

Asklepios Klinik St. Georg Hamburg

Lehrkrankenhaus des Universitätsklinikums Hamburg – Eppendorf

Fachabteilung für Kardiologie

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. hc. Karl – Heinz Kuck

Perkutane intramyokardiale Injektion von mononukleären Knochenmarkszellen in der Frühphase nach akutem Myokardinfarkt

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Stephanie Haupt, geb. Lukas
aus Cottbus

Hamburg 2010

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 01.03.2011

Veröffentlicht mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. med. K.-H. Kuck

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. med. Th. Eschenhagen

Prüfungsausschuss, dritter Gutachter: PD. Dr. med. I. Müller

Inhaltsverzeichnis

1 Arbeitshypothese.....	1
2 Einleitung.....	2
2.1 Stammzelltherapie des infarktgeschädigten Herzens.....	2
2.1.1 Stammzellen.....	3
2.1.1.1 Embryonale Stammzellen.....	3
2.1.1.2 Adulte Stammzellen.....	4
2.1.1.3 Stammzellen im Vergleich.....	7
2.1.2 Stammzelltherapie bei Patienten mit KHK.....	7
2.1.2.1 Mobilisierung durch Zytokine.....	7
2.1.2.1 Transvaskuläre Applikation.....	8
2.1.2.4 Applikationsarten im Vergleich.....	13
2.2 Elektromechanisches Mapping des linken Herzventrikels (NOGA- Mapping).....	14
2.3 Herzinfarkt und ischämische Kardiomyopathie.....	16
2.3.1 Herzinfarkt.....	16
2.3.2 Ischämische Kardiomyopathie	19
3 Material und Methoden.....	21
3.1 Studiendesign.....	21
3.2 Patienten.....	21
3.3 Herzinfarkt Diagnostik und konventionelle Therapie.....	22
3.5 Stammzellisolierung und Aufarbeitung.....	26
3.6 NOGA-Mapping (Linksventrikuläres elektromechanisches Map- pingsystem).....	27
3.7 Intramyokardiale Injektion.....	32
3.8 Transplantationsnachsorge.....	34
3.11 Follow-up-Untersuchungen.....	35
3.12 Statistische Auswertung.....	35
4 Ergebnisse.....	36

4.1 Patienten.....	36
4.2 NOGA-Mapping und Stammzelltransplantation	38
4.3 Follow-up-Untersuchungen.....	39
4.3.1 Laborparameter.....	40
4.3.3 Re-Angiographie und Linksherzkatheteruntersuchung.....	41
4.3.2 Transendokardiale Echokardiographie.....	42
4.3.4 Re-NOGA-Mapping.....	42
5 Diskussion.....	45
6 Zusammenfassung.....	53
7 Abkürzungsverzeichnis.....	54
8 Literaturverzeichnis.....	55
Danksagung.....	65
Lebenslauf.....	66
Eidesstattliche Versicherung:	67

1 Arbeitshypothese

Annähernd 58.000 Menschen verstarben im Jahr 2007 allein in Deutschland an den Folgen eines akuten Herzinfarktes. Damit steht diese Erkrankung an zweiter Stelle der Todesursachenstatistik in Deutschland (Statistisches Bundesamt Deutschland 2009). Trotz zahlreicher Fortschritte in der kardiovaskulären Medizin ist der akute Myokardinfarkt zusammen mit der chronischen ischämischen Herzkrankheit die führende Todesursache in den Industrieländern.

In den letzten Jahren wurden experimentelle Studien veröffentlicht, welche über positive Effekte hinsichtlich einer Verbesserung der linksventrikulären Auswurfraction nach Stammzelltransplantation am infarktgeschädigten Herzen berichten. In Bezug auf die Effektivität *intrakoronarer* Zellapplikation zeigten erste randomisierte Studien kontroverse Ergebnisse.

Die perkutane transendokardiale *intramyokardiale* Zellinjektion soll hinsichtlich der Zellverteilung effektiver und somit potentiell wirksamer sein. In der hier vorgestellten Arbeit sollen die Sicherheit und Machbarkeit (safety and feasibility) dieser Zellapplikationsmethode bei Patienten nach einem akuten Myokardinfarkt untersucht werden.

2 Einleitung

2.1 Stammzelltherapie des infarktgeschädigten Herzens

Lange Zeit galt das adulte Herz als terminal differenziertes Organ, welches keine Regenerations- und Reparationsfähigkeit besitzt. Deshalb galt jeder, durch einen ausgedehnten Myokardinfarkt verursachte signifikante Zellverlust als irreversibel. Der Verlust funktionaler Zellen führt zu einer zunehmenden Störung der ventrikulären Funktion. Am Ende dieser Entwicklung kann eine Herzinsuffizienz entstehen. Trotz großer Fortschritte im Bereich der konventionellen Therapien bleibt die Prognose für Patienten mit einer chronischen ischämischen Kardiomyopathie schlecht. In der größten bisher durchgeführten Studie mit etwa 14.000 Patienten, welche nach einem Herzinfarkt an einer linksventrikulären Funktionsstörung litten, lag die 1-Jahres-Mortalität trotz leitliniengerechter medikamentöser Behandlung und der Implantation automatischer Defibrillatoren bei 13 % (Pfeffer et al. 2003). Keine der bisher bekannten Therapien bewirkt nach einem Myokardinfarkt eine Reduktion der Narbengröße oder Verbesserung der kardialen Pumpfunktion. Als letzte herkömmliche Therapieoption gilt die Herztransplantation. Aufgrund eines andauernden Mangels an Spendern kann jedoch nur eine begrenzte Anzahl von Patienten davon profitieren.

In der jüngeren Vergangenheit konnte die Existenz kardialer Stammzellen nachgewiesen werden, welche im gesunden und geschädigten Myokard an der Reparatur und Regeneration von Myozyten und vaskulären Strukturen beteiligt sind (Anversa et al. 2002, Beltrami et al. 2003). Eine spontane vollständige Regeneration des infarktgeschädigten Herzens ist aufgrund der geringen Anzahl herzeigener Stammzellen jedoch nicht zu erwarten (Sanchez et al. 2007). Orlic et al. wiesen 2001 darüber hinaus erstmals im Tierversuch nach, dass auch eine Subpopulation primitiver Knochenmarkstammzellen infarktgeschädigtes Myokard reparieren und teilweise ersetzen kann (Orlic et al. 2001). Diese bahnbrechenden Erkenntnisse initiierten rasch eine große Anzahl präklinischer und klinischer Studien, welche das Ziel hatten, die Möglichkeit einer stammzellgestützten Regeneration des ischämisch geschädigten Herzens zu prüfen (Möllmann et al. 2009).

Von einer Stammzelltransplantation in infarktgeschädigtes Myokard wird der Wiederaufbau des kranken Herzens durch seine Einzelbestandteile erwartet. Die transplantierten Zellen sollen idealerweise Kardiomyozyten morphologisch und in ihrer kontraktile Funktion durch Transdifferenzierung nachahmen und eine elektrische Verbindung zu den nativen myokardialen Zellen herstellen.

Daneben werden der Stammzelltransplantation positive Auswirkungen auf die Neoangiogenese, die Narbenbildung, durch Sekretion von Zytokinen parakrine Effekte sowie eine günstige Beeinflussung der ortständigen kardialen Stammzellen zugeschrieben (Möllmann et al. 2009).

2.1.1 Stammzellen

Stammzellen sind undifferenzierte, unreife Gewebevorläuferzellen, welche die Fähigkeit zur unbegrenzten Selbsterneuerung und Bildung einer oder mehrerer differenzierter Zelllinien haben. Es werden pluripotente von multipotenten Stammzellen unterschieden. Aus pluripotenten Zellen können in alle Gewebearten und Keimzelllinien differenzieren. Multipotente Stammzellen sind ab dem fetalen Stadium nachweisbar. Sie sind für die Regeneration und Erneuerung einzelner Gewebearten und Zelllinien verantwortlich (Sanchez et al. 2007).

Die Transplantation von Stammzellen kann allogene oder autologe erfolgen. Allogene Zellen stammen von artgleichen, genetisch verschiedenen Individuen, unterscheiden sich aber bezüglich einzelner Zelloberflächenmarker, wie z. B. der Blutgruppe. Um eine Abstoßungsreaktion zu verhindern, ist nach der allogenen Transplantation eine immunsuppressive Therapie erforderlich.

Autologe Zellen sind körpereigene Zellen, welche nach Entnahme demselben Individuum reimplantiert werden. Eine immunsuppressive Behandlung ist hier nicht notwendig.

2.1.1.1 Embryonale Stammzellen

Die ursprünglichsten Stammzellen sind pluripotente embryonale Stammzellen. Alle Gewebearten gehen aus ihnen hervor. Xu et al. wiesen nach, dass Kardiomyozyten aus humanen embryonalen Stammzellen gezüchtet werden können

(Xu et al. 2002). Die Verwendung humaner embryonaler Stammzellen ist jedoch umstritten. Die unbegrenzte Möglichkeit zur Zellteilung neben der Eigenschaft der Pluripotenz lassen ein Potential zur Ausbildung maligner Tumore befürchten. Da es sich um eine allogene Transplantation handelte, wäre eine immunsuppressive Therapie erforderlich. Außerdem bestehen derzeit ethische und rechtliche Bedenken gegen den Einsatz in Forschung und Klinik (Möllmann et al. 2009).

2.1.1.2 Adulte Stammzellen

Adulte Stammzellen oder Vorläuferzellen besitzen im Gegensatz zu embryonalen Stammzellen nur multipotente Eigenschaften. Sie sind in den verschiedenen Geweben des erwachsenen Körpers, wie z.B. im Knochenmark nachzuweisen. Die Reimplantation adulter Stammzellen ist klinisch unbedenklicher, da es sich um autologe Zellen handelt (Sanchez et al. 2007).

Unselektierte mononukleäre Stammzellen des Knochenmarks

Das Knochenmark des Erwachsenen besteht aus hämatopoetischen, mesenchymalen und anderen Stammzellen. Spezifische Oberflächenmarker, wie z.B. CD34 charakterisieren diese Zellen. Des Weiteren können Zellpopulationen durch die An- bzw. Abwesenheit von Abstammungsmarkern (engl. lineage marker [lin]), dem Stammzellfaktorrezeptor CD117 und dem Stammzellantigen-1 (sca-1) unterschieden werden. Letztere sind Kennzeichen primitiver Stammzellen, während ein positiver lin-Nachweis (lin⁺) mit einzelnen Zelllinien verbunden ist (Möllmann et al. 2009).

Knochenmark kann leicht aus dem Beckenkamm aspiriert werden. Dadurch ist die Gewinnung der Stammzellen nicht sehr zeitaufwändig. Vereinzelt können auch im peripheren Blut Stammzellen aus dem Knochenmark nachgewiesen werden. Deren Anzahl kann durch G-CSF-Gabe erhöht werden, so dass Stammzellen auf diesem Weg vermehrt aus dem peripheren Blut gewonnen werden können.

Zahlreiche Studien zur klinischen Anwendung nicht selektierter Stammzellen des Knochenmarks am ischämisch geschädigten Herzen mit zum Teil kontroversen

Ergebnissen hinsichtlich einer Verbesserung der globalen linksventrikulären Funktion liegen vor (Strauer et al. 2001, Wollert et al. 2004, Schächinger et al. 2006a, Schächinger et al. 2006b).

Selektierte Stammzellen aus dem Knochenmark und peripheren Blut

Die Oberflächenmarker CD34, CD133 und CD117 (c-kit) charakterisieren eine heterogene Gruppe potenter hämatopoetischer und endothelialer Vorläuferzellen. Sie sind in der Lage, Zellen des peripheren Blutes sowie Blutgefäße zu bilden. Durch die Oberflächenantigene können die spezifischen Subpopulationen isoliert und nach der Mobilisierung oder Aspiration aus dem Knochenmark angereichert werden (Sanchez et al. 2007). Für selektierte Knochenmarkstammzellen wurde im Vergleich zu nicht selektierten Zellen eine erhöhte Retention im Infarkttrandgebiet nachgewiesen (Hofmann et al. 2005). Bartunek et al. demonstrierten einen positiven Effekt isolierter CD133+ Zellen nach intrakoronarer Infusion nach akutem Myokardinfarkt auf die linksventrikuläre Auswurfraction und die Infarktgröße (Bartunek et al. 2005).

Mesenchymale Stammzellen

Mesenchymale Stammzellen stellen eine seltene Zellpopulation im Stroma des Knochenmarkes dar. Sie exprimieren keine spezifischen Oberflächenmarker, jedoch zahlreiche Adhäsionsproteine und zeichnen sich durch Adhäsion an Zellkulturflasche aus. Sie sind Ausgangszellen für Osteozyten, Chondrozyten und Adipozyten (Sanchez et al. 2007). Bereits 1999 zeigte eine Studie von Makino et al., dass aus mesenchymalen Stammzellen des Knochenmarkes in vitro kontraktile Kardiomyozyten gewonnen werden können (Makino et al. 1999). Sowohl für die Stammzelltherapie bei akutem Herzinfarkt als auch bei ischämischen Kardiomyopathie zeigten klinische Studien eine Verbesserung der globalen linksventrikulären Funktion nach Transplantation von mesenchymalen Stammzellen (Chen et al. 2004, Katritsis et al. 2007, Mohyeddin-Bonab et al. 2007).

Skelettale Myoblasten

Skelettale Myoblasten sind Vorläuferzellen der quergestreiften Muskulatur und haben somit ein kontraktiles Potential. Myoblasten können durch Muskelbiopsien gewonnen werden. Unter in-vitro Bedingungen sind sie leicht zu kultivieren und expandieren. Gegenüber ischämischen Umweltverhältnissen sind sie relativ resistent (Menasche et al. 2003). Nach Implantation in infarziertes Myokard konnte histologisch das Überleben und Anwachsen der Myoblasten, sowie die Formierung von Myofibrillen nachgewiesen werden (Dib et al. 2005). Die MAGIC (Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathie) -Studie war die erste randomisierte, placebokontrollierte Studie zur Transplantation skelettaler Myoblasten während einer Bypass-Operation (Menasche et al. 2008).

Endotheliale Vorläuferzellen

Bereits 1999 konnten im Tiermodell genetisch markierte, aus dem Knochenmark stammende endotheliale Vorläuferzellen in Endothelien kleiner Blutgefäße in der Infarkttrandzone des Myokards nachgewiesen werden (Asahara et al. 1999). Endotheliale Vorläuferzellen finden sich im Knochenmark und zirkulierenden Blut und können aus der Zellkultur CD34⁺ oder CD133⁺ hämatopoetischer Vorläuferzellen gewonnen werden. In vitro transdifferenzieren endotheliale Vorläuferzellen bei Zell-zu-Zell-Kontakt mit Kardiomyozyten in Kardiomyozyten, Endothelzellen und glatte Muskelzellen (Badorff et al. 2003).

Myokardiale Stammzellen

In adulten humanen Herzen wurde ein kleiner Pool kardialer Stammzellen und Vorläuferzellen gefunden, welche Kardiomyozyten und vaskuläre Strukturen regenerieren können. Kardiale Stammzellen können isoliert, angezüchtet und vermehrt werden (Torella et al. 2006). Beltrami et al. wiesen nach Injektion von lin⁻, c-kit⁺ Zellen im Tiermodell eine Regeneration des ischämisch geschädigten Myokards im Bereich der Nekrose, eine Verbesserung der kontraktile Funktion und der Ventrikelgeometrie nach (Beltrami et al. 2003).

2.1.1.3 Stammzellen im Vergleich

Bisher liegen keine Daten vor, welche Stammzellenart am besten geeignet wäre, um in der Kardiologie eine Anwendung zu finden. Grundsätzlich ist festzuhalten, dass die Präparation unselektierter und selektierter mononukleärer Knochenmarkstammzellen klinisch am einfachsten und schnellsten auszuführen ist und somit auch bei der Behandlung eines akuten Myokardinfarkts angewendet werden kann. Die Mehrzahl der aufgeführten Zelllinien, wie endotheliale Vorläuferzellen, mesenchymale Stammzellen oder skelettale Myoblasten müssen in einem meist mehrere Tage oder Wochen andauernden Prozess in Zellkulturflaschen angezüchtet werden. Deshalb sind sie in der klinischen Akutsituation für eine autologe Transplantation nicht einsetzbar.

2.1.2 Stammzelltherapie bei Patienten mit KHK

Neben einer Mobilisierung durch Zytokine stehen verschiedene invasive Zugangswege für die Stammzellapplikation am humanen Herzen zur Verfügung. Ziel jeder Applikationstechnik ist es, die Vitalität der Zellen zu erhalten, eine suffiziente Anzahl von Zellen zu transplantieren und eine maximale Retention im geschädigten Gebiet zu erreichen. Gleichzeitig soll ein Abwandern der Zellen in andere Organe verhindert werden.

2.1.2.1 Mobilisierung durch Zytokine

Um das Risiko eines operativen Eingriffs zu vermeiden, wurde nach nichtinvasiven Möglichkeiten einer Stammzelltherapie gesucht. Durch Gabe von Zytokinen wie dem Granulozyten-Kolonie-stimulierender-Faktor (G-CSF) werden vermehrt multipotente Knochenmarkstammzellen in das zirkulierende Blut freigesetzt. Basierend auf der Theorie, dass eine erhöhte Anzahl mononukleärer Knochenmarkstammzellen die Einwanderung in infarktgeschädigtes Myokard und dessen Regeneration fördert, zeigten verschiedene Studien im Tiermodell einen positiven Effekt auf die Heilung, die Remodelierung und die Regeneration des Herzmuskels. Nachfolgende klinische Studien zeigten kontroverse Ergebnisse hinsichtlich einer

Verbesserung der globalen linksventrikulären Funktion nach einer Behandlung mit G-CSF bei akutem Myokardinfarkt (s. Tab. 1).

Tabelle 1: Beispiele randomisierte Studien zur Behandlung mit G-CSF

Autor	Studie	Initiale EF	Ergebnisse
(Ince et al. 2005a)	FIRSTLINE-AMI	52 %	<i>4 Monate:</i> Anstieg der EF in beiden Gruppen um ~ 5 %; <i>12 Monate:</i> Anstieg EF insgesamt 8 % (B) vs. 2 % (K), Verbesserung der globalen linksventrikulären Funktion in der Kontrollgruppe
(Ripa et al. 2006, Ripa et al. 2007)	STEMMI	50 %	Verbesserung der linksventrikulären Funktion ohne signifikante Gruppenunterschiede.
(Zohlnhöfer et al. 2006)		50 %	Keine Veränderung der Infarktgröße. Verbesserung der linksventrikulären Funktion nur in der Kontrollgruppe.

(B = behandelte Gruppe, K = Kontrollgruppe)

2.1.2.1 Transvaskuläre Applikation

Infusion in eine periphere Vene

Über eine periphere Vene können Stammzellen wie bei einer Knochenmarktransplantation infundiert werden. Ma et al. wiesen im Tierversuch nach, dass Stammzellen aus Nabelschnurblut, welche in ihrer Zusammensetzung dem Knochenmark ähnlich sind, in infarktgeschädigte Areale des Herzens einwandern. Wie bei durch Zytokinen mobilisierten Stammzellen beruht die Retention der Zellen auf einer vermehrten Expression von SDF-1 im ischämischen Myokard. Neben einer Beteiligung an der Angiogeneese beeinflussten die transfundierten Zellen auch die Infarktgröße und Narbenbildung positiv (Ma et al. 2005).

Infusion über das Koronarsinussystem

In den Sinus coronarius, welcher den linken Vorhof umschlingt, münden mehrere venöse Blutgefäße des Herzens. Diese können retrograd über eine periphere Vene durch den Koronarsinus katheterisiert werden. Die Orientierung erfolgt durch Kontrastmittelgabe in die Venen und Arterien des Herzens. Nach Ballon-okklusion der Zielvene erfolgt unter hohem Druck die Infusion der Stammzellen. Bisher liegen zu dieser Applikationsart nur präklinische Studien vor (Hou et al. 2005).

Intrakoronare Infusion

Strauer et al. führten erstmals 2001 eine Transplantation mononukleärer Stammzellen an einem Patienten nach akutem Herzinfarkt durch. Die Zellen wurden dabei direkt in das Infarktgefäß infundiert. Diese Technik erfordert zunächst eine intrakoronare, perkutane Revaskularisierung der verschlossenen Koronararterie. Über einen Ballonkatheter werden die Stammzellen in dem Blutgefäß platziert. Während der Infusion wechseln temporäre Ballonokklusionen mit Zellapplikationen und Durchblutungsperioden mit geringem Fluss ab (Strauer et al. 2001). Zur intrakoronaren Applikation von Stammzellen liegt zwischenzeitlich die größte Anzahl klinischer Studien vor. Tabelle 2 führt beispielhaft einzelne initiale randomisierte klinische Studien mit ihren unterschiedlichen Ergebnissen hinsichtlich der Effektivität einer intrakoronaren Stammzellinfusion auf.

Tabelle 2: Beispiele großer randomisierte Studien zur intrakoronaren Stammzelltransplantation

Autor	Studie	Zellart	Ergebnis
(Chen et al. 2004)		MS	<u>3 Monate:</u> Anstieg EF um 18 % (B) vs. 5 % (K); Verringerung ischämisches Areal (B) und der Herzarbeit (B); <u>6 Monate:</u> keine weiteren Veränderungen
(Bartunek et al. 2005)		CD133 ⁺	<u>4 Monate:</u> Anstieg EF um 7 % (B) vs. 4 % (K); Verbesserung der Perfusion und Viabilität ohne signifikante Gruppenunterschiede
(Janssens et al. 2006)	LEUVEN	KMS	<u>4 Monate:</u> Anstieg EF um ~ 3 % in beiden Gruppen; Verbesserung der globalen linksventrikulären Funktion ohne signifikante Gruppenunterschiede
(Lunde et al. 2006)	ASTAMI	KMS	<u>6 Monate:</u> Anstieg EF und Verkleinerung der Infarktgröße ohne signifikante Gruppenunterschiede
(Schächinger et al. 2006a, 2006b)	REPAIR-AMI	KMS	<u>4 Monate:</u> Anstieg EF um 5 % (B) vs. 3 % (K); <u>12 Monate:</u> Verringerung der Infarktgröße ohne signifikante Gruppenunterschiede
(Wollert et al. 2004, 2006)	BOOST, Meyer	KMS	<u>6 Monate:</u> Anstieg EF um 6 % (B) vs. 0,7 % (K); <u>18 Monate:</u> Anstieg EF insgesamt 5 % (B) vs. 3 % (K) (nicht signifikant)

(MS = mesenchymale Stammzellen, KMS = unselektierte Knochenmarkstammzellen, B = Behandelte Gruppe, K = Kontrollgruppe)

2.1.2.3 Intramyokardiale Applikation

Die direkte intramyokardiale Injektion von Stammzellen erlaubt neben der Anwendung von isolierten und mononukleären Knochenmarkstammzellen auch die

Applikation größerer Zellen wie mesenchymaler Stammzellen und Myoblasten, welche bei einer intrakoronaren Transplantation Mikroembolien verursachen könnten (Sanchez et al. 2007).

Injektion durch das Koronarsinussystem

Über eine periphere Vene wird ein Katheter über das Koronarsinussystem in ein venöses Blutgefäß des Herzens eingebracht. Nach orientierendem intravaskulärem Ultraschall und Darstellung der Gefäße mit Kontrastmittel unter Durchleuchtung erfolgt die direkte transvenöse Injektion der Stammzellen in das ischämisch geschädigte Myokard (Thompson et al. 2003). Siminiak et al. führten die Transplantation autologer skelettaler Myoblasten an 12 Patienten durch und verzeichneten nach 6 Monaten eine Verbesserung der linksventrikulären Funktion (Siminiak et al. 2005).

Transepikardiale Injektion

Die transepikardiale Applikation von Stammzellen erfolgt während Bypassoperationen. Vor dem Eingriff werden dyskinetische und akinetische Myokardareale durch Echokardiographie identifiziert. Die Injektion wird nach Verschluss aller Transplantatnähte während der ersten spontanen Eigenaktionen des Herzens kurz vor dem Abstellen der extrakorporalen Zirkulation vorgenommen. Diese Technik erlaubt die Transplantation großer Stammzellmengen bei genauer örtlicher Orientierung in das Infarkttrandgebiet (Herreros et al. 2003). Die MAGIC-Studie zur transepikardialen Injektion skelettaler Myoblasten zeigte im zeitlichen Längsverlauf keine signifikanten Verbesserungen der linksventrikulären Funktion im Vergleich zur Kontrollgruppe (Menasche et al. 2008).

Transendokardiale Injektion

Vor einer direkten transendokardialen Injektion von Stammzellen erfolgt ein elektromechanisches Mapping (NOGA – Mapping) zur Erstellung eines dreidimensionalen Bildes des linken Ventrikels. Dies ermöglicht eine Unterscheidung von vitalem, geschädigtem und vernarbtem Myokard. Über einen speziellen Katheter werden die Stammzellen transendothelial direkt in das ischämisch geschädigte Myokard injiziert. Übereinstimmend berichteten 2003 drei Studiengruppen über eine erfolgreiche transendokardiale Injektion von unselektierten Knochenmarkstammzellen bzw. skelettaler Myoblasten bei Patienten mit chronischer ischämischer Kardiomyopathie mit anschließender Verbesserung der linksventrikulären Funktion (Perin et al. 2003, Smits et al. 2003, Tse et al. 2003). Nachfolgende klinische Studien zeigten kontroverse Ergebnisse (s. Tab. 3).

Tabelle 3: Beispiele von Studien zur transendokardialen Stammzelltransplantation

Autor	Zellart	Initiale EF	Ergebnisse
(Silva et al. 2004)	KMS	< 40 %	<u>6 Monate</u> : keine Veränderung der linksventrikulären Funktion, verbesserter Metabolismus im ischämischen Gebiet
(Ince et al. 2005b)	MB	< 40 %	<u>6 Monate</u> : Anstieg EF um 9 % (B) vs. Abfall EF (K), verbesserte Belastbarkeit bzgl. der Gehstrecke (B)
(Veltman et al. 2008)	MB	< 45 %	<u>4 Jahre</u> : keine signifikanten Veränderungen der linksventrikulären Funktion
(Losordo et al. 2007)	CD34	Angina pectoris	<u>12 Monate</u> : nicht signifikante Abnahme der Anginahäufigkeit, verbesserte Belastung in beiden Gruppen

(KMS = Knochenmarkstammzellen, MB = Myoblasten, B = Behandelte Gruppe, K = Kontrollgruppe)

Bereits 2005 demonstrierten Amado et al. im Tierversuch, dass eine kathetergestützte, transendokardiale Transplantation von mesenchymalen Stammzellen drei Tage nach akutem Herzinfarkt machbar ist und zu einer Verbesserung der linksventrikulären Auswurfleistung und Verkleinerung der Infarktgröße führt (Amado et

al. 2005). Studien über eine frühzeitige Anwendung der transendokardialen Stammzellapplikation bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt liegen bisher nicht vor.

2.1.2.4 Applikationsarten im Vergleich

In der Mehrzahl der bisher veröffentlichten klinischen Studien wurden Stammzellen bei akutem Myokardinfarkt oder chronischer ischämischer Kardiomyopathie intrakoronar infundiert. Beim Vergleich der intrakoronaren, intramyokardialen und transvenösen Applikation von Stammzellen zeigte sich im Tiermodell, dass nur ein Bruchteil der transplantierten Zellelemente im Myokard verbleibt. Der größte Teil der abgewanderten Zellen konnte in zwei präklinischen Studien in der Lunge und nachfolgend in Leber, Milz und Nieren nachgewiesen werden. Dabei verbleiben intramyokardial transplantierte Stammzellen in einer signifikant größeren Anzahl am Injektionsort als transvaskulär applizierte Zellen (Hou et al. 2005, Freyman et al. 2006).

Eine klinische Studie zeigt ähnliche Ergebnisse beim Vergleich der intrakoronaren und transvenösen Applikation. Eine Anreicherung transvenös transplantierte Stammzellen im Infarktareal konnte hier nicht gesehen werden (Hofmann et al. 2005).

2.2 Elektromechanisches Mapping des linken Herzventrikels (NOGA-Mapping)

1996 stellten Ben-Haim et al. erstmals ein kathetergestütztes Mappingsystem vor, welches auf einem Miniaturmagnetsensor in einer Katheterspitze und einem extrakorporalen Magnetfeldgenerator basiert. Die emittierten Magnetfelder haben bekannte räumliche und zeitliche Merkmale, welche jeden Punkt in einem kartierbaren Raum durch seine Magnetfeldstärke, -frequenz und -phase charakterisieren. Dadurch kommt diese Methode nahezu ohne den Gebrauch ionisierender Strahlung, z.B. bei Durchleuchtung, aus. Die erfassten Punkte können aufgrund ihrer Magnetfelddaten exakt wieder aufgefunden werden. Durch Kombination mit einem physiologischen Sensor kann die Katheterspitze nach minimalinvasivem Einbringen in den Herzventrikel lokale endokardiale Elektrogramme registrieren. Aus mehreren gesammelten Punkten kann die Herzkammer dreidimensional und in Echtzeit rekonstruiert und farbkodiert in eine graphische, dreidimensionale Rekonstruktion des Ventrikels, ein sogenanntes Map übertragen werden (Gepstein et al. 1997).

Aufgrund reduzierter elektrischer und mechanischer Aktivität ist es möglich, gesundes von infarziertem Myokard zu unterscheiden und ischämische Areale dreidimensional darzustellen (Gepstein et al. 1998, Kornowski et al. 1998). Die Lokalisation der Schädigung kann bis auf wenige Millimeter genau eingegrenzt werden (Ben-Haim et al. 1996).

Die Möglichkeit der exakten Positionierung der Katheterspitze an der endokardialen Oberfläche hat zur Entwicklung des NOGA-Injektionssystems (MyoStar™, Biosense-Webster Inc.) geführt, in welches eine rückziehbare 27 Gauge Nadel zur perkutanen endokardialen Injektion von verschiedenen Substanzen integriert ist (Gyöngyösi et al. 2004). Daneben enthält es ähnlich dem Mapping Katheter einen Navigationssensor in der Spitze (Oron et al. 2000). Nach ersten Tierversuchen stellten Vale et al. 2001 eine Arbeit vor, in der sie über ihre positiven Erfahrungen mit katheterbasierter intramyokardialer Injektion von Plasmid-DNA bei Patienten mit chronisch ischämischer Herzkrankheit berichten (Vale et al. 2001). Bereits im Jahr 2000 untersuchten Oron et al. die Machbarkeit und Effizienz einer Zellinjektion mit einem Injektionskatheter. Im Vergleich mit herkömmlichen Pipet-

ten und Injektionskanülen trat im in-vitro Experiment beim Gebrauch des Injektionskatheters kein signifikanter Zellverlust oder –schaden auf (Oron et al. 2000). Mehrere Studien, welche 2003 veröffentlicht wurden, bestätigten die Machbarkeit und Sicherheit einer transendokardialen Zelltransplantation von mononukleären Knochenmarkstammzellen oder skelettalen Myoblasten mittels Injektionskatheter bei Patienten mit ischämischer Kardiomyopathie (Perin et al. 2003, Smits et al. 2003, Tse et al. 2003).

2.3 Herzinfarkt und ischämische Kardiomyopathie

2.3.1 Herzinfarkt

Ein durchblutungsabhängiges Missverhältnis von Sauerstoffangebot- und bedarf im Myokard wird als Ischämie bezeichnet und führt zu einem irreversiblen Verlust von Kardiomyozyten, wenn es über mehr als 15 - 20 Minuten anhält. Dieses Ereignis wird als Herzinfarkt bezeichnet (Alpert et al. 2000, Saurbier und Bode 2007).

Ätiologie

Ein Myokardinfarkt entsteht meistens auf dem Boden einer koronaren Herzkrankheit (KHK), einer Atherosklerose der Herzkranzgefäße. Bei Ruptur atherosklerotischer Plaques kann ein Thrombus entstehen, welcher das Gefäßlumen partiell oder vollständig verlegt oder durch Abriss und Embolisation im nachfolgenden Gefäßabschnitt eine Ischämie verursacht (Saurbier und Bode 2007).

Seltene Ursachen eines Herzinfarktes können Gefäßanomalien, Vaskulitiden, Vasospasmen und Aortendissektionen unter Einbeziehung der Abgänge der Koronargefäße sein (Renz-Polster und Braun 2000).

Risikofaktoren

Risikofaktoren wie Diabetes mellitus, arterieller Hypertonus, Hyperlipoproteinämie, Nikotinkonsum, kardiale Ereignisse in der Familie, Lebensalter, männliches Geschlecht sowie kardiovaskuläre Erkrankungen in der Vorgeschichte erhöhen die Wahrscheinlichkeit einer KHK und damit auch die eines Myokardinfarktes (Saurbier und Bode 2007).

Symptome und Diagnose

Leitsymptom des Herzinfarktes ist der Thoraxschmerz, häufig begleitet von vegetativen Symptomen (Alpert et al. 2000).

Die Diagnose kann durch Erheben der Anamnese, Bestimmung der Laborparameter kardiales Troponin T und I (Trop T, Trop I), Kreatinkinase (CK), insbesondere herzmuskelspezifische CK-MB sowie in Zusammenhang mit dem Ansteigen oder Abfallen der Laborparameter auftretenden spezifischen Veränderungen im EKG gestellt werden. Dabei treten in erster Linie Hebungen der ST-Strecke (ST-Hebungsinfarkt) auf. Sind bei pathologischen Laborwerten keine EKG-Veränderungen erkennbar, so wird das Ereignis als Nicht-ST-Hebungs-Myokardinfarkt bezeichnet (Non-ST-elevating-myocardial-infarction, NSTEMI) (Thygesen et al. 2007).

Therapie

Interventionell

Zur Wiederherstellung der Myokardperfusion wird schnellstmöglich eine perkutane koronare Intervention (PCI) eingeleitet. Die zuerst ausgeführte Kontrastmittelkoronarangiographie ermöglicht die Darstellung von Plaques, Einengungen oder vollständigen Verschlüssen der Koronararterien und die Planung der weiteren Therapie. Anschließend kann durch Ballondilatation und ggf. Stenteinlage der Blutfluss im Infarktgefäß wieder hergestellt werden. Es erfolgt eine begleitende gerinnungshemmende Therapie mit Heparin, Acetylsalicylsäure (ASS), Clopidogrel und/ oder GPIIb/IIIa-Antagonisten (Saurbier und Bode 2007).

Medikamentös

Die medikamentöse Therapie zur Optimierung der Herzarbeit umfasst Betablocker und ACE-Hemmer, eine lebenslange prophylaktische Thrombozytenaggregationshemmung mittels ASS, sowie eine Sekundärprophylaxe, welche unter ande-

rem mit einer lipidsenkenden und antiinflammatorischen Statinmedikation zur Stabilisierung der atherosklerotischen Plaques beiträgt. Grundlegender Bestandteil der Therapie ist die Modifizierung/ Minimierung der allgemeinen Risikofaktoren (Saubier und Bode 2007).

Operativ

Für Patienten mit schwerer KHK, welche medikamentös und interventionell nicht behandelbar sind, stellt die aortokoronare Bypassoperation eine Therapieoption dar. Die Anlage eines aortokoronaren Bypasses geht mit dem erhöhten Risiko einer thoraxchirurgischen Operation mit Allgemeinanästhesie einher.

Im Endstadium einer KHK mit terminaler Herzinsuffizienz ist das Risiko eines rhythmogenen plötzlichen Herztods deutlich erhöht. Gegebenenfalls ist hier die Implantation eines implantierbaren Kardioverter-Defibrillator (ICD) indiziert. Als Ultima ratio kann eine Herztransplantation vorgenommen werden (Saubier und Bode 2007).

Komplikationen

Das schwer, aber reversibel geschädigte Myokard kann auch nach erfolgreicher Reperfusion über einen längeren Zeitraum ein fehlendes oder deutlich gestörtes Kontraktionsmuster aufweisen, was mit einer prolongierten funktionellen Erholung einhergeht (stunned myocard). Chronisch minderperfundiertes Myokard mit erniedrigter Kontraktilität wird als hibernating myocardium bezeichnet.

Die vom ischämischen Myokard freigesetzten Elektrolyte und metabolischen Produkte können arrhythmogen wirken und bedingen vor allem in den ischämischen Randzonen eine besondere elektrische Instabilität, die bei gesteigerter myokardialer Automatie zu Extrasystolen, ventrikulären Tachykardien und Kammerflimmern führen kann (Saubier und Bode 2007). Je nach Ausprägung der Störung ist eine zusätzliche medikamentöse Therapie, z.B. mit Betablockern oder Amiodaron indiziert.

Zu den schwersten Komplikationen des akuten Myokardinfarktes zählen der kardiogene Schock mit einer sehr hohen Sterblichkeit sowie die Ruptur der freien

Herzwand, welche in der Regel zwischen dem 3. und 6. Tag nach dem Myokardinfarkt eintritt.

Weiterhin können Rupturen des Ventrikelseptums, eine frühe oder späte Postinfarktperikarditis sowie eine Insuffizienz der Mitralklappe auftreten (Saubier und Bode 2007).

Prognose

Die Langzeitprognose nach einem Herzinfarkt wird im Wesentlichen vom Ausmaß des Myokardschadens mit Einschränkung der systolischen und diastolischen Pumpfunktion sowie der elektrischen Stabilität und dem morphologischen Koronarstatus bestimmt. Bei einer Ejektionsfraktion unter 30 % liegt die 3-Jahres-Mortalität bei etwa 60 % (Saubier und Bode 2007).

2.3.2 Ischämische Kardiomyopathie

Durch eine verbesserte Akuttherapie überleben mehr Patienten einen akuten Myokardinfarkt. Nachfolgend ist dieser die häufigste Ursache für die Entwicklung einer chronischen Herzinsuffizienz, welche in diesem Fall als ischämische Kardiomyopathie bezeichnet wird (Wollert und Drexler 2007).

Ätiologie

Nach einem Herzinfarkt finden im Myokard aufgrund der Funktionseinschränkung einzelner Wandabschnitte strukturelle Umbauvorgänge, die sogenannte Remodelierung statt. Dazu zählen die Dilatation des Ventrikels, eine progrediente Ausdünnung der Wand im Bereich der Infarkt Narbe, ein gesteigertes enddiastolisches Volumen und eine reaktive Hypertrophie des verbleibenden Myokards. Diese Veränderungen wirken sich insgesamt negativ auf die Kontraktilität aus und führen letztlich zu einer Herzinsuffizienz (Wollert und Drexler 2007).

Symptome und Diagnose

Leitsymptome der Herzinsuffizienz sind neben der Luftnot bei Belastung (Belastungsdyspnoe) eine verminderte körperliche Leistungsfähigkeit mit rascher Ermüdbarkeit und Gewichtszunahme durch Wassereinlagerungen. Die klinische Beurteilung des Schweregrades erfolgt gemäß der New-York-Heart-Association (NYHA). Neben der Anamnese und körperlichen Untersuchung kann die Diagnose mittels eines EKG, Röntgen-Thorax und einer Echokardiographie gestellt werden. Gegebenenfalls sollte nochmals eine Koronarangiographie zur Erhebung des aktuellen Koronarstatus erfolgen.

Therapie

Die Substanzen zur Behandlung der Herzinsuffizienz lassen sich in zwei Kategorien unterteilen. Angiotensin-Konversionsenzym (ACE)-Hemmer, Betablocker, Aldosteronantagonisten und Angiotensin-Rezeptorblocker verbessern neben den Symptomen auch die Prognose. Diuretika und Digitalisglykoside beeinflussen ausschließlich die Symptome. Die genannten Substanzen werden additiv zur medikamentösen Therapie einer KHK verordnet. Eine Volumenbelastung des Herzens sollte vermieden werden. Auch bei etablierter Herzinsuffizienz müssen die kardiovaskulären Risikofaktoren weiter behandelt werden. Bei hochgradig ausgeprägter Herzinsuffizienz (NYHA III / IV) ist die letztmögliche Therapieoption die Transplantation eines Spenderorgans (Wollert und Drexler 2007).

Prognose

Studien belegen, dass die 1-Jahres-Mortalität trotz leitliniengerechter Behandlung bei etwa 8 % liegt. Da die Patienten im klinischen Alltag in der Regel älter sind und eine höhere Komorbidität, ist die tatsächliche Sterblichkeit der Herzinsuffizienz eher höher anzusetzen (Wollert und Drexler 2007).

An den Folgen einer chronischen ischämischen Herzkrankheit oder einer Herzinsuffizienz verstarben im Jahr 2007 insgesamt knapp 127.000 Patienten (Statistisches Bundesamt Deutschland 2009).

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Die Untersuchung ist als nicht randomisierte Studie des Zentrums für Kardiologie der Asklepios Klinik St. Georg, Hamburg und des angegliederten Herzkatheterlabor des Krankenhaus Reinbek St. Adolf-Stift angelegt. Sie wurde von der lokalen Ethikkommission Hamburg (Nr. 2508) und dem Paul-Ehrlich-Institut (PEI; Nr. 110/01) genehmigt und ist unter der Eudra-CT-Nr. 2005-003629-19 registriert.

Primäre Endpunkte der Studie beziehen sich auf die Sicherheit und Machbarkeit der transendokardialen Stammzelltransplantation und sind definiert als periprozedurale Komplikationen wie Perforation des Myokards, anhaltende ventrikuläre Tachykardien, Verletzung der Aortenklappe, Schlaganfall und/ oder ein erneuter Myokardinfarkt. Weiterhin gelten die Entwicklung eines Perikardergusses, intramyokardialer Kalzifizierungen und/ oder Tumore, anhaltende ventrikuläre Tachykardien oder Eintritt des Todes während des zwölfmonatigen Follow-up-Zeitraums als primärer Endpunkt.

Sekundärer Endpunkte betreffen die Effizienz der Behandlung und sind definiert als angiographisch feststellbare Veränderungen der LVEF und der NOGA-Mapping-Parameter.

3.2 Patienten

Es werden fortlaufend insgesamt 20 Patienten beiderlei Geschlechts in die Studie aufgenommen.

Einschlusskriterium ist das Vorliegen eines akuten ST-Hebungsinfarktes mit CK-MB-Anstieg und nachfolgender primärer Revaskularisierung durch Stentversorgung des Infarktgefäßes nach GPIIb/IIIa-Blockade.

Ausschlusskriterien sind

- Lebensalter unter 18 Jahren
- Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) in der Angiographie über 40 %
- Abnormale Hämoglobin-, Thrombozyten- und Leukozytenwerte

- Schwere Koerkrankungen wie Malignome, HIV-Infektion und/ oder Hepatitis B oder C – Infektion
- Initiales Lungenödem
- Kardiogener Schock
- Fortgeschrittene Nieren- und/ oder Leberinsuffizienz.

Alle Patienten werden über den Zweck und Umfang der Studie und mögliche Risiken aufgeklärt. Sie erteilen ihre Einwilligung schriftlich. Bei Studienabbruch durch Zurückziehen der Einwilligungserklärung oder Nichtteilnahme an Nachuntersuchungen werden keine Ersatzpatienten in die Studie aufgenommen.

3.3 Herzinfarktdiagnostik und konventionelle Therapie

Nach der notfallmäßigen Aufnahme in das Krankenhaus wird bei allen Patienten eine PCI mit Koronarangiographie, Linksherzkatheter und perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie (PTCA) durchgeführt.

Koronarangiographie

Ziel der Untersuchung ist die vollständige röntgenologische Darstellung aller epikardialen Herzkranzgefäße. Ein Katheter wird über die A. femoralis retrograd in die Aorta eingeführt und bis in die Koronarostien vorgeschoben. Unter Kontrolle der Blutdruckkurve und des EKGs erfolgt manuell die Injektion des Kontrastmittels (Imeron 350[®], Altana AG, Wesel, Deutschland). Um die Gefäßverläufe überlagerungsfrei darstellen zu können, werden Röntgenaufnahmen in standardisierten Projektionsebenen gemacht. Anschließend erfolgt die manuelle oder computergestützte Analyse der Herzkranzarterien in Endlos-Bildschleifen in ihrem gesamten Verlauf auf Lumeneinengungen nach Lokalisation, Ausmaß, Länge, Kollateralen und intraluminalen Thromben (Saubier und Bode 2007).

Zur Beschreibung der Stenosen wird die Einteilung nach der American Heart Assoziation (AHA) verwendet (s. Tab. 4).

Tabelle 4: Stenosemorphologie (Ryan et al. 1993)

Stenosetyp	Definition
A	weniger als 1 cm Länge, konzentrisch, leicht erreichbar, Krümmung weniger als 45°, regelmäßige Kontur, wenig kalzifiziert, kein totaler Verschluss, keine Seitenastbeteiligung, kein frischer Thrombus
B	Länge 10 bis 20 mm oder tubulär, exzentrisch, mittelgradig gekrümmt (> 45° < 90°), irreguläre Kontur, mäßig bis hochgradig kalzifiziert, Beteiligung eines Ostiums, einer Bifurkation oder Seitenastes, Thrombus
C	diffuse Läsion, Länge > 20 mm, ausgeprägt geschlängeltes Gefäß, Gefäßkrümmung > 90°, ohne Schutzmöglichkeit eines bedeutsamen Seitenastes, degenerierter Venenbypass

B1/C1= ein Kriterium erfüllt, B2/C2= zwei oder mehr Kriterien erfüllt

Linksherzkatheter

Nach der Koronarangiographie kann eine Sondierung des linken Ventrikels erfolgen. Dies ermöglicht neben der Beurteilung der Wandbewegungen eine Messung der Ejektionsfraktion, des Schlagvolumens, sowie des enddiastolischen und systolischen Volumens (Saubier und Bode 2007).

Ein Katheter wird über die Aortenklappe in die linke Herzkammer eingeführt und mittig im Kavum platziert. Mit Hilfe einer Hochdruck-Injektionspumpe wird unter röntgenkinematographischer Aufzeichnung mehrfach Kontrastmittel appliziert. Das Kontrastmittel füllt den linken Ventrikel und ermöglicht während der Kontraktion die Beurteilung der Wandbewegung. Die Befundung des Ventrikulogramms erfolgt qualitativ nach der von Herman et al. 1967 eingeführten Nomenklatur:

Tabelle 5: Beurteilung der Wandbewegungen des linken Ventrikels (Herman et al. 1967)

Bezeichnung	Definition
Normokinesie	normale Wandbeweglichkeit
Hypokinesie	Eingeschränkte, aber nicht aufgehobene Wandbeweglichkeit
Akinesie	Unbewegliches Areal während der Systole und Diastole
Dyskinesie	Systolische Auswärtsbewegung des Myokard
Aneurysma	Deutlich abgrenzbarer dyskinetischer Bezirk in der Systole und Diastole
Asynchronie	Zeitlich gegeneinander verschobener Kontraktionsablauf einzelner Wandareale, wobei die systolische Kontraktion bei alleiniger Betrachtung uneingeschränkt sein kann

PTCA

Zur Wiederherstellung des Blutflusses in einem verschlossenen Koronargefäß wird dieses nach Darstellung in der Koronarangiographie durch einen, über die A. femoralis in das Koronarostium eingebrachten Katheter mit einem Draht passiert. Durch kontrolliertes Erhöhen des Kathetersystemdrucks entfaltet sich ein Ballon in der Katheterspitze. Dadurch erfolgt eine Kompression der arteriosklerotischen Plaque in die Gefäßwand und eine Expansion des Gefäßlumens. Zur Stabilisierung wird ein unbeschichteter Metallstent in das/ die Infarktgefäße eingebracht. Der Blutfluss vor und nach der Intervention wird nach der Thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) – Graduierung (s. Tab. 6) beurteilt. Während und nach dem Eingriff erhält der Patient einen GPIIb/IIIa-Antagonisten (Aggrastat®, Iroko Pharmaceuticals, Philadelphia, USA).

Tabelle 6: TIMI-Graduierung (Chesebro et al. 1987)

Grad	Definition
TIMI 0	Verschluss mit fehlender Darstellung im distalen Gefäßabschnitt
TIMI 1	Verschluss mit Darstellung von wenigen Teilen im distalen Gefäßabschnitt
TIMI 2	Darstellung des Gefäßes distal des Verschlusses mit verlangsamtem Kontrastmittelfluss
TIMI 3	Normaler Ein- und Ausstrom des Kontrastmittels

Labordiagnostik

Zur Validierung der Diagnose Herzinfarkt und zur Verlaufskontrolle erfolgt die Untersuchung folgender Parameter zu verschiedenen Zeitpunkten:

- *Troponin T* und *I* haben als herzmuskelspezifische Marker die höchste Sensibilität und Sensitivität hinsichtlich einer Muskelschädigung. Ein Anstieg ist frühestens 3 – 4 Stunden nach dem Infarktereignis messbar.
- Die *Kreatinkinase* (CK) ist ein weiterer Marker der Zellnekrose, insbesondere das herzspezifische Isoenzym CK-MB. Ein Nachweis gelingt nach etwa 4 – 8 Stunden, Höchstwerte werden nach etwa 20 Stunden erreicht. Die Höchstwerte korrelieren mit der Masse des geschädigten Myokards. Bei Myokardinfarkt beträgt der Anteil der CK-MB am Gesamt-CK mehr als 6 % (Saubier und Bode 2007).

Zur Risiko- und Prognoseabschätzung werden folgende Parameter kontrolliert:

- Das *C-reaktive Protein* (CRP) gehört zu den Akute-Phase-Proteinen der Entzündungskaskade. Ein erhöhter Wert kann als Hinweis für instabile Plaque bei Arteriosklerose angesehen werden (Saubier und Bode 2007).
- *Interleukin 6* (IL-6) ist ein Zytokin und wird ebenfalls bei entzündlichen Prozessen ausgeschüttet. Gewebhypoxie und Trauma verursachen eine massive Freisetzung von IL-6. Bei Patienten mit instabiler Angina pectoris (AP) ist IL-6 im Vergleich zur stabilen AP erhöht. Es gilt auch bei Herzin-

suffizienz als Kennzeichen für einen prognostisch ungünstigen klinischen Verlauf (Enseleit et al. 2007). Der Referenzbereich für Normalwerte liegt unter 15 µg/l.

- Das *B-typ natriuretische Peptid* (BNP) wird nach Dehnung der Herzvorhölfe durch Volumenbelastung oder Erhöhung des zentralvenösen Druckes freigesetzt. Bei chronischer hämodynamischer Überlastung sezerniert auch das ventrikuläre Myokard BNP. Der Plasma- BNP-Spiegel bzw. der Spiegel des biologisch unwirksamen Spaltproduktes N-terminales BNP (NT-BNP) wird als diagnostischer und prognostischer Marker sowie zur Verlaufskontrolle einer chronischen Herzinsuffizienz eingesetzt (Busse 2007). Ein normaler BNP-Spiegel schließt eine chronischer Herzinsuffizienz nahezu aus (Wollert und Drexler 2007). Der Referenzbereich für Normalwerte liegt unter 125 µg/l.

Darüber hinaus wird die Nierenfunktion durch Bestimmung des Kreatinins kontrolliert und eine Untersuchung des Blutbildes durchgeführt.

Alle Blutuntersuchungen werden im Zentrallabor der Asklepios Klinik St. Georg ausgeführt.

3.5 Stammzellisolierung und Aufarbeitung

Unmittelbar vor dem elektromechanischen Mapping des linken Ventrikels werden aus dem Beckenkamm 80 ml Knochenmark aspiriert und mit Heparin (1000 I.E./50 ml) antikoaguliert. Dem Patienten werden darüber hinaus 250 ml Blut aus einer peripheren Vene entnommen. Das Knochenmark wird filtriert und unter sterilen Bedingungen in einen Blutbeutel gegeben. Die Durchmischung erfolgt von Hand. Nach Verbindung des Blutbeutels mit dem Cobe SPECTRA™ Apheresesystem (Gambro Inc., Stockholm, Schweden) wird unter Reinraumbedingungen aus dem Gemisch von Knochenmark und Peripherblut die mononukleäre Zellfraktion von Knochenmarkszellen vollautomatisch abgetrennt. Nach 30 Minuten Zentrifugieren kann ein Endvolumen von 5 – 7 ml mononukleärer Zellen in eine, steril mit dem Apheresesystem verbundenen Spritze aspiriert werden. Das beschriebene Verfahren wurde für die Stammzelltransplantation neu entwickelt und

ist beim Deutschen Patentamt unter der Nummer DE 10 2006 031 872 B3 registriert.

Zum Ausschluss einer bakteriellen Verunreinigung werden im Zentrallabor der Asklepios Klinik St. Georg aerobe und anaerobe Blutkulturen angelegt.

Nach der Stammzelltransplantation verbleibt ein Zellvolumen von 3 – 5 ml, welches im Knochenmarkstransplantationszentrum der Universitätsklinik Eppendorf, Hamburg mittels fluoreszenzaktivierter Zellsortierung und der Benutzung von anti-CD34 -, anti-CD45- und anti-CD117-Antikörpern (Becton Dickinson, Burlingame, USA) hinsichtlich seiner Zusammensetzung untersucht wird. Die Bestimmung der Zellviabilität erfolgt mit der ALDH[®] Aldefluor Flußzytometrie (StemCell Technologies Inc, Vancouver, Kanada), welche auch eine Abschätzung der Stammzellfähigkeit und somit der Qualität des Transplantates ermöglicht (Lioznov et al. 2005).

3.6 NOGA-Mapping (Linksventrikuläres elektromechanisches Mappingssystem)

Nach erneuter Koronarangiographie wird ein elektromechanisches Mapping des linken Ventrikels zur dreidimensionalen Erfassung ischämischer myokardialer Areale durchgeführt.

Aufbau des NOGA-Systems

Das NOGA-Mappingssystem besteht aus folgenden Komponenten:

- Dem Mappingkatheter (NOGA-Star[™] Diagnostic Deflectable Tip Catheter, Biosense Webster Inc., USA) (s. Abb. 1),

einem sehr flexiblen intrakardialen Katheter mit elektrophysiologischem Sensor in der 2 mm großen Spitze. Proximal der Spitzenelektrode befinden sich ein Lokalisationssensor sowie eine weitere, ringförmige Elektrode im Katheterschaft. Die Spitze des Katheters lässt sich durch Verschieben des Daumenknäufes biegen.

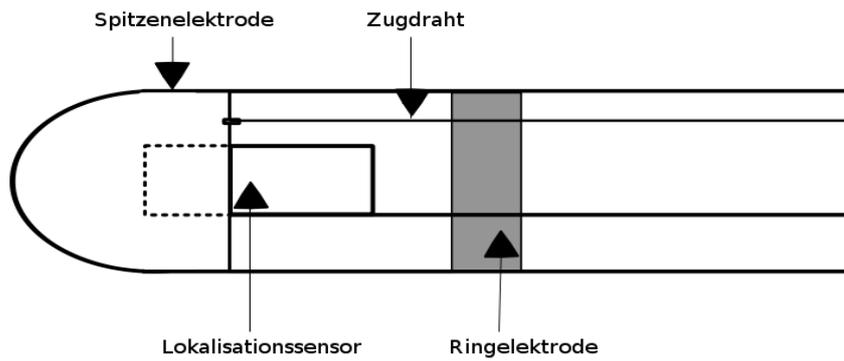


Abbildung 1: Mappingkatheter (nach Gepstein et al. 1997)

- Dem Reference Patch (REF-STAR™ External Reference Patch, Cordis Webster Inc. USA) (s. Abb. 2),



Abbildung 2: Reference Patch (NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis 2003)

welches unter Röntgenkontrolle unterhalb der Herzsilhouette auf den Rücken des Patienten geklebt wird. Er ist wie der Mappingkatheter mit einem kleinen Sensor ausgestattet. Da das Patch Bewegungen wie z.B. durch Atmung folgt, wird eine

Berechnung der Abweichung von der eigentlichen Lokalisation des Katheters und eine Korrektur der Katheterposition möglich.

- Der Junction Box (Biosense Webster Israel Ltd., Haifa), welche den Mappingkatheter und das Reference-Patch über die Junction Box mit der NOGA-Unit verbindet.
- Dem Location Pad (Biosense Webster Israel Ltd., Haifa) (s. Abb. 2),

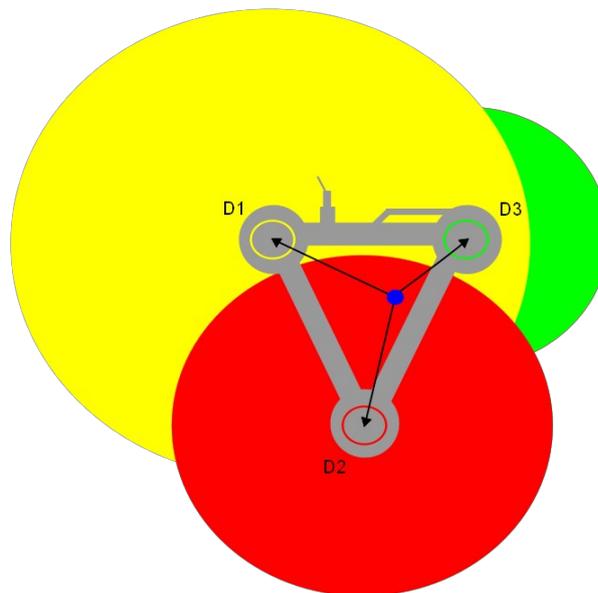


Abbildung 3: Elektromagnetische Felder des Location Pad (nach NOGA-Trainingsmaterial, Fa. Cordis 2003)

welches in Höhe des Herzens unter dem OP-Tisch angebracht wird. Es besteht aus drei Spulen (D1, D2, D3) mit 1, 2 bzw. 3 kHz, die ein schwaches, unterschiedlich großes magnetisches Energiefeld von 5×10^{-6} bis 5×10^{-5} Tesla emittieren. Der Lokalisationssensor an der Katheterspitze misst die Stärke der magnetischen Felder und kann somit die räumliche Position der Katheterspitze in Bezug auf die Spulen genau bestimmen (s. Abb. 4).

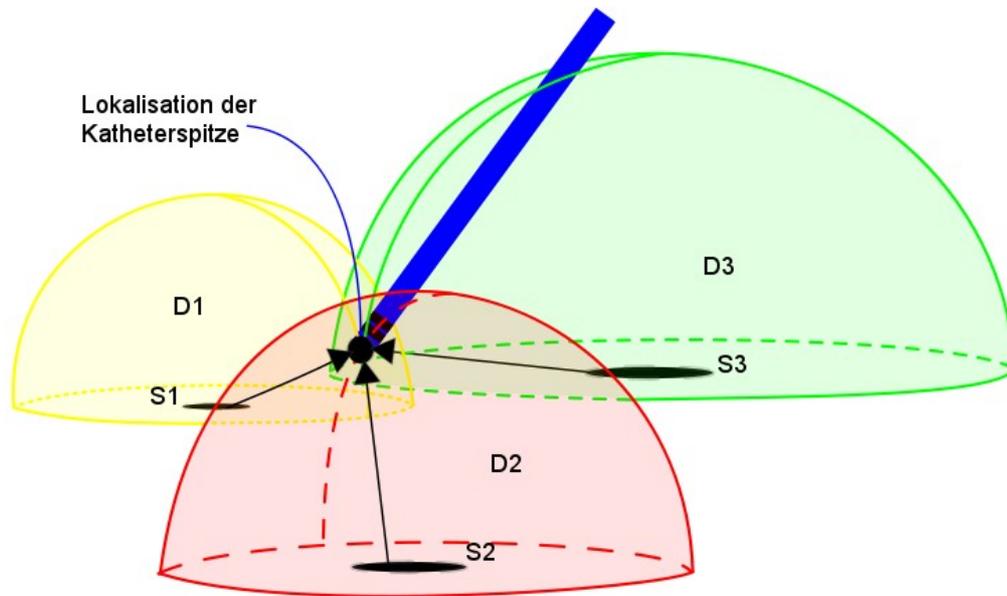


Abbildung 4: Lokalisation der Katheterspitze (nach Gepstein et al. 1997)

- Der NOGA Unit (Biosense Webster Israel Ltd., Haifa).

Die vom Katheter aufgenommenen Signale werden hier gespeichert und verarbeitet. Mit ihnen erfolgen die Berechnungen für die Erstellung von Maps.

- Der Workstation (Silicon Graphics Workstation, Silicon Graphics Inc., USA)

Mit dieser erfolgt die Darstellung eines dreidimensionalen Maps und der Position des Katheters im Ventrikel über zwei Monitore. Am Monitor können die Mapping-Prozeduren verfolgt und gegebenenfalls fehlerhafte Signalregistrierungen eliminiert werden (Mandel 2005).

Untersuchungsablauf

Der Mappingkatheter wird unter röntgenologischer Kontrolle retrograd über die A. femoralis in die Aorta eingebracht und bis in den linken Ventrikel vorgeschoben. Mit der Katheterspitze werden am Endokard unter Röntgenkontrolle drei Orientierungspunkte markiert: im Apex, im Bereich der Einstrombahn (Mitralklappe) und der Ausstrombahn (Aortenklappe) des linken Ventrikels. Diese dienen als Ausgangspunkte für das dreidimensionale Map. Weitere Markierungspunkte können

ohne Röntgenkontrolle gesammelt werden, da die NOGA-Software ein dreidimensionales Bild des linken Ventrikels in Echtzeit auf dem Monitor erstellt und so dem Untersucher das Nachvollziehen der Katheterbewegung und eine genaue räumliche Orientierung ermöglicht. Die analogen Signale werden in der NOGA-Unit zu digitalen Signalen umgewandelt und an die Workstation weitergeleitet. Mit den registrierten Daten werden farbkodierte, dreidimensionale Maps des linken Ventrikels erstellt, u.a. das Unipolare Voltage (UV) Map. Das Map ist in einer farbigen Skala kodiert. Dabei stellt Rot Areale mit den niedrigsten Werten dar, Violett kodiert Areale mit den höchsten Werten. Daneben errechnet das System globale mechanische Funktionen wie die Ejektionsfraktion, das endsystolische und enddiastolische Volumen.

Die endokardiale Oberfläche des gesamten linken Ventrikels kann durch eine Einteilung in dreieckige, nicht überlappende Segmente errechnet werden, deren Summe der gesamten endokardialen linksventrikulären Fläche entspricht.

Nachbearbeitung der Maps

Nach Abschluss der Mappingprozedur können die Maps automatisch und manuell nachbearbeitet werden. Alle Analysepunkte müssen die empfohlenen Stabilitätskriterien einer Zyklus-Länge $< 10\%$, Schleifenstabilität von 6 mm und Lokalisationsstabilität < 4 mm aufweisen. Die Zykluslänge stellt die Dauer des aktuellen Herzschlages der durchschnittlichen Zykluslänge gegenüber, während die Schleifenstabilität die Stabilität der einzelnen Herzzyklen miteinander vergleicht. Die Lokalisationsstabilität prüft die Position der Katheterspitze zum Zeitpunkt der Enddiastole mit der Position in der vorhergehenden Enddiastole.

Es werden alle Analysepunkte entfernt, welche deutlich innerhalb oder außerhalb des linken Ventrikels liegen.

Die Registrierung des lokalen endokardialen EKG und der Katheterspitzenposition sind an die R-Zacke des EKG am Ende der Diastole gebunden. Das endokardiale EKG sollte mit dem Körperoberflächen-EKG übereinstimmen. Punkte, welche während des ST-Segments registriert wurden, werden eliminiert.

Definition des Zielgebietes (area at risk)

Um das Zielgebiet zu identifizieren wird das UV-Map ausgewertet. Dieses präsentiert die Datenpunkte basierend auf einer Höchstwert-zu-Höchstwert Messung der Amplitude des lokalen unipolaren Signals. Ein Zeichen von verschlechterter elektrischer Aktivität ist eine niedrige Voltage im EKG. Die Werte werden in Millivolt (mV) angegeben.

Entsprechend einer Untersuchung von Bøtker et al. werden dysfunktionelle, aber überlebensfähige Myokardareale durch eine UV < 68% der Werte des normalen Myokards (normalisierte UV) desselben Patienten definiert (Botker et al. 2001). Areale mit UV-Werten unter 5,0 mV kennzeichnen irreversibel geschädigtes Myokard (Keck et al. 2002). Dieses wird als Injektionsstelle ausgeschlossen. Das Zielgebiet (low-voltage-area, area at risk) wird somit durch eine unipolare Voltage > 5 mV und < 68 % der normalisierten UV definiert.

Die Fläche des Zielgebietes errechnet sich durch die Summe benachbarter low-voltage Segmente und wird als prozentualer Anteil der endokardialen Oberfläche erfasst.

3.7 Intramyokardiale Injektion

Die Injektionen erfolgen direkt nach dem elektromechanischen Mapping. Am Kathetergriff eines MyoStar™ Injektionskatheters (BDS, Cordis Corp. Miami Lakes, USA; s. Abb. 5) wird eine 2 ml Spritze aufgeschraubt. Das Kanülenvolumen wird mit den zuvor isolierten mononukleären Stammzellen aufgefüllt. Anschließend erfolgt die Platzierung des Katheters wie vorher des Mappingkatheters direkt im linken Ventrikel. In der low-voltage-area wird über den Injektionskatheter eine 27-Gauge Nadel 5 mm tief in das Myokard eingeführt. Für die Injektion muss die Katheterspitze senkrecht zum Myokard aufgestellt sein. Im Einstichaugenblick sollte im EKG eine Extrasystole und eine Unterbrechung der ST-Streckenhebung auftreten. Es erfolgen 20 separate Injektionen von je 100 µl Volumen. Die Injektionsstellen erscheinen im NOGA-Map als farbliche Markierungen (s. Abb. 6).

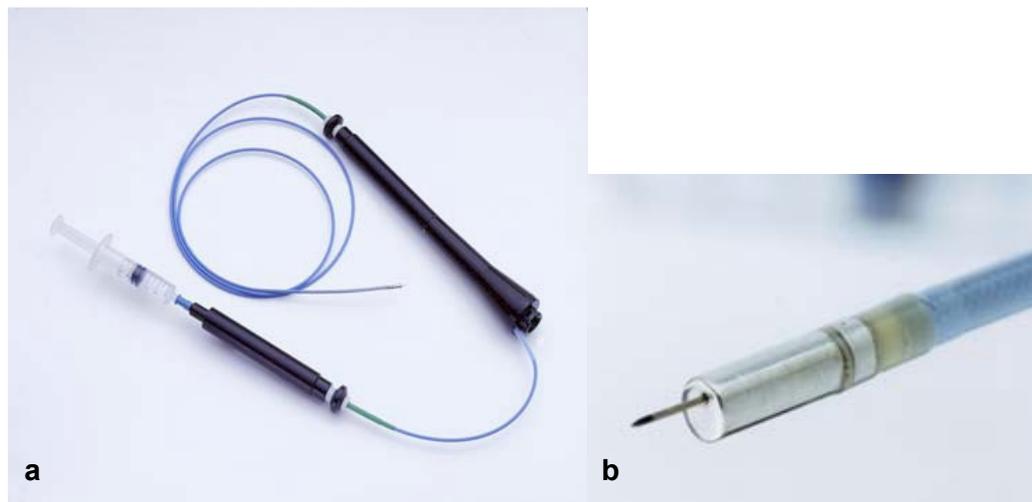


Abbildung 5: MyoStar™ Injektionskatheter (a) mit aufgesetzter Spritze und (b) ausgeschobener Nadel (NOGA – Trainingsmaterial, Fa. Cordis 2003)

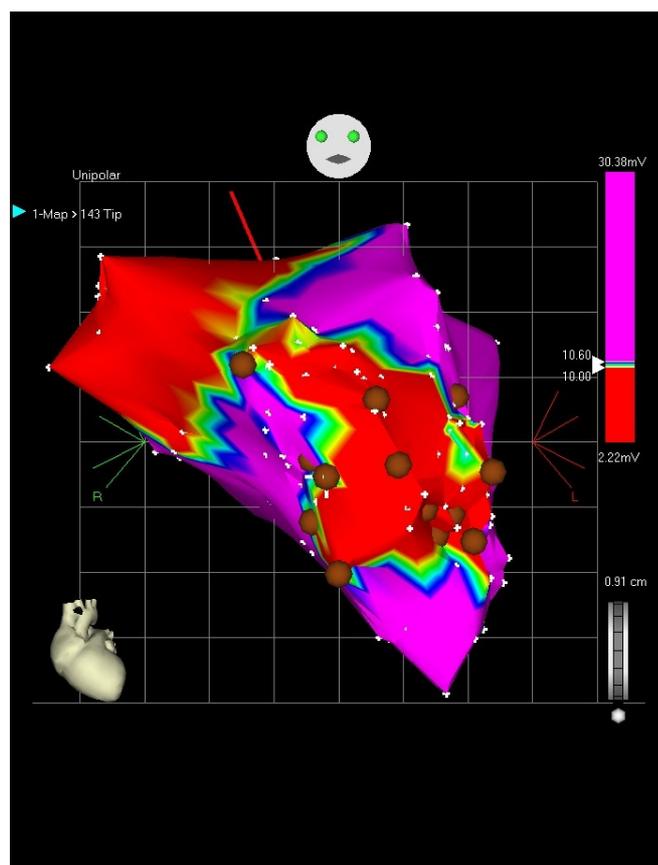


Abbildung 6: Map der unipolaren Voltage (eigener Patient). Die low-voltage-area wird durch die rote Färbung repräsentiert. Die braunen Punkte entsprechen den Injektionsstellen.

3.8 Transplantationsnachsorge

Echokardiographie

Zweidimensionale Bilder der echokardiographischen Untersuchung werden durch ein Ultraschallgerät mit einem 5 MHz linearen Transducer erstellt. Die Beurteilung der regionalen Wandkontraktilität erfolgt entsprechend den Richtlinien der Amerikanischen Gesellschaft für Echokardiographie u.a. im parasternalen kurzen und langen Achsenblick im Sechzehn-Segment-Modell (Cheitlin et al. 2003). Die Einteilung der regionalen Kontraktilität wird mittels apikalem Zwei- und Vierkammerblick mit einem semiquantitativen Score vorgenommen (s. Tab. 7). Neben der Wandbewegung wird eine Kontrolle hinsichtlich der Entwicklung eines Perikardergusses, intramyokardialen Kalzifizierung oder eines intrakardialen Tumors durchgeführt.

Tabelle 7: Semiquantitativer Score zur Beurteilung der Wandkontraktilität

Score	Definition
1	Normale Funktion
2	Hypokinesie
3	Akinesie
4	Dyskinesie

Arrhythmiemonitoring

Zur Dokumentation möglicherweise auftretender Arrhythmien werden die Patienten nach der Stammzellinjektion monitorüberwacht.

Nach 6 Monaten erhalten alle Patienten ein 24-Stunden-Langzeit-EKG.

3.11 Follow-up-Untersuchungen

Nach der Stammzellinjektion erfolgt eine Beobachtung der Langzeitergebnisse über 12 Monate. Dabei werden jeweils nach 6 und 12 Monaten verschiedene Parameter kontrolliert (s. Tab. 8).

Tabelle 8: Follow-up-Untersuchungen

Untersuchung	Baseline	6 Monate.	12 Monate.
Anamnese (kardiologische Ereignisse)	X	X	X
Blutuntersuchung	X	X	
Echokardiographie	X	X	X
Koronarangiographie	X	X	
Linksherzkatheter	X	X	
NOGA - Mapping	X	X	
24 – h – Langzeit - EKG		X	

3.12 Statistische Auswertung

Die erfassten Daten werden zunächst in einer Exceltabelle gesammelt und mit dem Programm SPSS16 (SPSS Inc., Chicago, USA) ausgewertet. Die deskriptiven Angaben der kontinuierlichen Variablen erfolgen, soweit nicht anders angegeben, als Median und Interquartilenabstand (IQR). Nach Prüfung der Datenverteilung wird der Vergleich der im Follow-up registrierten Messwerte mit dem Ausgangswert mit dem ein- oder zweiseitigen Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben durchgeführt. Bei Vergleich von mehr als zwei verbundenen Gruppen findet der Friedmann-Test Verwendung. Das Signifikanzniveau α ist mit 5 Prozent festgelegt. Signifikante Unterschiede liegen vor, wenn $p < \alpha$ ist.

4 Ergebnisse

4.1 Patienten

Zwischen Februar 2006 und Oktober 2007 wurden zwei weibliche und 18 männliche Patienten in die Studie aufgenommen. Sie wurden als kardialer Notfall mit einem akuten ST-Hebungsinfarkt ins Krankenhaus eingeliefert. Bei allen Patienten konnte ein erhöhter Troponin-T-Spiegel nachgewiesen werden. Dabei erfolgte die Bestimmung bei 5 Patienten nur qualitativ. Bei den anderen Patienten lagen die Werte zwischen 0,44 und 24,96 µg/l (Median 4,6 µg/l; IQR 7,0 µg/l). Weiterhin zeigten alle Patienten im EKG eine ST-Streckenhebung. Das Alter zum Infarktzeitpunkt lag zwischen 46 und 82 Jahren (Median 55,5 Jahre, IQR 18,3 Jahre; s. Abb. 7).

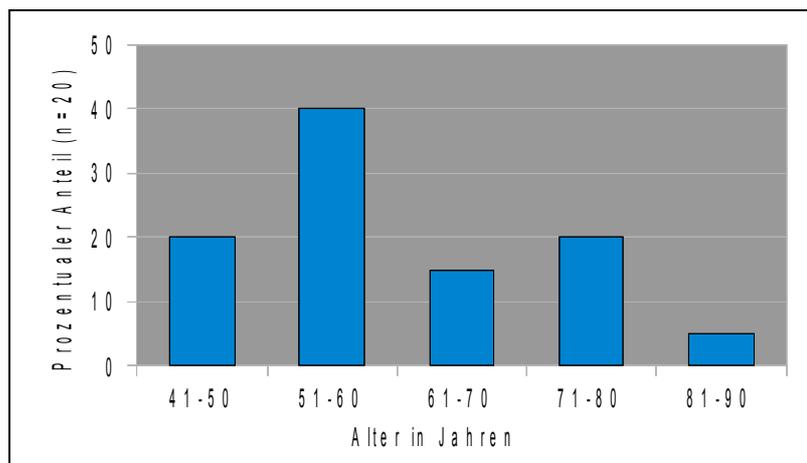


Abbildung 7: Altersverteilung der Studienpatienten

Zum Aufnahmezeitpunkt wurden die kardiovaskulären Risikofaktoren erfasst (s. Tab. 9).

Tabelle 9: Kardiovaskuläre Risikofaktoren der Studienpatienten

Risikofaktor	Anzahl Patienten (%)
Nikotinabusus	13 (65)
Arterieller Hypertonus	13 (65)
Hyperlipidämie	17 (85)
Diabetes mellitus	2 (10)
Alkoholabusus	5 (25)

Kein Patient erhielt eine thrombolytische Therapie. Die PCI wurde innerhalb eines Zeitraums von 1 bis > 20 Stunden (Median 6 Stunden, IQR 7,8 Stunden) nach Einsetzen der Symptome durchgeführt. Das Hauptinfarktgefäß war bei 15 Patienten (75 %) der Ramus interventricularis anterior (left anterior descending coronary artery = LAD). Bei 3 Patienten (15 %) war hauptsächlich der Ramus circumflexus (CX) betroffen. 2 Patienten (10 %) zeigten einen Verschluss der Arteria coronaria dextra (right coronary artery = RCA). Der Stenosemorphologie nach Ryan et al. wurde bei 6 Patienten (30 %) als Typ B, bei 13 (60 %) als Typ C beschrieben. Für einen Studienteilnehmer ist die Stenosemorphologie auf dem Untersuchungsbogen nicht dokumentiert. Der Blutfluss im Infarktgefäß wurde durch Einbringen von einem bis drei (Median 1,5) unbeschichteten Metallstents (Driver®, Medtronic, Minneapolis, USA) wiederhergestellt. Es wurden Stents mit einer Größe zwischen 2,25 und 3,5 mm (Median 3 mm, IQR 0,25 mm) verwendet. Die Länge variierte zwischen 8 und 32 mm (Median 14 mm, IQR 6 mm). Die Veränderungen des TIMI-Flow sind in Tab. 10 dargestellt.

Tabelle 10: TIMI-Flow vor und nach PTCA

TIMI-Flow	vor PTCA; n (%)	nach PTCA, n (%)
0 - 1	16 (18)	1 (5)
2	3 (15)	1 (5)
3	1 (5)	18 (90)

Alle Patienten erhielten postinfarziell eine medikamentöse Standardtherapie mit Acetylsalicylsäure (ASS), Clopidogrel für vier Wochen nach der PCI, Betablocker, ACE-Hemmer und Lipidsenker. Individuelle Ergänzungen erfolgten für mitzubehandelnde vorhandene Koerkrankungen. Eine Ausnahme stellte Patient 15 dar, welcher anamnestisch über eine Überempfindlichkeit auf ASS berichtete und deshalb ausschließlich mit Clopidogrel als Aggregationshemmer behandelt wurde.

4.2 NOGA-Mapping und Stammzelltransplantation

Das elektromechanische Mapping des linken Ventrikels mit anschließender Stammzelltransplantation wurde zwischen dem 3. und 26. Tag nach PCI (Median 9 Tage; IQR 5,5 Tage; s. Abb. 8) durchgeführt.

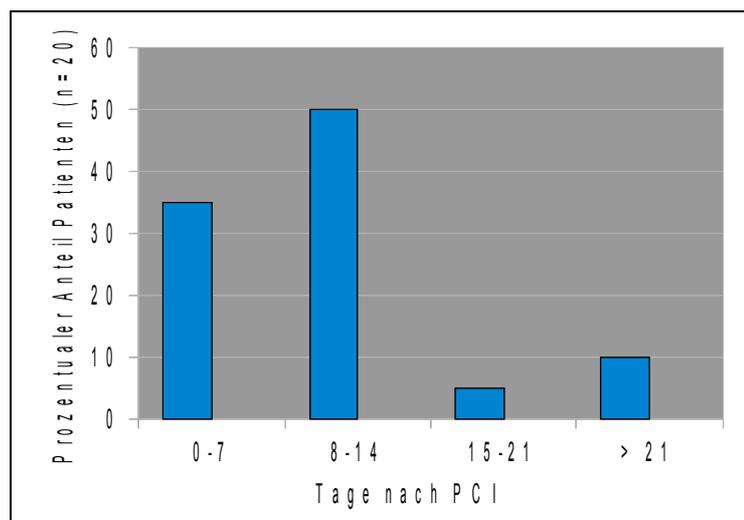


Abbildung 8: Zeitpunkt der Stammzellinjektion nach PCI

Die Prozedur dauerte im Mittel 54 ± 15 (Mittelwert \pm Standardabweichung) Minuten. Durchschnittlich 98 ± 17 Mappingpunkte wurden im linken Ventrikel markiert. Jeder Patient erhielt 20 Injektionen mit einem Volumen von jeweils $100 \mu\text{l}$ in die low-voltage-area, entsprechend einer durchschnittlichen Gesamtzellmenge von 203×10^6 Zellen. Die Daten der Zellprodukte nach Isolierung der mononukleären Knochenmarkstammzellen sind in Tab. 11 wiedergegeben.

Tabelle 11: Merkmale der transplantierten mononukleären Knochenmarkstammzellen

Zellcharakteristika	Mittelwert (Standardabweichung)
Mononukleäre Zellen	101,5 (33,9) x 10 ⁶ / ml
Zellviabilität	97,3 (3,5) %
CD45 ^{dim} / CD34 ^{hi}	0,5 (0,3) %
SSC ^{lo} ALDH ^{br}	0,4 (0,2) %
CD45 ^{dim} / CD117 ^{hi}	0,4 (0,2) %
CD45 ^{dim} / CD90 ^{hi}	0,2 (0,2) %
CD45 ^{dim} / CD133 ^{hi}	0,1 (0,04) %

Während des NOGA-Mappings und der Stammzelltransplantation wurden keine unerwünschten Nebenwirkungen beobachtet. Komplikationen wie anhaltende ventrikuläre Tachykardien oder Kammerflimmern, Perikarderguss, Myokardperforation, Herzinfarkt, Schlaganfall, Peri-, Myo- oder Endokarditis, systemische Infektionen oder Tod des Patienten traten während und nach der Prozedur in keinem der untersuchten Fälle ein.

Alle Patienten wurden 48 Stunden nach der Zellinjektion in gutem Allgemeinzustand entlassen.

4.3 Follow-up-Untersuchungen

Während des 12-monatigen Follow-up-Zeitraums nach der Stammzelltransplantation verstarb kein Patient an den Spätfolgen eines Herzinfarktes oder einer anderen Erkrankung. Kein Patient erlitt einen neuerlichen Herzinfarkt oder entwickelte eine Karditis. Anhaltende ventrikuläre Rhythmusstörungen wurden nicht beobachtet. Echokardiographisch konnte keine intramyokardiale Kalzifizierung oder Tumorformation gesehen werden.

7 Monate nach der Stammzellinjektion wurde bei Patient 1 ein occipitales Plattenepithelkarzinom vollständig im Gesunden entfernt. Zum Zeitpunkt des Herzinfarktes war die Hautveränderung bereits vorhanden, wurde von dem Patienten jedoch als nicht relevant eingeschätzt. Deshalb berichtete er im Untersuchungsgespräch nicht darüber, so dass eine Aufnahme in die Studie erfolgte. Patient 2

wurde zwei Monate nach Stammzelltransplantation wegen eines chronischen Ulcus cruris erneut hospitalisiert. Patient 20 erlitt 8 Monate nach der Stammzelltherapie einen Verschluss eines vorbestehenden Bypasses der A. iliaca profunda links, welcher einen Monat später erneut thrombektomiert werden musste. Zugangsweg für die interventionelle Therapie und Stammzelltherapie war die rechte A. femoralis.

Wegen einer Ejektionsfraktion von anhaltend $\leq 35\%$ wurden bei den Patienten 8, 13 und 18 ein ICD eingesetzt. Der Operationszeitpunkt lag zwischen dem 4. und 10. Monat nach der Stammzelltransplantation. Herzrhythmusstörungen waren weiterhin nicht nachzuweisen.

4.3.1 Laborparameter

Außer dem Kreatinin fielen alle erhobenen Laborparameter im 6-Monats-Follow-Up im Vergleich zum Aufnahmezeitpunkt signifikant ab (s. Tab. 12). Die Kreatininwerte blieben zu den Vergleichszeitpunkten stabil und waren nicht pathologisch verändert.

Tabelle 12: Verlauf der Laborparameter

	Baseline	6-Monats-Follow-up	p-Wert
CK, U/l	2548 (1683)	102 (147)	< 0,001
CK-MB, U/l	265 (191)	15 (6)	< 0,001
CRP, mg/dl	41 (40)	2 (2)	< 0,001
Kreatinin, mg/dl	1 (0,3)	1 (0,2)	$p > \alpha$
BNP, ng/l	2270 (2166)	509 (1459)	0,013
Interleukin 6, ng/l	6,8 (10,1)	3 (1,6)	0,039

4.3.3 Re-Angiographie und Linksherzkatheteruntersuchung

Bei 15 Patienten konnte 6 Monate nach Stammzelltransplantation eine erneute Angiographie durchgeführt werden. Dabei zeigte sich, dass 6 Patienten eine In-Stent-Restenose entwickelt hatten. Diese wurde in 5 Fällen mit einem Drug-Eluting-Stent (Endeavor[®], Medtronic, Minneapolis, USA) versorgt. Die Medikation wurde entsprechend angepasst und eine lebenslange Clopidogrelgabe empfohlen. Patient 16 erhielt 7 Monate nach der Stammzellinjektion wegen einer interventionell nicht behandelbaren In-Stent-Restenose der LAD zwei aortokoronare Venenbypässe auf die RCA und den CX sowie eine Verlegung der A. mammaria interna auf die LAD.

Eine Progression der KHK mit neu aufgetretenen Stenosen außerhalb des ursprünglichen Infarktgefäßes wurde bei 6 Patienten festgestellt.

Es konnte ein signifikanter Anstieg der LVEF von initial 24 bis 40 % (Median 32 %; IQR 7 %) auf 27 bis 55 % (Median 40 %; IQR 5 %) zum Zeitpunkt der Stammzellinjektion und 29 bis 70 % (Median 51 %; IQR 25 %) zum 6-Monats-Follow-up gesehen werden ($p < 0,001$; s. Abb. 9)

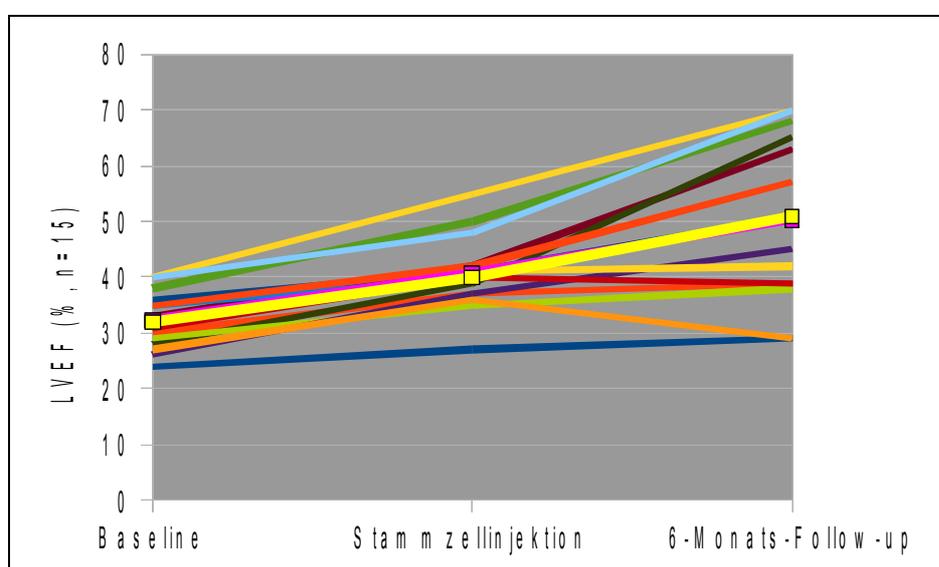


Abbildung 9: Entwicklung der LVEF in der Angiographie (— = Mittelwert, — = Median)

4.3.2 Transendokardiale Echokardiographie

In der transendokardialen Echokardiographie konnte keine signifikanten Veränderungen des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers und der Wandbewegung im Vergleich zwischen dem Zeitpunkt der Stammzelltransplantation und dem 6-Monats- bzw. 12-Monats-Follow-up nachgewiesen werden.

4.3.4 Re-NOGA-Mapping

Insgesamt 14 Patienten ließen nach 6 Monaten ein erneutes NOGA-Mapping durchführen. Dabei zeigte sich eine Verbesserung der UV im ischämischen Gebiet von 3,6 bis 16 mV (Median 7,1 mV; IQR 3,7 mV) auf 4,5 bis 17 mV (Median 9,6 mV; IQR 6 mV; $p = 0,002$; s. Abb. 10)

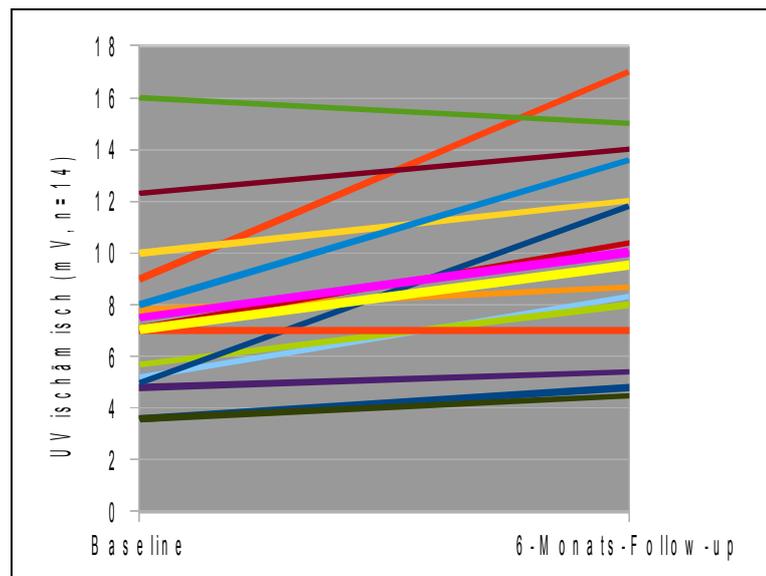


Abbildung 10: Entwicklung der UV im ischämischen Gebiet (— = Mittelwert, — = Median)

Die normalisierte UV stieg in der low-voltage-area von 25,5 – 72,7 % (Median 45,1 %; IQR 21,7 %) auf 28,1 – 93,3 % (Median 58,1 %; IQR 16,8 %) signifikant an ($p = 0,002$; s. Abb. 11)

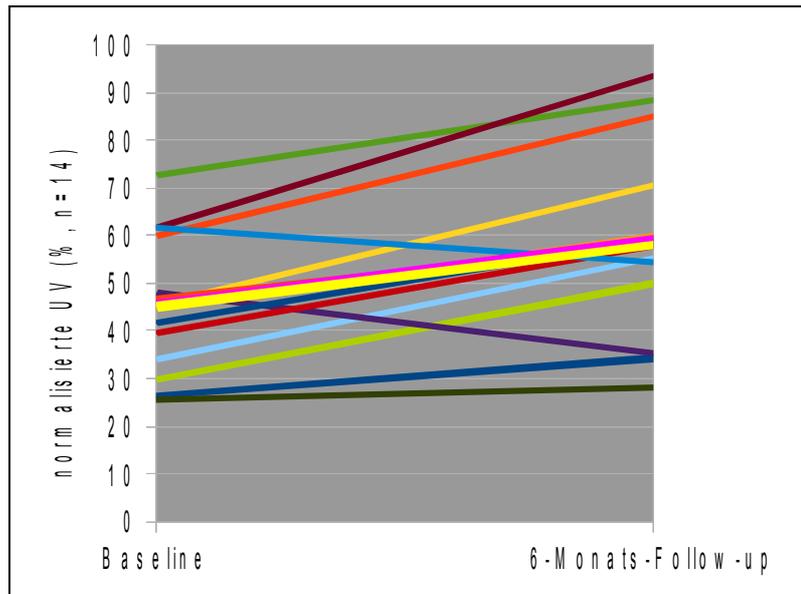


Abbildung 11: Entwicklung der normalisierten UV im ischämischen Gebiet (— = Mittelwert; — = Median)

Die ischämische Fläche reduzierte sich von 14 - 56 % (Median 28,5 %; IQR 14,5 %) der linksventrikulären endokardialen Oberfläche auf Werte zwischen 3 - 45 % (Median 20,5 %; IQR 22,3 %; $p = 0,016$; s. Abb. 12, 13).

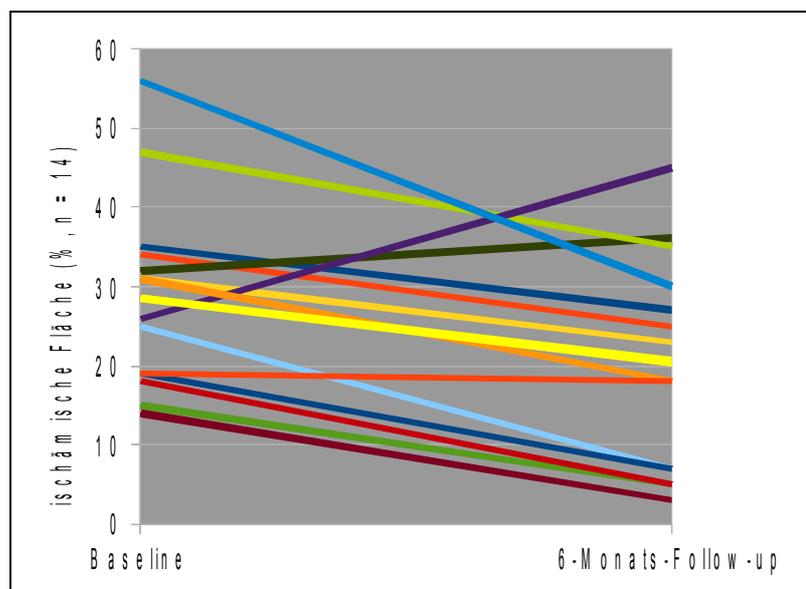


Abbildung 12: Entwicklung der ischämischen Fläche (— = Median = Mittelwert)

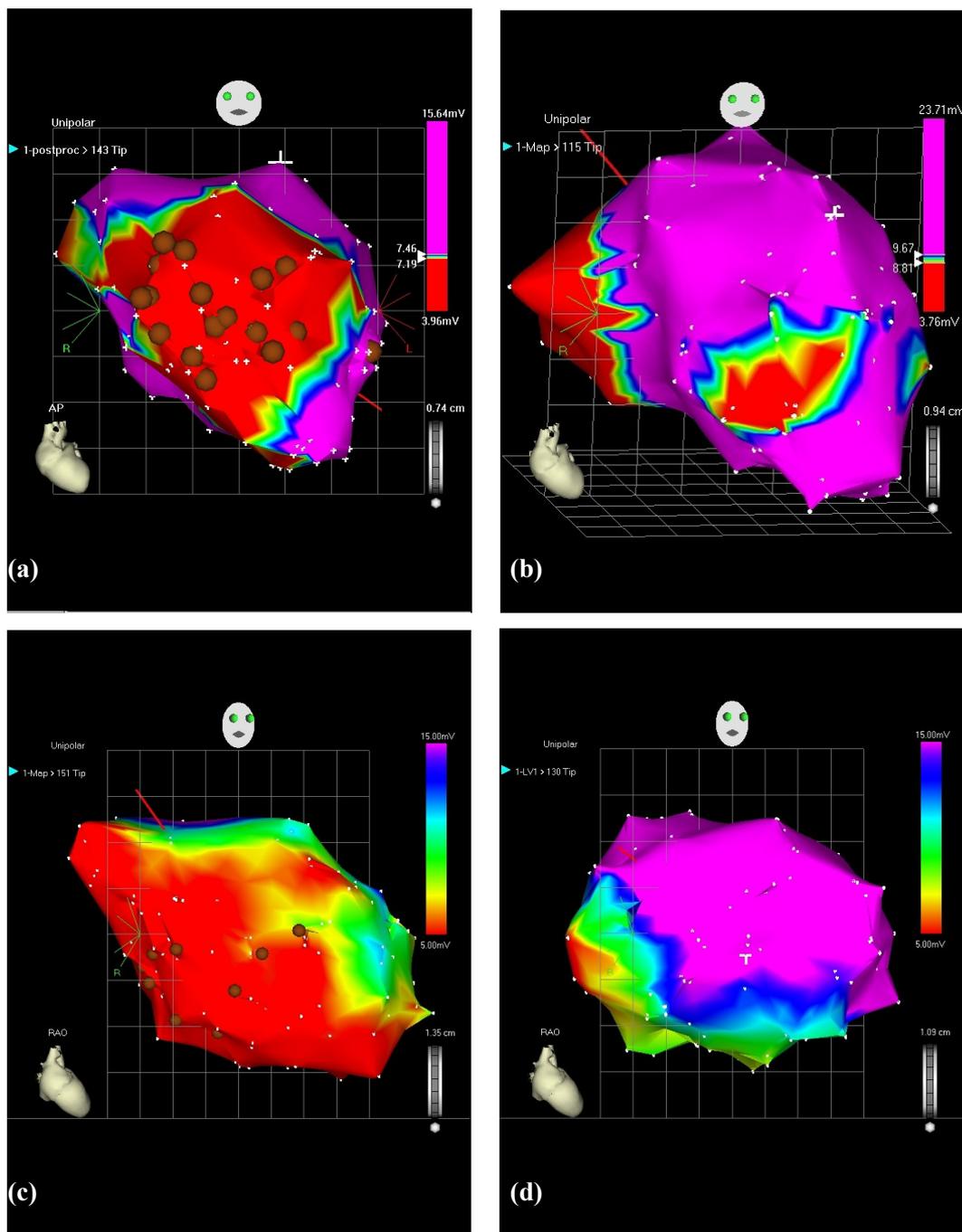


Abbildung 13: Maps der unipolaren Voltage

Die rote Fläche entspricht der low-voltage-area. Die braunen Punkte kennzeichnen die Injektionsstellen.

- (a) UV-Map zum Injektionszeitpunkt (Patient 7).
- (b) UV-Map zum 6-Monats-Follow-up (Patient 7).
- (c) UV-Map zum Injektionszeitpunkt (Patient 13).
- (d) UV-Map zum 6-Monats-Follow-up (Patient 13)

5 Diskussion

Applikationsart

Bisher wurde in allen randomisierten Studien zur Frage einer Verbesserung der kardialen Funktion nach einem akuten Myokardinfarkt durch Transplantation von Stammzellen die intrakoronare Injektion als Applikationsart gewählt. Die vorliegenden Daten deuten darauf hin, dass diese Transplantationsart sowohl in der akuten Phase als auch im Langzeitverlauf sicher ist. Präklinische Versuche zeigten jedoch, dass bei der intrakoronaren Infusion nur 2,6 % der transplantierten Zellen im Myokard zurück bleiben. Im Vergleich dazu waren nach einer direkten intramyokardialen Injektion noch 11,0 % der Zellen im Herzmuskel aufzufinden (Hou et al. 2005). Diese Beobachtungen wurden im klinischen Experiment für die intrakoronare Infusion von unselektierten Knochenmarkstammzellen bestätigt (Hofmann et al. 2005).

Ausgehend von der Annahme, dass eine höhere Stammzellkonzentration am Zielort einen größeren Effekt auf die linksventrikuläre Funktion haben könnte, wählten wir die perkutane transendokardiale intramyokardiale Transplantation als Applikationsart. Für die Anwendung der perkutanen intramyokardialen Stammzelltransplantation liegen bisher nur klinische Studien vor, welche die Machbarkeit und Sicherheit bei Patienten mit einem mindestens vier Wochen zurück liegenden Myokardinfarkt (Perin et al. 2003, Smits et al. 2003, Tse et al. 2003, Silva et al. 2004, Ince et al. 2005b, Veltman et al. 2008) bzw. Angina pectoris (Losordo et al. 2007) untersuchten. Dabei traten nach der Implantation von Myoblasten vermehrt Tachykardien auf (Ince et al. 2005b, Veltman et al. 2008), insgesamt deuten die Ergebnisse jedoch darauf hin, dass diese Art der Stammzelltransplantation bei ischämischer Kardiomyopathie sicher und machbar ist.

Nach einem akuten Myokardinfarkt wurden erstmals 2005 im Tierversuch Stammzellen transendokardial intramyokardial injiziert (Amado et al. 2005). Auch hier traten keine gravierenden unerwünschten Ereignisse ein. Trotzdem liegen bisher keine klinischen Untersuchungen zur Anwendung der Methode nach einem kürzlich stattgehabten Herzinfarkt vor.

Somit handelt es sich bei den vorgestellten Daten um die erste Studie zur perkutanen intramyokardialen Stammzelltransplantation nach akutem Myokardinfarkt beim Menschen. Unsere Untersuchungen an 20 Patienten zeigen, dass dieses Transplantationsverfahren machbar und sicher ist.

Zellpräparation

Wir entschieden uns für die Transplantation mononukleärer Stammzellen des Knochenmarkes, da diese leicht aus dem Knochenmark und peripheren Blut zu gewinnen sind und nicht im Vorfeld des Eingriffes angezüchtet und vermehrt werden müssen. Bei der Verwendung skelettaler Myoblasten betrug die Zeitdauer für die Zellkultur zwischen 10 und 21 Tagen (Smits et al. 2003, Ince et al. 2005b, Menasche et al. 2008, Veltman et al. 2008). Mononukleärer Zellen des Knochenmarkes wurden in anderen Studien in einem Zeitfenster zwischen vier und etwa 8 Stunden vor der Transplantation aus dem Beckenkamm entnommen. Das am häufigsten genutzte Isolierungsverfahren war die Ficoll Dichtegradientenzentrifugation. Die dabei gewonnenen Zellprodukte sind in der Zusammensetzung und Viabilität annähernd mit unseren Zellprodukten vergleichbar (Tse et al. 2003, Janssens et al. 2006, Schächinger et al. 2006a). Im Gegensatz zu den genannten Studien entnahmen wir unmittelbar vor dem elektromechanischen Mapping Knochenmark und peripheres Blut. Die Stammzellisolierung führten wir mit dem Cobe SPECTRA™ Apheresesystem unter Anwendung eines neu entwickelten Zentrifugationsverfahrens durch. Die Mappingprozedur inklusive Stammzelltransplantation war durchschnittlich nach 54 ± 15 Minuten abgeschlossen. Durch unser Verfahren ist die Stammzelltransplantation ohne Zeitverzögerung möglich und somit auch in der Akutsituation eines kürzlich vorangegangenen Herzinfarktes einsetzbar.

Transplantationsablauf und -technik

Um durch die Stammzelltransplantation Einfluss auf die Remodelierung des linken Ventrikels nehmen zu können, erfolgte die Injektion der Zellen innerhalb von durchschnittlich 9 Tagen nach der Revaskularisierung des Infarktgefäßes. Ande-

re Studien, welche Stammzellen nach einem akuten Myokardinfarkt transplantierten, nahmen die Prozedur zwischen dem 1. Tag (Janssens et al. 2006) und 18. Tag (Chen et al. 2004) nach der PCI, offenbar abhängig von der Art der transplantierten Zellen, vor. Die Behandlung mit G-CSF erfolgte vom 1. bis zum 6. Tag nach akutem Myokardinfarkt (Ince et al. 2005a, Ripa et al. 2006, Ripa et al. 2007).

Die Injektion der Zellen erfolgte an 20 verschiedenen Punkten im linken Ventrikel, welche vorher durch das elektromechanische Mapping charakterisiert und festgelegt wurden. Durch seine einzigartigen Magnetfelddaten konnte jeder Punkt auf dem Endokard zielgenau wieder aufgefunden werden. Im Gegensatz dazu erfolgte die Orientierung bei transepikardialer Injektion durch Vergleich des Operationsitus mit präoperativen echokardiographischen Daten (Menasche et al. 2008). Bei der transendokardialen Injektion orientierten sich die Untersucher an den NOGA-Maps, teilweise in Kombination mit den Befunden präprozeduraler Linksherzkatheteruntersuchung, Magnetresonanz- und Singlephotonenemissionstomographie (Perin et al. 2003, Smits et al. 2003, Tse et al. 2003, Silva et al. 2004). Ince et al. führten vor der transendokardialen Injektion eine Linksherzkatheteruntersuchung durch, markierten dyskinetische Areale auf einer auf dem Monitor aufgebrachten Folie und kontrollierten die Injektionskatheterposition unter Durchleuchtung (Ince et al. 2005b). Diese Methode erscheint im Vergleich zum elektromechanischen Mapping ungenauer, da Narbenareale nicht sicher von ischämisch geschädigten, vitalen Myokard unterschieden werden können.

Die Injektion erfolgte ausschließlich in Areale mit einer unipolaren Voltage > 5 mV (Keck et al. 2002). Wir gingen von der Annahme aus, dass eine Injektion von Stammzellen in avitale Areale trotz einer möglichen Transdifferenzierung in Myozyten keine Auswirkung auf die linksventrikuläre Funktion haben würde. Außerdem ist avitales nekrotisches Myokard durch die einsetzende zelluläre Abraumreaktion fragiler als der normale Herzmuskel und bei einer Manipulation wie einer Injektion möglicherweise rupturgefährdet.

Das punktgenaue Einbringen der Stammzellen stellt eventuell einen weiteren Vorteil gegenüber der intrakoronaren Applikation dar. Nach der Ballonokklusion zur Infusion der Stammzellen kann es zu einem verminderten Blutstrom in distalen Gefäßabschnitten kommen (Freyman et al. 2006). Da die Zellen durch den Blutstrom in die Infarkttrandzone eingeschwemmt werden müssen, kann sich eine

Verminderung der Blutflussgeschwindigkeit negativ auf die Einwanderung der Zellen auswirken.

Sicherheit

Als primärer Endpunkt der Studie wurde das Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen festgelegt. Dazu zählten unmittelbare periprozedurale Ereignisse wie eine Verletzung der Aortenklappe durch Kathetermanipulation, Ruptur der brüchigen, ischämischen, freien Herzwand oder des Ventrikelseptums durch Manipulation mit dem Injektionskatheter sowie das Auftreten anhaltender ventrikulärer Arrhythmien durch Irritation elektrisch vulnerabler Kardiomyozyten im Infarktgebiet. Während und nach der Stammzelltransplantation wäre der Eintritt eines Myokardinfarkt oder Schlaganfall im Rahmen eines erneuten thrombembolischen Ereignisses, Gefäßspasmus oder Einblutung bei Hypertonus, Gefäßverletzung und herabgesetzter Gerinnungsleistung zu erwarten gewesen. Durch die Behandlung wäre möglicherweise ein Perikarderguss aufgetreten. Infektionen durch kontaminierte Instrumente oder Stammzellen hätten zu einer lokalisierten Karditis oder generalisierten Sepsis führen können. Die injizierten Stammzellen könnten durch unerwünschte Transdifferenzierung tumorigen im Myokard und nachfolgenden Organen wirken. Darüber hinaus liegt ein einmaliger Bericht über Kalzifikationen nach intramyokardialer Injektion von Stammzellen vor, welche zu einer Einschränkung der kardialen Pumpleistung beitragen können (Yoon et al. 2004). Letztlich wäre der Eintritt des Todes zu jedem Zeitpunkt möglich gewesen. Sämtliche hier genannte unerwünschte Nebenwirkungen traten während des Eingriffs und dem Follow-up-Zeitraum in unserem Patientenkollektiv nicht auf.

Mit 30 Prozent erschien die In-Stent-Restenoserate zunächst recht hoch. Restenosen entstehen durch eine Hyperplasie der Neointima im Metallstent. Die in unserem Patientenkollektiv erhobene Rate der Restenosen entspricht jedoch annähernd den In-Stent-Restoseraten nach akutem Myokardinfarkt und Verwendung eines unbeschichteten Metallstents, unabhängig von einer Stammzelltransplantation (Newsome et al. 2008). Der Vergleich mit randomisierten klinischen Studien mit einer deutlich höheren Patientenzahl zeigte ebenfalls eine Restenoserate zwischen 10 Prozent (Janssens et al. 2006) und 37 Prozent (Bartunek et al.

2005). Dabei ist hervorzuheben, dass auch in den jeweiligen Kontrollgruppen ähnliche Prozentsätze nachgewiesen wurden.

Neben In-Stent-Restenosen waren in verschiedenen Studien ventrikuläre Arrhythmien im Sinne von Tachyarrhythmien die am häufigsten beobachtete Nebenwirkung. Dabei fällt auf, dass diese überproportional häufig nach der intramyokardialen Transplantation von Myoblasten dokumentiert wurden. Vergleichbare Ereignisse wurden in präklinischen, nicht randomisierten und randomisierten Studien nachgewiesen (Menasche et al. 2003, Dib et al. 2005, Ince et al. 2005b, Fernandes et al. 2006, Menasche et al. 2008, Veltman et al. 2008). Die Behandlung erfolgte durch Medikamente und/ oder durch Implantation eines ICD. Abhängig vom Studienaufbau und unter Berücksichtigung der zuvor erhobenen Daten erfolgte die Versorgung der Patienten mit ICD zum Teil auch schon prophylaktisch vor der Transplantation der Stammzellen (Menasche et al. 2008, Veltman et al. 2008). Anhaltende ventrikuläre Arrhythmien traten in unserem Patientenkollektiv nicht auf. Eine Versorgung mit einem ICD wurde bei drei Patienten wegen dauerhafter linksventrikulärer Ejektionsfraktionen unter 35 % notwendig.

Die während des Follow-up-Zeitraums aufgetretenen vaskulären Ereignisse, Ulcus cruris und Bypassverschluss bei pAVK, sind als Progredienz vorbestehender Erkrankungen ohne Zusammenhang mit der Stammzelltransplantation zu werten. Das ebenfalls während des Follow-up-Zeitraums diagnostizierte und entfernte occipitale Plattenepithelkarzinom war rückschauend schon zum Zeitpunkt der Stammzelltransplantation vorhanden, ohne dass es vom Patienten als ernsthafte Erkrankung erachtet wurde. Somit wird auch hier ein Zusammenhang mit der Stammzelltransplantation ausgeschlossen.

Die von uns erhobenen Daten zeigen, dass eine perkutane transendokardiale intramyokardiale Stammzelltransplantation nach einem akuten Myokardinfarkt sicher und machbar ist.

Effizienz

In erster Linie wollten wir mit unseren Untersuchungen prüfen, ob eine transendokardiale Stammzelltransplantation technisch und sicher durchführbar ist. Darüber hinaus erhoben wir während der Follow-up-Untersuchungen Daten, welche gewisse Rückschlüsse auf die Auswirkungen der intramyokardialen Stammzelltransplantation auf die Regeneration und Funktion des linken Ventrikels zulassen.

Zur Evaluation einer Herzinsuffizienz wurden verschiedene Laborparameter herangezogen. Dabei zeigte sich IL 6 über 6 Monate im Normbereich. Das BNP war zu den 6 Monatszeitpunkten deutlich erhöht, insgesamt jedoch im Mittel um 1761 ng/l abgesunken. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit der TOPCARE-Studie, welche die Entwicklung der BNP-Level nach intrakoronarer Stammzelltransplantation bei chronischer ischämischer Herzkrankheit untersuchte (Assmus et al. 2007).

Im elektromechanischen Mapping des linken Ventrikels konnte ein signifikanter Anstieg der unipolaren Voltage sowie der normalisierten unipolaren Voltage im Infarktgebiet registriert werden. Zusätzlich verkleinerte sich die ischämische Fläche innerhalb von 6 Monaten signifikant um 8 %. Diese Ergebnisse sind vereinbar mit Untersuchungen nach transendokardialer und intrakoronarer Stammzelltransplantation, welche ähnliche Veränderungen bereits nach drei Monaten nachweisen konnten (Tse et al. 2003, Chen et al. 2004).

Zusätzlich zeigte sich in der Linksherzkatheteruntersuchung ein Anstieg der Ejektionsfraktion um durchschnittlich 19 % vom Zeitpunkt der Revaskularisierung bis zum 6. Monat. Dabei ist darauf hinzuweisen, dass bereits zwischen der PCI und Stammzellinjektion ein Anstieg der LVEF um etwa 8 % erfolgte, so dass die Veränderung nach der Zellinjektion 8 % betrug. Insbesondere die LVEF betreffend wurden sehr kontroverse Ergebnisse nach randomisierten Studien veröffentlicht. Alle wiesen einen Anstieg der EF sowohl in der Behandlungs- als auch der Kontrollgruppe nach. Jedoch zeigten sich sowohl signifikante Unterschiede in beiden Gruppen nach 6 Monaten (Chen et al. 2004, Wollert et al. 2004, Meyer et al. 2006), welche sich nach 18 Monaten relativierten (Meyer et al. 2006) als auch von vornherein nichtsignifikante Verbesserung der EF in beiden Gruppen (Bartu-

nek et al. 2005, Janssens et al. 2006, Lunde et al. 2006, Schächinger et al. 2006a, Schächinger et al. 2006b). Unsere Ergebnisse entsprechen in ihrer Größenordnung den Ergebnissen der BOOST-Studie. Aufgrund unseres nur zwölfmonatigen Follow-up-Zeitraums ist nicht auszuschließen, dass durch die Stammzelltransplantation eine raschere Erholung der EF induziert wird, welche sich im zeitlichen Längsverlauf der EF unbehandelter Patienten angleicht. Weiterhin ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse dahingehend eingeschränkt, dass in alle randomisierte Studien zur intrakoronaren Stammzelltransplantation Patienten aufgenommen wurden, welche eine initiale EF zwischen 45 und 55 % aufwiesen. Unsere Patienten zeigte eine initiale EF von ≤ 40 %. Darüber hinaus war unsere Erfolgsrate mit 90 % TIMI-Flow 3 deutlich höher als in der BOOST-Studie mit 77 % TIMI-Flow 3 nach der Revaskularisierung.

Insgesamt lassen unsere Ergebnisse vermuten, dass eine intramyokardiale Injektion von Stammzellen mit einer verbesserten linksventrikulären Funktion und Reduktion des ischämischen Areals im linken Ventrikel einhergeht. Die Interpretation der Daten ist aufgrund einer fehlenden Kontrollgruppe und des relativ kurzen Follow-up-Zeitraums jedoch nur eingeschränkt möglich.

Limitationen

Die vorgestellte Studie unterliegt naturgemäß einigen Limitationen in der Interpretation der Ergebnisse. Zunächst ist die relativ geringe Gruppengröße zu nennen, in welcher möglicherweise sehr seltene unerwünschte Ereignisse nicht erfasst werden konnten. Da in erster Linie die Sicherheit und Machbarkeit einer perkutanen transendokardialen Stammzelltransplantation überprüft werden sollte, wurde keine Kontrollgruppe rekrutiert. Somit entfiel die Möglichkeit einer Placebogabe oder Punktion des Myokards ohne nachfolgende Injektion. Deshalb kann nicht sicher davon ausgegangen werden, dass die nachgewiesenen Veränderungen der linksventrikulären Funktion und elektromechanischen Parameter auf die Injektion und nachfolgende Transdifferenzierung der Stammzellen zurück zu führen sind. Mögliche parakrine Effekte durch von Stammzellen sezernierte Zytokine, wie sie anderweitig beschrieben wurden (Takahashi et al. 2006), können somit nicht ausgeschlossen werden. Weiterhin wäre es möglich, dass allein durch die Verletzung

des Myokards durch die Injektionsnadel eine vermehrte Bildung reparativen Gewebes provoziert wurde. Um dies zu untersuchen, wären weiterführende Studien notwendig.

Die im Apheresesystem isolierten Stammzellen wurden hinsichtlich ihrer Viabilität, Zusammensetzung und möglicher mikrobieller Kontamination getestet. Die ALDH[®] Aldefluor Flußzytometrie ermöglicht eine Aussage über die Stammzellfähigkeit des Zellproduktes (Lioznov et al. 2005), darüber hinaus gehende funktionelle Untersuchungen wie Zellmigrationsassays und Colony-Forming Assays wurden nicht durchgeführt.

Die Beurteilung der Effizienz erfolgte durch Untersuchungen, von denen insbesondere die Beurteilung der LVEF in der Echokardiographie und Linksherzkatherunteruntersuchung abhängig von der Erfahrung des Untersuchers ist. Eine Untersuchung mittels Magnetresonanztomographie wäre objektiver, ist aber durch die Implantation von ICD in der Anwendung ebenfalls eingeschränkt. Funktionelle Untersuchungen des Myokardstoffwechsels und der Vitalität wie SPECT oder PET, welche möglicherweise zusätzliche Aussagen zur Effizienz der Stammzelltransplantation erlaubt hätten, wurden in unserer Studie nicht durchgeführt.

Zur Beurteilung der Sicherheit und Machbarkeit einer perkutanen transendokardialen Stammzelltransplantation erscheint der gewählte Follow-up-Zeitraum ausreichend, zur weiterführenden Beurteilung der Effizienz wäre möglicherweise eine Beobachtung über 12 Monate hinaus indiziert.

Weiterhin sind die von uns erhobenen Daten nur begrenzt mit denen anderer Studien zu vergleichen, da zurzeit nur die Ergebnisse von Untersuchungen mit Behandlung mit G-CSF oder intrakoronarer Stammzelltransplantation nach akutem Myokardinfarkt vorliegen. Letztere weisen Unterschiede bei den Base-line-Charakteristika der Patienten, Art und Anzahl der transplantierten Zellen, Zeitpunkt der Transplantation und Art der Follow-up-Untersuchungen auf. Somit können bisher nur eingeschränkt Rückschlüsse auf die ideale Zellart, den bestmöglichen Zeitpunkt und Zugangsweg für die stammzellgestützte Regeneration und Reparatur des ischämisch geschädigten Myokards gezogen werden.

6 Zusammenfassung

Bis zum heutigen Tag sind die häufigsten Todesursachen in Deutschland und den westlichen Industrieländern die chronische ischämische Herzkrankheit und der akute Myokardinfarkt. Trotz kontinuierlicher Fortschritte in der interventionellen und medikamentösen Therapie liegt die 1-Jahres-Mortalität bei postinfarzieller linksventrikulärer Funktionseinschränkung bei etwa 8 %. Eine funktionelle Regeneration des Herzens ist mit den konventionellen Behandlungsmöglichkeiten nicht zu erreichen.

Zu Beginn dieses Jahrtausends wurden erstmals myokardiale Stammzellen nachgewiesen, welche nach einer ischämischen Schädigung des Myokards aktiviert werden. Darüber hinaus zeigten präklinische Studien, dass auch primitive mononukleäre Knochenmarkstammzellen in der Lage sind, infarktgeschädigtes Myokard zu reparieren und teilweise zu ersetzen. In der Folgezeit wurden zahlreiche Studien veröffentlicht, welche die Möglichkeit der zellbasierten Reparatur und Regeneration des ischämisch geschädigten Myokards untersuchten.

Verschiedene Studien zur intrakoronaren Stammzelltransplantation nach akutem Myokardinfarkt zeigten hinsichtlich der Effizienz kontroverse Ergebnisse. Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass nach der intrakoronaren Infusion signifikant weniger Zellen am Zielort verbleiben als nach der direkten intramyokardialen Injektion. Ausgehend von der These, dass eine erhöhte Zellkonzentration am Zielort zu einem größeren Gewinn hinsichtlich der linksventrikulären Funktion führt, untersuchten wir die Machbarkeit einer perkutanen intramyokardialen Stammzelltransplantation bei Patienten kurz nach einem akuten Myokardinfarkt.

Unsere Untersuchungen zeigen, dass die kathetergestützte perkutane intramyokardiale Stammzelltransplantation in der Frühphase nach akutem Myokardinfarkt sicher und machbar ist. Zusätzlich lassen sich positive Auswirkungen auf die linksventrikuläre Ejektionsfraktion und Größe des ischämischen Areals nachweisen, welche jedoch in weiterführenden Studien mit einer höheren Patientenzahl sowie einer Kontrollgruppe validiert werden müssten.

7 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin-Konversionsenzym
AP	Angina pectoris
BNP	B-typ natriuretisches Peptid
CD	Cluster of Differentiation
CK	Kreatinkinase
CK-MB	Herzmuskelspezifische Kreatinkinase (Creatinkinase-muscle/brain)
CRP	C-reaktives Protein
CX	Ramus circumflexus
DNA	Desoxyribonukleinsäure (Desoxyribonucleinacid)
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
G-CSF	Granulozyten-Koloniestimulierender Faktor
GPIIb/IIIa	Glykoprotein IIb/IIIa
I.E.	Internationale Einheit
ICD	Implantierbarer Kardioverter Defibrillator
IL 6	Interleukin 6
IQR	Interquartilenabstand (Interquartilerange)
KHK	Koronare Herzkrankheit
KMS	Knochenmarkstammzellen
LAD	Ramus interventricularis anterior (left anterior descendens coronary artery)
LDH	Laktatdehydrogenase
lin	lineage (Linienzugehörigkeit)
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MS	Mesenchymale Stammzellen
PCI	Perkutane koronare Intervention
PTCA	Perkutane transluminale koronare Angioplastie
RCA	Rechte Koronararterie (right coronary artery)
TIMI	Thrombolysis in myocardial infarction
Trop T / I	Troponin T / I
U/l	Units per Liter
UV	Unipolare Voltage

8 Literaturverzeichnis

Zeitschriften

Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP (2000) Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 36 (3):959-969.

Amado LC, Saliaris AP, Schuleri KH, St John M, Xie JS, Cattaneo S, Durand DJ, Fitton T, Kuang JQ, Stewart G, Lehrke S, Baumgartner WW, Martin BJ, Heldman AW, Hare JM (2005) Cardiac repair with intramyocardial injection of allogeneic mesenchymal stem cells after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102 (32):11474-11479.

Anversa P, Nadal-Ginard B (2002) Myocyte renewal and ventricular remodelling. *Nature.* 415 (6868):240-243.

Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, Kearne M, Magner M, Isner JM (1999) Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res.* 85 (3):221-228.

Assmus B, Fischer-Rasokat U, Honold J, Seeger FH, Fichtlscherer S, Tonn T, Seifried E, Schachinger V, Dimmeler S, Zeiher AM (2007) Transcoronary transplantation of functionally competent BMCs is associated with a decrease in natriuretic peptide serum levels and improved survival of patients with chronic postinfarction heart failure: results of the TOPCARE-CHD Registry. *Circ Res.* 100 (8):1234-1241.

Badorff C, Brandes RP, Popp R, Rupp S, Urbich C, Aicher A, Fleming I, Busse R, Zeiher AM, Dimmeler S (2003) Transdifferentiation of blood-derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes. *Circulation.* 107 (7):1024-1032.

Bartunek J, Vanderheyden M, Vandekerckhove B, Mansour S, De Bruyne B, De Bondt P, Van Haute I, Lootens N, Heyndrickx G, Wijns W (2005) Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety. *Circulation.* 112 (9 Suppl):1178-183.

Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, Kasahara H, Rota M, Musso E, Urbanek K, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P (2003) Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 114 (6):763-776.

Ben-Haim SA, Osadchy D, Schuster I, Gepstein L, Hayam G, Josephson ME (1996) Nonfluoroscopic, in vivo navigation and mapping technology. *Nat Med*. 2 (12):1393-1395.

Botker HE, Lassen JF, Hermansen F, Wiggers H, Sogaard P, Kim WY, Bottcher M, Thuesen L, Pedersen AK (2001) Electromechanical mapping for detection of myocardial viability in patients with ischemic cardiomyopathy. *Circulation*. 103 (12):1631-1637.

Cheitlin MD, Armstrong WF, Aurigemma GP, Beller GA, Bierman FZ, Davis JL, Douglas PS, Faxon DP, Gillam LD, Kimball TR, Kussmaul WG, Pearlman AS, Philbrick JT, Rakowski H, Thys DM, Antman EM, Smith SC, Jr., Alpert JS, Gregoratos G, Anderson JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Fuster V, Jacobs AK, Gibbons RJ, Russell RO (2003) ACC/AHA/ASE 2003 guideline update for the clinical application of echocardiography: summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/ASE Committee to Update the 1997 Guidelines for the Clinical Application of Echocardiography). *Circulation*. 108 (9):1146-1162.

Chen SL, Fang WW, Ye F, Liu YH, Qian J, Shan SJ, Zhang JJ, Chunhua RZ, Liao LM, Lin S, Sun JP (2004) Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 94 (1):92-95.

Chesebro JH, Knatterud G, Roberts R, Borer J, Cohen LS, Dalen J, Dodge HT, Francis CK, Hillis D, Ludbrook P, et al. (1987) Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Trial, Phase I: A comparison between intravenous tissue plasminogen activator and intravenous streptokinase. Clinical findings through hospital discharge. *Circulation*. 76 (1):142-154.

Dib N, Michler RE, Pagani FD, Wright S, Kereiakes DJ, Lengerich R, Binkley P, Buchele D, Anand I, Swingen C, Di Carli MF, Thomas JD, Jaber WA, Opie SR, Campbell A, McCarthy P, Yeager M, Dilsizian V, Griffith BP, Korn R, Kreuger SK, Ghazoul M, MacLellan WR, Fonarow G, Eisen HJ, Dinsmore J, Diethrich E (2005) Safety and feasibility of autologous myoblast transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy: four-year follow-up. *Circulation*. 112 (12):1748-1755.

Fernandes S, Amirault JC, Lande G, Nguyen JM, Forest V, Bignolais O, Lamirault G, Heudes D, Orsonneau JL, Heymann MF, Charpentier F, Lemarchand P (2006)

Autologous myoblast transplantation after myocardial infarction increases the inducibility of ventricular arrhythmias. *Cardiovasc Res.* 69 (2):348-358.

Freyman T, Polin G, Osman H, Crary J, Lu M, Cheng L, Palasis M, Wilensky RL (2006) A quantitative, randomized study evaluating three methods of mesenchymal stem cell delivery following myocardial infarction. *Eur Heart J.* 27 (9):1114-1122.

Gepstein L, Hayam G, Ben-Haim SA (1997) A novel method for nonfluoroscopic catheter-based electroanatomical mapping of the heart. In vitro and in vivo accuracy results. *Circulation.* 95 (6):1611-1622.

Gepstein L, Goldin A, Lessick J, Hayam G, Shpun S, Schwartz Y, Hakim G, Shofty R, Turgeman A, Kirshenbaum D, Ben-Haim SA (1998) Electromechanical characterization of chronic myocardial infarction in the canine coronary occlusion model. *Circulation.* 98 (19):2055-2064.

Gyöngyösi M, Strehblow C, Sperker W, Beran G, Lang I, Glogar D (2004) Perkutane intramyokardiale Therapie mittels NOGA. *J Kardiol.* 11 (Suppl B) 22-24.

Herman MV, Heinle RA, Klein MD, Gorlin R (1967) Localized disorders in myocardial contraction. Asynergy and its role in congestive heart failure. *N Engl J Med.* 277 (5):222-232.

Herreros J, Prosper F, Perez A, Gavira JJ, Garcia-Velloso MJ, Barba J, Sanchez PL, Canizo C, Rabago G, Marti-Climent JM, Hernandez M, Lopez-Holgado N, Gonzalez-Santos JM, Martin-Luengo C, Alegria E (2003) Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J.* 24 (22):2012-2020.

Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, Menke A, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Knapp WH, Drexler H (2005) Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium. *Circulation.* 111 (17):2198-2202.

Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, Zhang P, Rogers P, Price ET, Yeung AC, Johnstone BH, Yock PG, March KL (2005) Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation.* 112 (9 Suppl):I150-156.

Ince H, Petzsch M, Kleine HD, Eckard H, Rehders T, Burska D, Kische S, Freund M, Nienaber CA (2005a) Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction: final 1-year results of the Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial

Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor (FIRSTLINE-AMI) Trial. *Circulation*. 112 (9 Suppl):I73-80.

Ince H, Petzsch M, Rehders TC, Kische S, Chatterjee T, Nienaber CA (2005b) Perkutane intramyokardiale Implantation von autologen Myoblasten bei ischämischer Kardiomyopathie. *Herz*. 30 (3):223-231.

Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, Kalantzi M, Herbots L, Sinnaeve P, Dens J, Maertens J, Rademakers F, Dymarkowski S, Gheysens O, Van Cleemput J, Bormans G, Nuyts J, Belmans A, Mortelmans L, Boogaerts M, Van de Werf F (2006) Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 367 (9505):113-121.

Katritsis DG, Sotiropoulou P, Giazitzoglou E, Karvouni E, Papamichail M (2007) Electrophysiological effects of intracoronary transplantation of autologous mesenchymal and endothelial progenitor cells. *Europace*. 9 (3):167-171.

Keck A, Hertting K, Schwartz Y, Kitzing R, Weber M, Leisner B, Franke C, Bahlmann E, Schneider C, Twisselmann T, Weisbach M, Kuchler R, Kuck KH (2002) Electromechanical mapping for determination of myocardial contractility and viability. A comparison with echocardiography, myocardial single-photon emission computed tomography, and positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*. 40 (6):1067-1074; discussion 1075-1068.

Kornowski R, Hong MK, Gepstein L, Goldstein S, Ellahham S, Ben-Haim SA, Leon MB (1998) Preliminary animal and clinical experiences using an electromechanical endocardial mapping procedure to distinguish infarcted from healthy myocardium. *Circulation*. 98 (11):1116-1124.

Lioznov MV, Freiburger P, Kroger N, Zander AR, Fehse B (2005) Aldehyde dehydrogenase activity as a marker for the quality of hematopoietic stem cell transplants. *Bone Marrow Transplant*. 35 (9):909-914.

Losordo DW, Schatz RA, White CJ, Udelson JE, Veereshwarayya V, Durgin M, Poh KK, Weinstein R, Kearney M, Chaudhry M, Burg A, Eaton L, Heyd L, Thorne T, Shturman L, Hoffmeister P, Story K, Zak V, Dowling D, Traverse JH, Olson RE, Flanagan J, Sodano D, Murayama T, Kawamoto A, Kusano KF, Wollins J, Welt F, Shah P, Soukas P, Asahara T, Henry TD (2007) Intramyocardial transplantation of autologous CD34+ stem cells for intractable angina: a phase I/IIa double-blind, randomized controlled trial. *Circulation*. 115 (25):3165-3172.

Lunde K, Solheim S, Aakhus S, Arnesen H, Abdelnoor M, Egeland T, Endresen K, Ilebakk A, Mangschau A, Fjeld JG, Smith HJ, Taraldsrud E, Groggaard HK, Bjornerheim R, Brekke M, Muller C, Hopp E, Ragnarsson A, Brinchmann JE, Forfang K (2006) Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 355 (12):1199-1209.

Ma N, Stamm C, Kaminski A, Li W, Kleine HD, Muller-Hilke B, Zhang L, Ladilov Y, Egger D, Steinhoff G (2005) Human cord blood cells induce angiogenesis following myocardial infarction in NOD/scid-mice. *Cardiovasc Res.* 66 (1):45-54.

Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, Sano M, Takahashi T, Hori S, Abe H, Hata J, Umezawa A, Ogawa S (1999) Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest.* 103 (5):697-705.

Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, Bel A, Sarateanu S, Scorsin M, Schwartz K, Bruneval P, Benbunan M, Marolleau JP, Duboc D (2003) Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 41 (7):1078-1083.

Menasche P, Alfieri O, Janssens S, McKenna W, Reichenspurner H, Trinquart L, Vilquin JT, Marolleau JP, Seymour B, Larghero J, Lake S, Chatellier G, Solomon S, Desnos M, Hagege AA (2008) The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation. *Circulation.* 117 (9):1189-1200.

Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, Steffens J, Lippolt P, Fichtner S, Hecker H, Schaefer A, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Drexler H (2006) Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation.* 113 (10):1287-1294.

Mohyeddin-Bonab M, Mohamad-Hassani MR, Alimoghaddam K, Sanatkar M, Gasemi M, Mirkhani H, Radmehr H, Salehi M, Eslami M, Farhig-Parsa A, Emami-Razavi H, Alemohammad MG, Solimani AA, Ghavamzadeh A, Nikbin B (2007) Autologous in vitro expanded mesenchymal stem cell therapy for human old myocardial infarction. *Arch Iran Med.* 10 (4):467-473.

Möllmann H, Nef H, Elsasser A, Hamm C (2009) Stem cells in myocardial infarction: from bench to bedside. *Heart.* 95 (6):508-514.

Newsome LT, Kutcher MA, Royster RL (2008) Coronary artery stents: Part I. Evolution of percutaneous coronary intervention. *Anesth Analg*. 107 (2):552-569.

Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P (2001) Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 410 (6829):701-705.

Oron U, Halevy O, Yaakobi T, Hayam G, Gepstein L, Wolf T, Ben-Haim S (2000) Technical delivery of myogenic cells through an endocardial injection catheter for myocardial cell implantation. *Int J Cardiovasc Intervent*. 3 (4):227-230.

Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, Rossi MI, Carvalho AC, Dutra HS, Dohmann HJ, Silva GV, Belem L, Vivacqua R, Rangel FO, Esporcatte R, Geng YJ, Vaughn WK, Assad JA, Mesquita ET, Willerson JT (2003) Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*. 107 (18):2294-2302.

Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ, Rouleau JL, Kober L, Maggioni AP, Solomon SD, Swedberg K, Van de Werf F, White H, Leimberger JD, Henis M, Edwards S, Zelenkofske S, Sellers MA, Califf RM (2003) Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. *N Engl J Med*. 349 (20):1893-1906.

Ripa RS, Jorgensen E, Wang Y, Thune JJ, Nilsson JC, Sondergaard L, Johnsen HE, Kober L, Grande P, Kastrup J (2006) Stem cell mobilization induced by subcutaneous granulocyte-colony stimulating factor to improve cardiac regeneration after acute ST-elevation myocardial infarction: result of the double-blind, randomized, placebo-controlled stem cells in myocardial infarction (STEMMI) trial. *Circulation*. 113 (16):1983-1992.

Ripa RS, Haack-Sorensen M, Wang Y, Jorgensen E, Mortensen S, Bindslev L, Friis T, Kastrup J (2007) Bone marrow derived mesenchymal cell mobilization by granulocyte-colony stimulating factor after acute myocardial infarction: results from the Stem Cells in Myocardial Infarction (STEMMI) trial. *Circulation*. 116 (11 Suppl):I24-30.

Ryan TJ, Bauman WB, Kennedy JW, Kereiakes DJ, King SB, 3rd, McCallister BD, Smith SC, Jr., Ulliyot DJ (1993) Guidelines for percutaneous transluminal coronary angioplasty. A report of the American Heart Association/American College of Cardiology Task Force on Assessment of Diagnostic and Therapeutic Cardiovascular Procedures (Committee on Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty). *Circulation*. 88 (6):2987-3007.

Sanchez PL, Villa A, Sanz R, Dominguez M, Ludwig I, Fernandez ME, Fernandez-Aviles F (2007) Present and future of stem cells for cardiovascular therapy. *Ann Med.* 39 (6):412-427.

Schächinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, Yu J, Corti R, Mathey DG, Hamm CW, Suselbeck T, Assmus B, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM (2006a) Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 355 (12):1210-1221.

Schächinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, Yu J, Corti R, Mathey DG, Hamm CW, Suselbeck T, Werner N, Haase J, Neuzner J, Germing A, Mark B, Assmus B, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM (2006b) 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.* 27 (23):2775-2783.

Silva GV, Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Assad JA, Vaughn WK, Mesquita CT, Belem L, Carvalho AC, Dohmann HJ, Barroso do Amaral E, Coutinho J, Branco R, Oliveira E, Willerson JT (2004) Catheter-based transendocardial delivery of autologous bone-marrow-derived mononuclear cells in patients listed for heart transplantation. *Tex Heart Inst J.* 31 (3):214-219.

Siminiak T, Fiszer D, Jerzykowska O, Grygielska B, Rozwadowska N, Kalmucki P, Kurpisz M (2005) Percutaneous trans-coronary-venous transplantation of autologous skeletal myoblasts in the treatment of post-infarction myocardial contractility impairment: the POZNAN trial. *Eur Heart J.* 26 (12):1188-1195.

Smits PC, van Geuns RJ, Poldermans D, Bountiukos M, Onderwater EE, Lee CH, Maat AP, Serruys PW (2003) Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up. *J Am Coll Cardiol.* 42 (12):2063-2069.

Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Gattermann N, Hernandez A, Sorg RV, Kogler G, Wernet P (2001) Intrakoronare, humane autologe Stammzelltransplantation zur Myokardregeneration nach Herzinfarkt. *Dtsch Med Wochenschr.* 126 (34-35):932-938.

Takahashi M, Li TS, Suzuki R, Kobayashi T, Ito H, Ikeda Y, Matsuzaki M, Hamano K (2006) Cytokines produced by bone marrow cells can contribute to functional improvement of the infarcted heart by protecting cardiomyocytes from ischemic injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 291 (2):H886-893.

Thompson CA, Nasser BA, Makower J, Houser S, McGarry M, Lamson T, Pomerantseva I, Chang JY, Gold HK, Vacanti JP, Oesterle SN (2003) Percutaneous transvenous cellular cardiomyoplasty. A novel nonsurgical approach for myocardial cell transplantation. *J Am Coll Cardiol.* 41 (11):1964-1971.

Thygesen K, Alpert JS, White HD, Jaffe AS, Apple FS, Galvani M, Katus HA, Newby LK, Ravkilde J, Chaitman B, Clemmensen PM, Dellborg M, Hod H, Porela P, Underwood R, Bax JJ, Beller GA, Bonow R, Van der Wall EE, Bassand JP, Wijns W, Ferguson TB, Steg PG, Uretsky BF, Williams DO, Armstrong PW, Antman EM, Fox KA, Hamm CW, Ohman EM, Simoons ML, Poole-Wilson PA, Gurfinkel EP, Lopez-Sendon JL, Pais P, Mendis S, Zhu JR, Wallentin LC, Fernandez-Aviles F, Fox KM, Parkhomenko AN, Priori SG, Tendera M, Voipio-Pulkki LM, Vahanian A, Camm AJ, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Widimsky P, Zamorano JL, Morais J, Brener S, Harrington R, Morrow D, Lim M, Martinez-Rios MA, Steinhubl S, Levine GN, Gibler WB, Goff D, Tubaro M, Dudek D, Al-Attar N (2007) Universal definition of myocardial infarction. *Circulation.* 116 (22):2634-2653.

Torella D, Ellison GM, Mendez-Ferrer S, Ibanez B, Nadal-Ginard B (2006) Resident human cardiac stem cells: role in cardiac cellular homeostasis and potential for myocardial regeneration. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 3 Suppl 1 S8-13.

Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP (2003) Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet.* 361 (9351):47-49.

Vale PR, Losordo DW, Milliken CE, McDonald MC, Gravelin LM, Curry CM, Esakof DD, Maysky M, Symes JF, Isner JM (2001) Randomized, single-blind, placebo-controlled pilot study of catheter-based myocardial gene transfer for therapeutic angiogenesis using left ventricular electromechanical mapping in patients with chronic myocardial ischemia. *Circulation.* 103 (17):2138-2143.

Veltman CE, Soliman OI, Geleijnse ML, Vletter WB, Smits PC, ten Cate FJ, Jordaens LJ, Balk AH, Serruys PW, Boersma E, van Domburg RT, van der Giessen WJ (2008) Four-year follow-up of treatment with intramyocardial skeletal myoblasts injection in patients with ischaemic cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 29 (11):1386-1396.

Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S, Korte T, Hornig B, Messinger D, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Drexler H (2004) Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet.* 364 (9429):141-148.

Xu C, Police S, Rao N, Carpenter MK (2002) Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Circ Res.* 91 (6):501-508.

Yoon YS, Park JS, Tkebuchava T, Luedeman C, Losordo DW (2004) Unexpected severe calcification after transplantation of bone marrow cells in acute myocardial infarction. *Circulation.* 109 (25):3154-3157.

Zohlnhöfer D, Ott I, Mehilli J, Schomig K, Michalk F, Ibrahim T, Meisetschlager G, von Wedel J, Bollwein H, Seyfarth M, Dirschinger J, Schmitt C, Schwaiger M, Kastrati A, Schomig A (2006) Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myocardial infarction: a randomized controlled trial. *Jama.* 295 (9):1003-1010.

Monografien

Mandel C (2005) Untersuchungen zum Einfluss von Erythropoietin auf die myokardiale Funktion des ischämischen Schweineherzens. *Tiermed. Dissertation.* Universität München. 47-50.

Renz-Polster H, Braun J (2000) *Basislehrbuch Innere Medizin.* 1. Auflage. Urban & Fischer Verlag München Jena, München. 59-65.

Beitragswerke

Busse R (2007) Kreislauf. In: RF. Schmidt, F. Lang,; G. Thews (Hrg.) *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie.* Springer, Heidelberg, 652-653.

Enseleit F, Ruschitzka G, Noll T, Lüscher F (2007) Atherosklerose. In: W. Gerok, C. Huber, T. Meinertz, H. Zeidler (Hrg.) *Die Innere Medizin: Referenzwerk für den Facharzt.* Schattauer, F.K. Verlag GmbH, 138-163.

Saubier B, Bode C (2007) Krankheiten des Koronarkreislaufs. In: W. Gerok, C. Huber, T. Meinertz, H. Zeidler (Hrg.) *Die Innere Medizin: Referenzwerk für den Facharzt.* Schattauer, F.K. Verlag GmbH, Stuttgart, 138-163.

Wollert KC, Drexler H (2007) Herzinsuffizienz. In: W. Gerok, C. Huber, T. Meinertz, H. Zeidler (Hrg.) *Die Innere Medizin: Referenzwerk für den Facharzt.* Schattauer, F.K. Verlag GmbH, Stuttgart, 101-116.

Internetquelle

Statistisches Bundesamt Deutschland. Todesursachen; Sterbefälle insgesamt 2007 nach den 10 häufigsten Todesursachen der International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD 10). [Online im Internet]. URL:

<http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Statistiken/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/Content75/SterbefaelleInsgesamt.psmi>

[Stand: 10.06.2010, 19:31].

Danksagung

In erster Linie gilt mein Dank Prof. Dr. med. Kuck sowie Dr. med. Krause für die freundliche Überlassung des Themas.

Weiterhin bin ich Dr. med. Krause und Dr. rer. nat. Jaquet für die unermüdliche Unterstützung und geduldige Beantwortung meiner Fragen zu großem Dank verpflichtet.

Dr. med. C. Schneider danke ich für die sachkundige Auswertung der Echokardiographie- und NOGA-Daten.

Meinem Mann danke ich für schnelle und zuverlässige Hilfen bei Computerproblemen, seinen unerschütterlichen Optimismus und seine immerwährende Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.

Den Mitarbeitern der kardiologischen Abteilung und des Krankenaktenarchivs der Asklepios Klinik St. Georg danke ich herzlich für die gute Zusammenarbeit.

Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen aus den veröffentlichten Exemplaren entfernt.

Eidesstattliche Versicherung:

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift:



Einzelne Ergebnisse dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Krause K, Jaquet K, Schneider C, Haupt S, Lioznov MV, Otte KM, Kuck KH (2009) Percutaneous intramyocardial stem cell injection in patients with acute myocardial infarction: first-in-man study. Heart. 95 (14): 1145-1152.