Universitätsklinikum Ulm
Zentrum für Innere Medizin
Klinik für Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. W. Rottbauer

Autologe Stammzelltherapie nach akutem Myokardinfarkt

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Ulm

Fabian von Scheidt genannt Weschpfennig
Augsburg
2011

Amtierender Dekan: **Prof. Dr. Thomas Wirth**

1. Berichterstatter: **Prof. Dr. med. Jochen Wöhrle**

2. Berichterstatter: **PD Dr. med. Christian Skrabal**

Tag der Promotion: **11.05.2012**

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis II

1. Einführung und Fragestellung 1

1.1 Myokardinfarkt 1

1.2 Kardiale Magnetresonanztomographie 5

1.3 Stammzelleinsatz in der Medizin 8

1.4 Stammzelltherapie nach Myokardinfarkt 9

1.5 Fragestellung 15

2. Material und Methoden 16

2.1 Studiendesign 16

2.2 Studienprotokoll 16

2.3 Kardiale Magnetresonanztomographie (MRT) 22

2.4 Kalkulation der Fallzahl und statistische Auswertung 28

3. Ergebnisse 31

3.1 Patientenkollektiv 31

3.2 Knochenmarkpunktion, Stammzellvitalität und Differenzierung 33

3.3 Follow-Up 35

3.4 Medikation 35

3.5 Ergebnisse Primärer Endpunkt (LVEF) 38

3.6 Ergebnisse Sekundäre Endpunkte 40

4. Diskussion 45

4.1 Diskussion der Ergebnisse 45

4.2 Diskussion der Methodik 52

5. Zusammenfassung 59

6. Literaturverzeichnis 61

Danksagung 73

Lebenslauf 74

Abkürzungsverzeichnis

ACT	activated clotting time
AMI	Akuter Myokardinfarkt
AP	Angina Pectoris
BFU	Burst forming unit
BMC	Bone marrow derived cell (Stammzelle des Knochenmarks)
BMI	Body mass index
CD	Cluster of differentiation
CFU	Colony forming unit (Koloniebildende Einheit)
CK (-MB)	Kreatinkinase (-Isoenzym der Kreatinkinase)
CT	Computertomographie
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
ESC	embryonale Stammzelle
Gd-DTPA	Gadopentat-Dimeglumin
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
ICD	Implantierbarer Kardioverter-Defibrillator
iPS	induzierte pluripotente Stammzelle
i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
LE	Late Enhancement
LVEDVI	Linksventrikulärer enddiastolischer Volumenindex
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVESVI	Linksventrikulärer endsystolischer Volumenindex
LVF	Linksventrikuläre Funktion
LVMM	Linksventrikuläre Myokardmasse
MO	Mikrovaskuläre Obstruktion
MOV	Mikrovaskuläres Obstruktionsvolumen
MRT	Magnetresonanztomographie
NSTEMI	Nicht ST-Strecken-Hebung Myokardinfarkt
OTW	over-the-wire
PBS/EDTA	Phospate buffered saline / Ethylendiaminetraacetic acid
PCI	Perkutane Koronarintervention
PTCA	Perkutane transluminale Koronar-Angioplastie
RCA	rechte Koronararterie
RCX	Ramus circumflexus
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RVEF	Rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion
s.c.	subkutan
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
SSFP	Steady-State-Free-Precession
STEMI	ST-Strecken-Hebung Myokardinfarkt
SV	Schlagvolumen
T	Tesla
VEGF	Vascular endothelial growth factor
Z.n.	Zustand nach

1. Einführung und Fragestellung

1.1 Myokardinfarkt

1.1.1 Epidemiologie

Jährlich erleiden in Deutschland ca. 290000 Menschen einen Myokardinfarkt, etwa 170000 Patienten versterben an den Folgen eines Myokardinfarkts [Löwel, et al. 2006]. Die ischämische Herzkrankheit ist die führende Todesursache in Deutschland und eine der größten Herausforderungen für das Gesundheitswesen. Auch global betrachtet war die ischämische Herzkrankheit Todesursache Nummer eins im Jahre 2001 [Lopez, et al. 2006], ohne Abnahme im vergangenen Jahrzehnt. Der Myokardinfarkt und die oftmals daraus resultierende Herzinsuffizienz belasten die Lebensqualität der Patienten enorm. Eine Herzinsuffizienz entwickelt etwa ein Drittel der Patienten innerhalb von fünf Jahren nach Infarktereignis. [Velagaleti, et al. 2008]

1.1.2 Akutes Koronarsyndrom

Als akutes Koronarsyndrom werden die instabile Angina Pectoris (instabile AP), der Nicht-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI) und der ST-Hebungs-Infarkt (STEMI) zusammengefasst.

Der Myokardinfarkt ist eine Myokardnekrose, welche durch eine akute Myokardischämie verursacht wird. Die häufigste Ursache für eine akute Myokardischämie ist die Plaqueruptur mit Appositionsthrombose. Bei Patienten mit atherosklerotisch veränderten Herzkranzarterien tritt diese auf dem Boden einer Koronaren Herzkrankheit (KHK) auf.
Bei komplettem atherothrombotischem Verschluss eines Koronargefäßes kommt es zur transmuralen Ischämie des abhängigen Myokardareals, welche im EKG üblicherweise als ST-Hebung imponiert.
Bei inkompletter atherothrombotischer Lumenverlegung führen Mikroembolisationen nach distal zu kleineren, disseminierten Myokardnekrosen oder zu einer subendokardialen Ischämie, dem Bild eines NSTEMI entsprechend.
Bei der instabilen AP geht die koronare Minderperfusion ohne Kardiomyozytennekrosen einher. Es kommt somit nicht zum irreversiblen Untergang von Herzmuskelgewebe.
Diagnostisch abgrenzbar von der instabilen AP sind NSTEMI und STEMI durch das

obligate Vorliegen einer Troponin-, fakultativ einer CK- Erhöhung im Serum. Die Abgrenzung zwischen STEMI und NSTEMI erfolgt definitionsgemäß mittels EKG.

1.1.3 Pathophysiologie

Pathogenetisch liegt dem Myokardinfarkt in der Regel ein atherosklerotisches Geschehen zu Grunde. Atherosklerose ist eine morphologische Veränderung der Gefäßwände mittelgroßer bis großer Arterien. Nach initialer endothelialer Dysfunktion bilden sich immuninflammatorische Infiltrate in der subendothelialen Intima mit konsekutiver Lipidablagerung und Fibroblastenproliferation. Gehäuft treten atherosklerotische Veränderungen bei Vorliegen einer Hypercholesterinämie, eines arteriellen Hypertonus, eines Diabetes mellitus, bei genetischer Prädisposition und bei Rauchern auf. [Lusis 2000]

Atherosklerose gefährdet den koronararteriellen Blutfluss in zwei Manifestationsformen, die simultan vorliegen können. Zum einen führen fibroproliferative, stabile Plaques zu einer schrittweise progredienten, chronischen Lumeneinengung mit verstärkter Ischämie unter Belastung. Hierbei kann eine Stenosierung des Herzkranzgefäßes durch Kollateralenbildung in Teilen kompensiert werden. Andererseits führt die Ruptur oder Erosion einer instabilen Plaque mit akuter Thrombusapposition zur plötzlichen Einengung, bzw. zum Verschluss der Koronararterie. Dies ist der klassische Auslöser eines akuten Myokardinfarkts. [Hansson 2005] Die Sauerstoffversorgung nachgeschalteter Myokardareale ist reduziert bzw. aufgehoben. Bereits nach wenigen Minuten tritt ein Verlust der kontraktilen Funktion des Myokards ein, nachfolgend wird der ischämische Schaden am Herzmuskelgewebe irreversibel, mit zeitabhängiger Ausdehnung von einer Kernzone hin zur maximalen Ausbreitung entsprechend dem Versorgungsareal der verschlossenen Koronararterie. Vitales Gewebe nekrotisiert, mit der Zeit kommt es zur Narbenbildung.

Typischerweise setzt nach einem myokardialen Infarktgeschehen ein Umbauprozess des Herzmuskelgewebes ein – Remodeling. Es ist eine Reaktion des Herzens auf hohe hämodynamische Belastung und/oder eine Schädigung des Herzmuskels, meist verknüpft mit einer gesteigerten neurohumoralen Aktivierung. Remodeling in Folge einer kardialen Druck- oder Volumenbelastung und nach Myokardinfarkten beinhaltet anfänglich eine kompensatorische Komponente und geht im Verlauf häufig in einen pathologischen

Zustand über.

Das Remodeling des Herzmuskels geht mit Veränderungen auf zellulärer und molekularer Ebene einher. Es kommt einerseits zum Untergang von Herzmuskelzellen durch Nekrose oder Apoptose, andererseits hypertrophieren Kardiomyozyten kompensatorisch. Typischerweise findet sich eine Veränderung des Interstitiums, der Fibroblastenfunktion, der Kollagenstrukturen und der koronaren Gefäßarchitektur. Umbauprozesse des Herzmuskels nach akutem Myokardinfarkt beginnen bereits wenige Stunden nach dem Ereignis und schreiten im Verlauf fort. So kann eine strukturelle Ventrikeldilatation, mit sekundärer Hypertrophie nicht infarzierter Areale anfänglich eine verminderte Kontraktilität nach Myokardinfarkt kompensieren. Überschreitet jedoch das kardiale Remodeling ein gewisses Maß, trägt es zur Progression einer Herzinsuffizienz bei und ist prognostisch ungünstig. [Gaudron, et al. 1993, Korup, et al. 1997]

1.1.4 Diagnose

Für die Diagnosestellung Myokardinfarkt ist in erster Linie die Trias aus ischämietypischen Beschwerden, ischämietypischen EKG-Veränderungen und dem Anstieg myokardialer Marker im Serum von Bedeutung. [Bassand, et al. 2007, Van de Werf, et al. 2008] Zur Diagnosesicherung ist eine Erhöhung der Marker einer Myokardnekrose (Troponin, CK-MB) obligat, welche oftmals erst nach stattgehabtem Behandlungsbeginn nachweisbar ist, da die Myokardmarker Troponin und CK-MB frühestens 3-6 Stunden nach Infarktbeginn messbar ansteigen. [Jaffe, et al. 2006]

Differenziert wird zwischen NSTEMI und STEMI anhand von EKG Veränderungen. Bei Vorliegen einer typischen ST-Streckenhebung spricht man definitionsgemäß vom STEMI. Bei einem NSTEMI kann eine ST-Strecken Senkung, eine gestörte Repolarisation, oder ein unauffälliges EKG nachweisbar sein. [Thygesen, et al. 2007]

1.1.5 Therapie

Der akute Myokardinfarkt stellt eine lebensbedrohliche Erkrankung dar. Eine notfallmäßige Therapie zur Wiederherstellung der Myokardperfusion und Minimierung der Infarktausdehnung, sowie eine Folgetherapie zur Reduktion möglicher Komplikationen sind angezeigt. Vor allem eine resultierende Herzinsuffizienzproblematik beeinflusst nachhaltig die Myokardfunktion, die Symptomatik und die Prognose des

Patienten. Entscheidend bei der Behandlung des Patienten ist die akute, schnellstmögliche Wiederherstellung der Myokardperfusion, was standardmäßig mittels Akut-PCI angestrebt werden sollte. [Antman, et al. 2008, Keeley and Hillis 2007, Silber, et al. 2005, Van de Werf, et al. 2008]

Medikamentös sollte der Patient möglichst bereits vor Hospitalisierung eine unverzügliche, effektive Gerinnungs- und Thrombozytenaggregationshemmung mit Heparin, ASS und Clopidogrel erhalten. Ebenso sollte er schmerzlindernd, anxiolytisch und sedativ behandelt werden. [Van de Werf, et al. 2008]
Für eine verbesserte Langzeitprognose, sowie zum Schutz vor ventrikulären Arrhythmien ist unter strenger Beachtung der Kontraindikationen die Betablockergabe zur Senkung des myokardialen Sauerstoffbedarfs von Vorteil. [Van de Werf, et al. 2008]
Zur Eindämmung eines Remodeling Effekts nach Myokardinfarkt wirkt sich die Gabe eines ACE-Hemmers positiv auf die Progression einer möglichen Herzinsuffizienz aus. [Pfeffer and Hennekens 1995] Über cholesterinsenkende und pleiotrope Effekte erwies sich eine Statingabe im weiteren Verlauf als günstig bei Infarktpatienten. [Josan, et al. 2008]

Ziel aller Therapie ist die zeitnahe Eindämmung des Infarktgeschehens, um den myokardialen Zelluntergang so gering wie möglich zu halten und eine resultierende Einschränkung der Pumpfunktion zu minimieren.

1.1.6 Prognose

Die Prognose hat sich Dank des Fortschritts medizinischer Möglichkeiten, insbesondere durch interventionelle Akut-Reperfusion und aggressive medikamentöse Therapie der Atherosklerose in den letzten Jahren sowohl bei der 28-Tages-Letalität als auch beim Langzeitüberleben günstig für die Patienten entwickelt. So hat sich die 28-Tages-Sterblichkeit bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt in den letzten 20 Jahren mehr als halbiert, von 18% auf 7%. [Kuch, et al. 2009]
Nichtsdestotrotz haben Patienten nach stattgehabtem Myokardinfarkt ein deutlich erhöhtes Risiko für ein erneutes kardiovaskuläres Ereignis, sowie eine erhöhte Mortalitätsrate im Vergleich zur Normalbevölkerung. Die häufigsten Todesursachen dabei sind kardiogener Schock im Rahmen des Akutgeschehens, plötzlicher Herztod,

progrediente Herzinsuffizienz und erneuter Myokardinfarkt.

Von großer Bedeutung ist daher die Kontrolle der Atherosklerose und ihrer Risikofaktoren. Nikotinabusus, arterielle Hypertonie, Dyslipidämie und Diabetes mellitus sollten entsprechend therapiert werden. Eine lebenslange Einnahme von ASS, Statin, β-Blocker und ACE-Hemmer oder Angiotensin-Rezeptorblocker, sowie Clopidogrel für 12 Monate in Folge des Infarktereignisses ist angezeigt. Idealerweise sollte zusätzlich eine moderate körperliche Aktivität angestrebt werden. [Antman, et al. 2008, Van de Werf, et al. 2008]

Es bleibt jedoch der Bedarf nach innovativen und effektiven Behandlungsmethoden, um die Überlebensraten weiter zu verbessern, sowie die Leistungsfähigkeit und Lebensqualität der Betroffenen zu erhöhen.

Eine Risikoeinschätzung der Patienten ist durch Bestimmung der linksventrikulären endsystolischen und enddiastolischen Volumina (LVESV, LVEDV), sowie der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) möglich. Die genannten Parameter in Verbindung mit der Infarktgröße sind eng mit der Prognose eines Patienten assoziiert und können als Messgröße zur Anpassung der therapeutischen Strategie dienen. Infarktgröße, ventrikuläre Volumina und Auswurffraktion können mittels moderner Bildgebung exakt bestimmt und im Verlauf kontrolliert werden. Die Einschränkung der linksventrikulären Ejektionsfraktion in Verbindung mit dem Lebensalter des Patienten hat die größte Vorhersagekraft für das Auftreten einer Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt, welche mit einem vielfach erhöhten Mortalitätsrisiko einhergeht. [Lewis, et al. 2003, White, et al. 1987]

1.2 Kardiale Magnetresonanztomographie

Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist ein etabliertes Verfahren in der kardialen Diagnostik. Einige Aspekte der Technologie sind dabei für Patient und Arzt von besonderem Vorteil:

Die MRT ist ein nichtinvasives Verfahren und im Gegensatz zur Herzkatheteruntersuchung und zum CT ohne ionisierende Strahlenbelastung für den Patienten. Bei der MRT werden durch Erzeugung starker Magnetfelder in Kombination mit elektromagnetischen

Wechselfeldern im Radiofrequenzbereich dreidimensionale, tomographische Bilddatensätze mit hoher Auflösung und ausgezeichnetem Kontrast erzeugt. Die Bildebene ist frei im dreidimensionalen Raum ausrichtbar, somit können anatomische Lagebeziehungen bei jedem Patienten individuell in der Datenakquisition berücksichtigt werden. Ebenso ist eine von Lungengewebe und Rippen überlagerungsfreie Darstellung gewährleistet und innerhalb eines Untersuchungsprozesses lassen sich Dank diverser Bildakquisitionsprotokolle unterschiedliche Fragestellungen effektiv beantworten. Das häufig eingesetzte Gadolinium-haltige Kontrastmittel weist ein geringes Nebenwirkungsspektrum auf.

Die Methode kann nicht angewendet werden bei Patienten mit bestimmten metallischen Implantaten wie Gefäßclips, Herzschrittmachern oder ICDs. Auch Klaustrophobie oder eingeschränkte Mitarbeit des Patienten erschweren eine Untersuchung. Denn für die Bildqualität von entscheidender Bedeutung sind das ruhige Liegen des Patienten, das Beachten von Atemkommandos und ein regelmäßiger Herzrhythmus.

1.2.1 Indikationen für den Kardio-MRT Einsatz

Die MRT ist ein Verfahren mit guter räumlicher und zeitlicher Auflösung, sowie mit hervorragender Reproduzierbarkeit. Gerade bei Patienten mit eingeschränkter Herzfunktion, regionalen Kontraktionsstörungen oder bei asymmetrischer Ventrikelstruktur ist sie durch die dreidimensionale Bilderfassung anderen Standardverfahren wie der Echokardiographie oder der Radionuklid-Ventrikulographie überlegen. [Bellenger, et al. 2000]

Die Kardio-MRT ist der Goldstandard zur Beurteilung der rechts- und linksventrikulären enddiastolischen und endsystolischen Volumina (RVEDV, RVESV, LVEDV, LVESV), der rechts- und linksventrikulären Ejektionsfraktion (RVEF, LVEF) und zur Beurteilung der regionalen Ventrikelfunktion. Somit eignet sich das Verfahren vor allem für Situationen, bei denen exakte Messwerte unabdingbar sind, wie bei klinischen Verlaufskontrollen oder zu Studienuntersuchungen. [Task Force of the European Society of Cardiology 1998]

Die MRT kommt auch bei morphologischen Anomalien des Herzens zur Anwendung. So können neben Tumoren am Herzen auch angeborene Herzfehler mit Quantifizierung von Shuntvitien exakt beurteilt werden.

Der Einsatz der MRT ist zur Diagnosestellung und zur Verlaufskontrolle von Erkrankungen der großen Gefäße, des Perikards und des Myokards sinnvoll. Diverse Fragestellungen zur Funktion der Herzklappen sind in der MRT beantwortbar und Kardiomyopathien können diagnostiziert sowie klassifiziert werden. [Pennell, et al. 2004]

Mittels medikamentösem (Dobutamin, Adenosin) Stress-Kardio-MRT kann eine Perfusionsdiagnostik durchgeführt werden, bei der ischämische Herzerkrankungen entweder durch veränderte Kontraktionsmuster oder durch eine verminderte first-pass Perfusion auffallen.

Besondere Bedeutung hat die Vitalitätsdiagnostik des Myokards in der MRT. Eine Anreicherung von Kontrastmittel in irreversibel geschädigtem Herzmuskelgewebe ermöglicht die genaue Lokalisierung und die Quantifizierung der Infarktmasse sowohl bei akuten als auch bei chronischen Myokardinfarkten. Die Kardio-MRT ist die Methode der Wahl zur Bestimmung der Infarktmasse und des vitalen Herzmuskelgewebes. Sie ist exakt, weist eine geringe Inter- und Intraobserver-Variabilität auf und ist somit gut reproduzierbar. [Kim, et al. 2008, Thiele, et al. 2006]

1.2.2 MRT nach Myokardinfarkt

Die MRT nach Myokardinfarkt ist eine zuverlässige Methode sowohl zur Diagnosesicherung, als auch zur Prognoseabschätzung. [Hombach, et al. 2005] Viele der potentiellen Komplikationen nach einem Myokardinfarkt lassen sich in der Kardio-MRT nachweisen. So ist, wie bereits erwähnt, die Bestimmung der LVEF und des LVESV von prognostischer Relevanz. Es lassen sich Mitralklappeninsuffizienz, ventrikuläre Aneurysmabildungen und Thrombusformationen in den Herzkammern erkennen. Ebenso ist das Auftreten eines Perikardergusses oder eines Infarkt assoziierten Ventrikelseptumdefekts sicher zu beurteilen. Eine genaue Quantifizierung der Infarktmasse ist durch das Late Enhancement Verfahren mit Gadolinium-haltigem Kontrastmittel möglich.

1.2.3 Kontrastmittel

Der Einsatz von MR-Kontrastmitteln kann durch eine erhöhte Signalintensität den darstellbaren Kontrast zwischen zwei oder mehreren Geweben steigern. Gd-DTPA ist ein extrazelluläres Kontrastmittel, hat ein Molekulargewicht von ca. 600 Dalton und enthält als paramagnetisches Zentrum Gadolinium, welches in Form eines Chelatkomplexes an

das DTPA Molekül gebunden ist.

Bei der ersten Passage (first pass) führt das Kontrastmittel bei Perfusion zu einer verstärkten Signalintensität in Blut und Gewebe. In perfusionsgestörten, nekrotischen Arealen oder narbig umgebautem Gewebe tritt eine späte Anreicherung des Kontrastmittels ein und führt zu einer Signalzunahme (Late Enhancement).

Gadolinium haltige Kontrastmittel sind biologisch inert und im Allgemeinen sehr gut verträglich. Das Auftreten von Nebenwirkungen ist beispielsweise 5-10mal seltener als bei Röntgenkontrastmitteln. Allergische Reaktionen sind sehr selten zu beobachten. Leichte Nebenwirkungen wie Wärmegefühl, Nausea, Kopfschmerz, etc. treten in etwa 1-2% der Fälle auf.

Auf Grund der Hydrophilie von Gd-DTPA erfolgt die Ausscheidung nahezu vollständig renal. Extrazelluläre MR-Kontrastmittel können in der Regel auch bei herz- und niereninsuffizienten Patienten eingesetzt werden. Nichtsdestotrotz sollte man mit dem Einsatz bei Patienten mit schwerwiegender Niereninsuffizienz zurückhaltend sein, da einzelne Fälle mit Ausbildung einer Kontrastmittel assoziierten nephrogenen systemischen Fibrose bzw. einer nephrogen fibrosierenden Dermopathie beschrieben sind. Bei Vorliegen einer terminalen Niereninsuffizienz kann die Kontrastmittelelimination per Dialyse erfolgen. [CDC 2007]

Die Halbwertszeit kann der renalen Elimination gleichgesetzt werden und beträgt für sämtliche extrazellulären MR-Kontrastmittel ca. 90 Minuten. Die gesunde Blut-Hirn-Schranke wird nicht passiert. [Widmark 2007]

1.3 Stammzelleinsatz in der Medizin

Stammzellen sind pluri- oder multipotente Zellen mit der Fähigkeit, sich in verschiedene Gewebe zu differenzieren. Das Spektrum reicht von embryonalen Stammzellen bis hin zu adulten Stammzelltypen.

Embryonale Vorläuferzellen besitzen zwei einzigartige Fähigkeiten. Sie können einerseits praktisch unbegrenzt proliferieren und in einem pluripotenten Zustand verbleiben, andererseits können sie in spezialisierte Gewebeformen aller drei Keimbahnen ausdifferenzieren. [Atala 2009, Brivanlou, et al. 2003]

Zwischenzeitlich konnte auch für adulte Stammzelltypen ein gewisses Plastizitätspotential nachgewiesen werden. Gerade bei Vorläuferzellen aus dem Knochenmark wurde die

Differenzierung in verschiedenste Gewebe beschrieben, welche allerdings kontrovers diskutiert wird und in ihren Mechanismen noch nicht verstanden ist. [Wagers and Weissman 2004]

Adulte Stammzellen sind undifferenzierte Zellen, die in einem Zellverband mit differenzierten Zellen in Geweben bzw. Organen vorliegen und teilungsfähig sind. Hauptfunktion adulter Stammzellen ist die Aufrechterhaltung bzw. Regeneration der Gewebs-/Organfunktion. [Polak and Bishop 2006] Ursprünglich vermutete man adulte Stammzellen nur in Geweben mit hohem Zellumsatz wie der Haut, dem Knochenmark und der Leber. In der Zwischenzeit hat sich herausgestellt, dass selbst in Geweben, denen klassischerweise keinerlei regeneratives Potential zugesprochen wurde, wie z.B. dem zentralen Nervensystem, Stammzellen vorliegen. [Gage 2000] Die Einsatzmöglichkeit von adulten Stammzellen zur Behandlung diverser Erkrankungen wird momentan in etlichen Studien untersucht.

1.4 Stammzelltherapie nach Myokardinfarkt

Durch die verbesserte Notfall- und intensivmedizinische Versorgung von Patienten mit akutem Myokardinfarkt überleben einerseits immer mehr Menschen ein Infarktereignis, auf der anderen Seite leidet in der Folge eine wachsende Patientenzahl unter den Akut- und Spätkomplikationen des Infarktgeschehens. Gerade wenn die Rettungskette bei Vorliegen eines Myokardinfarkts zu spät aktiviert wird, kommt es gehäuft zu schwerwiegenden Verläufen. Der Zeitfaktor spielt die entscheidende Rolle bei der Versorgung von Patienten mit STEMI. Eine Reperfusionstherapie außerhalb des in Leitlinien festgelegten optimalen Zeitfensters ist assoziiert mit einer größeren irreversibel geschädigten Myokardmasse, vermehrtem Auftreten von Herzinsuffizienz und einer gesteigerten Letalität. [Lambert, et al. 2010]

Schwerwiegende Komplikationen in Folge eines Infarktereignisses sind das gehäufte Auftreten von Herzrhythmusstörungen, Herzklappeninsuffizienzen und aneurysmatischen Veränderungen des Ventrikels. Herzinsuffizienz in Folge eines Myokardinfarktes ist ein schwerwiegendes und lebensbedrohliches Krankheitsbild. Hierbei ist das Herz nicht mehr in der Lage, den Organismus suffizient mit Blut und Sauerstoff zu versorgen. Im Stadium einer terminalen Herzinsuffizienz ist eine Transplantation häufig die letzte Möglichkeit. In

Deutschland wurden im Jahr 2009 346 Herztransplantationen durchgeführt, Ende 2009 waren jedoch 920 Patienten auf der Transplantationsliste bei Eurotransplant auf eine Herztransplantation wartend aufgeführt. [Eurotransplant 2010] Daher ist es von entscheidender Bedeutung, effektive Behandlungsmöglichkeiten bereitzustellen, um den Folgeerscheinungen des Myokardinfarkts entgegenzuwirken. Das Ziel der regenerativen Medizin ist es, die Erholung, bzw. den Ersatz geschädigter Organstrukturen so weit zu verbessern, dass der Bedarf klassischer Organtransplantationen deutlich gemindert wird. [O'Brien and Barry 2009]

Im Bereich der kardiovaskulären Erkrankungen stellt die stammzellvermittelte Beeinflussung der Herzmuskelplastizität einen viel versprechenden Ansatzpunkt dar. Hierbei soll dem Infarkt bedingten Verlust kontraktilen Myokards und der darauffolgenden Vernarbung entgegengewirkt werden.
In Studien wurden diverse Stammzelltypen mit regenerativem Potential für myokardiales Gewebe beschrieben, darunter embryonale und adulte Stammzelltypen. Bei den adulten Stammzelltypen spielten bisher Myoblasten aus der Skelettmuskulatur, Vorläuferzellen aus dem Knochenmark und organständige Vorläuferzellen des Herzmuskels eine Rolle. Die beschriebenen Zelltypen besitzen jeweils Vor- und Nachteile. Tierexperimentelle Studien zeigten, dass Stammzellen bei Transplantation in gesundes sowie infarziertes Myokard vital bleiben können. [Jackson, et al. 2001, Jain, et al. 2001, Scorsin, et al. 2000, Wang, et al. 2000] Mitunter wurde sogar eine Zellproliferation und Ausdifferenzierung zu Kardiomyozyten vermutet. [Toma, et al. 2002] In diesem Zusammenhang sind die Neubildung von Herzmuskelgewebe, sowie eine positive Beeinflussung des linksventrikulären Remodeling und der linksventrikulären Funktion postuliert worden. [Ghostine, et al. 2002, Muller-Ehmsen, et al. 2002]
Die ideale Vorläuferzelle konnte bisher nicht ausfindig gemacht werden. Klar sind allerdings die Anforderungen an den perfekt einsetzbaren Stammzelltyp: [Zhu, et al. 2009, Zimmermann 2008]

- Die ideale Zelle sollte in Herzmuskelgewebe ausdifferenzieren können und die Kapazität zur Angiogenese besitzen, oder durch indirekte Effekte die Struktur des geschädigten Gewebes günstig beeinflussen können, um die Funktion des untergegangenen Gewebes zu kompensieren.

- Der ideale Zelltyp muss in den bestehenden Zellverband funktionell integrierbar sein, eine elektromechanische Kopplung an das Empfängermyokard erscheint unabdingbar.
- Der ideale Zelltyp muss entweder bereits vorgefertigt verfügbar sein, oder auf einfache Weise nach Standardprotokoll in ausreichend großer Menge gewonnen werden können, um realistisch im klinischen Alltag einsetzbar zu sein.
- Der ideale Zelltyp muss nötige Aufbereitungs- und Applikationsverfahren unbeschadet überstehen, sowie in ausreichend hoher Dosis im Bereich des geschädigten Myokards überleben können, um eine klinisch relevante Wirkung entfalten zu können.
- Der eingesetzte Zelltyp sollte am besten autolog bzw. minimal immunogen sein. Andernfalls müssten die Vorteile des therapeutischen Effekts die Nachteile einer dauerhaften Immunsuppression deutlich überwiegen.

Welcher Zelltyp am besten für einen möglichen therapeutischen Einsatz am Herzen geeignet ist, bleibt bisher unklar. Im Folgenden werden kurz Vor- und Nachteile der jeweiligen Stammzellarten skizziert.

1.4.1 Embryonale Stammzellen

Die Entdeckung embryonaler Stammzellen (ESC) stellt einen Meilenstein der Stammzellforschung dar. ESCs sind pluripotente Vorläuferzellen, die in nahezu jeden Zelltyp inklusive Herz spezifische Zellen ausdifferenzieren können. [Kehat, et al. 2001] Mit den Jahren wurde die Technik der ESC-Ausdifferenzierung verfeinert und in der Zwischenzeit kann die Ausbildung der verschiedenen Zelltypen des Herzmuskelgewebes induziert werden. [Jawad, et al. 2007] Entscheidend für den sicheren Einsatz embryonaler Stammzellen ist die effektive Elimination undifferenzierter Zellen vor Transplantation, da bei Einsatz undifferenzierter ESC die Gefahr der Teratombildung vermehrt besteht. [Leor, et al. 2007, Nussbaum, et al. 2007] In einem Tierversuch an Thymus defizienten Ratten konnte durch den Einsatz humaner ESCs die Bildung von humanen Kardiomyozyten im Herzmuskelgewebe erreicht werden. [Laflamme, et al. 2005] Bei Zugabe Zellüberleben fördernder Substanzen konnte die kardiale Funktion durch Transplantation differenzierter humaner ESCs signifikant verbessert werden. [Laflamme, et al. 2007] Die injizierten Stammzellen formierten ein in sich geschlossenes funktionelles Synzytium. Eine

Herausforderung bleibt es, die elektromechanische Kopplung zwischen Transplantat und Empfängermyokard zu etablieren. [Passier, et al. 2008] Insgesamt stellen ESCs einen sehr vielversprechenden Ansatz zur kardialen Regeneration durch kardiomyozytären Zellersatz dar. [Passier, et al. 2008]

1.4.2 Vorläuferzellen der Skelettmuskulatur

In den Herzmuskel transplantierte, aus Skelettmuskulatur gewonnene Satellitenzellen bleiben vital und reifen zu vollwertigen Skelettmuskelfasern heran. Allerdings konnte keine Transdifferenzierung zu Kardiomyozyten nachgewiesen werden [Reinecke, et al. 2002] und es fand keine elektromechanische Kopplung mit dem umgebenden Myokard statt. [Rubart, et al. 2004] Ursprünglich beschriebene positive Effekte konnten in einer randomisierten, doppelblinden, Placebo kontrollierten Multicenter Studie bei Patienten mit ischämischer Kardiomyopathie nicht bestätigt werden. Vielmehr entwickelte sich der Verdacht, dass gehäuft Arrhythmien auftreten. [Menasche, et al. 2008]

1.4.3 Residente Stammzellen des Herzmuskels

Endogene Vorläuferzellen des Herzmuskelgewebes sind ebenfalls Gegenstand intensiver Forschung. Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass bei Vorliegen einer myokardialen Schädigung organständige Stammzellen verstärkt regeneratives Potential besitzen. [Hsieh, et al. 2007] Durch Einsatz der Radiokarbon Methode konnte kürzlich bei menschlichem postmortalem Herzmuskelgewebe der Nachweis erbracht werden, dass es zur physiologischen Erneuerung von Kardiomyozyten kommt. [Bergmann, et al. 2009] Die regenerative Kapazität scheint jedoch begrenzt zu sein und mit zunehmendem Alter des jeweiligen Lebewesens abzunehmen. Daher sind tiefgreifende Untersuchungen der zu Grunde liegenden Mechanismen unumgänglich. Bisher ist nicht abschätzbar, ob und wann man in der Lage sein wird, Zellersatz in einer therapeutisch relevanten Größenordnung bei stattgehabter Herzmuskelschädigung zu induzieren. [Hansson, et al. 2009]

1.4.4 Stammzellen des Knochenmarks

Aus dem Knochenmark gewonnene Stammzellen (BMC) sind für Forschungs- und Studienzwecke eine attraktive Grundlage. Sie sind verhältnismäßig risikoarm und kostengünstig zu gewinnen. Im Mausmodell wurde bei Transplantation von Knochenmarkstammzellen nach induziertem Myokardinfarkt eine Neuformation

funktionsfähiger Kardiomyozyten, endothelialer Zellen und glatter Muskelzellen beschrieben und das verbesserte Outcome bei Vorliegen einer KHK der Neubildung von Myokard zugeschrieben. [Orlic, et al. 2001]

Hinweise zu Zellmigration und –proliferation von Stammzellen aus dem Knochenmark in Herzmuskelgewebe wurden in Herz- und Knochenmarktransplantationsstudien entdeckt. Hierbei konnte bei männlichen Transplantatempfängern, die Spenderherzen von Frauen erhalten hatten, Zellen im Herzmuskel nachgewiesen werden, in denen ein Y-Chromosom des Transplantatempfängers vorlag. Diese Zellen waren zum Teil ausdifferenziert in Kardiomyozyten, Koronararteriolen und Kapillaren. [Quaini, et al. 2002] In einer anderen Studie war bei Frauen, die eine Knochenmarkspende eines männlichen Spenders erhalten hatten, in 0,23% der Kardiomyozyten ein Y-Chromosom nachweisbar. Dies wurde als Hinweis gewertet, dass Vorläuferzellen des gespendeten Knochenmarks das Herzmuskelgewebe der Empfängerin besiedelt haben. [Deb, et al. 2003]

Ob eine tatsächliche Transdifferenzierung von Knochenmarkstammzellen zu Kardiomyozyten stattfindet, ist jedoch nicht eindeutig geklärt. In einem Mausmodell mit hämatopoetischen Stammzellen wurde die Zellausreifung auf genetischer Ebene beobachtet. Es konnte keine Transdifferenzierung zu Kardiomyozyten gezeigt werden. [Murry, et al. 2004] Vielmehr geht man davon aus, dass Zellfusionsereignisse für das Auftreten neu formierter Kardiomyozyten verantwortlich sind. [Nygren, et al. 2004] Zum momentanen Zeitpunkt ist nicht sicher abzuschätzen, ob BMCs bei Transplantation die Fähigkeit besitzen in Kardiomyozyten zu transdifferenzieren. [Hansson, et al. 2009]

Das Potential von Stammzellen zur Stabilisierung bzw. Regeneration des Herzmuskels und somit zur Verbesserung der Pumpleistung und Linderung einer Herzinsuffizienz-symptomatik ist in den letzten Jahren in diversen Studien untersucht worden. Dabei zeigte sich, dass der Einsatz von BMC nach stattgehabtem Myokardinfarkt sicher zu sein scheint. Es gab keinen signifikanten Anstieg von Reinfarkten, Arrhythmien, Restenosen, Krankenhauseinweisungen oder Todesfällen.

Ob Patienten von einer BMC Therapie nach akutem Myokardinfarkt tatsächlich profitieren, konnte bisher nicht eindeutig geklärt werden. Eine Metaanalyse mehrerer zum Thema durchgeführter Studien favorisierte leicht die Stammzellgruppe bezogen auf die LVEF nach sechs Monaten. [Martin-Rendon, et al. 2008] Doch ist die Zahl behandelter

Patienten bisher gering. Gerade vor dem Hintergrund eines ungeklärten Wirkmechanismus der Stammzelltherapie nach akutem Myokardinfarkt müssen klinische Studien mit BMCs kritisch betrachtet werden und mögliche Wirkmechanismen weiter intensiv erforscht werden.

1.5 Fragestellung

In klinischen Studien wird ein regeneratorisches Potential durch Stammzelltransplantation nach Myokardinfarkt kontrovers diskutiert. Allerdings mangelt es bisher an doppelblind durchgeführten Studien.

Das Ziel dieser klinischen, prospektiven, randomisierten Doppelblind-Studie war, den Effekt einer autologen Stammzelltherapie nach akutem Myokardinfarkt zu evaluieren. Dabei wurden mononukleare Zellen des Knochenmarks eingesetzt. Folgende Fragestellungen sollten dabei im Speziellen beantwortet werden:

- Verbessert die Stammzelltherapie die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) nach 6 Monaten?
- Wirkt sich die Stammzelltherapie positiv auf den linksventrikulären enddiastolischen Volumen Index (LVEDVI), den linksventrikulären endsystolischen Volumen Index (LVESVI) oder auf die Infarktgröße aus?

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Die klinische *Intracoronary stem cell therapy in patients with acute myocardial infarction* - ‚SCAMI'-Studie wurde doppelblind, placebokontrolliert und mit integrierter Pilotphase konzipiert. Die Randomisierung führte ein externes Bioinstitut durch. Sie fand in einem Verhältnis von 2:1 zu Gunsten des Therapiearms statt.

Ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Universität Ulm lag vor.

2.2 Studienprotokoll

2.2.1 Einschlusskriterien

Einschlusskriterien für die Studie waren ein Alter zwischen 35 und 75 Jahren, das Vorliegen eines akuten Myokardinfarktes mit einer Zeitspanne von mehr als sechs und weniger als 48 Stunden zwischen Symptombeginn und Wiedereröffnung des verschlossenen Herzkranzgefäßes durch PCI.

Für einen Studieneinschluss musste das betroffene Infarktgefäß eindeutig identifizierbar sein und eine erfolgreiche Reperfusion des verschlossenen Herzkrangefäßes mittels Ballondilatation und Stentimplantation durchgeführt werden. Die geforderte Größe des Myokardinfarktes für eine Studienteilnahme wurde entweder durch die Diagnose eines proximalen Gefäßverschlusses oder durch einen CK Gipfel von mehr als 1000 U/l (gemessen bei 37°C) oder durch eine myokardiale Narbe, die in der MRT Untersuchung mehr als 10% der gesamten linksventrikulären Masse entsprach, sichergestellt. Die Patienten mussten in einer hämodynamisch stabilen Verfassung sein.

Eine schriftliche Einverständniserklärung der Patienten zur Teilnahme an der Studie lag jeweils vor.

2.2.2 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen von der Studie waren Patienten jünger als 35 oder älter als 75 Jahre, Patienten bei denen eine Revaskularisation innerhalb von sechs oder später als 48 Stunden nach Schmerzbeginn durchgeführt werden konnte. Patienten mit früherem Myokardinfarkt im selben koronaren Stromgebiet, sowie Patienten, bei denen das Zielgefäß nicht eindeutig identifizierbar war (z.B. Hinterwandinfarkt bei Läsionen in RCA

und RCX) oder bei denen eine Herzkatheteruntersuchung nur mittels transbrachialen Zugangs möglich war. Auch das Vorliegen jeglicher Kontraindikation für eine MRT-Untersuchung (Herzschrittmacher, Gefäßclips, ICDs, Metallimplantate, Granatsplitter, etc.) war ein Ausschlusskriterium, ebenso eine sehr stark eingeschränkte LVEF von weniger als 20%. Nicht berücksichtigt wurden Patienten mit maligner Grunderkrankung, oder mit früherer hämatologischer Erkrankung, Chemotherapie, Stammzelltransplantation, oder Wachstumsfaktorgabe wie G-CSF (Neupogen). Bekannte oder zu vermutende Alterationen des Knochenmarks wie sie z.B. bei ausgeprägtem Alkoholabusus oder durch medikamentös toxische Nebenwirkungen (Agranulozytose) vorliegen können, waren ebenfalls ein Ausschlusskriterium. Ausgeprägte Adipositas, die entweder eine MRT-Untersuchung unmöglich gemacht hätte oder vermehrt zu Problemen bei einer Knochenmarkpunktion hätte führen können, war genauso wie lokale Infektionen im Bereich der Punktionsstellen ein Ausschlusskriterium. Weiterhin durften keine Gerinnungsstörungen oder anderweitige Kontraindikationen für eine Knochenmarkpunktion bzw. Herzkatheteruntersuchung vorliegen.

2.2.3 Patientenrekrutierung

Im Rahmen der Studie wurden am Universitätsklinikum Ulm 155 Patienten mit STEMI, bei denen eine erfolgreiche Reperfusionstherapie später als sechs Stunden nach Auftreten der ersten Symptomatik gelang, gescreent. 78 Patienten kamen für eine Studienteilnahme entsprechend der Ein- und Ausschlusskriterien in Frage, 48 Patienten gaben eine schriftliche Einverständniserklärung ab. Letztendlich wurden 42 Patienten randomisiert, unterzogen sich einer Knochenmarkpunktion zur Stammzellgewinnung und erhielten die jeweilige Studientherapie. 29 Patienten wurden in die Stammzellgruppe und 13 Patienten in die Placebogruppe randomisiert. Details zur Patientenakquistion sind in Abbildung 1 dargestellt.

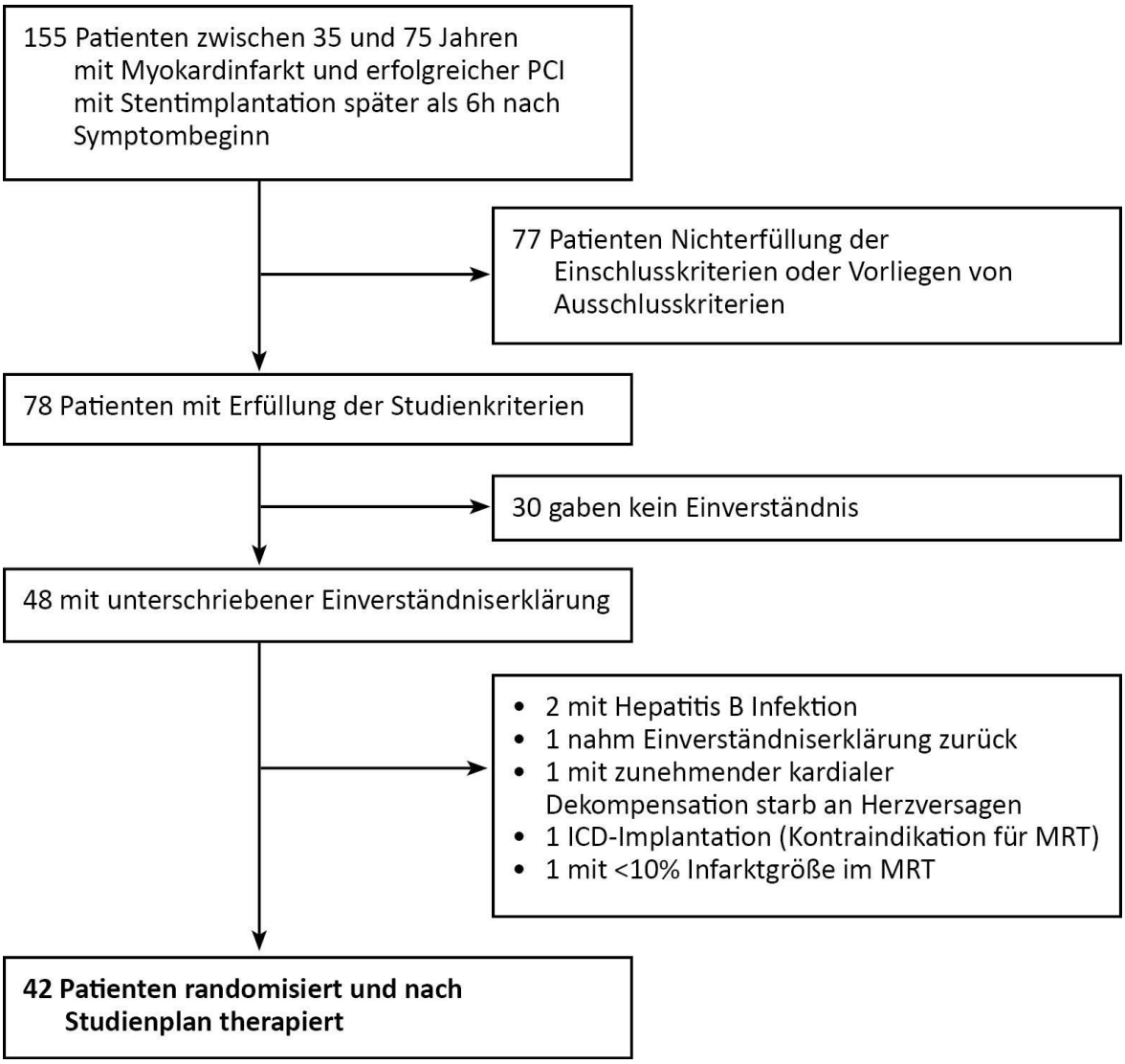

Abbildung 1: Patientenrekrutierung und Patienteneinschluss
(ICD: Implantierbarer Kardioverter-Defibrillator; MRT: Magnetresonanztomographie; PCI: Perkutane Koronarintervention)

2.2.4 Stratifizierung

Die Patienten wurden stratifiziert nach dem Alter - ≥60 bzw. <60 Jahre, der Infarktlokalisation – Vorderwand bzw. Nicht-Vorderwand und der Einschränkung der linksventrikulären Pumpfunktion - stark bzw. nicht stark eingeschränkt, gemessen in der Echokardiographie am Folgetag nach primärer PCI.

2.2.5 Evidenz basierte Therapie beider Studienarme

Die Patienten wurden nach aktuellen Leitlinien optimal mit β-Blocker, ACE-Hemmer, Statin und einer 12 monatigen kombinierten Thrombozytenaggregationshemmung mittels ASS 100mg/d und Clopidogrel 75mg/d behandelt. Die PCI wurde über einen femoralen Zugang mit Ballondilatation und Stentimplantation durchgeführt. Eine Loading Dose von 600mg Clopidogrel oral wurde im Anschluss an die Koronarintervention gegeben. Nach klinischer Indikation erhielten die Patienten Abciximab.

2.2.6 Periphere Blutentnahme zur Serologie/PCR/Bestimmung der Stammzellparameter

Am Tag vor der Knochenmarkentnahme zur Stammzellgewinnung wurde den Patienten Blut (10ml EDTA, 10ml Li-Heparin und Blutbild) abgenommen, an das Knochenmarklabor des Instituts für klinische Transfusionsmedizin der Universität Ulm übersendet und serologisch auf Hepatitis- und HIV-Infektionen getestet.

Der CK-Gipfel wurde während des Krankenhausaufenthalts bestimmt.

2.2.7 Knochenmarkentnahme

Die Entnahme des Knochenmarks wurde am hinteren Beckenkamm durchgeführt. Unter sterilen Bedingungen erfolgte eine Infiltrationsanästhesie mit Scandicain 2% bis auf das Periost. Nach Einführen der Punktionsnadel wurden 50-60ml Knochenmark in vorbereitete 20ml Spritzen mit 500IU Heparin, 0,04mg Gentamycin, 3000IU Penicillin und 3ml 0,9% NaCl-Lösung aspiriert. Nach Entfernen der Punktionskanüle wurde durch manuelle Kompression und Auflage eines Sandsacks für drei Stunden einer möglichen Hämatomentwicklung vorgebeugt.

Das Aspirat wurde unmittelbar an die Blutspende- und Produktionsabteilung für Knochenmark- und Stammzellpräparation des Instituts für Klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik (Ärztlicher Direktor Prof Dr. med. Schrezenmeier) zur weiteren Aufbereitung übersandt - das Punktat wurde während des 15 minütigem Transports in einem 22±2°C temperierten Transportbehälter gelagert.

2.2.8 Serumpräparation und Ficollpräparation des Knochenmarks

Die gewonnenen Zellen wurden morphologisch begutachtet, um subklinische Formen hämatologischer Erkrankungen auszuschließen.

Die Ficollpräparation erfolgte als Standard Operating Procedure (SOP) im Knochenmarklabor des Instituts für klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik. Die mononuklearen Zellen wurden durch eine Dichtegradienten-Zentrifugation mit Ficoll (Cambrex; Belgien) gewonnen, gereinigt und in 15ml 0,9% NaCl mit 2% humanem Albumin resuspendiert. Details in Abbildung 2.

Die Placebo Injektionsspritzen enthielten 15ml 0,9% NaCl mit 2% humanem Albumin und autologen Erythrozyten mit einem Hämatokritwert von 0,1% ohne aus dem Knochenmark stammende Stammzellen. Placebo und Verum konnten optisch nicht unterschieden werden, somit war eine konsequente Doppelblindung gewährleistet (Abbildung 3).

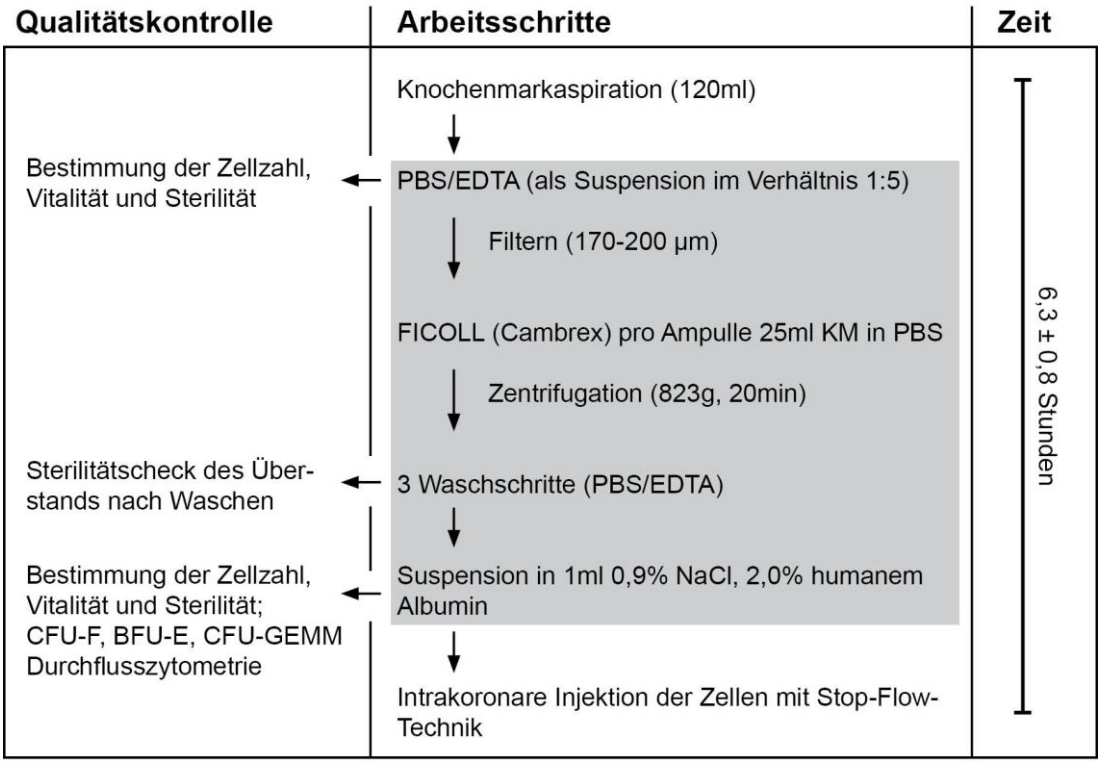

Abbildung 2: Protokoll der Stammzellgewinnung und Qualitätskontrolle;
grau hinterlegt: Arbeitsschritte des Instituts für klinische Transfusionsmedizin und Immungenetik (Universität Ulm)
(BFU-E: Burst forming unit erythroid; CFU-F/-GEMM: Colony forming unit –fibroblast/-granulocyte, erythrocyte monocyte, megakaryocyte; KM: Knochenmark; PBS/EDTA: phosphate buffered saline / Ethylendiaminetraacetic acid)



Abbildung 3: Gewährleistung der Doppelblindheit durch visuell nicht unterscheidbare Verum/Placebo Präparate

Die Stammzellpräparate wurden mittels Durchflusszytometrie analysiert. Eine Identifizierung der Zellpopulationen gelang durch Analyse nach dem dual-platform Protokoll der International Society for Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE) unter Verwendung von direkten Antikörpern gegen humanes CD34, CD45 (BD Pharmingen), CD133 (Miltenyi) und VEGF-R2 (R&D Systems). Die Zellvitalität wurde mit der Trypanblau Methode evaluiert. Hämatopoetische Kontrollkolonien (BFU-E; CFU-GEMM) und mesenchymale Kontrollkolonien (CFU-F) wurden unter Verwendung von Methocult® und MesenCult® (StemCell Technologies; Köln) nach Protokoll des Herstellers angelegt. Koloniebildende Einheiten (CFU) wurden nach 14 Tagen ausgezählt. Die reguläre und erfolgreiche Teilnahme am ‚global proficiency testing program' der Firma StemCell Technologies verifizierte die Funktionstüchtigkeit der hämatopoetischen Zellreihen.

2.2.9 Intrakoronare Stammzelltransplantation

Die intrakoronare Stammzellapplikation erfolgte am selben Tag wie die Entnahme und Aufbereitung der Stammzellen. Das injektionsfertige Präparat wurde in einer sterilen Spritze angeliefert, welche im Katheterlabor einem temperierten Transportbehälter entnommen wurde. Nach Studienplan erfolgte ein erneuter Herzkatheter mit Darstellung des Zielgefäßes in beiden Studiengruppen 5-7 Tage nach Symptombeginn. Nach Heparinisierung mit Erreichen einer ACT von >250s wurde über einen 6 French Führungskatheter ein Führungsdraht in das Infarktgefäß eingeführt, nachfolgend ein over-

the-wire (OTW)-Ballon (Maverick, Boston Scientific) im Stentareal platziert und insuffliert. Über den OTW Kanal wurde die Stammzellsuspension appliziert. Der Ballon induzierte passagere Perfusionsstopp wurde für 3min belassen, um eine potentielle Diapedese der Stammzellen zu ermöglichen.

Die Prozedur zur Stammzellapplikation wurde aufeinanderfolgend bis zu dreimal zur kompletten Verabreichung der Stammzellen durchgeführt, die in 15ml Lösung suspendiert waren.
Abschließend wurde der OTW-Ballon entfernt und eine angiographische Kontrolle durchgeführt. Die Schleuse wurde nach Abklingen der Heparinisierung gezogen und die übliche anschließende sechsstündige Bettruhe des Patienten angeordnet.

2.2.10 Kontrolluntersuchungen zum Startzeitpunkt und im Follow-Up

Kontrolluntersuchungen inklusive Kardio-MRT wurden nach 1, 3 und 6 Monaten durchgeführt. Eine Herzkatheteruntersuchung wurde erneut nach 6 Monaten durchgeführt. Patienten mit Restenosen wurden nach klinischen Kriterien einer erneuten Ballondilatation bzw. einer Stentimplantation zugeführt und verblieben im geplanten Nachbeobachtungsrhythmus.

2.3 Kardiale Magnetresonanztomographie (MRT)

Die MRT wurde an einem 1,5T Intera CV Ganzkörper MR-Tomographen (Philips Medical Systems; Best, Niederlande) durchgeführt. Verwendet wurde ein Hochleistungsgradientensystem (Master Gradienten, Philips Medical Systems; Best, Niederlande) mit einer maximalen Gradientenamplitude von 30mT/m und einer maximalen Anstiegssteilheit von 150T/m/s. Die Empfängerspule war eine Phased-Array-Herzspule (Philips Medical Systems; Best, Niederlande) mit 5 Spulenelementen. Ein Vektor-EKG (Philips Medical Systems; Best, Niederlande) ermöglichte eine zuverlässige EKG Ableitung.

2.3.1 Durchführung und Auswertung der Kardio-MRT

Um die Fragestellungen der Studie beantworten zu können, wurden definierte Scanprotokolle bei der MRT eingesetzt. Die Datensätze umfassten Funktionsmessungen, Scans zur Darstellung myokardialer Narben und Scans zur generellen Beurteilung der Herzfunktion.

Die MRT Bilddaten wurden mit der Software *View Forum, Release 5.1 V1L1* von Philips Medical Systems (Best, Niederlande) ausgewertet.

Zur Verkürzung der Akqusitionszeit wurde die parallele Bildgebung (SENSE) eingesetzt. Mit Hilfe des abgeleiteten EKGs wurden die Aufnahmesequenzen dem Herzzyklus synchron getriggert. Um Bewegungsartefakte zu minimieren fanden einige Scansequenzen bei Mitarbeit des Patienten in Atemruhelage statt.

2.3.2 Funktionsmessung

Die links- (LVEF) und rechtsventrikuläre (RVEF) Ejektionsfraktion, das Schlagvolumen (SV) und das Herzzeitvolumen (HZV) wurden durch volumetrische Auswertung in Kurzachsenschnittebene bestimmt. Zur Datenakquisition kam eine retrospektiv EKG getriggerte Steady-State-Free-Precession-Sequenz (SSFP) mit paralleler Bildgebung und k-Raum Segmentierung ohne View-Sharing zum Einsatz. Die Verwendung der Cine-Technik gewährleistete eine zeitliche Auflösung von 34 Herzphasen pro Herzzyklus, was je nach Herzfrequenz einer mittleren zeitlichen Auflösung von 37ms entspricht. In Abhängigkeit des benötigten Sichtfelds (field of view) lag die in-plane Auflösung zwischen 1,7 x 1,8mm und 2,3 x 1,8mm. Die Echozeit (TE) betrug 1,7ms, die Repetitionszeit (TR) 3,4ms, der SENSE Faktor war 2. Die Schichtdicke betrug 10mm ohne Diskontinuität. 10 bis 14 Schichtbilder wurden in der Kurzachse aufgenommen, um den gesamten linken und rechten Ventrikel beginnend an der Herzspitze abzubilden.

Durch den Einsatz der SSFP-Sequenz ist ein sehr gutes Kontrastverhältnis zwischen Blut (hell) und Myokard (dunkel) darstellbar. Dadurch lässt sich in der Analysesoftware manuell, unterstützt durch eine automatisierte Konturerkennung die Grenze zwischen ventrikulärem Blut und Herzmuskelgewebe mit hoher Genauigkeit einzeichnen. Papillarmuskelgewebe wurde durch eine zusätzliche Kontur gekennzeichnet und vom ventrikulären Blutvolumen subtrahiert. Dies wurde für alle erfassten Schichten in der Kurzachse zu zwei Zeitpunkten durchgeführt (Abbildungen 4 und 5):

1. Enddiastolisch: Definiert als erste Herzphase nach EKG gesteuerter R-Zacken Triggerung.
2. Endsystolisch: Definiert als letzte Herzphase vor Beginn der myokardialen Relaxation, welche sich optisch als anwachsende Fläche des Ventrikellumens erkennen lässt.

Enddiastolisches (EDV) und endsystolisches (ESV) Volumen wurden errechnet durch die Summe der eingezeichneten Flächen (in mm^2) multipliziert mit der Schichtdicke (in mm) und werden in ml angegeben. Die Parameter Schlagvolumen (SV), Herzzeitvolumen (HZV) und Ejektionsfraktion (EF) wurden wie folgt bestimmt:

SV = EDV – ESV [ml]

HZV = HF * SV

EF = SV / EDV * 100 [%]

Um eine bessere Vergleichbarkeit innerhalb der Patientengruppe zu erzielen, wurden das EDV und das ESV jeweils auf die Körperoberfläche normiert. Daraus ergaben sich der enddiastolische und der endsystolische linksventrikuläre Volumen Index (LVEDVI, LVESVI). Die Körperoberfläche wurde bei bekannter Körpergröße und Gewicht nach der Du-Bois-Formel berechnet [Dubois D 1916]:

Körperoberfläche (m^2) = [Körperlänge (cm)^{0,725}] * [Gewicht (kg)^{0,425}] * 0,007184

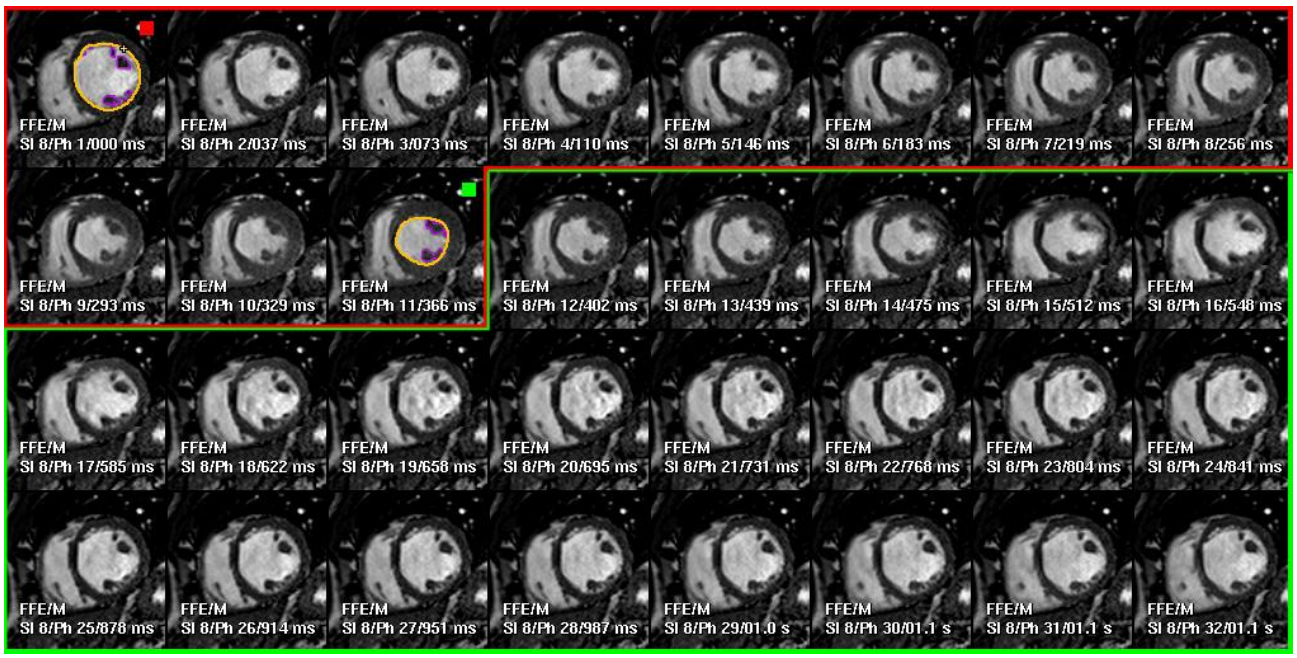

Abbildung 4: Magnetresonanztomographische Darstellung eines kompletten Herzzyklus in einer Kurzachsen-Schnittebene mit Papillarmuskelanschnitten. Rote Umrandung markiert systolische Kontraktion, grüne Umrandung markiert diastolische Relaxation

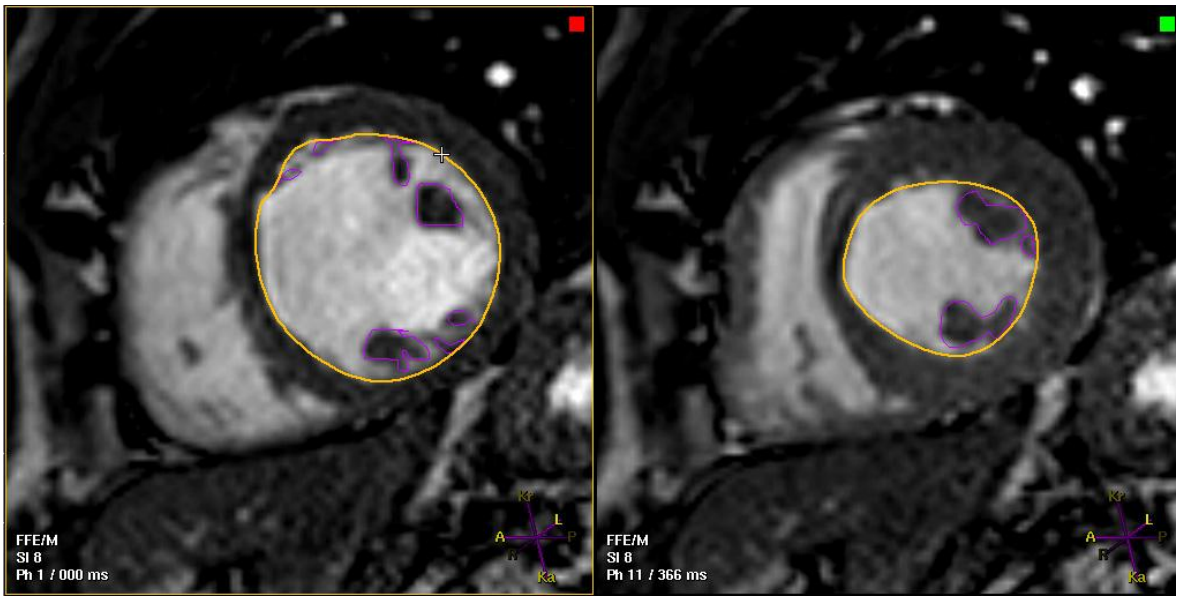

Abbildung 5: Magnetresonanztomographische Darstellung der enddiastolischen Herzphase (links) und der endsystolischen Herzphase (rechts) in Kurzachsenschnittebene. Gelbe Kontur markiert Endokard-Ventrikellumen-Grenze, violette Kontur markiert Papillarmuskelgewebe.

2.3.3 Late Enhancement (LE) Auswertung

Die Myokard- und Narbenmassen wurden anhand von Late Enhancement (LE) Aufnahmen bestimmt. In den LE-Aufnahmen sind sowohl akute Myokardinfarkte als auch abgelaufene, bindegewebig umgebaute Infarkte nachweisbar und mit hoher Genauigkeit quantifizierbar. [Kim, et al. 2008]

Die Datenaufnahme im MRT fand 15min nach i.v. Verabreichung des extrazellulären Kontrastmittels Gd-DTPA (Magnevist®, Firma Schering; Berlin) in einer Dosis von 0,2mmol/kg KG i.v. statt. Zur Bildakquisition kam eine 3D gespoilte T1-gewichtete Turbogradientenechosequenz (TGE) zum Einsatz. Die Bestimmung des idealen Prepulse Delays in einer ‚Look-Locker' Sequenz ermöglicht die Abgabe eines schichtselektiven 180°-Vorpulses zum Zeitpunkt des Nulldurchgangs des Myokards. Das führt zur Myokardunterdrückung und es lässt sich ein optimaler Kontrast zwischen Myokard, Blut und myokardialem Narbengewebe erzeugen.

In den Aufnahmen stellt sich vitales Myokard dunkel dar, myokardiale Late Enhancement Areale leuchten hell auf und das ventrikuläre Blutvolumen ist als Grauton mit mittlerer Intensität abgebildet. Das Verteilungsmuster des Late Enhancement Phänomens wurde zum Ausschluss möglicher Differentialdiagnosen herangezogen (z.B. Myokarditis mit diffusem Late Enhancement Verteilungsmuster).

Infarktnarben breiten sich bei Vorliegen eines transmuralen Infarktes im Regelfall subendokardial beginnend kontinuierlich bis nach subepikardial aus. Dies lässt sich durch die myokardiale Gefäßarchitektur erklären, bei der die Perfusion von epikardial nach endokardial erfolgt. Somit sind bei Minderperfusion zuerst subendokardiale Myokardzonen von einer Hypoxie betroffen. Über die Lokalisation der Narbe innerhalb des Myokards können Rückschlüsse auf das versorgende Herzkranzgefäß gezogen werden.

2.3.4 Mikrovaskuläre Obstruktion (MO)

Kurze Zeit nach großen Myokardinfarkten mit prolongiertem Herzkranzgefäßverschluss lässt sich in den MR-Bildern häufig eine dunkle Zone umgeben von einem hell leuchtendem Late Enhancement Saum identifizieren. Dieses ist dem Auftreten einer mikrovaskulären Obstruktion (MO) geschuldet, bei der das Anschwellen von irreversibel geschädigtem Herzmuskelgewebe den Blutfluss soweit einschränkt, dass es nicht zu einer

Kontrastmittelanreicherung kommen kann. [Sandstede 2003] In der Bildauswertung für die Studie wurde das Areal der MO der Infarktmasse zugeschrieben. Beispielhafte Darstellung in Abbildung 6. Das Vorliegen einer mikrovaskulären Obstruktion ist für den Patienten prognostisch ungünstig und geht mit einem vermehrten Auftreten schwerwiegender kardialer Ereignisse einher. [Choi, et al. 2004, Hombach, et al. 2005]

2.3.5 Bestimmung der Infarktgröße

Zur quantitativen Auswertung wurde der linke Ventrikel in Kurzachsenschnittebene in 20-22 Schichtbildern mit Schichtdicke 5mm abgebildet. Folgende Parameter wurden durch manuelle Konturmarkierung in der ViewForum Analyse Software erhoben: linksventrikuläre Myokardmasse (LVMM), Narbenmasse (LE), Papillarmuskelmasse (per Definition zur Myokardmasse gerechnet, bei Infarzierung als Narbenmasse mitberücksichtigt) und bei Auftreten von mikrovaskulärer Obstruktion (MO) das MO-Volumen (MOV). Die Infarktgröße war definiert als LE im Verhältnis zu LVMM und wurde als Prozentwert angegeben. Abbildung 7 zeigt zwei typische Infarktbefunde.

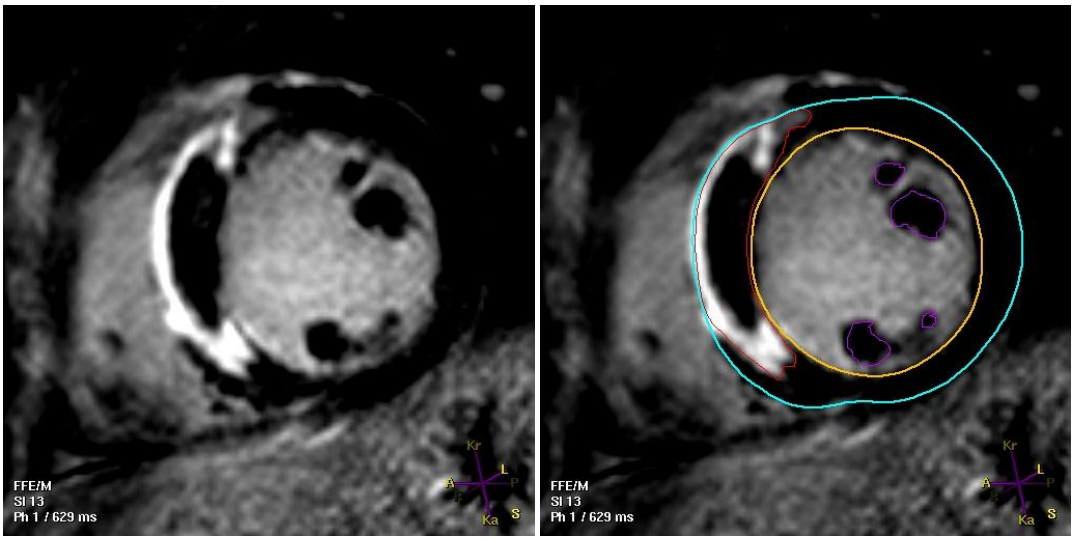

Abbildung 6: Magnetresonanztomographische Aufnahme: Mit der grünen Kontur ist die linksventrikuläre Myokardmasse markiert, die gelbe Kontur begrenzt das ventrikuläre Blutvolumen, in lila sind Papillarmuskelanteile gekennzeichnet. Die rote Kontur markiert das Infarktgebiet mit Vorliegen einer schweren mikrovaskulären Obstruktion.

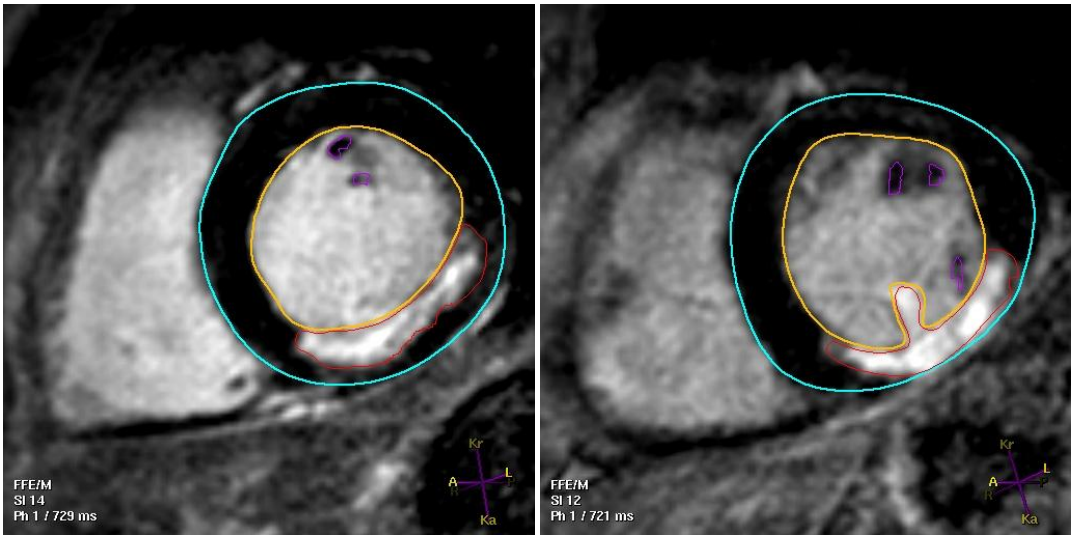

Abbildung 7: Magnetresonanztomographische Late Enhancement Aufnahmen linker Ventrikel; links: Typischer subendokardialer Infarktbefund. rechts: transmurale Infarktnarbe mit Infarktbeteiligung eines Papillarmuskels.
grün: Markierung Myokardaußengrenze, gelb: Markierung ventrikuläres Blutvolumen, lila: Papillarmuskelgewebe (nicht infarziert), rot: infarziertes Myokard (mit Papillarmuskelbeteiligung im rechten Bild)

2.4 Kalkulation der Fallzahl und statistische Auswertung

Primärer Zielpunkt der Untersuchungen war die im MRT gemessene Veränderung der LVEF zwischen Studienbeginn und dem 6-Monats Follow-Up.

Als klinisch bedeutsamer Unterschied wurde eine absolute Verbesserung der LVEF von 2,5% zwischen Placebo- und Verumgruppe festgelegt. Basierend auf früheren Daten [Hombach, et al. 2005] wurde eine Verbesserung der LVEF um 5,0% in der Placebo Gruppe angenommen. In der Stammzellgruppe folglich eine Verbesserung um 7,5%. Die Standardabweichung wurde mit 7,5% angenommen.

Da MRT Daten zur Entwicklung der LVEF nach BMC Therapie zum Zeitpunkt der Studienplanung nur begrenzt zur Verfügung standen, wurde in die Studie eine Pilotphase mit Zwischenanalyse nach 42 Patienten integriert, um die endgültige Patientenzahl valide berechnen zu können. Ursprünglich war die Studie mit einer 2:1 Randomisierung zu Seiten der Verumgruppe auf eine Gesamtfallzahl von 312 Patienten, basierend auf den angegebenen LVEF Verbesserungen, ausgelegt worden.

Für die Zwischenauswertung wurden zwei Abbruchkriterien basierend auf Veränderung der LVEF festgelegt:

1. Überlegenheit der Studientherapie: Abbruch zu Gunsten der BMC-Therapie bei einem $p<0,01$
2. Keine Verbesserung der LVEF durch die Stammzelltherapie: Abbruch zu Ungunsten der BMC-Therapie bei $p>0,5$

Bei dazwischenliegenden p-Werten wird unter Berücksichtigung der in der Pilotphase gemessenen Werte der LVEF und der Standardabweichung in der Kontrollgruppe eine neue Fallzahlberechnung durchgeführt.
Die Randomisierung anhand der Stratifizierungskriterien wurde von einem externen Institut (Institut für Biometrie, Universität Ulm) ausgeführt, das weder an der Patientenrekrutierung noch an den Follow-Up Untersuchungen oder am Aufbereiten der Studientherapie beteiligt war.

Sekundäre Zielpunkte waren im MRT gemessene Veränderungen der Infarktgröße sowie der linksventrikulären enddiastolischen bzw. endsystolischen Volumenindices (LVEDVI, LVESVI). Klinische Endpunkte waren definiert als schwerwiegende kardiale Ereignisse wie Tod, Rehospitalisierung auf Grund von progredienter Herzinsuffizienz und erneuter Myokardinfarkt.
Erneuter Myokardinfarkt war festgelegt als CK-Anstieg größer als der zweifache obere Referenzwert mit signifikanter CK-MB Fraktion (>6%) oder als neu auftretende Q-Zacken im EKG. Rehospitalisierung bei progredienter Herzinsuffizienz war definiert als Klinikeinweisung mit typischer Herzinsuffizienzsymptomatik, die eine Medikamentenanpassung erforderlich machte. Das Auftreten von Stentthrombosen wurde anhand der ARC-Kriterien beurteilt. [Cutlip, et al. 2007]

2.4.1 Statistische Analyse

Kategoriale Variablen wurden durch Einsatz des χ^2-Tests (*Chi-Quadrat-Test*) miteinander verglichen. Bei Annahme einer Normalverteilung der Variablen bestätigte der Brown & Forsythe Test eine homogene Varianzverteilung zwischen den Gruppen. Ermittelte Werte sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben. Zweistichproben-t-Tests und univariate Varianzanalyse (ANOVA) wurden angewandt.

Ein p-Wert kleiner 0,05 war als statistisches Signifikanzniveau festgelegt.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 42 Patienten zwischen 35 und 75 Jahren alt mit akutem Myokardinfarkt (AMI) in diese Studie eingeschlossen und in einem 2:1 Verhältnis randomisiert. 29 Patienten wurden der Stammzellgruppe (BMC) zugeteilt, 13 Patienten der Placebogruppe. Die Patienten wurden standardmäßig nach aktuellen Leitlinien behandelt. Alle Patienten unterzogen sich einer Knochenmarkentnahme und erhielten die Studientherapie entsprechend ihrer Gruppenzugehörigkeit.

Die Stratifizierung der Patienten nach Alter, Infarktlokalisation und Einschränkung der LV-Funktion in der Echokardiographie am Tag nach primärer PCI ist in Tabelle 1 abgebildet.

Tabelle 1: Stratifizierungskriterien der Studienpopulation (LVF: Linksventrikuläre Funktion)

	Placebogruppe (n=13)	**Stammzellgruppe (n=29)**
Alter (Jahre)		
< 60	6 (46,2 %)	15 (48,3 %)
≥ 60	7 (53,8 %)	15 (51,7 %)
Infarktlokalisation		
Vorderwand	7 (53,8 %)	14 (48,3 %)
Nicht Vorderwand	6 (46,2 %)	15 (51,7 %)
Einschränkung der LVF		
stark	5 (38,5 %)	12 (41,4 %)
nicht stark	8 (61,5 %)	17 (58,6 %)

Die Studiengruppen unterschieden sich lediglich in der Geschlechterverteilung signifikant. Es befanden sich relativ gesehen mehr Frauen in der Placebogruppe. Anderweitig lag kein signifikanter Unterschied der demographischen Basisdaten (Tabelle 2) und der prozeduralen Daten (Tabelle 3) vor.

Tabelle 2: Demographische Basisdaten in Placebo- und Stammzellgruppe (BMI: Body mass index)

	Placebogruppe (n=13)	Stammzellgruppe (n=29)	P-Wert
Alter (Jahre)	61,1 ± 9,3	61,0 ± 8,1	0,96
Geschlecht weiblich männlich	5 (38,5 %) 8 (61,5 %)	3 (10,3 %) 26 (89,7 %)	0,04
arterielle Hypertonie	9 (69,2 %)	16 (55,2 %)	0,39
Hyperlipidämie	9 (69,2 %)	22 (75,9 %)	0,65
Nikotinkonsum	7 (53,9 %)	18 (61,1 %)	0,62
Diabetes mellitus insulinpflichtig	5 (38,5 %) 1 (7,7 %)	9 (31,0 %) 2 (6,9 %)	0,64 0,93
BMI (kg/m^2)	27,9 ± 4,4	28,5 ± 3,5	0,63
Kardiogener Schock	1 (7,7 %)	0 (0 %)	0,13
Kardiopulmonale Reanimation	1 (7,7 %)	2 (6,9 %)	0,93

Tabelle 3: Prozedurale Details in Placebo- und Stammzellgruppe

	Placebogruppe (n=13)	Stammzellgruppe (n=29)	P-Wert
Stentimplantation • Medikamentenfreisetzend	13 (100%) 4 (30,8 %)	29 (100%) 8 (27,6 %)	0,83
Stentdurchmesser (mm)	3,1 ± 0,4	3,2 ± 0,6	0,7
Anzahl implantierter Stents	1,5 ± 0,7	1,8 ± 1,2	0,4
Länge des Stentsegments (mm)	33,5 ± 18,9	33,3 ± 18,0	0,97
Maximaler Inflationsdruck (atm)	16,9 ± 2,7	17,7 ± 3,4	0,45
GpIIb/IIIa Inhibitor	12 (92,3 %)	26 (89,6 %)	0,79
Maximaler CK-Gipfel (U/l)	2992 ± 2051	3543 ± 2248	0,46
Zeit von Symptombeginn bis erste Ballondilatation (Stunden)			
Mittel	15,9 ± 9,0	20,8 ± 12,3	0,21
Median	13	18,7	

3.2 Knochenmarkpunktion, Stammzellvitalität und Differenzierung

Bei den Knochenmarkpunktionen wurden durchschnittlich 128±14 ml Knochenmark aspiriert (Median 130ml, Interquartilenabstand 124-136ml). Zellmorphologische Untersuchungen waren durchweg unauffällig. Die intrakoronare Injektion der Studientherapie erfolgte median 6,1 Tage (Interquartilen-bereich 5,5-7,3 Tage) nach Infarktereignis und median 6,1 Stunden (Interquartilen-bereich 5,7–6,9 Stunden) nach der Knochenmarkentnahme. Details in Tabelle 4.

Tabelle 4: Zeitintervalle bis zur Applikation der Studientherapie in Placebo- und Stammzellgruppe

	Placebogruppe (n=13)	Stammzellgruppe (n=29)	P-Wert
Zeit von Knochenmarkaspiration bis Infusion der Studientherapie (Stunden)			
Mittel	6,3 ± 0,8	6,2 ± 1,5	0,78
Median	6,1	6,1	
Zeit von Symptombeginn bis Infusion der Studientherapie (Tage)			
Mittel	6,6 ± 1,5	6,8 ± 2,5	0,80
Median	6,6	6	

Die Gewinnung und Aufbereitung der BMCs erfolgte gemäß dem Studienprotokoll. In der Verum Gruppe wurden im Schnitt $3{,}81 \times 10^8$ BMCs intrakoronar appliziert. Eine genaue Charakterisierung der Zelleigenschaften ist in Tabelle 5 aufgezeigt.

Tabelle 5: Details zu Zellmerkmalen der aufbereiteten Zellen des Knochenmarks der Studienpatienten (CD: Cluster of differentiation; VEGF: Vascular endothelial growth factor; BFU-E: Burst forming unit erythroid; CFU-F/-GEMM: Colony forming unit –fibroblast/-granulocyte, erythrocyte monocyte, megakaryocyte)

	Mittel ± σ	Median*	Min – Max
Zellzahl und Vitalität			
Anzahl eingesetzter mononuklearer Zellen (n x 10^6)	381 ± 130	324 (284;458)	227-629
Zellvitalität (%)	99 ± 1,2	100 (99;100)	95-100
Oberflächenmarker (Durchflusszytometrie)			
CD34+ CD45+			
relativ (%)	0,8 ± 0,3	0,7 (0,5; 1,0)	0,3 - 1,6
absolut (n x 10^6)	3,2 ± 1,9	2,7 (1,9; 3,8)	0,6 - 8,4
CD133+ CD45+			
relativ (%)	0,4 ± 0,2	0,4 (0,2; 0,6)	0,1 - 1,0
absolut (n x 10^6)	1,6 ± 1,1	1,5 (0,7; 2,1)	0,2 - 5,3
CD34+ CD133+ CD45+			
relativ (%)	0,4 ± 0,3	0,3 (0,2; 0,5)	0,1 - 1,1
absolut (n x 10^6)	1,6 ± 1,1	1,4 (0,8; 1,9)	0,2 - 5,5
VEGF-R2+ CD45+			
relativ (%)	0,2 ± 0,1	0,1 (0,1; 0,2)	0,1 - 0,5
absolut (n x 10^6)	0,6 ± 0,4	0,4 (0,3; 0,7)	0,2 - 2,0
VEGF-R2+ CD34+ CD45+			
relativ (%)	0,1 ± 0,1	0,1 (0,1; 0,1)	0,02 - 0,3
absolut (n x 10^6)	0,3 ± 0,2	0,2 (0,2; 0,3)	0,1 - 1,1
Kolonie bildende Einheiten (CFU)			
BFU-E (n/10^6 Zellen)	1815 ± 808	1750 (1313; 2250)	533 – 4875
CFU-GEMM (n/10^6 Zellen)	360 ± 160	319 (200; 500)	67 – 688
CFU-F (n/10^6 Zellen)	17 ± 7	16 (11; 21)	5 – 35

*(Interquartilen Abstand)

3.3 Follow-Up

3.3.1 MRT

Die MRT Follow-Up Untersuchungen wurden in beiden Studienarmen in gleichen Zeitintervallen erhoben. (Tabelle 6)

Tabelle 6: Zeitintervalle MRT-Untersuchungen in Placebo- und Stammzellgruppe (MRT: Magnetresonanztomographie)

	Placebogruppe (n=13)	**Stammzellgruppe** (n=29)	**P-Wert**
Zeit von initialem MRT bis 1 Monats MRT (Tage)			
Mittel	41 ± 8	40 ± 8	0,68
Median	39	40	
Zeit von 1 Monats MRT bis 3 Monats MRT (Tage)			
Mittel	59 ± 10	58 ± 8	0,65
Median	62	57	
Zeit von 3 Monats MRT bis 6 Monats MRT (Tage)			
Mittel	98 ± 25	91 ± 13	0,26
Median	91	91	

3.3.2 Unerwünschte Zwischenfälle

Es kam zu zwei nicht kardial bedingten Todesfällen. Eine Patientin der Placebogruppe erlag 158 Tage nach Studieneinschluss einem metastasierten Ovarialkarzinom. Ein Patient der Stammzellgruppe verstarb 121 Tage nach Studieneinschluss an den Folgen einer Pneumonie. Bei beiden Patienten konnte keine 6 Monats-Kontroll-MRT durchgeführt werden, erhobene Basis MR-Daten wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt.

3.4 Medikation

Die nach Leitlinien eingesetzte medikamentöse Therapie der Studienpatienten ist in Abbildung 8 dokumentiert. Die Unterschiede in der medikamentösen Therapie in den beiden Studiengruppen sowohl zum Zeitpunkt der Krankenhausentlassung, als auch zu den Follow-Up Untersuchungen (1, 3, 6 Monate) waren nicht signifikant.

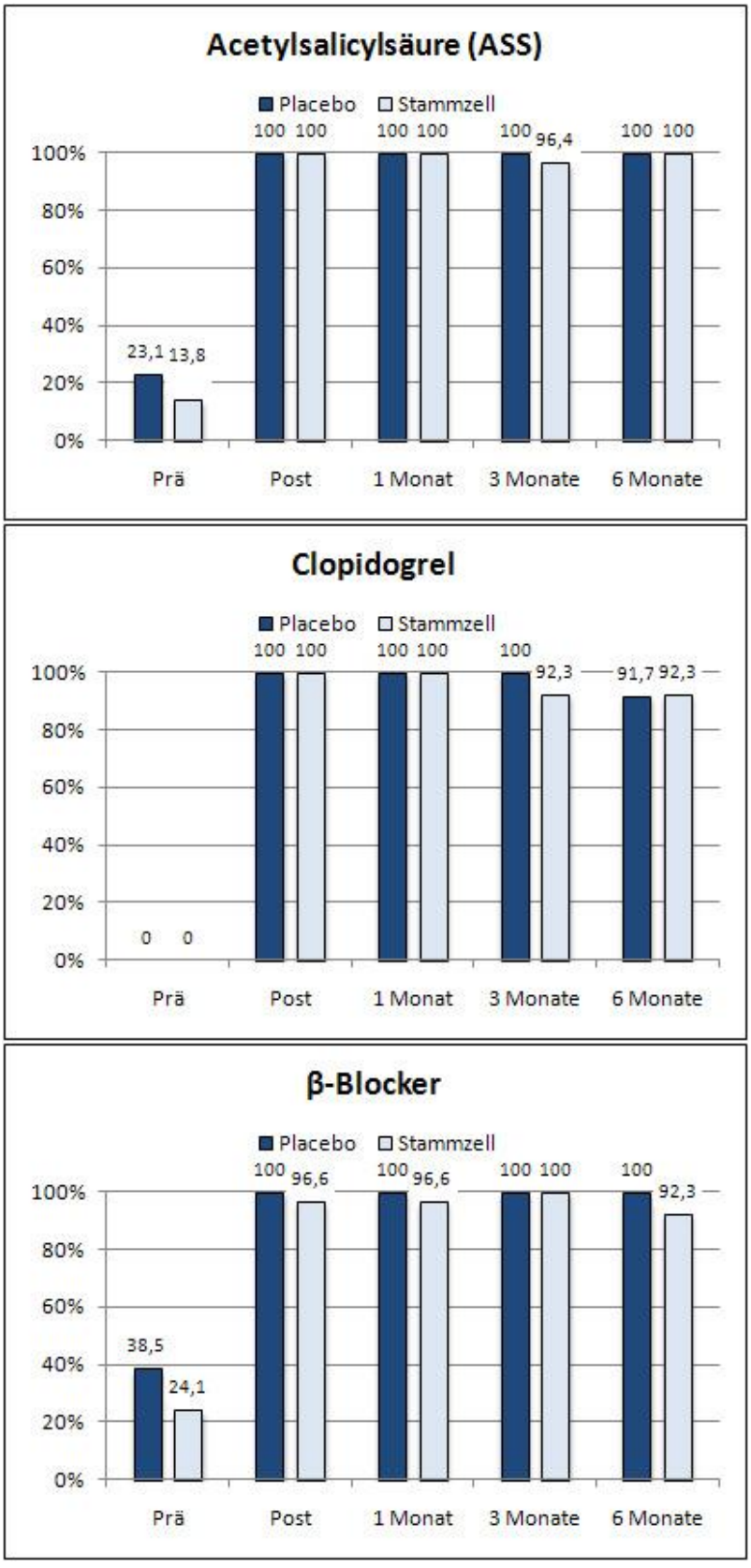

Abbildung 8: ASS, Clopidogrel und β-Blocker Einnahme in Placebo- und Stammzellgruppe zu den Zeitpunkten vor Infarktereignis (Prä), initial nach Infarktereignis (Post) und nach 1 / 3 / 6 Monaten

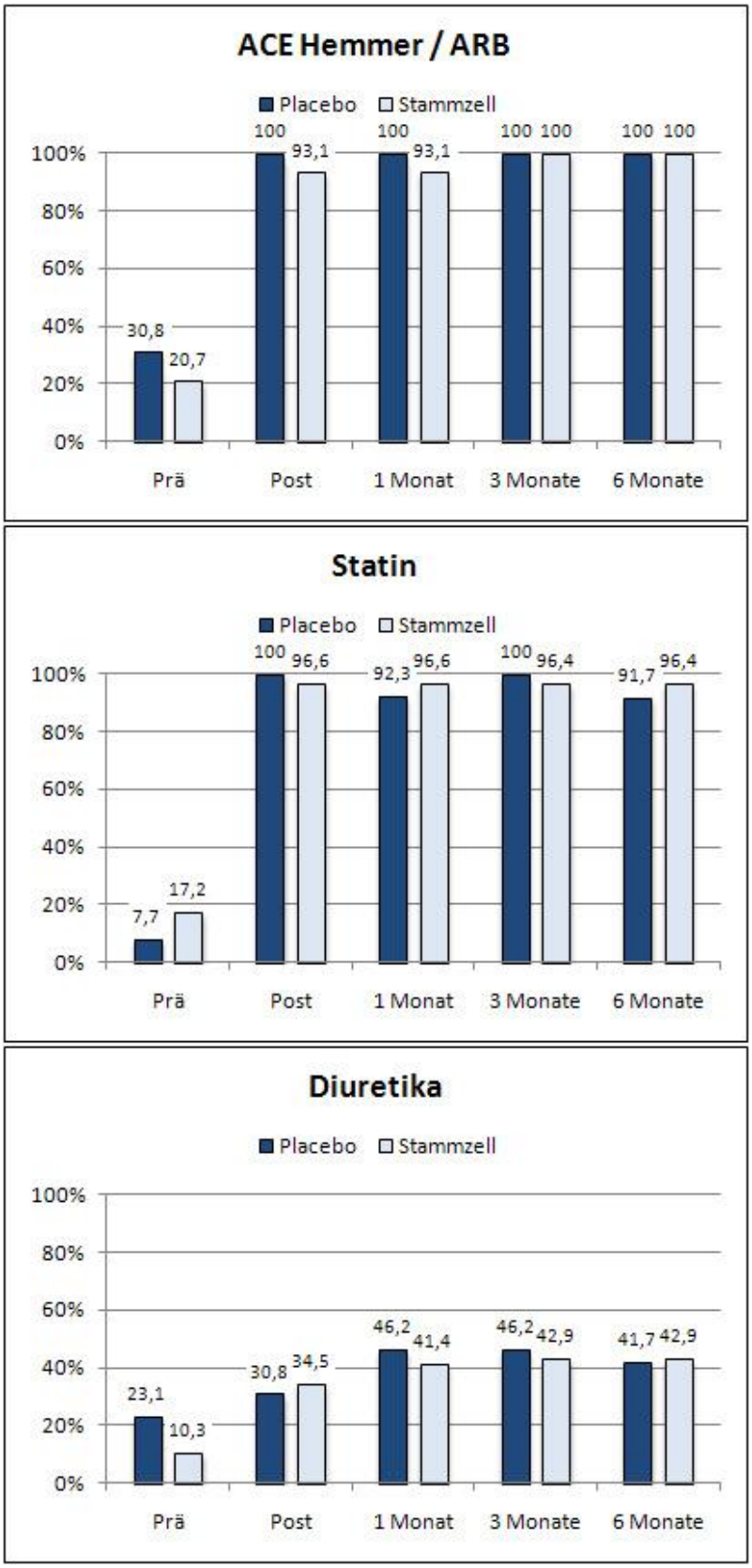

Abbildung 9: ACE-Hemmer/ARB, Statin und Diuretika Einnahme in Placebo- und Stammzellgruppe zu den Zeitpunkten vor Infarktereignis (Prä), initial nach Infarktereignis (Post) und nach 1 / 3 / 6 Monaten

3.5 Ergebnisse Primärer Endpunkt (LVEF)

Die LVEF lag initial in der Placebogruppe bei 55,7 ± 9,4% und in der Stammzellgruppe bei 53,5 ± 9,3% und stieg im 6 Monats Verlauf auf 61,4 ± 11,2% bzw. auf 55,3 ± 9,6%. Der primäre Endpunkt, die Änderung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) von vor der Studientherapie bis zum 6 Monats Follow-Up MRT betrug in der Placebogruppe 5,7 ± 8,4% und in der Stammzellgruppe 1,8 ± 5,3%.

Die statistische Analyse ergab bei einseitiger Testung einen p-Wert von 0,88. Daher musste die Rekrutierung in die Studie anhand der im Vorhinein festgelegten Abbruchkriterien zu diesem Zeitpunkt beendet werden.

Auch zu den Untersuchungszeitpunkten nach 1 und 3 Monaten fand sich kein Anhalt für eine Überlegenheit der Stammzelltherapie bezogen auf die Verbesserung der LVEF.

Details zur LVEF im Studienverlauf sind in Tabelle 7 und den Abbildungen 10, 11 aufgeführt.

Tabelle 7: LV-Ejektionsfraktion, LV Volumen Indices, Infarktgröße initial und nach 6 Monats Follow-Up in Placebo- und Stammzellgruppe. (* markiert primären Endpunkt) (LV: Linksventrikulär –EF: Ejektionsfraktion, -EDV: Enddiastolischer Volumen Index, -ESVI: Endsystolischer Volumen Index)

	Initial		**6 Monate**		**Differenz**		**p**
	Placebo	Stammzell	Placebo	Stammzell	Placebo	Stammzell	
LVEF (%)	55,7 ± 9,4	53,5 ± 9,3	61,4 ± 11,2	55,3 ±9,6	5,7 ± 8,4*	1,8 ± 5,3*	0,10
LVEDVI (ml/m²)	74,9 ±11,0	82,7 ± 16,4	85,4 ± 20,8	92,3 ± 21,7	10,6 ± 14,3	9,6 ± 15,3	0,38
LVESVI (ml/m²)	33,4 ± 10,4	39,4 ± 14,5	34,5 ± 16,9	42,3 ± 17,4	1,0 ± 10,3	3,0 ± 9,6	0,21
Infarktgröße (%)	28,1 ± 10,3	27,2 ± 12,3	20,3 ± 7,0	19,8 ± 9,7	-7,8 ± 4,4	-8,2 ± 5,5	0,87

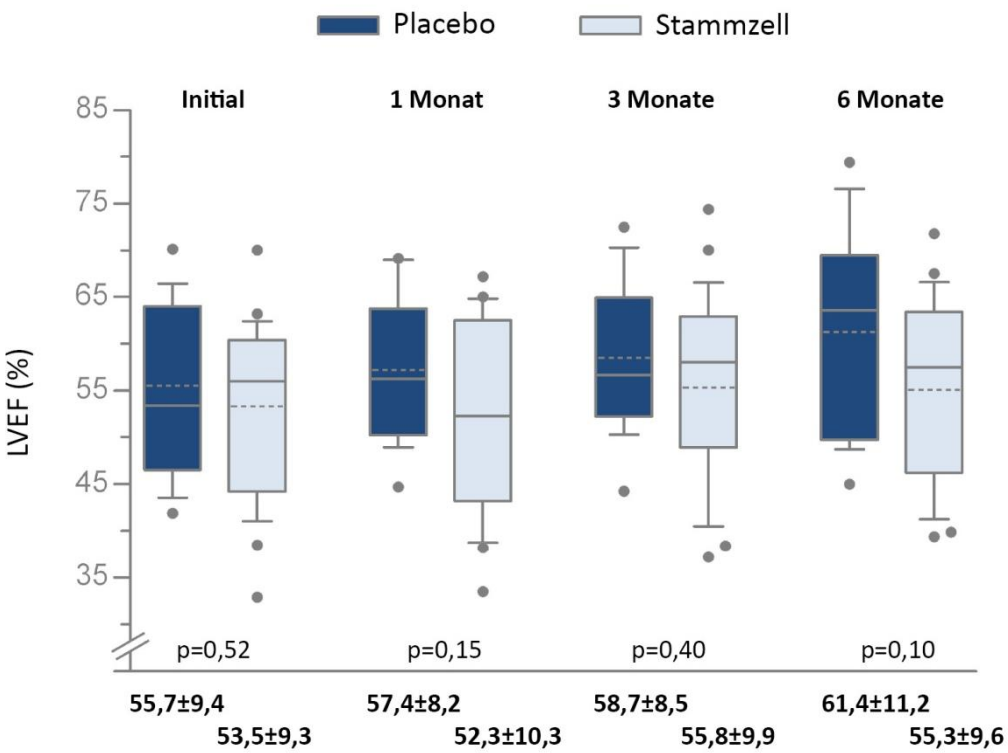

Abbildung 10: Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) in Placebo- und Stammzellgruppe zu den Zeitpunkten initial sowie nach 1 / 3 / 6 Monaten

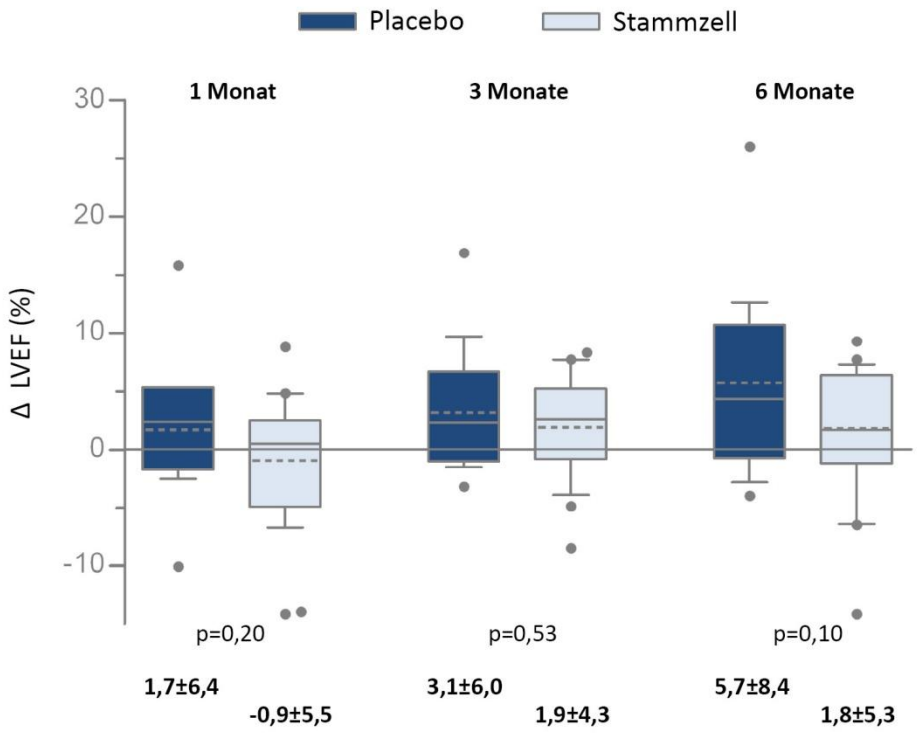

Abbildung 11: Differenz der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) im Verlauf bezogen auf den initialen Messpunkt nach 1 / 3 / 6 Monaten in Placebo- und Stammzellgruppe

3.6 Ergebnisse Sekundäre Endpunkte

3.6.1 Volumenindices

Bei der Auswertung der linksventrikulären enddiastolischen und endsystolischen Volumen Indices (LVEDVI, LVESVI) konnte in den MRT Daten bei den 1, 3, 6 Monats Follow-Up Untersuchungen kein signifikanter Unterschied zwischen den Studiengruppen festgestellt werden. In beiden Studienarmen stieg der LVEDVI durchschnittlich um ca. 10ml und der LVESVI blieb über den Untersuchungszeitraum konstant. Abbildungen 12, 13, 14, 15 und Tabelle 7 geben eine detaillierte Darstellung.

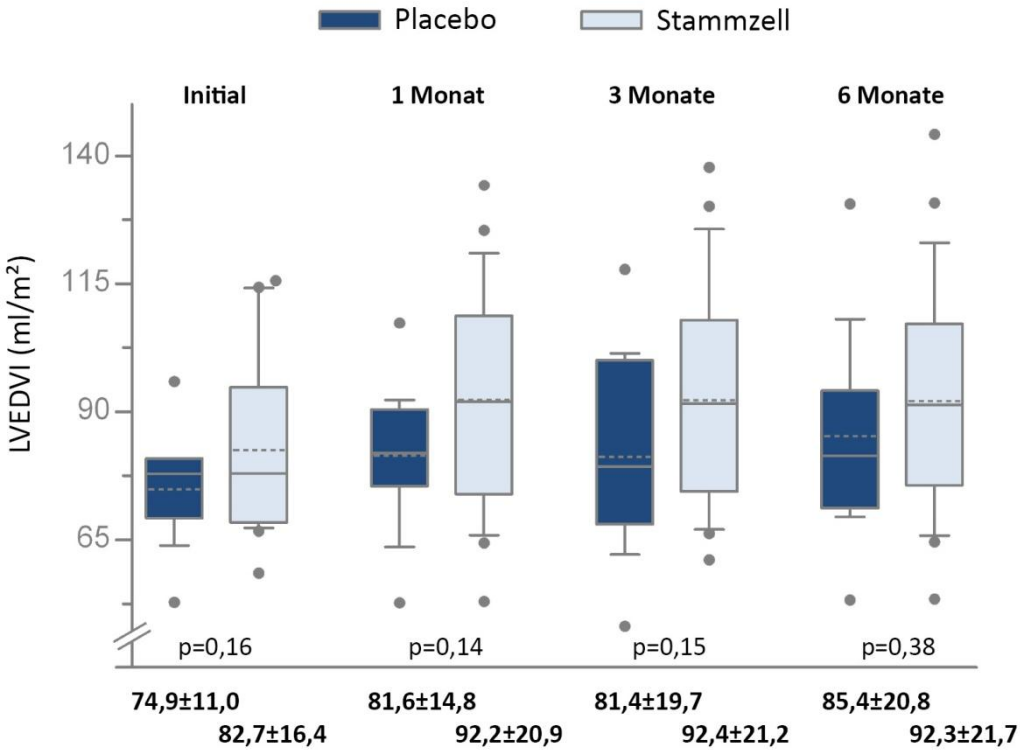

Abbildung 12: Linksventrikuläre enddiastolische Volumenindices (LVEDVI) in Placebo- und Stammzellgruppe zu den Zeitpunkten initial sowie nach 1 / 3 / 6 Monaten

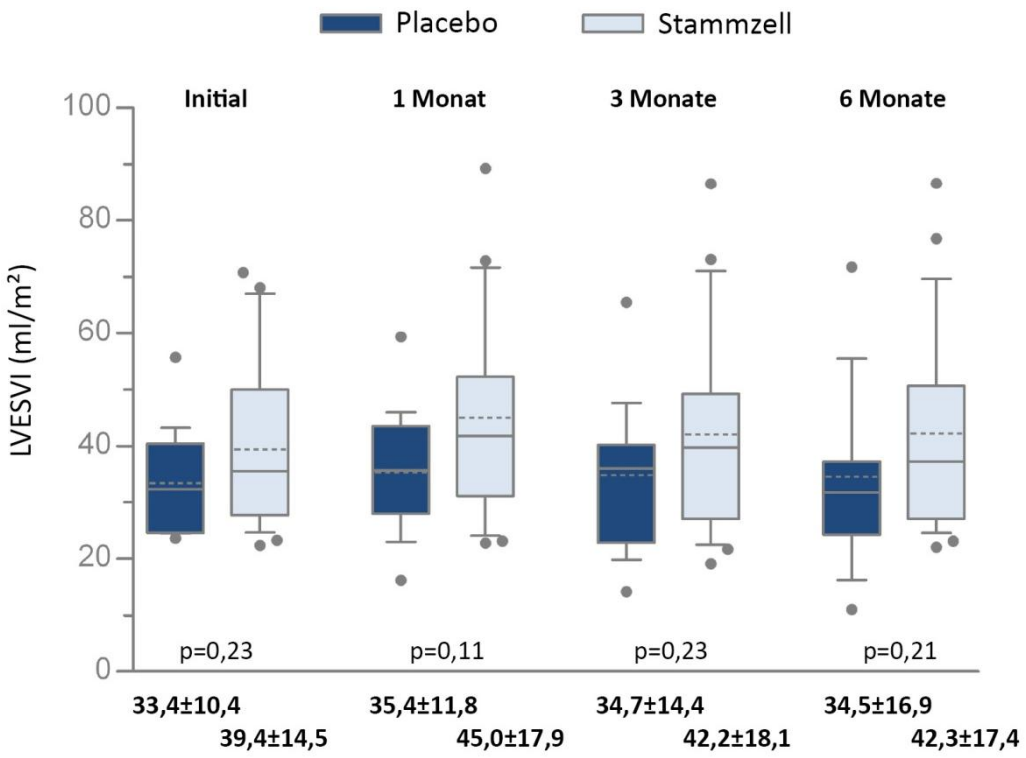

Abbildung 13: Linksventrikuläre endsystolische Volumenindices (LVESVI) in Placebo- und Stammzellgruppe zu den Zeitpunkten initial sowie nach 1 / 3 / 6 Monaten

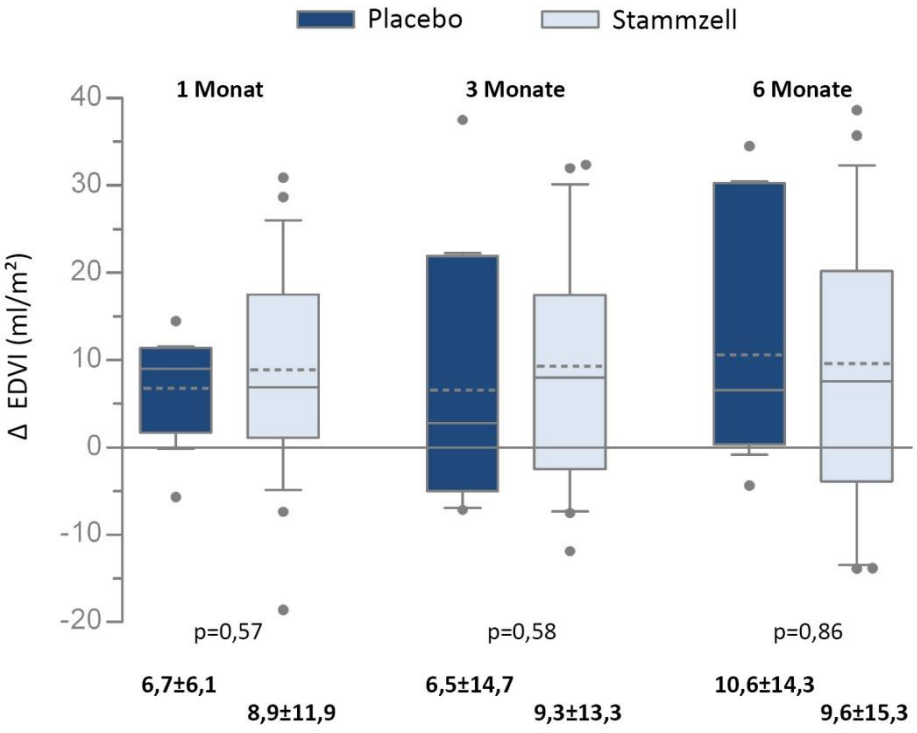

Abbildung 14: Differenz der linksventrikulären enddiastolischen Volumindices (EDVI) im Verlauf bezogen auf den initialen Messpunkt nach 1 / 3 / 6 Monaten in Placebo- und Stammzellgruppe

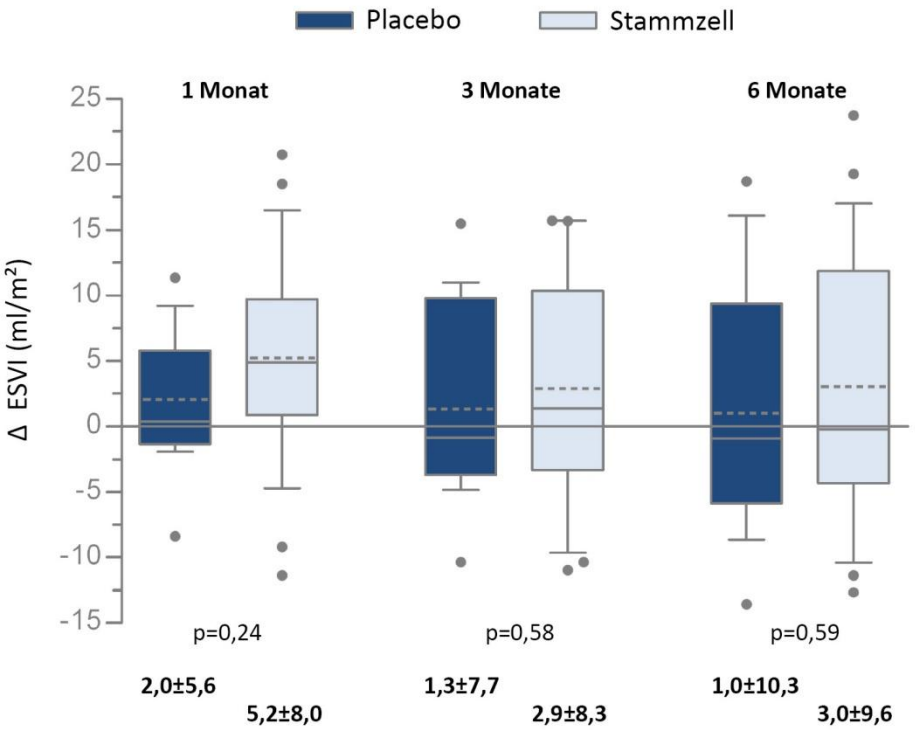

Abbildung 15: Differenz der linksventrikulären endsystolischen Volumenindices (ESVI) im Verlauf bezogen auf den initialen Messpunkt nach 1 / 3 / 6 Monaten in Placebo- und Stammzellgruppe

3.6.2 Infarktgröße und mikrovaskuläre Obstruktion

Die MRT Untersuchungen wiesen initial keinen statistisch relevanten Unterschied für die LE Narbenmasse zwischen Placebo, 50,2 ± 17,1g und Stammzell Gruppe, 60,1 ± 36,3g. Gleiches galt für die relative Infarktgröße (LE/LVMM), wobei weder zu Studienbeginn noch zu irgendeinem Follow-Up Zeitpunkt ein relevanter Unterschied zwischen den beiden Studienarmen im MRT ausgemacht werden konnte. Details in Abbildungen 16, 17 und Tabelle 7.

Das Vorliegen einer mikrovaskulären Obstruktion (MO) als relevante Begleitkomplikation eines Myokardinfarkts wurde mittels LE Aufnahmen im initialen MRT beurteilt. Eine sichere Beurteilbarkeit der mikrovaskulären Obstruktion im MRT war bei 88,1% (37/42) der Studienpatienten möglich. Eine mikrovaskuläre Obstruktion trat bei 63,7% (7/11) der Patienten in der Placebogruppe und bei 65,4% (17/26) der Patienten in der Stammzellgruppe auf. Der Unterschied war nicht signifikant, p=0,92.

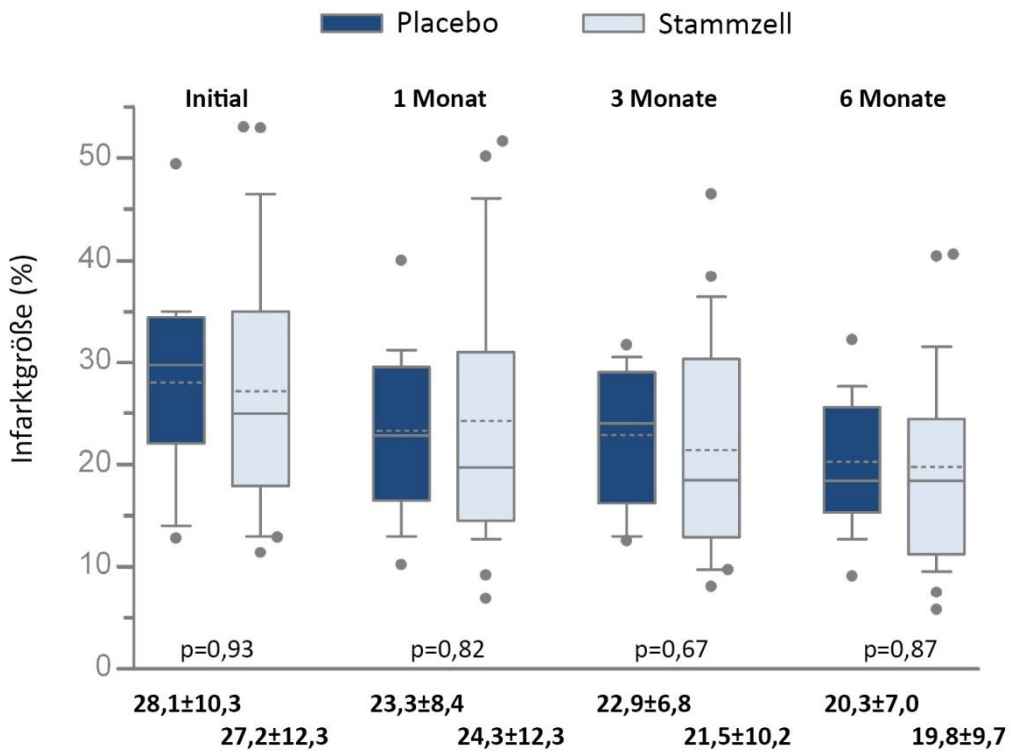

Abbildung 16: Infarktgröße in Placebo- und Stammzellgruppe zu den Zeitpunkten initial sowie nach 1 / 3 / 6 Monaten

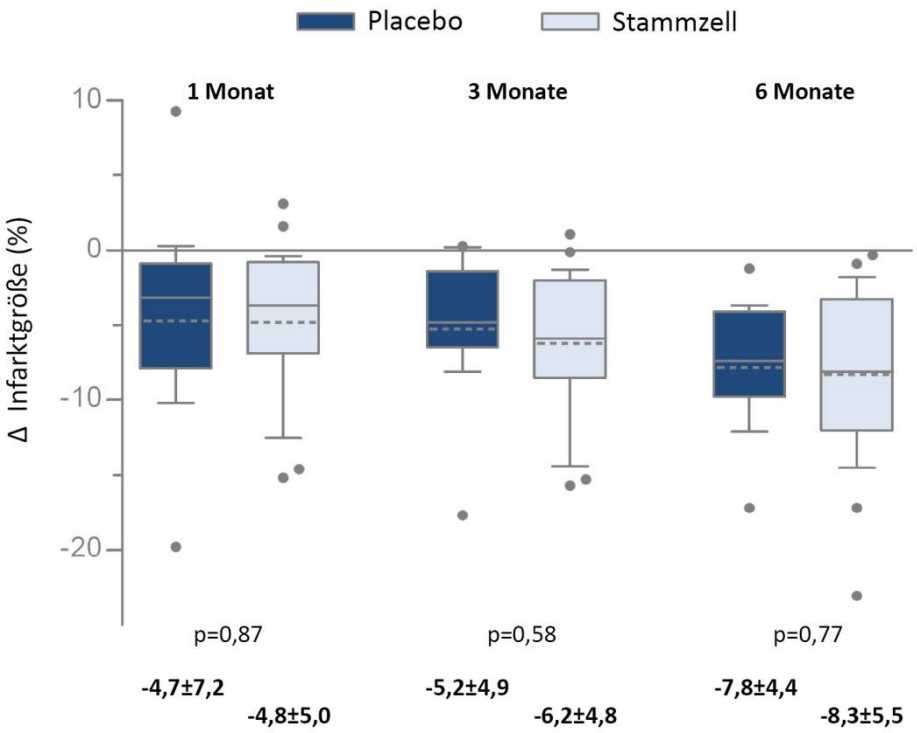

Abbildung 17: Differenz der Infarktgröße im Verlauf bezogen auf den initialen Messpunkt nach 1 / 3 / 6 Monaten in Placebo- und Stammzellgruppe

3.6.3 Klinische Ereignisse

Im Studienzeitraum traten unter dualer Thrombozytenaggregationshemmung kein erneuter AMI, keine Stentthrombose und auch keine notfallmäßige Revaskularisation bei stenosiertem Herzkranzgefäß auf.

Auf Grund einer progredienten Herzinsuffizienzsymptomatik wurden zwei Patienten der Stammzellgruppe 38 bzw. 69 Tage nach Studieneinschluss stationär aufgenommen. Nach sechs Monaten lag die im Herzkatheter untersuchte Restenoserate bei 25% (3/12) in der Placebo Gruppe und bei 25% (7/28) in der Stammzellgruppe.

Klinische, kombinierte Endpunkte wie Tod, Myokardinfarkt und Rehospitalisierung auf Grund von Herzinsuffizienz waren bei 7,7% (1/13) der Patienten der Placebo Gruppe und bei 10,3% (3/29) der Patienten der Verum Gruppe vorhanden (p=0,79).

4. Diskussion

4.1 Diskussion der Ergebnisse

In dieser randomisierten, doppelblinden, Placebo kontrollierten Studie konnte kein Hinweis für einen positiven Effekt einer autologen Stammzelltransplantation von Knochenmarkzellen im Vergleich zu einer Placebobehandlung bei Patienten nach akutem Myokardinfarkt (AMI) mit erfolgreicher PCI später als 6 Stunden nach Symptombeginn nachgewiesen werden.

Der primäre Endpunkt, die Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion gemessen in der Kardio-MRT Untersuchung war nach 6 Monaten in beiden Studiengruppen nicht verschieden. Auf Grund im Vorhinein festgelegter statistischer Kriterien musste die weitere Rekrutierung von Patienten für die Studie gestoppt werden. Auch die sekundären Endpunkte, die linksventrikulären Volumenparameter und die Infarktgröße, wiesen im Verlauf in beiden Studiengruppen keinen relevanten Unterschied auf.

Tabelle 8 (S. 51) zeigt einen Überblick über Studien zum Einsatz mononuklearer Stammzellen des Knochenmarks nach AMI.

Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen beobachteten auch Janssens, et al. keine Veränderung bei der LVEF, dem LVEDVI und dem LVESVI nach vier Monaten. Die Zeit zwischen Symptombeginn und PCI lag im Median bei 5 Stunden, in unserer Studie bei 14,3 Stunden. Im Unterschied zu Janssens, et al. konnten wir keinen Unterschied bei der Veränderung der Infarktgröße zwischen den beiden Studiengruppen beobachten. [Janssens, et al. 2006]

Im Gegensatz zu einer Subgruppe (MRT Auswertung) von 54 Patienten der REPAIR-AMI Studie mit einer Verbesserung der LVEF von 3,6±6,8% in der Verum-Gruppe und 0,6±6,2% im Placebo-Arm konnten wir keine größere Verbesserung der LVEF im Therapiearm ausmachen (Verum: 1,8±5,3%, Placebo: 5,7±8,4%). Im Vergleich der beiden Studien war die Zahl der applizierten Zellen in unserer Studie höher, welches bislang mit einem höheren Potential einer Verbesserung der LVEF in Verbindung gebracht wurde. [Martin-Rendon, et al. 2008, Meluzin, et al. 2006] Die Aufbereitung der BMCs und die Applikation mittels Stop-Flow Technik entsprach dem REPAIR-AMI Protokoll. Bei der Ficoll Präparation entstammte das eingesetzte Präparat derselben Charge. Die Verabreichung der Zellen median 6,1 Tage nach Myokardinfarkt stellt laut einer REPAIR-AMI Subgruppen Analyse

einen idealen Zeitpunkt dar. [Schachinger, et al. 2006] Abweichend von der REPAIR-AMI Studie wurde bei unserer Studie entsprechend der Einschlusskriterien die PCI statt nach median 4,5 Stunden in Repair-AMI später nach median 14,3 Stunden durchgeführt. Laut den Ergebnissen der REGENT Studie profitiert gerade die Patientengruppe mit einer späten Reperfusion (>6 Stunden) von einer Stammzelltherapie. Des Weiteren fand sich bei unseren Patienten im Schnitt ein größeres Infarktvolumen, vermehrt mikrovaskuläre Obstruktion und die Zellaufbereitung sowie Readministration der Zellen dauerte kürzerer als bei REPAIR-AMI.

Interessanterweise verringerte sich in der REPAIR-AMI Studie die Infarktgröße in der Placebogruppe nur minimal von initial 33,1g zu 32,9g nach 12 Monaten. Das erklärt möglicherweise den fehlenden Anstieg der LVEF in der Placebo Gruppe. Denn typischerweise findet sich bei Patienten mit stattgehabtem AMI eine Verringerung der Narbengröße im zeitlichen Verlauf. [Hombach, et al. 2005, Wollert, et al. 2004] Szintigraphisch wurde in einer Studie die Narbenverkleinerung im zeitlichen Verlauf bei 626 untersuchten Patienten nachgewiesen, wobei sich die Infarktgröße innerhalb von sechs Monaten von 24,6% auf 8% der Myokardmasse verringerte. [Ndrepepa, et al. 2007]

In der ASTAMI Studie wurden 100 Patienten mit Vorderwandinfarkt eingeschlossen. Parallel zu unseren Ergebnissen fand sich auch hier in der Auswertung mit MRT eine Verbesserung der LVEF nach sechs Monaten, die in der Kontrollgruppe mit 4,3±7,1% stärker ausgeprägt war als in der Stammzellgruppe mit 1,2±7,5%. [Lunde, et al. 2006] Die sich unterscheidenden Ergebnisse zwischen REPAIR-AMI und ASTAMI wurden begründet durch divergierende Zellaufbereitungsverfahren. [Seeger, et al. 2007] In unserer Studie wurde die Zellgewinnung allerdings in Anlehnung an das REPAIR-AMI Protokoll durchgeführt und eine höhere Zahl an BMCs appliziert. Dennoch konnte der bei REPAIR-AMI beobachtete Effekt in unserer Studie nicht reproduziert werden.

In der BOOST Studie verbesserte sich die LVEF in der Kontrollgruppe um 0,7%, in der Verumgruppe um 6,7% nach sechs Monaten. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen fand sich jedoch kein Unterschied zwischen den Gruppen bezogen auf LVEDVI, LVESVI und Infarktgröße sowohl nach sechs als auch nach 18 Monaten. Die nach sechs Monaten beobachtete signifikante Steigerung der LVEF war nach 18 Monaten nicht mehr nachweisbar. Als Auswertemethode wurde Kurzachsen-Kardio-MRT eingesetzt, die

Studie wurde randomisiert, aber im Gegensatz zu unserem Studiendesign nicht geblindet durchgeführt. [Meyer, et al. 2006, Wollert, et al. 2004]

Die REGENT Studie wurde randomisiert und wie die BOOST-Studie mit nicht geblindeter Kontrollgruppe durchgeführt. Die Therapiegruppe erhielt durch Ficoll Dichtegradientenzentrifugation aufbereitete Stammzellen, einerseits nicht selektiert andererseits durch immunomagnetische Selektion gewonnene CD34+ und CXCR4+ Zellen. Zwischen den verschiedenen Gruppen war kein signifikanter Unterschied bei der LVEF, dem LVEDV sowie dem LVESV nachzuweisen. Allerdings brachte eine multivariate Regressionsanalyse eine signifikant größere Verbesserung der LVEF im Therapiearm für die Subgruppe mit einer Zeitspanne Symptombeginn bis PCI größer dem Median (6 Stunden). Exakt in diesem zeitlichen Rahmen befindet sich unsere Studienpopulation, in welcher dieser Effekt bei konsequenter doppelseitiger Blindung und Placebokontrolle nicht beobachtet werden konnte. [Tendera, et al. 2009]

Die Studie von Meluzin et al wurde randomisiert, allerdings nicht geblindet durchgeführt. Hierbei war der Therapiearm in zwei Gruppen mit unterschiedlicher applizierter Zelldosis aufgeteilt. Sowohl in der Hochdosis- ($1*10^8$ Zellen) als auch in der Niederdosis- Population ($1*10^7$ Zellen) fand sich eine signifikant verbesserte LVEF mit 7% bzw. 3% bezogen auf die Kontrollgruppe mit ±0% für einen Zeitraum von sechs Monaten. Dieser Effekt persistierte und war nach 12 Monaten ebenfalls noch signifikant. [Meluzin, et al. 2008] Erstaunlicherweise lag die Anzahl der applizierten Zellen in der Hochdosisgruppe exakt an der beschriebenen Effektivitätsgrenze, die niedrige Dosis unterschritt den beschriebenen Wert sogar um eine ganze Potenz. [Martin-Rendon, et al. 2008] Im Gegensatz zu unserer Studie war diese nicht geblindet und als Auswertungsverfahren wurde die der MRT unterlegene SPECT eingesetzt.

In der TCT Studie wurde bei 10 von 20 eingeschlossenen Patienten mit AMI eine Stammzellgabe innerhalb weniger Stunden nach PCI getestet. Die Studie wurde randomisiert und doppelblind durchgeführt, als Placebopräparat wurde Überstand des Knochenmarkaspirats eingesetzt. Dabei wurde eine signifikante Verbesserung der LVEF in der Stammzellgruppe von 4,8% in dem Zeitraum von einer Woche bis sechs Monate nach Stammzellinjektion festgestellt. Jedoch verringerte sich die LVEF in der Placebogruppe im gleichen zeitlichen Verlauf sogar um 1,9%. [Ge, et al. 2006] Dies steht den Beobachtungen

der anderen durchgeführten Studien entgegen, in denen sich entweder eine Verbesserung oder zumindest eine Stagnation der LVEF im Placeboarm finden lässt. [Janssens, et al. 2006, Lunde, et al. 2006, Meluzin, et al. 2008, Schachinger, et al. 2006, Tendera, et al. 2009, van der Laan, et al. 2008, Wollert, et al. 2004] Möglicherweise lässt sich diese Beobachtung mit dem späten Zeitpunkt der initialen Bestimmung der LVEF erst eine Woche nach Applikation der Studientherapie erklären.
Bedeutend erscheint auch, dass die Patienten im Therapiearm zu Studienbeginn eine deutlich geringere LVEF aufwiesen als die Patienten der Placebo Gruppe und dadurch eine Inhomogenität zwischen den beiden Studiengruppen bestand. Die Zahl der applizierten Stammzellen war mit $3{,}9*10^7$ verhältnismäßig gering und deutlich unter der beschriebenen Effektivitätsgrenze von $1*10^8$ Zellen. [Martin-Rendon, et al. 2008] Weiterhin ist eine Patientenzahl von jeweils 10 pro Studiengruppe sehr niedrig und die Auswertung der LVEF wurde echokardiographisch durchgeführt, was einer Bestimmung mittels MRT wie in unserer Studie technisch unterlegen ist.

Kürzlich wurden auch die Ergebnisse der HEBE Studie vorgestellt. Hierbei handelt es sich um eine randomisierte, nicht geblindete Multicenter Studie mit 200 Patienten. Dabei war der Therapiearm unterteilt in eine Gruppe mit aus dem peripheren Blut zur Transplantation gewonnenen Zellen und eine Gruppe, die Knochenmarkzellen intrakoronar transplantiert bekam. Primärer Endpunkt war die systolische Ventrikelwanddickenzunahme, als sekundärer Endpunkt wurde die LVEF mitbestimmt. Zur Auswertung wurde die MRT eingesetzt. Verglichen mit der Kontrollgruppe fand sich in beiden Therapiegruppen weder eine vermehrte Wanddickenzunahme noch eine gesteigerte LVEF in einem Beobachtungszeitraum von vier Monaten. Die Veränderung der LVEF in der Kontrollgruppe lag bei 4%, was sehr gut mit der in unserer Studie beobachteten Verbesserung von 5,7% übereinstimmt. [Nijveldt, et al. 2008]

Damit wurde in fünf Studien keine signifikante Verbesserung der LVEF gefunden. In der HEBE Studie, der ASTAMI Studie, bei Janssens et al., in unserer Studie, sowie bei der REGENT Studie. In REGENT zeigte sich eine signifikante Verbesserung in der Subgruppe mit einer LVEF kleiner dem Median. [Beitnes, et al. 2009, Janssens, et al. 2006, Nijveldt, et al. 2008, Tendera, et al. 2009]

Eine signifikante Verbesserung der LVEF nach BMC Transplantation wurde in vier Studien beschrieben. Bei der BOOST Studie, aber lediglich im Follow-Up Zeitraum von 6 Monaten, nicht mehr nach 18 Monaten. Bei Meluzin et al., in der TCT Studie, sowie bei REPAIR-AMI. Allerdings konnte für Letztere in einer MR Substudie ein signifikanter Effekt nur bei Patienten mit LVEF kleiner dem Median nachgewiesen werden. [Dill, et al. 2009, Ge, et al. 2006, Meluzin, et al. 2008, Meyer, et al. 2006, Schachinger, et al. 2006, Wollert, et al. 2004]

4.1.1 Linksventrikulärer enddiastolischer Index (LVEDVI)

In der Mehrzahl der BMC Studien war die Verbesserung der LVEF in den Vordergrund gestellt. Dieser Endpunkt wurde allerdings zwischenzeitlich in Frage gestellt. [Menasche 2009] Durch den Verlust vitalen Myokards beginnt eine Umbaukaskade der Ventrikelmuskulatur (Remodeling), die im schlechtesten Fall zur Kammerdilatation und zur kontraktilen Dysfunktion führt. Doch auch die Entwicklung des sekundären Endpunktes LVEDVI als Marker für Remodeling Prozesse wies zu keinem der untersuchten Zeitpunkte einen relevanten Unterschied zwischen Placebo- und Stammzellgruppe auf. Der LVEDVI stieg in beiden Gruppen gleichermaßen um ca. 10ml/m² innerhalb von 6 Monaten.

Ein Anstieg des LVEDVI in beiden Untersuchungsarmen war analog in mehreren Studien zu finden, ein sinkender LVEDVI in beiden Populationen wurde lediglich in der ASTAMI Studie verzeichnet und ein verminderter LVEDVI singulär im Therapiearm wurde in der TOPCARE-AMI Studie beschrieben. Einzig in der MRT untersuchten Subgruppe der REPAIR-AMI Studie war der LVEDVI in der Placebo Gruppe signifikant größer als in der Stammzellgruppe zu den Zeitpunkten 4 und 12 Monate. Dieser Effekt konnte allerdings bezogen auf die gesamte Studienpopulation gemessen in der Laevokardiographie nicht bestätigt werden. In der ASTAMI Studie war die Reduktion des LVEDV leicht betont in der BMC Gruppe, aber statistisch nicht signifikant. Bei [Janssens, et al. 2006] fand sich ein ähnlicher Anstieg in beiden Gruppen, in der BOOST [Meyer, et al. 2006, Wollert, et al. 2004] und auch in der REGENT Studie [Tendera, et al. 2009] lag ein stärkerer Anstieg des LVEDV im BMC Therapiearm vor.

4.1.2 Sicherheit

In einer 13 Studien einschließenden Metaanalyse wurde für einen Zeitraum von sechs Monaten kein erhöhtes Mortalitäts- oder Morbiditätsrisiko für die Applikation von BMCs nach AMI festgestellt. Bei den beurteilten Kriterien Reinfarkt, Arrhythmien, Restenosierung, Hospitalisierung und erneute Angioplastie des Zielgefäßes fand sich zwischen Stammzell- und Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied. [Martin-Rendon, et al. 2008] Dies stimmt gut mit den Ergebnissen in unserer Studie überein. Allerdings muss die Aussagekraft unserer Ergebnisse realistisch bezogen auf die geringe Patientenzahl eingeschätzt werden. Insgesamt scheint die BMC Applikation nach AMI für den Patienten sicher zu sein. Langzeitdaten eines größeren Patientenkollektivs sollten allerdings noch abgewartet werden, bevor endgültige Rückschlüsse gezogen werden.

Tabelle 8: Übersicht der wichtigsten Studien zur Transplantation mononuklearer Stammzellen des Knochenmarks nach akutem Myokardinfarkt (n.v.: nicht verfügbar) (CD: Cluster of differentiation; mBMC: Bone marrow derived cell; MRT: Magnetresonanztomographie; SPECT: Single Photon Emission Computed Tomography)

Studienname	Autor	Auswertungs-verfahren	Protokoll Zellpräparation	Patientenzahl	Zelltyp	Zellzahl	Zeitpunkt Zellgabe	Follow-Up	Δ EF Placebo	Δ EF Verum	ΔLVEDV(I) Placebo	ΔLVEDV(I) Verum	ΔLVESV(I) Placebo	ΔLVESV(I) Verum	Δ Infarktgröße Placebo	Δ Infarktgröße Verum
						[*10^7]	[Tage]	[Monate]	[%]	[%]	[ml]* [ml/m²]	[ml]* [ml/m²]	[ml]* [ml/m²]	[ml]* [ml/m²]	[ml]* [g]** [%]	[ml]* [g]** [%]
SCAMI	**Wöhrle**	**MRT**	**Ficoll**	**42**	**mBMC**	**38,1**	**6,2 ± 1,5**	**6**	**+5,7**	**+1,8**	**+10,6**	**+9,6**	**+1,0**	**+3,0**	**-7,8**	**-8,3**
ASTAMI	Lunde	Längsachsen-MRT	Isopaque-Ficoll	100	mBMC	6,8	4-8	6	+4,3	+1,2	-2,8	-6,9	n.v.	n.v.	-2,6	-0,7
REPAIR-AMI	Schächinger	Lävokardiographie	Ficoll-Hypaque	204	mBMC	23,6	4,3 ± 1,3	4	+3,0	+5,5	+14*	+12*	+5,6*	-0,6*	n.v.	n.v.
	Dill	MRT Substudie		54					+0,8	+3,2	+13,9*	+8,5*	+9,1*	+0,4*	n.v.	n.v.
TCT	Ge	Echo	Ficoll-Hypaque	20	mBMC	3,9	<1	6	-1,9	+4,8	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
Janssens et al.		MRT	Ficoll	67	mBMC	17	~1	4	+2,2	+3,4	+2,8	+2,8	+0,6	-1,1	-7,9**	-10,2**
HEBE	v. d. Laan	MRT	Lymphoprep, KM Zellen	200	mBMC	29,6	3-8	4	+4,0	+3,8	+8,2	+5,4	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
			Lymphoprep, Blut peripher			28,7			+4,0	+4,2	+8,2	+5,3	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
BOOST	Wollert	MRT	4% Gelatine-Polysuccinat Dichtegradientzentrifugation	60	mBMC	246	4,8 ± 1,3	6	+0,7	+6,7	+3,4	+7,6	+2,0	-0,6	-10,5*	-14,1*
Meluzin et al. (low dose)		SPECT	Histopaque	60	mBMC	1	6,9 ± 0,3	6	±0	+3	+13*	+8*	+9*	-5*	n.v.	n.v.
	(high dose)					10	6,8 ± 0,3		±0	+7	+13*	+8*	+9*	+1*	n.v.	n.v.
REGENT	Tendera	MRT	Ficoll	200	mBMC	17,8	~7	6	±0	+3	-3*	+10*	+9*	-1*	n.v.	n.v.
			Ficoll + immuno-magnetische Selektion		CD34+, CXCR4+	0,19	~7		±0	+3	-3*	+13*	+9*	+11*	n.v.	n.v.

4.2 Diskussion der Methodik

Betrachtet man die diversen Studien zum Thema Stammzelltherapie nach akutem Myokardinfarkt, so erscheinen mehrere Einflussgrößen erwähnenswert, welche die Studienqualität entscheidend prägen.

4.2.1 Blindungsverfahren

Ein besonderes Qualitätsmerkmal unserer Studie im Gegensatz zu bisher durchgeführten Studien war die konsequente doppelseitige Blindung. Sowohl bei der Verum als auch bei der Placebo Gruppe wurde eine Knochenmarkpunktion veranlasst und optisch nicht unterscheidbare Placebo-/Stammzell- Zellpräparate angefertigt. Anschließend wurde in beiden Studienarmen mittels Koronarintervention das Studienpräparat appliziert. Die Mehrzahl vergleichbarer Studien wurde offen durchgeführt, die Patienten der Kontrollgruppe erhielten keine Knochenmarkpunktion und folglich auch keine Koronarintervention zur Applikation des Studienpräparats. [Beitnes, et al. 2009, Meluzin, et al. 2006, Meyer, et al. 2006, Tendera, et al. 2009, van der Laan, et al. 2008]

In verschiedenen anderen Studien wurden ebenfalls Placebo Präparate eingesetzt, jedoch enthielten diese keinen Zellinhalt, wodurch bei Applikation der Studienmedikation eindeutig zwischen Verum und Placebo unterschieden werden konnte. [Ge, et al. 2006, Janssens, et al. 2006, Schachinger, et al. 2006]

4.2.2 Fallzahl

Die geringe eingeschlossene Patientenzahl ist durch die ethisch-statistisch auferlegte Terminierung der Rekrutierung bei in der Pilotphase fehlendem Anhalt eines Benefits für die Patienten erklärt. Dennoch wurde die Studie höchstqualitativ durchgeführt.

4.2.3 Auswertungsverfahren

Die Bestimmung der enddiastolischen und endsystolischen venktrikulären Volumina, der LVEF, der RVEF und des HZV ist bei einer MRT-Untersuchung durch eine volumetrische Auswertung in Kurzachsenschnittebene mit retrospektiver EKG Triggerung zuverlässig möglich. [Pons-Llado 2005, Sprung 2005] Der primäre Endpunkt unserer Studie, die Änderung der LVEF wurde mit Kurzachsen-MRT untersucht. Dies stellt den Goldstandard

zur Bestimmung der LVEF dar. Zu berücksichtigen ist, dass Messungen der Ejektionsfraktion mit verschiedenen Methoden untereinander signifikant differieren und somit nicht uneingeschränkt vergleichbar sind. [Bellenger, et al. 2000]

In vergleichbaren Studien zur Stammzellapplikation nach AMI wurden diverse Auswertungsverfahren eingesetzt: Laevokardiographie [Schachinger, et al. 2006, Tendera, et al. 2009], Echokardiographie [Ge, et al. 2006, Lunde, et al. 2006], SPECT [Lunde, et al. 2006, Meluzin, et al. 2006], oder biplane Flächen-Längen-Methode im MRT [Lunde, et al. 2006].

Ebenfalls eine Kurzachsenvolumetrie im MRT kam bei einer Subpopulation der REPAIR-AMI Studie [Dill, et al. 2009], bei der HEBE-Studie [van der Laan, et al. 2008], bei der BOOST Studie [Wollert, et al. 2004] und in der Studie von Janssens et al. [Janssens, et al. 2006] zum Einsatz.

4.2.4 Zellzahl, Zeitpunkt und Applikationsverfahren

In einer Metaanalyse [Martin-Rendon, et al. 2008] wird beschrieben, dass besonders die Zahl applizierter Zellen und der Zeitpunkt der Applikation einen möglichen Effekt der Stammzelltransplantation beeinflussen.

Als kritische Grenze ist eine Zahl von 10^8 Knochenmarkstammzellen angeführt. Bei unserer Studie wurden im Mittel $3{,}81*10^8$ Zellen injiziert, was über der in der Literatur erwähnten Grenze liegt.

Die Applikation der Stammzellen mittels Stop-Flow Technik bei Koronarintervention im Median nach 6,1 Tagen in unserer Studie stellt nach aktueller Studienlage einen optimalen Zeitpunkt dar. [Martin-Rendon, et al. 2008, Schachinger, et al. 2006] In der bereits erwähnten Meta-Analyse wird darauf hingewiesen, dass der größte Nutzen der Stammzellapplikation nach ungefähr einer Woche vorliegt. Eine frühere Applikation erbrachte schlechtere Resultate. Allerdings wurde eine sehr frühe Applikation innerhalb von sechs Stunden nach primärer Angioplastie bisher nicht untersucht. [Martin-Rendon, et al. 2008] Insgesamt ist festzustellen, dass bei der Stop-Flow Technik zur Zellapplikation nur eine sehr geringe Anzahl an Zellen organständig bleibt. In einer Studie wurden ca. 60 Minuten nach Applikation nur 1,3% - 2,6% der eingesetzten, markierten, nicht selektierten Knochenmark Vorläuferzellen im infarzierten Myokard aufgefunden. [Hofmann, et al. 2005] Ein effektiveres Applikationsverfahren bleibt daher

erstrebenswert.

Möglicherweise kann der Einsatz von mit Stammzellen besetzten Biomatrices von Vorteil sein, um Stammzellen ortsgenau und mit geringem Zellverlust im Zielgewebe zu implementieren. Die Matrix dient als dreidimensionales Gebilde mit optimalen Voraussetzungen für die Besiedelung, Proliferation sowie Differenzierung der Stammzellen. Das Zellkonstrukt könnte entweder direkt in den Herzmuskel injiziert werden, oder erst in vitro angelegt werden und im Rahmen einer Operation als Patch am Myokard appliziert werden. Die Technik ist zum momentanen Zeitpunkt bei Weitem nicht ausgereift und es bleibt abzuwarten, inwieweit eine solche Methode sinnvoll zu etablieren ist. [Jawad, et al. 2007]

4.2.5 Mikrovaskuläre Obstruktion

Vermutlich spielt bei der Effektivität der Stammzelltherapie neben dem Applikationszeitpunkt der Zellen und der Zellzahl vor allem der Gewebezustand des infarzierten Myokards eine entscheidende Rolle. So ist in unserer Studie bei nahezu zwei Drittel der Patienten im Therapiearm in der initialen MR-Untersuchung das Auftreten einer mikrovaskulären Obstruktion festzustellen. Mikrovaskuläre Obstruktion tritt vermehrt bei großen Infarktereignissen mit stark eingeschränkter LVEF auf. [Nijveldt, et al. 2007] Sie ist charakterisiert durch die Verlegung kleinster Gefäße und wird durch Vasospasmen, das Anschwellen des Endothels und die Kompression von Kapillaren durch Gewebsödembildung im ischämisch geschädigten Myokard aufrecht erhalten. [Jaffe, et al. 2008] Ein effektives Ansiedeln (Homing) der Stammzellen im geschädigten Gewebe mit eingeschränkter Mikrozirkulation erscheint fraglich. Die Beobachtungen in der Studie von Janssens et al deuten darauf hin, dass Patienten mit Vorliegen einer mikrovaskulären Obstruktion von einer Zelltransplantation vergleichsweise weniger profitieren. [Janssens, et al. 2006] Entsprechend dazu wurde in einer MR Substudie bei REPAIR-AMI, in der zwar kein signifikanter Effekt aber eine positive Tendenz zugunsten der Stammzelltherapie festgestellt wurde, nur bei einer geringen Patientenzahl eine mikrovaskuläre Obstruktion vorgefunden. [Dill, et al. 2009]

4.2.6 Infarktgröße

Der Theorie einer verminderten Effizienz der Stammzelltherapie bei Vorliegen ausgeprägter mikrovaskulärer Obstruktion steht die Erkenntnis entgegen, dass positive Ergebnisse eher bei Patienten mit großem Infarktareal und stark eingeschränkter LVEF ausgemacht wurden. [Dill, et al. 2009, Janssens, et al. 2006, Schachinger, et al. 2006] Paradoxerweise findet sich gerade bei Patienten mit großem Infarktareal, welche vermutlich am meisten von einer Stammzelltherapie profitieren müssten, das Auftreten einer mikrovaskulären Obstruktion.

4.2.7 Wirkmechanismus der Knochenmarkstammzellen

Wie bereits erwähnt ist der Wirkmechanismus von BMCs am Myokard bisher nicht hinreichend geklärt. Man geht davon aus, dass drei Hauptmechanismen adulter Stammzellen für beobachtete Effekte am Herzen verantwortlich sein könnten. Die Regeneration von Kardiomyozyten, die Gefäßneubildung und parakrine Effekte durch Ausschüttung löslicher Faktoren. Übersicht in Abbildung 18.

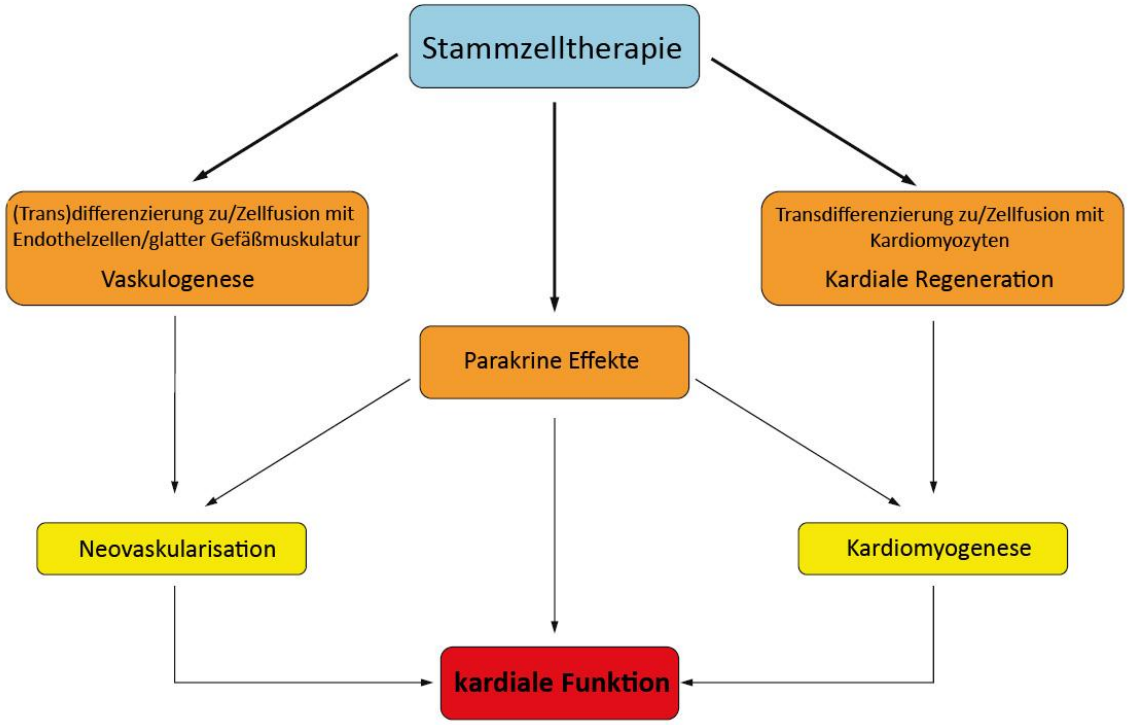

Abbildung 18: Mögliche Wirkmechanismen adulter Stammzellen auf das geschädigte Myokard, modifizierte Abbildung aus dem Englischen [Gnecchi, et al. 2008]

Anfängliche Beschreibungen der Transdifferenzierung von Stammzellen in Kardiomyozyten [Orlic, et al. 2001] werden in der Zwischenzeit kritisch beurteilt, da es in mehreren Untersuchungen nicht gelungen ist, eine Transdifferenzierung und ein dauerhaftes Einwachsen der transplantierten Zellen in einen myokardialen Zellverband nachzuweisen. [Balsam, et al. 2004, Murry, et al. 2004] Wahrscheinlicher scheint, dass größtenteils Zellfusionsereignisse zwischen transplantierten Zellen und dem Empfängermyokard für das Auftreten neu gebildeter Kardiomyozyten verantwortlich sind. [Alvarez-Dolado, et al. 2003, Nygren, et al. 2004] Bei einem Infarktgeschehen gehen häufig mehr als eine Milliarde Herzmuskelzellen unter [Laflamme and Murry 2005]. Unabhängig davon, ob die Neubildung von Kardiomyozyten durch Transdifferenzierung oder durch Zellfusion begründet ist, die Anzahl neu gebildeter Kardiomyozyten scheint bei Weitem nicht ausreichend hoch zu sein, um eine signifikante funktionelle Verbesserung der Herzleistung allein damit erklären zu können. [Gnecchi, et al. 2008]

Eine zweite Hypothese stellt parakrine Effekte der transplantierten Stammzellen in den Vordergrund, um beobachtete Reparationsvorgänge zu erklären. Knochenmarkstammzellen sezernieren eine Vielzahl von Cytokinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren. Einige davon scheinen kardiale Reparatur- und Regenerationsvorgänge positiv zu beeinflussen. [Caplan and Dennis 2006] Vorzugsweise unter hypoxischem Stress steigt die Sekretion mehrerer Faktoren an. [Kinnaird, et al. 2004] In der Literatur sind mehrere Hypothesen über mögliche Wirkmechanismen zu finden. Am besten untersucht sind der Schutz von Kardiomyozyten in hypoxischem Gewebe und die Stimulation der Gefäßneubildung. Weiterhin finden die Einflussnahme auf postinfarzielle Entzündung, Gewebsumbau, Zellmetabolismus und Zellkontraktilität Erwähnung. [Gnecchi, et al. 2008]

Ein kardioprotektiver Effekt wurde an entnommenen kardialen Zellen bei Patienten, die sich einem kardiochirurgischen Eingriff unterzogen hatten, nachgewiesen. Die Zellen wurden mit autologen mononuklearen Vorläuferzellen des Knochenmarks koinkubiert. Dabei fand sich bei den kardialen Zellen eine Reduktion des CK-Anstiegs, von Zellnekrosen und Apoptose unter Hypoxie-/Reperfusions- Stress, die in Kontrollreihen ohne Knochenmarkvorläuferzellen nicht beobachtbar waren. [Kubal, et al. 2006]

Eine verstärkte Neovaskularisation basiert vermutlich weniger auf der direkten Zelldifferenzierung der Stammzellen zu vaskulären Strukturen als vielmehr auf der Beeinflussung molekularer Mechanismen, die zur Gefäßneubildung führen. Für Knochenmarkstammzellen wurde die Expression proangiogener Moleküle beschrieben. [Kinnaird, et al. 2004] Unterstützt wird die Theorie durch ein Experiment mit mononuklearen Vorläuferzellen des Knochenmarks, bei dem lediglich das Zellmedium mononuklearer Zellen ins Myokard injiziert wurde. Hierbei fand sich ebenfalls eine gesteigerte Dichte mikrovaskulärer Strukturen in ischämischem Herzgewebe. [Takahashi, et al. 2006]

Neben der Zellprotektion beeinflussen transplantierte Stammzellen auch die extrazelluläre Matrix. Dadurch kommt es zu einem günstigeren Verlauf des Remodelings und einer Stabilisierung der Infarktnarbe. Vielversprechende Daten dazu lieferte ein Tiermodell, in welchem Knochenmarkstammzellen zur Therapie bei nicht ischämischer Kardiomyopathie eingesetzt wurden. Es fand sich neben einer verstärkten Vaskularisierung auch eine verminderte Kollagenablagerung im Myokard, was sich letztlich in einem geminderten enddiastolischen linksventrikulären Druck widerspiegelt. [Nagaya, et al. 2005] Möglicherweise reduziert eine Stammzellapplikation zusätzlich die inflammatorische Komponente. Adulte Vorläuferzellen exprimieren verstärkt Gene, die typischerweise mit DNA Reparatur, mit Enzymen zur Antioxidation und zur Reaktion bei toxischen Stress, in Verbindung gebracht werden. [Ramalho-Santos, et al. 2002]

Als weiterer Ansatzpunkt parakriner Mechanismen wurde die Zellkontraktilität untersucht. Hierbei deuten erste Untersuchungen darauf hin, dass Stammzellen inotrope Faktoren sezernieren, welche die Zellkontraktilität positiv beeinflussen und somit für eine verbesserte Pumpleistung sorgen. Die Ausschüttung inotroper Faktoren scheint unter hypoxischem Stress gesteigert zu sein. [Gnecchi, et al. 2008]

Neben direkter Transdifferenzierung oder Zellfusion mit Herzmuskelzellen besitzen adulte Stammzellen möglicherweise einen parakrinen Mechanismus, welcher zur Bildung von Kardiomyozyten führen könnte. Dabei stehen organständige Vorläuferzellen des Herzmuskels im Zentrum der Überlegungen. Es scheint vorstellbar, dass die Transplantation adulter Stammzellen die Proliferation, Mobilisation, Differenzierung, das Überleben und die Funktion kardialer Vorläuferzellen anregt. Vielversprechende Hinweise

für diese Theorie wurden bereits beschrieben, detaillierte Untersuchungen stehen allerdings noch aus. [Gnecchi, et al. 2008]

5. Zusammenfassung

Es existieren widersprüchliche Ergebnisse zur Verbesserung der Myokardfunktion, gemessen als linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF), durch Applikation autologer Knochenmarkstammzellen (BMC) nach akutem Myokardinfarkt (AMI).

Diese Studie wurde randomisiert, doppelblind und Placebo kontrolliert durchgeführt. Die Studienpopulation umfasste Patienten mit großem AMI, bei welchen eine erfolgreiche Reperfusion mittels perkutaner Koronarintervention (PCI) später als 6 Stunden nach Symptombeginn erfolgte. Eine Stratifizierung wurde nach Alter (≥60/<60 Jahre), Infarktlokalisation (Vorderwand/Nicht-Vorderwand) und Einschränkung der linksventrikulären Funktion (stark/nicht stark) vorgenommen. Die Randomisation erfolgte im Verhältnis 2:1 zu Gunsten der BMC Therapie. Die Studientherapie wurde median 6,1 Tage nach Symptombeginn appliziert. Im Schnitt wurden im Therapiearm $3{,}81*10^8$ BMCs mit Stop-Flow Technik intrakoronar injiziert. Die doppelte Blindung war durch nicht vom Verum unterscheidbare erythrozytenhaltige Placebopräparate gewährleistet.
Die linksventrikulären Parameter wurden mittels kardialer Magnetresonanztomographie (MRT) untersucht. MRT Untersuchungen der Patienten fanden zu den Zeitpunkten initial vor Applikation der Studientherapie, sowie nach 1, 3 und 6 Monaten statt.

Primärer Endpunkt war die Differenz der LVEF zwischen den Zeitpunkten initial und 6 Monaten gemessen mittels Kardio-MRT. Sekundäre Endpunkte waren die Infarktgröße im Verlauf, sowie die Veränderung der linksventrikulären enddiastolischen und endsystolischen Volumenindices (LVEDVI, LVESVI).
Bezogen auf den Startzeitpunkt lag die Veränderung der LVEF nach sechs Monaten in der Therapiegruppe bei 1,8±5,3% und in der Placebogruppe bei 5,7±8,4% (p=0,88). Auch zu keinem früheren Zeitpunkt war eine Überlegenheit der BMC-Gruppe zu finden. Nach einem Monat lag die LVEF-Differenz bezogen auf den Startzeitpunkt in der Therapiegruppe bei -0,9±5,5% und in der Placebogruppe bei 1,7±6,4%, nach drei Monaten in der Therapiegruppe bei 1,9±4,3% und in der Placebogruppe bei 3,1±6,0%.
Die Auswertung der sekundären Endpunkte Infarktgröße, LVEDVI und LVESVI zeigte keinen relevanten Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen. Der LVEDVI stieg nach 6 Monaten in der Verumgruppe um 9,6±15,3ml/m² und in der Placebogruppe um 10,6±14,3ml/m². Der LVESVI verblieb im genannten Untersuchungszeitraum in beiden Gruppen nahezu konstant. Die im MRT gemessene Infarktgröße nahm um 8,2±5,5% in der

Stammzellpopulation bzw. um 7,8±4,4% im Placeboarm ab und unterschied sich statistisch zu keinem Messzeitpunkt zwischen den beiden Populationen.

In dieser randomisierten, Placebo kontrollierten Doppelblindstudie konnte kein Hinweis für einen positiven Effekt einer autologen BMC-Transplantation im Vergleich zu einer Placebobehandlung bei AMI mit erfolgreicher PCI später als 6 Stunden nach Symptombeginn nachgewiesen werden.

Die Studie wurde auf dem Euro PCR 2009, der 76./78. Jahrestagung der DGK (2010/2012), sowie dem ACC 2012 präsentiert, außerdem im American Journal of Cardiology veröffentlicht:

Wöhrle J, Merkle N, Mailänder V, Nusser T, Schauwecker P, von Scheidt F, Schwarz K, Bommer M, Wiesneth M, Schrezenmeier H, Hombach V.: **Results of intracoronary stem cell therapy after acute myocardial infarction**. *Am J Cardiol*. 105(6):804-12 (2010)

6. Literaturverzeichnis

1. Alvarez-Dolado M, Pardal R, Garcia-Verdugo JM, Fike JR, Lee HO, Pfeffer K, Lois C, Morrison SJ, Alvarez-Buylla A: Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 425: 968-973, (2003).
2. Antman EM, Hand M, Armstrong PW, Bates ER, Green LA, Halasyamani LK, Hochman JS, Krumholz HM, Lamas GA, Mullany CJ, Pearle DL, Sloan MA, Smith SC, Jr., Anbe DT, Kushner FG, Ornato JP, Jacobs AK, Adams CD, Anderson JL, Buller CE, Creager MA, Ettinger SM, Halperin JL, Hunt SA, Lytle BW, Nishimura R, Page RL, Riegel B, Tarkington LG, Yancy CW: 2007 focused update of the ACC/AHA 2004 guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 51: 210-247, (2008).
3. Atala A: Engineering organs. *Curr Opin Biotechnol* 20(5): 572-592, (2009).
4. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC: Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 428: 668-673, (2004).
5. Bassand JP, Hamm CW, Ardissino D, Boersma E, Budaj A, Fernandez-Aviles F, Fox KA, Hasdai D, Ohman EM, Wallentin L, Wijns W: Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 28: 1598-1660, (2007).
6. Beitnes JO, Hopp E, Lunde K, Solheim S, Arnesen H, Brinchmann JE, Forfang K, Aakhus S: Long-term results after intracoronary injection of autologous mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction: the ASTAMI randomised, controlled study. *Heart* 95: 1983-1989, (2009).
7. Bellenger NG, Burgess MI, Ray SG, Lahiri A, Coats AJ, Cleland JG, Pennell DJ: Comparison of left ventricular ejection fraction and volumes in heart failure by echocardiography, radionuclide ventriculography and cardiovascular magnetic resonance; are they interchangeable? *Eur Heart J* 21: 1387-1396, (2000).
8. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabe-Heider F, Walsh S, Zupicich J, Alkass K, Buchholz BA, Druid H, Jovinge S, Frisen J: Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 324: 98-102, (2009).

9. Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, Lehmann R, Honold J, Schmitt J, Vogl TJ, Martin H, Schachinger V, Dimmeler S, Zeiher AM: Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation* 108: 2212-2218, (2003).
10. Brivanlou AH, Gage FH, Jaenisch R, Jessell T, Melton D, Rossant J: Stem cells. Setting standards for human embryonic stem cells. *Science* 300: 913-916, (2003).
11. Caplan AI, Dennis JE: Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem* 98: 1076-1084, (2006).
12. CDC CfDCaP: Nephrogenic fibrosing dermopathy associated with exposure to gadolinium-containing contrast agents--St. Louis, Missouri, 2002-2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 56: 137-141, (2007).
13. Choi CJ, Haji-Momenian S, Dimaria JM, Epstein FH, Bove CM, Rogers WJ, Kramer CM: Infarct involution and improved function during healing of acute myocardial infarction: the role of microvascular obstruction. *J Cardiovasc Magn Reson* 6: 917-925, (2004).
14. Cutlip DE, Windecker S, Mehran R, Boam A, Cohen DJ, van Es GA, Steg PG, Morel MA, Mauri L, Vranckx P, McFadden E, Lansky A, Hamon M, Krucoff MW, Serruys PW: Clinical end points in coronary stent trials: a case for standardized definitions. *Circulation* 115: 2344-2351, (2007).
15. 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* 107: 1247-1249, (2003).
16. Dill T, Schachinger V, Rolf A, Mollmann S, Thiele H, Tillmanns H, Assmus B, Dimmeler S, Zeiher AM, Hamm C: Intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells improves left ventricular function in patients at risk for adverse remodeling after acute ST-segment elevation myocardial infarction: results of the Reinfusion of Enriched Progenitor cells And Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction study (REPAIR-AMI) cardiac magnetic resonance imaging substudy. *Am Heart J* 157: 541-547, (2009).
17. Dubois D DE: A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med* 17: 863 - 871, (1916).

18. Eurotransplant: Annual Report 2009. (2010).
Link: http://www.eurotransplant.org/files/annual_report/ar_2009.pdf
aufgerufen am 19.04.2011
19. Gage FH: Mammalian neural stem cells. *Science* 287: 1433-1438, (2000).
20. Gaudron P, Eilles C, Kugler I, Ertl G: Progressive left ventricular dysfunction and remodeling after myocardial infarction. Potential mechanisms and early predictors. *Circulation* 87: 755-763, (1993).
21. Ge J, Li Y, Qian J, Shi J, Wang Q, Niu Y, Fan B, Liu X, Zhang S, Sun A, Zou Y: Efficacy of emergent transcatheter transplantation of stem cells for treatment of acute myocardial infarction (TCT-STAMI). *Heart* 92: 1764-1767, (2006).
22. Ghostine S, Carrion C, Souza LC, Richard P, Bruneval P, Vilquin JT, Pouzet B, Schwartz K, Menasche P, Hagege AA: Long-term efficacy of myoblast transplantation on regional structure and function after myocardial infarction. *Circulation* 106: I131-136, (2002).
23. Gnecchi M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ: Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res* 103: 1204-1219, (2008).
24. Hansson EM, Lindsay ME, Chien KR: Regeneration next: toward heart stem cell therapeutics. *Cell Stem Cell* 5: 364-377, (2009).
25. Hansson GK: Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 352: 1685-1695, (2005).
26. 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* 111: 2198-2202, (2005).
27. Hombach V, Grebe O, Merkle N, Waldenmaier S, Hoher M, Kochs M, Wohrle J, Kestler HA: Sequelae of acute myocardial infarction regarding cardiac structure and function and their prognostic significance as assessed by magnetic resonance imaging. *Eur Heart J* 26: 549-557, (2005).
28. Hsieh PC, Segers VF, Davis ME, MacGillivray C, Gannon J, Molkentin JD, Robbins J, Lee RT: Evidence from a genetic fate-mapping study that stem cells refresh adult mammalian cardiomyocytes after injury. *Nat Med* 13: 970-974, (2007).

29. 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* 107: 1395-1402, (2001).
30. Jaffe AS, Babuin L, Apple FS: Biomarkers in acute cardiac disease: the present and the future. *J Am Coll Cardiol* 48: 1-11, (2006).
31. Jaffe R, Charron T, Puley G, Dick A, Strauss BH: Microvascular obstruction and the no-reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 117: 3152-3156, (2008).
32. Jain M, DerSimonian H, Brenner DA, Ngoy S, Teller P, Edge AS, Zawadzka A, Wetzel K, Sawyer DB, Colucci WS, Apstein CS, Liao R: Cell therapy attenuates deleterious ventricular remodeling and improves cardiac performance after myocardial infarction. *Circulation* 103: 1920-1927, (2001).
33. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, Kalantzi M, Herbots L, Sinnaeve P, Dens J, Maertens J, Rademakers F, Dymarkowski S, Gheysens O, Van Cleemput J, Bormans G, Nuyts J, Belmans A, Mortelmans L, Boogaerts M, Van de Werf F: Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 367: 113-121, (2006).
34. Jawad H, Ali NN, Lyon AR, Chen QZ, Harding SE, Boccaccini AR: Myocardial tissue engineering: a review. *J Tissue Eng Regen Med* 1: 327-342, (2007).
35. Josan K, Majumdar SR, McAlister FA: The efficacy and safety of intensive statin therapy: a meta-analysis of randomized trials. *CMAJ* 178: 576-584, (2008).
36. Keeley EC, Hillis LD: Primary PCI for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med* 356: 47-54, (2007).
37. Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, Livne E, Binah O, Itskovitz-Eldor J, Gepstein L: Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 108: 407-414, (2001).
38. Kim RJ, Albert TS, Wible JH, Elliott MD, Allen JC, Lee JC, Parker M, Napoli A, Judd RM: Performance of delayed-enhancement magnetic resonance imaging with gadoversetamide contrast for the detection and assessment of myocardial

infarction: an international, multicenter, double-blinded, randomized trial. *Circulation* 117: 629-637, (2008).

39. 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* 94: 678-685, (2004).
40. Korup E, Dalsgaard D, Nyvad O, Jensen TM, Toft E, Berning J: Comparison of degrees of left ventricular dilation within three hours and up to six days after onset of first acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 80: 449-453, (1997).
41. 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* 132: 1112-1118, (2006).
42. Kuch B, von Scheidt W, Ehmann A, Kling B, Greschik C, Hoermann A, Meisinger C: Extent of the decrease of 28-day case fatality of hospitalized patients with acute myocardial infarction over 22 years: epidemiological versus clinical view: the MONICA/KORA Augsburg infarction registry. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2: 313-319, (2009).
43. Laflamme MA, Chen KY, Naumova AV, Muskheli V, Fugate JA, Dupras SK, Reinecke H, Xu C, Hassanipour M, Police S, O'Sullivan C, Collins L, Chen Y, Minami E, Gill EA, Ueno S, Yuan C, Gold J, Murry CE: Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro-survival factors enhance function of infarcted rat hearts. *Nat Biotechnol* 25: 1015-1024, (2007).
44. Laflamme MA, Gold J, Xu C, Hassanipour M, Rosler E, Police S, Muskheli V, Murry CE: Formation of human myocardium in the rat heart from human embryonic stem cells. *Am J Pathol* 167: 663-671, (2005).
45. Laflamme MA, Murry CE: Regenerating the heart. *Nat Biotechnol* 23: 845-856, (2005).
46. Lambert L, Brown K, Segal E, Brophy J, Rodes-Cabau J, Bogaty P: Association between timeliness of reperfusion therapy and clinical outcomes in ST-elevation myocardial infarction. *J Am Med Assoc* 303: 2148-2155, (2010).

47. Leor J, Gerecht S, Cohen S, Miller L, Holbova R, Ziskind A, Shachar M, Feinberg MS, Guetta E, Itskovitz-Eldor J: Human embryonic stem cell transplantation to repair the infarcted myocardium. *Heart* 93: 1278-1284, (2007).

48. Lewis EF, Moye LA, Rouleau JL, Sacks FM, Arnold JM, Warnica JW, Flaker GC, Braunwald E, Pfeffer MA: Predictors of late development of heart failure in stable survivors of myocardial infarction: the CARE study. *J Am Coll Cardiol* 42: 1446-1453, (2003).

49. Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ: Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet* 367: 1747-1757, (2006).

50. Löwel H, Meisinger C, Heier M, Hörmann A, von Scheidt W: Herzinfarkt und koronare Sterblichkeit in Süddeutschland. *Dtsch Arztebl* 103: A616 - A622, (2006).

51. 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, Muller C, Hopp E, Ragnarsson A, Brinchmann JE, Forfang K: Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 355: 1199-1209, (2006).

52. Lusis AJ: Atherosclerosis. *Nature* 407: 233-241, (2000).

53. 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* 29: 1807-1818, (2008).

54. Meluzin J, Janousek S, Mayer J, Groch L, Hornacek I, Hlinomaz O, Kala P, Panovsky R, Prasek J, Kaminek M, Stanicek J, Klabusay M, Koristek Z, Navratil M, Dusek L, Vinklarkova J: Three-, 6-, and 12-month results of autologous transplantation of mononuclear bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 128: 185-192, (2008).

55. Meluzin J, Mayer J, Groch L, Janousek S, Hornacek I, Hlinomaz O, Kala P, Panovsky R, Prasek J, Kaminek M, Stanicek J, Klabusay M, Koristek Z, Navratil M, Dusek L, Vinklarkova J: Autologous transplantation of mononuclear bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction: the effect of the dose of transplanted cells on myocardial function. *Am Heart J* 152: 975 e9-15, (2006).

56. Menasche P: Cell-based therapy for heart disease: a clinically oriented perspective. *Mol Ther* 17: 758-766, (2009).

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

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

59. Muller-Ehmsen J, Peterson KL, Kedes L, Whittaker P, Dow JS, Long TI, Laird PW, Kloner RA: Rebuilding a damaged heart: long-term survival of transplanted neonatal rat cardiomyocytes after myocardial infarction and effect on cardiac function. *Circulation* 105: 1720-1726, (2002).

60. 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 myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 428: 664-668, (2004).

61. 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* 112: 1128-1135, (2005).

62. Ndrepepa G, Mehilli J, Martinoff S, Schwaiger M, Schomig A, Kastrati A: Evolution of left ventricular ejection fraction and its relationship to infarct size after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 50: 149-156, (2007).

63. Nijveldt R, Beek AM, Hofman MB, Umans VA, Algra PR, Spreeuwenberg MD, Visser CA, van Rossum AC: Late gadolinium-enhanced cardiovascular magnetic resonance evaluation of infarct size and microvascular obstruction in optimally treated patients after acute myocardial infarction. *J Cardiovasc Magn Reson* 9: 765-770, (2007).

64. Nijveldt R, Hirsch A, Vleuten PAvd, Laan AMvd, Afsharzada F, Piers LH, Giessen WJvd, Berg JMt, Waltenberg JL, Aengevaeren WR, Doevendans PA, Biemond BJ, Tio RA, Rossum ACv, Tijssen JG, Zijlstra F, Piek JJ: Intracoronary Infusion of Mononuclear Cells After Primary Percutaneous Coronary Intervention: The HEBE Trial. *Circulation (2008 Late-Breaking Clinical Trial Abstracts)* 118: 2309 - 2317, (2008).

65. Nussbaum J, Minami E, Laflamme MA, Virag JA, Ware CB, Masino A, Muskheli V, Pabon L, Reinecke H, Murry CE: Transplantation of undifferentiated murine embryonic stem cells in the heart: teratoma formation and immune response. *FASEB J* 21: 1345-1357, (2007).

66. Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, Sawen P, Roll W, Hescheler J, Taneera J, Fleischmann BK, Jacobsen SE: Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. *Nat Med* 10: 494-501, (2004).

67. O'Brien T, Barry FP: Stem cell therapy and regenerative medicine. *Mayo Clin Proc* 84: 859-861, (2009).

68. 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* 410: 701-705, (2001).

69. Passier R, van Laake LW, Mummery CL: Stem-cell-based therapy and lessons from the heart. *Nature* 453: 322-329, (2008).

70. Pennell DJ, Sechtem UP, Higgins CB, Manning WJ, Pohost GM, Rademakers FE, van Rossum AC, Shaw LJ, Yucel EK: Clinical indications for cardiovascular magnetic resonance (CMR): Consensus Panel report. *Eur Heart J* 25: 1940-1965, (2004).

71. Pfeffer MA, Hennekens CH: When a question has an answer: rationale for our early termination of the HEART Trial. *Am J Cardiol* 75: 1173-1175, (1995).

72. Polak JM, Bishop AE: Stem cells and tissue engineering: past, present, and future. *Ann N Y Acad Sci* 1068: 352-366, (2006).

73. Pons-Llado G: Assessment of cardiac function by CMR. *Eur Radiol* 15 Suppl 2: B23-32, (2005).

74. 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* 346: 5-15, (2002).

75. Ramalho-Santos M, Yoon S, Matsuzaki Y, Mulligan RC, Melton DA: "Stemness": transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells. *Science* 298: 597-600, (2002).

76. Reinecke H, Poppa V, Murry CE: Skeletal muscle stem cells do not transdifferentiate into cardiomyocytes after cardiac grafting. *J Mol Cell Cardiol* 34: 241-249, (2002).

77. Rubart M, Soonpaa MH, Nakajima H, Field LJ: Spontaneous and evoked intracellular calcium transients in donor-derived myocytes following intracardiac myoblast transplantation. *J Clin Invest* 114: 775-783, (2004).

78. Sandstede JJ: Assessment of myocardial viability by MR imaging. *Eur Radiol* 13: 52-61, (2003).

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

80. Scorsin M, Hagege A, Vilquin JT, Fiszman M, Marotte F, Samuel JL, Rappaport L, Schwartz K, Menasche P: Comparison of the effects of fetal cardiomyocyte and skeletal myoblast transplantation on postinfarction left ventricular function. *J Thorac Cardiovasc Surg* 119: 1169-1175, (2000).

81. Seeger FH, Tonn T, Krzossok N, Zeiher AM, Dimmeler S: Cell isolation procedures matter: a comparison of different isolation protocols of bone marrow mononuclear cells used for cell therapy in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 28: 766-772, (2007).

82. Silber S, Albertsson P, Aviles FF, Camici PG, Colombo A, Hamm C, Jorgensen E, Marco J, Nordrehaug JE, Ruzyllo W, Urban P, Stone GW, Wijns W: Guidelines for percutaneous coronary interventions. The Task Force for Percutaneous Coronary Interventions of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 26: 804-847, (2005).

83. Sprung K: Basic techniques of cardiac MR. *Eur Radiol* 15 Suppl 2: B10-6, (2005).

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

85. Task Force of the European Society of Cardiology icwtAoEPC: The clinical role of magnetic resonance in cardiovascular disease. *Eur Heart J* 19: 19-39, (1998).

86. Tendera M, Wojakowski W, Ruzyllo W, Chojnowska L, Kepka C, Tracz W, Musialek P, Piwowarska W, Nessler J, Buszman P, Grajek S, Breborowicz P, Majka M, Ratajczak MZ: Intracoronary infusion of bone marrow-derived selected CD34+CXCR4+ cells and non-selected mononuclear cells in patients with acute STEMI and reduced left ventricular ejection fraction: results of randomized, multicentre Myocardial Regeneration by Intracoronary Infusion of Selected Population of Stem Cells in Acute Myocardial Infarction (REGENT) Trial. *Eur Heart J* 30: 1313-1321, (2009).

87. Thiele H, Kappl MJ, Conradi S, Niebauer J, Hambrecht R, Schuler G: Reproducibility of chronic and acute infarct size measurement by delayed enhancement-magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 47: 1641-1645, (2006).

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

89. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD: Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 105: 93-98, (2002).

90. Van de Werf F, Bax J, Betriu A, Blomstrom-Lundqvist C, Crea F, Falk V, Filippatos G, Fox K, Huber K, Kastrati A, Rosengren A, Steg PG, Tubaro M, Verheugt F, Weidinger F, Weis M, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Funck-Brentano C, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Aguirre FV, Al-Attar N, Alegria E, Andreotti F, Benzer W, Breithardt O, Danchin N, Di Mario C, Dudek D, Gulba D, Halvorsen S, Kaufmann P, Kornowski R, Lip GY, Rutten F: Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the Task Force on the Management of ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 29: 2909-2945, (2008).

91. van der Laan A, Hirsch A, Nijveldt R, van der Vleuten PA, van der Giessen WJ, Doevendans PA, Waltenberger J, Ten Berg JM, Aengevaeren WR, Zwaginga JJ, Biemond BJ, van Rossum AC, Tijssen JG, Zijlstra F, Piek JJ: Bone marrow cell therapy after acute myocardial infarction: the HEBE trial in perspective, first results. *Neth Heart J* 16: 436-439, (2008).

92. Velagaleti RS, Pencina MJ, Murabito JM, Wang TJ, Parikh NI, D'Agostino RB, Levy D, Kannel WB, Vasan RS: Long-term trends in the incidence of heart failure after myocardial infarction. *Circulation* 118: 2057-2062, (2008).

93. Wagers AJ, Weissman IL: Plasticity of adult stem cells. *Cell* 116: 639-648, (2004).

94. Wang JS, Shum-Tim D, Galipeau J, Chedrawy E, Eliopoulos N, Chiu RC: Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages. *J Thorac Cardiovasc Surg* 120: 999-1005, (2000).

95. White HD, Norris RM, Brown MA, Brandt PW, Whitlock RM, Wild CJ: Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation* 76: 44-51, (1987).

96. Widmark JM: Imaging-related medications: a class overview. *Proceedings (Baylor University. Medical Center)* 20: 408-417, (2007).

97. 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* 364: 141-148, (2004).

98. Zhu WZ, Hauch KD, Xu C, Laflamme MA: Human embryonic stem cells and cardiac repair. *Transplant Rev (Orlando)* 23: 53-68, (2009).

99. Zimmermann WH: [Heart tissue from embryonic stem cells]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 51: 1021-1025, (2008).

Danksagung

Für die interessante Themenstellung, sowie für die stimulierende und durchgängige Betreuung bedanke ich mich sehr bei Herrn Prof. J. Wöhrle.

Ein großes Dankeschön besonders auch an Nico Merkle für die unmittelbare Unterstützung im MRT, sowie an das Kardio-MRT Team und an die Damen aus der Studienzentrale.

Für die bedingungslose Unterstützung möchte ich mich sehr herzlich bei meiner Familie und meinen Freunden bedanken.

Lebenslauf

Fabian von Scheidt *19.03.1986, Augsburg

Wengengasse 19 | 89073 Ulm

Bildung

Studium der Humanmedizin, Universität Ulm seit 2005
Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung 2007

St. Anna Gymnasium, Augsburg 1996-2005
Hochschulreife 2005

Kinkaid School, High School, Houston (TX), USA 2002

Sprachen: Deutsch (Muttersprache), Englisch (fließend), Französisch (Grundlagen), Latinum

Praktisches Jahr

Kinderonkologie, Universitätsklinikum Ulm 2011
Allgemeinpädiatrie, Universitätsklinikum Ulm 2011
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universität Ulm

Kardiologie, Universitätsklinikum Ulm 2011
Klinik für Innere Medizin II, Universität Ulm

Internistische Intensivmedizin, UPMC Shadyside 2011
University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh (PA), USA

Herz- und Gefäßchirurgie, Texas Heart Institute 2010
Baylor College of Medicine, Houston (TX), USA

Chirurgische Notaufnahme, Universitätsklinikum Ulm 2010
Klinik für Unfall-, Hand-, Plastische- und Wiederherstellungschirurgie, Universität Ulm

Publikationen

Wöhrle J, Merkle N, Mailänder V, Nusser T, Schauwecker P, **von Scheidt F**, Schwarz K, Bommer M, Wiesneth M, Schrezenmeier H, Hombach V.
Results of intracoronary stem cell therapy after acute myocardial infarction; Am J Cardiol. 2010;105(6):804-12.

Die Studie wurde auf dem Euro PCR 2009, der 76./78. Jahrestagung der DGK (2010/2012), sowie dem ACC 2012 präsentiert.

Lehrtätigkeit

Abteilung für Pharmakologie und Toxikologie, Universität Ulm 2008-2012
POL Pharmakologie Tutor, seit 2009 studentische Leitung