Aus der Abteilung Kardiologie der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

Direktor: Prof. Dr. med. Hüseyin Ince

Untersuchung zur Sicherheit und Durchführbarkeit der autologen intrakoronaren retrograden Stammzelltransplantation bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz

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

vorgelegt von
Yannik Stoeckicht
geb. am 01.07.1988 in München

Rostock, 2015

urn:nbn:de:gbv:28-diss2016-0139-2

Dekan: Prof. Dr. med. Emil Christian Reisinger

1. Gutachter:

Prof. Dr. med. Hüseyin Ince
Zentrum für Innere Medizin – Abteilung Kardiologie
Universitätsmedizin Rostock

2. Gutachter:

Prof. Dr. med. Dipl. Chem. Jochen Schubert
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin
Universitätsmedizin Rostock

3. Gutachter:

Prof. Dr. med. Albrecht Elsässer
Klinik für Kardiologie
Klinikum Oldenburg

Datum der Einreichung: 28.09.2015
Datum der Verteidigung: 12.10.2016

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis **1**

Tabellenverzeichnis **2**

Abkürzungsverzeichnis **3**

1. Einleitung **4**

1.1 Herzinsuffizienz 4

1.1.1 Epidemiologie und ökonomischer Wert 4

1.1.2 Definition, Klassifikation und Ätiologie 5

1.1.3 Pathophysiologie 6

1.1.4 Bisherige Therapiemöglichkeiten und ihre Grenzen 7

1.2 Stammzellen 9

1.2.1 Knochenmarkstammzellen 10

1.2.2 Weitere adulte Stammzellen 11

1.2.3 Kardiale Stammzelltherapie 12

1.2.4 Applikationsformen der Stammzelltransplantation 12

1.2.5 Studien zur kardialen Stammzelltherapie 15

1.3 Zielstellung 16

2. Studiendesign und Methodik **17**

2.1 Studiendesign 17

2.2 Patientenkollektiv 18

2.3 Studienablauf 18

2.4 Untersuchungen 19

2.4.1 Labordiagnostik 19

2.4.2 Elektrokardiogramm (EKG) 19

2.4.3 Echokardiographie (ECHO) 19

2.4.4 Myokardszintigraphie 20

2.5 Stammzellen 20

2.5.1 Gewinnung und Aufarbeitung der Stammzellen 20

2.5.2 Applikation der Stammzellen 21

2.6 Follow-up-Untersuchungen (FU) 22

2.7 Endpunkte 22

2.8 Statistik 23

3. Ergebnisse **24**

3.1 Demographische Patientendaten 24

3.2 Adverse Events (AE), Serious Adverse Events (SAE) und Todesfälle.....25
3.3 Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) im ECHO.....27
3.4 Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) in der Myokardszintigraphie...30
3.5 Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (LVEDD) im ECHO 31
3.6 NYHA-Stadium 34

4. Diskussion 38
4.1 Sicherheit.....38
4.2 Applikationsform 39
4.3 Zellpräparation.....40
4.4 Effektivität und Vergleich zu anderen Studien.....41
4.5 Propagierte Wirkmechanismen 43
4.6 Limitationen 44

5. Zusammenfassung 46

Literaturverzeichnis 47

Danksagung 61

Lebenslauf 62

Selbstständigkeitserklärung 64

Thesen 65

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Applikationsmethoden zur Stammzelltransplantation

Abb. 2: Übersicht zur Aufteilung des Patientenkollektivs

Abb. 3: Überlebensrate nach 12 Monaten in Prozent

Abb. 4: Entwicklung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent der ICM-Patientengruppe im ECHO

Abb. 5: Entwicklung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent der DCM-Patientengruppe im ECHO

Abb. 6: Entwicklung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent der ICM-Patientengruppe in der Myokardszintigraphie

Abb. 7: Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVEDD) in Millimeter der ICM-Patientengruppe im ECHO

Abb. 8: Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVEDD) in Millimeter der DCM-Patientengruppe im ECHO

Abb. 9: Entwicklung des NYHA-Stadiums der ICM-Patientengruppe

Abb. 10: Entwicklung des NYHA-Stadiums der DCM-Patientengruppe

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: NYHA-Klassifikation

Tab. 2: Follow-up-Untersuchungen

Tab. 3: Mittelwert und Standardabweichungen des Lebensalters der Patienten sowie Anteil an männlichen Patienten in Prozent

Tab. 4: Inzidenz von AE, AE die möglicherweise im Zusammenhang zur Therapie stehen, SAE und Todesfällen mit Prozentangaben

Tab. 5: Mittelwert und Standardabweichung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent im ECHO

Tab. 6: Mittelwert und Standardabweichung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent in der Myokardszintigraphie

Tab. 7: Mittelwert und Standardabweichung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVEDD) in Millimeter im ECHO

Tab. 8: Mittelwert und Standardabweichung des NYHA-Stadiums

Tab. 9: Verschiebung der NYHA-Stadien der ICM-Patienten ausgehend von Baseline

Tab. 10: Verschiebung der NYHA-Stadien der DCM-Patienten ausgehend von Baseline

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-konvertierendes Enzym
AT	Angiotensin
AE	Adverse Event (unerwünschtes Ereignis)
bFGF	Basic Fibroblast Growth Factor
BMAC	Bone marrow aspirate concentrate
CCS	Canadian Cardiovascular Society
CD	Cluster of differentiation
CRT	Kardiale Resynchronisationstherapie
CXCR4	C-X-C-Motiv-Chemokinrezeptor 4
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
ECHO	Echokardiographie
EKG	Elektrokardiographie
FU	Follow-up-Untersuchung (Nachsorgeuntersuchung)
HGF	Hepatocyte Growth Factor
HLA	Human Leukocyte Antigen
ICD	Implantierbarer Kardioverter-Defibrillator
ICM	Ischämische Kardiomyopathie
INR	International Normalized Ratio
IGF-1	Insulin-like Growth Factor 1
KHK	Koronare Herzkrankheit
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVEDD	Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
MLHFQ	Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire
MRT	Magnetresonanztomographie
NYHA	New York Heart Association
SAE	Serious Adverse Event (schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis)
SDF-1	Stromal Cell-derived Factor 1
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

1. Einleitung

1.1 Herzinsuffizienz

1.1.1 Epidemiologie und ökonomischer Wert

Die Herzinsuffizienz ist heutzutage eine der häufigsten internistischen Erkrankungen. Schätzungsweise 1-2% der Bevölkerung in entwickelten Ländern leiden an einer Herzinsuffizienz, wobei die Prävalenz stark vom Lebensalter abhängig ist. Während in der Altersgruppe 65-74 Jahre die Prävalenz bei 3.2% liegt, steigt sie in der Altersgruppe von 85-94 Jahren auf 13.8% (1). Man nimmt an, dass derzeit ca. 1,8 Millionen Menschen in Deutschland an einer chronischen Herzinsuffizienz leiden und jährlich 200.000 bis 300.000 Patienten neu hinzukommen (2). Durch eine zunehmende Alterung der Bevölkerung, stetig verbesserter Therapiemöglichkeiten und dadurch verbesserten Überlebenschancen ist zu erwarten, dass die Zahl der Patienten mit Herzinsuffizienz in Zukunft weiter ansteigt (3-4).

Die Lebenszeitprävalenz an einer Herzinsuffizienz zu erkranken liegt für einen 55-jährigen bei ca. 30%. Die Prognose ist dabei mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 35% schlecht (5). In Deutschland gehört die Herzinsuffizienz zu den häufigsten Todesursachen. Bei Männern ist sie die vierthäufigste Todesursache, während sie bei Frauen sogar die zweithäufigste Todesursache ausmacht (6). Somit stellt die Herzinsuffizienz ein medizinisches Problem ersten Ranges in den westlichen Ländern dar.

In Deutschland ist die Herzinsuffizienz der häufigste Einweisungsgrund für eine stationäre Behandlung. Im Jahr 2006 entstanden dem deutschen Gesundheitswesen Kosten in Höhe von 2,9 Milliarden Euro infolge der Diagnose Herzinsuffizienz, welche laut dem Statistischen Bundesamt ca. 1,3% der Gesamtausgaben im deutschen Gesundheitswesen (246,1 Milliarden Euro) entsprechen. Hiervon entstanden 1,3 Milliarden Euro durch Kosten von stationären Behandlungen und 407 Millionen Euro durch Kosten von Pflegeeinrichtungen. Die Höhe der Behandlungskosten ist hierbei abhängig vom Schweregrad der Erkrankung. Die Kosten einer Behandlung eines Patienten im NYHA-IV-Stadium können 8-30-mal höher sein als die eines Patienten im NYHA-II-Stadium. Die durchschnittlichen Arzneimittelkosten eines an Herzinsuffizienz Erkrankten lagen mit 1073 Euro um das

Dreifache über denen eines nicht an Herzinsuffizienz Erkrankten (3). Somit liegt nahe was für eine volkswirtschaftliche Bedeutung die Herzinsuffizienz im Gesundheitswesen hat.

1.1.2 Definition, Klassifikation und Ätiologie

Die Herzinsuffizienz definiert sich als das Unvermögen des Herzens, den Organismus unter Ruhe- wie auch unter Belastungsbedingungen mit ausreichend Blut und damit Sauerstoff zu versorgen. Einige Autoren haben diese Definition erweitert und verweisen bei dem Begriff Herzinsuffizienz auf eine Multisystemerkrankung, die sich durch Abnormitäten im kardialen, muskuloskelettalen und renalen System, wie auch durch ein komplexes Muster neurohumoraler Veränderungen charakterisiert (7). Klinisch betrachtet wird das Syndrom Herzinsuffizienz durch das Vorhandensein typischer Symptome (z.B. Dyspnoe, Leistungsminderung, Flüssigkeitsretention), einer objektivierbaren kardialen Dysfunktion (z.B. Abnahme der Ejektionsfraktion) und der Zunahme des diastolischen Füllungsdruckes bzw. Abnahme des Herzminutenvolumens charakterisiert (8).

Anhand der Klassifikation der New York Heart Association (NYHA) kann die Herzinsuffizienz klinisch in vier Stadien entsprechend der Leistungsfähigkeit der Patienten eingeteilt werden:

Tab. 1: NYHA-Klassifikation (9)

NYHA I (asymptomatisch)	Herzerkrankung ohne körperliche Einschränkungen. Alltägliche körperliche Belastung verursacht keine inadäquate Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
NYHA II (leicht)	Herzerkrankung mit leichter Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Alltägliche körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
NYHA III (mittelschwer)	Herzerkrankung mit höhergradiger Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Geringe körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, Rhythmusstörungen, Luftnot oder Angina pectoris.
NYHA IV (schwer)	Herzerkrankung mit Beschwerden bei allen körperlichen Aktivitäten und in Ruhe. Bettlägerigkeit.

Je nach Verlauf kann die Herzinsuffizienz in eine akute wie auch chronische Herzinsuffizienz, je nach betroffener Kammer in eine Links-, Rechts- oder globale Herzinsuffizienz, oder auch mechanisch betrachtet in eine systolische oder diastolische Herzinsuffizienz eingeteilt werden. Hierbei wird die systolische Herzinsuffizienz durch eine Abnahme der linksventrikulären Pumpfunktion als Folge einer Kontraktionsstörung und die diastolische Herzinsuffizienz durch eine verminderte Dehnbarkeit bei erhaltener systolischer Pumpfunktion charakterisiert.

Heutzutage ist die häufigste Ursache der Herzinsuffizienz die koronare Herzkrankheit (KHK) (60-70%), gefolgt von der hypertensiven Herzerkrankung aufgrund eines arteriellen Hypertonus (20-30%), den Kardiomyopathien (5-10%), den valvulären und den kongenitalen Herzerkrankungen (8). Ferner kann eine Herzinsuffizienz auch arrhythmogener Ursache sein oder aufgrund einer Myokarditis entstehen. Unter den Kardiomyopathien ist die dilatative Kardiomyopathie (DCM) die häufigste Ursache, gefolgt von der hypertrophischen Kardiomyopathie mit oder ohne Obstruktion (HOCM oder HCM) und der restriktiven Kardiomyopathie (RCM). Laut dem italienischen Register für Herzinsuffizienz ist die DCM (36%) nach der KHK (45.6%) sogar die zweithäufigste Ursache einer Herzinsuffizienz (10).

1.1.3 Pathophysiologie

Ist das Herz nicht mehr in der Lage eine ausreichende Durchblutung der Organe zu gewährleisten, versucht der Körper dies durch verschiedene Mechanismen zu kompensieren. Neuroendokrine Kompensationsmechanismen führen initial zu einer Besserung, bei längerem Bestehen bzw. Fortschreiten der Erkrankung jedoch auf verschiedenen neurohumeralen Ebenen zu einer Verschlechterung. So hat beispielsweise eine Sympathikusaktivierung eine Katecholaminausschüttung zur Folge, die anfangs zu einer Steigerung der Herzfrequenz und Kontraktilität führt, auf längere Dauer jedoch durch Downregulation von kardialen Betarezeptoren primär eine Erhöhung des peripheren Gefäßtonus und somit der kardialen Nachlast bewirkt. Die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) bewirkt durch Vasokonstriktion (durch Angiotensin II) und gesteigerter Natrium- und Wasserretention (durch Aldosteron) eine gesteigerte Nachlast. Auch eine ADH-Aktivierung führt durch Wasserretention zu einer erhöhten Nachlast. Langfristig hat die mechanische Überladung auf das Herz eine reaktive Hypertrophie, eine Dilatation

durch dehnungsinduzierte Apoptose der Myozyten wie auch vielseitige Umbauprozesse, auch kardiales Remodeling genannt, zur Folge (11).

1.1.4 Bisherige Therapiemöglichkeiten und ihre Grenzen

Grundsätzlich sollte bei der Behandlung einer chronischen Herzinsuffizienz an erster Stelle die kausale Therapie, also die Beseitigung der ursprünglichen Ursache stehen. Dies wäre beispielsweise die Behandlung eines arteriellen Hypertonus mit antihypertensiven Medikamenten, die Myokardrevaskularisation im Sinne einer Bypassoperation oder Angioplastie im Rahmen einer KHK, der operative/interventionelle Klappenersatz bei Herzklappenfehlern oder die adäquate Behandlung von Herz-Rhythmus-Störungen, allen voran das Vorhofflimmern. Weiterhin sind auch nichtmedikamentöse Therapie- und Verhaltensempfehlungen zu beachten. So sollte eine Reduktion der kardiovaskulären Risikofaktoren, eine Gewichtsnormalisierung und Nikotinkarenz angestrebt werden, wie auch die Kochsalz- und Flüssigkeitszufuhr vor allem bei schwerer Herzinsuffizienz begrenzt werden. Eine wichtige Rolle spielt vor allem aber die Pharmakotherapie der Herzinsuffizienz, bestehend zum größten Teil aus ACE-Hemmer (bei Unverträglichkeit AT_1-Rezeptor-Blocker), Betablocker, Diuretika, Aldosteron-Antagonisten, und Herzglykosiden. Besonders im Vordergrund stehen ACE-Hemmer (bzw. AT_1-Rezeptor-Blocker) und Betablocker, welche im Rahmen zahlreicher klinischer Studien die Überlebens-, Hospitalisierungs- und Mortalitätsrate deutlich verbessern konnten (12-15).

Weiterhin hat auch die operative und apparative Therapie eine große Bedeutung in der Herzinsuffizienztherapie. Neben der bereits erwähnten Revaskularisations- und Klappenrekonstruktionsstrategien haben Schrittmacher im Kontext einer Resynchronisationstherapie (CRT) durch biventrikuläre Stimulation ihren Stellenwert in der Behandlung von Patienten mit klinisch fortgeschrittener Herzinsuffizienz, reduzierter linksventrikulärer Ejektionsfraktion (LVEF ≤ 35%) und einem pathologisch verlängertem QRS-Komplex (≥ 120 ms) (16). Implantierbare Kardioverter-Defibrillatoren (ICD), oft in Kombination mit einem biventrikulären Schrittmacher implantiert, reduzieren die Mortalität bei Patienten mit anhaltenden ventrikulären Tachykardien oder überlebtem plötzlichen Herztod (9). Ventrikuläre Unterstützungssysteme (auch VAD oder Kunstherz genannt) können zur

Überbrückung bis zu einer Herztransplantation verwendet werden (bridge to transplant). Heutzutage werden sie aber auch immer häufiger zur dauerhaften hämodynamischen Unterstützung verwendet. Jedoch schränken die begrenzte Batterielaufzeit, die Infektionsgefahr und die Notwendigkeit zur Antikoagulation die Brauchbarkeit dieser Therapieform ein. Bei Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz bietet sich die Herztransplantation an. Die Notwendigkeit der lebenslangen Immunsuppression und gefürchtete Langzeitfolgen wie die Transplantatvaskulopathie trüben jedoch die Prognose ein. Außerdem bietet sich diese Lösung nur einer begrenzten Anzahl an Patienten an, auch aufgrund des zunehmenden Mangels an Spenderorganen.

Trotz großer Fortschritte in den letzten Jahrzehnten sind den heutzutage etablierten Therapiemöglichkeiten der chronischen Herzinsuffizienz Grenzen gesetzt, denn, abgesehen von der Herztransplantation, können sie nicht die Funktionsfähigkeit von ischämisch schwer geschädigtem bzw. nekrotischem Myokardgewebe wiederherstellen. Häufig kann nur ein weiteres Fortschreiten der Erkrankung oder das Auftreten von Komplikationen vermieden werden. Die Möglichkeit der Regeneration des Myokards wurde kaum in Betracht gezogen, weil das Herz als terminal-differenziertes Organ betrachtet wurde. Ein Zellverlust, beispielsweise im Rahmen eines Myokardinfarkts, wurde als irreversibler Zellverlust hingenommen. Eine Innovation wäre eine Therapieform um eben diesen Zellverlust „rückgängig“ zu machen und die Funktionsfähigkeit des Herzens zu verbessern und wiederherzustellen.

1.2 Stammzellen

Als Stammzellen werden Körperzellen bezeichnet, welche die Fähigkeit besitzen, sich in jede Art von Körperzelle oder Gewebe zu differenzieren, wie auch sich selbst zu erneuern. Sie werden einerseits durch ihr Differenzierungspotential unterteilt:

- Totipotent: kann sich in alle Zelltypen eines Organismus differenzieren und sich zu einem eigenständigen Lebewesen entwickeln
- Pluripotent: kann sich in alle Zelltypen der drei Keimblätter (Ekto-, Meso- und Endoderm) differenzieren
- Multipotent: kann sich zu verschiedenen Zelltypen innerhalb eines Gewebetyps differenzieren
- Unipotent: kann sich nur in einen Zelltyp differenzieren

Weiterhin werden Stammzellen auch nach ihrer Entwicklungsherkunft in embryonale und postembryonale Stammzellen unterschieden.

Als embryonale Stammzellen werden jene Zellen bezeichnet, die aus der inneren Zellmasse der Blastozyste entstammen. Sie sind pluripotent, können sich also zu Geweben und Organen aller drei Keimblätter differenzieren, und sind durch ihre hohe Telomeraseaktivität in vitro in der Lage sich unendlich oft und undifferenziert zu vermehren (17). Jedoch bergen embryonale Stammzellen auch eine maligne Entartungstendenz, die bereits im Rahmen tierexperimenteller wie auch klinischer Studien belegt werden konnte (18-19). Eine Stammzellbehandlung mit embryonalen Stammzellen birgt, als allogene Transplantation, zudem auch das Risiko einer immunologischen Abstoßung (Graft-versus-Host-Reaktion). Zudem ist die Verwendung embryonaler Stammzellen ethisch umstritten, da für ihre Gewinnung die Tötung des Embryos erforderlich ist.

Zu den postembryonalen Stammzellen zählen die neonatalen und die adulten Stammzellen. Neonatale Stammzellen lassen sich aus der Nabelschnur und der Plazenta gewinnen und bestehen zum großen Teil aus hämatopoetischen Stammzellen. Sie zeichnen sich durch eine risikoarme Gewinnung und die Möglichkeit der Langzeitlagerung mittels Kryokonservierung aus. Außerdem konnte bei nicht übereinstimmenden HLA-Merkmalen zwischen Spender und Empfänger

eine bessere Verträglichkeit gegenüber anderen Stammzelltypen gezeigt werden (20-21).

Adulte Stammzellen sind multipotente Zellen, die der Regeneration und damit den Ersatz der organspezifischen geschädigten Zellen eines Organs dienen. Sie können sich zu Progenitorzellen (determinierte Stammzellen) differenzieren, die eine begrenzte Fähigkeit zu Replikation und Differenzierung haben und auf einen bestimmten Funktionsbereich festgelegt sind. In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass adulte Stammzellen in den verschiedensten Geweben, wie z.B. Knochenmark, peripheres Blut, Gehirn und Leber, persistieren. Adulte Stammzellen haben gegenüber den embryonalen Stammzellen den Vorteil, dass sie aus ethischer Sicht unbedenklich sind. Durch die autologe Transplantation ist keine Immunsuppression vonnöten und keine Abstoßungsreaktion zu fürchten. Auch die Verfahren zur Gewinnung mittels Knochenmarkbiopsie sind handlicher und einfacher.

1.2.1 Knochenmarkstammzellen

Im Knochenmark finden sich hämatopoetische Stammzellen, mesenchymale Stammzellen, sogenannte Side-Population-Zellen wie auch endotheliale Vorläuferzellen (22). *Hämatopoetische Stammzellen* repräsentieren die prototypischen adulten Knochenmarkstammzellen und können durch die spezifischen Oberflächenantigene $CD133^+$, $CD34^+$ und $CD117^+$ (c-kit) charakterisiert werden. Früher ging man davon aus, dass hämatopoetische Stammzellen sich nur in Zellen der hämatopoetischen Zelllinie differenzieren können. Heutzutage weiß man jedoch, dass das Differenzierungspotential weitaus größer ist und unter anderem Muskelzellen, Kardiomyozyten, Endothelzellen und Hepatozyten umfasst (23-24). *Mesenchymale Stammzellen* sind Vorläuferzellen des Bindegewebes (Stroma) und können sich in Osteozyten, Chondrozyten und Adipozyten differenzieren. Allerdings haben Makino et al. 1999 herausgefunden, dass sich durch Gabe von 5-Azacytidin auch Kardiomyozyten gewinnen ließen (25). Mesenchymale Stammzellen sind durch ein hohes Differenzierungs- und Proliferationspotential gekennzeichnet. *Side-Population-Zellen* sind die Stammzellen, die im Rahmen einer fluoreszensbasierten Durchflusszytometrie (FACS; fluorescence-activated cell sorting) eine separate Population neben der Hauptpopulation bilden, aufgrund ihrer einzigartigen Fähigkeit den DNA-bindenden Farbstoff Hoechst 33342 auszuschleusen. Side-Population-

Zellen besitzen die Fähigkeit sich bei kardialer Ischämie in Kardiomyozyten und Endothelzellen zu differenzieren (26-27). *Endotheliale Vorläuferzellen* wurden erstmals von Asahara et al. beschrieben. Diese finden sich im Blut wie auch im Knochenmark und können sich zu Endothelzellen differenzieren. Es konnte gezeigt werden, dass diese endothelialen Vorläuferzellen in der Lage waren, in ischämischem Gewebe eine Neovaskularisation zu bewirken (28-29). Vorteilhaft bei all diesen Stammzellen des Knochenmarks ist die leichte Gewinnung durch Punktion des Beckenkamms ohne großen Zeitaufwand, weshalb dieser Stammzelltyp eine zentrale Rolle in der gegenwärtigen Forschung einnimmt.

1.2.2 Weitere adulte Stammzellen

Beltrami et al. beschrieben 2003 erstmals die Existenz *kardialer Stammzellen*. Diese multipotenten Stammzellen sind in der Lage, sich in Myozyten, glatte Muskulatur und Endothel zu differenzieren (30). Somit wurde das Dogma, das Herz entspreche einem terminal-differenziertem Organ ohne jegliche Regenerationsmöglichkeit, widerlegt. Diese kardialen Stammzellen können isoliert, angezüchtet und vermehrt werden (31). Im Tiermodell konnte bereits gezeigt werden, dass die Injektion sogenannter $Lin^{-}c\text{-}kit^{POS}$ (Stamm-)Zellen in ein ischämisches Herz eine Regeneration des Herzens mit differenziertem Myokard bestehend aus neuen Gefäßen und Myozyten bewirkt (30). Jedoch befindet sich die Technik der optimalen Zellisolierung dieser Stammzellen noch in der klinischen Erprobung, sodass Ergebnisse bezüglich der Sicherheit und Effektivität noch auf sich warten lassen (32).

Skelettale Myoblasten, auch Satellitenzellen genannt, waren schon früh Gegenstand der Forschung, da man sich von ihnen erhofft hatte, dass ihre Fähigkeit zur Kontraktion womöglich einen Nutzen in der Regeneration von ischämischem Myokard hat. Diese Zellen sind mittels einer Muskelbiopsie vom selben Patienten leicht zu gewinnen und deshalb auch ethisch und immunologisch unbedenklich (32). Präklinische Studien hatten bereits hoffnungsvolle Ergebnisse gezeigt (33-34), jedoch zeigte sich im Rahmen von klinischen Studien, dass die Transplantation von skelettalen Myoblasten teilweise zu schwerwiegenden Herz-Rhythmus-Störungen führte (35). Erst später fand man heraus, dass den skelettalen Myoblasten das Membranprotein Connexin-43 fehlte und somit keine elektromechanische Kopplung und interzelluläre Kommunikation mit den umgebenden Kardiomyozyten erfolgte (36).

1.2.3 Kardiale Stammzelltherapie

Hinweise auf die Regenerationsfähigkeit des Herzens lieferten Biopsate nach einer Herztransplantation. Bei männlichen Patienten die ein weibliches Spenderherz erhielten, konnten im Herzmuskelgewebe Y-Chromosome nachgewiesen werden und somit zeigen, dass Zellen des Mannes in das weibliche Spenderorgan eingewandert sind. Nicht nur in Myozyten, sondern auch im Endothel der Gefäße wurden Y-Chromosome gefunden, was ein Indiz dafür ist, dass diese eingewanderten Zellen an der Gefäßneubildung und somit der Regeneration des Myokards beteiligt sind (37-38). Wenig später konnte auch gezeigt werden, dass die neu eingewanderten bzw. geformten Myozyten ihren Ursprung im Knochenmark haben (39).

Die Anfänge der kardialen Stammzelltherapie fanden im Rahmen von Tierexperimenten statt. 2001 gelang es Orlic et al. infarziertes Myokardgewebe durch Knochenmarkstammzellen zu regenerieren. Hierbei wurden Lin^{-} $c\text{-}kit^{POS}$ Stammzellen in kontrahierendes Wandgewebe injiziert, welches unmittelbar an das Infarktareal angrenzte. Neun Tage nach der Transplantation entwickelte sich im Infarktareal neues Myokardgewebe bestehend aus proliferierenden Myozyten und vaskulären Strukturen (40). Tomita et al. konnten in Ratten durch Transplantation von autologen Knochenmarkstammzellen in ischämisches Myokardgewebe eine Angiogenese bewirken, und durch Verwendung von mit 5-Azacytidin behandelten Stammzellen eine Verbesserung der Herzfunktion erreichen (41). Kocher et al. zeigten, dass menschliche Knochenmarkstammzellen den Vorgang des ventrikulären Remodeling aufhalten können in dem sie eine Neovaskularisation bewirken, welche die Apoptose von hypertrophen Myozyten verhindert, und die Kollagenablagerungen und Narbenbildung des Myokards vermindert (42). Rasch entwickelte sich ein großes Interesse für diese innovative Therapieform und dessen Potenzial für den Menschen.

1.2.4 Applikationsformen der Stammzelltransplantation

Bezüglich der Gabe der Stammzellen gibt es verschiedene Herangehensweisen die nach Invasivität unterschieden werden können (siehe Abb. 1). Die intravenöse Gabe ist die am wenigsten invasive Form der Stammzelltransplantation, die beispielsweise bei malignen hämatologischen Erkrankungen durchgeführt wird. Jedoch fließt ein zu geringer Teil der infundierten Stammzellen in das gewünschte Areal des Herzens

bzw. in die Koronararterien, sodass diese Applikationsform an Bedeutung in der kardialen Stammzelltherapie verloren hat (22, 43).

Die intrakoronare Applikation ist die bisher am häufigsten angewandte Applikationsform (38). Sie kann als minimal-invasive Technik im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchung durchgeführt werden. Über das Koronarsystem kann praktisch das gesamte Myokard erreicht werden, sodass die gesamten Stammzellen direkt in das gewünschte Gebiet gegeben werden. Gerade bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt können im Rahmen einer Angioplastie Stammzellen direkt in die betroffene Koronararterie injiziert werden. Mittels eines over-the-wire Ballonkatheters werden die Stammzellen durch einen dilatierten Ballon in das betroffene Gebiet injiziert. Die durch Ballondilatation erzeugte Gefäßokklusion verhindert das sofortige Wegwaschen der injizierten Stammzellen durch Blockade von anströmendem Blut und ermöglicht somit eine verlängerte Kontaktzeit der Zellen mit dem Endothel zur Zellmigration. Außerdem wird durch die Auslösung einer kurzzeitigen Myokardischämie eine sogenannte ischämische Präkonditionierung erzeugt (22). Hierbei kommt es zu einer erhöhten Ausschüttung des Zytokins Stromal-derived Factor-1 (SDF-1), der durch Stimulation des CXCR4 Rezeptors, welcher auf Knochenmarkstammzellen exprimiert ist, die Chemotaxis der Stammzellen in das ischämische Myokardgewebe fördert (44-46).

Eine Variante der intrakoronaren Applikation ist die retrograde intrakoronare (trans-Koronarsinus) Gabe, bei der die Stammzellen retrograd über den Koronarsinus injiziert werden. Im Gegensatz zur anterograden Gabe wird hier nicht der arterielle Zufluss sondern der venöse Abfluss der Koronarien vor Injektion der Stammzellen blockiert.

Im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchung kann auch eine transendokardiale Gabe der Stammzellen mit einem elektromechanischem Mappingsystem (z.B. dem NOGA-System) erfolgen. Hierbei wird ein dreidimensionales Bild des linken Ventrikels erstellt, welches ischämisches aber vitales „hibernating“ Myokard darstellt. Über einen speziellen Katheter, welcher in den linken Ventrikel vorgeschoben wird, kann mittels des Mappingsystems eine gezielte Stammzellinjektion in die gewünschten Areale erfolgen (43, 47). Nachteile dieser Methode sind jedoch die technisch anspruchsvolle Methodik, die Gefahr der Auslösung von ventrikulären Arrhythmien sowie das Risiko einer Perikardtamponade (22). Vor allem im Rahmen eines akuten

Myokardinfarkts ist diese Technik kontraindiziert, da jegliche Manipulation am Ventrikel zu einer Ventrikelruptur führen kann.

Die intramyokardiale Gabe als invasivste Form erfordert einen Zugang zum offenen Herzen und ist aus diesem Grund im Rahmen von Operationen am offenen Herzen, beispielsweise einer Koronararterien-Bypassoperation, durchführbar. Vorteil dieser Methode ist die direkte Injektion der Stammzellen in das gewünschte Areal des Herzens und dadurch die Umgehung des Problems der Migration und Homing der Stammzellen. Allerdings besteht, wie bei der transendokardialen Gabe, das Risiko von injektionsbedingten Verletzungen. Außerdem wurde in der Literatur in früheren Studien eine vermehrte Häufigkeit von Arrhythmien nach intramyokardialer Gabe von Stammzellen im Gegensatz zur intrakoronaren Gabe beschrieben (48).

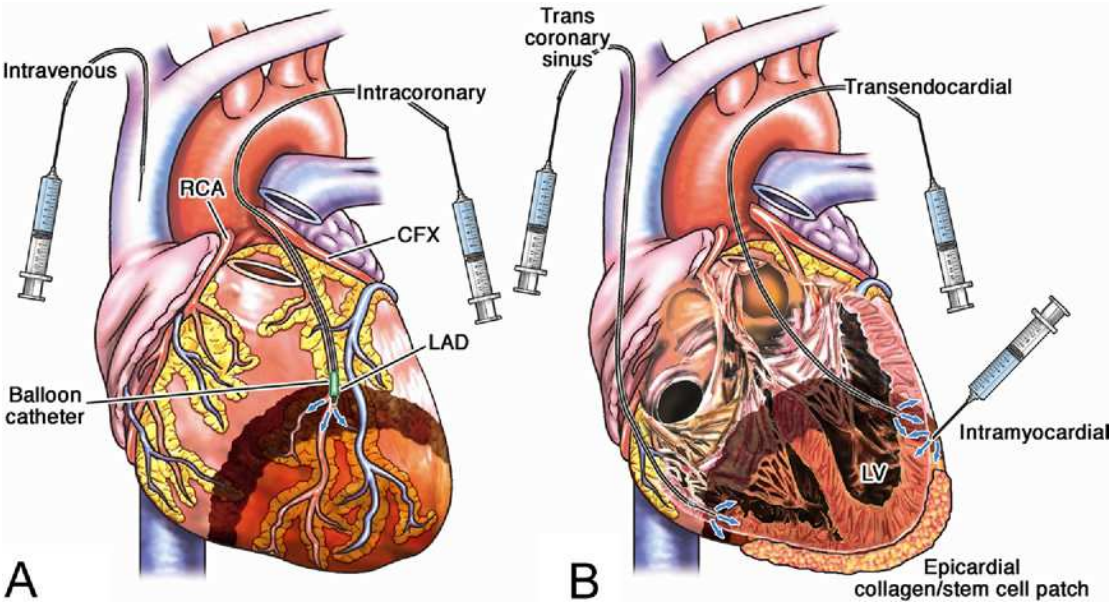

Abb. 1: Applikationsmethoden zur Stammzelltransplantation (26)

1.2.5 Studien zur kardialen Stammzelltherapie

Nachdem im Rahmen tierexperimenteller Studien das Potenzial der Stammzelltherapie zur kardialen Regeneration offenbart wurde, begannen zahlreiche Arbeitsgruppen mit der Übertragung dieses Therapiekonzeptes in klinische Studien. 2001 hatten Strauer et al. zum ersten Mal bei einem Patienten nach akutem Myokardinfarkt autologe mononukleäre Knochenmarkstammzellen intrakoronar transplantiert (49). In einer darauffolgenden Machbarkeitsstudie mit 10 Patienten stellten sie eine verbesserte systolische Pumpfunktion, eine Verringerung des Ventrikelvolumens, eine verbesserte kardiale Kontraktilität und auch Perfusion des betroffenen Segmentes fest (50). In der TOPCARE-AMI-Studie wurden bei 9 Patienten Knochenmarkstammzellen und bei 11 Patienten zirkulierende endotheliale Progenitorzellen intrakoronar verabreicht. Hierbei zeigte sich nicht nur, dass die intrakoronare Therapie mit beiden Arten von Stammzellen sicher und durchführbar ist, sondern auch, dass diese nach 4 Monaten mit einer signifikant erhöhten linksventrikulären Ejektionsfraktion, einer verbesserten Wandbewegung der Infarktzone wie auch einem reduzierten endsystolischen Volumen im Gegensatz zur Kontrollgruppe einhergeht (51). Die erste große randomisierte kontrollierte Studie, die BOOST-Studie, untersuchte anhand von 60 Patienten nach akutem Myokardinfarkt die linksventrikuläre Ejektionsfraktion nach intrakoronarer Transplantation von Knochenmarkprogenitorzellen. Hier zeigte sich nach 6 Monaten eine signifikante Verbesserung der LVEF der Therapiegruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe, jedoch war diese nach 5 Jahren nicht mehr festzustellen. Lediglich bei Patienten mit transmuralem Infarkt schien die Stammzelltherapie eine anhaltende Wirkung zu haben (52-53). Auch die randomisierte kontrollierte ASTAMI-Studie mit 100 eingeschlossenen Patienten zeigte bei 6 Monaten nach intrakoronarer Stammzellbehandlung keine Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion, gemessen mit Echokardiographie, MRT oder SPECT (54). In der wiederum bis dahin größten randomisierten, doppelblinden, Placebo-kontrollierten und multizentrischen Studie, die REPAIR-AMI-Studie, wurde bei 204 eingeschlossenen Patienten mit akuten Myokardinfarkt die intrakoronare Infusion von Knochenmark-Progenitorzellen mit der eines Placebopräparats verglichen. Hierbei zeigte sich nach 4 Monaten in der Behandlungsgruppe eine stärkere Zunahme der globalen linksventrikulären Ejektionsfraktion als in der Placebogruppe, wobei der Effekt bei Patienten mit der initial am stärksten reduzierten Ejektionsfraktion am größten war (55).

Perin et al. injizierten mononukleäre Knochenmarkstammzellen transendokardial in das Myokard mit Hilfe des elektromechanischem Mappingsystems (NOGA). Nach 4 Monaten konnte bei den behandelten Patienten eine Verbesserung der Ejektionsfraktion von 20% zu 29% und eine Verringerung des endsystolischen Volumens feststellen (47). Stamm et al. injizierten bei 6 Patienten, die nach einem Myokardinfarkt eine Bypass-OP erhalten sollten, vom Knochenmark isolierte $CD133^+$ Zellen intramyokardial in die Infarktrandzone. 3 bis 9 Monate nach der Behandlung hatte sich die globale linksventrikuläre Ejektionsfraktion bei 4 Patienten verbessert und die Perfusion des Infarktgewebes bei 5 Patienten verbessert (56).

Obwohl die Ergebnisse vieler Arbeitsgruppen beeindruckend und vielversprechend sind, bestehen hinsichtlich der Effektivität der Therapie teils diskrepante Befunde. Nicht immer konnten die positiven Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen reproduziert werden, wodurch die Effizienz der Stammzelltherapie oftmals in Frage gestellt wurde. Somit offenbarte sich, dass noch viele Fragen, beispielsweise nach dem Stammzelltyp, der Aufarbeitung bzw. Zellisolation, der Applikationsform oder der richtigen Indikationsstellung geklärt werden müssen. Zudem gibt es hinsichtlich der kardialen Stammzelltherapie bei chronischer Herzinsuffizienz aufgrund einer ischämischen oder dilatativen Kardiomyopathie bislang nur wenige Daten.

1.3 Zielstellung

Im Rahmen einer prospektiven, randomisierten, kontrollierten Studie sollen nun folgende Fragen geklärt werden:

- Ist die Behandlung der chronischen Herzinsuffizienz mittels Transplantation von frisch isolierten autologen Knochenmarkstammzellen retrograd über den Koronarsinus sicher?

- Führt die Stammzelltherapie innerhalb eines Beobachtungszeitraums von 1 Jahr zu einer anhaltenden Verbesserung der kardialen Funktion sowie der Beschwerdesymptomatik im Vergleich zu einer Kontrollgruppe?

2. Studiendesign und Methodik

2.1 Studiendesign

Die Studie wurde unter dem Namen „REVIVE-1“ (REtrograde Vascular Infusion of BMAC to ImproVe Heart FailurE) durchgeführt. Es handelte sich hierbei um eine prospektive, randomisierte, kontrollierte Studie. Ein positives Votum der Ethikkommission der Universität Rostock lag vor, ebenso wie von jedem Patienten eine unterschriebene Einverständniserklärung. Die Studie wurde gemäß den ethischen Prinzipien der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

Insgesamt wurden 60 Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz eingeschlossen, davon 30 Patienten mit einer ischämischen Kardiomyopathie (ICM) und 30 Patienten mit einer dilatativen Kardiomyopathie (DCM). In einem Verhältnis von 4:1 wurden die Patienten jeder Krankheitsgruppe in die Behandlungs- und Kontrollgruppe randomisiert. Dies entsprach 24 Patienten jeder Krankheitsgruppe in der Behandlungsgruppe, sowie 6 Patienten jeder Krankheitsgruppe in der Kontrollgruppe. Weder der Untersucher noch der Patient wussten vorher, welcher Patient welcher Gruppe zugeteilt wird. Die Randomisierung wurde von einem externen Institut (University of Utah – Universal Cell Registry) durchgeführt.

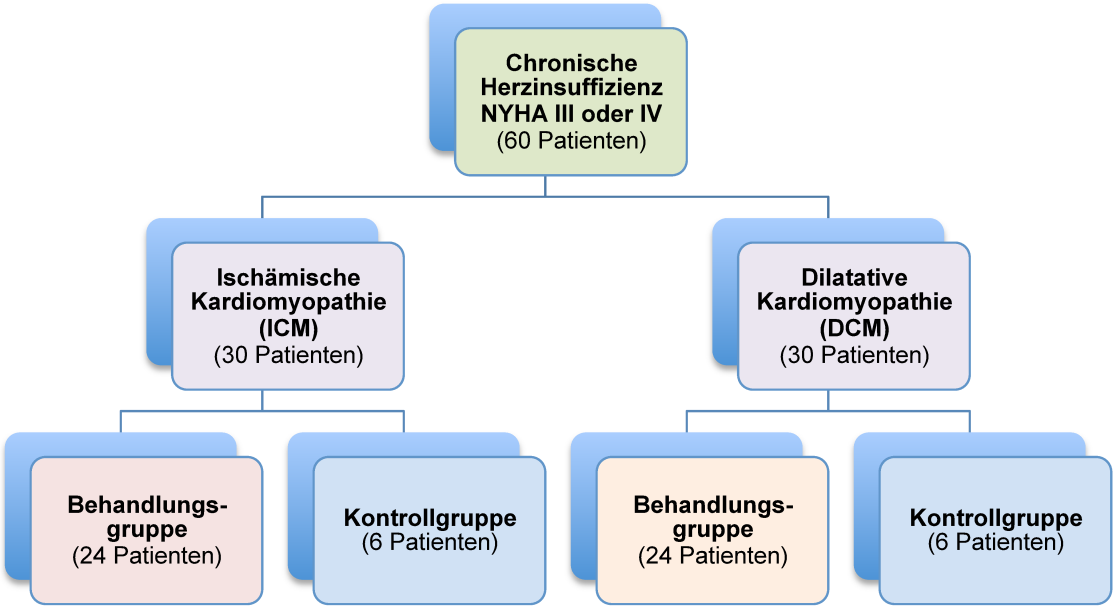

Abb. 2: Übersicht zur Aufteilung des Patientenkollektivs

2.2 Patientenkollektiv

Einschlusskriterien waren:

- Lebensalter von über 18 Jahren
- Chronische Herzinsuffizienz (ischämische oder nicht-ischämische Kardiomyopathie) mit NYHA Stadium III oder IV
- Linksventrikuläre Ejektionsfraktion ≤ 40% im ECHO
- Stabile medikamentös eingestelle Herzinsuffizienz über mindestens einem Monat
- DCM-Patienten: koronarangiographisch ausgeschlossene KHK

Ausschlusskriterien waren:

- Akuter Myokardinfarkt <1 Woche vor Behandlung
- Knochenmarkserkrankungen
- Zustand nach einer Strahlenbehandlung im Rahmen einer onkologischen Behandlung
- Abnormale Blutgerinnung
- Fortgeschrittene Leberzirrhose
- Fortgeschrittene Niereninsuffizienz
- Frauen im gebärfähigen Alter und schwangere Frauen
- BMI ≥ 40 kg/m^2
- Lebenserwartung <6 Monaten

2.3 Studienablauf

Nach erfolgter Aufklärung und schriftlicher Einwilligung wurden die für die Studie festgelegten Voruntersuchungen eingeleitet. Bei Patienten der Behandlungsgruppe fand die Knochenmarkspunktion sowie die Gewinnung und Aufarbeitung der Stammzellen am Tag der Behandlung unmittelbar vor der Therapie statt. Die Patienten wurden 24 Stunden nach der Behandlung auf der kardiologischen Intensivstation überwacht, bevor sie am nächsten Tag entlassen wurden. Patienten der Kontrollgruppe erhielten stattdessen eine leitliniengerechte medikamentöse Therapie ihrer NYHA III/IV Herzinsuffizienz. 3, 6 und 12 Monate nach der Behandlung bzw. dem Studienbeginn erfolgte bei jedem Patienten eine Follow-up-Untersuchung.

2.4 Untersuchungen

2.4.1 Labordiagnostik

Die Blutdiagnostik umfasste ein großes Blutbild, eine Blutgasanalyse, Troponin, Gesamt-CK (Creatin-Kinase), CK-MB, Brain Natriuretic Peptide (BNP), Transaminasen (GOT, GPT), Alkalische Phosphatase (AP), Bilirubin, Kreatinin, Harnstoff, Albumin, Gesamteiweiß, Elektrolyte (Chlorid, Kalium, Kalzium, Natrium) sowie Glukose.

2.4.2 Elektrokardiogramm (EKG)

Bei allen Patienten wurde ein konventionelles 12-Kanal-EKG durchgeführt um Rhythmusstörungen und Ischämiezeichen zu erfassen bzw. auszuschließen.

2.4.3 Echokardiographie (ECHO)

Die Ultraschalluntersuchungen des Herzens erfolgten mit einem Vivid 7 Gerät der Firma GE Healthcare. Der Untersucher hatte keine Information darüber, welcher Gruppe (Behandlungs- oder Kontrollgruppe) der Patient angehörte. Die Durchführung erfolgte transthorakal (TTE), hierfür lag der Patient in Links- bzw. Rückenlage. Die Darstellung erfolgte im zweidimensionalem B-Mode-Verfahren in der parasternalen Längs- und Kurzachse, im apikalen 3-, 4- und 5-Kammer-Blick und mittels Farbdoppler statt. Als Endpunkt wurde die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent, quantitativ berechnet nach der Scheibchensummationsmethode nach Simpson (biplan), sowie der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVEDD) in Millimeter, definiert. Zusätzlich wurde noch der linksventrikuläre endsystolische Durchmesser (LVESD) in Millimeter gemessen.

2.4.4 Myokardszintigraphie

Die Patienten der ischämischen Kardiomyopathie-Gruppe bekamen eine Technetium-99m Einzel-Photonen-Emissions-Tomographie (SPECT), welche unter Belastung durchgeführt wurde. Da eine bevorzugte körperliche Belastung mittels Ergometer bei herzinsuffizienten Patienten schlecht möglich bzw. nicht aussagekräftig ist, erfolgte eine pharmakologische Belastung bevorzugt mittels dem Vasodilatator Adenosin, bei Kontraindikation mittels Dobutamin. Anhand des Vergleichs der Bilder von Ruhezustand und Belastungszustand kann der relative Blutfluss zu den verschiedenen Regionen des Myokards ermittelt werden. Mit Hilfe dieser Untersuchung konnten außerdem quantitative Angaben zur Myokardperfusion, -dicke und -kontraktilität während der verschiedenen Phasen der Herzzyklen, sowie zur Ejektionsfraktion, dem Schlagvolumen und dem Herzminutenvolumen gewonnen werden.

2.5 Stammzellen

2.5.1 Gewinnung und Aufarbeitung der Stammzellen

Zur Gewinnung, Aufarbeitung und Applikation der Stammzellen wurden die Instrumente des Bone Marrow Concentration System BMAC2 240 INF Pack (Harvest Technologies, USA) verwendet.

Bei antikoagulierten Patienten wurde der INR auf <1.6 vor dem Tag des Eingriffs eingestellt. Unter sterilen Bedingungen und Lokalanästhesie wurde der Beckenkamm im Bereich der Spina iliaca posterior superior punktiert und mit einer heparingespülten 20 ml Spritze 120 ml Knochenmark aspiriert. Dies wurde ein weiteres Mal auf der anderen Körperseite wiederholt, bis insgesamt 240 ml Knochenmark aspiriert wurden. Das Aspirat wurde in einem Filterbeutel mit ACD-A (Acid-Citrate-Dextrose) gesammelt, welches der Separation von nicht-flüssigen Bestandteilen und der Antikoagulation diente. Dann wurden jeweils 60 ml des filtrierten Knochenmarkaspirats in vier kleine besonders vorgefertigte Behälter umgefüllt und im SmartPReP®2 (Harvest Technologies, USA) 15 Minuten lang zentrifugiert. Das SmartPReP®2 ist ein portables Gerät welches in das Katheterlabor mitgenommen werden kann und somit die Erstellung eines

Knochenmarkaspiratkonzentrats vor Ort ermöglicht. Mit Hilfe des SmartPReP®2 wurden aus jedem mit 60 ml Knochenmarkaspirat gefüllten Behälter ca. 10 ml Knochenmarkaspiratkonzentrat hergestellt. Somit wurden insgesamt 40 ml Knochenmarkaspiratkonzentrat gewonnen.

Durch die vorherige Antikoagulation des Knochenmarkaspirats in ACD-A verringert sich der pH-Wert. Da die Gabe einer sauren Lösung in das Myokard in seltenen Fällen proarrhythmogene Wirkungen haben kann, wurden zu den 40 ml Knochenmarkaspiratkonzentrat 2.0 ml 8.4% Natriumbikarbonat ($NaCO_3$) als Pufferlösung hinzugegeben (57). Zusätzlich wurden 20 ml Plasma von der zuvor stattgefundenen Zentrifugierung hinzugegeben, sodass nun insgesamt 60 ml Knochenmarkaspiratkonzentrats zur Verfügung standen.

2.5.2 Applikation der Stammzellen

Die Applikation der Stammzellen fand am selben Tag unmittelbar nach der Gewinnung und Aufarbeitung statt. Unter sterilen Bedingungen und Lokalanästhesie wurde die rechte Vena femoralis punktiert. Über eine 8-French-Schleuse wurde ein 8x40mm-Ballon-7-French-Katheter über die Vena cava inferior und über den rechten Vorhof in den Sinus coronarius platziert. Nach erfolgreicher Platzierung wurde der Ballon dilatiert und die 60 ml Knochenmarkaspiratkonzentrat fraktioniert in sechs 10 ml Spritzen über einen Zeitraum von 5 Minuten in den Sinus coronarius injiziert. Nach der Injektion blieb der Ballon weitere 10 Minuten dilatiert. Während der Untersuchung wurden kontinuierlich Herzfrequenz und Blutdruck gemessen und ein EKG abgeleitet.

Im Anschluss an die Behandlung wurden die Patienten für 24 Stunden auf einer kardiologischen Intensivstation überwacht. Neben der Überwachung der Vitalparameter wurden nach 8, 16 und 24 Stunden ein 12-Kanal EKG geschrieben sowie Troponin und Gesamt-CK bestimmt.

2.6 Follow-up-Untersuchungen (FU)

3, 6 und 12 Monate nach der Therapie erfolgte bei jedem Patienten eine Nachsorgeuntersuchung nach folgendem Schema:

Tab. 2: Follow-up-Untersuchungen

Untersuchung	Baseline	3 Monate	6 Monate	12 Monate
Anamnese & körperliche Untersuchung	x	x	x	x
Laboruntersuchung	x	x	x	x
EKG	x	x	x	x
ECHO	x	x	x	x
Koronarangiographie	x			
Myokardszintigraphie (nur ICM-Gruppe)	x		x	

2.7 Endpunkte

Primäre Endpunkte der Studie beziehen sich auf die Sicherheit und Durchführbarkeit der retrograden Stammzelltransplantation. Sekundäre Endpunkte waren die gemessene Veränderung der LVEF und LVEDD, Änderungen des NYHA-Stadiums sowie im MLHFQ Fragebogen zwischen Studienbeginn und 3-, 6- und 12-Monats Follow-up.

Gründe für einen sofortigen Therapieabbruch waren:

- Akutes Koronarsyndrom
- Schlaganfall
- Anhaltende Hypotonie
- Aortendissektion
- Darstellung eines Thrombus im linken Ventrikel oder Aorta, welche in vorherigen bildgebenden Darstellungen nicht zu sehen war
- Anhaltende ventrikuläre Tachykardie oder Kammerflimmern

Als Adverse Events (AE) bzw. unerwünschte Ereignisse wurden Ereignisse definiert, die ein neues medizinisches Problem oder eine Verschlechterung einer bestehenden Krankheit darstellten, unabhängig ob diese mit der Therapie zusammenhängen oder nicht. Jedes AE musste hinsichtlich der Schwere beurteilt werden, ob hier ein Serious Adverse Event (SAE) bzw. schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis

vorlag. Hierzu zählen alle Ereignisse die unmittelbar zum Tod führen oder zum Tode beitragen, potenziell lebensbedrohlich sind, zu einer permanenten Behinderung oder Einschränkung führen oder eine stationäre Behandlung erfordern bzw. verlängern. Daraufhin erfolgte eine Beurteilung inwiefern dieses Ereignis im Zusammenhang mit der Therapie stehen könnte.

2.8 Statistik

Für die statistische Datenauswertung und die Erstellung von Grafiken und Tabellen wurden IBM SPSS Statistics (Version 22) und Microsoft Excel 2011 verwendet. Kontinuierliche Variablen wurden als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Zur Darstellung von Unterschieden wurde bei normalverteilten Daten der T-Test angewandt, bei nicht normalverteilten Daten bei verbundenen Stichproben der Wilcoxon-Test und bei unverbundenen Stichproben der Mann-Whitney-Test. Ein zweiseitiger p-Wert ≤ 0.05 wurde als signifikanter Unterschied bezeichnet.

3. Ergebnisse

In diese Studie wurden insgesamt 60 Patienten eingeschlossen, 30 mit einer ICM und 30 mit einer DCM. 24 Patienten jeder Gruppe wurden in die Behandlungsgruppe randomisiert und 6 Patienten jeder Gruppe in die Kontrollgruppe. 2 Patienten der ICM-Behandlungsgruppe fielen nach erfolgter Randomisierung aber vor Erhalt der Stammzelltherapie aus der Studie. Einer der Patienten verstarb an einer anhaltenden ventrikulären Tachykardie, während der andere aufgrund von generalisierten tonisch-klonischen Anfällen die Studie abbrechen musste.

3.1 Demographische Patientendaten

In der ICM-Behandlungsgruppe betrug das Alter im Mittel 58.5 ± 12.7 Jahre und in der ICM-Kontrollgruppe 52.7 ± 8.5 Jahre. In der DCM-Behandlungsgruppe betrug das Alter im Mittel 48 ± 14.8 Jahre und in der DCM-Kontrollgruppe 59.3 ± 7.2 Jahre (Tab. 3). Beide Unterschiede zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe waren nicht signifikant ($p > 0.05$).

Tab. 3: Mittelwert und Standardabweichungen des Lebensalters der Patienten sowie Anteil an männlichen Patienten in Prozent

ICM			
	Behandlungsgruppe (n=22)	**Kontrollgruppe (n=6)**	**P-Wert**
Alter (Jahre)	58.5 ± 12.7	52.7 ± 8.5	0.295
Männer (%)	90.9 (n=20)	100 (n=6)	
DCM			
	Behandlungsgruppe (n=24)	**Kontrollgruppe (n=6)**	**P-Wert**
Alter (Jahre)	48 ± 14.8	59.3 ± 7.2	0.083
Männer (%)	58.3 (n=14)	83.3 (n=5)	

3.2 Adverse Events (AE), Serious Adverse Events (SAE) und Todesfälle

Hinsichtlich der Knochenmarkbiopsie wie auch der intrakoronaren Stammzellgabe traten keine technischen Schwierigkeiten auf. Es wurde in allen Fällen eine komplette Okklusion des proximalen Koronarsinus erreicht, ohne Auftreten von AE oder hämodynamischen Komplikationen hinsichtlich der Stammzellgabe.

Tabelle 4 zeigt die Inzidenz von allen Adverse Events (AE) bzw. unerwünschten Ereignissen, allen AE die möglicherweise im Zusammenhang zur Therapie stehen, allen Serious Adverse Events (SAE) bzw. schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen sowie allen Todesfällen.

Tab. 4: Inzidenz von AE, AE die möglicherweise im Zusammenhang zur Therapie stehen, SAE und Todesfällen mit Prozentangaben

	ICM		**DCM**	
	Behandlungsgr. (n=22)	**Kontrollgr. (n=6)**	**Behandlungsgr. (n=24)**	**Kontrollgr. (n=6)**
AE	22/22 (100%)	5/6 (83.3%)	21/24 (87.5%)	5/6 (83.3%)
AE möglicherweise im Zusammenhang zu Therapie	5/22 (22.7%)	-	4/24 (16.7%)	-
SAE	10/22 (45.5%)	2/6 (33.3%)	6/24 (25%)	2/6 (33.3%)
Gestorben	5/22 (22.7%)	2/6 (33.3%)	2/22 (9%)	0/6 (0%)

AE kamen bei der ICM-Behandlungsgruppe bei allen 22 Patienten vor, bei den restlichen Gruppen mit 83-87% ungefähr gleich oft. Der Unterschied zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe war nicht signifikant ($p = 0.253$). Von allen AE wurden solche abgegrenzt, die möglicherweise im Zusammenhang zur Therapie standen. Zu diesen zählte die Hämatombildung am Punktionsort der Leiste (4 Patienten), Troponinerhöhungen (2 Patienten), Kreatininerhöhung, Nachblutung am Ort der Beckenkammpunktion und Schmerzen am Ort der Beckenkammpunktion (jeweils 1 Patient).

SAE kamen in der ICM-Behandlungsgruppe bei 10 Patienten (45.5%), in der ICM-Kontrollgruppe bei 2 Patienten (33.3%), in der DCM-Behandlungsgruppe bei 6 Patienten (25%) und in der DCM-Kontrollgruppe bei 2 Patienten (33.3%) vor. Hierbei handelte es sich am häufigsten um eine dekompensierte Herzinsuffizienz (8 Patienten), weiterhin auch um einen plötzlichen Herztod, eine ventrikuläre Tachykardie mit kardiogenem Schock, Sepsis und akutes Nierenversagen. Der Unterschied zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe war nicht signifikant (p=0.907).

Im Laufe der Studie verstarben insgesamt 9 Patienten, 5 der ICM-Behandlungsgruppe (5/24 = 20.8%), 2 der ICM-Kontrollgruppe (2/6 = 33.3%) und 2 der DCM-Behandlungsgruppe (2/24 = 8.3%) (Abb. 3). Von den 5 Patienten der ICM-Behandlungsgruppe starben 2 an einem akuten Myokardinfarkt, 1 an einer dekompensierten Herzinsuffizienz und 2 unbekannter Ursache. Von den 2 Patienten der ICM-Kontrollgruppe starben beide an einer dekompensierten Herzinsuffizienz. Von den 2 Patienten der DCM-Behandlungsgruppe starben beide an einem plötzlichen Herztod. Die Unterschiede der Mortalität zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppen waren nicht signifikant (p = 0.928). Zwischen allen SAE und Todesfällen konnte kein bzw. kein eindeutiger Zusammenhang mit der Behandlung festgestellt werden.

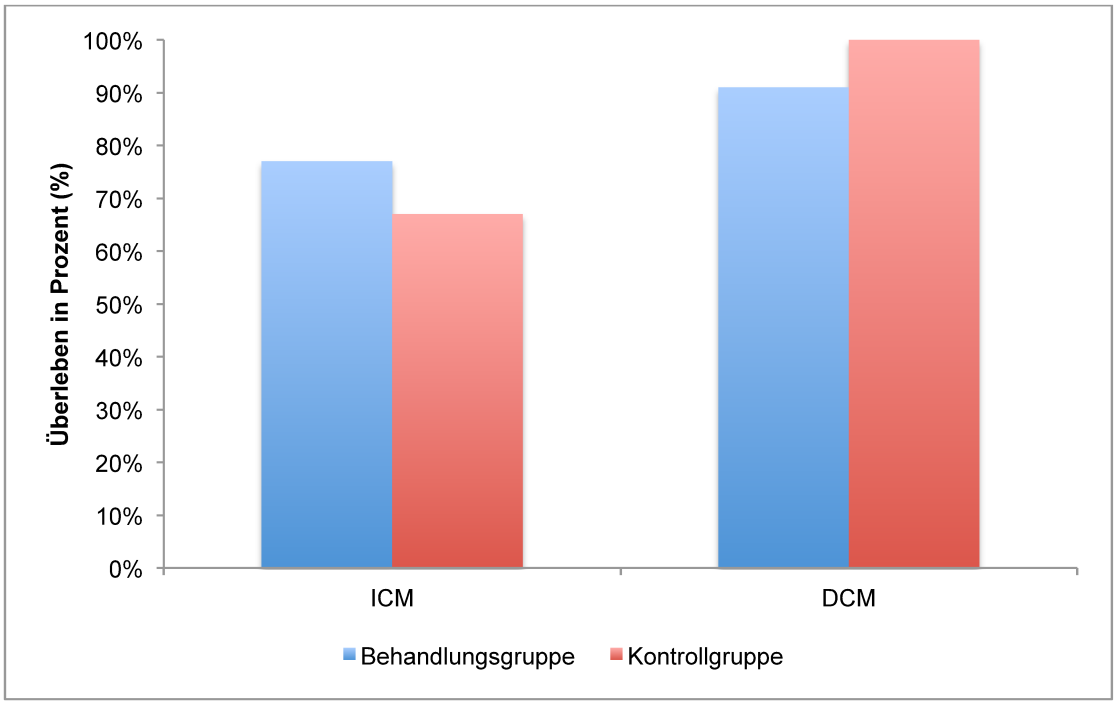

Abb. 3: Überlebensrate nach 12 Monaten in Prozent

3.3 Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) im ECHO

Zu Beginn der Studie (Baseline) lag die mittlere LVEF bei der ICM-Behandlungsgruppe bei 26.3 ± 5.6 %, bei der ICM-Kontrollgruppe bei 25 ± 8.9 %, bei der DCM-Behandlungsgruppe bei 25.1 ± 6.8 % und bei der DCM-Kontrollgruppe bei 24.1 ± 4.7 %.

Bei Betrachtung des Verlaufs der LVEF in der jeweiligen Behandlungsgruppe zeigt sich in der ICM-Behandlungsgruppe nach 12 Monaten eine statistisch signifikante Verbesserung von 26.3 ± 5.6 % zu 31.1 ± 7.1 % ($p = 0.035$). Auch in der DCM-Behandlungsgruppe zeigt sich nach 12 Monaten eine statistisch signifikante Verbesserung von 25.1 ± 6.8 % zu 31.1 ± 9.9 % ($p = 0.007$).

Werden die Ergebnisse der Behandlungsgruppe mit denen der Kontrollgruppe verglichen, so zeichnet sich nach 3 Monaten ein nicht-signifikanter Trend zu Gunsten der beiden Behandlungsgruppen aus, in denen die LVEF stärker anstieg als in den Kontrollgruppen. Allerdings war dieser Trend nach 6 und nach 12 Monaten nicht mehr existent. So lag die mittlere LVEF nach 12 Monaten bei der ICM-Behandlungsgruppe bei 31.1 ± 7.1 %, bei der ICM Kontrollgruppe bei 33.1 ± 8.5 %, bei der DCM-Behandlungsgruppe bei 31.1 ± 9.9 % und bei der DCM-Kontrollgruppe bei 30.2 ± 9.4 % (Tab. 5, Abb. 4-5). Insgesamt war der Unterschied von Behandlungsgruppe und Kontrollgruppe zu keinem Zeitpunkt signifikant ($p > 0.05$).

Tab. 5: Mittelwert und Standardabweichung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent im ECHO

ICM			
	Behandlungsgruppe	**Kontrollgruppe**	**P-Wert**
Baseline	26.3 ± 5.6 (n=22)	25 ± 8.9 (n=6)	0.675
3-Monats-FU	29.9 ± 6.6 (n=20)	27.1 ± 8.9 (n=6)	0.661
6-Monats-FU	31.7 ± 5.6 (n=17)	31.9 ± 4.7 (n=4)	0.721
12-Monats-FU	31.1 ± 7.1 (n=17)	33.1 ± 8.5 (n=4)	0.814
DCM			
	Behandlungsgruppe	**Kontrollgruppe**	**P-Wert**
Baseline	25.1 ± 6.8 (n=24)	24.1 ± 4.7 (n=6)	0.748
3-Monats-FU	29.2 ± 8.2 (n=22)	26.8 ± 6.8 (n=5)	0.515
6-Monats-FU	30.9 ± 8.5 (n=22)	30.6 ± 7.5 (n=5)	0.968
12-Monats-FU	31.1 ± 9.9 (n=21)	30.2 ± 9.4 (n=5)	0.954

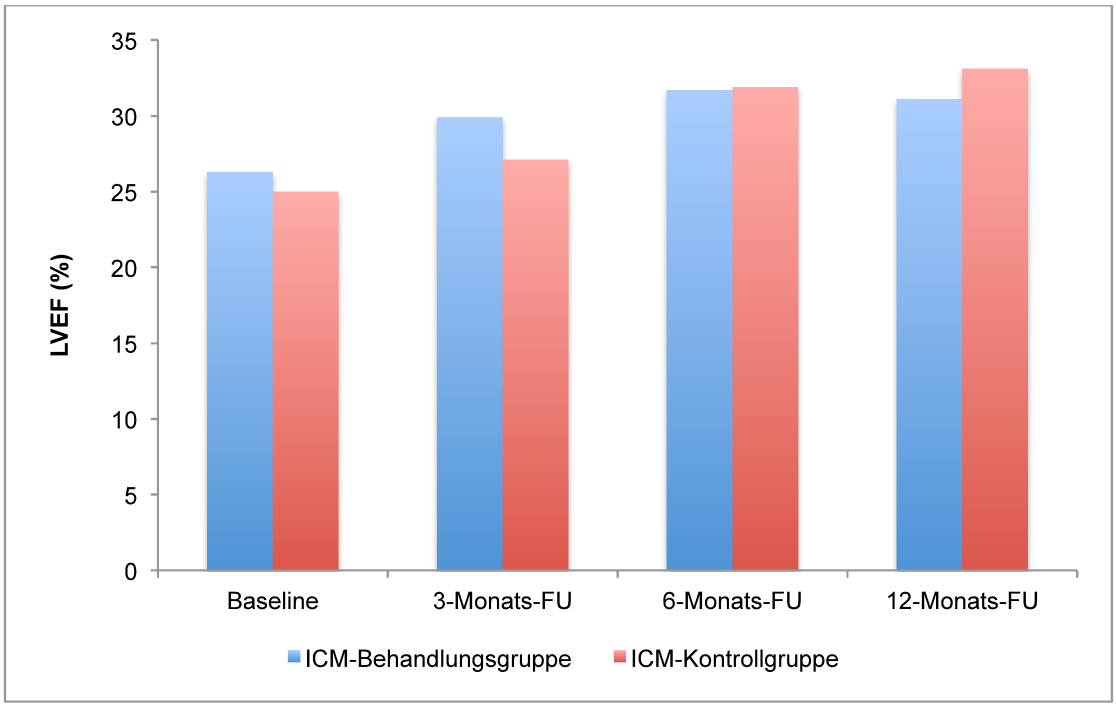

Abb. 4: Entwicklung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent der ICM-Patientengruppe im ECHO

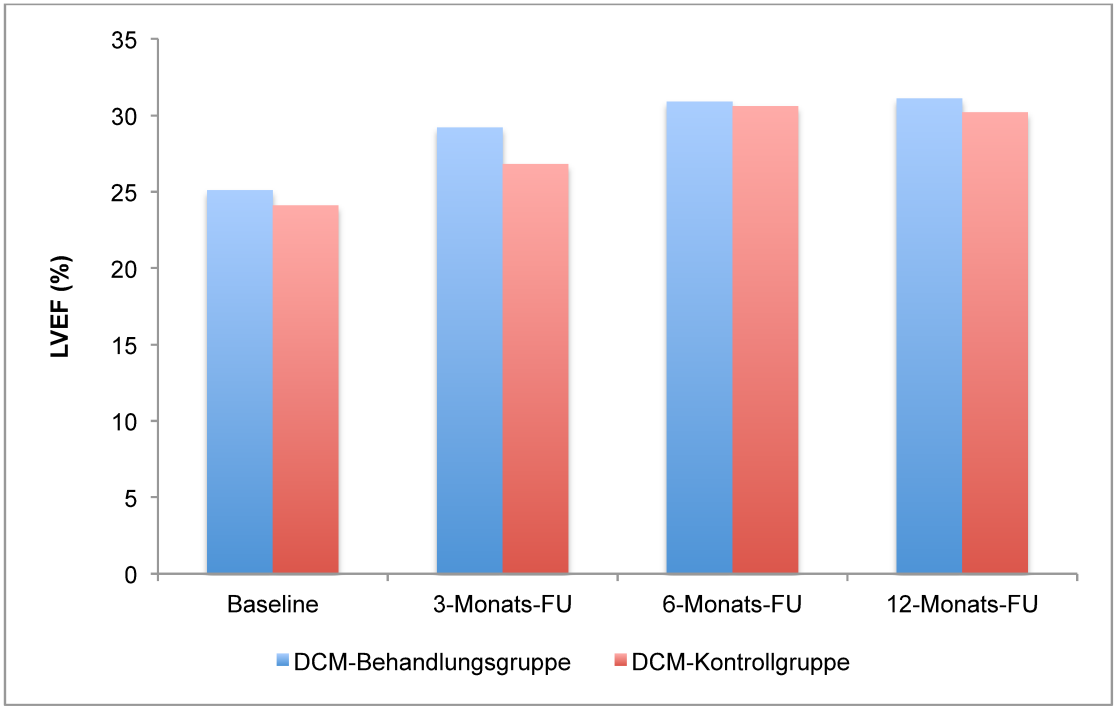

Abb. 5: Entwicklung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent der DCM-Patientengruppe im ECHO

3.4 Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) in der Myokardszintigraphie

Zusätzlich zu der LVEF Bestimmung im ECHO wurde bei der ICM-Behandlungsgruppe die LVEF mittels Myokardszintigraphie vor Behandlungsbeginn und nach 6 Monaten bestimmt. In der ICM-Behandlungsgruppe verbesserte sich die LVEF von 27.1 ± 7.5 % auf 29.3 ± 6.7 %, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant (p = 0.849). In der ICM-Kontrollgruppe verbesserte sich die LVEF von 23.3 ± 10.4 % auf 31.3 ± 14.2 %, dieser Unterschied war nicht signifikant (p = 0.231). Auch bei direktem Vergleich der jeweiligen Werte zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe war der Unterschied zu keinem Zeitpunkt signifikant (p > 0.05) (Tab. 6, Abb 6.).

Tab. 6: Mittelwert und Standardabweichung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent in der Myokardszintigraphie

ICM			
	Behandlungsgruppe	**Kontrollgruppe**	**P-Wert**
Baseline	27.1 ± 7.5 (n=22)	23.3 ± 10.4 (n=6)	0.324
6-Monats-FU	29.3 ± 6.7 (n=17)	31.3 ± 14.2 (n=4)	0.264

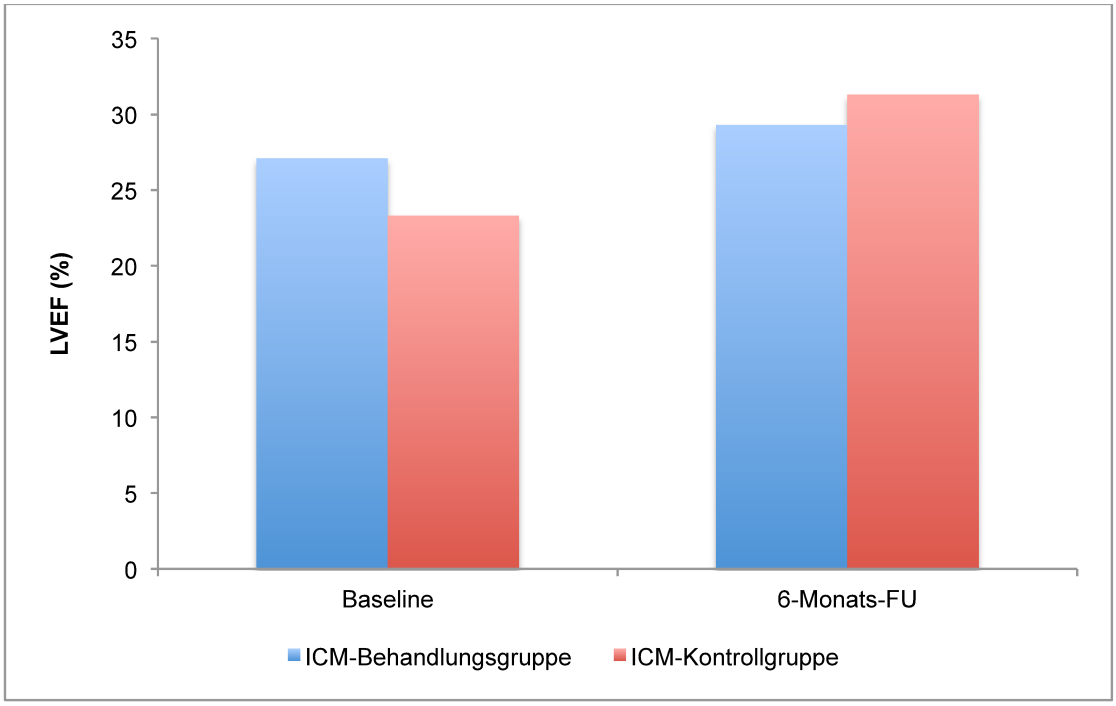

Abb. 6: Entwicklung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) in Prozent der ICM-Patientengruppe in der Myokardszintigraphie

3.5 Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (LVEDD) im ECHO

Neben der LVEF wurde im ECHO auch der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVEDD) gemessen. Vor Behandlungsbeginn lag der LVEDD der ICM-Behandlungsgruppe bei 63 ± 7.6 mm, der ICM-Kontrollgruppe bei 61.8 ± 7.3 mm, der DCM-Behandlungsgruppe bei 64.3 ± 8.7 mm und der DCM-Kontrollgruppe bei 66.3 ± 8.4 mm. Insgesamt zeigte die ICM-Behandlungsgruppe eine sinkende Tendenz und erreichte mit 59.1 ± 10 mm nach 6 Monaten den niedrigsten Wert, dieser Unterschied verfehlte knapp statistische Signifikanz ($p = 0.058$). Währenddessen zeigte sich in der ICM-Kontrollgruppe eine steigende Tendenz, der mit 66 ± 7.5 mm nach 6 Monaten den höchsten Wert zeigte. Auch dieser Unterschied verfehlte knapp statistische Signifikanz ($p = 0.068$). Werden die Werte der Behandlungsgruppe mit denen der Kontrollgruppe verglichen, so waren der Unterschied nach 6 und nach 12 Monaten knapp nicht-statistisch signifikant ($p = 0.064$ und 0.067) (Tab. 7, Abb. 7-8).

Die LVEDD Werte der DCM-Behandlungs- und Kontrollgruppe zeigten beide eine sinkende Tendenz und erreichten beide nach 12 Monaten mit 62.5 ± 10.8 mm bzw. 60.4 ± 11.7 mm ihren niedrigsten Wert (Tab. 7, Abb. 7-8). Der Unterschied innerhalb der jeweiligen Gruppe wie auch zwischen den Gruppen war zu keinem Zeitpunkt signifikant ($p > 0.05$).

Tab. 7: Mittelwert und Standardabweichung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVEDD) in Millimeter im ECHO

ICM			
	Behandlungsgruppe	**Kontrollgruppe**	**P-Wert**
Baseline	63 ± 7.6 (n=22)	61.8 ± 7.3 (n=6)	0.75
3-Monats-FU	59.9 ± 6.3 (n=20)	62.7 ± 10.3 (n=6)	0.221
6-Monats-FU	59.1 ± 10 (n=17)	66 ± 7.5 (n=4)	0.064
12-Monats-FU	61.5 ± 7.3 (n=17)	65.8 ± 9.7 (n=4)	0.067
DCM			
	Behandlungsgruppe	**Kontrollgruppe**	**P-Wert**
Baseline	64.3 ± 8.7 (n=24)	66.3 ± 8.4 (n=6)	0.602
3-Monats-FU	64.6 ± 6.8 (n=22)	62.6 ± 10.8 (n=5)	0.280
6-Monats-FU	62.7 ± 9 (n=22)	62 ± 7.9 (n=5)	0.681
12-Monats-FU	62.5 ± 10.8 (n=21)	60.4 ± 11.7 (n=5)	0.333

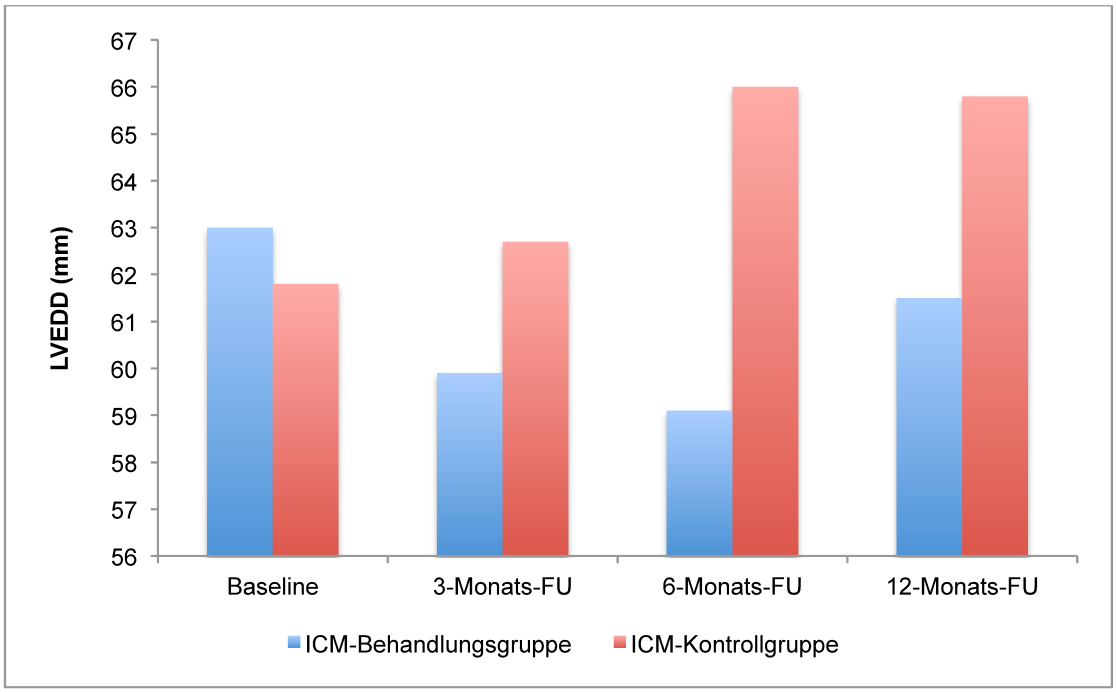

Abb. 7: Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVEDD) in Millimeter der ICM-Patientengruppe im ECHO

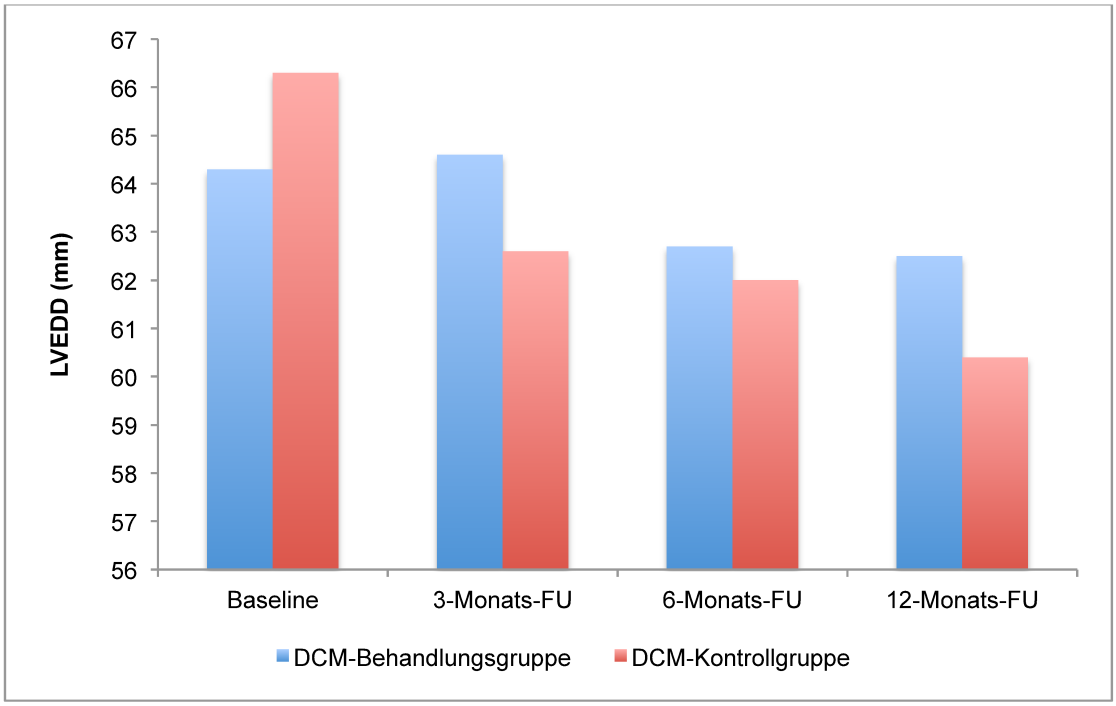

Abb. 8: Entwicklung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers (LVEDD) in Millimeter der DCM-Patientengruppe im ECHO

3.6 NYHA-Stadium

In der ICM-Behandlungsgruppe lag das mittlere NYHA-Stadium bei Behandlungsbeginn bei 3.27 ± 0.46, in der ICM-Kontrollgruppe bei 3.33 ± 0.52. In der DCM-Behandlungsgruppe lag dieses bei 3 ± 0 und in der DCM-Kontrollgruppe bei 3.17 ± 0.41. Insgesamt zeigte sich in beiden Behandlungsgruppen eine statistische signifikante Verbesserung nach 12 Monaten im Vergleich zur Baseline ($p < 0.05$). Bei Vergleich zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe konnte in der ICM-Behandlungsgruppe nach 3 Monaten ein signifikanter Unterschied zur ICM-Kontrollgruppe festgestellt werden ($p = 0.034$), der sich aber nach 6 und 12 Monaten wieder relativiert hatte. In der DCM-Behandlungsgruppe konnte ein ähnlicher Trend festgestellt werden, bei dem der Unterschied zur DCM-Kontrollgruppe nach 3 Monaten eine Signifikanz nur knapp verfehlt ($p = 0.082$). Allerdings hatte sich auch dieser Änderung nach 6 und 12 Monaten wieder etwas relativiert (Tab. 8, Abb. 9-10.)

Tab. 8: Mittelwert und Standardabweichung des NYHA-Stadiums

ICM			
	Behandlungsgruppe	**Kontrollgruppe**	**P-Wert**
Baseline	3.27 ± 0.46 (n=22)	3.33 ± 0.52 (n=6)	0.801
3-Monats-FU	1.8 ± 0.62 (n=20)	3.17 ± 1.17 (n=6)	0.034
6-Monats-FU	1.71 ± 0.87 (n=17)	2.25 ± 1.17 (n=4)	0.401
12-Monats-FU	1.82 ± 0.81 (n=17)	2.25 ± 1.17 (n=4)	0.455
DCM			
	Behandlungsgruppe	**Kontrollgruppe**	**P-Wert**
Baseline	3 ± 0 (n=24)	3.17 ± 0.41 (n=6)	0.363
3-Monats-FU	1.68 ± 0.72 (n=22)	2.6 ± 0.89 (n=5)	0.082
6-Monats-FU	1.68 ± 0.72 (n=22)	2.4 ± 1.14 (n=5)	0.235
12-Monats-FU	1.76 ± 0.70 (n=21)	2.6 ± 0.89 (n=5)	0.105

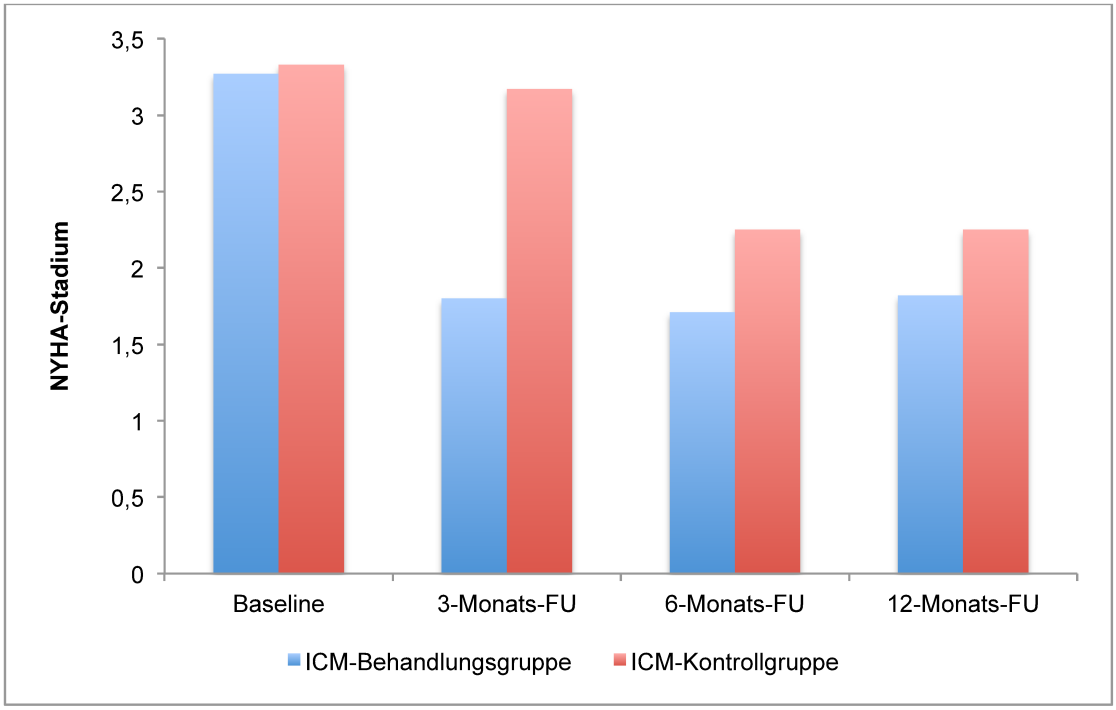

Abb. 9: Entwicklung des NYHA-Stadiums der ICM-Patientengruppe

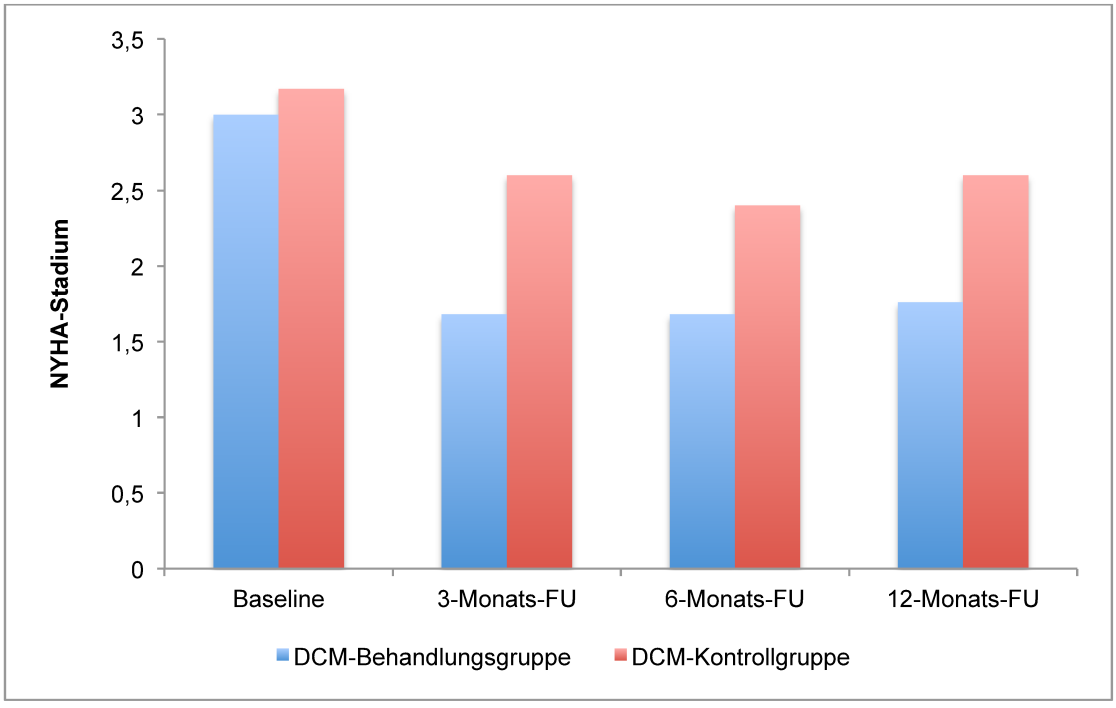

Abb. 10: Entwicklung des NYHA-Stadiums der DCM-Patientengruppe

Generell lässt sich festhalten, dass sich die NYHA-Stadien bei fast allen Patienten der Behandlungsgruppen nicht verschlechtert haben. In der ICM-Behandlungsgruppe verschlechterte sich ein Patient nach 12 Monaten von NYHA-Stadium III zu IV, während in der DCM-Behandlungsgruppe das NYHA-Stadium bei allen Patienten zumindest gleich blieb. Insgesamt verbesserte sich das NYHA-Stadium bei Patienten der DCM-Behandlungsgruppe etwas mehr als bei Patienten der ICM-Behandlungsgruppe (Tab. 9-10).

Tab. 9: Verschiebung der NYHA-Stadien der ICM-Patienten ausgehend von Baseline

		NYHA-Stadium bei Baseline			
		ICM-Behandlungsgruppe		**ICM-Kontrollgruppe**	
		NYHA III	**NYHA IV**	**NYHA IIII**	**NYHA IV**
3-Monats-FU	NYHA I	6	-	1	-
	NYHA II	7	5	-	-
	NYHA III	1	1	2	-
	NYHA IV	-	-	1	2
6-Monats-FU	NYHA I	6	2	1	-
	NYHA II	5	1	1	1
	NYHA III	2	1	-	-
	NYHA IV	-	-	1	-
12-Monats-FU	NYHA I	6	-	1	-
	NYHA II	6	3	1	-
	NYHA III	1	-	1	1
	NYHA IV	1	-	-	-

Tab. 10: Verschiebung der NYHA-Stadien der DCM-Patienten ausgehend von Baseline

		NYHA-Stadium bei Baseline			
		DCM-Behandlungsgruppe		DCM-Kontrollgruppe	
		NYHA III	NYHA IV	NYHA IIII	NYHA IV
3-Monats-FU	NYHA I	10	-	-	-
	NYHA II	9	-	2	1
	NYHA III	3	-	1	-
	NYHA IV	-	-	1	-
6-Monats-FU	NYHA I	8	-	-	1
	NYHA II	13	-	2	-
	NYHA III	1	-	1	-
	NYHA IV	-	-	1	-
12-Monats-FU	NYHA I	8	-	-	-
	NYHA II	10	-	2	1
	NYHA III	3	-	1	-
	NYHA IV	-	-	1	-

4. Diskussion

4.1 Sicherheit

Die Ergebnisse dieser Studie stützen die These, dass die Transplantation von frisch isolierten Stammzellen retrograd über den Koronarsinus sicher und durchführbar ist. Bei insgesamt 46 behandelten Patienten entstanden keine periprozeduralen Komplikationen. Postprozedurale Komplikationen umfassten lediglich zu erwartende Komplikationen einer Herzkatheteruntersuchung und einer Beckenkammbiopsie, die allesamt vor Entlassung erfolgreich behandelt werden konnten. Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse (SAE) traten in einem Nachsorgefenster von einem Jahr im Schnitt bei jedem dritten Patienten in allen Randomisierungsarmen auf, was angesichts des Krankheitszustandes der Patienten in dieser Studie zu erwarten war. Die Mehrzahl aller SAE war kardiovaskulär bedingt, jedoch wurde keines als unmittelbar im Zusammenhang mit der Behandlung stehend bewertet. Auch zu den 9 verstorbenen Patienten konnte in der Todesursache kein eindeutiger Zusammenhang mit der Behandlung festgestellt werden. Von den 9 Patienten gehörten 5 der ICM-Behandlungsgruppe, 2 der ICM-Kontrollgruppe und 2 der DCM-Behandlungsgruppe an. Statistisch gesehen war der Unterschied in der Häufigkeit der SAE wie auch der Mortalität zwischen Behandlungsgruppe und Kontrollgruppe nicht signifikant. Dieses Ergebnis stimmt auch mit denen anderer Studien und Arbeitsgruppen überein (58-60).

Häufig wird das potenzielle Risiko der Arrhythmogenität und der Tumorformation der kardialen Stammzelltherapie diskutiert. Das Risiko der Arrhythmogenität wird durch das Fehlen der elektromechanischen Integration der Stammzellen in das empfangende Myokardgewebe erklärt, was insbesondere skelettale Myoblasten betrifft (61). Im Rahmen mehrerer klinischer Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass es grundsätzlich nur bei intramyokardialer Gabe von Stammzellen zu vermehrten Arrhythmien kommen kann, während es bei intrakoronarer Gabe zu keiner erhöhten Inzidenz von Arrhythmien kam (62-64). Diese Erkenntnis spricht für eine parakrine Wirkweise der Knochenmarkstammzelltherapie im Gegensatz zu einer Persistenz applizierter Zellen mit fehlender elektromechanischer Integration (64) (siehe 4.5 Propagierte Wirkmechanismen). Deshalb wurde in dieser Studie von einem gesondertem Screening nach neu aufgetretenen Arrhythmien, beispielsweise in Form von Langzeit-(Holter)-EKGs oder gar der Implantation von Loop-Recorder

verzichtet. Außerdem sollte erwähnt werden, dass Patienten mit fortgeschrittener chronischer Herzinsuffizienz, vor allem auf Basis einer ICM, bereits an sich anfällig für die Entwicklung von Arrhythmien sind (64). Trotzdem sollte in der Forschung und Erprobung zukünftiger Behandlungsstrategien darauf geachtet werden, dass Risiko von Stammzell-assoziierten Arrhythmien möglichst auf ein Minimum zu reduzieren. Eine erhöhte Inzidenz an Neoplasien konnte in dieser Studie nicht gezeigt werden, was auch den Ergebnissen bisher veröffentlichter Studien mit Stammzellen des Knochenmarks entspricht (65).

Obwohl die intrakoronare retrograde Stammzelltransplantation zusammenfassend und hinsichtlich der Ergebnisse bereits durchgeführter klinischer Studien als sicher zu bewerten ist, sollten Langzeitergebnisse von Studien mit größeren Patientenzahlen und längeren Nachbeobachtungszeiten abgewartet werden um genauere Angaben zu möglichen Spätfolgen der Therapie machen zu können.

4.2 Applikationsform

Von allen bisher untersuchten Applikationsformen ist die intrakoronare Verabreichung von Stammzellen die bisher meist untersuchte und angewandte (32). Die Verfahrensweise kommt einer Koronarangiographie bzw. -angioplastie gleich und zeichnet sich gegenüber anderen Zugangsformen durch minimale Invasivität und Zugang an das Myokardgewebe über das koronare Gefäßsystem aus. Als Variante der gängigen (anterograden) intrakoronaren Applikation rückte die retrograde Gabe der Stammzellen über den Koronarsinus in den Fokus, ein Zugangsweg der schon in der Schrittmachertherapie bei CRT-Implantationen verwendet wird. Die Idee den Koronarsinus zur Stammzelltransplantation zu verwenden entstand unter anderem aus dem Hintergrund, dass die anterograde Koronarperfusion durch KHK-bedingte Engstellen in minderperfundierte Areale eingeschränkt ist bzw. bei chronischen Komplettverschlüssen nicht mehr möglich ist, eine venöse Infusion diese Engstellen und Verschlüsse aber retrograd umgehen kann. Somit können bei Patienten mit einer ICM retrograd injizierte Stammzellen vor allem die post-stenotischen ischämischen Myokardareale problemlos und homogener erreicht werden (66). Diese homogene Verteilung ist theoretisch auch für eine das gesamte Herz betreffende Erkrankung wie die DCM von Vorteil. Im Rahmen von Tierexperimenten konnte bereits nachgewiesen werden, dass die retrograde Infusion von Genen über den

Koronarsinus eine homogenere Verteilung im Myokard erreicht als beispielsweise eine chirurgische oder perkutane Injektionsmethode (67).

Nachteile des retrograden Ansatzes sind mögliche Anomalien der Anatomie des Koronarsinuses wie auch des gesamten koronarvenösen Systems, die eine effektive Infusion und Verteilung der Stammzellen in das gesamte Herz erschweren (68). Ein weiteres Problem stellt die Tatsache dar, dass viele chronisch herzinsuffiziente Patienten in Besitz eines CRT-Gerätes im Rahmen ihrer Herzinsuffizienztherapie sind, bei dem die Sonde des linksventrikulären Ventrikels im Koronarsinus liegt. Obwohl im Vorfeld das Vorhandensein eines biventrikulären Schrittmachers nicht als absolutes Ausschlusskriterium festgelegt wurde, so wurden Patienten mit CRT-Geräten letztendlich nicht für diese Studie ausgewählt, da zu erwarten war, dass die linksventrikuläre Sonde die Sondierung und die Ballondilatation des Koronarsinus behindern könnte. Gerade letzteres ist unabdingbar zur effektiven Verhinderung des venösen Blutabflusses. Da abzusehen ist, dass immer mehr Menschen an einer Herzinsuffizienz erkranken und die CRT-Therapie gleichzeitig immer verbreiteter wird, dürfte dies weiterhin ein Problem darstellen (69).

Ein grundlegendes Problem der kardialen Stammzelltransplantation ist die bislang niedrige Zellretentions- und Zelleinwachsungsrate. Verschiedene Methoden wurden verwendet um die Stammzelleinwachsung mittels radioaktiver Markierung, genetischer Markierung oder quantitativer Echtzeit-PCR zu quantifizieren. Diese ergaben eine akute Zellretention von <10% im Herzen nach intramyokardialer, (antegrader) intrakoronarer und retrograder (trans-Koronarsinus) Gabe von Stammzellen, was die Ineffizienz der bis zuletzt verwendeten Applikationsformen der Stammzelltransplantation unterstreicht (70-73). Die Arbeitsgruppe um George et al. konnte zwar im Tiermodell nachweisen, dass die retrograde Gabe von Zellen eine bessere Zellretention erreicht als die anterograde Gabe, jedoch bleibt dieses Problem bis heute ein zentraler Aspekt den es noch zu verbessern gilt (74).

4.3 Zellpräparation

In dieser Studie wurden frisch isolierte Knochenmarkstammzellen verwendet. Im Vergleich zum Goldstandard, der Zellpräparation mittels Ficoll-Dichtegradientenzentrifugation, zeichnen sich frisch isolierte Knochenmarkstammzellen durch kürzere Gewinnungs- und Verarbeitungszeiten und

leichterer Handhabung aus. Die Zusammensetzung des Endprodukts dieser Methode zeichnet sich durch einen niedrigeren Anteil an mononukleären Zellen (34% vs. 85%), jedoch einen höheren Anteil an Granulozyten (54% vs. 5%) und Thrombozyten (>400% vs. <0.5%) (75). Thrombozyten nehmen eine wichtige Rolle in der Rekrutierung von $CD34^+$ Stammzellen des Knochenmarks und der $c\text{-}Kit^+$ $Sca\text{-}1^+$ Lin^- Vorläuferzellen des Knochenmarks zum Ort der Ischämie ein (76). Weiterhin sezernieren aktivierte Thrombozyten das Chemokin SDF-1, welches die Adhärenz und Migration von Stammzellen und Vorläuferzellen durch Bindung des spezifischen Rezeptors CXCR4 unterstützt und dadurch eine Rolle in der Gewebs- und Gefäßregeneration einnimmt (77). Granulozyten besitzen die Fähigkeit verschiedene angiogene Faktoren freizusetzen, insbesondere das VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), welches bekanntlich eine wichtige Rolle in der Neoangiogenese von hypoxischem oder ischämischem Gewebe spielt (78-79). Laut Hermann et al. konnte eine Gleichwertigkeit bzw. Überlegenheit von frisch isolierten Knochenmarkstammzellen gegenüber des mittels Ficoll-Verfahren gewonnenem Endprodukt festgestellt werden (80).

4.4 Effektivität und Vergleich zu anderen Studien

Innerhalb beider Behandlungsgruppen kam es nach 12 Monaten zu einer signifikanten Verbesserung der linksventrikulären Ejektionsfraktion. In der ICM- wie auch in der DCM-Behandlungsgruppe kam es zu einer signifikanten Verbesserung der LVEF. Diese Ergebnisse spiegeln eine maßgebliche Verbesserung der kardialen Pumpfunktion einer Population nach Stammzellbehandlung wieder. In der ICM-Behandlungsgruppe zeigte sich nach 6 Monaten eine Verkleinerung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers welcher nur knapp statistische Signifikanz verfehlte. Hinsichtlich der klinischen Symptomatik zeigte sich in beiden Behandlungsgruppen eine signifikante Verbesserung des mittleren NYHA-Stadiums.

Werden jedoch die Ergebnisse der Behandlungsgruppen mit denen der Kontrollgruppen hinsichtlich LVEF, LVEDD oder NYHA-Stadium nach 12 Monaten verglichen, zeigen sich keine signifikante Unterschiede mehr. Interessant war das Vorliegen eines zwar nicht-signifikanten Trends der LVEF im ECHO nach 3 Monaten zu Gunsten beider Behandlungsgruppen, in denen die LVEF stärker anstieg als in den Kontrollgruppen, allerdings war dieser Trend nach 6 und nach 12 Monaten nicht mehr existent. Der LVEDD gemessen im ECHO zeigte in der ICM-

Behandlungsgruppe eine sinkende Tendenz während er in der ICM-Kontrollgruppe eine steigende Tendenz zeigte. Dies spiegelt einen Trend wieder der möglicherweise Aufschluss auf zugrundeliegende Wirkmechanismen im Sinne eines verbesserten ventrikulären Remodelings gibt. Letztendlich sind jedoch Interpretationen und Rückschlüsse der Ergebnisse dieser Studie auf die Effektivität der Therapie, vor allem hinsichtlich eines Vergleiches von Behandlungs- und Kontrollgruppe, aufgrund der niedrigen Patientenzahlen wenig aussagekräftig (siehe 4.6 Limitationen).

In Bezug auf die Stammzelltherapie bei chronischer Herzinsuffizienz gibt es weitaus weniger Daten als zur Therapie beim akuten Myokardinfarkt. Strauer et al. kamen in der nicht-randomisierten IACT-Studie erstmals zum Schluss, dass die intrakoronare Transplantation von Knochenmarkstammzellen nach über 5 Monate nach stattgefundenem Myokardinfarkt zu einer kleineren Infarktnarbe, verbesserter LVEF und Wandbewegungen des Ventrikels führt (81). Die TOPCARE-CHD-Studie schloss 75 Patienten mit ICM und vor mindestens 3 Monaten stattgefundenem Myokardinfarkt in eine randomisierte kontrollierte Studie ein und stellte fest, dass sich nach 3 Monaten die LVEF der mit Knochenmarkstammzellen-behandelten Patienten gegenüber der Kontrollgruppe signifikant gebessert hatte. Auch wurden diese Ergebnisse in Patienten beobachtet, die durch „cross-over“ von der Kontroll- in die Behandlungsgruppe wechselten (82). Die STAR-Studie als bislang größte schloss 391 Patienten mit chronischer ICM ein, von denen 191 Patienten die intrakoronare Knochenmarkstammzelltherapie erhielten und 200 Patienten eine Kontrollgruppe bildeten. Während nach 5 Jahren in der Kontrollgruppe die LVEF allmählich schlechter wurde, blieb sie in der Behandlungsgruppe stabil, was einen signifikanten Unterschied darstellte. Außerdem wurde nach 5 Jahren eine signifikant niedrigere Mortalität in der mit Stammzellen-behandelten Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe verzeichnet (83). Jedoch sind die Ergebnisse aufgrund des nicht-randomisierten Studiendesigns mit Vorsicht zu betrachten (84).

Die „First-In-Man“ ABCD (Autologous Bone Marrow Cells in Dilated Cardiomyopathy Trial) Studie zur Anwendung der intrakoronaren Stammzelltransplantation bei DCM fand mit einer Kohorte von 44 Patienten statt. 24 Patienten wurden in den Therapiearm randomisiert und 20 in die Kontrollgruppe. Nach 6 Monaten zeigte sich eine geringe aber signifikante Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion bei gleichbleibendem enddiastolischen Volumen (85). Auch im Langzeitverlauf nach 3 Jahren blieben die Ergebnisse gleich (86). In der Düsseldorfer ABCD-Studie wurde in einem nicht-randomisiertem Design die Stammzelltransplantation bei 10 Patienten

untersucht. Im Vergleich zu einer Kontrollgruppe zeigte sich nach 3 Monaten eine Verbesserung der LVEF bei gleichbleibender LVEDD, allerdings fehlten hier Langzeitergebnisse (87). Vrtovec et al. untersuchten in einer randomisierten kontrollierten Studie 110 Patienten mit einer DCM. Nach Stammzelltransplantation zeigten hier die 5-Jahres-Ergebnisse eine anhaltend erhöhte LVEF und auch eine mittels 6-Minuten-Gehtest ermittelte verbesserte Belastbarkeit bei behandelten Patienten (88).

4.5 Propagierte Wirkmechanismen

Bis heute ist der genaue Wirkmechanismus von Knochenmarkstammzellen am Myokard nicht ausreichend geklärt. Eines der ersten Konzepte, die Transdifferenzierung von Knochenmarkstammzellen zu Kardiomyozyten, wurde erstmals von Orlic et al. berichtet und brachte große Hoffnungen das geschädigte Herz mittels Stammzellen regenerieren zu können (40). Nachdem es jedoch anderen Arbeitsgruppen nicht gelang diese Ergebnisse zu reproduzieren wurde dieser propagierte Mechanismus immer mehr in Frage gestellt (89-90). Zudem konnten auch in klinischen Studien kaum Indizien zur Transdifferenzierung gefunden werden, beziehungsweise die Anzahl der zu Kardiomyozyten differenzierten Stammzellen war zu gering um die beobachteten Verbesserungen kardialer Funktion zu erklären (65, 85, 91). Hierauf verschob sich das Konzept der Stammzelleffizienz vermehrt zum parakrinen Mechanismus.

Der parakrine Mechanismus oder die parakrine Hypothese besagt, dass transplantierte Zellen Zytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren produzieren die am Vorgang der kardialen Reparatur beteiligt sind (92). So ist z.B. die Konzentration von Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF), Hepatocyte Growth Factor (HGF), Insulin-like Growth Factor (IGF)-1 und Adrenomedullin im Myokardgewebe nach Stammzellbehandlung eines geschädigten Herzens signifikant erhöht, bei hypoxischen Bedingungen nochmals zusätzlich (92-95). Insgesamt können parakrine Faktoren demnach benachbarte Zellen beeinflussen und ihren Einfluss auf verschiedene Weisen ausüben. Ein parakriner Effekt ist beispielsweise die unmittelbare Sezernierung von zytoprotektiven Molekülen durch Stammzellen in einem ischämischem Milieu, die zu einer Reduktion von Zellnekrosen und Apoptosen führt, auch kardiale Protektion genannt (92-96). Auch eine Neovaskularisation wird in parakriner Manier durch Stammzellen

beeinflusst. Diese wird nicht direkt durch eine Inkorporierung der Stammzellen in die Gefäßstrukturen erreicht, sondern vielmehr über molekulare Prozesse mittels Mediatoren wie bspw. Stickstoffmonoxid, VEGF, bFGF, die allesamt eine Neovaskularisation fördern (92-97). Parakrine Faktoren beeinflussen auch die extrazelluläre Matrix und können dadurch den Verlauf postinfarziellen Remodelings positiv beeinflussen. In Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass die Injektion von mesenchymalen Stammzellen in ischämische Rattenherzen zu einer verminderten Fibrose, Apoptose und linksventrikulären Dilatation führen und gleichzeitig die Myokarddicke erhöhen, welches die kardiale Funktion stabilisiert bzw. präserviert (98). Außerdem existieren Anzeichen dafür, dass adulte Stammzellen die kardiale Kontraktilität durch Sezernierung inotroper Faktoren positiv beeinflussen können (92).

4.6 Limitationen

Da diese Studie primär als Machbarkeitsstudie konzipiert wurde, stand die Prüfung der Sicherheit und Durchführbarkeit eines neuen Therapiekonzeptes im Vordergrund. Aus diesem Grund bestehen im Studiendesign Limitationen hinsichtlich der Interpretation der gewonnenen Daten und der Bewertung der Effektivität der Behandlung. Die ungleiche 4:1 Verteilung zugunsten der Behandlungsgruppe ermöglichte zwar die Behandlung vieler Patienten bei gleichzeitiger Wahrung einer Kontrollgruppe, reduziert aber die Aussagekraft eines direkten Vergleichs zwischen beider Gruppen. Außerdem bedeutete dies, dass bei insgesamt 46 (von ursprünglich 48) behandelten Patienten lediglich 12 der Kontrollgruppe angehörten, wovon 6 jeder Krankheitsgruppe (ICM und DCM) angehörten, was letztendlich zu wenig für eine aussagekräftige Repräsentation einer Kontrollgruppe ist. Hinzu kommt die Tatsache, dass bei einer Patientenkohorte mit fortgeschrittener chronischer Herzinsuffizienz zu erwarten ist, dass ein beträchtlicher Teil der Patienten im Laufe der Zeit aus verschiedenen Gründen aus der Studie ausscheiden, was die bereits niedrige Kohortenzahl nochmals reduziert. Um diese Limitationen zu beheben bedarf es klinischer Studien mit weitaus größeren Patientenzahlen und einer gleichmäßigen 1:1 Randomisierung in Behandlungs- und Kontrollgruppe, idealerweise mit Doppelverblindung. Auch die relativ kurze Nachbeobachtungszeit von nur einem Jahr stellt eine klare Limitation dieser Studie dar. Um die Nachhaltigkeit und den Langzeitverlauf der Herzfunktion nach der Behandlung zu bewerten, bedarf es längerer Nachbeobachtungszeiträume.

Ein weiteres Problem stellte die „Interobserver-Variabilität“ in Bezug auf die ECHO-Untersuchungen dar. Da es aus logistischen Gründen nicht möglich war, dass ausschließlich ein Untersucher alle ECHO-Untersuchungen bei allen Patienten durchführt, ist nicht auszuschließen, dass verschiedene Untersucher bei einer Untersuchung auf verschiedene Messergebnisse kommen. Es wurde zumindest versucht, dass jeder Patient im Laufe der Studie immer den gleichen ECHO-Untersucher zugewiesen bekam, sodass die Ergebnisse eines Patienten vergleichbar sind. Insgesamt hätte die Vergleichbarkeit aller ECHO-Untersuchungen durch Auswertung mittels eines zentralen Labors noch verbessert werden können.

Interessant wäre neben der hämodynamischen Evaluierung auch die Beurteilung der körperlichen Leistungsfähigkeit der Patienten vor der Behandlung und danach. Diese hätte beispielsweise mittels einer Spirometrie geschehen können, welche als Goldstandard zur quantitativen Bestimmung der körperlichen Leistungsfähigkeit gilt (87).

5. Zusammenfassung

Trotz zahlreicher Fortschritte in der Therapie von kardiovaskulären Erkrankungen ist die Herzinsuffizienz eine der häufigsten internistischen Erkrankungen und Todesursachen in westlichen Ländern. Durch eine zunehmend alternde Bevölkerung bei gleichzeitig verbesserter medizinischer Versorgung ist zu erwarten, dass die Zahl der an Herzinsuffizienz erkrankten Personen weiterhin zunehmen wird.

Die kardiale Stammzelltherapie stellt eine neuartige und interessante Therapiemöglichkeit für Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz dar. Potenziell regenerative Effekte der Zelltherapie, die zu einer Verbesserung der Herzfunktion führen, wurden bereits eindrucksvoll im Rahmen tierexperimenteller Studien belegt. In zahlreichen klinischen Studien konnte bereits die Sicherheit und Durchführbarkeit der kardialen Stammzelltherapie bewiesen werden, jedoch bestehen noch hinsichtlich der Effektivität dieser Behandlung teils widersprüchige Ergebnisse.

Im Rahmen einer prospektiven, randomisierten, kontrollierten Studie konnten wir feststellen, dass die autologe intrakoronare retrograde Stammzelltransplantation über den Koronarsinus bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz aufgrund einer ischämischen oder dilatativen Kardiomyopathie sicher und durchführbar ist. Obwohl diese Studie aufgrund des Studiendesigns und der niedrigen Patientenzahlen nicht die nötige Teststärke besaß um eine statistische Signifikanz zwischen einer Behandlungs- und Kontrollgruppe darzustellen, so zeigen die signifikanten Verbesserungen der linksventrikulären Ejektionsfraktion innerhalb beider Ätiologien vielversprechende Anzeichen, dass die Therapie positive Auswirkungen auf die Pumpfunktion und das ventrikuläre Remodeling haben könnte. Transplantierte Stammzellen scheinen einen parakrinen Wirkmechanismus zu besitzen, bei der mittels Sezernierung von Zytokinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren eine kardiale Regeneration bewirkt wird. Um jedoch das gesamte Potenzial dieser noch jungen aber vielversprechenden Therapieform auszuschöpfen werden in Zukunft noch weitere Fragen vor allem hinsichtlich des idealen Stammzelltyps, des optimalen Applikationsweges, der effektiven Isolation und Dosierung der Zellen und der richtigen Indikationsstellung in Studien mit größeren Patientenzahlen und längeren Nachbeobachtungszeiten geklärt werden müssen.

Literaturverzeichnis

1. Mosterd A, Hoes AW, de Bruyne MC, Deckers JW, Linker DT, Hofman A, Grobbee DE. **Prevalance of heart failure and left ventricular dysfunction in the general population; The Rotterdam Study.** *Eur Heart J.* 1999 Mar;20(6):447-55.

2. DGK, 2013. **Versorgungsrealität in Deutschland: Wird die Herzfrequenz bei chronischer systolischer Herzinsuffizienz ausreichend gesenkt?** Pressemitteilung, 3 April 2013. Online unter http://dgk.org/daten/Dr-Zugck_Versorgungsrealitaet.pdf (aufgerufen 2. Mai 2014)

3. Neumann T, Biermann J, Erbel R, Neumann A, Wasem J, Ertl G, Dietz R. **Heart failure: the commonest reason for hospital admission in Germany: medical and economical perspectives.** *Dtsch Arztebl Int.* 2009 Apr;106(16)269-75.

4. Stewart S, MacIntyre K, Capewell S, McMurray JJ. **Heart failure and the aging populatio: an increasing burden in the 21st century?** *Heart*. 2003 Jan;89(1)49-53.

5. Bleumink GS, Knetsch AM, Sturkenboom MC, Straus SM, Hofman A, Deckers JW, Witteman JC, Stricker BH. **Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart Failure;The Rotterdam Study.** *Eur Heart J*. 2004 Sep;25(18):1614-9.

6. **Todesursachen in Deutschland – Fachserie 12 Reihe 4**. *Statistisches Bundesamt* Deutschland, 2012.

7. Jackson G, Gibbs CR, Davies MK, Lip GY. **ABC of heart failure. Pathophysiology.** *BMJ*. 2000 Jan 15;320(7228):167-70

8. Hess OM. **Herzinsuffizienz: Definition, Ursachen und Formen.** *Schweiz Med Forum* 2003; 48:1158-6

9. Hoppe UC, Böhm M, Dietz R, Hanrath P, Kroemer HK, Osterspey A, Schmaltz AA, Erdmann E. **Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz**. *Z Kardiol* 2005; 94:488-509

10. Baldasseroni S, Opasich C, Gorini M, Lucci D, Marchionni N, Marini M, Campana C, Perini G, Deorsola A, Masotti G, Tavazzi L, Maggioni AP. **Left bundle-branch block is associated with increased 1-year sudden and total mortality rate in 5517 outpatients with congestive heart failure: a report from the Italian network on congestive heart failure**. *Am Heart J*. 2002 Mar;143(3):398-405

11. Hunter JJ, Grace AA, Chien KR. **Molecular and cellular biology of cardiac hypertrophy and failure**. In: *Chien KR, ed. Molecular basis of heart disease: a companion to Braunwald's Heart Disease*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1999: 211-50.

12. The CONSENSUS Trial Study Group. **Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS)**. *N Engl J Med*. 1987 Jun;316(23):1429-35

13. The SOLVD Investigators. **Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure**. *N Engl J Med*. 1991 Aug 1;325(5):293-302

14. Hjalmarson A, Goldstein S, Fagerberg B, Wedel H, Waagstein F, Kjekshus J, Wikstrand J, El Allaf D, Vitovec J, Aldershvile J, Halinen M, Dietz R, Neuhaus KL, Janosi A, Thorgeirsson G, Dunselman PH, Gullestadt L, Kuch J, Herlitz J, Rickenbach P, Ball S, Gottlieb S, Deedwania P. **Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations and well-being in patients with heart failure: the Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in congestive heart failure (MERIT-HF). MERIT-HF Study Group**. *JAMA*. 2000 Mar 8;283(10):1295-302

15. CIBIS-II Investigators. **The cardiac insufficiency Bisoprolol Study II (CIBIS-II): a randomised trial**. *Lancet*. 1999 Jan 2;353(9146):9-13

16. Dickstein K, Vardas PE, Auricchio A, Daubert JC, Linde C, McMurray J, Ponikowski P, Priori SG, Sutton R, van Veldhuisen DJ. 2010 **Focused Update of ESC Guidelines on device therapy in heart failure: an update of the 2008 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure and the 2007 ESC guidelines for cardiac and resynchronization therapy**. *Eur Heart J*. 2010 Nov;31(21):2677-87

17. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. **Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts.** *Science*. 1998 Nov 6;282(5391):1145-7

18. Lee AS, Tang C, Cao F, Xie X, van der Bogt K, Hwang A, Connolly AJ, Robbins RC, Wu JC. **Effects of cell number on teratoma formation by human embryonic stem cells.** *Cell Cycle*. 2009 Aug 15;8(16):2608-12.

19. Cao F, Lin S, Xie X, Ray P, Patel M, Zhang X, Drukker M, Dylla SJ, Connolly AJ, Chen X, Weissman IL, Gambhir SS, Wu JC. **In vivo visualization of embryonic stem cell survival, proliferation and migration after cardiac delivery**. *Circulation*. 2006 Feb 21;113(7):1005-14

20. Laughlin MJ. **Umbilical cord blood for allogenic transplantation in children and adults**. *Bone Marrow Transplant.* 2001 Jan;27(1):1-6.

21. Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, Jacobsen N, Ruutu T, de Lima M, Finke J, Frassoni F, Gluckman E; Acute Leukemia Working Party of European Blood and Marrow Transplant Group; Eurocord-Netcord Registry. **Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia**. *N Engl J Med.* 2004 Nov 25;351(22):2276-85.

22. Strauer BE, Steinhoff G. **10 years of intracoronary and intramyocardial bone marrow stem cell therapy of the heart: from the methodological origin to clinical practice**. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Sep 6;58(11):1095-104

23. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, Paolucci E, Stornaiuolo A, Cossu G, Mavilio F. **Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors**. *Science*. 1998 Mar 6;279(5356):1528-30

24. Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R, Neutzel S, Sharkis SJ. **Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell**. *Cell*. 2001 May 4;105(3):369-77

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

26. Unno K, Jain M, Liao R. **Cardiac side population cells: moving toward the center stage in cardiac regeneration**. *Circ Res*. 2012 May 11;110(10):1355-63

27. Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. **Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells**. *J Clin Invest*. 2001 Jun;107(11):1395-402

28. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. **Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis**. *Science*. 1997 Feb 14;275(5302):964-7

29. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. **Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization**. *Nat Med*. 1999 Apr;5(4):434-8

30. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, Kasahara H, Rota M, Musso E, Urbanek K, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. **Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration**. *Cell*. 2003 Sep 19;114(6):763-76

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

32. Mozid AM, Arnous S, Sammut EC, Mathur A. **Stem cell therapy for heart diseases**. *Br Med Bull*. 2011;98:143-59.

33. Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM, Hauschka SD. **Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis**. *J Clin Invest*. 1996 Dec 1;98(11):2512-23

34. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcheson KA, Glower DD, Kraus WE. **Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation**. *Nat Med*. 1998 Aug;4(8):929-33

35. Menasché P, Hagège AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, Bel A, Sarateanu S, Scorsin M, Schwartz K, Bruneval P, Benbunan M, Marolleau JP, Duboc D. **Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction**. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Apr 2;41(7):1078-83

36. Coppen SR, Fukushima S, Shintani Y, Takahashi K, Varela-Carver A, Salem H, Yashiro K, Yacoub MH, Suzuki K. **A factor underlying late-phase arrhythmogenicity after cell therapy to the heart: global downregulation of connexin43 in the host myocardium after skeletal myoblast transplantation**. *Circulation*. 2008 Sep 30;118(14 Suppl):S138-44

37. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, Finato N, Beltrami CA, Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P. **Chimerism of the transplanted heart**. *N Engl J Med*. 2002 Jan 3;346(1):5-15

38. Müller P, Pfeiffer P, Koglin J, Schäfers HJ, Seeland U, Janzen I, Urbschat S, Böhm M. **Cardiomyocytes of noncardiac origin in myocardial biopsies of human transplanted hearts**. *Circulation*. 2002 Jul 2;106(1):31-5

39. 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 Mar 11;107(9):1247-9

40. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. **Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium**. *Nature*. 2001 Apr 5;410(6829):701-5

41. Tomita S, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Sakai T, Jia ZQ. **Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function**. *Circulation*. 1999 Nov 9;100(19 Suppl):II247-56

42. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, Homma S, Edwards NM, Itescu S. **Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function**. *Nat Med*. 2001 Apr;7(4):430-6

43. Sheng CC, Zhou L, Hao J. **Current stem cell delivery methods for myocardial repair**. *Biomed Res Int*. 2013;2013:547902.

44. Tang YL, Zhu W, Cheng M, Chen L, Zhang J, Sun T, Kishore R, Phillips MI, Losordo DW, Qin G. **Hypoxic preconditioning enhances the benefit of cardiac progenitor cell therapy for treatment of myocardial infarction by inducing CXCR4 expression**. *Circ Res*. 2009 May 22;104(10):1209-16.

45. Kamota T, Li TS, Morikage N, Murakami M, Ohshima M, Kubo M, Kobayashi T, Ikeda Y, Matsuzaki M, Hamano K. **Ischemic pre-conditioning enhances the mobilzation and recruitment of bone marrow stem cells to protect against ischemia/reperfusion injury in the late phase**. *J Am Coll Cardiol*. 2009 May 12;53(19):1814-22.

46. Elmadbouh I, Haider HKh, Idris NM, Lu G, Ashraf M. **Ex vivo delivered stromal cell-derived factor-1alpha promotes stem cell homing and induces angiomyogenesis in the infarcted myocardium**. *J Mol Cell Cardiol*. 2007 Apr;42(4):792-803.

47. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, Rossi MI, Carvalho AC, Dutra HS, Dohmann HJ, Silva GV, Belém L, Vivacqua R, Rangel FO, Esporcatte R, Geng YJ, Vaughn WK, Assad JA, Mesquita ET, Willerson JT. **Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure**. *Circulation*. 2003 May 13;107(18):2294-302

48. Makkar RR, Lill M, Chen PS. **Stem cell therapy for myocardial repair: is it arrhythmogenic?** *J Am Coll Cardiol*. 2003 Dec 17;42(12):2070-2.

49. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Gattermann N, Hernandez A, Sorg RV, Kögler G, Wernet P. **Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction**. *Dtsch Med Wochenschr*. 2001 Aug 24;126(34-35):932-8.

50. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Köstering M, Hernandez A, Sorg RV, Kögler G, Wernet P. **Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans**. *Circulation*. 2002 Oct 8;106(15):1913-8

51. Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Döbert N, Grünwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Zeiher AM. **Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI)**. *Circulation*. 2002 Dec 10;106(24):3009-17.

52. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S, Korte T, Hornig B, Messinger D, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Drexler H. **Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial**. *Lancet*. 2004 Jul 10-16;364(9429):141-8.

53. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, Pirr J, Rager U, Lippolt P, Hahn A, Fichtner S, Schaefer A, Arseniev L, Ganser A, Drexler H. **Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: 5-year follow-up from the randomized-controlled BOOST trial**. *Eur Heart J*. 2009 Dec;30(24):2978-84.

54. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, Arnesen H, Abdelnoor M, Egeland T, Endresen K, Ilebekk A, Mangschau A, Fjeld JG, Smith HJ, Taraldsrud E, Grogaard HK, Bjornerheim R, Brekke M, Müller C, Hopp E, Ragnarsson A, Brinchmann JE, Forfang K. **Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction**. *N Engl J Med*. 2006 Sep 21;355(12):1199-209.

55. Schächinger V, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Hölschermann H, Yu J, Corti R, Mathey DG, Hamm CW, Süselbeck T, Assmus B, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM; REPAIR-AMI Investigators. **Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction**. *N Engl J Med*. 2006 Sep 21;355(12):1210-21.

56. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, Schümichen C, Nienaber CA, Freund M, Steinhoff G. **Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration**. *Lancet*. 2003 Jan 4;361(9351):45-6.

57. Gerst PH, Fleming WH, Malm JR. **Increased susceptibility of the heart to ventricular fibrillation during metabolic acidosis**. *Circ Resc*. 1966;19:63-70

58. Wollert KC, Drexler H. **Cell therapy for the treatment of coronary heart disease: a critical appraisal**. *Nat Rev Cardiol*. 2010 Apr;7(4):204-15.

59. Martin-Rendon E, Brunskill SJ, Hyde CJ, Stanworth SJ, Mathur A, Watt SM. **Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review**. *Eur Heart J*. 2008 Aug;29(15):1807-18.

60. Tuma J, Fernandez-Vina R, Carrasco A, Castillo J, Cruz C, Ercilla J, Yarleque C, Cunza J, Henry TD, Patel AN. **Safety and feasibility of percutaneous retrograde coronary sinus delivery of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with chronic refractory angina.** *J Transl Med.* 2011 Oct 26;9:183.

61. Menasché P. **Stem cell therapy for heart failure: are arrhythmias a real safety concern?** *Circulation*. 2009 May 26;119(20):2735-40.

62. Fukushima S, Varela-Carver A, Coppen SR, Yamahara K, Felkin LE, Lee J, Barton PJ, Terracciano CM, Yacoub MH, Suzuki K. **Direct intramyocardial but not intracoronary injection of bone marrow cells induces ventricular arrhythmias in a rat chronic ischemic heart failure model.** *Circulation*. 2007 May 1;115(17):2254-61

63. Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, Montori VM, Perin EC, Hornung CA, Zuba-Surma EK, Al-Mallah M, Dawn B. **Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis**. *Arch Intern Med.* 2007 May 28;167(10):989-97.

64. Leistner DM, Schmitt J, Palm S, Klotsche J, Estel S, Fink A, Israel CW, Assmus B, Duray GZ, Dimmeler S, Hohnloser SH, Zeiher AM. **Intracoronary administration of bone marrow-derived mononuclear cells and arrhythmic events in patients with chronic heart failure**. *Eur Heart J.* 2011 Feb;32(4):485-91.

65. Shah VK, Shalia KK. **Stem Cell Therapy in Acute Myocardial Infarction: A Pot of Gold or Pandora's Box**. *Stem cells Int*. 2011; 2011: 536758.

66. Dib N, Menasche P, Bartunek JJ, Zeiher AM, Terzic A, Chronos MA, Henry TD, Peters NS, Fernández-Avilés F, Yacoub M, Sanborn TA, Demaria A, Schatz RA, Taylor DA, Fuchs S, Itescu S, Miller LW, Dinsmore JH, Dangas GD, Popma JJ, Hall JL, Homes DR Jr; International Society for Cardiovascular Translational Research. **Recommendations for successful training on methods of delivery of biologics for cardiac regeneration: a report of the International Society for Cardiovascular Translational Research**. *JACC Cardiovasc Interv*. 2010 Mar;3(3):265-75.

67. Raake P, von Degenfeld G, Hinkel R, Vachenauer R, Sandner T, Beller S, Andrees M, Kupatt C, Schuler G, Boekstegers P. **Myocardial gene transfer by selective pressure-regulated retroinfusion of coronary veins: comparison with surgical and percutaneous intramyocardial gene delivery**. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Sep 1;44(5):1124-9.

68. Dib N, Khawaja H, Varner S, McCarthy M, Campbell A. **Cell therapy for cardiovascular disease: a comparison of methods of delivery**. *J Cardiovasc Transl Res*. 2001 Apr;4(2):177-81.

69. Brasselet C, Morichetti MC, Messas E, Carrion C, Bissery A, Bruneval P, Vilquin JT, Lafont A, Hegège AA, Menasché P, Desnos M. **Skeletal myoblast transplantation through a catheter-based coronary sinus approach: an effective means of improving function of infarcted myocardium.** *Eur Heart J*. 2005 Aug;26(15):1551-6.

70. Terrovitis J, Lautamäki R, Bonios M, Fox J, Engles JM, Yu J, Leppo MK, Pomper MG, Wahl RL, Seidel J, Tsui BM, Bengel FM, Abraham MR, Marbán E. **Noninvasive quantification and optimization of acute cell retention by in vivo positron emission tomography after intramyocardial cardiac-derived stem cell delivery**. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Oct 20;54(17):1619-26.

71. Robey TE, Saiget MK, Reinecke H, Murry Ce. **Systems approaches to preventing transplanted cell death in cardiac repair**. *J Mol Cell Cardiol*. 2008 Oct;45(4):567-81.

72. Goussetis E, Manginas A, Koutelou M, Peristeri I, Theodosaki M, Kollaros N, Leontiadis E, Theodorakos A, Paterakis G, Karatasakis G, Cokkinos DV, Graphakos S. **Intracoronary infusion of CD133+ and CD133-CD34+ selected autologous bone marrow progenitor cells in patients with chronic ischemic cardiomyopathy: cell isolation, adherence to the infarcted area, and body distribution**. *Stem Cells*. 2006 Oct;24(10):2279-83.

73. Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, Menke A, Arseniev L, Hertenstein B, Ganser A, Knapp WH, Drexler H. **Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium**. *Circulation*. 2005 May 3;111(17):2198-202.

74. George JC, Goldberg J, Joseph M, Abdulhameed N, Crist J, Das H, Pompili VJ. **Transvenous intramyocardial cellular delivery increases retention in comparison to intracoronary delivery in a porcine model of acute myocardial infarction**. *J Interv Cardiol*. 2008 Oct;21(5):424-31.

75. Kevy SV, Jacobson MS, Heeschen C. **Composition of a bone marrow concentrate determines its regenerative effect: a comparative in vivo study**. *18th Annual Meeting of the Wound Healing Society, SAWC/WHS Joint Meeting*. April 24-27 2008, San Diego, CA, USA

76. Massberg S, Konrad I, Schürzinger K, Lorenz M, Schneider S, Zohlnhoefer D, Hoppe K, Schiemann M, Kennerknecht E, Sauer S, Schulz C, Kerstan S, Rudelius M, Seidl S, Sorge F, Langer H, Peluso M, Goyal P, Vestweber D, Emambokus NR, Busch DH, Frampton J, Gawaz M. **Platelets secrete stromal cell-derived factora 1-alpha and recruit bone marrow-derived progenitor cells to arterial thrombi in vivo**. *J Exp Med*. 2006 May 15;203(5):1221-33

77. Stellos K, Gawaz M. **Platelet interaction with progenitor cells: potential implications for regenerative medicine**. *Thromb Haemost*. 2007 Nov;98(5):922-9

78. Kusumanto YH, Dam WA, Hospers GA, Meijer C, Mulder NH. **Platelets and granulocytes, in particular the neutrophils, form important compartments for circulating vascular endothelial growth factor**. *Angiogenesis*. 2003;6(4):283-7

79. Stegmann TJ, Hoppert T, Schneider A, Gemeinhardt S, Köcher M, Ibing R, Strupp G. **Induction of myocardial neoangiogenesis by human growth factors. A new therapeutic approach in coronary heart disease**. *Herz*. 2000 Sep;25(6):589-99

80. Hermann PC, Huber SL, Herrler T, von Hesler C, Andrassy J, Kevy SV, Jacobson MS, Heeschen C (2008) **Concentration of bone marrow total nucleated cells by a point-of-care device provides a high yield and preserves their functional activity**. *Cell Transplant*. 2008;16(10):1059-69

81. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Bartsch T, Schannwell C, Antke C, Sorg RV, Kögler G, Wernet P, Müller HW, Köstering M. **Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study.** *J Am Coll Cardiol.* 2005 Nov 1;46(9):1651-8.

82. Assmus B, Honold J, Schächinger V, Britten MB, Fischer-Rasokat U, Lehmann R, Teupe C, Pistorius K, Martin H, Abolmaali ND, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM. **Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction**. *N Engl J Med*. 2006 Sep 21;355(12):1222-32.

83. Strauer BE, Yousef M, Schannwell CM. **The acute and long-term effects of intracoronary Stem cell Transplantation in 191 patients with chronic heARt failure: the STAR-heart study**. *Eur J Heart Fail*. 2010 Jul;12(7):721-9.

84. Tongers J, Losordo DW, Landmesser U. **Stem and progenitor cell-based therapy in ischaemic heart disease: promise, uncertainties, and challenges**. *Eur Heart J*. 2011 May;32(10):1197-206.

85. Seth S, Narang R, Bhargava B, Ray R, Mohanty S, Gulati G, Kumar L, Reddy KS, Venugopal P, AIIMS Cardiovascular Stem Cell Study Group. **Percutaneous intracoronary cellular cardiomyoplasty for nonischemic cardiomyopathy: clinical and histopathological results: the first-in-man ABCD (Autologous Bone Marrow Cells in Dilated Cardiomyopathy) trial**. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Dec 5;48(11):2350-1.

86. Seth S, Bhargava B, Narang R, Ray R, Mohanty S, Gulati G, Kumar L, Airan B, Venugopal P, AIIMS Stem Cell Study Group. **The ABCD (Autologous Bone Marrow Cells in Dilated Cardiomyopathy) trial a long-term follow-up study**. *J Am Coll Cardiol*. 2010 Apr 13;55(15):1643-4.

87. Schannwell CM, Köstering M, Zeus T, Brehm M, Erdmann G, Fleissner T, Yousef M, Kögler G, Wernet P, Strauer BE. **Humane autologe Stammzelltransplantation zur Myokardregeneration bei dilatativer Kardiomyopathie (NYHA Stadium II bis III)**. *Journal für Kardiologie* 15 (2008), S. 23-30.

88. Vrtovec B, Poglajen G, Lezaic L, Sever M, Domanovic D, Cernelc P, Socan A, Schrepfer S, Torre-Amione G, Haddad F, Wu JC. **Effects of intracoronary CD34+ stem cell transplantation in nonischemic dilated cardiomyopathy patients: 5-year follow-up**. *Circ Res*. 2013 Jan 4;112(1):165-73.

89. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima HO, Rubart M, Pasumarthi KB, Virag JI, Bartelmez SH, Poppa V, Bradford G, Dowell JD, Williams DA, Field LJ. **Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocates in myocardial infarcts**. *Nature*. 2004 Apr 8;428(6983):664-8.

90. Loffredo FS, Steinhauser ML, Gannon J, Lee RT. **Bone marrow-derived cell therapy stimulates endogenous cardiomyocyte progenitors and promotes cardiac repair**. *Cell Stem Cell*. 2011 Apr 8;8(4):389-98.

91. Malliaras K, Marbán E. **Cardiac cell therapy: where we've been, where we are, and where we should be headed**. *Br Med Bull*. 2011;98:161-85.

92. Gnecchi M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ. **Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy**. *Circ Res*. 2008 Nov 21;103(11):1204-19.

93. Yoon YS, Wecker A, Heyd L, Park JS, Tkebuchava T, Kusano K, Hanley A, Scadova H, Qin G, Cha DH, Johnson KL, Aikawa R, Asahara T, Losordo DW. **Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction**. *J Clin Invest*. 2005 Feb;115(2):326-38.

94. Nagaya N, Kangawa K, Itoh T, Iwase T, Murakami S, Miyahara Y, Fujii T, Uematsu M, Ohgushi H, Yamagishi M, Tokudome T, Mori H, Miyatake K, Kitamura S. **Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy**. *Circulation*. 2005 Aug 23;112(8):1128-35.

95. Mirotsou M, Jayawardena TM, Schmeckpeper J, Gnecchi M, Dzau VJ. **Paracrine mechanisms of stem cell reparative and regenerative actions in the heart**. *J Mol Cell Cardiol.* 2011 Feb;50(2):280-9.

96. Kubal C, Sheth K, Nadal-Ginard B, Galinanes M. **Bone marrow cells have a potent anti-ischemic effect against myocardial cell death in humans**. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006 Nov;132(5):1112-8.

97. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, Lee CW, Barr S, Fuchs S, Epstein SE. **Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms**. *Circ Res*. 2004 Mar 19;94(5):678-85.

98. Berry MF. Engler AJ, Woo YJ, Pirolli TJ, Bish LT, Jayasankar V, Morine KJ, Gardner TJ, Discher DE, Sweeney HL. **Mesenchymal stem cell injection after myocardial infarction improves myocardial compliance**. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Jun;290(6):H2196-203.

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Hüseyin Ince für die Möglichkeit, diese Arbeit in der Abteilung für Kardiologie durchführen zu dürfen, wie auch für seine über die Doktorarbeit hinausgehende Unterstützung und Förderung meiner klinischen Ausbildung.

Ein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn PD Dr. med. Gökmen Turan für seine unermüdliche Unterstützung und Hilfsbereitschaft, mit der er mich in allen Phasen dieser Arbeit fachlich und menschlich betreut und gefördert hat.

Mein genereller Dank gilt auch allen an dieser Arbeit beteiligten Mitarbeitern der Abteilung für Kardiologie, besonders des Studienbüros, für die freundliche Hilfe und Zusammenarbeit.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mir das Studium der Medizin ermöglicht haben, mich in all meinen Vorhaben immer liebevoll unterstützt haben und mir stets als Vorbild galten.

Lebenslauf

Veröffentlichungen

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benützt habe. Die aus anderer Literatur verwendeten Inhalte sind als solche kenntlich gemacht.

Rostock, September 2015 Yannik Stoeckicht

Thesen

1. Die Herzinsuffizienz stellt hinsichtlich der Morbidität und Mortalität eine der bedeutsamsten Erkrankungen in westlichen Ländern dar.

2. Mit Ausnahme der Herztransplantation gibt es gegenwärtig keine Therapieform, mit der eine fortgeschrittene chronische Herzinsuffizienz kurativ behandelt werden kann.

3. Im Rahmen tierexperimenteller Studien konnte nachgewiesen werden, dass die Transplantation von Stammzellen in geschädigtes Myokardgewebe zu einer Verbesserung der kardialen Funktion führt.

4. Adulte, autologe Knochenmarkstammzellen zeichnen sich durch ihre leichte Gewinnung mittels Beckenkammpunktion, wie auch durch ihre ethische und immunologische Unbedenklichkeit aus.

5. Die retrograde, intrakoronare Applikation von Stammzellen über den Koronarsinus stellt eine sichere und durchführbare Möglichkeit der Stammzellgabe dar.

6. In unserer Studie führte die Stammzelltransplantation nach 12 Monaten zu einer statistisch signifikanten Verbesserung der kardialen Pumpfunktion sowie der klinischen Symptomatik.

7. In Anbetracht anderer klinischer Studien herrschen weiterhin diskrepante Ergebnisse hinsichtlich der Effektivität der kardialen Stammzelltherapie.

8. Transplantierte Stammzellen scheinen einen parakrinen Wirkmechanismus zu besitzen, bei der mittels Sezernierung von Zytokinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren eine kardiale Regeneration bewirkt wird.

9. In Zukunft bedarf es weiterer klinischer Studien mit größeren Patientenzahlen zur Erfassung des idealen Stammzelltyps, des optimalen Applikationsweges, der effektiven Isolation der Zellen und der richtigen Indikationsstellung zur Stammzelltherapie.