	56
5	26,9	10,7	90	19	63
6	24	8,1	100	11	67
7	31,5	10,3	83	15	56
8	25,4	8,7	100	12	46
9	24,2	6,9	81	15	78
10	25,8	6,4	82	12	77
11	29,7	5,6	89	9	36
12	27,5	7,8	89	17	38
13	25,4	15	100	35	56
14	24,3	2,4	88	8	61
15	25	6,1	88	16	28
16	25,3	6,2	89	14	53
17	24,4	8,9	91	17	63
18 *	25,4	5,7	n.a.	8	n.a.
19 *	17,5	4,5	100	10	70

* Zellinfusion in Kollateralgefäße, Patienten wurden nicht in die Auswertung einbezogen.

Im Rahmen der Zelltherapie die Studienteilnehmer $15,2 \pm 6,2 * 10^6$ markierte und nicht-markierte EPCs. Die mittlere Aktivität mit der die ¹¹¹In-Oxin-

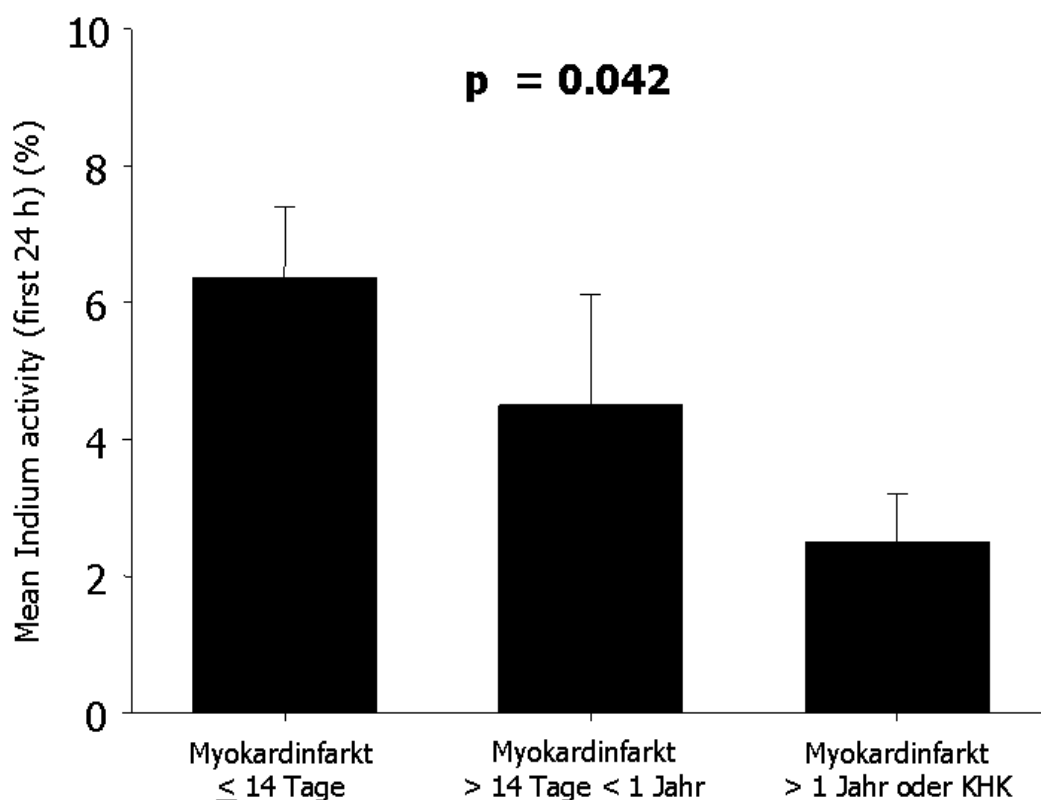
markierten Zellen inkubiert wurden betrug $25,9 \pm 2,2$ MBq, die Aktivität der markierten Zellen betrug $7,1 \pm 3,2$ MBq (1,7 bis 15 MBq), womit die maximal empfohlene Aktivität von 18,5 MBq in allen Fällen unterschritten wurde. Die mittlere Viabilität der ^{111}In -markierten EPCs betrug $89,7 \pm 6,5$ %.

4.3 Prädiktive Faktoren des Homings

Experimentelle Ansätze haben bewiesen, dass eine akute Ischämie die Freisetzung von Zytokinen und chemotaktischen Wirkstoffen induziert, welche die Migration von Progenitorzellen in das geschädigte Gewebe vermitteln.

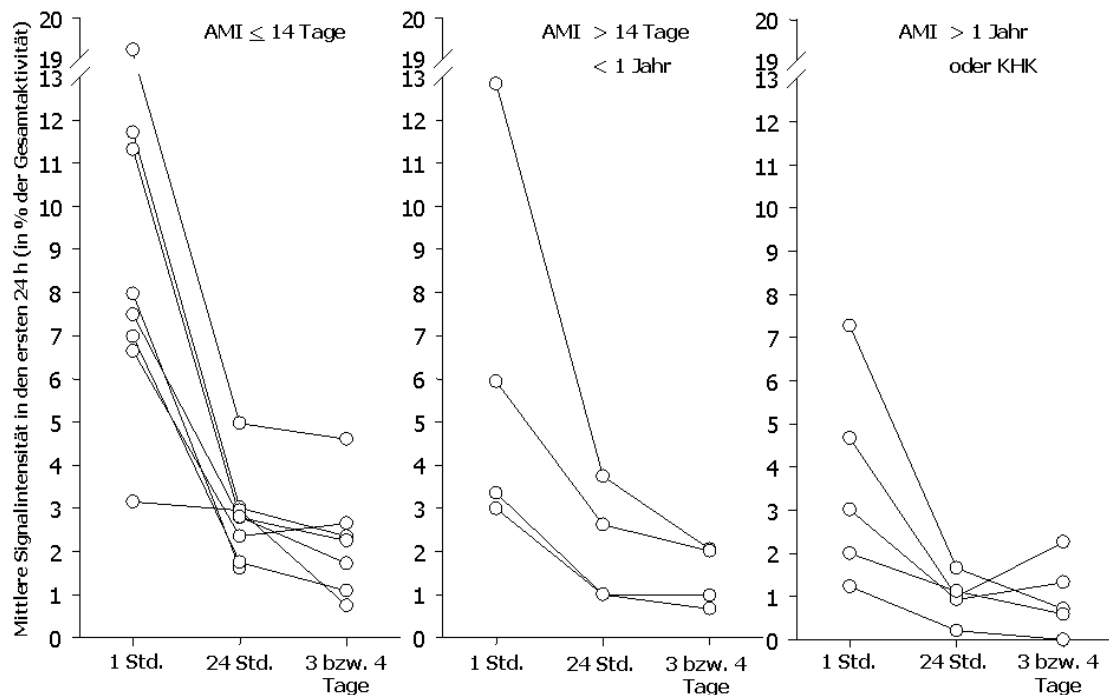
Zur Ermittlung der Frage, ob das Alter einer ischämischen Schädigung am Herzen wirklich einen sichtbaren Unterschied im Homing der ^{111}In -markierten EPCs hervorruft, wurden die Patienten entsprechend des Infarktalters stratifiziert.

Abbildung 5: Indium-Aktivität im Herzen in den ersten 24 h



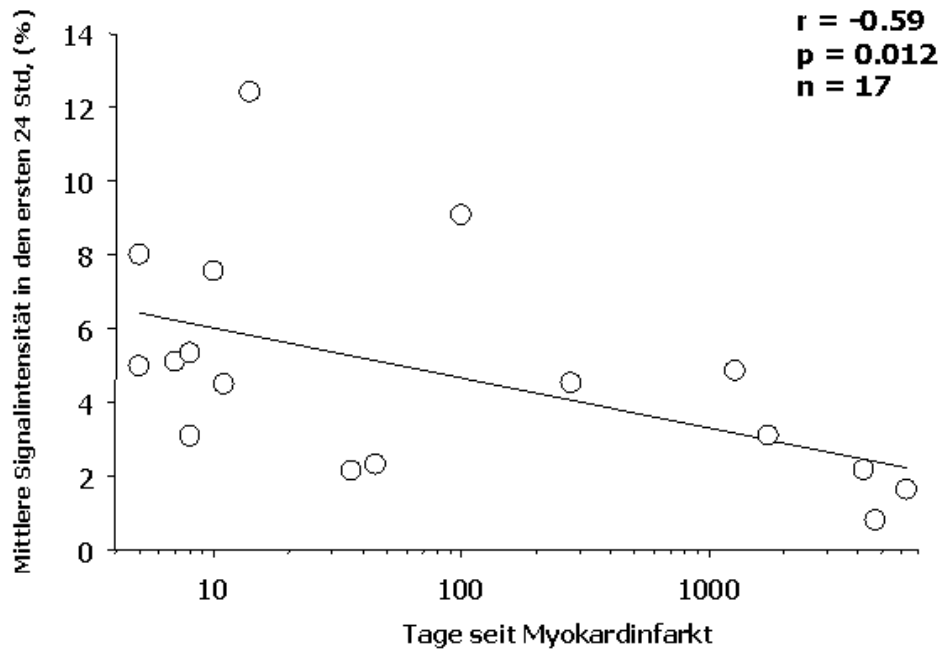
Dabei zeigte sich, dass die ^{111}In -Aktivität im Herzen innerhalb der ersten 24 Stunden mit $6,3 \pm 2,9\%$ bei jenen Patienten am höchsten war, die Progenitorzellen innerhalb einer Zeitraums von 14 Tagen (≤ 14 Tage) nach stattgehabten Myokardinfarkt erhalten hatten. Die Kohorte, deren Infarkt länger als 14 Tage aber kürzer als ein Jahr zurücklag, zeigte mit $4,5 \pm 3,2\%$ bereits eine deutlich reduzierte Aufnahme. Am geringsten war die ^{111}In -Aktivität mit $2,5 \pm 1,6\%$ ($p = 0,042$) im Herzen bei jenen Patienten, bei denen die ischämische Schädigung bereits länger als ein Jahr zurücklag.

Abbildung 6: Verlauf der $^{111}\text{Indium}$ -Aktivität im Herzen in den 3 Gruppen



Es zeigte sich also, dass das Alter des stattgefundenen Infarkts und die Aufnahme von ^{111}In -markierten intrakoronar applizierten Progenitorzellen umgekehrt miteinander korrelieren ($p = 0,012$; $r = -0,59$; $n = 17$).

Abbildung 7: Korrelation zwischen Infarktalter und ¹¹¹Indium-Aktivität



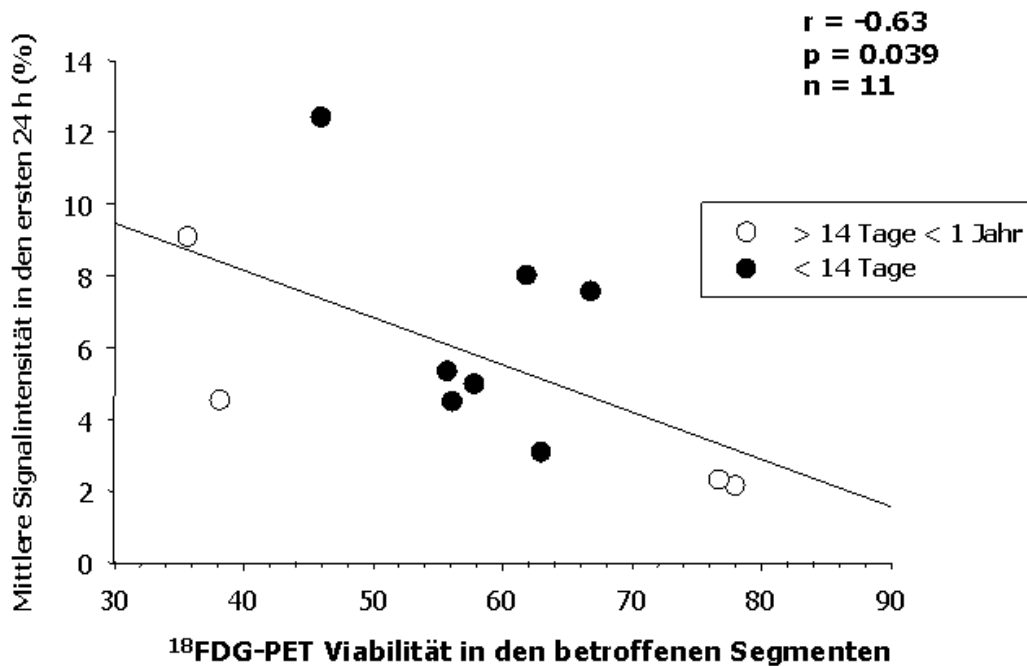
Dieser Zusammenhang blieb ebenfalls erhalten, wenn man nur diejenigen Patienten miteinander verglich, deren Infarkt bei der Zelltherapie länger als ein Jahr zurücklag ($p = 0,037$; $r = -0,90$; $n = 5$).

Der Zusammenhang zwischen der ¹¹¹In-Aktivität und dem Ausmaß des stattgefundenen Infarktes, bestimmt durch die Anzahl der vom Infarktgefäß betroffenen Segmente, war hingegen in keiner der betrachteten Kohorten signifikant.

Wenngleich die Aufnahme ¹¹¹In-markierter Progenitorzellen bei den Patienten, die innerhalb eines Jahres nach Infarkt behandelt wurden, signifikant höher war, zeigte sich auch dieser Patientengruppe ein erheblicher interindividueller Unterschied. Aus diesem Grund wurde die Viabilität der betroffenen Areale im ¹⁸FDG-PET als Maßstab der myokardialen Schädigung mit der ¹¹¹In-Aktivität in demselben Areal verglichen. Hierbei stellte sich abermals eine umgekehrte Korrelation ($p = 0,039$; $r = -0,63$, $n = 11$) heraus, so dass angenommen

werden kann, dass eine geringere Viabilität im ^{18}F FDG-PET die Aufnahme von Progenitorzellen günstig beeinflusst.

Abbildung 8: Korrelation zwischen ^{111}In -Aktivität und Viabilität im ^{18}F FDG-PET

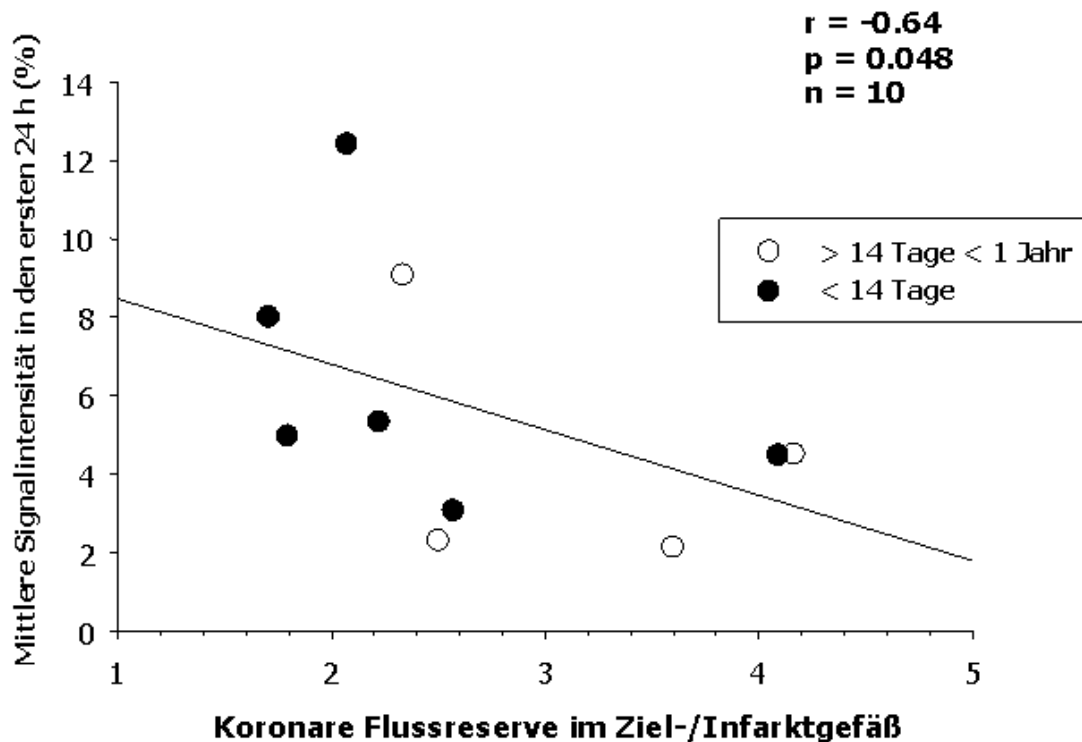


Bei Patienten, deren Infarkt bereits länger als ein Jahr zurücklag, bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Viabilität im ^{18}F FDG-PET und der Aktivität ^{111}In -markierter Progenitorzellen innerhalb der ersten 24 Stunden ($p = 0,88$; $r = -0,09$; $n = 5$).

Zelladhäsion und Diapedese sind wesentliche Voraussetzungen für den Erfolg der Progenitorzelltherapie, wenn die Zellen mittels „Stop-Flow-Technik“ über die Koronargefäße appliziert werden. Um Aufschluss darüber zu erhalten, ob und in welcher Weise eine Mikrozirkulationsstörung das Ausmaß des Zellhomings beeinflusst, wurde in einer Kohorte von 11 Patienten die relative und die absolute koronare Flussreserve bestimmt, wie bereits beschrieben.

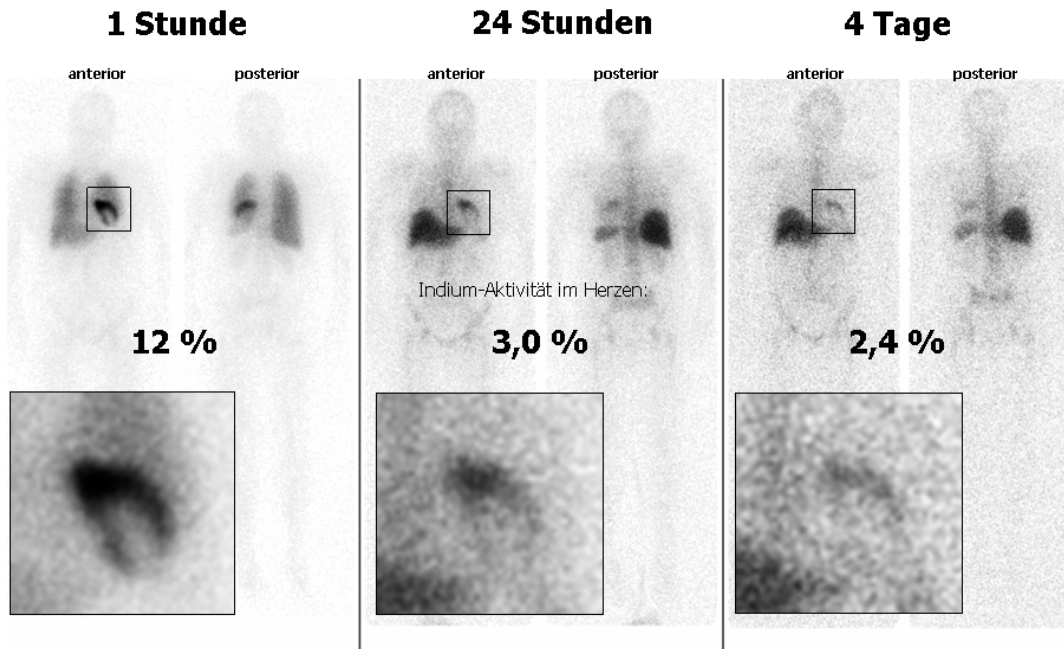
Dabei zeigte sich, dass eine Einschränkung der koronaren Flussreserve mit einer erhöhten Aufnahme ^{111}In -markierter Zellen einhergeht ($p = 0,048$; $r = -0,64$; $n = 10$).

Abbildung 9: Korrelation zwischen ^{111}In -Aktivität und koronarer Flussreserve im Zielgefäß



Dieser Zusammenhang bestätigte sich, wenn man die relative, also die auf ein nicht-infarziertes Gefäß normalisierte, koronare Flussreserve verglich ($p = 0,02$; $r = -0,75$; $n = 9$). Auch die Beschränkung der Analyse auf Patienten mit akutem oder subakutem Myokardinfarkt (≤ 14 Tagen) führte zu einem identischen Ergebnis ($p = 0,042$; $r = -0,83$; $n = 7$).

Abbildung 10: Nachweisbare Indium-Aktivität in der Ganzkörperszintigraphie über 4 Tage



Deutliche Anreicherung von Indium im Herz mit Persistenz über den Beobachtungszeitraum von 4 Tagen

5. Diskussion und Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass das Homing ¹¹¹In-markierter ex-vivo-kultivierter Endothelialer Progenitorzellen in der Hauptsache von drei Faktoren beeinflusst wird:

1. Alter des Infarkts

2. Ausmaß des Gewebeschadens

3. Koronare Flussreserve des betroffenen Gefäßes

Eine logische Erklärung für die geringere Aufnahme ¹¹¹In-markierter Zellen bei Patienten mit länger zurückliegendem Infarkt könnte das Fehlen chemotaktischer Zytokine sein, wie diese im Rahmen einer akuten ischämischen Schädigung gebildet und ausgeschüttet werden. In experimentellen Ansätzen konnte gezeigt werden, dass der akute Myokardinfarkt zu einer vermehrten Ausschüttung von Zytokinen wie SDF-1 führt, welches zu einer gesteigerten Adhäsion und Transmigration zirkulierender, pro-angiogenetischer Progenitorzellen und hämatopoetischer Stammzellen führt. [24, 25]

Kürzlich veröffentlichte Studien weisen ebenfalls darauf hin, dass es sich bei SDF-1 nicht nur um einen chemotaktisches Zytokin handelt, sondern auch um einen Faktor, der in der Lage ist, pro-angiogenetische Zellen im perivaskulären Gewebe zu fixieren. [26] Bei Patienten nach akutem Myokardinfarkt sind die Serumspiegel von SDF-1 regelhaft erhöht. [27]

Darüber hinaus erhöhen Hypoxie und Entzündung, wie diese beispielsweise von einer myokardialen Ischämie hervorgerufen werden, VEGF und Interleukin-8, die wiederum bestimmte Untergruppen von Progenitorzellen anlocken. [28, 29]

Wie eine im vergangenen Jahr veröffentlichte Studie an amputierten Extremitäten zeigte, werden VEGF, SDF-1 und der SDF-1-Rezeptor CXCR4 vermehrt in akut ischämischen Muskeln exprimiert, wenn man diese mit nicht-ischämischen Kontrollproben vergleicht. Im Gegensatz dazu zeigte dieselbe

Studie, dass die genannten Faktoren in chronisch ischämischen gegenüber gesunden Muskeln deutlich reduziert sind. ^[30] Dies spricht dafür, dass die chemotaktische Wirkung dieser Zytokine bei chronischer Ischämie deutlich reduziert ist.

In der hier bearbeiteten Studie zeigte das Ergebnis der ¹⁸FDG-PET, dass der Umfang des Gewebeschadens ein Prädiktor für ein gesteigertes Homing der applizierten Progenitorzellen beim akuten Myokardinfarkt ist. Dadurch wird weiterhin die Hypothese gestützt, dass inflammatorische Vorgänge und möglicherweise auch Faktoren die von nekrotischem Gewebe produziert werden, in vivo chemotaktische Wirkung auf Progenitorzellen haben. ^[31]

Weiterhin wissen wir, dass autologe Progenitorzellen bei Patienten mit chronisch ischämischer KHK in ihrer Funktion eingeschränkt sind. ^[32] Auch wenn die Fallzahl dieser Studie zu klein ist, um diese Fragestellung eingehend zu beantworten, besteht doch weiterhin der Verdacht untermauert, dass intrakoronar applizierte Progenitorzellen bei Patienten mit chronisch ischämischer KHK weniger gut auf chemotaktische Zytokine ansprechen.

Wie die vorliegende Studie zeigt, geht eine eingeschränkte koronare Flussreserve mit der erhöhten Aufnahme ¹¹¹In-markierter Zellen einher. Auch in diesem Zusammenhang spielen inflammatorische Prozesse eine Rolle, ebenso wie die vermehrte Anheftung von Leukozyten an das entzündlich aktivierte Gefäßendothel. ^[33, 34] Die Zytokin-vermittelte Aktivierung des Endothels bewirkt dabei eine vermehrte Expressierung von Adhäsionsmolekülen, die als Bindungspartner für Integrine auf der Oberfläche zirkulierender Progenitorzellen fungieren können. ^[35]

Die Verteilungsmuster der ¹¹¹In-markierten Zellen in der vorliegenden Studie decken sich weitestgehend mit den Ergebnissen einiger Fallberichte. So zeigte ein Bericht über drei Patienten, die ¹¹¹In-markierte Knochenmarksstammzellen (BMCs) innerhalb von 4-7 Tagen nach Akutem Myokardinfarkt erhalten hatten, eine ¹¹¹Indium-Aktivität im Herzen von 2,6 % bis 11%. ^[36]

In der Vergangenheit wurde bereits mehrfach diskutiert, ob ein anderer Applikationsweg das Homing der Progenitorzellen verbessern könnte. Experimentelle Studien haben gezeigt, dass dieser Prozess beispielsweise durch die intramuskuläre Applikation der Zellen nur in sehr geringem Umfang günstig beeinflusst werden kann, wohingegen die retrograde koronarvenöse Applikation in ihrer Wirksamkeit mit der intrakoronaren Infusion gleichzusetzen ist. [6] Deshalb müssen weitere Studien sich auch mit der Frage beschäftigen, welche Applikationswege die bislang noch immer relativ geringe Aufnahme der Progenitorzellen in das Myokard zu verbessern.

Darüber hinaus müssen weitere Möglichkeiten erforscht werden, die geeignet sind, das Homing der Zellen und ihre Überlebensfähigkeit, insbesondere bei Patienten mit chronisch ischämischer KHK, zu verbessern. Viel versprechende aktuelle Studien zeigen, dass diese Verbesserung sowohl durch die Aktivierung des Zielgewebes durch Niedrig-Energie-Stoßwellen ebenso wie auf verschiedenen molekularen Wegen erreicht werden könnte. [37, 38]

Ein wesentlicher Faktor, den es bei der Betrachtung der vorliegenden Studie zu Berücksichtigen gilt, ist, dass die im Herzen gemessene Radioaktivität nicht mit der Anhäufung lebendiger und funktionell aktiver Progenitorzellen gleichgesetzt werden kann.

Auch wenn frühere Studien gezeigt haben, dass freie ¹¹¹Indium-Aktivität nicht vom ischämisch geschädigten Herzen aufgenommen wird [5], können wir nicht ausschließen, dass zumindest ein Teil der ¹¹¹In-markierten EPCs von phagozytierenden Zellen aufgenommen wurde. Aber auch wenn die Radioaktivität von den Zellen nur an das Gewebe abgegeben worden sein sollte, ist dies vermutlich nicht für die signifikanten Aktivitätsunterschiede zwischen den Patienten mit akutem Myokardinfarkt und jenen mit chronisch ischämischer KHK verantwortlich.

Letztlich gibt die kurzzeitige Betrachtung des Zellhomings auch keinen Aufschluss über die langfristige Funktion der Zellen und ihre Integration in das

geschädigte Gewebe. Parakrine und regenerative Effekte setzen jedoch wenigstens ein kurzfristiges Homing voraus, wes Grundes die vorliegende Studie bei allen Einschränkungen zumindest eine Datenbasis für solche Studien liefert, die sich mit der Verbesserung der Technik der kardialen Progenitorzelltherapie auseinandersetzen.

6. Zusammenfassung

6.1 Zusammenfassung in deutscher Sprache

Die Koronare Herzkrankheit (KHK) und der Akute Myokardinfarkt (AMI) sind die beiden häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrienationen. In der Folge einer chronischen oder akuten ischämischen Schädigung des Herzens kommt es unter anderem zum Umbau insbesondere des linken Ventrikels, dem so genannten „Cardiac Remodeling“, das in den meisten Fällen mitverantwortlich für die Entstehung einer Herzinsuffizienz ist.

Diverse Studien haben in den vergangenen Jahren gezeigt, dass die kardiale Stamm- oder Progenitorzelltherapie ein viel versprechender Ansatz ist, die Regeneration eines ischämisch geschädigten Herzens zu unterstützen und das „Cardiac Remodeling“ zu begrenzen. In diesem Zusammenhang wurden sowohl verschiedene Arten von Stammzellen, als auch verschiedene Applikationstechniken eingesetzt.

Auf welchen Wegen die eingesetzten Stamm- oder Progenitorzellen ihre Wirkung entfalten ist bislang nicht abschließend geklärt. Eine Grundvoraussetzung um zur Regeneration des Myokards beitragen zu können ist jedoch, dass die Zellen nach der intrakoronaren Applikation in das Gewebe transmigrieren und dort anwachsen. Um neue Erkenntnisse über die Mechanismen, die Abläufe und die prädiktiven Faktoren dieses als „Homing“ bezeichneten Vorgangs zu gewinnen, wurden zwischen 2005 und 2007 am Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität 20 Patienten mit ¹¹¹In-markierten autologen ex-vivo-kultivierten endothelialen Progenitorzellen behandelt und in den folgenden drei Tagen mittels Ganzkörperszintigraphie und SPECT nachuntersucht.

Dabei zeigte sich, dass die ¹¹¹In-Aktivität im Herzen innerhalb der ersten 24 Stunden bei der Gruppe der Patienten mit Myokardinfarkt innerhalb der letzten 14 Tag signifikant höher ($6,3 \pm 2,9\%$) war, als bei der Gruppe, deren Infarkt

länger als 14 Tage aber kürzer als ein Jahr zurücklag ($4,5 \pm 3,2\%$). Die geringste ^{111}In -Aktivität ($2,5 \pm 1,6\%$) zeigten Patienten mit länger als einem Jahr zurückliegender oder chronischer Ischämie ($p = 0,042$).

In der Gruppe der akuten (≤ 14 Tage) und subakuten (14 Tage bis 1 Jahr) Ischämien zeigte sich ebenfalls, dass eine geringere Viabilität der betroffenen Areale im durchgeführten ^{18}F FDG-PET das Homing der Zellen ebenfalls günstig beeinflusst ($p = 0,039$), während die Viabilität in der Gruppe der chronischen Ischämien (> 1 Jahr) nicht signifikant mit der ^{111}In -Aktivität korrelierte ($p = 0,88$).

Des Weiteren zeigte sich, dass bei Patienten mit AMI innerhalb der letzten 12 Monate eine eingeschränkte koronare Flussreserve als Ausdruck einer gestörten Mikrozirkulation die Aufnahme ^{111}In -markierter EPCs ebenfalls günstig beeinflusst ($p = 0,048$).

Zusammenfassend erscheinen demnach das Alter des Infarktes, das Ausmaß der entstandenen Gewebsschädigung und der Umfang der verbliebenen mikrozirkulatorischen Funktion des Herzens die Faktoren zu sein, die das „Homing“ intrakoronar applizierter Progenitorzellen wesentlich beeinflussen.

Dennoch konnte auch die vorliegende Studie keinen endgültigen Aufschluss darüber geben, auf welche Weise die applizierten Stammzellen ihre Wirkung am Herzen entfalten. Hier werden weiterhin die Vaskulogenese, die Differenzierung in funktionsfähige Kardiomyozyten ebenso wie parakrine Effekte, beispielsweise durch den SDF-1/CXCR4-Mechanismus, oder VEGF diskutiert.

Letztlich bietet die vorliegende Studie jedoch eine Datenbasis für künftige Studien, die sich mit der Verbesserung, insbesondere der Technik der kardialen Progenitorzelltherapie, auseinandersetzen.

6.2 Abstract in English

Coronary artery disease and acute myocardial infarction are the most common causes of death in western industrial nations. Cardiac remodeling, especially of the left ventricle, is a result of chronic or acute ischemic damage to the myocardium and often leading to a congestive heart failure.

Several clinical and experimental studies in the last few years indicated that cardiac stem cell therapy is a promising approach to support regeneration of the heart after an ischemic damage and to reduce the extent of cardiac remodeling. In this context, investigators used several variable types of stem cells as well as different routes of application.

The question how stem cell therapy might contribute to cardiac regeneration is not settled conclusively. However, a basic prerequisite is at least the short-term transmigration and engraftment of stem cells into the damaged tissue after intracoronary application.

To gather further insights into the mechanisms, sequences and predictive factors of this process called "homing", 20 patients were treated with ¹¹¹Indium-oxine labeled progenitor cells at the Hospital of the Johann Wolfgang Goethe-University between 2005 and 2007 and underwent gamma-camera and SPECT imaging in the subsequent three days.

As the study revealed, ¹¹¹In-activity in the heart within the first 24 hours was significantly higher in patients that suffered a myocardial infarction within the last 14 days ($6.3 \pm 2.9\%$) than in patients with an infarction between 14 days and one year in the past ($4.5 \pm 3.2\%$). The lowest ¹¹¹In-activity ($2.5 \pm 1.6\%$) was shown in patients with old infarction or chronic ischemic heart disease ($p = 0.042$).

In those patients that suffered an acute (≤ 14 days) or subacute (14 days to one year) myocardial damage, viability of the treated segments in the conducted ¹⁸FDG-PET also influenced the homing of stem cells positively ($p = 0.039$), while the viability had no significant correlation ($p = 0.88$) in the patients with old infarction (> 1 year).

Furthermore an impairment in coronary flow reserve (CFR) as an expression of a dysfunctional microcirculation was shown to improve homing of ¹¹¹In-labeled stem cells ($p = 0.048$) in patients with AMI within the last 12 months.

Summarizing the findings one should be allowed to say that the age of myocardial infarction, the extent of tissue damage and the microcirculatory function have an influence on the homing of progenitor cells after intracoronary application.

Nevertheless the present study could not finally shed light on the ways stem cells provide their beneficial effects. We still discuss about vasculogenesis as well as differentiation into functionally active cardiomyocytes or paracrine effects such as SDF-1/CXCR4 interaction or VEGF. Notwithstanding it provides an index database for future investigations which are concerned with an improvement of the techniques used for the cardiac stem cell therapy.

7. Abkürzungen und Akronyme

µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
¹¹¹In	¹¹¹ Indium
¹⁸FDG-PET	¹⁸ Fluordeoxyglucose Positronen-Emissions-Tomographie
ACE	angiotensin converting enzyme
ACS	acute coronary syndrome
AHA	American Heart Association
AMI	acute myocardial infarction
bFGF	basic fibroblast growth factor
BMC	bone-marrow cells
BOIC	balloon occlusion infusion catheter
ca.	circa
CE	Communauté Européenne
CFR	coronary flow reserve
CXCR4	CXC chemokine receptor-4
DIC	dissiminated intravasal coagulation
dl	Deziliter
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
EPC	endothelial progenitor cells
ES	embryonale Stammzellen
Fa.	Firma
g	Gramm
GP-Ib	Glykoprotein Ib
GP-IIb/IIIa	Glykoprotein IIb/IIIa
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HDL	high-density lipoprotein
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A
i.c.	intracoronar
IDDM	insuline dependent diabetes mellitus
IE	Internationale Einheit

keV	Kiloelektronenvolt
KHK	Koronare Herzkrankheit
l	Liter
LCA	left coronary artery
LDL	low-density lipoprotein
LV	Linker Ventrikel
LVEDP	left ventricular enddiastolic pressure
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
m	männlich
MBq	Megabecquerel
mg	Miligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
MSC	mesenchymal stroma cell
MSI	mean signal intensity
NIDDM	non-insuline dependent diabetes mellitus
NO	Stickstoffmonoxid
NSTEMI	Non-ST-elevation myocardial infarction
pAVK	periphere Arterielle Verschlusskrankheit
PBS	phosphate buffered saline
PCI	percutaneous coronary intervention
PIGF	placenta growth factor
PTCA	Perkutane Transluminale Coronare Angioplastie
py	packyears
QLVA	Quantitative Linksventrikuläre Angiographie
RCA	right coronary artery
RCX	Ramus circumflexus
REPAIR-AMI	Reinfusion of Enriched Progenitor Cells And Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RIVP	Ramus interventricularis posterior
ROI	region of interest

RPLD	Ramus posterolateralis dexter
RPLS	Ramus posterolateralis sinister
SD	Standard Deviation
SDF-1	stromal cell-derived factor-1
SPECT	single-photon emission computed tomography
STEMI	ST-elevation myocardial infarction
TNF-alpha	Tumor-Nekrosefaktor Alpha
VEGF	vascular endothelial growth factor
w	weiblich
WHO	World Health Organisation

8. Literaturverzeichnis

- [1] Hamm CW, Arntz HR, Bode C, Giannitsis E, Katus H, Levenson B, Nordt Th, Neumann FJ, Tebbe U, Zahn R: Leitlinien: Akutes Koronarsyndrom (ACS) Teil 2: Akutes Koronarsyndrom mit ST-Hebung, ZKardiol 93:324–341 (2004).
- [2] Murry CE, Field LJ, Menasche P. Cell-based cardiac repair: reflections at the 10-year point. *Circulation*. 2005;112:3174-3183.
- [3] Schächinger V, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Hölschermann H, Yu J, Corti R, Mathey DG, Hamm CW, Süselbeck T, Werner N, Haase J, Neuzner J, Germing A, Mark B, Assmus B, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J*. 2006;27:2775-2783.
- [4] Dimmeler S, Zeiher AM, Schneider MD. Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair. *J Clin Invest*. 2005;115:572-583
- [5] Aicher A, Brenner W, Zuhayra M, Badorff C, Massoudi S, Assmus B, Eckey T, Henze E, Zeiher AM, Dimmeler S. Assessment of the tissue distribution of transplanted human endothelial progenitor cells by radioactive labeling. *Circulation*. 2003;107:2134-2139.
- [6] Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, Zhang P, Rogers P, Price ET, Yeung AC, Johnstone BH, Yock PG, March KL. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation*. 2005;112:I150-I156.

- [7] Qian H, Yang Y, Huang J, Gao R, Dou K, Yang G, Li J, Shen R, He Z, Lu M, Zhao S. Intracoronary delivery of autologous bone marrow mononuclear cells radiolabeled by ¹⁸F-fluoro-deoxy-glucose: Tissue distribution and impact on post-infarct swine hearts. *J Cell Biochem.* 2007.
- [8] Dick AJ, Guttman MA, Raman VK, Peters DC, Pessanha BS, Hill JM, Smith S, Scott G, McVeigh ER, Lederman RJ. Magnetic resonance fluoroscopy allows targeted delivery of mesenchymal stem cells to infarct borders in Swine. *Circulation.* 2003;108:2899-2904.
- [9] Statistisches Bundesamt: Todesursachen in Deutschland im Jahr 2006, <http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Statistiken/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/Content75/SterbefaelleInsgesamt,templateId=renderPrint.psml> (abgerufen 23.03.2008)
- [10] Herold G et al.: Innere Medizin - Eine vorlesungsorientierte Darstellung, Eigenvertrieb, Köln 2005
- [11] V. Schächinger, A.M. Zeiher: „Koronare Herzerkrankung“ in Classen, Diehl, Kochsiek: Innere Medizin, S.227 ff., 5. Auflage, Urban & Fischer Verlag München/Jena 2004
- [12] Deutsche Herzstiftung: Patientenbroschüre, <http://www.herzstiftung.de/pdf/Blutversorgung.pdf> (abgerufen 23.03.2008)
- [13] G. Nickenig, M. Böhm: „Atherosklerose“ in Classen, Diehl, Kochsiek: Innere Medizin, S.221 ff., 5. Auflage, Urban & Fischer Verlag München/Jena 2004

- [14] A. van der Loo, Ch. Bode: „Akute koronare Syndrome“ in Classen, Diehl, Kochsiek: Innere Medizin, S.242 ff., 5. Auflage, Urban & Fischer Verlag München/Jena 2004
- [15] Christian Mewis, Reimer Riessen, Ioakim Spyridopoulos: „Kardiologie compact“, 1. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York 2004
- [16] Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac Remodeling - Concepts and Clinical Implications: A Consensus Paper From an International Forum on Cardiac Remodeling. JACC. 2000:569–82
- [17] Aukrust P, Damas JK, Gullestad L, Immunomodulating therapy: new treatment modality in congestive heart failure. Congest Heart Fail. 2003 Mar-Apr;9(2):64-9.
- [18] Stefanie Dimmeler, Andreas M. Zeiher: Stammzelltherapie in der Kardiologie - Stand und Perspektiven. 1. Auflage UNI-MED, Bremen 2005
- [19] Badorff C, Brandes RP, Popp R, Russ S, Urbich C, Aicher A, Fleming I, Busse R, Zeiher AM, Dimmeler S. Transdifferentiation of blood derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes. Circulation. 2003. 107:1024-1032
- [20] Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, Mildner-Rihm C, Adler K, Tiemann M, Rütten H, Fichtlscherer S, Martin H, Zeiher AM. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. J Clin Invest. 2001 Aug;108(3):391-7

- [21] Brenner W, Aicher A, Eckey T, Massoudi S, Zuhayra M, Koehl U, Heeschen C, Kampen WU, Zeiher AM, Dimmeler S, Henze E. 111In-labeled CD34+ haematopoietic progenitor cells in rat myocardial infarction model. *J Nucl Med.* 2004;45:512-518
- [22] Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N, Grunwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation.* 2002;106:3009-3017
- [23] Dietz R, Rauch B. Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der chronischen koronaren Herzerkrankung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie Herz- und Kreislaufforschung (DGK). *Z Kardiol* 92:501–521 (2003)
- [24] Askari AT, Unzek S, Popovic ZB, Goldman CK, Forudi F, Kiedrowski M, Rovner A, Ellis SG, Thomas JD, DiCorleto PE, Topol EJ, Penn MS. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet.* 2003;362:697-703.
- [25] Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, Tepper OM, Bastidas N, Kleinman ME, Capla JM, Galiano RD, Levine JP, Gurtner GC. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med.* 2004;10:858-864.
- [26] Grunewald M, Avraham I, Dor Y, Bachar-Lustig E, Itin A, Jung S, Chimenti S, Landsman L, Abramovitch R, Keshet E. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell.* 2006;124:175-189.

- [27] Wang Y, Johnsen HE, Mortensen S, Bindslev L, Ripa RS, Haack-Sorensen M, Jorgensen E, Fang W, Kastrup J. Changes in circulating mesenchymal stem cells, stem cell homing factor, and vascular growth factors in patients with acute ST-elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention. *Heart*. 2005.
- [28] Chavakis E. IL-8: a new player in the homing of endothelial progenitor cells to ischemic myocardium. *J Mol Cell Cardiol*. 2006;40:442-445.
- [29] Kocher AA, Schuster MD, Bonaros N, Lietz K, Xiang G, Martens TP, Kurlansky PA, Sondermeijer H, Witkowski P, Boyle A, Homma S, Wang SF, Itescu S. Myocardial homing and neovascularization by human bone marrow angioblasts is regulated by IL-8/Gro CXC chemokines. *J Mol Cell Cardiol*. 2006;40:455-464.
- [30] van Weel V, Seghers L, de Vries MR, Kuiper EJ, Schlingemann RO, Bajema IM, Lindeman JH, Delis-van Diemen PM, van Hinsbergh VW, van Bockel JH, Quax PH. Expression of vascular endothelial growth factor, stromal cell-derived factor-1, and CXCR4 in human limb muscle with acute and chronic ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:1426-1432.
- [31] Chavakis E, Hain A, Vinci M, Carmona G, Bianchi ME, Vajkoczy P, Zeiher AM, Chavakis T, Dimmeler S. High-mobility group box 1 activates integrin-dependent homing of endothelial progenitor cells. *Circ Res*. 2007;100:204-212.
- [32] Kissel CK, Lehmann R, Assmus B, Aicher A, Honold J, Fischer-Rasokat U, Heeschen C, Spyridopoulos I, Dimmeler S, Zeiher AM. Selective functional exhaustion of hematopoietic progenitor cells in the bone marrow of patients with postinfarction heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:2341-2349.

- [33] Lerman A, Holmes DR, Herrmann J, Gersh BJ. Microcirculatory dysfunction in STElevation myocardial infarction: cause, consequence, or both? *Eur Heart J*. 2007;28:788-797.
- [34] Topol EJ, Yadav JS. Recognition of the importance of embolization in atherosclerotic vascular disease. *Circulation*. 2000;101:570-580.
- [35] Chavakis E, Aicher A, Heeschen C, Sasaki K, Kaiser R, El Makhfi N, Urbich C, Peters T, Scharffetter-Kochanek K, Zeiher AM, Chavakis T, Dimmeler S. Role of beta2-integrins for homing and neovascularization capacity of endothelial progenitor cells. *J Exp Med*. 2005;201:63-72.
- [36] Kurpisz M, Czepczynski R, Grygielska B, Majewski M, Fiszer D, Jerzykowska O, Sowinski J, Siminiak T. Bone marrow stem cell imaging after intracoronary administration. *Int J Cardiol*. 2006.
- [37] Aicher A, Heeschen C, Sasaki K, Urbich C, Zeiher AM, Dimmeler S. Low-energy shock wave for enhancing recruitment of endothelial progenitor cells: a new modality to increase efficacy of cell therapy in chronic hind limb ischemia. *Circulation*. 2006;114:2823-2830.
- [38] Seeger FH, Zeiher AM, Dimmeler S. Cell-enhancement strategies for the treatment of ischemic heart disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2007;4 Suppl 1:S110-S113.
- [39] Yla-Herttuala S, Rissanen TT, Vajanto I, Hartikainen J: Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Mar 13;49(10):1015-26.

- [40] Timothy D. Henry, MD; Brian H. Annex, MD; George R. McKendall, MD; Michael A. Azrin, MD; John J. Lopez, MD; Frank J. Giordano, MD; P.K. Shah, MD; James T. Willerson, MD; Raymond L. Benza, MD; Daniel S. Berman, MD; C. Michael Gibson, MD; Alex Bajamonde, PhD; Amy Chen Rundle, MS; Jennifer Fine, ScD; Edward R. McCluskey, MD, PhD, for the VIVA Investigators. The VIVA Trial: Vascular Endothelial Growth Factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis. *Circulation* 2003;107:1359-1365
- [41] Zheng H, Fu G, Dai T, Huang H. Migration of endothelial progenitor cells mediated by stromal cell-derived factor-1alpha/CXCR4 via PI3K/Akt/eNOS signal transduction pathway. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2007 Sep;50(3):274-80.
- [42] Bleul et al. A highly efficacious lymphocyte chemoattractant, stromal cell-derived factor 1 (SDF-1). *J. Exp. Med.* 184: 1101-1109, 1996.
- [43] Kryczek I, Wei S, Keller E, Liu R, Zou W. Stroma-derived factor (SDF-1/CXCL12) and human tumor pathogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007 Mar;292(3):C987-95.
- [44] Heart Rythm Society: Structural Defects / Heart Muscle Disease http://www.hrspatients.org/patients/the_normal_heart/structural_defects.asp (abgrufen 03.04.2008)
- [45] Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, Montori VM, Perin EC, Hornung CA, Zuba-Surma EK, Al-Mallah M, Dawn B. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2007 May 28;167(10):989-97.

- [46] Cerqueira MD, Weissman NJ, Dilsizian V, Jacobs AK, Kaul S, Laskey WK, Pennell DJ, Rumberger JA, Ryan T, Verani MS, Standardized Myocardial Segmentation and Nomenclature for Tomographic Imaging of the Heart Circulation 2002;105:539-542.

9. Danksagungen

Ich möchte mich herzlichst bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Volker Schächinger bedanken, der mir dieses Thema überlassen und mich in die zugrunde liegende Studie eingebunden hat.

Ein besonderer Dank gilt auch den „study-nurses“ Heike Braun, Isabell Geweyer und Beate Mantz für ihre Unterstützung und Anleitung.

Für die Zusammenarbeit im Rahmen der Studie danke ich Dr. Alexandra Aicher, Dr. Birgit Assmus, Dr. Martina Britten, Dr. Jochen Diener, PD Dr. Natascha Döbert, PD Dr. Stefan Fichtlscherer, Christian Happel, Dr. W.T. Kranert und Dr. Florian Seeger.

Der größte Dank gebührt jedoch meinen Eltern, die mir das Studium der Medizin ermöglicht haben und meinen Geschwistern, die in den vergangenen dreißig Jahren stets an mich geglaubt haben. Ihnen widme ich diese Doktorarbeit ebenso wie meiner Freundin Alexandra Schachler, die mich während der zweieinhalbjährigen Mitarbeit am „Indium-Protokoll“ unterstützt und begleitet hat.

10. Curriculum Vitae

P e r s ö n l i c h e A n g a b e n

Geburtstag: 15. April 1978
Geburtsort: Bad Homburg vor der Höhe
Nationalität: deutsch
Eltern: Willi Röver (Diplom-Ingenieur)
Brunhilde Röver (Elektrotechnische Assistentin)
Anschrift: Rainer Joachim K. Röver
Usinger Straße 33
D-61440 Oberursel

S c h u l i s c h e A u s b i l d u n g

1983 - 1989 Städt. Grundschule Oberursel-Oberstedten
1989 - 1999 Kaiserin-Friedrich-Schule und Gymnasium Oberursel
06/1999 Allgemeine Hochschulreife

G r u n d w e h r d i e n s t

1999 - 2000 Grundwehrdienst im Sanitätsdienst der Bundeswehr
StoSanZ Lahnstein, Ast. Kastellaun

B e r u f l i c h e A u s b i l d u n g

1997 - 1998 Ausbildung zum staatl. geprüften Rettungssanitäter
2000 - 2001 Weiterbildung zum staatl. geprüften Rettungsassistenten
03/2003 Weiterbildung zum Lehrrettungsassistenten

S t u d i u m

2001 - 2008 **Studium der Humanmedizin**
J.W.Goethe-Universität, Frankfurt a.M.

09/2004 **1. Staatsexamen**

- 03/2005 **Famulatur in der Medizinischen Notaufnahme**
Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität
- 08/2006 **Famulatur in der Anästhesie / Operative Intensivmedizin**
Hochtaunuskliniken Bad Homburg v.d.H.
- 02/2007 **Famulatur in der Kardiologie / Medizinischen Intensivstation**
Hochtaunuskliniken Bad Homburg v.d.H.
- 03/2007 **Famulatur in einer pädiatrischen Praxis**
Dr. M.V.M. Sharifi, Bad Homburg v.d.H.

P r a k t i s c h e s J a h r

- 08/2007 - 07/2008 **1. Tertian: Kardiologie, Nephrologie, Gastroenterologie**
Markus-Krankenhaus, Frankfurt a.M.
- 2. Tertian: Anästhesie und Schmerztherapie**
Spital Tafers, Kanton Fribourg, Schweiz
- 2. Tertian: Anästhesie und Intensivmedizin**
Markus-Krankenhaus, Frankfurt a.M.
- 3. Tertian: Chirurgie**
Chirurgisches Notfallzentrum des Inselspitals, Bern, Schweiz
- 11/2008 **2. Staatsexamen**
- 11/2008 **Approbation als Arzt**
- seit 12/2008 **Assistenzarzt am Institut für Anesthesiologie,
Intensivmedizin und Notfallmedizin der Städtischen
Kliniken Frankfurt-Höchst, Frankfurt am Main**

Frankfurt am Main, den 10.02.2009



Rainer Röver

11. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

**Monitoring der intrakoronaren Zelltherapie:
Umfang und Determinanten der Aufnahme von
¹¹¹In-markierten endothelialen Progenitorzellen in das Myokard**

in der Medizinischen Klinik III, Abteilung für Kardiologie, am Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

unter Betreuung und Anleitung von Herrn Prof. Dr. med. Volker Schächinger ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden in der Zeitschrift „Circulation“ veröffentlicht:

Schächinger V, Aicher A, Döbert N, Röver R, Diener J, Fichtlscherer S, Assmus B, Seeger FH, Menzel C, Brenner W, Dimmeler S, Zeiher AM. Extent and determinants of progenitor cell recruitment to the infarcted human myocardium. Circulation. 2008 Sep 30;118(14):1425-32.

Frankfurt am Main, den 10.02.2009



Rainer Röver