

**Aus der Klinik und Poliklinik für Herzchirurgie
des Universitätsklinikums Rostock
Direktor: Prof. Dr. med. G. Steinhoff**

**Intramyokardiale Stammzelltransplantation mit autologen CD133+
Knochenmarkstammzellen im Rahmen der aortokoronaren
Bypassoperation zur Myokardregeneration**

**Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock**

**vorgelegt von
Jan-Arne Lauffs
aus Kiel**

Rostock, 2007

urn:nbn:de:gbv:28-diss2008-0064-8

Tag der Einreichung: 17.09.2007

Tag der Verteidigung: 24.06.2008

Dekan: Professor Dr. med. Emil C. Reisinger

1. Gutachter: Professor Dr. med. habil. Gustav Steinhoff, Direktor der Klinik für Herzchirurgie, Universitätsklinikum Rostock
2. Gutachter: Professor Dr. med. Michael Klein, Klinik für Thorax - und kardiovaskuläre Chirurgie, Universitätsklinikum Düsseldorf
3. Gutachter: Professor Dr. med. Brigitte M. Pützer, Direktor des Instituts für Vektorologie und experimentelle Gentherapie, Universitätsklinikum Rostock

Gewidmet
meinem Großvater Dr. Hans-Jakob Lauffs
In Hochachtung und liebender Erinnerung

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
I.1 Klinik und Biologie von Herzinfarkt und Herzinsuffizienz	1
I.2 Experimentelle und klinische Grundlagen der kardialen Stammzelltherapie	2
I.2.1 Transplantation myozytärer Vorläuferzellen	2
I.2.2 Myokardregeneration durch Zellen aus dem Knochenmark	3
I.2.2.a Allogene Organ- und Knochenmarktransplantation	3
I.2.2.b Knochenmarkstammzellen	4
I.2.2.b.1 Differenzierung	4
I.2.2.b.2 Isolation	6
I.2.2.b.3 Zellapplikation	6
I.2.2.b.4 Stammzellmobilisierung durch Zytokine (G-CSF)	7
I.2.2.b.5 Klinische Studien	8
I.2.3 Die Stammzellstudie der Rostocker Herzchirurgie	9
II. STUDIENDESIGN UND METHODIK	10
II.1 Patienten	10
II.2 Aufklärung und Einverständniserklärung	10
II.3 Studienkriterien	11
II.3.1 Einschlußkriterien	11
II.3.2 Ausschlußkriterien	11
II.3.3 Abbruchkriterien	11
II.4 Studienaufbau	12
II.4.1 Phase I	12
II.4.1.a Studiendesign	12
II.4.1.b Statistik	12
II.4.2 Phase II	12

II.4.2.a Studiendesign	12
II.4.2.b Statistik	13
II.4.3 Ablauf	13
II.5 Untersuchungsparameter	15
II.5.2 Echokardiographie	15
II.5.3 Kardio-MRT	15
II.5.4 Thallium Perfusions-Szintigraphie	15
II.5.5 Holter-EKG	15
II.5.6 Knochenmarkspunktion	15
II.6 Gerätetechnik/Methoden	16
II.6.1 Echokardiographie	16
II.6.2 Kardio-MRT	16
II.6.3 Thallium Perfusions-Szintigraphie	16
II.6.4 Knochenmarkspunktion	17
II.6.5 Zellpräparation	17
II.6.6 Operation	18
III. ERGEBNISSE	19
III.1 Phase I	19
III.1.1 Präoperativ	19
III.1.1.a Primärer Outcome-Parameter LVEF	19
III.1.1.b Sekundäre Parameter	20
III.1.2 Intra- und früh postoperativ	20
III.1.3 Postoperativ	21
III.1.3.a Primärer Outcome-Parameter LVEF	21
III.1.3.b Sekundäre Parameter	22
III.2 Phase II	24
III.2.1 Allgemein	24
III.2.2 Statistik nach Gruppen	25
III.2.2.a präoperativ	25
III.2.2.b Intra- und früh postoperativ	25
III.2.2.c Follow-Up postoperativ	26

III.2.2.c.1 Primärer Outcome-Parameter LVEF	26
III.2.2.c.2 Sekundäre Outcome-Parameter	27
III.2.3 Vergleichende Statistik	28
III.2.3.a Primärer Outcome-Parameter LVEF	28
III.2.3.b Sekundäre Outcome-Parameter	29
III.2.3.c Allgemein	30
III.2.4 Kardio-MRT	31
 IV. DISKUSSION	 32
IV.1 Überblick	32
IV.2 Aktueller Wissensstand	32
IV.3 Die Studie der Rostocker Herzchirurgie im internationalen Vergleich	37
IV.4 Kritische Betrachtung der Studie	40
IV.5 Fazit	43
 V. ZUSAMMENFASSUNG	 44
 VI. ANHANG	 46
VI.1 Tabellen/Abbildungen	46
VI.2 Thesen	65
VI.3 Einverständniserklärung	66
VI.4 Literaturverzeichnis	69
 VII. DANKSAGUNG	 77
 VIII. LEBENSLAUF	 78
 IX. SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	 80

ABBILDUNGSVERZEICHNIS:

Abb. 1:	Verteilung der NYHA/CCS-Stadien bei Patienten der Phase I-Studie zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme.	19
Abb. 2:	Verteilung der Dosis CD133+-isolierter Zellen bei Patienten der Phase I-Studie.	20
Abb. 3 und 4:	Darstellung der LVEF von präoperativ bis 12 Monate postoperativ.	21
Abb. 5 und 6:	Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Volumens über 4 Zeitpunkte von präoperativ bis 12 Monate postoperativ.	22
Abb. 7 und 8:	Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Diameters über 4 Zeitpunkte von präoperativ bis 12 Monate postoperativ.	23
Abb. 9:	Entwicklung der Myokardperfusion im Zeitraum von 2 Wochen p.o. bis 12 Monate p.o. als Sztintigraphiekoeffizient.	23
Abb. 10:	Verteilung der NYHA/CCS-Stadien in Phase II bei Aufnahme	
Abb. 11:	Bypass-Graft-Verteilung, Phase II	24
Abb. 12 und 13:	Gruppenvergleich der LVEF zu den Zeitpunkten präoperativ und 6 Monate postoperativ.	28
Abb. 14:	Boxplot-Graphik mit Gruppenvergleich der Szintigraphie-Koeffizienten	29

Abb. 15:	A) Boxplot-Graphik zum Vergleich der postoperativen LVEF-Verbesserung bei Patienten mit präoperativer LVEF >35% und <35%. B) Darstellung der Korrelation von präoperativer Pumpleistung und postoperativer LVEF-Veränderung als Scatterplotgraphik.	30
Abb. 16:	Scatterplotgraphik mit Regressionsgeraden zur Darstellung der Korrelation von mittels MRT und Echokardiographie gemessenen LVEF-Werten.	31
Abb. 17:	Myokardszintigraphie-Bilder eines mit CABG und Stammzellen behandelten Patienten präoperativ, 2 Wochen p.o., 6 Monate und 12 Monate p.o.	46

TABELLENVERZEICHNIS:

Tabelle 1:	Nebenwirkungen gemäß CTC (Common Toxicity Criteria) Version 2.0 vom 30.04.1999	47
Tabelle 2:	Schema zu Art und Zeitpunkt der Vor- und Nachuntersuchungen	48
Tabelle 3:	Komplikationsverlauf frühpostoperativ	48
Tabelle 4:	Daten der Phase I	49
Tabelle 5:	Daten der Phase II	53

I. Einleitung

I.1 Klinik und Biologie von Herzinfarkt und Herzinsuffizienz

Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems gehören in den westlichen Ländern zu den häufigsten Krankheits- und Todesursachen. Die Entwicklung einer Insuffizienz des Herzmuskels - insbesondere durch Herzinfarkt bedingte Gewebeerstörung - verursacht allein in Deutschland bei fast 1 Mio. Menschen erhebliche Einschränkungen von Leistungsfähigkeit und Lebensqualität. Ursache sind meist Gefäßschäden im Sinne einer Arteriosklerose. Sie findet im Rahmen des natürlichen Alterungsprozesses statt, wird aber durch verschiedene endo- und exogene Faktoren wie z.B. Lebens- und Ernährungsgewohnheiten, Stoffwechselerkrankungen (Diabetes mellitus und Hyperhomocysteinämie), Nikotinabusus, Bluthochdruck und Fettstoffwechselstörungen wesentlich beeinflusst und kann schon in jungen Jahren zu Erkrankungen des Gefäßsystems führen. Bereits im Kindes- und Jugendalter sind atheromatöse Plaques in den Karotiden nachweisbar. Ein weiterer nicht zu unterschätzender Faktor bei Erkrankungen des Herzkreislaufsystems ist die familiäre und damit genetische Prädisposition. Arteriosklerose befällt die arteriellen Gefäße (meist unter Aussparung der A. pulmonalis und intramuskulär verlaufender Koronargefäße) und ist somit eine diffuse Erkrankung und selten isoliert in einzelnen Organen oder Regionen anzutreffen. Sie schreitet mit unterschiedlicher Geschwindigkeit aber in der Regel langsam über Jahre bei oft vollständiger Beschwerdefreiheit fort. Kommt es im Laufe der Zeit zu Plaqueruptur und/oder Gefäßokklusion in den Koronargefäßen können Angina pectoris Beschwerden bis hin zum Myokardinfarkt mit Untergang von Herzmuskelgewebe entstehen, in dessen Folge Komplikationen wie plötzlicher Herztod, Rhythmusstörungen, Herzinsuffizienz, Septumperforation und Papillarmuskelabriß mit Mitralklappeninsuffizienz nicht selten sind.

Weitere seltenere Ursachen einer chronischen Herzinsuffizienz können z.B. dilatative Kardiomyopathien unterschiedlicher Genese (alkoholtoxisch, Tachykardien, Cor hypertonicum, Chagas-Infektion, Blei- und Kupferverwertungsstörungen) und Herzrhythmusstörungen (chronisches Vorhofflimmern, arrhythmogenic right ventricular disease) sein.

Wurde myokardiales Gewebe dauerhaft geschädigt, ist es nach aktueller Datenlage dem Herzen nicht möglich, untergegangenes Gewebe in größerem Maßstab eigenständig zu regenerieren oder komplett neues Gewebe zu bilden. Auch reparative und unterstützende Behandlungsmethoden konnten bislang keine dauerhafte

Wiederherstellung von Gewebe und Herzleistung bewirken. Symptomatische Therapiestrategien der chronischen Herzinsuffizienz sind sowohl medikamentöser (z.B. ACE-Hemmer, Betablocker, Diuretika, Digitalis-Präparate) als auch chirurgischer Natur. Operativ können Ventrikelreduktionsplastiken (Batista-OP bei Chagas-Infektion, Aneurysmaresektionsplastik nach Dor o.ä. bei ischämischer Herzerkrankung) oder die Implantation von Kreislaufunterstützungssystemen (uni- oder biventrikulär, pulsatil oder nicht-pulsatil, extrakorporal oder intrathorakal) das geschädigte Herz entlasten. Unterstützungssysteme finden vornehmlich Verwendung in der Prätransplantationsphase als „Bridge-to-Transplant“ bzw. bei akuter Dekompensation und werden nur in Einzelfällen als endgültige Palliation eingesetzt („Destination therapy“). Als einzige kurative Therapie der schweren Herzinsuffizienz steht derzeit die Herztransplantation zur Verfügung, welche durch Mangel an Spenderorganen nur bei ca. 400 Patienten pro Jahr in Deutschland durchgeführt werden kann und durch Abstossungsreaktionen, Transplantatvaskulopatrien sowie unerwünschte Wirkungen der immunsuppressiven Therapie ein eigenes breites Morbiditätsspektrum besitzt.

Auf der Suche nach alternativen Behandlungsmethoden rückten in den letzten Jahren die durch intensive Forschung auf dem Sektor der Zelltherapie und des künstlichen Gewebeersatzes entstandenen Möglichkeiten der Geweberegeneration in den Mittelpunkt des Interesses. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die Therapiemöglichkeiten mit adulten und embryonalen Stammzellen gelegt. In Folge wurden zahlreiche Studien unterschiedlichster Art und Fragestellung durchgeführt.

I.2 Experimentelle und klinische Grundlagen der kardialen Stammzelltherapie

I.2.1 Transplantation myozytärer Vorläuferzellen

Initiale Forschungen auf dem Gebiet des regenerativen kardialen Gewebeersatzes begannen ungefähr zeitgleich unter Verwendung von autologen Skelettmyoblasten (Progenitorzellen, die normalerweise in Skelettmuskelzellen differenzieren¹⁻⁴) und allogenen Kardiomyozyten⁵⁻⁷.

Trotz widersprüchlicher Studienergebnisse stellte sich heraus, daß Skelettmyoblasten im Allgemeinen nur Skelettmuskelzellen bilden und eine Transdifferenzierung in Kardiomyozyten nicht erreicht werden kann⁸ (mit einigen wenigen Ausnahmen⁹). Adulte Skelettmyoblasten exprimieren nicht die Adhäsions- oder Gap Junction-Proteine N-cadherin und connexin43, die zur elektromechanischen Kopplung mit

umgebenden Kardiomyozyten notwendig wären¹⁰. Es zeigte sich, dass die transplantierten Zellen nicht synchron zum restlichen Myokard arbeiteten und es in mehreren Fällen zu ventrikulären Rhythmusstörungen kam. Trotz dieser Erkenntnisse über das arrhythmogene Potential der Skelettmyoblasten konnte sowohl in Groß- als auch Kleinterversuche mit Skelettmyoblastentransplantation nach Myokardinfarkt ein positiver Einfluß auf die Herzfunktion im Sinne einer Kontraktilitätssteigerung und damit Verbesserung der Pumpfunktion¹¹ dokumentiert werden. Es wird vermutet, dass eine verringerte linksventrikuläre Dilatation diesem Effekt zu Grunde liegt¹².

Erste klinische Studien mit Skelettmyoblasten wurden bei Patienten nach Herzinfarkt in Verbindung mit Bypassoperationen von Menasché¹³ durchgeführt. Phase I-Studien mit chirurgischer und interventioneller intramyokardialer Injektion belegten die Erzeugung von Skelettmuskelgewebe in der Herzwand¹⁴. Behindert wurde die weitere Forschung in der Myoblastentherapie primär durch arrhythmogene Nebenwirkungen (u.a. Kammerflimmern), die zur prophylaktischen Defibrillator-Implantation führten. Eine große europäische Phase II-Studie (MAGIC-Trial) unter Beteiligung mehrerer deutscher Zentren sollte vor kurzem Sicherheit und Effizienz der Myoblasten-Therapie bei Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt klären.

Im Gegensatz zu den Skelettmyoblasten werden allogene Kardiomyozytengrafts in tierexperimentellen Modellen morphologisch und elektrophysiologisch in das umgebende Myokard integriert¹⁵⁻¹⁸, sind dort jedoch dem gleichen Risiko des ischämischen Zellunterganges ausgesetzt wie native Herzmuskelzellen. Darüber hinaus unterliegen allogene Kardiomyozytengrafts Abstossungsreaktionen. Autologe Kardiomyozyten aus dem adulten Organsimus können bislang nicht suffizient in Kultur vermehrt werden.

I.2.2 Myokardregeneration durch Zellen aus dem Knochenmark

I.2.2.a Allogene Organ- und Knochenmarktransplantation

Erkenntnisse zur Funktion von Stammzellen im kardialen Gewebeersatz ergaben sich aus Beobachtungen in der autologen Organ- und Knochenmarktransplantation. So konnte das Phänomen des Chimerismus (Verhältnis von Spender- zu Empfängerzellen) unter anderem bei der autologen KM-Transplantation (nach nicht-myeloablativer Therapie) im Sinne eines gleichzeitigen Vorliegens von Wirts- und

Spenderzellen¹⁹ oder nach einer geschlechtsabweichenden Herztransplantation näher untersucht werden²⁰. Durch genetische Identifikation von Spender- und Empfängerzelle im Transplantat waren hier Untersuchungen von Zellwanderung und Regeneration möglich²¹. Es zeigte sich, dass ein erheblicher Anteil des Mikrogefäßsystems nach Transplantation aus dem Empfänger-Knochenmark ersetzt wird^{20,22}. Der Ersatz von Kardiomyozyten aus dem Knochenmark wird kontrovers diskutiert²³. Jedoch ist der Nachweis von Empfänger-Kardiomyozyten im allogenen Herztransplantat in verschiedenen Studien als seltenes Ereignis mit einer Häufigkeit von 1/1000-10000 Kardiomyozyten bestätigt worden^{20,22,24-26}. Im Speziellen konnten bei männlichen Patienten nach Transplantation eines weiblichen Spenderherzens männliche Empfänger-Knochenmarkstammzellen im Herzmuskel nachgewiesen werden (Nachweis des Y-Chromosoms mittels Fluoreszenz in situ hybridisierung (FISH))²⁵. Quintessenz dieser Befunde ist der Nachweis, daß, im Gegensatz zur bisherigen Lehrmeinung, nach der das Säugetiermyokard keinerlei zelluläres Proliferations- oder Regenerationspotential besitzt, im menschlichen Herzen unter bestimmten Bedingungen durchaus ein Zellumsatz besteht. Dieser scheint nicht nur Zellen des kardialen Gefäßsystems und Bindegewebes zu betreffen, sondern in geringem Maße auch Kardiomyozyten.

I.2.2.b Knochenmarkstammzellen

I.2.2.b.1 Differenzierung

Die vaskuläre oder myogene Differenzierung zirkulierender Progenitorzellen aus dem Knochenmark wurde erstmalig Ende der neunziger Jahre von Ferrari et al²⁷ (Skelettmuskelregeneration aus dem Knochenmark der Maus) und nachfolgend von weiteren Gruppen beschrieben^{23,28,29}. Danach sind in den letzten Jahren eine Vielzahl von Untersuchungen zur kardialen Zelldifferenzierung und Regeneration publiziert³⁰ und vaskuläre und myogene Differenzierungen festgestellt worden, die zu einer Verbesserung der Herzfunktion nach experimentellem Herzinfarkt führten.

Zu unterscheiden sind mesenchymale und hämatopoetischen Stammzellen. Mesenchymale Stammzellen aus dem Stroma des Knochenmarkes haben vornehmlich, aber nicht ausschließlich die Potenz, sich in Fett-, Knorpel-, Knochen, Sehnen- oder (Herz-)Muskelzellen differenzieren können. Die Transdifferenzierung

mesenchymaler Stammzellen in Adipozyten, Osteoblasten, und Knorpelzellen ist ein Standardverfahren in der spezifischen Qualitätskontrolle. Auch Neoangiogenese und die Fähigkeit, die Pumpleistung und die Compliance des Herzens nach Myokardinfarkt zu verbessern wurde in aktuellen Studien erneut nachgewiesen³¹⁻³³. Oberflächenmarker sind u.a. CD-13, CD-29, CD-44, CD-73, CD-90, CD-105, CD-106, CD-166 und MHC-I. Da allerdings keiner dieser Marker für sich weder absolut spezifisch für mesenchymale Stammzellen ist noch robust genug exprimiert wird, eignen sie sich nicht für ein Routineverfahren zur Zellisolation. Standard ist daher die Separation mesenchymaler Stammzellen über deren Adhärenz.

Hämatopoetische Stammzellen differenzieren primär in Blutzellen. Gängige Oberflächenmarker früher unreifer hämatopoetischer Stammzellen sind z.B. CD133, CD34 oder VEGF-R2, erstere werden auch für klinisch zugelassene Verfahren zur Antikörper-basierten Zellseparation verwendet. Eine Potenz zur Kardiomyogenese wird vermutet, jedoch sehr kontrovers diskutiert. Deutlich stärker scheint aber die Fähigkeit zur endothelialen Differenzierung und Neoangiogenese zu sein.

In experimentellen Modellen des Myokardinfarktes wurde bislang hauptsächlich die Bildung von mikrovaskulärem und interstitiellem Gewebe nachgewiesen. Nur in wenigen Fällen konnte man tatsächlich von einer Differenzierung in Kardiomyozyten ausgehen. Die funktionelle Verbesserung der Herzfunktion resultiert im Wesentlichen aus der Regeneration des Infarkttrandgewebes. Die kardiale Differenzierung von Knochenmarkstammzellen wird in verschiedenen Berichten widersprüchlich beschrieben. Dabei ist zu bedenken, dass die Auswahl des Stammzell-Typs wenig Kontinuität aufweist und mitunter deutliche Unterschiede festzustellen sind. Die Selektion von hämatopoetischen und nicht-hämatopoetischen Stammzellen obliegt der Bindung von Antikörpern an spezifische Oberflächenmarker (u.a. CD34, CD133). Neues Potential birgt auf diesem Gebiet das Voranschreiten der Entwicklung der Zellcharakterisierung, um hämatopoetische, nicht-hämatopoetische und mesenchymale Stammzellen differenzierter einsetzen und erforschen zu können.

I.2.2.b.2 Isolation

Die Stammzelltherapie kann auf eine weit fortgeschrittene Technologie zur Zellisolierung und Purifizierung zurückgreifen. Ausgehend von mononukleären Knochenmarkszellen können mittels der magnetischen Isolationstechnologie CD34+ oder CD133+ Stammzellpopulationen (weniger als 1% der Knochenmarkszellen) angereichert werden. Hierbei kommen Herstellungsaufgaben für Zelltherapieprodukte gemäß des Arzneimittelgesetzes zur Anwendung (Reinraumbedingungen, GLP/GMP-Standards). Prinzipiell erfolgt die Anreicherung der Stammzellen aus autologem Zellmaterial, in einigen Studien kommen aber auch allogene Stammzellen zum Einsatz.

I.2.2.b.3 Zellapplikation

Von besonderer Wichtigkeit in der Zelltherapie ist die Applikationstechnik, mit der die Stammzellen in das geschädigte Gewebe eingebracht werden. Ziel ist die sichere Transplantation effektiver Zellzahlen intrakardial in bestimmte Erkrankungsbereiche unter Erhalt der Zellfunktionen. Hierbei kommen Parametern wie Gewebemilieu, Regulationsfaktoren für Stammzelladhäsion, -migration und -interaktion sowie Hypoxie- und Inflammationsbedingungen eine besondere Bedeutung zu. Aufgrund des hohen Bedarfs an weiterführenden wissenschaftlichen Ergebnissen hinsichtlich des Verhaltens von Stammzellen nach Transplantation und mit Augenmerk auf ihre Apoptose- und Differenzierungsmuster sowie auf die Interaktion mit kardialen Zellen sind sie Forschungsthematik einer Vielzahl experimenteller Untersuchungen.

Es stehen im Wesentlichen zwei Applikationstechniken zur intrakardialen Stammzelltransplantation zur Verfügung. Man unterscheidet intravaskuläre und intramyokardiale Techniken:

1) Die intravaskuläre Applikation erfolgt entweder in das periphere Venensystem oder intrakoronar nach Ballonokklusion in die Koronararterien. Bei der peripher-venösen Infusion wäre ein Ansiedeln der zirkulierenden Zellen im Herzen von Nöten, was im gesunden Körper nicht zu beobachten ist. Vielmehr wird durch den stromal-derived-factor 1 (SDF-1) eine selektive Ansiedelung der infundierten Zellen im Knochenmark initiiert. Es konnte aber gezeigt werden, dass nach Herzinfarkt auch im ischämischen Herzmuskelgewebe SDF-1 exprimiert wird, was zu einer Adhäsion von Stammzellen im Infarkttrandgebiet führt³⁴. Die Anzahl der (durch SDF-1 initiiert) aus der

Blutbahn in das Herzmuskelgewebe auswandernden Stammzellen im Herzen ist jedoch sehr gering und auf kurze Zeit nach dem Infarkt begrenzt³⁵. Die periphervenöse Zellapplikation hat daher derzeit keinen wesentlichen Stellenwert in der myokardialen Stammzelltherapie.

Die selektive Zellapplikation in die Herzkranzgefäße ist ein Ansatz, die Spezifität der Stammzelladhäsion für das Herz zu erhöhen. Applikationen über das Koronarsinussystem waren ineffektiv. Die intrakoronare Infusion mit temporärer Ballonokklusion des arteriellen Infarktgefäßes erwies sich hingegen als praktikabel und suffizient und stellt neben der intramyokardialen die bislang am häufigsten praktizierte Applikationsart (oft auch bei Z.n. aktuellem Myokardinfarkt) dar^{36,37}.

2) Die intramuskuläre und damit kardiochirurgisch koordinierte Stammzellapplikation findet bei chronischer Herzinsuffizienz, insbesondere der chronischen Ischämie nach Myokardinfarkt Verwendung^{13,38-41}. Der Charakter der primär chronischen Myokardkrankungen ist hier im Wesentlichen bedingt durch eine relative Kontraindikation eines herzchirurgischen Eingriffs innerhalb der ersten Wochen nach einem Infaktereignis. Die Spannweite der verwendeten Zellarten ist hier größer als bei der intravaskulären Infusion und umfasst u.a. primär isolierte Knochenmarkstammzellen, mononukleäre Knochenmarkzellen, kultivierte mesenchymale Stammzellen und Skelettmyoblasten. Die Applikation erfolgt meist im Rahmen einer Herzoperation epikardial. Ein wesentlicher Vorteil dieser Methode ist die örtliche Orientierung und damit bessere Bolusplatzierung (z.B. Infarkttrandgebiet).

Weiterhin können Zellen interventionell über das Koronarsinussystem intramyokardial⁴² oder mittels eines spezifischen Injektionskatheters intraventrikulär endokardial appliziert werden³⁹.

1.2.2.b.4 Stammzellmobilisierung durch Zytokine (G-CSF)

Die Mobilisierung von Stammzellen aus dem Knochenmark in die Zirkulation durch Zytokine ist ein seit einigen Jahren bekannter und inzwischen vielfach untersuchter Effekt. Eins der am besten untersuchten Zytokine ist der Granulozyten-Kolonien stimulierende Faktor G-CSF. Aus der Erkenntnis, daß G-CSF u.a. nach Myokardischämie ausgeschüttet wird erwachsen zahlreiche Studien. So zeigten z.B. Experimente in Maus, Ratte und Schwein eine funktionelle Myokardverbesserung nach

experimentellem Infarkt⁴³⁻⁴⁶. Andere Studien hingegen ergaben weniger eindeutige Ergebnisse bzw. einen geringeren Einfluß von G-CSF auf die Herzfunktion^{47,48}. Als primäre Wirkmechanismen von G-CSF werden sowohl der mobilisierende Effekt auf Progenitorzellen (< 1%), als auch der stimulierende Einfluss auf Granulozyten und Monozyten (> 99%) diskutiert. Diese Leukozyten sind als wesentliche Effektoren bei der Regeneration von infarziertem Gewebe bekannt. So konnte im Kaninchenmodell nach G-CSF-Stimulation ein erhöhter Makrophageninflux und eine damit beschleunigte Abheilung und Verminderung der Infarktnarbe gezeigt werden. Allerdings bestehen bei der Therapie mit Zytokinen auch Sicherheitsbedenken auf Grund der unvermeidlichen hochgradigen Leukozytose und den damit verbundenen inflammatorischen Nebeneffekten und Re-Stenosen nach Stent-Applikation. In diesem Zusammenhang untersuchte die Rostocker FIRSTLINE-AMI Studie den Effekt von G-CSF an 50 Probanden mit STEMI nach Reperfusionstherapie. Im Verlauf konnte ein Anstieg von CD34+ Knochenmarkstammzellen und eine deutliche Steigerung der LVEF nachgewiesen werden. Unerwünschte Nebeneffekte wie Beeinträchtigung der rheologischen Eigenschaften, In-Stent-Stenosen, Entzündungsreaktionen oder linksventrikuläres Remodelling wurden nicht beobachtet⁴⁹⁻⁵¹.

I.2.2.b.5 Klinische Studien

Das Interesse an klinischen Studien auf dem Gebiet der myokardialen Stammzelltherapie hat in den letzten 7 Jahren stark zugenommen und insbesondere in Deutschland sind eine Fülle von Studien sowohl von kardiologischen als auch herzchirurgischen Gruppen durchgeführt worden. Die weltweit ersten Studien mit Knochenmarkstammzellen erfolgten in Deutschland bereits 2001, als in Rostock erstmalig aus dem Knochenmark isolierte Stammzellen bei einer Bypassoperation direkt in den infarzierten Herzmuskel transplantiert wurden⁴⁰. In einer Düsseldorfer Studie wurden erstmalig nach akutem Herzinfarkt Knochenmarkszellen in das Infarktgefäß intravasal über einen Herzkatheter injiziert³⁶. Die Sicherheit beider Techniken wurde inzwischen in klinischen Phase I- und II-Studien validiert und ist durch viele weitere Zentren überprüft und bestätigt worden^{43,50,52-54}.

I.2.3 Die Stammzellstudie der Rostocker Herzchirurgie

Eine Vielzahl durchgeführter Pilotstudien konnte bislang ermutigende⁵⁵ aber auch weniger eindrucksvolle²³ Ergebnisse in der myokardialen Stammzelltherapie hervorbringen. Besonders im Zusammenhang mit der intrakoronaren Applikation wurde eine Verbesserung der Herzfunktion festgestellt. Dieser Therapieansatz ist vornehmlich akuten Myokardinfarkten vorbehalten. Mit Blick auf bereits länger zurückliegende Herzinfarktgeschehen und damit verbundene manifeste Beeinträchtigungen von Herzmuskel und Hämodynamik wurde in Rostock 2001 eine Studie ins Leben gerufen, die besonders Patienten mit chronisch-ischämischer Herzerkrankung mit Herzinsuffizienz neue Therapieoptionen bieten könnte. Es startete eine erste klinische Phase I-Studie (Safety-Trial, eine Stammzellgruppe), der dann 2003 im Anschluss eine Phase II-Studie (Efficacy-Trial, eine Stammzell- und eine Kontrollgruppe) folgte. In beiden Studien wurden zum Zeitpunkt einer Bypassoperation autologe, gereinigte und aufbereitete CD133+ Stammzellen in die Infarkttrandbereiche injiziert.

Die vorliegende Arbeit wird sowohl die komplette Phase I als auch größtenteils Phase II im Kurz- und Langzeit-Follow Up darstellen. Sie wurde im März 2007 publiziert⁵⁶. In den Jahren 2003 und 2004 wurden bereits Phase I und II in Teilen veröffentlicht^{40,53}.

II. Studiendesign und Methodik

Die vorliegende Arbeit umfasst sowohl Phase I (retrospektiv) als auch Phase II (prospektiv) der Stammzellstudie der Klinik für Herzchirurgie der Universität Rostock. Für beide Phasen galten die gleichen Bedingungen im Hinblick auf Abbruchkriterien, Untersuchungs-, Follow Up- und Behandlungsverfahren. Bei der Patientenrekrutierung (Einschlußkriterien, Ausschlußkriterien) gab es im Verlauf der Studie zwischen Phase I und Phase II Veränderungen. Diese werden im jeweiligen Abschnitt detailliert dargestellt (s. II.3).

II.1 Patienten

In die Studie wurden stationäre Patienten der Klinik für Herzchirurgie eingeschlossen. Die Zuweisung der Patienten erfolgte in erster Linie durch die Abteilung für Kardiologie der Universitätsklinik Rostock sowie im weiteren durch die umliegenden Krankenhäuser und niedergelassenen Ärzte.

In Phase I wurden die Patienten ausschließlich in eine Stammzellverumgruppe rekrutiert. In Phase II wurde neben der Verum-Gruppe auch eine Kontrollgruppe geführt, die zwar eine Bypass-Operation aber intraoperativ keine Zellinjektion erhielt. Dementsprechend entfiel in der Kontrollgruppe auch die präoperative Zellgewinnung.

II.2 Aufklärung und Einverständniserklärung

Alle Patienten wurden zu Beginn über Ziel und Zweck der klinischen Studie ausführlich schriftlich und mündlich aufgeklärt. Bei Teilnahmebereitschaft gaben die Patienten ihre schriftliche Einwilligung (s. Anhang). Die Einwilligung konnte während der Studie jederzeit ohne Angabe von Gründen von den Probanden widerrufen werden. Die Patienten erhielten keinerlei Vergütung für ihre Teilnahme. Für alle Probanden wurde vor Studienbeginn eine zusätzliche Versicherung abgeschlossen. Sowohl Phase I als auch Phase II wurde von der Ethikkommission der Universität Rostock geprüft und genehmigt.

II.3 Studienkriterien

II.3.1 Einschlußkriterien

Vor Aufnahme in die Studie wurden alle Patienten auf ihre Probandentauglichkeit anhand der folgenden Kriterien überprüft:

- Koronare Herzerkrankung mit Indikation zur aortokoronaren Bypassoperation
- Eingeschränkte linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF ≤ 50) nach akutem Myokardinfarkt oder im Sinne einer ischämischen Cardiomyopathie

Phase I: Infarktalter > 10 Tage, < 3 Monate

Phase II: Infarktalter > 10 Tage

- Einwilligung des Patienten
- Alter > 18 Jahre

II.3.2 Ausschlußkriterien

- Notfalloperation
- Kombinationseingriff bei gleichzeitig vorliegendem Klappenvitium (nur Phase I, in Phase II wurden Vitien der Mitralklappe und somit Kombinationseingriffe akzeptiert)
- Wesentliche Nebenerkrankungen (z.B. neurologische Erkrankungen, terminale Niereninsuffizienz, Z.n. Organtransplantation)
- Maligne ventrikuläre Rhythmusstörungen in der Anamnese
- Eingeschränkte Einwilligungsfähigkeit
- Fehlende Einwilligung

II.3.3 Abbruchkriterien

Kriterien für den Abbruch der Studie und außerplanmäßige Zwischenauswertung sind:

- Statistisch nachweisbar vermehrte Komplikationen der CTC Klasse III (Nebenwirkungen gemäß CTC [Common Toxicity Criteria] Version 2.0 vom 30.04.1999, s. Tabelle 1 im Anhang)
- Abbruch bei Komplikationen Grad III oder IV bei 2/6 Patienten

II.4 Studienaufbau

II.4.1 Phase I

II.4.1.a Studiendesign

Phase I der Stammzellstudie wurde in Rostock im Zeitraum 07/2001 bis 05/2003 (22 Monate) mit 15 Patienten durchgeführt. Es handelte sich um eine Verträglichkeitsprüfung; es wurde keine Kontrollgruppe rekrutiert.

II.4.1.b Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS, Version 14.0. Quantitative Merkmale wurden durch die Angabe der Mittelwerte und Standardabweichungen beschrieben; für qualitative Parameter wurden absolute und prozentuale Häufigkeiten angegeben. Die Analyse des zeitlichen Verlaufs der Funktionsdaten (LVEF, LVEDD, LVEDV) erfolgte mittels des globalen nichtparametrischen Friedmann-Tests. Auf dem Signifikanzniveau von $P \leq 0,05$ wurde geprüft, ob Unterschiede existieren. Wenn dieser Test signifikante Unterschiede aufzeigte, wurde mittels Wilcoxon-Test auf paarweise Unterschiede getestet (Signifikanzniveau $P \leq 0,017$ nach Bonferroni-Korrektur).

II.4.2 Phase II

II.4.2.a Studiendesign

Phase II wurde als randomisierte, kontrollierte klinische Studie im Zeitraum 05/2003 bis 11/2005 (30 Monate) mit einer Stammzellgruppe C+ (20 Patienten, CABG mit Stammzelltransplantation) und einer Kontrollgruppe K (20 Patienten, CABG ohne Stammzelltransplantation) durchgeführt.

Die Zuteilung zu den Gruppen erfolgte primär nach einem computergestützten Randomisierungsplan, der mit Hilfe eines im Internet als Freeware zur Verfügung stehenden Programms basierend auf 100 Probanden mit 5 Untereinheiten entworfen wurde. Dieser Plan wurde für die ersten 12 Patienten beibehalten. Durch Engpässe bei der Zellpräparation aufgrund von begrenzter Verfügbarkeit des Hämatologie-Reinraums Klasse B wurde der Randomisierungsplan dahingehend geändert, daß Patienten in die Stammzellgruppe rekrutiert wurden, wenn der Reinraum für die Zellpräparation zur Verfügung stand. War dies nicht der Fall und war der Reinraum

belegt, wurde der Patient der Kontrollgruppe zugeordnet. Da die Belegung des Reinraums von der Studienleitung nicht beeinflusst werden konnte, kam es zur folgenden zufälligen Randomisierungssequenz: 0100001100111001000101010100101011110111 (0 = CABG, 1 = CABG + Stammzellen).

II.4.2.b Statistik

Basierend auf den Ergebnissen der Phase I wurde mittels Power Analyse eine Anzahl von 20 Patienten pro Gruppe errechnet, um einen relativen Unterschied der LVEF von 10% zwischen den einzelnen Gruppen nachweisen zu können (vorrausgesetzte Standardabweichung 8%, effect size = 1,25 / $\alpha = 0,05$ / $\beta = 0,2$ / version 6.0, nQuery Advisor, Statistical Solutions, Saugus, MA). Quantitative Merkmale wurden durch die Angabe der Mittelwerte und Standardabweichungen beschrieben; für qualitative Parameter wurden absolute und prozentuale Häufigkeiten angegeben. Innerhalb der Gruppen wurde mittels des nichtparametrischen Friedmann-Tests auf Unterschiede im zeitlichen Verlauf getestet ($P \leq 0,05$) und gegebenenfalls mittels des Wilcoxon-Tests ($P \leq 0,017$ Bonferroni-Korrektur) zwischen zwei Zeitpunkten die Signifikanz beurteilt. Zur Überprüfung der Normalverteilung der Parameter wurde der Kolmogoroff-Smirnoff-Test angewendet; die Bestimmung der Unterschiede zwischen den Gruppen (Stammzell- vs. Kontrollgruppe) erfolgte mittels t-Test für unabhängige Stichproben ($P \leq 0,05$). Die Übereinstimmung der LVEF aus Herzecho und Kardio-MRT wurde mit Hilfe der Bland-Altman-Methode geprüft⁵⁷. Zur Bestimmung negativer oder positiver Korrelation wurde der Koeffizient nach PEARSON berechnet.

II.4.3 Ablauf

Die Patienten wurden anhand der Einschlusskriterien ausgewählt und aufgeklärt. Bei Einwilligung wurden präoperativ Untersuchungen gemäß Protokoll durchgeführt:

1. Routineuntersuchungen (Labor, Ruhe EKG, Röntgen-Thorax)
2. Koronarangiographie
3. Transthorakale Echokardiographie in Ruhe (Kardio-MRT in Teilen der Phase II)
4. Thallium Perfusions-Szintigraphie (SPECT)
5. 24h Langzeit-EKG (Holter)

Am Tag vor der OP erfolgte bei der Stammzellgruppe C+ eine Knochenmarksentnahme aus dem Beckenkamm, bei der Kontrollgruppe wurde keine Punktion vorgenommen. Die Verumgruppe erhielt am OP-Tag die geplante Bypass-Versorgung und intraoperativ die Stammzellgabe in Infarkttrandbereiche (dys- oder akinetische bzw. minderperfundierte Areale). Postoperativ verblieben die Patienten für einen Tag auf der Intensivstation und wurden dann auf die Normalstation verlegt. Hier betrug die mittlere Aufenthaltsdauer für Patienten der Phase I 14 ± 3 Tage und für Patienten der Phase II 13 ± 3 Tage. An die Entlassung aus der stationären Pflege der Normalstation schloß sich eine mehrwöchige Reha-Maßnahme an.

Postoperativ wurden bei allen Patienten erneut die geforderten Untersuchungen durchgeführt:

1. Routineuntersuchungen (Labor, Ruhe EKG, Röntgen-Thorax)
2. Transthorakale Echokardiographie in Ruhe (Kardio-MRT in Teilen der Phase II)
3. Thallium Perfusions-Szintigraphie des Myokards (SPECT)
4. 24h Langzeit-EKG (Holter)

Die weiteren Follow Up-Untersuchungen fanden zu festgelegten Zeitpunkten statt (s. auch Tabelle 2 im Anhang):

1. 2 Wochen postoperativ, unmittelbar vor Entlassung (Untersuchung 1.-4.)
2. 6 Monate postoperativ (Untersuchung 2. und 3., Wiedereinbestellung der Patienten)
3. 1 Jahr postoperativ (Untersuchung 2. und 3., Wiedereinbestellung der Patienten)

Im Hinblick auf die primären und sekundären Zielparameter wurde als ausschlaggebender Follow Up-Termin die zweite Nachuntersuchung (6 Monate postoperativ) definiert. Bei Wiedereinbestellung erfolgten die Untersuchungen ambulant innerhalb eines Tages.

II.5 Untersuchungsparameter

Die Untersuchungsparameter wurden fachübergreifend erfasst und ausgewertet:

II.5.2 Echokardiographie

- Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent [%]
= primärer outcome Parameter
- Linksventrikulärer Enddiastolischer Diameter (LVEDD) in Millimetern [mm]
- Linksventrikuläres Enddiastolisches Volumen (LVEDV) in Millilitern [ml]
- Verkürzungsfraktion (FS) in Prozent [%]
- Akinesie (Messung der wall movement velocity) bzw. subjektive Einschätzung

II.5.3 Kardio-MRT

- Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent [%]

Die Messung der LVEF mittels MRT wurde im Verlauf der Phase II zusätzlich zur echokardiographischen Methode zu Kontrollzwecken eingeführt. Dabei sollten Faktoren wie Geräte- und Untersucherabweichungen minimiert und die echokardiographischen Messungen validiert werden.

II.5.4 Thallium Perfusions-Szintigraphie

- Kontrastmittelanreicherung farbcodiert
- Perfusionskoeffizient präoperativ zu postoperativ in absoluten Zahlen abweichend von 1 (präoperativ)

II.5.5 Holter-EKG

- Ventrikuläre und supraventrikuläre Extrasystolie, Tachyarrhythmia absoluta, Häufigkeit in Prozent [%]

II.5.6 Knochenmarkspunktion

- Zellzahl (CD133+ Zellen) in Millionen [Mio.] absolut

II.6 Gerätetechnik/Methoden

II.6.1 Echokardiographie

Die Echokardiographie wurde mit einem Philips SONOS 5500 durchgeführt. Untersucht wurde in Rücken- bzw. Linksseitenlage, die Darstellung erfolgte jeweils in langer und kurzer Achse, im apikalen 3-, 4- und 5 Kammerblick, in 2D-Projektion und mittels Farbdoppler. Die Ejektionsfraktion wurde mit der Simpsons-Methode berechnet. Hierbei wird bei verschiedenen Darstellungen der kurzen Achse der linke Ventrikel entlang der langen Achse in mehrere Scheiben von bestimmter Dicke und Durchmesser zerlegt und das Volumen jeder einzelnen Scheibe berechnet (Fläche x Dicke). Die Sitzungen wurden auf mobilen Datenträgern oder auf der internen Gerätefestplatte gespeichert. Die Untersuchungen wurden von 2 erfahrenen Mitarbeitern durchgeführt.

II.6.2 Kardio-MRT

Um Validität und Reproduzierbarkeit der echokardiographie-basierenden LVEF-Daten beurteilen zu können, wurde die Ejektionsfraktion bei einer Untergruppe von Probanden (n = 13) zusätzlich zu der Echokardiographie mittels Kardio-MRT überprüft. Die Durchführung erfolgte bei EKG-gesteuerten Sequenzen in einem 1,5 T Scanner (Siemens Avanto). Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion wurde über das linksventrikuläre enddiastolische und endsystolische Volumen errechnet (Cine True Fisp). Sequenz-Parameter waren: TR 40,05 ms, TE 1,3 ms, Flip Angle 80-65°, Matrix 192 x 156, Schichtdicke 8 mm, Gesichtsfeld 34-40 cm. Der linke Ventrikel wurde in kontinuierlich geschichteten short-axis-Schnitten dargestellt, welche anhand eines enddiastolischen, endexpiratorischen 4-Kammerblicks (Referenz) geplant wurden. Analyse und Interpretation erfolgten mittels Argus Software (Siemens) verblindet und ohne Kenntnis der bereits echokardiographisch ermittelten LVEF.

II.6.3 Thallium Perfusions-Szintigraphie

Die Myokardszintigraphie wurde in Ruhe mit 100 MBq Tl-201-Chlorid an einer Irix-3-Kopf-Kamera der Firma Philips durchgeführt. Die Rekonstruktion erfolgte unter Anwendung einer nichtuniformen, nichtlinearen Schwächungskorrektur (Beacon®).

Zur quantitativen Auswertung (Zirkumferenzmethode) wurde die relative Aktivitätsanreicherung im Infarktbereich vor und nach OP gemessen und der Koeffizient berechnet ($[C] \text{ Zeitpunkt X} / [C] \text{ präoperativ}$).

II.6.4 Knochenmarkspunktion

Am Tag vor der Operation wurden den Patienten, die eine Stammzelltransplantation erhalten sollten, in Lokalanästhesie unter sterilen Kautelen und unter Verwendung von heparingefüllten 20ml-Spritzen 100-200 ml Knochenmark aus dem Beckenkamm entnommen.

II.6.5 Zellpräparation

Nach der Punktion erfolgte die weitere Aufbereitung des Aspirats im GMP-Labor der Hämatologie (Klinik für Innere Medizin der Universität Rostock) unter sterilen Bedingungen in partikelreduzierter Umgebung (EuGMP Level B). Mononukleäre Zellen wurden mittels Ficoll Dichtezentrifugation isoliert und in einem Cobe 2991 Zellprozessor mit Phosphat-Puffer (PBS, Miltenyi Biotec) resuspendiert. Die Zellen wurden mehrfach zentrifugiert, vom Überstand getrennt, erneut mit PBS gewaschen und schließlich mit an hochmagnetische Eisenkristalle gekoppelten monoklonalen CD133-Antikörpern über 30 Minuten inkubiert. Nach weiteren Wasch- und Zentrifugierungsvorgängen wurde die finale Zellauftrennung mit dem CliniMACS Magnetic Cell Separation Device (Miltenyi Biotec) durchgeführt. Unter dem Einfluß eines starken Magnetfeldes wurden die mit dem Antikörper beladenen CD133+ Zellen im Inneren der Trennsäule zurückgehalten, nicht mit dem eisengekoppelten Antikörper beladene Zellen passierten das Magnetfeld und wurden verworfen. Nach mehrfachem Durchlauf der Suspension wurden die CD133+ Zellen schließlich bei deaktiviertem Magneten herausgespült. Die so erhaltene reine CD133+ Suspension wurde in vorsterilisierte 2 ml Behälter gefüllt und bei 4°C über Nacht gelagert.

Vor und nach jedem Präparationsschritt wurden anhand einer Probe Zellzahl und Sterilität überprüft. Um kompetitives Bindungsverhalten zwischen dem CD133+ Antikörper und dem Markierungs-Antikörper zur Zellzahlbestimmung zu vermeiden, wurden CD34-Antikörper zur Zellzählung verwendet.

Im Verlauf der Phase II konnte die Knochenmarkspunktion und Zellpräparation in den Operationsbereich verlegt werden. Hierbei wurde am Tag der Bypass-Operation den bereits narkotisierten Patienten das Knochenmark entnommen und während der laufenden Operation in einem im OP befindlichen CliniMACS Magnetic Cell Separation Device aufbereitet. Es wurde das von Ghodzisat et al. beschriebene Verfahren der intraoperativen CliniMACS Zellisolation ohne vorhergehende Dichtegradientenzentrifugation adaptiert⁵⁸.

II.6.6 Operation

Die aortokoronare Bypassoperation wurde mittels medianer Sternotomie, Anschluß an die Herz-Lungen-Maschine und kardioplegischem Herzstillstand durchgeführt. Zur Bypassversorgung wurde routinemäßig die linke A. mammaria interna präpariert und Teile der V. saphena magna aus dem Bein entnommen. Alternativ stand auch die A. radialis zur Verfügung. Bei bekannter oder intraoperativ mittels transösophagealer Echokardiographie festgestellter Mitralinsuffizienz Grad III oder höher wurde die Mitralklappe rekonstruiert bzw. eine Ring-Anuloplastie durchgeführt. Alle Koronarien mit kritischen Stenosen wurden bei Anschlussfähigkeit mit Bypässen versorgt. Nach Fertigstellung der Koronaranastomosen wurde die infarzierte Region dargestellt und die Infarkttrandbereiche mit 10 x 0,2 ml Zellsuspension injiziert. Fiel die Lokalisation von infarziertem Gewebe intraoperativ schwer, so erfolgte die Versorgung mit Zellen nach Möglichkeit in den Bereichen, die sich zuvor im Echo, im Herzkatheter und in der Myokardszintigraphie als hypo- bis akinetisch dargestellt hatten. Um einen Reflux der Stammzellsuspension aus dem Stichkanal zu verhindern, wurden die Einstichstellen kurzzeitig mit Stieltupfern komprimiert. Direkt im Anschluss wurde die Aortenklemme geöffnet und die Operation wie gewohnt zu Ende geführt. Patienten der Kontrollgruppe erhielten keine Zellen, es wurde auch keine Placeboinjektion vorgenommen. Nach erfolgter OP wurden alle Patienten auf der Intensivstation überwacht und nach 24h auf die Normalstation verlegt. Von dort wurden sie nach Abschluß der Routine- und studienspezifischen Untersuchungen ca. am 8. Tag auf die zuweisenden kardiologischen Stationen zurückverlegt oder nach ca. 12 Tagen in die Rehabilitation entlassen. Alle Patienten erhielten postoperativ als Standardmedikation ASS, β -Blocker, Statine und ACE-Hemmer.

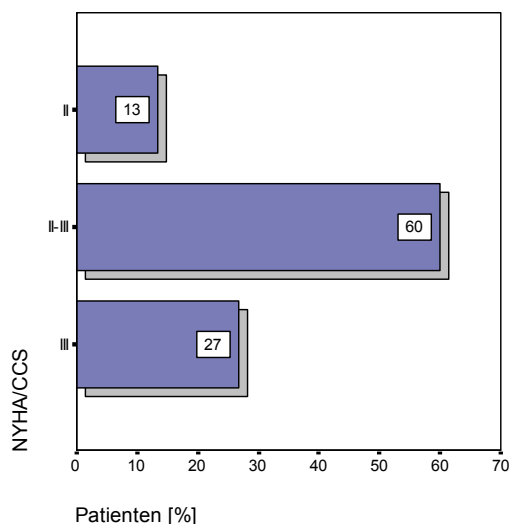
III. Ergebnisse

Sowohl für Phase I als auch für Phase II wurde die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) als primärer Zielparameter definiert. Sekundäre Parameter sind (1) Perfusion im Infarktreal, (2) LVEDV, (3) LVEDD und (4) Kinetikstörungen (wall movement velocity) des Myokards.

III.1 Phase I

III.1.1 Präoperativ

In Phase I wurden initial 19 männliche Patienten rekrutiert. Vier von ihnen wurden gemäß der Ausschlusskriterien wieder exkludiert, so daß 15 Patienten CABG + Zelltherapie erhielten und im Rahmen der Follow Up-Untersuchungen erfasst wurden.



Das Infarktalter lag zum Zeitpunkt der Operation im Mittel bei 7 ± 3 Wochen, das Alter der Patienten betrug im Mittel 65 ± 9 Jahre. Die durchschnittliche Dauer des stationären Krankenhausaufenthalts lag bei 14 Tagen. Die NYHA/CCS Einstufung stellte sich bei Aufnahme in die Klinik folgendermaßen dar:

II° = 13%, II-III° = 60%, III° = 27%.

Abb. 1: Verteilung der NYHA/CCS-Stadien bei Patienten der Phase I-Studie zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme. Angabe der relativen Häufigkeit in Prozent.

III.1.1.a Primärer Outcome-Parameter LVEF

Die präoperativ echokardiographisch festgestellte Ejektionsfraktion betrug im Mittel $39,5 \pm 8,6\%$.

III.1.1.b Sekundäre Parameter

Präoperativ stellten sich die Mittelwerte der Parameter wie folgt in der Echokardiographie dar: LVEDV $147 \pm 38,4$ ml, LVEDD $54,7 \pm 3,9$ mm. Bei 9 der 15 Patienten waren akinetische Areale in den Infarktbereichen nachweisbar, bei den restlichen 6 Patienten zeigten sich die betroffenen Wandbereiche hypokinetisch.

III.1.2 Intra- und früh postoperativ

Während der Operation erhielten je 5 Patienten 1 Mio. und 1,5 Mio. Zellen, die restlichen Probanden zwischen 2,5 Mio. und 6 Mio. Zellen (s. Abb. 2). Auf der Intensivstation erhielten die Patienten zur Stabilisierung der Hämodynamik 0-6 $\mu\text{g/kg/min}$ Dopamin und wurden im Mittel $6,8 \pm 2,3$ Std. beatmet.

In Tabelle 3 (s. Anhang) sind ausgewählte Parameter dargestellt, die in der unmittelbar postoperativen Phase erfaßt wurden. Bis zur Entlassung in die Reha-Klinik ist es bei keinem der 15 Patienten zu auffälligen Labor- oder EKG-Befunden im Sinne von Enzymerhöhungen bzw. relevanten Rhythmusstörungen gekommen. Es liegen keine CRP-Entgleisungen vor. Als Komplikationen traten Pneumonien, hämodynamisch irrelevante Perikardergüsse und nicht revisionsbedürftige Nachblutungen auf. Derartige Komplikationen treten auch nach routinemäßigen Herzoperationen nicht selten auf. Die Frühmortalitätsrate liegt bei 0%.

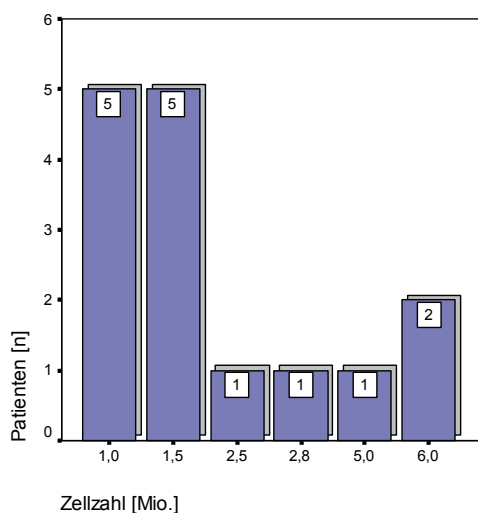


Abb. 2: Verteilung der Dosis CD133+-isolierter Zellen bei Patienten der Phase I-Studie.

III.1.3 Postoperativ

Das Follow Up der Phase I wurde bis Mai 2005 durchgeführt, dabei resultierte eine durchschnittliche Nachuntersuchungsdauer von $34,8 \pm 9,1$ Monaten. 14 der 15 Patienten konnten bis Studienabschluß an den Nachuntersuchungen teilnehmen. Ein Patient erschien nicht zum dritten Nachuntersuchungstermin. Initiale Nachfragen am Wohnsitz, beim Hausarzt und bei der zuweisenden Klinik erbrachten keine Informationen über seinen Verbleib, er wurde daher als „lost-to-follow-up“ klassifiziert. Spätere Nachforschungen ergaben, dass der Patient vermutlich aufgrund eines Apoplex verstarb, der keine Kausalität zur Stammzelltransplantation aufwies.

III.1.3.a Primärer Outcome-Parameter LVEF

Bis zur zweiten Nachuntersuchung konnte eine deutliche Steigerung der Ejektionsfraktion beobachtet werden, nach 12 Monaten hält sich die erreichte Verbesserung auf nahezu unverändertem Niveau.

- LVEF 1, 10 Tage p.o.: $46,9 \pm 6,8\%$ (Mittelwert), $P = 0,005$ (Wilcoxon-Test)
- LVEF 2, 6 Monate p.o.: $51,6 \pm 8,8\%$ (Mittelwert), $P = 0,006$ (Wilcoxon-Test)
- LVEF 3, 12 Monate p.o.: $50,1 \pm 6\%$ (Mittelwert), $P = 0,009$ (Wilcoxon-Test)

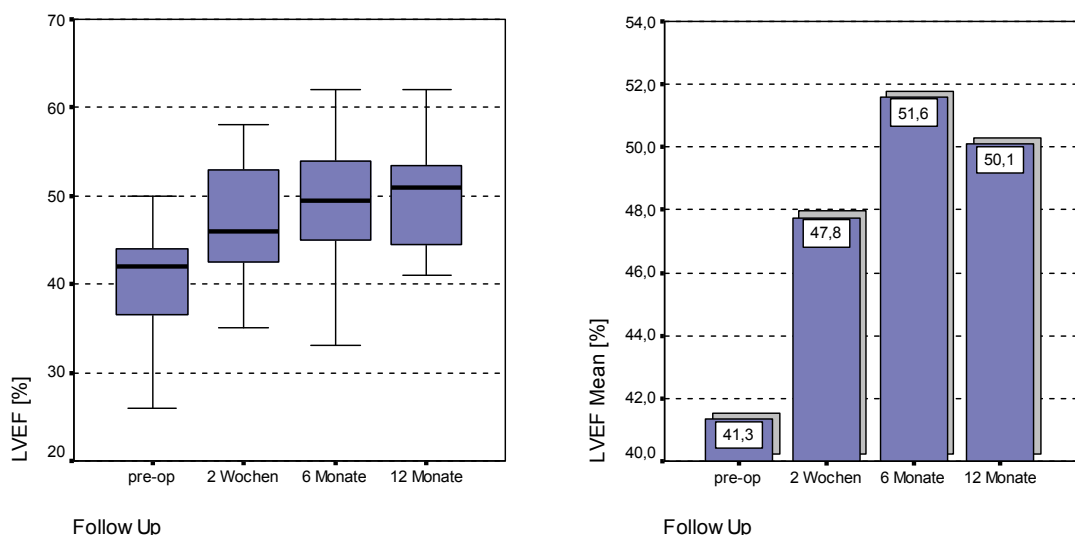


Abb. 3 und 4: Darstellung der LVEF von präoperativ bis 12 Monate postoperativ. Links: Boxplot-Graphik mit Darstellung von Minimum, unterem Quartil, Median, oberem Quartil und Maximum in Prozent sowie Streuung der zu Grunde gelegten Werte. Rechts: Balken-Diagramm mit Darstellung der LVEF-Mittelwerte in Prozent.

III.1.3.b Sekundäre Parameter

Bei dem enddiastolischen Volumen LVEDV konnte zwar eine deutliche Verbesserung gegenüber dem präoperativen Ergebnis gezeigt werden, eine dauerhafte signifikante Verbesserung bis > 12 Monate ließ sich jedoch nicht erreichen.

- LVEDV 1, 10 Tage p.o.: 123 ± 32 ml (Mittelwert), $P = 0,002$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDV 2, 6 Monate p.o.: 127 ± 29 ml (Mittelwert), $P = 0,075$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDV 3, 12 Monate p.o.: 128 ± 19 ml (Mittelwert), $P = 0,541$ (Wilcoxon-Test)

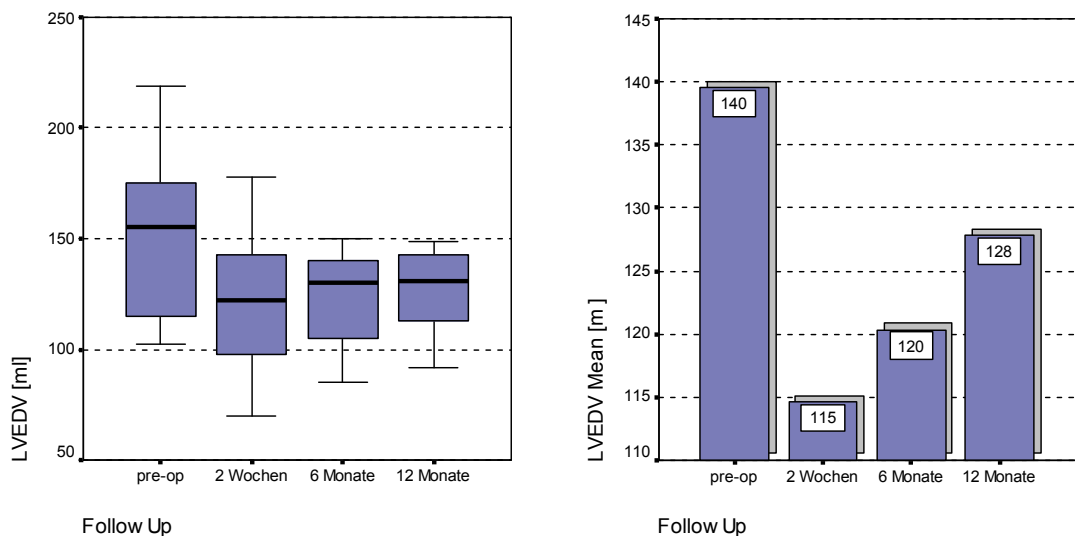


Abb. 5 und 6: Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Volumens über 4 Zeitpunkte von präoperativ bis 12 Monate postoperativ.

Im weiteren zeigte sich auch bei dem Enddiastolischen Diameter eine signifikante Verbesserung sowohl nach 2 Wochen als auch nach 6 Monaten.

- LVEDD 1, 10 Tage p.o.: $51,1 \pm 5,3$ mm (Mittelwert), $P = 0,033$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDD 2, 6 Monate p.o.: $52,8 \pm 3,6$ mm (Mittelwert), $P = 0,036$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDD 3, 12 Monate p.o.: $53,2 \pm 2,7$ mm (Mittelwert), $P = 0,138$ (Wilcoxon-Test)

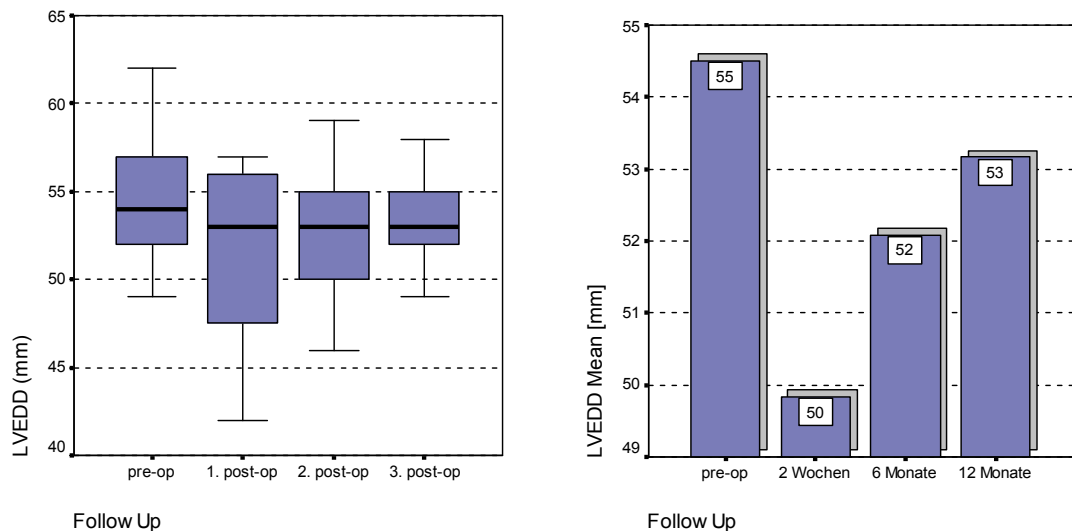


Abb. 7 und 8: Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Diameters über 4 Zeitpunkte von präoperativ bis 12 Monate postoperativ.

Die mittels Thallium SPECT Untersuchung evaluierte Myokardperfusion konnte als Quotient „postoperativ-zu-präoperativ“ gemessen und dargestellt werden. Hier zeigte sich bei 13 Patienten in Arealen, die sich präoperativ als niedrig bis gar nicht perfundiert präsentierten und daraufhin intraoperativ mit Zellen injiziert wurden, eine verbesserte Durchblutung. Die mittlere Perfusionsrate nach CABG und Stammzellinjektion stieg auf 1,14 nach 2 Wochen ($P = 0,002$), 1,18 nach 6 ($P = 0,005$) und 1,21 nach 12 Monaten ($P = 0,05$).

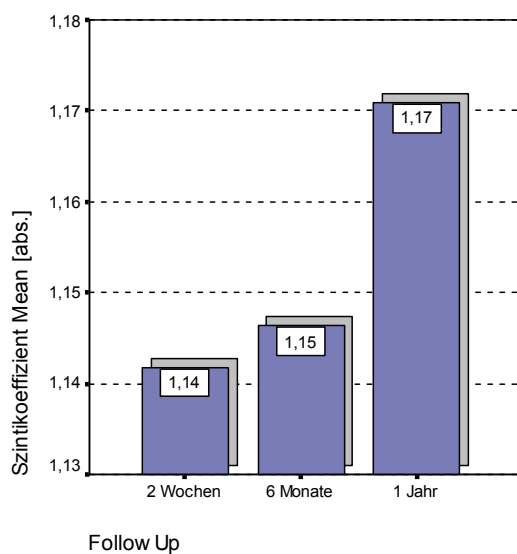


Abb. 9: Entwicklung der Myokardperfusion im Zeitraum von 2 Wochen p.o. bis 12 Monate p.o. als Szintigrafiekoeffizient.

III.2 Phase II

III.2.1 Allgemein

In Phase II wurden 40 Patienten rekrutiert (31 männliche und 9 weibliche Probanden). Dabei sind je 20 Patienten der Stammzellgruppe C+ und der Kontrollgruppe K zugeteilt. Das Infarktalter lag zum Zeitpunkt der Operation im Mittel bei 166 Wochen, das Alter der Patienten betrug 63 ± 9 Jahre. Die Dauer des Krankenhausaufenthaltes belief sich im Durchschnitt auf 13 Tage.

Die NYHA/CCS Klassifizierung stellte sich bei Aufnahme in der Klinik folgendermaßen dar: II° = 8%, II-III° = 75%, III° = 18%.

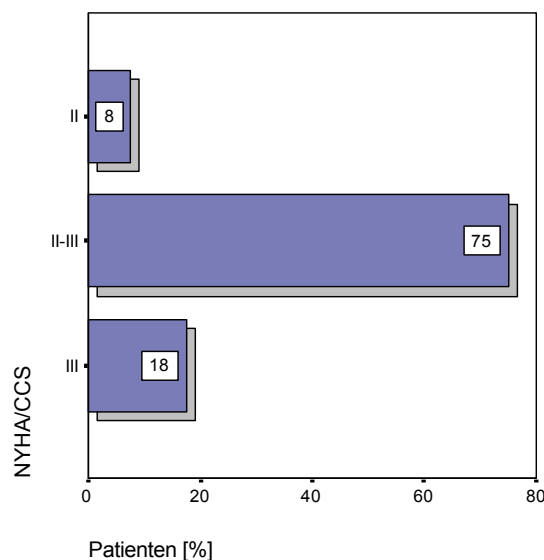


Abb. 10: Verteilung der NYHA/CCS-Stadien in Phase II bei Aufnahme

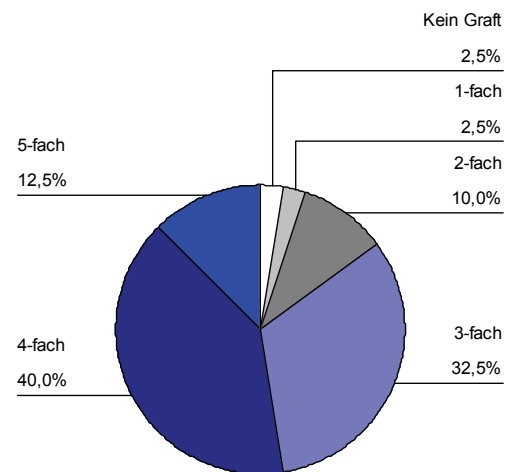


Abb. 11: Bypass-Graft-Verteilung, Phase II

Der überwiegende Anteil der Patienten wurde im Rahmen der Indikationsstellung mit 3 bzw. 4 Bypass-Grafts versorgt. Eine kleinere Gruppe erhielt 5 koronare Bypässe. Eine Patientin erhielt keine Bypassoperation. Sie bekam aufgrund einer hochgradigen Mitralinsuffizienz bei Z.n. ausgedehntem Vorderwandinfarkt mit interventioneller Akutrevaskularisation einen Mitralklappenersatz und wurde aufgrund ihrer deutlich reduzierten LVEF in die Studie aufgenommen. Sie erhielt CD133+ Zellen in akinetische Myokardareale.

Initial wurden in der Phase II 51 Patienten in die Studie eingeschlossen. Von diesen wurden 8 exkludiert (Ausschlußkriterien n=3, Verweigerung der Teilnahme n=3, einsetzende instabile Angina pectoris n=2). In der Stammzellgruppe waren 22 Patienten für CABG + Zelltherapie vorgesehen, davon erhielten 21 die geplante OP, bei einem Patienten konnte eine Zellinjektion aufgrund von Keimnachweis im primären Knochenmarkaspirat nicht durchgeführt werden. In der Kontrollgruppe waren 21 Patienten zur CABG-OP vorgesehen. Alle wurden wie geplant operiert. Im Rahmen der Follow Up-Untersuchungen wurde in der Stammzellgruppe ein Patient aufgrund einer tiefen Infektion der Sternotomiewunde exkludiert, in der Kontrollgruppe verweigerte ein Patient weitere Nachuntersuchungen. Zur Analyse standen am Ende 40 Patienten (20 in jeder Gruppe) zur Verfügung.

Zwei Patienten aus der Phase II sind im Verlauf an ihrer kardiovaskulären Grunderkrankung verstorben (Spätmortalität, Todesereignis > 6 Monate p.o.) Ansonsten wurden keine weiteren Komplikationen (Tod, Myokardinfarkt, Re-Interventionen) beobachtet.

III.2.2 Statistik nach Gruppen

III.2.2.a präoperativ

Stammzellgruppe: Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion LVEF betrug präoperativ im Mittel $37,4 \pm 8,4\%$. Sekundäre echokardiographisch ermittelte Zielparameter stellten sich wie folgt dar: LVEDV $153 \pm 27,6$ ml, LVEDD $57,1 \pm 5,4$ mm, bei 16 Patienten zeigten sich akinetische und bei 4 der Patienten hypokinetische Myokardareale.

Kontrollgruppe: LVEF $37,9 \pm 10,3 \%$, LVEDV $153 \pm 35,1$ ml, LVEDD $58,9 \pm 6,3$ mm, bei 14 Patienten zeigten sich akinetische, bei 6 Patienten hypokinetische Myokardareale.

III.2.2.b Intra- und früh postoperativ

Die Menge an aus dem Beckenkamm gewonnenem Knochenmark lag zwischen 91 ml und 265 ml (Mittelwert 156 ml). Im Mittel fanden sich 2,95 Mrd. CD34+ Zellen. Nach Selektion betrug die Zellzahl der AC133+ Zellen zwischen 1,2 und 10 Mio. (Mittelwert 5,80 Mio.), in einem Einzelfall wurden 80 Mio. Zellen isoliert (Purity im Mittel 75,8%, Recovery 18,3%).

Bei der Kontrollgruppe wurde nur die Bypass-Operation durchgeführt, es wurden keine Stammzellen injiziert. Auf der Intensivstation erhielten die Patienten in beiden Gruppen nach individuellen Bedürfnissen 0-6 µg/kg/min Dopamin und wurden im Mittel 6 Std. beatmet.

Unmittelbar postoperativ kam es in der Stammzellgruppe bei 6 der 20 Patienten zu rhythmologischen Komplikationen im Sinne einer Tachyarrhythmia absoluta, die größtenteils bis zur Entlassung in die Anschlußheilbehandlung medikamentös beherrscht wurde. Gleiches war in der Kontrollgruppe bei 5 Patienten zu beobachten. Bei den übrigen Patienten wurden keine weiteren Komplikationen dokumentiert.

III.2.2.c Follow-Up postoperativ

Das Follow-Up der Phase II wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit bis November 2005 durchgeführt (mittlere Nachuntersuchungsdauer 17 Monate).

III.2.2.c.1 Primärer Outcome-Parameter LVEF

Stammzellgruppe:

- LVEF 1, 10 Tage p.o.: $39,2 \pm 11,1\%$ (Mittelwert), $P = 0,462$ (Wilcoxon-Test)
- LVEF 2, 6 Monate p.o.: $47,1 \pm 8,3\%$ (Mittelwert), $P = 0,0001$ (Wilcoxon-Test)
- LVEF 3, 12 Monate p.o.: $46,2 \pm 6,1\%$ (Mittelwert), $P = 0,284$ (Wilcoxon-Test)

Zum maßgeblichen Follow-Up Zeitpunkt 2 (6 Monate p.o.) ist die LVEF hochsignifikant verbessert ($P = 0,0001$).

Kontrollgruppe:

- LVEF 1, 10 Tage p.o.: $41,2 \pm 10,5\%$ (Mittelwert), $P = 0,076$ (Wilcoxon-Test)
- LVEF 2, 6 Monate p.o.: $41,3 \pm 9,1\%$ (Mittelwert), $P = 0,015$ (Wilcoxon-Test)
- LVEF 3, 12 Monate p.o.: $43,8 \pm 8,3\%$ (Mittelwert), $P = 0,476$ (Wilcoxon-Test)

Auch hier ist die LVEF im Vergleich bei der 2. Nachuntersuchung signifikant verbessert ($P = 0,015$).

III.2.2.c.2 Sekundäre Outcome-Parameter

Stammzellgruppe:

- LVEDV 1, 10 Tage p.o.: 145 ± 37 ml (Mittelwert), $P = 0,070$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDV 2, 6 Monate p.o.: 142 ± 42 ml (Mittelwert), $P = 0,234$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDV 3, 12 Monate p.o.: 140 ± 5 ml (Mittelwert), $P = 0,575$ (Wilcoxon-Test)

- LVEDD 1, 10 Tage p.o.: $56,0 \pm 6,1$ mm (Mittelwert), $P = 0,087$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDD 2, 6 Monate p.o.: $54,5 \pm 7,0$ mm (Mittelwert), $P = 0,031$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDD 3, 12 Monate p.o.: $55,7 \pm 7,6$ mm (Mittelwert), $P = 0,646$ (Wilcoxon-Test)

Der linksventrikuläre enddiastolische Diameter hat sich vom Ausgangspunkt präoperativ bis 6 Monate postoperativ verbessert bzw. verkleinert ($P = 0,031$).

Der Szintigraphie-Koeffizient steigt von absolut 1,00 präoperativ auf 1,01 nach 2 Wochen und 1,06 nach 6 Monaten.

Kontrollgruppe:

- LVEDV 1, 10 Tage p.o.: $157 \pm 34,7$ ml (Mittelwert), $P = 0,410$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDV 2, 6 Monate p.o.: $149 \pm 34,5$ ml (Mittelwert), $P = 0,382$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDV 3, 12 Monate p.o.: $106 \pm 62,5$ ml (Mittelwert), $P = 0,028$ (Wilcoxon-Test)

- LVEDD 1, 10 Tage p.o.: $56,4 \pm 9,2$ mm (Mittelwert), $P = 0,002$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDD 2, 6 Monate p.o.: $57,0 \pm 5,1$ mm (Mittelwert), $P = 0,041$ (Wilcoxon-Test)
- LVEDD 3, 12 Monate p.o.: $56,6 \pm 29,9$ mm (Mittelwert), $P = 0,444$ (Wilcoxon-Test)

Auch hier kam es postoperativ zu einer signifikanten Reduktion und damit Verbesserung des enddiastolischen Diameters (2 Wochen Postoperativ: $P = 0,002$, 6 Monate postoperativ: $P = 0,041$).

Der Szintigraphie-Koeffizient steigt von absolut 1,00 präoperativ auf 1,01 nach 2 Wochen, fällt aber nach 6 Monaten wieder zurück auf das Ausgangsniveau von 1,00.

III.2.3 Vergleichende Statistik

III.2.3.a Primärer Outcome-Parameter LVEF

Die durchschnittliche LVEF stieg in der Stammzellgruppe von $37,4 \pm 8,4\%$ präoperativ auf $47,1 \pm 8,3\%$ zum Zeitzeitpunkt 6 Monate postoperativ ($P = 0,0001$). Bei der Kontrollgruppe wurde ein Anstieg von $37,9 \pm 10,3\%$ auf $41,3 \pm 9,1\%$ ($P = 0,015$) verzeichnet. Im direkten Vergleich der mittleren LVEF zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt 6 Monate postoperativ mittels t-Test betrug der P-Wert 0,042.

Unter der Prämisse, daß die Irrtumswahrscheinlichkeit wie vorgegeben $<5\%$ betragen soll kann die Nullhypothese (= kein Unterschied zwischen beiden Gruppen) abgelehnt werden. Dies impliziert, daß die moderate Verbesserung der LVEF bei CABG mit CD133+ Stammzellinjektion gegenüber einer alleinigen Bypass-Operation nicht zufällig ist.

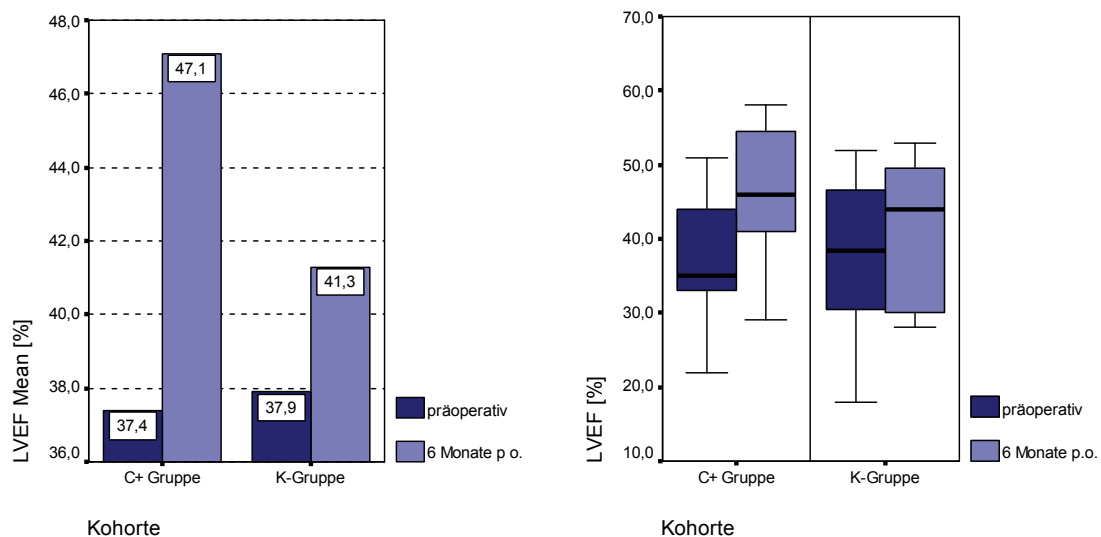


Abb. 12 und 13: Gruppenvergleich der LVEF zu den Zeitpunkten präoperativ und 6 Monate postoperativ. Links: Balkendiagramm mit Darstellung der LVEF-Mittelwerte in Prozent. Rechts: Boxplot-Graphik, Angaben in Prozent.

Die durchschnittliche Verbesserung der LVEF betrug in der Stammzell-Gruppe $+9,7 \pm 8,8\%$ versus $+3,4 \pm 5,5\%$ in der Kontrollgruppe (t-Test $P = 0,02$). Der Unterschied zwischen den Gruppen betrug zum Zeitpunkt 6 Monate postoperativ im Mittel 6,3%.

Am Zeitpunkt 12 Monate postoperativ ergaben die am Ende der Phase II zur Verfügung stehenden Daten keinen signifikanten Unterschied zwischen der Stammzellgruppe und der Kontrollgruppe ($46,2 \pm 6,1\%$ versus $47,1 \pm 8,3\%$, t-Test $P = 0,716$).

III.2.3.b Sekundäre Outcome-Parameter

Das durchschnittliche LVEDV fiel in der Stammzellgruppe von $153 \pm 27,6$ ml präoperativ auf $143 \pm 42,2$ ml zum Zielzeitpunkt 6 Monate postoperativ ($P = 0,23$) und der LVEDD von $57,1 \pm 5,4$ mm auf $55,0 \pm 7,0$ mm ($P = 0,031$).

Bei der Kontrollgruppe wurde ein Abfall des LVEDV von $153 \pm 35,1$ ml auf $149 \pm 35,0$ ml ($P = 0,41$) und des LVEDD von $58,9 \pm 6,3$ mm auf $57,0 \pm 5,1$ mm ($P = 0,38$) verzeichnet.

Im direkten Vergleich von LVEDD und LVEDV zwischen den Gruppen konnte keine signifikante Verbesserung für die Gruppe „Bypass + Stammzellinjektion“ gezeigt werden.

Mit Blick auf die myokardiale Perfusion in der „area-of-interest“ konnte zum Zeitpunkt 6 Monate postoperativ bei 11 Patienten aus der Stammzellgruppe eine verbesserte Perfusion dargestellt werden, gleiches gelang in der Kontrollgruppe bei 4 Patienten ($P < 0,05$). Die Perfusionsverbesserung in präoperativ hypo- bis akinetischen Arealen war in der Stammzell-Gruppe moderat ausgeprägter (mittlerer Koeffizient = 1,02,

präoperativ definiert als 1) als in der Kontrollgruppe (mittlerer Koeffizient = 0,95).

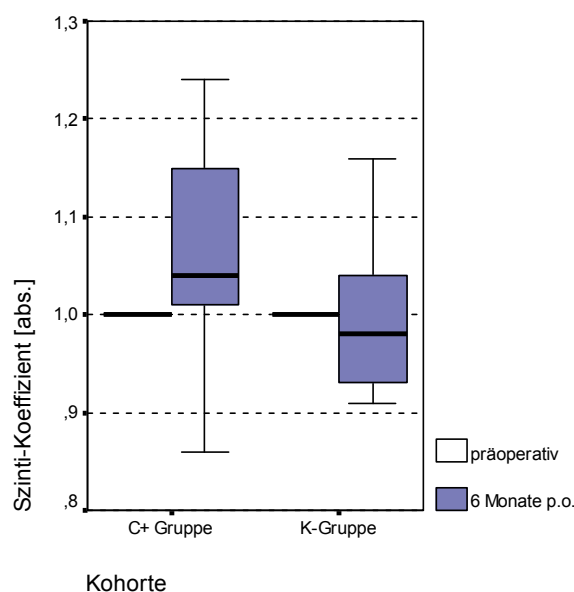


Abb. 14: Boxplot-Graphik mit Gruppenvergleich der Szintigraphie-Koeffizienten, Angabe in absoluten Zahlen. Für jede Gruppe ist der Ausgangswert (präoperativ, per definitionem = 1,0) und der Boxplot für den Zeitpunkt „6 Monate postoperativ“ dargestellt.

III.2.3.c Allgemein

Es konnten in beiden Gruppen keine Zusammenhänge zwischen dem OP-Benefit (Definiert als Verbesserung der LVEF) und Patientenalter, Zellmenge oder Infarkt-OP-Intervall nachgewiesen werden. Die einzige moderat-positive Korrelation zeigt sich im prä- und postoperativen Verlauf der linksventrikulären Ejektionsfraktion bei „CABG + CD133+ Zelltransplantation“ (Pearson $r = -0,53$ / $\alpha = 0,15$ / $n = 20$). Je niedriger die präoperative LVEF lag, desto stärker war der postoperative LVEF-Anstieg und damit der Therapiebenefit (LVEF präoperativ $< 35\%$ vs. $> 35\%$), d.h. Patienten mit einer präoperativen LVEF $< 35\%$ profitierten von der Stammzelltherapie am meisten.

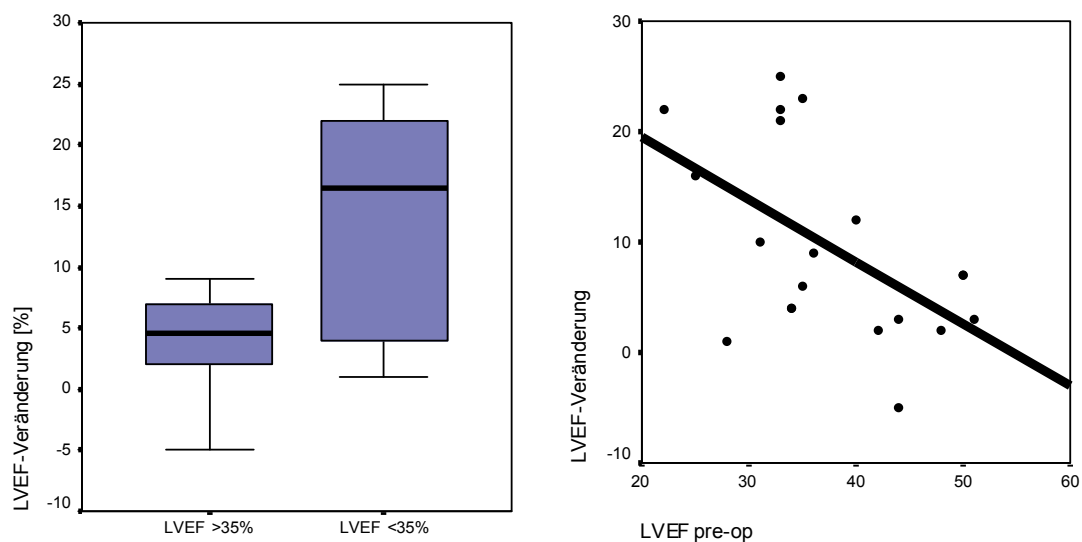


Abb. 15: A) Boxplot-Graphik zum Vergleich der postoperativen LVEF-Verbesserung bei Patienten mit präoperativer LVEF $>35\%$ und $<35\%$. B) Darstellung der Korrelation von präoperativer Pumpleistung und postoperativer LVEF-Veränderung als Scatterplot-graphik.

III.2.4 Kardio-MRT

Bei 13 separaten Patienten mit ischämischer Herzerkrankung und erniedrigter Pumpfunktion ($\text{LVEF } 31 \pm 5\%$) wurde die Ejektionsfraktion sowohl mittels Echokardiographie als auch im Kardio-MRT bestimmt. Es konnte eine signifikante positive lineare Korrelation zwischen $\text{LVEF}_{[\text{Echo}]}$ und $\text{LVEF}_{[\text{MRT}]}$ ($r^2 = 0,84$ / $P < 0,001$) gezeigt werden. Demnach liegt die im Kardio-MRT gemessene LVEF im Durchschnitt 2,8% höher als die in der Echokardiographie gemessene.

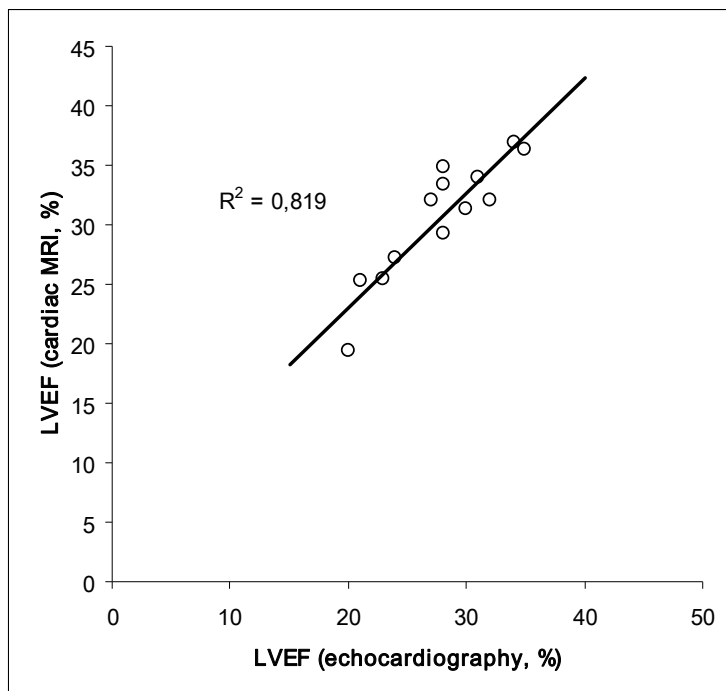


Abb. 16: Scatterplotgraphik mit Regressionsgeraden zur Darstellung der Korrelation von mittels MRT und Echokardiographie gemessenen LVEF-Werten.

IV. Diskussion

IV.1 Überblick

In der vorliegenden Arbeit wurde im Rahmen einer Phase I- und einer Phase II-Studie geprüft, welchen Effekt die intraoperativ-intramuskardiale Injektion von autologen CD133+ Knochenmarkszellen auf die Herzleistung bei Patienten mit chronisch ischämischer Herzerkrankung hat.

In der initialen Phase I Studie (Safety-Trial) wurden über einen Zeitraum von 4 Jahren keine transplantationsbezogenen Komplikationen beobachtet. Nachdem anfänglich sechs Patienten behandelt worden waren und sich ermutigende Ergebnisse zeigten, wurde die Gruppengröße auf 15 Probanden erhöht. Es konnte eine deutliche Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion (LVEF) nach CABG + Stammzelltransplantation beobachtet werden (LVEF präoperativ $39,5 \pm 8,6\%$ zu 6 Monate postoperativ $51,6 \pm 8,8\%$ = $P < 0,05$). Da der Studienaufbau der Phase I noch keine Differenzierung zwischen dem Effekt der Bypass-Operation und einem potentiellen Effekt der Stammzelltransplantation ermöglicht, wurde eine Phase II-Studie (Efficacy-Trial) mit 40 Patienten gestartet. Hier konnte gezeigt werden, daß die LVEF zum Zeitpunkt 6 Monate postoperativ in der Stammzellgruppe moderat aber signifikant höher als in der Kontrollgruppe war (LVEF_{C+ Gruppe} 6 Monate p.o. $47,1 \pm 8,3\%$, LVEF_{K- Gruppe} 6 Monate p.o. $41,3 \pm 9,1\%$). Die Resultate lassen den Schluß zu, daß zum mittelfristigen Zeitpunkt 6 Monate postoperativ aus der Therapiekombination CABG + Stammzelltransplantation eine bessere Herzfunktion im Sinne einer LVEF-Erhöhung resultiert als aus der alleinigen Bypass-Operation.

Ebenfalls besser als in der Kontrollgruppe war in der Phase II die mittels SPECT-Myokardszintigraphie gemessene Myokardperfusion in der Stammzellgruppe.

IV.2 Aktueller Wissensstand

Der Bereich der myokardialen Zelltherapie ist einer der derzeit am stärksten wachsenden in der gegenwärtigen Stammzellforschung. Durch eine rasche Weiterentwicklung steht die Technologie zur Gewinnung von adulten Progenitorzellen aus Knochenmark und peripherem Blut bereits zur klinischen Anwendung zur Verfügung, aber die Ergebnisse der bisherigen Studien lassen noch keinen eindeutigen Schluß im Hinblick auf genaue Wirkmechanismen der Stammzelltherapie zu^{23,28,29}.

So konnten einige Gruppen auch ohne Nachweis einer kardiomyozytären Differenzierung primär hamätopoetischer Stammzellen im Tiermodell eine verbesserte Herzfunktion nachweisen^{39,55}. Häufig wurden in Klein- und Großtiermodellen in diesem Zusammenhang für verschiedene Zelltypen eine deutliche Neomikrovaskularisation im Sinne einer Neoangiogenese beobachtet^{48,59-62}.

Nach wegbereitenden experimentellen Studien von Murry et al.⁶³ und Orlic et al.^{28,43,64} wurden mittlerweile auch große klinische Multicenter-Untersuchungen wie die TOPCARE-AMI- oder die BOOST-Studie^{52,65} durchgeführt. Selbst die Transplantation von gemischten Knochenmarkszellen ohne nähere Spezifizierung resultierte in einer verbesserten Herzfunktion⁶⁶. Assmus et al.⁶⁷ präsentierten im September 2006 die Daten ihrer vergleichenden Studie zur Wirkung von intrakoronar verabreichten Stammzellen aus dem peripherem Blut und solchen aus dem Knochenmark. Es konnte ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen nachgewiesen werden. So erzielte die Gruppe, die Knochenmarkstammzellen injiziert bekommen hatte ein deutlich besseres Endergebnis nach 3 Monaten als die Gruppe mit Stammzellen aus der Peripherie ($P = 0,003$) und eine hochsignifikante Verbesserung gegenüber der Kontrollgruppe. Nach diesen Ergebnissen ist es von Relevanz für den Behandlungserfolg, ob man für eine Stammzelltherapie Zellen aus dem Knochenmark oder aus der Peripherie gewinnt. Zellen des Knochenmarks weisen anscheinend nach wie vor eine höhere Potenz zur kardialen Regeneration auf als Zellen, die ihre ursprüngliche Bildungsstätte einmal verlassen haben und in der Blutbahn zirkulieren. In einer nationalen Multicenterstudie der gleichen Gruppe (REPAIR-AMI) an 2004 Patienten mit akutem Herzinfarkt wurde in der mit mononukleären Knochenmarkszellen behandelten Gruppe eine Steigerung der mittleren LEVF von $5.5 \pm 7.3\%$ beobachtet⁶⁸. Diese betrug $3.0 \pm 6.5\%$ in der Placebo-behandelten Kontrollgruppe ($P=0,01$). Die statistische Analyse erlaubt die Schlussfolgerung, daß dieser Unterschied nicht zufällig ist. Es ist jedoch fraglich, ob der geringe Unterschied der Kontraktilität zu fassbaren Unterschieden in Beschwerdebild und Krankheitsverlauf führt.

Doch nicht alle Studien haben positive Effekte der Knochenmarkstammzellen auf die Myokardregeneration nachweisen können. Lunde et al.⁶⁹ applizierten knapp 50 Patienten im Rahmen einer Herzkatheterintervention nach Myokardinfarkt intrakoronar nicht näher selektierte mononukleäre Zellen aus dem Knochenmark und verglichen sie mit einer Kontrollgruppe. Als primärer Outcome-Parameter wurde die LVEF mittels SPECT, Echokardiographie und Kardio-MRT gemessen. Nach 6 Monaten zeigten sich

zwischen den Gruppen keine Unterschiede ($P = 0,70$). Diese wichtigen Studienergebnisse weisen darauf hin, daß die Stammzelltherapie nicht für eine Breitspektrumbehandlung geeignet ist, sondern differenziert und sehr gezielt eingesetzt werden muß, damit für den Therapieerfolg wichtige Vorgänge bzw. Begleitumstände nicht übersehen werden. So wird z.B. bislang weiterhin kontrovers diskutiert, ob eine besonders hohe Reinheit der Zellen, besonders viele Zellen, eine Mischung aus beidem oder gar eine Mischung verschiedener Zellen den größten Erfolg versprechen.

Verschiedene Studien beschäftigten sich mit der Frage, inwiefern eine kardiomyozytäre Neogenese aus Progenitorzellen möglich ist. Hier lassen sich noch keine eindeutigen Rückschlüsse ziehen. Einige Gruppen beschrieben bereits die Differenzierung von mesenchymalen und hämopoetischen Vorläuferzellen in Kardiomyozyten^{61,70-72}, bei anderen ließ sich dies nicht bestätigen^{23,47}. Nur in wenigen Studien konnte bislang für die Effekte der Neoangiogenese und Kardiomyogenese ein und dieselbe Progenitorzellpopulation verantwortlich gemacht werden^{61,73}.

Betrachtet man nur den Effekt der Funktionsverbesserung des Herzens, konnte eine Vielzahl von Studien bereits positive Ergebnisse nachweisen. So zeigten Kamihata et al.³⁸, Olivares et al.⁷⁴ und Lin et al.⁷⁵ in Tiermodellen eine Verbesserung der Pumpleistung und der Perfusion nach Injektion von mononukleären Knochenmarkstammzellen. Der Nachweis kardiomyozytärer Differenzierung gelang aber nicht. Andere Gruppen^{36,76} verwendeten mononukleäre Knochenmarkzellen in klinischen Studien und konnten ebenfalls eine Verbesserung der myokardialen Pumpleistung und Perfusion im Infarktareal nachweisen. Wenig maßgeblichen Einfluß hatte hierbei offenbar die Wahl der Zellen anhand ihrer Oberflächenmarker. In der hier beschriebenen Studie der Rostocker Herzchirurgie^{40,53} konnten mit CD133+ Zellen ebenso wie bei Leone et al.⁷⁷ und Patel et al.⁵⁴ mit CD34+ Zellen gute Ergebnisse im Sinne einer deutlich gesteigerten Pumpleistung und Myokardperfusion bis 6 Monate post injektionem erzielt werden.

Weiterhin wurden in Studien auch mesenchymale Knochenmarkstammzellen^{78,79} und Skelettmyoblasten⁸⁰ verwendet, wobei bei beiden eine gewisse Verbesserung der Pumpleistung (primär Myoblasten) und Perfusion (primär mesenchymale Zellen) erreicht werden konnte. Einige Gruppen versuchten, Unterschiede zwischen den einzelnen Zellen im direkten Vergleich zu erforschen. Kamihata et al.⁸¹ verglichen am Schweineherzen mononukleäre Zellen des Knochenmarks mit denen des peripheren

Blutes und zeigten, daß die peripheren Zellen weniger Einfluß auf Remodelling-Prozesse im Herzen oder auf die Pumpleistung haben, dafür aber gutes Potential zur Angiogenese besitzen.

Um eventuelle Unterschiede bei der Wahl der Applikationsart zu erfassen, verabreichten Barbash et al.⁸² im Rattenmodell mesenchymale Knochenmarkstammzellen systemisch und lokal direkt in den linken Ventrikel und fanden heraus, daß bei systemischer Applikation das Gros der Zellen in der Lunge hängen bleibt und so nicht bis an seinen Zielort gelangen kann.

Eine weitere im Rahmen der myokardialen Zelltherapie untersuchte Zellpopulation sind die Skelettmyoblasten. Verschiedene Studien belegen den positiven Effekt dieser Zellgruppe auf den geschädigten Herzmuskel^{63,83-88}. Die Zellgewinnung gilt hier als einfach und schnell⁸⁹. Im direkten Vergleich scheinen die Skelettmyoblasten den mesenchymalen Stammzellen im Hinblick auf die Funktionsverbesserung überlegen⁹⁰, eine verbesserte Wirksamkeit gegenüber hämatopoetischen Knochenmarkstammzellen (z.B. CD34+, CD133+) konnte jedoch nicht nachgewiesen werden^{91,92}. Zu bedenken sind bei der Myoblastentherapie das nicht unerhebliche Risiko für ventrikuläre Arrhythmien⁸⁵. Im Hinblick auf die Wirksamkeit bzw. das Gefahrenpotential der Myoblastentherapie wurde die europäische Multicenter-Studie MAGIC (Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy) unter der Leitung von Philippe Menasché, Paris, initiiert. Es handelte sich um eine randomisierte, placebokontrollierte Phase II-Studie mit 97 Patienten verteilt auf 3 Gruppen (Highdose, Lowdose, Placebo). Während einer Bypass-Operation bekamen die Patienten autologe Skelettmyoblasten in Infarkttrandbereiche injiziert, die Placebogruppe erhielt lediglich inaktive autologe Zellen. Die im November 2006 veröffentlichten Daten zeigten keine signifikante Verbesserung der LVEF in den Zellgruppen gegenüber der Placebogruppe. Lediglich in einer Untergruppe von knapp 50 Probanden konnte mittels Koronarangiographie eine gesteigerte Ejektionsfraktion bei Patienten der Highdose-Gruppe nachgewiesen werden. Desweiteren zeigte sich erniedrigt und damit verbessert das linksventrikuläre enddiastolische Volumen LVEDV bei Patienten der Highdose-Gruppe. Da es im Verlauf der Studie jedoch gehäuft zum Auftreten von Herzrhythmusstörungen mit schrittmacherpflichtigkeit kam wurde die Studie inzwischen abgebrochen.

Beim Vergleich der MAGIC- mit der vorliegenden herzchirurgischen Stammzellstudie ist das sich ähnelnde Studiendesign unübersehbar. Sowohl Endparameter als auch Untersuchungsmethodik zeigen viele Gemeinsamkeiten, die Zellprodukte beider Studien sind jedoch grundsätzlich verschieden. Vorteile der MAGIC-Studie waren die Verblindung, die konsequente Suche nach Rhythmusstörungen und die deutlich höheren Zellzahlen (zwischen 400 und 800 Mio. Myoblasten) pro Patient. Auch wenn keine signifikanten Verbesserungen im Hinblick auf die LVEF durchgehend gezeigt werden konnten, so ist der Myoblastentherapie ein positiver Effekt auf die linksventrikuläre Pumpfunktion nicht abzusprechen. Die weitere klinische Erprobung wird sich aufgrund des arrhythmogenen Potentials jedoch schwierig gestalten.

Nach Untersuchung verschiedener Zellpopulationen erhoffte man sich eine Steigerung der positiven Effekte der Stammzelltherapie unter Ausnutzung der mobilisierenden Eigenschaften von Zytokinen wie G-CSF. Es konnte nachgewiesen werden, daß G-CSF alleine oder in Kombination mit Progenitorzellen einen positiven Einfluß auf das Remodelling und die linksventrikuläre Funktion besitzt^{38,45,50,93}. Im Hinblick auf alte (> 1 Jahr) Myokardinfarkte konnte auch hier eine verbesserte Wirksamkeit der Stammzelltherapie bei G-CSF-Gabe gezeigt werden⁹⁴. Es traten jedoch auch unerwünschte Nebeneffekte bei der G-CSF-Therapie auf. Eine große klinische Multicenter-Studie untersuchte das Zusammenspiel von peripheren Stammzellen und G-CSF, die bei PCI und Stent-Implantation nach akutem Myokardinfarkt injiziert wurden. Im Resultat kam es hier zu einer signifikanten Verbesserung der kardialen Funktion und zu Neoangiogenese, allerdings wurden gehäuft instent Re-Stenosen beobachtet⁹⁵. Eine ausgeprägte Leukozytose und damit potentiell verbundene Entzündungsreaktionen können unangenehme Nebenwirkungen der Zytokin-Therapie sein und beeinflussen die weitere Forschung auf diesem Gebiet zunehmend.

Seit einiger Zeit stehen die peripheren oder Knochenmarkstammzellen nicht mehr allein im Zentrum des wissenschaftlichen Interesses. Einen neuen Fokus bilden die organeigenen Stammzellen. Bis vor kurzem galt die Annahme, es handele sich beim Herzmuskel um terminal differenziertes Gewebe, welches keine eigenen Progenitorzellen besitzt und Verletzungen durch Hypertrophie bereits bestehender Kardiomyozyten korrigiert. Aktuelle Studien konnten allerdings zeigen, daß sowohl

unter physiologischen als auch pathologischen Bedingungen kardiale Progenitorzellen (CPC) entweder im kardialen Gewebe selbst oder im Blut zirkulierend zu finden⁹⁶⁻⁹⁸ und u.a. im Herzen von Neugeborenen nachzuweisen sind⁹⁹. Ihnen wird ein additiver positiver Effekt auf die Herzfunktion nach Myokardinfarkt zugeschrieben¹⁰⁰⁻¹⁰².

IV.3 Die Studie der Rostocker Herzchirurgie im internationalen Vergleich

Beim Vergleich der Daten und der Vielzahl von Studien mit positiven und negativen Ergebnissen muss berücksichtigt werden, dass unter dem großen Thema der myokardialen Stammzellregeneration zahlreiche unterschiedliche Studienprotokolle und damit auch unterschiedliche Applikations- und Messtechniken Verwendung gefunden haben. Abweichungen ergeben sich im wesentlichen in der Zellpopulation (z.B. CD133+ vs. mononukleäre Knochenmarkstammzellen), in der Applikationsform (intramyokardial vs. intrakoronar), in der Art der Eingriffe (Katheterintervention/PTCA vs. CABG), bei Nachuntersuchungsmethoden (z.B. Echokardiographie vs. Cardio-MRT zur LVEF-Bestimmung) und ganz besonders im Patientenkollektiv (z.B. im Intervall zwischen Myokardinfarkt und Eingriff oder im Durchschnittswert der präoperativen LVEF). Doch nur durch ein breites Spektrum an unterschiedlichen wissenschaftlichen Studien ist es möglich, neue Therapiemöglichkeiten und Wege zu erschließen.

Das Rostocker Stammzellprojekt gehört mit einem Patientenkollektiv von insgesamt 55 Probanden in beiden Phasen international zu den größeren herzchirurgischen Studien. Die CD133+ Zellpopulation wurde auch von anderen Gruppen verwendet, allerdings bislang im wesentlichen bei intrakoronarer Applikation^{36,52,76}. Die Wahl dieser Knochenmarkstammzellen begründet sich auf einem Abwägen zwischen den zu Beginn der Studie zur Verfügung stehenden verschiedenen Zellgruppen. Im Gegensatz zu mesenchymalen Stammzellen, bei denen bislang primär ein neoangiogenetischer Effekt nachgewiesen wurde^{90,103}, wird den CD133+ Stammzellen sowohl die Potenz zur Angiogenese also auch zur Myogenese zugesprochen. Es sind bislang keine transplantationsbezogenen Nebenwirkungen aufgetreten, besonders das arrhythmogene Potenzial ist als gering einzustufen.

Interessant im Vergleich sind besonders die Ergebnisse der linksventrikulären Ejektionsfraktion, die in vielen Studien einen primären Outcome-Parameter darstellt. Der in der Phase I erzielte Effekt, der sich in der Phase II immerhin noch als moderate

Verbesserung dokumentieren ließ, spiegelt nationale und internationale Ergebnisse wider. So konnte auch Patel⁵⁴ 2005 in einer Studie mit 20 Patienten demonstrieren, wie sich die LVEF nach Bypass-OP plus CD34+ Knochenmarkstammzellen in der Zellgruppe nach 6 Monaten signifikant gegenüber der Kontrollgruppe verbessert. Design und Methodik waren größtenteils identisch zur vorliegenden Rostocker Studie. Umso valider ist der Vergleich der Datenlage. Beide Studien belegen eine verbesserte myokardiale Pumpleistung zum Zeitpunkt 6 Monate postoperativ nach Bypass-OP + Stammzelltherapie.

Ähnlich wie beim Rostocker CD133+-Stammzell-Projekt verbesserte sich auch in anderen Studien, die autologe Knochenmarkstammzellen verwendeten, neben der Ejektionsfraktion die Myokardperfusion. In der Phase II ließ sich zum Zeitpunkt 6 Monate postoperativ eine signifikante Verbesserung der Blutversorgung des Herzens gegenüber der Kontrollgruppe nachweisen. Diese Beobachtung stützt die Vermutung, daß nach Stammzellinjektion eine ausgeprägte Mikrogefäßneubildung stattfindet, wie es schon früher beschrieben wurde^{39,59}.

Trotz der signifikant besseren Ergebnisse der LVEF im mittelfristigen Follow Up (6 Monate postoperativ $P = 0,0001$) in der Stammzellgruppe und dem Hinweis aufgrund der erhobenen Daten, daß die Bypass-OP mit Stammzellinjektion der alleinigen Bypass-OP überlegen scheint (Δ LVEF Stammzellgruppe $+9,7 \pm 8,8\%$ versus Δ LVEF Kontrollgruppe $+3,4 \pm 5,5\%$, $P = 0,02$), darf nicht übersehen werden, daß auch in der Kontrollgruppe der Phase II die Verbesserung der LVEF mit $P = 0,015$ nach 6 Monaten postoperativ signifikant war. Weiterhin ist in den zum Abschluß der Phase II zur Verfügung stehenden 12-Monats-Daten kein signifikanter Unterschied in der LVEF zwischen der Stammzellgruppe und der Kontrollgruppe nachweisbar ($P = 0,716$).

Ähnliches zeigten die im ersten Halbjahr 2006 veröffentlichten 18-Monats-Daten der BOOST Studie¹⁰⁴, die insgesamt 60 Probanden in einer Stammzell- und einer Kontrollgruppe inkludierte. Im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchung mit PTCA nach Myokardinfarkt wurden autologe Knochenmarkstammzellen über den Herzkatheter verabreicht. Zum Zeitpunkt 6 Monate post interventionem war die LVEF der Stammzellgruppe signifikant besser als bei der Kontrollgruppe. Im Langzeit-Follow up nach 18 Monaten war hingegen keine Signifikanz mehr nachweisbar. Die Zelltherapie

brachte demnach keine langfristige Verbesserung, zeigte aber mittelfristig einen positiven Effekt auf die myokardiale Regeneration nach Eingriff bzw. Intervention.

Dies sind wichtige Ergebnisse in mehrerer Hinsicht. Es kann daraufhin deuten, daß die bislang verwendeten Zellen in Qualität und Quantität nicht ausreichend waren oder die Stammzellen in Ihrer Potenz allgemein überschätzt werden. Auch können methodische Fehler oder eine Insuffizienz des primären Outcome-Parameters LVEF als Ursache für eine lediglich moderate Signifikanz zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt 6 Monate postoperativ diskutiert werden.

Ein wesentlicher Gesichtspunkt in der Beurteilung der Ergebnisse ist die Durchführung der Follow Up-Untersuchungen, welche zu definierten Zeitpunkten erfolgen sollten. Um möglichst aussagekräftige Endergebnisse zu erhalten, wurden die Patienten beider Phasen teilweise bis > 12 Monate nachuntersucht. So konnten nicht nur mittelfristige Ergebnisse, sondern auch deren Konstanz bzw. Entwicklung verfolgt und beurteilt werden. Dies hat sich besonders in der Phase I als interessant erwiesen, da sich hier ein nur geringer Rückgang der LVEF zum Zeitpunkt 12 Monate postoperativ (LVEF $50,1 \pm 6\%$) gegenüber dem Zeitpunkt 6 Monate (LVEF $51,6 \pm 8,8\%$) zeigte. Es wird sich nur in großen Studien mit Langzeit-Follow Up nachweisen lassen, ob und inwiefern eine Stammzelltherapie dauerhafte Wirkung zeigt. In diesem Zusammenhang wurde kürzlich eine Multicenter-Studie von der Universität Rostock ins Leben gerufen, an der sich im weiteren das Deutsche Herzzentrum Berlin (DHZB) und die medizinische Hochschule Hannover beteiligen.

Ebenfalls interessant bei der Frage nach beständiger Funktionsverbesserung des Herzens ist die Rolle des Intervalls zwischen Myokardinfarkt und Zelltherapie. Die Zeitspanne vom stattgehabten Herzinfarkt bis zur Therapie beträgt im Rostocker Patientenkollektiv bis zu 3 Jahren, bezieht also in erster Linie chronisch-ischämische Herzerkrankungen mit ein, so dass zum Zeitpunkt der Stammzellgabe keine akute Ischämie oder lokale entzündliche Infiltrate im Myokard vorherrschen; Umbauprozesse der Infarktregion im Herzmuskel sind abgeschlossen. Es ist zu bedenken, dass die zellulären Mechanismen, die im Rahmen der Stammzelltherapie bei chronisch-ischämischer Herzerkrankung eine Rolle spielen, sich von zellulären Reparaturvorgängen unter akuter Ischämie und den unmittelbar nachfolgenden Umbauprozessen komplett unterscheiden können. Auch aus diesem Grunde sind Unterschiede in den einzelnen Studiendesigns (PCI vs. CABG) von enormer

Wichtigkeit, um die eventuell voneinander abweichenden Potentiale der Stammzellen bei akuten Myokardischämien und beim chronischen Ischämieschaden untersuchen zu können.

IV.4 Kritische Betrachtung der Studie

Bei formaler Betrachtung sind an der vorliegenden Rostocker Studie neben verschiedenen Diskussionsansätzen die fehlende Placebo-Kontrolle und die bislang nicht durchführbare histologische Aufarbeitung des stammzelltransplantierten Herzmuskelgewebes wichtige Kritikpunkte. Ein generelles Problem der klinischen Studien auf dem Gebiet der myokardialen Geweberegeneration ist der Mangel an Möglichkeiten, den Verlauf der Stammzellen im Myokard nachzuverfolgen bzw. feingeweblich aufzuarbeiten. Eine Myokardverlaufshistologie ohne weitere OP-Indikation wäre ethisch nicht vertretbar. Auch post mortem gewonnenes Gewebe würde bei den derzeitigen Studienprotokollen keine bedeutenden Erkenntnisse bringen, da eine (z.B. radioaktive) Markierung der Stammzellen aktuell nicht durchgeführt wird und daher der Verbleib der Zellen im evtl. sogar erneut infarzierten Myokard nicht geklärt werden könnte. Studien, die auch eine histopathologische Beurteilung einbeziehen, liegen derzeit nicht vor.

Eine doppelte Verblindung der Studie und eine damit verbundene Verabreichung eines Placebopräparates bei der Kontrollgruppe (z.B. in die Infarkttrandgebiete) war zum Zeitpunkt der Studienplanung nicht umsetzbar. Bei einer placebokontrollierten Studie ließen sich sowohl psychologische Effekte wie auch potentielle Verfälschungen der Ergebnisse durch nur bei der Verumgruppe auftretende Nebeneffekte vermeiden. Eine mögliche Fragestellung wäre z.B., ob der angiogenetische Effekt im Myokard ausschließlich durch die injizierten Stammzellen zustande kommt, oder ob der Entzündungsreiz nach den Injektionsvorgängen ebenfalls eine Gefäßneubildung induzieren kann. Als Placebopräparate wären z.B. NaCl oder denaturierte Proteine denkbar.

Ein weiterer wesentlicher Kritikpunkt der Studie ist das Verlassen des ursprünglich entwickelten Randomisierungsplanes im Rahmen der Phase II. Hier war die Zuteilung zunächst aufgrund eines computergestützten Planes erfolgt. Durch nicht dauerhaft gewährleisteten Zugang zum Hämatologie-Reinraum Klasse B mußte die Randomisierung nach den Verfügbarkeiten des Raumes durchgeführt werden (s.

Phase II, Studiendesign). Eingriffe solcher Art in den strukturellen Aufbau einer Studie reduzieren maßgeblich die Objektivität und damit die Bedeutung der Ergebnisse. Das Risiko für einen Typ-I Fehler kann sich beträchtlich erhöhen. Die Wahrscheinlichkeit einer aufgrund von falsch-positiven Daten abgelehnte aber eigentlich zutreffende Nullhypothese nimmt zu.

Bei der Aufstellung der Rostocker Studien wurden verschiedene Gesichtspunkte bei der Wahl des jeweiligen Parameters bzw. der jeweiligen Technik berücksichtigt. So wurden, um mögliche proinflammatorische Nebeneffekte von mononukleären Zellen zu vermeiden, zur Injektion ausschließlich die bereits untersuchte CD133+ Population der Knochenmarkprogenitorzellen verwendet. Nach anfänglich niedrigen Zellzahlen zwischen 1 und 6 Mio. wurden in der Phase II bis zu 10 Mio. Zellen injiziert. In einem Einzelfall wurden im Knochenmarkpunktat 80 Mio. Zellen dokumentiert. Es war stets das Ziel im Rahmen der technischen und medizinischen Möglichkeiten ein Maximum an Zellen zu gewinnen und zu isolieren.

Ein Schritt auf dem Weg zu einer großen Zellzahl und gleichzeitig damit einhergehender Optimierung des Zeitmanagements ist die Verlagerung der Zellgewinnung in den OP-Saal, wie sie für den weiteren Verlauf der Phase II und der neu angelaufenen Phase III eingeführt wurde. Die bisherige schmerzhaftes Knochenmarkgewinnung in Lokalanästhesie und die Zellpräparation am Tag vor der Operation fallen hierbei weg. Die Zellen werden zu Beginn des Eingriffs intraoperativ in Vollnarkose aus beiden Beckenkämmen entnommen und über ein im OP befindliches automatisches Zellisolationssystem (Clini-MACS) unter GMP-Bedingungen gereinigt und angereichert und stehen innerhalb von 2 bis 3 Stunden zur Verfügung⁵⁸. Vorteile dieser Methode sind die präoperative Zeit- und Aufwandreduktion und die deutlich größeren Mengen an Knochenmark, die in Vollnarkose problemlos gewonnen werden können. Außerdem ist eine Vermeidung der Übernachtslagerung (und damit eine Minimierung des Kontaminationsrisikos) für die Funktion der Zellen im weiteren eher förderlich.

Um herauszufinden, ob im Vergleich zu aktuellen Zellzahlen eine höhere Anzahl von Progenitorzellen mit einem besseren Outcome nach Stammzelltherapie korreliert, sollten in Zukunft deutlich höhere Zellzahlen von AC133+ Zellen (in der Größenordnung von 100 Mio. Zellen und mehr) angestrebt werden. Mit den derzeit gebräuchlichen Isolationstechniken sind solche Zielbereiche jedoch nicht realisierbar.

Neben den im Mittelpunkt des Interesses stehenden positiven Effekten der Therapie sind bei deutlich größeren als den im Moment möglichen Zellzahlen auch potentiell neu auftretende Nebenwirkung, welche bislang noch nicht im Zusammenhang mit der Stammzellapplikation beobachtet werden konnten zu bedenken,

Zur Bestimmung der Ejektionsfraktion kam die Echokardiographie zum Einsatz, die zu Beginn der Studien die am ehesten praktikable und valide Meßmethode darstellte. Die als noch genauer geltende Messung der LVEF im präoperativen Herzkatheter stimmte stets mit den präoperativen Echokardiographieuntersuchungen überein. Als lege artis gilt inzwischen allerdings die MRT-Untersuchung des Herzens, die der Echokardiographie u.a. im Hinblick auf die Bestimmung der LVEF überlegen ist. Insofern wurde in der weiterlaufenden Phase II die Kardio-MRT-Untersuchung als prä- und postoperative Kontrolluntersuchung zur Echokardiographie eingeführt, was die Validität der Ergebnisse der Phase II im nationalen und internationalen Vergleich unterstreichen und stärken soll.

Beim Aufarbeiten der Daten der Phase II fiel auf, dass die Durchschnittswerte der präoperativen LVEF beider Gruppen (Kontroll-Gruppe $37,9 \pm 10,3\%$, und Stammzell-Gruppe $37,4 \pm 8,4\%$) noch verhältnismäßig hoch liegen. Dadurch sind Signifikanzen im postoperativen Verlauf schwieriger zu erreichen. Günstiger wären präoperative Durchschnittswerte von $< 35\%$.

Im Hinblick auf Nebenwirkungen der Stammzelltherapie durch Extrasystolen mit der Gefahr von Kammerflimmern erscheint es sinnvoll, nicht nur 2 Wochen postoperativ sondern auch 6 und 12 Monate postoperativ eine Holter Langzeit-EKG Untersuchung ins Follow Up mit einzubeziehen, um das arrhythmogene Potential im Verlauf abschätzen zu können. Weiterhin ist neben den bislang genannten Kritikpunkten zu bedenken, daß in zukünftigen Studien zur Ischämieüberwachung nicht wie bislang nur die Enzyme CK und CK-MB sondern auch Troponin I im Protokoll erfasst werden sollte.

IV.5 Fazit

Die myokardiale Stammzelltherapie hat in den letzten Jahren stark an Interesse gewonnen, und es sind intensive Fortschritte sowohl in laborexperimentellen als auch in klinischen Studien gemacht worden. Nach aktuellem Wissensstand und unter besonderer Berücksichtigung der vorliegenden Arbeit ist die Fortsetzung klinischer Studien zur kardialen Stammzelltherapie als gerechtfertigt anzusehen. Positive Effekte der Therapie im Sinne einer Funktionsverbesserung des Herzens konnten in vielen Studien nachgewiesen werden.

Es ist anzunehmen, daß nicht jeder Patient, der einen Herzinfarkt erleidet oder eine chronisch-ischämische Herzerkrankung entwickelt, von der Stammzelltherapie profitiert. Die bisherigen Ergebnisse lassen aber den Schluß zu, daß die Wirksamkeit der Therapie umso ausgeprägter zu sein scheint, je schlechter die Ausgangsleistung des Herzens ist.

Zur weiteren Einschätzung der Wirkungsweise der Stammzelltherapie, ihrer kurativen und palliativen Potentiale und eventueller Risiken sind laufende Untersuchungen und neue große Multicenter-Studien abzuwarten.

V. Zusammenfassung

Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems mit häufig einhergehender Entwicklung einer myokardialen Insuffizienz nach stattgehabtem Herzinfarkt gehören weltweit aber insbesondere in den westlichen Wohlstandsländern zu den häufigsten Krankheits- und Todesursachen. Herzmuskelgewebe gilt bislang als terminal-differenziertes Gewebe ohne Fähigkeit zur selbstständigen Regeneration. Bei der Suche nach neuen Behandlungskonzepten rückte in den letzten Jahren verstärkt die autologe myokardiale Stammzelltherapie in den Mittelpunkt des Interesses. Trotz intensiver kontroverser Diskussionen ist der zelltherapeutische Ansatz als Behandlungsoption bei chronisch-ischämischen Herzerkrankungen Forschungsgebiet vieler internationaler Gruppen.

Die vorliegende Arbeit untersuchte in einer Phase I- und Phase II-Studie den Effekt von intraoperativ injizierten CD133+ Knochenmarkstammzellen in Kombination mit einer koronarchirurgischen Bypass-Operation (CABG). In beiden Phasen wurde die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) als primärer Zielparameter definiert.

In einer Phase I-Sicherheitsstudie erhielten 15 Patienten mit reduzierter Ejektionsfraktion zusätzlich zu ihrer Bypass-Operation autologe CD133+ Knochenmarkstammzellen. Diese wurden intramyokardial in Infarkttrandbereiche injiziert. In der sich anschließenden Phase II-Studie wurde anhand von zwei Gruppen mit je 20 Patienten (Stammzellgruppe vs. Kontrollgruppe) die Hypothese untersucht, ob die Therapie mit CD133+ Knochenmarkstammzellen und CABG zum Zeitpunkt 6 Monate postoperativ ein besseres Ergebnis im Hinblick auf die linksventrikuläre Ejektionsfraktion aufweist als die alleinige Therapie mit koronarer Bypass-Operation.

In der initialen Sicherheitsstudie verbesserte sich die LVEF signifikant von $39,5 \pm 8,6\%$ präoperativ auf $51,6 \pm 8,8\%$ nach 6 Monaten ($P = 0,006$) und auf $50,1 \pm 6\%$ nach 12 Monaten ($P = 0,009$). Es wurden keine therapiebedingten Komplikationen – insbesondere keine Rhythmusstörungen – beobachtet. In der Phase II wurden eine Stammzell- (C+) und eine Kontrollgruppe (K) miteinander verglichen. Es zeigte sich bei der Stammzellgruppe eine signifikante LVEF-Verbesserung von $37,4 \pm 8,4\%$ präoperativ auf $47,1 \pm 8,3\%$ nach 6 Monaten ($P < 0,0001$). Bei der Kontrollgruppe kam es zu einer weniger signifikanten LVEF-Verbesserung von $37,9 \pm 10,3\%$ präoperativ auf $41,3 \pm 9,1\%$ nach 6 Monaten ($P = 0,015$). Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion war damit zum Zeitpunkt 6 Monate postoperativ in der Gruppe mit Stammzell-

Transplantation und CABG signifikant besser als in der Gruppe, die nur eine Bypass-Operation erhalten hatte ($P = 0,02$).

Ebenfalls deutlich besser gegenüber der Kontrollgruppe ist die mittels Myokardszintigraphie gemessene Perfusion im Infarktareal der Stammzellgruppe.

Es sind keine unerwünschten Nebenwirkungen im Zusammenhang mit der Stammzelltherapie beobachtet worden.

Die intramyokardiale Knochenmarkstammzell-Injektion bei Bypass-Patienten ist als sicher anzusehen. Der Therapie konnten wiederholt positive Effekte nachgewiesen werden. Trotz der bereits vorliegenden Ergebnisse sind aber zahlreiche weitere und größere Studien unabdingbar, um weiteren Fortschritt auf dem Gebiet der autologen Stammzelltherapie möglich zu machen. Es bleibt abzuwarten, ob der wissenschaftliche Erfolg auch einen klinischen Fortschritt und damit die Möglichkeit zur verbesserten Standardtherapie der chronisch-ischämischen Herzkrankheit mit sich bringt.

VI. Anhang

VI.1 Tabellen/Abbildungen

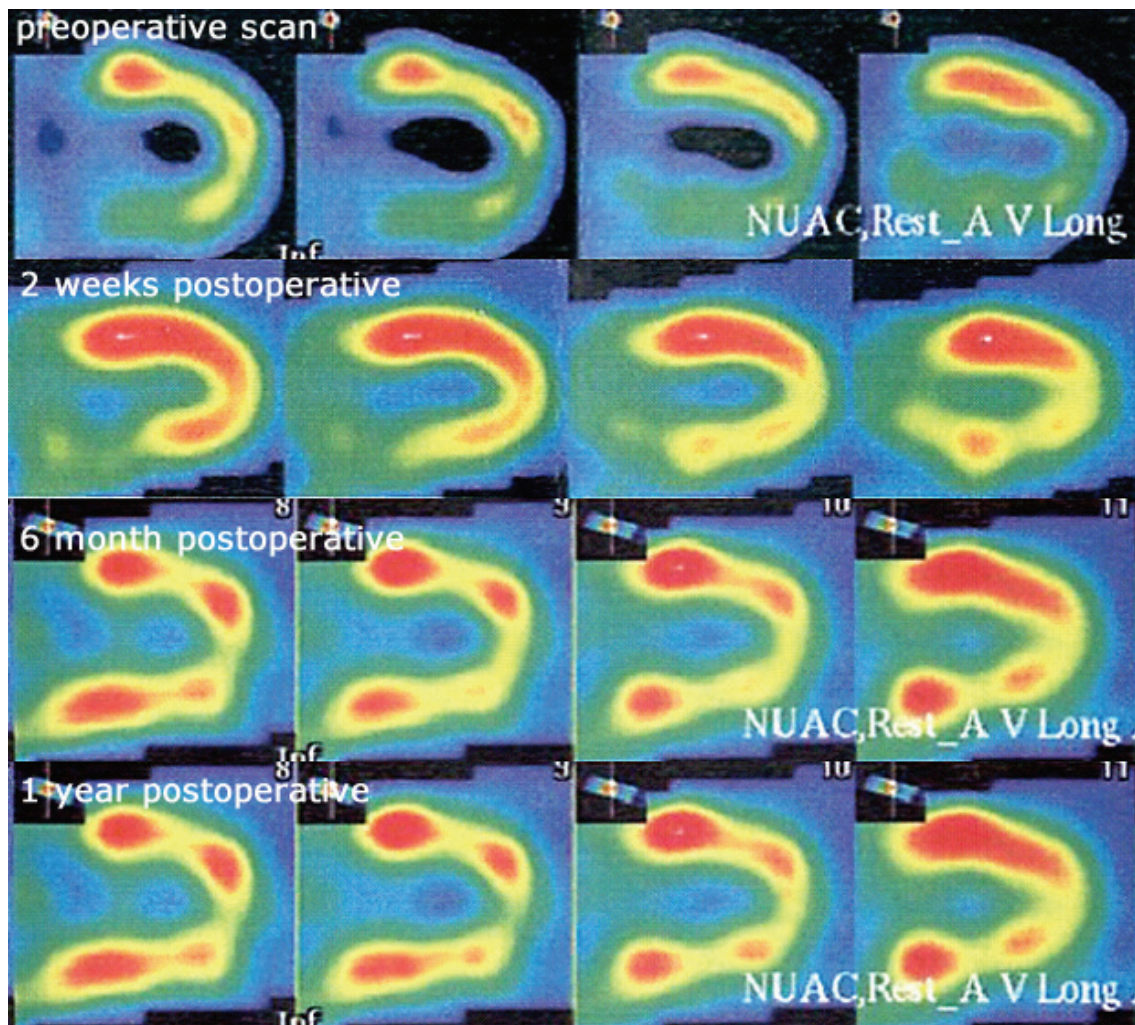


Abb. 17: Myokardszintigraphie-Bilder eines mit CABG und Stammzellen behandelten Patienten präoperativ, 2 Wochen p.o., 6 Monate und 12 Monate p.o. Auf den Aufnahmen stellt sich der linke Ventrikel in der langen Achse mit Vorderwand (oben), Herzspitze (rechts) und Hinterwand (unten) dar. Farbcodierung der Perfusion: Grün = schlecht, Gelb = mäßig bis gut, Rot = sehr gut (normal). Präoperativ findet sich eine starke myokardiale Minderperfusion über der Hinterwand und apikal sowie eine mäßige Perfusionsverschlechterung anterior. Im Gegensatz dazu findet sich in den Nachuntersuchungsaufnahmen in allen Bereichen eine verbesserte Durchblutung des linken Ventrikels.

Tabelle 1: Nebenwirkungen gemäß CTC (Common Toxicity Criteria) Version 2.0 vom 30.04.1999

	0	I	II	III	IV
AV Überleitungsstörung	Keine	Asymptomatisch, keine Behandlung notwendig (beispielsweise Mobitz Typ I bei AV Block II Grades, Wenkebach	Symptomatisch, keine Behandlung notwendig	Symptomatisch, Behandlung erforderlich (beispielsweise Mobitz Typ II bei AV Block II, sowie bei AV Block III Grades	Lebensbedrohlich (z B. Arrhythmien in Zusammenhang mit CHF, Hypo-tension Synkopen und Schock)
Verlängerte QTc-Intervalle (QTc > 0,48 sec.)	Keine	Asymptomatisch, keine Behandlung notwendig	Symptomatisch, keine Behandlung notwendig	Symptomatisch, Behandlung erforderlich	Lebensbedrohlich (z B. Arrhythmien in Zusammenhang mit CHF, Hypotension Synkopen und Schock)
Sinus Bradykardie	- " -	- " -	- " -	- " -	- " -
Supraventrikuläre Arrhythmien (SVT / Vorhofflattern und -flimmern	- " -	- " -	- " -	- " -	- " -
Ventrikuläre Arrhythmien (VT, Bigeminus, Trigemini)	- " -	- " -	- " -	- " -	- " -
Vasovagale Episoden	Keine	-	Vorhanden, ohne Verlust des Bewußtseins	Vorhanden, mit Verlust des Bewußtseins	-
Kardiale Ischämie oder Infarzierung	Keine	Unspezifische T Wellenabflachung oder Veränderungen	Asymptomatische ST und T Wellen Veränderungen, die auf eine Ischämie schließen lassen	Angina ohne Anhalt für Infarzierung	Akuter Herzinfarkt
Linksventrikuläre Funktion	Normal	Asymptomatischer Abfall der Ruheausswurf-fraktion von > 10% aber < 20 % des Ausgangswertes. Verkürzungs-fraktion > 24% aber < 30%	Asymptomatisch aber anhaltende EF unter LLN, oder Abfall der Ruhe EF > 20% des Ausgangswertes. <24% Verkürzungs-fraktion	Therapiereagible CHF	Schwere oder therapierefraktäre CHF, oder die Notwendigkeit von Intubation.
Kardiales Troponin T (cTnT)	Normal	> 0,03- <0,05ng/ml	> 0,05 - <0,1ng/ml	> 0,1 - < 0,2ng/ml	>0,2ng/ml
Myokarditis	Keine	-	-	CHF therapiereagibel	Schwere oder therapierefraktäre CHF
Perikarderguß oder Perikarditis	Keine	Asymptomatischer Erguß ohne Therapierelevanz	Perikarditis (Auskultatorisch, EKG Veränderungen und/oder Brustschmerzen	Physiologische Folgen	Tamponade (Drainage oder Fensterung erforderlich)
Periphere oder zentrale Ischämie	Keine	-	Kurze ischämische Episode, die kein chirurgisches /interventionelles Vorgehen verlangt und kein permanentes Defizit hinterläßt	Chirurgisches / interventionelles Vorgehen erforderlich	Lebensbedrohlich oder permanentes funktionales Defizit

Tabelle 2: Schema zu Art und Zeitpunkt der Vor- und Nachuntersuchungen

	präoperativ	2 Wochen p.o.	3-6 Monate p.o.	>1 Jahr p.o.
Routine (Labor, EKG, Röntgen-Thorax)	+	+		
Koronarangiographie	+			
Knochenmarkspunktion	+			
Echokardiographie	+	+	+	+
Szintigraphie	+	+	+	+
24h-Langzeit-EKG	+	+		

Tabelle 3: Komplikationsverlauf frühpostoperativ

n	Enzyme, EKG	CRP	VES (%)	Komplikationen	Frühmortalität
1	o. B.	30,0	0,5	Pneumonie	-
2	o. B.	14,9	0	Perikarderguß	-
3	o. B.	12,0	0	-	-
4	o. B.	54,0	2,8	Nachblutung	-
5	o. B.	27,0	0	-	-
6	o. B.	36,1	0,2	-	-
7	o. B.	39,6	0,1	-	-
8	o. B.	11,6	0,1	Perikarderguß	-
9	o. B.	46,3	0,2	-	-
10	o. B.	17,0	2,7	-	-
11	o. B.	51,9	0,1	-	-
12	o. B.	75,0	0,1	-	-
13	o. B.	49,7	0	Pneumonie	-
14	o. B.	48,8	0,1	-	-
15	o. B.	23,0	0	-	-

Tabelle 4: Daten der Phase I

n	1	2	3	4
Geschlecht	männlich	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	7,00	4,57	10,43	8,17
Alter (Jahre)	64,30	73,09	54,66	69,56
NYHA	2	2	2	3
LVEDD I (mm)	59	54	53	49
LVEDV I (ml)	219	161	117	102
LVEDS I	48	33	36	30
LVEF I (%)	21	42	39	47
Akinesie I	anteroseptal, anterolateral	keine	posterior, infer.med., inf.apikal, sept. apikal	apikal
Hb I	7,2	5,8	8,6	7,7
Leukos I	8,15	4,99	5,08	11,3
Thrombos I	154	114	110	496
Grafts	3	3	3	3
Zellzahl (Mio)	0,6	1	1	1
Beatmung (Std.)	4	4	5	6
Katecholamine (mg/kg KG/min)	6	3	0	3
CK po	403	407	295	224
CK-MB po	12	28		14,5
Dauer (d)	17	15	16	14
Hb II	6,9	7,4	6,7	6,6
Leukos II	10,4	6,91	6,5	9,44
Thrombos II	370	362	251	541
CRP po	30	14,9	12	54
LVEDD II (mm)	57	48	42	49
LVEDV II (ml)	178	131	99	111
LVEDS II	46	35	26	31
LVEF II (%)	46	45	58	48
Akinesie II	anteroseptal, anterolateral	keine	keine	septoapikal
Szinti-Koeffizient 1. po	1,25	1,01	1,21	1,23
Komplikationen	Pneumonie, Arrhyth.abs.	subfebr. °C, V.a. Pneumonie, Postperikardio- tomiesyindr. (Pleuraerguss li.)	keine	Rethorakotomie am OP Tag wg. Nachblutung aus IMA Seitenast
LVEDD III	59	53	53	49
LVEDV III	196	106	97	147
LVEF III	33	62	56	50
Akinesie III	mediale VW, anteroseptal	keine	keine	apikal
Koeffizient 2. po	1,19	1,06	1,06	1,08
LVEDD IV	verweigert	56	52	53
LVEDV IV	verweigert	143	92	146
LVEF IV	verweigert	51	51	54
Akinesie IV	verweigert	keine	keine	apikal
Koeffizient 3. po	verweigert	0,96	1,04	1,89

n	5	6	7	8
Geschlecht	männlich	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	12,00	4,00	10,14	4,43
Alter (Jahre)	75,39	55,07	58,20	68,58
NYHA	3	2	2	2
LVEDD I (mm)	54	50	57	53
LVEDV I (ml)	131	102	105	185
LVESD I	45	34	25	40
LVEF I (%)	25	43	50	43
Akinesie I	inferoseptal	inferobasal	keine	keine
Hb I	8,3	8,8	9,2	8,7
Leukos I	9,42	6,57	4,67	8,8
Thrombos I	238	186	216	187
Grafts	4	3	4	4
Zellzahl (Mio)	1	1,5	1,75	1,5
Beatmung (Std.)	7	8	4	4
Katecholamine (mg/kg KG/min)	3	0	3	3
CK po	587	729	1476	536
CK-MB po	24,8	53,8	36,1	17
Dauer (d)	8	11	15	18
Hb II	7,5	6,6	6,9	7,2
Leukos II	14,6	10,5	7,91	8,14
Thrombos II	280	366	431	250
CRP po	27	36,1	39,6	11,6
LVEDD II (mm)	57	43	48	54
LVEDV II (ml)	131	91	97	173
LVESD II	50	29	24	41
LVEF II (%)	43	53	56	42
Akinesie II	anterolateral, basal, medial	keine	keine	keine
Szinti-Koeffizient 1. po	1,20	1,13	1,14	1,14
Komplikationen	keine	keine	keine	rezidiv. Pleuraergüsse, Perikarderguss
LVEDD III	verstorben	46	48	55
LVEDV III	verstorben	104	139	133
LVEF III	verstorben	54	42	50
Akinesie III	verstorben	keine	apikal	keine
Koeffizient 2. po	verstorben	1,63	1,03	1,14
LVEDD IV	verstorben	49	49	47
LVEDV IV	verstorben	122	139	121
LVEF IV	verstorben	41	44	36
Akinesie IV	verstorben	inferior-basal., post.-lat.-bas., sept.-bas.	apikal	septal, inferior
Koeffizient 3. po	verstorben	1,06		1,1

n	9	10	11	12
Geschlecht	männlich	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	3,43	2,57	7,14	9,29
Alter (Jahre)	63,76	67,58	67,50	77,22
NYHA	2	2	3	3
LVEDD I (mm)	57	56	51	49
LVEDV I (ml)	155	178	113	117
LVESD I	47	47	34	40
LVEF I (%)	41	35	47	44
Akinesie I	inferobasal	sep.apik., med., inf.basal	apik.ant.	keine
Hb I	9,4	7,9	8,6	8,1
Leukos I	7,3	8,18	715	6,82
Thrombos I	221	354	217	319
Grafts	5	5	5	3
Zellzahl (Mio)	1,5	1,5	2,5	2,8
Beatmung (Std.)	10	8,5	7	9
Katecholamine (mg/kg KG/min)	6	3	0	0
CK po	336	346	3478	155
CK-MB po	12,2	25,1	60,5	11,6
Dauer (d)	15	15	12	11
Hb II	8,5	9	6,7	7,4
Leukos II	11,9	8,26	7,87	13,6
Thrombos II	379	422	310	532
CRP po	46,3	17	51,9	75
LVEDD II (mm)	56	56	55	47
LVEDV II (ml)	145	140	106	90
LVESD II	47	35	40	40
LVEF II (%)	44	55	42	53
Akinesiell	keine	keine	keine	keine
Szinti-Koeffizient 1. po	1,18	1,26	0,96	1,04
Komplikationen	keine	keine	keine	keine
LVEDD III	50	52	55	56
LVEDV III	140	105	130	n.b.
LVEF III	49	54	43	69
Akinesie III	inferior-basal	keine	keine	n.b.
Koeffizient 2. po	1,01	1,48	0,95	verweigert
LVEDD IV	52	54	52	verweigert
LVEDV IV	149	113	121	verweigert
LVEF IV	50	51	43	verweigert
Akinesie IV	keine	keine	septal- medial, septal-apikal, inferior	verweigert
Koeffizient 3. po	0,85	1,48	1,3	verweigert

n	13	14	15
Geschlecht	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	5,86	10,14	7,86
Alter (Jahre)	44,83	75,86	62,77
NYHA	2	1	1
LVEDD I (mm)	59	62	57
LVEDV I (ml)	161	201	172
LVESD I	43	48	42
LVEF I (%)	44	26	38
Akinesie I	sept.bas.	keine	apikal
Hb I	9,1	10,2	7,9
Leukos I	7,36	8,11	11,1
Thrombos I	215	143	77
Grafts	3	4	4
Zellzahl (Mio)		6	5
Beatmung (Std.)	6	10	9
Katecholamine (mg/kg KG/min)	3	0	3
CK po	3409	1816	435
CK-MB po	84,8	40,2	49,6
Dauer (d)	13	18	14
Hb II	7,4	7,5	7,8
Leukos II	10,3	7,37	10,4
Thrombos II	302	395	454
CRP po	49,70	48,80	23,00
LVEDD II (mm)	53	45	56
LVEDV II (ml)	156	70	122
LVESD II	34	37	31
LVEF II (%)	46	35	38
Akinesie II	septal-basal	keine	apikal
Szinti-Koeffizient 1. po	0,99	1,16	1,29
Komplikationen	keine	Vorhofflimmern	keine
LVEDD III	52	57	54
LVEDV III	150	85	112
LVEF III	49	46	45
Akinesie III	keine	keine	apikal
Koeffizient 2. po	1,02	1,04	1,14
LVEDD IV	54	58	53
LVEDV IV	141	112	n.b.
LVEF IV	53	56	45
Akinesie IV	keine	inferior-basal	apikal
Koeffizient 3. po	1,02	1,04	1,14

Tabelle 5: Daten der Phase II

n	1	2	3	4
Kohorte	CABG+Zellen	CABG+Zellen	CABG+Zellen	CABG+Zellen
Geschlecht	männlich	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	6,00	3,43	38,57	8,00
Alter (Jahre)	66,35	71,03	56,65	76,30
NYHA	2	1	3	2
LVEDD I (mm)	50	57	59	46
LVEDV I (ml)	135	153	163	109
LVESD I	33	41	41	33
LVEF I (%)	50	44	51	50
Akinesie I	keine	keine	inferior	keine
Hb I	9	7,7	10,6	8
Leukos I	8,89	6,51	5,96	5,11
Thrombos I	301	164	160	141
Grafts	3	3	3	4
Zellzahl (Mio)	10	1,2	6	n.b.
Beatmung (Std.)	3	7	5	6
Katecholamine (mg/kg KG/min)	3	0	0	0
CK po	347	251	592	351
CK-MB po	28,9	15,1	22,4	36,2
Dauer (d)	13	15	14	14
Hb II	7,4	6,3	8	7,4
Leukos II	10,1	6,86	7,53	6,08
Thrombos II	381	230	340	349
CRP po	12	36,6	20,2	54,9
LVEDD II (mm)	49	50	55	45
LVEDV II (ml)	114	115	132	91
LVESD II	28	38	42	37
LVEF II (%)	57	50	48	52
Akinesie II	keine	Hypok.: anteroseptal	Hypok.: septal, inf.	Hypok.: apikal, inf.basal, post.lat.basal
Szinti-Koeffizient 1. po	1,09	1,11	0,96	1,09
Komplikationen	0	0	0	1
LVEDD III	50	59	65	46
LVEDV III	101	192	192	113
LVEF III	57	47	54	57
Akinesie III	keine	inferior	posterior	apikal
Koeffizient 2. po	1,04	1,2	1,1	0,86
LVEDD IV	51	60	66	47
LVEDV IV	91	177	216	110
LVEF IV	52	30	49	62
Akinesie IV	inferobasal	inferior	post.-basal	keine
Koeffizient 3. po				

n	5	6	7
Kohorte	CABG+Zellen	CABG+Zellen	CABG+Zellen
Geschlecht	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	10,14	152,29	6,00
Alter (Jahre)	54,94	53,26	43,23
NYHA	2	2	3
LVEDD I (mm)	58	63	60
LVEDV I (ml)	182	147	171
LVESD I	40	47	51
LVEF I (%)	42	48	36
Akinesie I	post.med, basal	inferior-lateral	keine
Hb I	10,3	9,5	9,1
Leukos I	6,23	9,03	6,08
Thrombos I	266	231	191
Grafts	3	3	5
Zellzahl (Mio)	n.b.	6	6
Beatmung (Std.)	7	5	3
Katecholamine (mg/kg KG/min)	0	0	3
CK po	1675	504	2966
CK-MB po	100	24,4	67,4
Dauer (d)	11	13	10
Hb II	6	7,3	7,6
Leukos II	6,17	12,1	8,29
Thrombos II	440	509	282
CRP po	54,5	20,7	39,2
LVEDD II (mm)	63	60	61
LVEDV II (ml)	147	143	135
LVESD II		45	48
LVEF II (%)	31	51	38
Akinesie II	Hypo.: ant., Akin.: inf.basal, apical, ant.septal	Hypok.: inf.post.ant-sept	inf.post.
Szinti-Koeffizient 1. po	1,02	0,93	0,77
Komplikationen	1	0	0
LVEDD III	63	60	61
LVEDV III		147	139
LVEF III	44	50	45
Akinesie III	Akin.: inf.-basal, Hypok.: septal, inf.-med., apikal	Hypok.: inf., post., anteroseptal	Hypok.: inf., post.
Koeffizient 2. po	1,04	1,01	1,01
LVEDD IV	49	57	62
LVEDV IV		119	
LVEF IV	52	44	45
Akinesie IV	keine	inf	keine
Koeffizient 3. po			

n	8	9	10	11
Kohorte	CABG+Zellen	CABG+Zellen	CABG+Zellen	CABG+Zellen
Geschlecht	weiblich	männlich	männlich	weiblich
Infarktalter (Wo.)	2,71	n.b.	13,14	n.b.
Alter (Jahre)	64,21	60,64	48,35	64,94
NYHA	3	2	2	2
LVEDD I (mm)	62	61	64	58
LVEDV I (ml)	173	180	166	160
LVESD I	47	52		46
LVEF I (%)	28	34	40	35
Akinesie I	septal, medial, inferior-basal	septal-basal, inferiorbasal	apikal	VW
Hb I	7,1	7,6	9,4	8,4
Leukos I	6,97	5,91	9,18	5,28
Thrombos I	967	148	247	236
Grafts	4	5	4	4
Zellzahl (Mio)	6	8	7	
Beatmung (Std.)	5	4	2	4,5
Katecholamine (mg/kg KG/min)	6	0	0	3
CK po	2370	395	419	2065
CK-MB po	72,4	18,6	19,3	49,9
Dauer (d)	11	10	14	15
Hb II	7,7	6,7	6,8	7,4
Leukos II	8,8	7,45	11	8,39
Thrombos II	402	166	574	419
CRP po	56,5	136	42,2	83
LVEDD II (mm)	58	59	69	55
LVEDV II (ml)	170	172	232	149
LVESD II			58	49
LVEF II (%)	34	38	30	37
Akinesie II	inferobasal	septal, basal	apikal	apikal, post
Szinti-Koeffizient 1. po	1,15		1,15	0,96
Komplikationen	0	0	1	0
LVEDD III	62	57	50	52
LVEDV III	188	173	114	130
LVEF III	29	38	52	58
Akinesie III	keine	keine	ant	keine
Koeffizient 2. po	1,24			
LVEDD IV	64	57		44
LVEDV IV	220	105		87
LVEF IV	22	48		58
Akinesie IV	lat, antsept, inf	keine		keine
Koeffizient 3. po				

n	12	13	14	15
Kohorte	CABG+Zellen	CABG+Zellen	CABG+Zellen	CABG+Zellen
Geschlecht	männlich	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	310,57	n.b.	2,29	734,00
Alter (Jahre)	56,83	63,64	74,82	63,75
NYHA	2	2	2	2
LVEDD I (mm)	65	58	55	62
LVEDV I (ml)	189	179	138	200
LVESD I	39	48		52
LVEF I (%)	35	44	33	34
Akinesie I	VW	apikal	apikal, VW, septal	inferior-basal, inferior-medial
Hb I	9,8	8,3	8,2	8,7
Leukos I	9,56	7,13	8,47	7,65
Thrombos I	182	216	79	226
Grafts	4	4	2	2
Zellzahl (Mio)	6	8		8
Beatmung (Std.)	5	13	7	4
Katecholamine (mg/kg KG/min)	3	6	0	3
CK po	516	3698	450	387
CK-MB po	32,6	421	17,7	19,2
Dauer (d)	11	15	13	8
Hb II	7,9	7,8	7	7,3
Leukos II	9,92	12,3	12,2	8,4
Thrombos II	270	517	347	290
CRP po	27,9	50	14,7	58,2
LVEDD II (mm)		58	52	58
LVEDV II (ml)	200	180	115	
LVESD II		42		38
LVEF II (%)	39	29	59	37
Akinesie II	VW	apikale HW, inferoapikal	keine	inferior, basal
Szinti-Koeffizient 1. po	0,85	1	1,05	1,05
Komplikationen	0	1	0	0
LVEDD III	60	58	53	57
LVEDV III	234	172		123
LVEF III	41	39	55	38
Akinesie III	anterolateral, anteroseptal	septal medial+apikal, ant+inf.	keine	infero-basal
Koeffizient 2. po				
LVEDD IV				
LVEDV IV				
LVEF IV				
Akinesie IV				
Koeffizient 3. po				

n	16	17	18	19
Kohorte	CABG+Zellen	CABG+Zellen	CABG+Zellen	CABG+Zellen
Geschlecht	männlich	weiblich	männlich	weiblich
Infarktalter (Wo.)	1215,43	n.b.	3,00	2,57
Alter (Jahre)	65,55	67,90	70,52	75,90
NYHA	2	2	2	2
LVEDD I (mm)	50	56	47	56
LVEDV I (ml)	103	126	149	110
LVESD I	43	41	39	39
LVEF I (%)	22	31	33	33
Akinesie I	anterior, inferior	inferior, HW	apikal	inferior, posterior
Hb I	9	6,4	9,3	8,1
Leukos I	6,74	6,44	6,28	10,4
Thrombos I	132	361	158	206
Grafts	1	3	3	5
Zellzahl (Mio)	3,8	8	8	8
Beatmung (Std.)	3	9	7	8
Katecholamine (mg/kg KG/min)	3	3	3	4,5
CK po	867	390	181	931
CK-MB po	17,2	31,6	16	22,5
Dauer (d)	11	22	19	16
Hb II		6,2	7,6	6,6
Leukos II	6,3	7,46	8,9	10,5
Thrombos II	231	415	252	369
CRP po	71,2	41,7	16,2	25,7
LVEDD II (mm)	49	55		
LVEDV II (ml)	109	130		
LVESD II	41			
LVEF II (%)	24	26		
Akinesie II	apikal, post	septal, inf., post.		
Szinti-Koeffizient 1. po				
Komplikationen	0	1	0	1
LVEDD III	46	50	37	54
LVEDV III	101	117	78	113
LVEF III	44	41	58	54
Akinesie III			septal,lat.,inf.	
Koeffizient 2. po				
LVEDD IV				
LVEDV IV				
LVEF IV				
Akinesie IV				
Koeffizient 3. po				

n	20	21	22
Kohorte	CABG+Zellen	CABG	CABG
Geschlecht	weiblich	männlich	weiblich
Infarkalter (Wo.)	243,14	8,29	47,14
Alter (Jahre)	40,92	68,09	59,92
NYHA	2	2	1
LVEDD I (mm)	55	46	55
LVEDV I (ml)	145	94	97
LVESD I	33	38	41
LVEF I (%)	25	52	45
Akinesie I	anterior,apical, lateral	inf.-basal, post.lateral, post.basal	inferior-basal, posterior
Hb I	9,1	9,4	9,6
Leukos I	9,04	7,49	9,23
Thrombos I	259	199	265
Grafts	0	4	3
Zellzahl (Mio)	80		
Beatmung (Std.)	4,5	8,5	6
Katecholamine (mg/kg KG/min)	4,5	0	3
CK po	466	423	331
CK-MB po	23,3	18,2	12,3
Dauer (d)	17	14	10
Hb II	6,5	9,1	6,6
Leukos II	9,02	11,7	9,39
Thrombos II	435	277	339
CRP po	47,5	16,3	14
LVEDD II (mm)		45	50
LVEDV II (ml)		122	85
LVESD II		26	35
LVEF II (%)	25	44	55
Akinesie II		Akinesie VW	Akinesie post.-lat.-apexnah, Hypok.: post.-lat. Basal
Szinti-Koeffizient 1. po		1,04	1,02
Komplikationen	0	0	0
LVEDD III	50	49	53
LVEDV III		97	90
LVEF III	41	51	51
Akinesie III	septal	anterolateral	post.apical, Hypok.: post.lat.med. und basal
Koeffizient 2. po			0,98
LVEDD IV		49	50
LVEDV IV		97	84
LVEF IV		51	51
Akinesie IV		keine	keine
Koeffizient 3. po			1,21

n	23	24	25
Kohorte	CABG	CABG	CABG
Geschlecht	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	682,86	6,43	3,86
Alter (Jahre)	62,85	51,20	59,39
NYHA	3	2	1
LVEDD I (mm)	59	59	55
LVEDV I (ml)	153	189	154
LVESD I	41	51	45
LVEF I (%)	52	47	51
Akinesie I	keine	inferior-basal, medial	keine
Hb I	8,1	9,4	5,5
Leukos I	7,95	7,58	5,17
Thrombos I	257	192	143
Grafts	3	3	4
Zellzahl (Mio)			
Beatmung (Std.)	8	5	9
Katecholamine (mg/kg KG/min)	0	0	3
CK po	1166	653	417
CK-MB po	26,3	26,2	29,1
Dauer (d)	11	13	14
Hb II	6,2	7	7,8
Leukos II	14,5	13,1	8,34
Thrombos II	357	327	342
CRP po	24	28,6	30,4
LVEDD II (mm)	56	61	53
LVEDV II (ml)	188	196	144
LVESD II	50		37
LVEF II (%)	60	44	58
Akinesie II	Hypokinesie inf.-basal, medial, post.	nicht ableitbar	Hypok.: inf.-medial, Akin.:inf.-basal
Szinti-Koeffizient 1. po	1,15	0,98	0,84
Komplikationen	0	0	0
LVEDD III	59	59	59
LVEDV III	170	193	136
LVEF III	49	45	53
Akinesie III	Hypok.: inf.basal, septal med.apical, anterolat.	keine	Hypok.: inferior medial+basal
Koeffizient 2. po	1,16	0,93	
LVEDD IV		58	58
LVEDV IV		184	142
LVEF IV		43	49
Akinesie IV		keine	keine
Koeffizient 3. po			

n	26	27	28
Kohorte	CABG	CABG	CABG
Geschlecht	weiblich	männlich	männlich
Infarkalter (Wo.)	7,86	n.b.	n.b.
Alter (Jahre)	70,67	65,07	54,78
NYHA	2	2	2
LVEDD I (mm)	56	63	58
LVEDV I (ml)	138	145	
LVESD I	43	49	45
LVEF I (%)	34	40	27
Akinesie I	keine	keine	inferior-basal, medial
Hb I	8,6	8,7	8,5
Leukos I	10,4	5,86	10,4
Thrombos I	352	171	243
Grafts	3	4	3
Zellzahl (Mio)			
Beatmung (Std.)	6	4	5
Katecholamine (mg/kg KG/min)	3	0	6
CK po	735	476	418
CK-MB po	43,3	29,5	29,5
Dauer (d)	12	10	11
Hb II	7,8	7,2	6,6
Leukos II	13,1	7,8	9,2
Thrombos II	519	437	260
CRP po	18,9	31,2	43
LVEDD II (mm)	53	63	55
LVEDV II (ml)	135	179	
LVESD II	35	52	40
LVEF II (%)	39	42	41
Akinesie II	septal,apical, Hypok.: inf.post.	Hypok.: post., inf. Apikal	inf-post, basal, medial
Szinti-Koeffizient 1. po	0,9		0,89
Komplikationen	0	0	0
LVEDD III	56	63	58
LVEDV III	165	175	177
LVEF III	47	42	30
Akinesie III	Akin.: inferobasal, Hypok.: inf.,med.,septal	keine	HW, apical
Koeffizient 2. po		0,91	
LVEDD IV	54	62	56
LVEDV IV	124		172
LVEF IV	55	50	48
Akinesie IV			post, inf
Koeffizient 3. po			

n	29	30	31
Kohorte	CABG	CABG	CABG
Geschlecht	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	n.b.	n.b.	452,86
Alter (Jahre)	75,12	67,30	76,37
NYHA	3	2	2
LVEDD I (mm)	60	59	69
LVEDV I (ml)	161	136	210
LVESD I	49	41	63
LVEF I (%)	41	46	23
Akinesie I	inferior-basal	inf.basal,med.	posterior, inferior, inferobasal
Hb I	8,7	8,6	7,8
Leukos I	8,53	7,23	5,72
Thrombos I	266	222	152
Grafts	4	2	2
Zellzahl (Mio)			
Beatmung (Std.)	7	4,5	6
Katecholamine (mg/kg KG/min)	0	6	4,5
CK po	195	545	449
CK-MB po	21,7	19,4	25,5
Dauer (d)	10	12	10
Hb II	6,2	8,1	6,7
Leukos II	10,7	10,2	7,4
Thrombos II	337	425	197
CRP po	113	26,6	63,7
LVEDD II (mm)	34	58	68
LVEDV II (ml)	170	138	212
LVESD II	46	46	60
LVEF II (%)	39	48	26
Akinesie II	post+inf.basal	inf.	keine
Szinti-Koeffizient 1. po	1,08	1,07	1,29
Komplikationen	0	0	0
LVEDD III	50	56	62
LVEDV III	120	142	215
LVEF III	52	45	29
Akinesie III	inferior basal	keine	inferior
Koeffizient 2. po			1,04
LVEDD IV	59	54	48
LVEDV IV	126	141	180
LVEF IV	47	52	32
Akinesie IV	keine	keine	lat.
Koeffizient 3. po			

n	32	33	34
Kohorte	CABG	CABG	CABG
Geschlecht	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	7,14	509,86	6,29
Alter (Jahre)	53,98	61,02	62,33
NYHA	2	2	2
LVEDD I (mm)	64	58	68
LVEDV I (ml)	162	151	207
LVESD I	51	48	60
LVEF I (%)	40	47	23
Akinesie I	inferior	keine	ant.-medial-apikal, lat.med.apikal, septal,
Hb I	9,4	9,6	7,5
Leukos I	5,3	5,74	8,56
Thrombos I	205	167	242
Grafts	5	3	4
Zellzahl (Mio)			
Beatmung (Std.)	3,5	4	6
Katecholamine (mg/kg KG/min)	6	6	6
CK po	336	539	571
CK-MB po	37,7	22,1	32,4
Dauer (d)	7	12	14
Hb II	7,5	7,3	7,6
Leukos II	6,7	6,15	9,85
Thrombos II	261	233	266
CRP po	26,4	18,1	18,9
LVEDD II (mm)	64	54	62
LVEDV II (ml)	172	113	203
LVESD II	50		53
LVEF II (%)	38	50	30
Akinesie II	Akin.: inferior	Hypok.: post.lat.	Apex, inferoapikal
Szinti-Koeffizient 1. po	1,02		
Komplikationen	0	0	1
LVEDD III	63	44	64
LVEDV III	126	115	122
LVEF III	43	50	28
Akinesie III	post., lat.	post.	Septum, anteroseptal, Apex, inferior medial und apikal
Koeffizient 2. po			
LVEDD IV			
LVEDV IV			
LVEF IV			
Akinesie IV			
Koeffizient 3. po			

n	35	36	37
Kohorte	CABG	CABG	CABG
Geschlecht	weiblich	männlich	weiblich
Infarktalter (Wo.)	19,86	829,57	2,14
Alter (Jahre)	59,29	72,87	69,50
NYHA	2	2	2
LVEDD I (mm)	67	62	47
LVEDV I (ml)	190		107
LVESD I	62	43	
LVEF I (%)	37	37	37
Akinesie I	posterior, inferior-basal, inferomedial	apikal	anterolateral, apikal
Hb I	8,6	9,5	8,2
Leukos I	8,06	6,35	7,49
Thrombos I	193	196	312
Grafts	4	4	4
Zellzahl (Mio)			
Beatmung (Std.)	5,5	5	6,5
Katecholamine (mg/kg KG/min)	3	0	3
CK po	455	633	
CK-MB po	23,1	40,4	
Dauer (d)	9	9	20
Hb II	7,4	7,4	9,3
Leukos II	14,4	9,3	10,1
Thrombos II	259	230	254
CRP po	23,2	17,9	2,79
LVEDD II (mm)	66	57	45
LVEDV II (ml)	187	157	140
LVESD II	59		
LVEF II (%)	34	36	35
Akinesie II	post., inf-basal, inf-med.	apikal	apikal
Szinti-Koeffizient 1. po	0,83	1,03	
Komplikationen	1	0	1
LVEDD III	60	58	
LVEDV III		156	
LVEF III	37	36	30
Akinesie III		Apex	
Koeffizient 2. po			
LVEDD IV			
LVEDV IV			
LVEF IV			
Akinesie IV			
Koeffizient 3. po			

n	38	39	40
Kohorte	CABG	CABG	CABG
Geschlecht	männlich	männlich	männlich
Infarktalter (Wo.)	0,29	3,86	n.b.
Alter (Jahre)	49,18	54,57	76,67
NYHA	2	3	3
LVEDD I (mm)			55
LVEDV I (ml)			166
LVESD I			
LVEF I (%)	18	36	25
Akinesie I	n.b.	n.b.	VW
Hb I	8,6	9,9	9,8
Leukos I	10,6	6	5,73
Thrombos I	265	150	192
Grafts	4	5	4
Zellzahl (Mio)			
Beatmung (Std.)	6	4	10
Katecholamine (mg/kg KG/min)	3	0	6
CK po	679	843	
CK-MB po	32,2	33,3	
Dauer (d)	14	8	13
Hb II	9,1	6,7	8,5
Leukos II	10,7	9,52	10,2
Thrombos II	479	388	236
CRP po	34,7	70,7	43,3
LVEDD II (mm)	74	53	
LVEDV II (ml)		143	
LVESD II	65	41	
LVEF II (%)	19	46	
Akinesie II	globale Hypokinesie	Hypok: septal-apikal, anterolat.-apikal, Akin.: inf.-basal	
Szinti-Koeffizient 1. po			
Komplikationen	1	0	1
LVEDD III	58	56	56
LVEDV III	173		166
LVEF III	30	48	30
Akinesie III	septum basal+medial, post.basal	keine	apex
Koeffizient 2. po			
LVEDD IV			
LVEDV IV			
LVEF IV			
Akinesie IV			
Koeffizient 3. po			

VI.2 Thesen

1. Die Therapie der chronisch-ischämischen Kardiomyopathie mit autologer CD133+-Stammzelltransplantation und CABG-Operation resultiert zum Zeitpunkt 6 Monate p.o. in einer signifikant besseren linksventrikulären Ejektionsfraktion als die alleinige Therapie mit koronarer Bypass-Operation.
2. Die myokardiale Perfusion ist bei Patienten mit Stammzelltransplantation + CABG-Operation besser als bei Patienten, die ausschließlich eine Bypassoperation erhalten haben.
3. Patienten mit einer Ausgangs-LVEF <35% profitieren in höherem Maße von einer Stammzell-Therapie als Patienten mit einer päroperativen LVEF >35%.
4. Bei Patienten mit Stammzelltransplantation + CABG-Operation ist der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVEDD) zum Zeitpunkt 6 Monate p.o. deutlich geringer als bei Patienten mit alleiniger Bypassoperation.
5. Zum Zeitpunkt 12 Monate nach myokardialer Stammzell-Therapie ist im direkten Vergleich der Gruppen (Stammzell- vs. Kontrollgruppe) kein signifikanter Unterschied in der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) oder im LVEDD mehr nachweisbar.
6. Bei Bestimmung der linksventrikulären Ejektionsfraktion ist die Echokardiographie durch erfahrene Untersucher der LVEF-Messung mittels MRT bei niedrigerem finanziellem und technischem Aufwand äquivalent.
7. Eine Korrelation zwischen Infarktalter und Verbesserung der LVEF nach CABG-Operation mit oder ohne Stammzelltransplantation liegt nicht vor.
8. Transplantationsbezogene Nebenwirkungen werden bei Zellzahlen bis zu 80 Mio. Zellen nicht beobachtet.
9. Zur besseren Einschätzung und Bewertung des Transplantationsverfahrens bzgl. seiner Wirkungen und Nebenwirkungen sind placebokontrollierte Studien notwendig.
10. Die intraoperative Zellgewinnung und –aufbereitung ist ökonomisch, patientenfreundlich und bietet die Möglichkeit der Verblindung.

VI.3 Einverständniserklärung

VI.3.1 Blatt 1

Patienteninformation	UNIVERSITÄT ROSTOCK Medizinische Fakultät Universität Rostock Medizinische Fakultät Klinik und Poliklinik für Herzchirurgie Schillingallee 35 Postfach 10 08 88 18055 Rostock
-----------------------------	--

Therapiestudie bei koronarer Bypassoperation nach Herzinfarkt:

AUTOLOGE KNOCHENMARK-STAMMZELLTRANSPLANTATION ZUR MYOKARDIALEN REGENERATION IM RAHMEN DER AORTOKORONAREN BYPASSOPERATION

Eine randomisiert, geblindete, kontrollierte klinische Studie

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient !

Sie wurden in unserer Klinik zur Bypassoperation aufgenommen, da hochgradige Verengungen von Herzkranzgefäßen diese notwendig werden lassen. Wir bedanken uns vorab für Ihr Vertrauen und werden Sie mit den besten zur Verfügung stehenden Verfahren operieren und behandeln.

In Ihrem speziellen Fall ist bei den Voruntersuchungen zusätzlich aufgefallen, dass es im Rahmen eines vorangegangenen Herzinfarktes zum Untergang eines Teiles des Herzmuskelgewebe gekommen ist, so dass die Pumpfunktion der linken Herzkammer in einem bestimmten Bereich beeinträchtigt ist. Durch die Bypassoperation wird zwar die Durchblutung des Herzmuskel verbessert bzw. wieder hergestellt, allerdings gibt es zur Zeit keine Möglichkeit, das einmal abgestorbene Herzmuskelgewebe wieder zu beleben. Die geschwächten Herzmuskelareale erschweren die Muskelarbeit für das restliche Herz. Das kann zu einer Überforderung Ihres Herzens führen. Es kann aber auch geschehen, dass das erlahmte Gebiet nicht dem Blutdruck im Inneren Ihres Herzens standhält und sich zu einer Aussackung aufweitet.

Mit einem neuen Behandlungsverfahren wird nun an verschiedenen Zentren weltweit versucht, durch Einbringen von so genannten Stammzellen oder Vorläuferzellen in das erkrankte Herzmuskelgewebe ein Wachstum von neuen Blutgefäßen und Herzmuskelzellen zu erreichen. Umfangreiche Experimente haben in den vergangenen 10 Jahren gezeigt, dass dies im Tier prinzipiell möglich ist, und dadurch sowohl die Pumpfunktion als auch die Durchblutung des Herzmuskels verbessert wird.

Wir haben in den Jahren 2001 bis 2006 Untersuchung an insgesamt 45 Patienten in verschiedenen Studien durchgeführt, bei der speziell die Durchführbarkeit und Sicherheit der Injektion bestimmter Zellen aus dem Knochenmark in das erkrankte Herzmuskelgewebe überprüft wurde. Die Zellen werden am Tag vor der Operation in örtlicher Betäubung aus dem Beckenkamm entnommen und entsprechend für die Injektion vorbereitet.

Hierbei wurden keine durch das neue Behandlungsverfahren bedingten Komplikationen beobachtet, sowohl während des Krankenhausaufenthaltes als auch bis zu einem Jahr nach der Bypassoperation.

Um nun die speziell die Wirksamkeit dieses Verfahrens besser einschätzen zu können, führen wir eine zweite Untersuchung durch, bei welcher bei 50 Patienten zusammen mit der Bypassoperation die Injektion von Knochenmarkszellen in den erkrankten Herzmuskel durchgeführt, während bei 50 weiteren Patienten die Bypassoperation ohne Zellinjektion vorgenommen wird.

Falls Sie sich für die Teilnahme an dieser Studie entschließen, werden wir zusätzlich zu den regulären Voruntersuchungen für die Operation noch ein Langzeit-EKG, eine Spiroergometrie, eine Myokardszintigraphie, Magnetresonanztomographie (MRT) und eine Echokardiographie durchführen.

Am Tag vor der Operation wird dann aus dem Beckenkamm Knochenmark entnommen. Dafür wird diese Stelle betäubt. Mit einer entsprechenden Nadel punktiert der Hämatologe das Knochenmark und gewinnt einige Zellen. Die Zellen werden dann speziell aufgearbeitet und am nächsten Tag im Rahmen der Bypassoperation in den erkrankten Herzmuskel eingespritzt. Die Operation, welche ca. 4 Stunden dauert, wird hierdurch um ca. 2-3 Minuten verlängert. Evtl. überlebende Knochenmarkzellen werden aufbewahrt und für weitere wissenschaftliche Untersuchungen verwendet.

Sobald Sie sich gut von der Operation erholt haben, werden wir durch eine Wiederholung der Untersuchungen von vor der Operation feststellen, ob sich eine Verbesserung von Pumpfunktion und Durchblutung des Herzmuskels einstellt. Die entsprechenden Untersuchungen (wiederum Langzeit-EKG, eine Spiroergometrie, eine Myokardszintigraphie, Magnetresonanztomographie (MRT) und eine Echokardiographie) werden vor Verlegung in Ihr Heimatkrankenhaus bzw. in die Anschlussheilbehandlung durchgeführt. Darüber hinaus würden wir die genannten Untersuchungen nach 3 Monaten und 1 Jahr gerne nochmals im Rahmen einer ambulanten Nachuntersuchung wiederholen.

Die Bypassoperation wird in jedem Fall wie geplant durchgeführt, und die entsprechenden Risiken sind im beiliegenden speziellen Aufklärungsbogen beschrieben. Zusätzlich kann es durch die Knochenmarkspunktion in seltenen Fällen zu Komplikationen kommen (Infektionen, Gefäßverletzung, Blutverlust, Einblutung in umliegendes Gewebe Nervenverletzung). Bei der Injektion der Zellen könnte es theoretisch zu Komplikationen wie der Einschleppung von Keimen (Infektion), Einblutung in den Herzmuskel oder Herzrhythmusstörungen kommen. Wir haben, wie erwähnt, in der vorangegangenen Studie nichts dergleichen beobachtet, werden aber trotzdem engmaschig die entsprechenden Befunde kontrollieren. Ob die Behandlung den erhofften Erfolg hat, werden wir erst nach Abschluss dieser Untersuchung wissen. Falls Sie Ihre Einwilligung zu dieser Untersuchung geben, wird mittels eines Computerprogramms (Zufallsgenerator) entschieden, ob zusätzlich zur Bypassoperation die Zellbehandlung durchgeführt wird. Die o. a. Untersuchungen werden in jedem Fall vorgenommen, um später die Befunde von Patienten mit zusätzlicher Zellbehandlung mit denen von Patienten ohne zusätzlicher Zellbehandlung vergleichen zu können.

Sie sind als Patient für jegliche Folgen aus dieser Studie zusätzlich zu ihrer als Patient üblichen Versicherung versichert.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig, auch nach Zusage können Sie zu jeder Zeit ohne Angabe von Gründen diese widerrufen. Dies wird keine Nachteile für Ihre weitere Behandlung bedeuten.

Daten, die während der Studie über Sie erhoben werden, werden ebenso vertraulich behandelt, wie es unsere ärztliche Schweigepflicht für Sie als nicht an der Studie teilnehmenden Patienten vorsieht.

Notfalladresse bei unerwünschten Ereignissen während der Studie:
Klinik für Herzchirurgie der Universität Rostock. Telefon : 0381-494-6120

Ich erkläre hiermit, dass ich den Patienten ausführlich über die o. g. Studie informiert und aufgeklärt habe.

.....
Ort, Datum

.....
Unterschrift des Prüfarztes

Patienteneinwilligung

UNIVERSITÄT ROSTOCK Medizinische Fakultät

Universität Rostock
Medizinische Fakultät
Klinik und Poliklinik für Herzchirurgie
Schillingallee 35
Postfach 10 08 88
18055 Rostock

AUTOLOGE KNOCHENMARK-STAMMZELLTRANSPLANTATION ZUR MYOKARDIALEN REGENERATION IM RAHMEN DER AORTOKORONAREN BYPASSOPERATION

Eine randomisiert, geblindete kontrollierte klinische Studie

Ich, (Name des Patienten), wurde vom unten genannten Arzt vollständig über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung mit dem o.g. Titel aufgeklärt. Ich habe den Aufklärungstext gelesen und verstanden. Ich hatte die Möglichkeit, Fragen zu stellen, und habe die Antworten verstanden und akzeptiere sie. Mein Arzt hat mich über die mit der Teilnahme an der Studie verbundenen Risiken und den möglichen Nutzen informiert.

Ich bin über die geplanten Untersuchungen und die Aufbewahrung nicht benötigter Knochenmarkzellen für etwaige Folgeuntersuchungen aufgeklärt worden und gebe auch hierfür meine Zustimmung.

Ich hatte ausreichend Zeit, mich zur Teilnahme an dieser Studie zu entscheiden und weiß, dass die Teilnahme an dieser klinischen Prüfung freiwillig ist. Ich weiß, dass ich jederzeit und ohne Angabe von Gründen diese Zustimmung widerrufen kann, ohne dass sich dieser Entschluss nachteilig auf meine spätere Behandlung auswirken wird. Die Einwilligung zur Aufbewahrung nicht benötigter Zellen kann ebenfalls jederzeit widerrufen werden.

Ich weiß, dass ich gegen Schäden, die auf das in der Studie eingesetzte Verfahren zurückzuführen sind, durch eine gesonderte Studienversicherung versichert bin.

Datenschutzrechtliche Patienteneinwilligung (§ 40 Abs.1, Satz 2 und Abs. 2, AMG 1998):

Mir ist bekannt, dass meine persönlichen Daten gespeichert werden für Überprüfungen im Rahmen der Aufsicht durch die Gesundheitsbehörden (Arzneimittelaufsicht) sowie für Qualitätssicherungsmaßnahmen (*source data verification*). Mir wurde versichert, dass dabei die Grundsätze des Datenschutzes und der ärztlichen Schweigepflicht beachtet werden, d.h. meine personenbezogenen Daten vertraulich behandelt und nicht an andere als die nachfolgend genannten Personen und Stellen weitergegeben werden:

Klinik für Herzchirurgie, Klinik für Innere Medizin, Abtlg. Hämatologie, Abtlg. Kardiologie

Schließlich erkläre ich auch mein Einverständnis zur wissenschaftlichen Veröffentlichung der Forschungsergebnisse unter Beachtung der datenschutzrechtlichen Bestimmungen.

Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und dieser Einwilligungserklärung erhalten. Ich erkläre hiermit meine freiwillige Teilnahme an dieser klinischen Studie.

Rostock, den

Unterschrift des Patienten

Unterschrift des aufklärenden Studienarztes

VI.4 Literaturverzeichnis

1. Marelli D, Desrosiers C, el-Alfy M, Kao RL, Chiu RC. Cell transplantation for myocardial repair: an experimental approach. *Cell Transplant* 1992;**1**(6):383-90.
2. Chiu RC, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann Thorac Surg* 1995;**60**(1):12-8.
3. Koh GY, Klug MG, Soonpaa MH, Field LJ. Differentiation and long-term survival of C2C12 myoblast grafts in heart. *J Clin Invest* 1993;**92**(3):1548-54.
4. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998;**4**(8):929-33.
5. Soonpaa MH, Daud AI, Koh GY, et al. Potential approaches for myocardial regeneration. *Ann N Y Acad Sci* 1995;**752**:446-54.
6. Soonpaa MH, Koh GY, Klug MG, Field LJ. Formation of nascent intercalated disks between grafted fetal cardiomyocytes and host myocardium. *Science* 1994;**264**(5155):98-101.
7. Koh GY, Soonpaa MH, Klug MG, Field LJ. Long-term survival of AT-1 cardiomyocyte grafts in syngeneic myocardium. *Am J Physiol* 1993;**264**(5 Pt 2):H1727-33.
8. Reinecke H, Poppa V, Murry CE. Skeletal muscle stem cells do not transdifferentiate into cardiomyocytes after cardiac grafting. *J Mol Cell Cardiol* 2002;**34**(2):241-9.
9. Reinecke H, Minami E, Poppa V, Murry CE. Evidence for fusion between cardiac and skeletal muscle cells. *Circ Res* 2004;**94**(6):e56-60.
10. Reinecke H, MacDonald GH, Hauschka SD, Murry CE. Electromechanical coupling between skeletal and cardiac muscle. Implications for infarct repair. *J Cell Biol* 2000;**149**(3):731-40.
11. Menasche P. Skeletal myoblast transplantation for cardiac repair. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2004;**2**(1):21-8.
12. Jain M, DerSimonian H, Brenner DA, et al. Cell therapy attenuates deleterious ventricular remodeling and improves cardiac performance after myocardial infarction. *Circulation* 2001;**103**(14):1920-7.
13. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;**357**(9252):279-80.
14. Laflamme MA, Murry CE. Regenerating the heart. *Nat Biotechnol* 2005;**23**(7):845-56.
15. Li RK, Mickle DA, Weisel RD, Zhang J, Mohabeer MK. In vivo survival and function of transplanted rat cardiomyocytes. *Circ Res* 1996;**78**(2):283-8.

16. Watanabe E, Smith DM, Jr., Delcarpio JB, et al. Cardiomyocyte transplantation in a porcine myocardial infarction model. *Cell Transplant* 1998;**7**(3):239-46.
17. Leor J, Patterson M, Quinones MJ, Kedes LH, Kloner RA. Transplantation of fetal myocardial tissue into the infarcted myocardium of rat. A potential method for repair of infarcted myocardium? *Circulation* 1996;**94**(9 Suppl):II332-6.
18. Li RK, Mickle DA, Weisel RD, et al. Natural history of fetal rat cardiomyocytes transplanted into adult rat myocardial scar tissue. *Circulation* 1997;**96**(9 Suppl):II-179-86; discussion 186-7.
19. Mangioni S, Balduzzi A, Rivolta A, et al. Long-term persistence of hemopoietic chimerism following sex-mismatched bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997;**20**(11):969-73.
20. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 2002;**346**(1):5-15.
21. Steinhoff G, Wonigeit K, Schafers HJ, Haverich A. Sequential analysis of monomorphic and polymorphic major histocompatibility complex antigen expression in human heart allograft biopsy specimens. *J Heart Transplant* 1989;**8**(5):360-70.
22. Laflamme MA, Myerson D, Saffitz JE, Murry CE. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ Res* 2002;**90**(6):634-40.
23. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004;**428**(6983):664-8.
24. Muller P, Pfeiffer P, Koglin J, et al. Cardiomyocytes of noncardiac origin in myocardial biopsies of human transplanted hearts. *Circulation* 2002;**106**(1):31-5.
25. Hocht-Zeisberg E, Kahnert H, Guan K, et al. Cellular repopulation of myocardial infarction in patients with sex-mismatched heart transplantation. *Eur Heart J* 2004;**25**(9):749-58.
26. Deb A, Wang S, Skelding KA, Miller D, Simper D, Caplice NM. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: A study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients. *Circulation* 2003;**107**(9):1247-9.
27. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 1998;**279**(5356):1528-30.
28. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;**410**(6829):701-5.

29. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;**7**(4):430-6.
30. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev* 2005;**85**(4):1373-416.
31. Hou M, Yang KM, Zhang H, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells from human bone marrow improves damaged heart function in rats. *Int J Cardiol* 2006.
32. Tang J, Xie Q, Pan G, Wang J, Wang M. Mesenchymal stem cells participate in angiogenesis and improve heart function in rat model of myocardial ischemia with reperfusion. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;**30**(2):353-61.
33. Berry MF, Engler AJ, Woo YJ, et al. Mesenchymal stem cell injection after myocardial infarction improves myocardial compliance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;**290**(6):H2196-203.
34. Ma N, Stamm C, Kaminski A, et al. Human cord blood cells induce angiogenesis following myocardial infarction in NOD/scid-mice. *Cardiovasc Res* 2005;**66**(1):45-54.
35. Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, et al. Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium. *Circulation* 2005;**111**(17):2198-202.
36. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002;**106**(15):1913-8.
37. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;**106**(24):3009-17.
38. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001;**104**(9):1046-52.
39. Hamano K, Li TS, Kobayashi T, et al. Therapeutic angiogenesis induced by local autologous bone marrow cell implantation. *Ann Thorac Surg* 2002;**73**(4):1210-5.
40. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003;**361**(9351):45-6.
41. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003;**107**(18):2294-302.

42. Siminiak T, Fiszer D, Jerzykowska O, et al. Percutaneous trans-coronary-venous transplantation of autologous skeletal myoblasts in the treatment of post-infarction myocardial contractility impairment: the POZNAN trial. *Eur Heart J* 2005;**26**(12):1188-95.
43. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;**98**(18):10344-9.
44. Sugano Y, Anzai T, Yoshikawa T, et al. Granulocyte colony-stimulating factor attenuates early ventricular expansion after experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2005;**65**(2):446-56.
45. Iwanaga K, Takano H, Ohtsuka M, et al. Effects of G-CSF on cardiac remodeling after acute myocardial infarction in swine. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;**325**(4):1353-9.
46. Honold J, Lehmann R, Heeschen C, et al. Effects of granulocyte colony stimulating factor on functional activities of endothelial progenitor cells in patients with chronic ischemic heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;**26**(10):2238-43.
47. Deten A, Volz HC, Clamors S, et al. Hematopoietic stem cells do not repair the infarcted mouse heart. *Cardiovasc Res* 2005;**65**(1):52-63.
48. Norol F, Merlet P, Isnard R, et al. Influence of mobilized stem cells on myocardial infarct repair in a nonhuman primate model. *Blood* 2003;**102**(13):4361-8.
49. Nienaber CA, Petzsch M, Kleine HD, Eckard H, Freund M, Ince H. Effects of granulocyte-colony-stimulating factor on mobilization of bone-marrow-derived stem cells after myocardial infarction in humans. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;**3 Suppl 1**:S73-7.
50. Ince H, Petzsch M, Kleine HD, et al. Preservation from left ventricular remodeling by front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte-colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI). *Circulation* 2005;**112**(20):3097-106.
51. Ince H, Petzsch M, Kleine HD, et al. 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* 2005;**112**(9 Suppl):I73-80.
52. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004;**364**(9429):141-8.
53. Stamm C, Kleine HD, Westphal B, et al. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction. *Thorac Cardiovasc Surg* 2004;**52**(3):152-8.

54. Patel AN, Geffner L, Vina RF, et al. Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;**130**(6):1631-8.
55. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004;**428**(6983):668-73.
56. Stamm C, Kleine HD, Choi YH, et al. Intramyocardial delivery of CD133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease: safety and efficacy studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;**133**(3):717-25.
57. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;**1**(8476):307-10.
58. Ghodsizad A, Klein HM, Borowski A, et al. Intraoperative isolation and processing of BM-derived stem cells. *Cytotherapy* 2004;**6**(5):523-6.
59. Kawamoto A, Tkebuchava T, Yamaguchi J, et al. Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia. *Circulation* 2003;**107**(3):461-8.
60. Gojo S, Gojo N, Takeda Y, et al. In vivo cardiovascularogenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2003;**288**(1):51-9.
61. Tomita S, Mickle DA, Weisel RD, et al. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;**123**(6):1132-40.
62. Schuster MD, Kocher AA, Seki T, et al. Myocardial neovascularization by bone marrow angioblasts results in cardiomyocyte regeneration. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;**287**(2):H525-32.
63. Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM, Hauschka SD. Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J Clin Invest* 1996;**98**(11):2512-23.
64. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann N Y Acad Sci* 2001;**938**:221-9; discussion 229-30.
65. Schachinger V, Assmus B, Britten MB, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol* 2004;**44**(8):1690-9.
66. Thompson RB, van den Bos EJ, Davis BH, et al. Intracardiac transplantation of a mixed population of bone marrow cells improves both regional systolic contractility and diastolic relaxation. *J Heart Lung Transplant* 2005;**24**(2):205-14.

67. Assmus B, Honold J, Schachinger V, et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;**355**(12):1222-32.
68. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;**355**(12):1210-21.
69. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, et al. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;**355**(12):1199-209.
70. Kawada H, Fujita J, Kinjo K, et al. Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood* 2004;**104**(12):3581-7.
71. Kajstura J, Rota M, Whang B, et al. Bone marrow cells differentiate in cardiac cell lineages after infarction independently of cell fusion. *Circ Res* 2005;**96**(1):127-37.
72. Badorff C, Brandes RP, Popp R, et al. Transdifferentiation of blood-derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes. *Circulation* 2003;**107**(7):1024-32.
73. Yoon YS, Wecker A, Heyd L, et al. Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction. *J Clin Invest* 2005;**115**(2):326-38.
74. Olivares EL, Ribeiro VP, Werneck de Castro JP, et al. Bone marrow stromal cells improve cardiac performance in healed infarcted rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;**287**(2):H464-70.
75. Lin GS, Lu JJ, Jiang XJ, Li XY, Li GS. Autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells improved heart function after myocardial infarction. *Acta Pharmacol Sin* 2004;**25**(7):876-86.
76. Hamano K, Nishida M, Hirata K, et al. Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. *Jpn Circ J* 2001;**65**(9):845-7.
77. Leone AM, Rutella S, Bonanno G, et al. Mobilization of bone marrow-derived stem cells after myocardial infarction and left ventricular function. *Eur Heart J* 2005;**26**(12):1196-204.
78. Chen SL, Fang WW, Ye F, et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;**94**(1):92-5.
79. Chen SL, Fang WW, Qian J, et al. Improvement of cardiac function after transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in patients with acute myocardial infarction. *Chin Med J (Engl)* 2004;**117**(10):1443-8.

80. Ghostine S, Carrion C, Souza LC, et al. Long-term efficacy of myoblast transplantation on regional structure and function after myocardial infarction. *Circulation* 2002;**106**(12 Suppl 1):I131-6.
81. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, et al. Improvement of collateral perfusion and regional function by implantation of peripheral blood mononuclear cells into ischemic hibernating myocardium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;**22**(11):1804-10.
82. Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, et al. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation* 2003;**108**(7):863-8.
83. Siminiak T, Kalawski R, Fiszer D, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for the treatment of postinfarction myocardial injury: phase I clinical study with 12 months of follow-up. *Am Heart J* 2004;**148**(3):531-7.
84. Herreros J, Prosper F, Perez A, et al. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003;**24**(22):2012-20.
85. Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;**41**(7):1078-83.
86. Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A, et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. Histological analysis of cell survival and differentiation. *J Am Coll Cardiol* 2003;**41**(5):879-88.
87. Ince H, Petzsch M, Rehders TC, Chatterjee T, Nienaber CA. Transcatheter transplantation of autologous skeletal myoblasts in postinfarction patients with severe left ventricular dysfunction. *J Endovasc Ther* 2004;**11**(6):695-704.
88. Dib N, McCarthy P, Campbell A, et al. Feasibility and safety of autologous myoblast transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy. *Cell Transplant* 2005;**14**(1):11-9.
89. Vazquez ME, Cabarcos MR, Roman TD, et al. Cellular cardiomyoplasty: development of a technique to culture human myoblasts for clinical transplantation. *Cell Tissue Bank* 2005;**6**(2):117-24.
90. Guarita-Souza LC, Carvalho KA, Rebelatto C, et al. Cell transplantation: Differential effects of myoblasts and mesenchymal stem cells. *Int J Cardiol* 2005.
91. Thompson RB, Emani SM, Davis BH, et al. Comparison of intracardiac cell transplantation: autologous skeletal myoblasts versus bone marrow cells. *Circulation* 2003;**108** Suppl 1:I1264-71.

92. Agbulut O, Vandervelde S, Al Attar N, et al. Comparison of human skeletal myoblasts and bone marrow-derived CD133+ progenitors for the repair of infarcted myocardium. *J Am Coll Cardiol* 2004;**44**(2):458-63.
93. Ohtsuka M, Takano H, Zou Y, et al. Cytokine therapy prevents left ventricular remodeling and dysfunction after myocardial infarction through neovascularization. *Faseb J* 2004;**18**(7):851-3.
94. Archundia A, Aceves JL, Lopez-Hernandez M, et al. Direct cardiac injection of G-CSF mobilized bone-marrow stem-cells improves ventricular function in old myocardial infarction. *Life Sci* 2005;**78**(3):279-83.
95. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet* 2004;**363**(9411):751-6.
96. Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodelling. *Nature* 2002;**415**(6868):240-3.
97. Messina E, De Angelis L, Frati G, et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res* 2004;**95**(9):911-21.
98. Mouquet F, Pfister O, Jain M, et al. Restoration of cardiac progenitor cells after myocardial infarction by self-proliferation and selective homing of bone marrow-derived stem cells. *Circ Res* 2005;**97**(11):1090-2.
99. Hierlihy AM, Seale P, Lobe CG, Rudnicki MA, Megeney LA. The post-natal heart contains a myocardial stem cell population. *FEBS Lett* 2002;**530**(1-3):239-43.
100. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003;**114**(6):763-76.
101. Matsuura K, Nagai T, Nishigaki N, et al. Adult cardiac Sca-1-positive cells differentiate into beating cardiomyocytes. *J Biol Chem* 2004;**279**(12):11384-91.
102. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;**100**(21):12313-8.
103. Shyu KG, Wang BW, Hung HF, Chang CC, Shih DT. Mesenchymal stem cells are superior to angiogenic growth factor genes for improving myocardial performance in the mouse model of acute myocardial infarction. *J Biomed Sci* 2006;**13**(1):47-58.
104. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al. 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* 2006;**113**(10):1287-94.

VII. Danksagung

Mein Dank gilt besonders:

- Herrn Prof. Dr. Gustav Steinhoff für die Überlassung des Themas und die dauerhafte moralische Unterstützung
- Herrn PD Dr. Christof Stamm für die ausgesprochen gute, ausgiebige und intensive Betreuung während der gesamten Zeit
- Frau Dr. Simone Dunkelman für die Durchführung der myokardszintigraphischen Untersuchungen sowie für ihre Bemühungen und Hilfestellungen
- Herrn PD Dr. Günther Kundt für seine geduldige und freundliche Mitarbeit bei Statistik-Problemen aller Art und deren Lösung
- den ärztlichen Kollegen und Schwestern in der Herzchirurgie der Universität Rostock für geduldige und unermüdliche Mitarbeit und Unterstützung bei der Durchführung der Studie sowie für die nette gemeinsame Zeit
- allen Probanden, die an der Studie teilgenommen haben und damit die medizinische Forschung auf dem Gebiet der kardialen Stammzelltherapie unterstützen
- meinen lieben Eltern und Großeltern für regelmäßige positive und negative Kritik, immer offene Ohren für Sorgen und Probleme, die finanzielle Unterstützung und für intensivste Versorgung mit zumeist überbewerteten aber dafür biologisch wertvollen und damit angeblich gesünderen Genussmitteln
- meinen Freundinnen und Freunden für konsequente Aufmunterung

VIII. Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus Datenschutzgründen aus der digitalen Version entfernt.

IX. Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, daß ich die vorliegende Arbeit selbstständig durchgeführt und verfasst habe.

Jan-Arne Lauffs