

Journal für
Kardiologie

Austrian Journal of Cardiology

Österreichische Zeitschrift für Herz-Kreislaufkrankungen

**Stammzelltherapie bei
Herzerkrankungen - Status quo**

Kocher AA, Bonaros N, Ehrlich M

Schlechta B

Journal für Kardiologie - Austrian

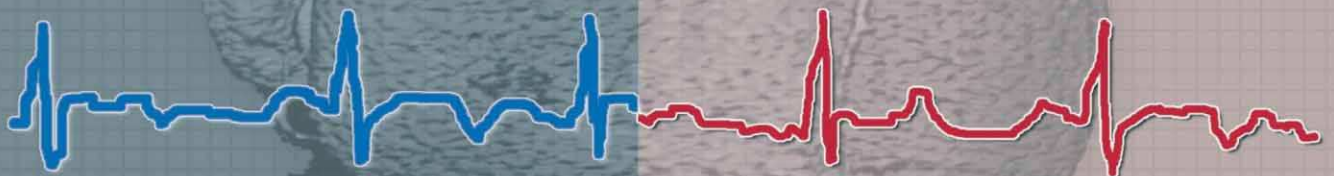
Journal of Cardiology 2004; 11

(6), 259-268

Homepage:

www.kup.at/kardiologie

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**



Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/SCOPUS

www.kup.at/kardiologie

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P.b.b. 02Z031105M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

Stammzelltherapie bei Herzerkrankungen: Status quo

A. A. Kocher¹, B. Schlechta¹, M. Ehrlich¹, N. Bonaros²

Kurzfassung: Trotz enormer Fortschritte im Bereich der pharmakologischen Therapie, der Herzchirurgie, der Verwendung von mechanischen Herzunterstützungssystemen sowie auf dem Gebiet der Herztransplantation, sterben mehr als die Hälfte der Patienten mit Herzversagen innerhalb von fünf Jahren nach Diagnosestellung. Die „zelluläre Kardiomyoplastie“ – die intramyokardiale Transplantation verschiedener Zelltypen zur Verbesserung der Herzfunktion – ist ein vielversprechender Ansatz sowohl zur Vermeidung als auch zur Behandlung von Herzversagen. Der hier vorliegende Übersichtsartikel beschreibt den *Status quo* dieses neuen Konzepts sowie die Aussichten dieser Methode, in die Praxis der klinischen Medizin Einzug zu halten. Da die funktionelle Wiederherstellung von geschädigtem Myokard eine große Herausforderung darstellt, hat die Entwicklung von Strategien zur Verhinderung von kardialem Remodelling und Organversagen nach Herzinfarkt höchste Priorität. Rezente wissenschaftliche Untersuchungen geben Hinweis darauf, daß verschiedene Zelltypen wie adulte und embryonale

Stammzellen, Myoblasten aus der Skelettmuskulatur, fetale Kardiomyozyten sowie Fibroblasten zur Reparatur des Schadens nach Herzinfarkt eingesetzt werden können. Die Mechanismen hierbei umfassen sowohl die Schaffung neuer Blutgefäße zur Versorgung von überlebenden, aber unterversorgten Herzmuskelzellen im Randgebiet des Infarktes, als auch den Ersatz geschädigter Muskelzellen. Autologe Knochenmarkstammzellen sowie Myo-blasten werden im Rahmen klinischer Studien schon jetzt beim Menschen angewandt, und erste Ergebnisse stimmen optimistisch. Es werden weitere Strategien entwickelt, um die Zellapplikation, -migration und das Zellüberleben im geschädigten Herzen zu optimieren. Ausgehend von den vorliegenden Daten ist zu erwarten, daß die Zelltherapie in absehbarer Zeit einen festen Platz in der Behandlung von kardiovaskulären Erkrankungen einnehmen wird.

Abstract: Despite advances in pharmacological therapy, cardiovascular surgery, use of mechanical assist devices, and organ transplantation, more than half

of the patients with clinically evident heart failure die within 5 years of the initial diagnosis. The use of cellular therapy offers a promising approach for both the prevention and treatment of heart failure. This review discusses the current state of this emerging field and the prospects of its introduction into clinical practice. Developing strategies for the prevention of post-infarct heart failure remains of utmost priority, since functional restoration of a chronically damaged heart presents a formidable challenge. Recent research has provided evidence that several cell lines including adult or embryonic stem cells, skeletal myoblasts, fetal cardiomyocytes or fibroblasts may be useful in strategies that aim to both prevent and treat heart failure through establishment of new blood vessels supplying surviving heart muscle cells and replacement of damaged heart muscle cells themselves. It is therefore reasonable to anticipate that new strategies will be developed to optimize cell delivery, homing and survival in the failing myocardium improving myocardial recovery after acute or chronic deterioration. **J Kardiol 2004; 11: 259–68.**

■ Hintergrund

Trotz vieler Errungenschaften auf dem Gebiet der Herzkreislauferkrankungen bleiben die Komplikationen des Herzinfarktes, insbesondere das terminale Herzversagen, eines der bedeutendsten Gesundheitsprobleme weltweit. In den USA alleine leiden 4,8 Millionen Menschen an chronischem Herzversagen, mit 400.000 Neuerkrankungen pro Jahr [1]. In den westlichen Ländern tritt Herzversagen in erster Linie als Folge eines vorangegangenen Infarktes auf. Während es auf der einen Seite durch neue Therapiemöglichkeiten zu einer signifikanten Abnahme der Mortalität unmittelbar nach dem Herzinfarkt kam, ist andererseits die Inzidenz von Herzversagen bei den überlebenden Patienten dramatisch angestiegen. Die konservative Therapie besteht hauptsächlich aus Medikamenten zur Inhibierung der neurohormonalen Achse, welche das Herz durch angiotensin- oder norepinephrinabhängige Wege überaktiviert. Die chirurgischen Optionen bei terminalem Herzversagen sind extrem limitiert, da es aufgrund des geringen Organspenderaufkommens weniger als 3000 Herztransplantationen pro Jahr gibt und implantierbare mechanische Linksherzunterstützungssysteme sehr teuer sind, eine hohe Komplikationsrate haben und für die Langzeittherapie nicht geeignet sind [2–4].

Da die funktionelle Wiederherstellung von geschädigtem Myokard eine große Herausforderung darstellt, hat die Entwicklung von Strategien zur Verhinderung von kardialem

Remodelling und Organversagen nach Herzinfarkt höchste Priorität. Rezente wissenschaftliche Untersuchungen geben Hinweis darauf, daß verschiedene Zelltypen, wie adulte und embryonale Stammzellen, Myoblasten aus der Skelettmuskulatur, fetale Kardiomyozyten und Fibroblasten, zur Reparatur des Schadens nach Herzinfarkt eingesetzt werden können: Die Mechanismen hierbei umfassen sowohl die Schaffung neuer Blutgefäße zur Versorgung von überlebenden, aber unterversorgten Herzmuskelzellen im Randgebiet des Infarktes sowie den Ersatz geschädigter Muskelzellen. Der hier vorliegende Übersichtsartikel beschreibt den *Status quo* der zellulären Kardiomyoplastie sowie die Aussichten dieser Methode, in die Praxis der klinischen Medizin Einzug zu halten.

■ Linksherz-Remodelling nach Herzinfarkt

Nach einem Herzinfarkt kommt es zum Umbau des linken Ventrikels, dem Remodelling, welches durch progressive Expansion des initialen Infarktgebietes und Dilatation der linken Herzkammer mit Ersatz des angrenzenden Myokards durch Bindegewebe gekennzeichnet ist [5, 6]. Eine weitere wichtige Komponente des Remodellings stellt die Neoangiogenese in der Infarkt Narbe dar, wofür latente Kollagenase und andere Proteinase aktiviert werden [7–9]. Unter normalen Umständen ist diese Gefäßneubildung limitiert und reicht nicht zur Versorgung der kompensatorisch hypertrophierenden Myozyten. Der relative Mangel an Sauerstoff und Nährstoffen führt zum Untergang von viablem Myokard im Randgebiet der Schädigung und einer Ausweitung der Narbe. Da die späte Reperfusion des Infarktgefäßbettes sowohl beim Menschen als auch in experimentellen Modellen das Remodelling und Überleben positiv beeinflusst, wurde postuliert, daß eine verstärkte Neugefäß-

Aus der Universitätsklinik für Chirurgie, Abteilung Herz-Thorax-Chirurgie, Universität ¹Wien und ²Innsbruck

Korrespondenzadresse: Univ.-Prof. Dr. med. Alfred A. Kocher, Universitätsklinik für Chirurgie, Abteilung Herz-Thorax-Chirurgie, AKH Wien, Währinger Gürtel 18–20, 1090 Wien; E-Mail: alfred.kocher@meduniwien.ac.at

bildung durch Verhinderung der Apoptose hypertrophierter Myozyten die Herzfunktion verbessert [10–13].

■ Reparaturmechanismen im adulten Myokard

Die DNA-Synthese von Herzmuskelzellen läuft hauptsächlich *in utero* ab, mit einem Rückgang der Proliferationsrate von 33 % in der Mitte der Schwangerschaft auf 2 % zum Zeitpunkt der Geburt [14]. Während in der Fetalperiode Karyokinese und Zytokinese gekoppelt sind, und dies in einer höheren Anzahl von mononukleären Herzmuskelzellen resultiert, kommt es postnatal für eine bestimmte Zeit noch zur Karyokinese ohne gleichzeitige Zytokinese. Dies führt zum Auftreten von binukleären Myozyten ohne Anstieg der Gesamtzellzahl. In Antwort auf eine Ischämie kommt es bei erwachsenen Säugetieren zu einer ähnlichen Dissoziation zwischen Karyokinese und Zytokinese, was zu einer Hypertrophie, und nicht Hyperplasie der Kardiomyozyten führt [15, 16]. Darüber hinaus gibt es im Myokard eine hohe Apoptoserate. Der Herzmuskel besteht während des gesamten Lebens aus einer Mischung aus alten und jungen Zellen, denn obwohl die meisten Myozyten terminal differenziert zu sein scheinen, gibt es eine Fraktion jüngerer Zellen (15–20 %), welche die Fähigkeit zur Replikation behalten [17]. Auch humane Kardiomyozyten haben die Fähigkeit, in Reaktion auf eine Ischämie zu proliferieren [18, 19]. Die Mitose wurde mit Hilfe immunhistochemischer Färbungen von proliferierenden nukleären Strukturen wie Ki67 und der Expression von Oberflächenmarkern (CD117) identifiziert. Ob diese Zellen von einem autochthonen Pool von Herzmuskelstammzellen stammen oder zirkulierende Stammzellen aus dem Knochenmark in das Herz migrieren, konnte bislang noch nicht bestimmt werden. Weiters sind auch die Signale, die für das Homing, die *In-situ*-Expansion und Differenzierung dieser Zellen verantwortlich sind, unbekannt.

■ Herzmuskelerersatztherapie

Ersatz und Regeneration des funktionellen Herzmuskels nach einer ischämischen Schädigung können entweder durch Induktion von Proliferation endogener Kardiomyozyten oder durch Implantation exogener autologer oder allogener Kardiomyozyten erreicht werden. Die neuen Herzmuskelzellen müssen sich in das bereits bestehende Muskelgewebe nahtlos einfügen, um auch tatsächlich die kontraktile Funktion des Herzens zu verbessern und synchron zu schlagen. Veränderungen im Reizleitungssystem und der synzytialen Leitung können zu fatalen Folgen führen und müssen vermieden werden. Unabhängig vom verwendeten Muskelzelltyp ist es notwendig, die Bildung neuer Blutgefäße zu induzieren, um das Überleben der transplantierten Zellen zu gewährleisten und die weitere Narbenbildung zu verhindern.

■ Stammzellen

Im folgenden Abschnitt werden verschiedene Methoden der Zelltherapie zur Reparatur geschädigten Myokards diskutiert.

a) Adulte Stammzellen

Zur Reparatur und Regeneration von ischämisch geschädigtem Myokard bedarf es zweier unabhängiger Prozesse: (a) Entwicklung eines Netzwerkes von Kapillargefäßen sowie größerer Blutgefäße für die Versorgung des ischämischen Gebietes mit Sauerstoff und Nährstoffen und (b) eine erneuerbare Quelle von proliferierenden, funktionellen Herzmuskelzellen. Dazu sind sowohl endotheliale als auch mesenchymale Stammzellen erforderlich.

Endotheliale Progenitoren

Seit der ersten Publikation im Wissenschaftsjournal „Science“ im Jahr 1933 wurde wiederholt gezeigt, daß peripheres Blut eine kleine Population von endothelialen Progenitorzellen (Angioblasten) enthält, welche sowohl *in vitro* als auch *in vivo* in reife Endothelzellen differenzieren. Asahara et al. zeigten dies zuletzt 1997 in einer aufsehenerregenden Publikation, abermals in „Science“, und konnten überdies nachweisen, daß Zellen aus dem Knochenmark therapeutische Angiogenese in ischämischen Geweben induzieren [20–22]. Auch menschliches Nabelschnurblut enthält Vorläuferzellen, welche in der Lage sind, den Blutfluß in ischämischen Arealen zu erhöhen [23]. Eine zunehmende Anzahl von Berichten zeigt, daß sowohl die Nabelschnur als auch das Knochenmark wichtige Quellen für bis dahin nicht näher identifizierte Endothelvorläuferzellen sind, welche für die Bildung von Kollateralfgefäßen in ischämischen Geweben verwendet werden können [24].

In unserem Labor gelang die genauere Identifizierung der Endothelvorläuferzellen aus dem humanen adulten Knochenmark [25]. Der Phänotyp und die funktionellen Eigenschaften sind ähnlich wie beim fetalen Hämangioblasten. Diese Zellen in den Blutinseln im Bereich der ventralen Aorta des Embryos bilden sowohl Blut- als auch Endothelzellen [22, 26]. Wir haben G-CSF-mobilisierte Angioblasten nach Apherese isoliert und athymischen Ratten 48 Stunden nach Induktion eines großen Infarktes intravenös injiziert. Innerhalb von 2 Wochen kam es zu einer ausgeprägten Bildung neuer Blutgefäße im Infarktareal. Diese Neoangiogenese verhinderte die Apoptose hypertrophierter Myozyten im Periinfarktareal und führte zu einer signifikanten Reduktion von Kollagenablagerungen sowie einer anhaltenden Verbesserung der Herzfunktion. Diese Forschungsergebnisse wurden durch Berichte anderer Labors, welche entweder hochaufgereinigte hämatopoietische Zellen oder eine Mischung aus mononukleären Knochenmarkstammzellen in verschiedenen Tiermodellen verwendeten, bestätigt [27, 28]. Jackson et al. zeigten, daß Zellen aus dem Knochenmark an der Reparatur des Herzens nach einem Infarkt beteiligt sind. Subletal bestrahlte Mäuse wurden mit GFP-markierten Zellen knochenmarktransplantiert. Nach stabilem Engraftment mit vollkommener Restitution des peripheren Blutbildes, wurde ein Herzinfarkt induziert. Zwei Wochen nach dieser Operation wurden die Herzen entnommen und analysiert: Genetisch markierte Knochenmarkszellen des Spenders fanden sich im Randbereich der Narbe. Doppelfärbungen zeigten eine Differenzierung in Endothelzellen und, in deutlich geringerem Ausmaß, in Herzmuskelzellen.

Mesenchymale Stammzellen

Im Jahr 2001 wurde erstmals berichtet, daß Stammzellen in der Lage sind, in Kardiomyozyten zu differenzieren. Sowohl

aus dem murinen wie auch dem humanen Knochenmark konnten multipotente Stammzellen identifiziert werden, welche sich von den Endothelprogenitoren durch das Fehlen der Oberflächenantigene CD34 und CD45 und dem Potential, sich in verschiedene Gewebe, wie Knochen, Knorpel, Fett, quergestreifte Skelettmuskulatur sowie Herzmuskel, zu differenzieren, unterscheiden [13, 29–31]. Kehat et al. gelang die Kultivierung von Herzmuskelzellen aus menschlichen embryonalen Zellen [32]. Unabhängig von ihrer Quelle zeigen diese neugeformten Kardiomyozyten den gleichen Phänotyp, die gleiche Funktion sowie die gleiche Produktion vasoaktiver Substanzen wie normale Kardiomyozyten. Es gibt noch keine wissenschaftlich einwandfreien Beweise für eine funktionelle Verbesserung des Herzens durch mesenchymale Stammzellen [29, 31]. Im April 2001 publizierten Orlic und Kollegen, daß die Regeneration von ischämisch geschädigtem Myokard in großem Stil möglich ist. Sie isolierten autologe Knochenmarkstammzellen über CD117 (Stammzellfaktor-Rezeptor) und injizierten diese 3–5 Stunden nach Okklusion der LAD in das Perinfarktareal. Bereits neun Tage nach dem Infarkt kam es dadurch zu einer deutlichen Verbesserung der Herzfunktion. Dabei kam es neben einer Differenzierung dieser Stammzellen in Endothelzellen, glatte Muskelzellen und Fibroblasten auch zur Ausbildung von Herzmuskelzellen, welche sich in der Narbe ansiedelten [33]. In der Diskussion wird die Verbesserung auf die myokardiale Regeneration zurückgeführt.

Die Tatsache, daß das Knochenmarkinokulum eine Zellmischung inklusive Endothelvorläuferzellen enthielt und das neue Myokard auch durch neugeformte Blutgefäße versorgt wurde, läßt darauf schließen, daß die Verbesserung zumindest zum Teil auch auf die verbesserte Durchblutung des Herzens zurückzuführen ist. Diese Arbeit wurde in der Fachwelt seit ihrem Erscheinen immer wieder heftigst diskutiert. Am 22. März 2004 haben Murray et al. sowie eine Gruppe aus Stanford um Balsam schließlich in zwei Publikationen in der britischen Fachzeitschrift „Nature“ berichtet, daß im gleichen experimentellen Setup hämatopoietische Zellen in ihren Händen keineswegs Muskelzellen bildeten. Sie widerlegten also die Ergebnisse von Orlic, welche daher bis dato nicht reproduzierbar waren [34, 35].

b) Embryonale Stammzellen

Die Kultivierung humaner embryonaler Stammzellen wurde mit Enthusiasmus aufgenommen, war allerdings auch von einer großen öffentlichen und politischen Diskussion begleitet [36–38]. Obwohl die Erforschung dieser Zellen noch in den Kinderschuhen steckt, gibt es auf diesem Gebiet bereits beachtliche Erfolge. Es konnten Stammzelllinien etabliert werden, außerdem gelang *in vitro* die Differenzierung von Zelltypen verschiedenster Gewebe inklusive Herzmuskelzellen [32, 39, 40]. Multipotente adulte Progenitoren (MAPs) verhalten sich in ihrer Expansionsfähigkeit und dem hohen Differenzierungspotential ähnlich wie embryonale Stammzellen, können allerdings vom autologen Knochenmark gewonnen werden, wodurch eine Abstoßungsreaktion vermieden wird. Immunologische Unterschiede embryonaler Stammzellen könnten allerdings durch Kerntransfer von somatischen Zellen, einer Technik, welche erst unlängst beschrieben wurde, aufgehoben werden [41, 42]. Ein weiteres Problem bei der

eventuellen Anwendung embryonaler Stammzellen ist deren potentielle Karzinogenität [43].

c) Gewebestammzellen

Kardiomyozyten

Adulte Kardiomyozyten fügen sich nach Transplantation in das geschädigte Myokard nicht in die Struktur des Herzens ein und bilden auch keine voll kompatiblen Gap-Junctions, wie dies bei fetalen Zellen der Fall ist [44]. Allerdings stehen auch fetale Kardiomyozyten für den Gebrauch am Menschen aufgrund von ethischen Fragen einerseits und immunologischen Problemen bei allogenen Zellimplantaten andererseits zur Diskussion.

Fibroblasten

Mittels Transfektion mit MyoD ist es gelungen, aus humanen fetalen Fibroblasten Zellen mit immunochemischen und morphologischen Merkmalen von Muskelzellen zu entwickeln [45]. Die Applikation dieser Zellen in immunsupprimierten Mäusen führte zur Formation von Myotubes mit kontraktile Eigenschaften. Präklinische Studien zeigen, daß Fibroblasten auch ohne genetische Modifikation bei Transplantation in das geschädigte Myokard zu einer Verstärkung der Narbe führen und damit das kardiale Remodelling verhindern können [46].

Myoblasten

Myoblasten (Satellitenzellen) finden sich in der Basalmembran adulter Skelettmuskulatur. Die Verwendung dieser Zellen ist weder ein ethisches noch ein immunologisches Problem. Nach Einbringung in das Narbengewebe überleben diese Zellen, formen myozytenähnliche Strukturen und verbessern so die Kontraktilität des chronisch ischämisch geschädigten Herzens [47, 48]. Obwohl Myoblasten von der Skelettmuskulatur abstammen, bilden sie doch Glanzstreifen (intercalated discs) im Herzen, mit einer losen Assoziation mit den angrenzenden Herzmuskelzellen [49, 50]. Versuche, die synchrone Kontraktion von Myoblasten und Kardiomyozyten auf elektrophysiologische Stimuli zu verbessern, laufen.

Der wahrscheinlich wichtigste Aspekt all dieser experimentellen Untersuchungen in den unterschiedlichsten Tiermodellen, ist das Aufzeigen des Potentials der zellulären Kardiomyoplastie. Das Verständnis der Wirkmechanismen der verschiedenen Zelltypen erlaubt einen gezielten Einsatz und eine bessere Planung von klinischen Studien.

■ Injektion, Mobilisation, Homing von Stammzellen

Intramyokardiale Stammzellinjektion

Stammzellen können bis zu einem gewissen Volumen direkt in den Herzmuskel eingebracht werden, wobei die Applikation von endo- wie auch von epikardial erfolgen kann. Um die Stammzellen vor Ort zu halten, ist allerdings ein ischämischer Reiz notwendig. Dies gilt insbesondere für Knochenmarkstammzellen, welche sonst durch die konstitutive Expression von SDF-1 ins Knochenmark zurückmigrieren. Obwohl es einige Berichte darüber gibt, daß sich Stammzellen aus dem Knochenmark nach intramyokardialer Injektion in Myozyten differenzieren, wird dieses Thema weiterhin kontrovers diskutiert [51–53].

Homing

In der Knochenmarktransplantation bezieht sich der Begriff „Homing“ auf das Phänomen, daß sich Stammzellen nach intravenöser Gabe selektiv im Knochenmark ansiedeln. Rezente Untersuchungen zeigen allerdings, daß Knochenmarkstammzellen auch in geschädigtes Gewebe migrieren [54]. Der erste Schritt ist die Stammzellmobilisation, wobei als Stimulus Stammzellfaktor (SCF), Granulocyte Colony-Stimulation Factor (G-CSF) sowie andere Zytokine fungieren [55]. Nach Eintritt der Zellen in die Zirkulation, kommt es über Adhäsionsmoleküle zum Anhaften im geschädigten Areal und über Chemokine zur transendothelialen Migration. Die Differenzierung im Gewebe wird von lokalen Wachstumsfaktoren und Zell-Zell-Kontakten beeinflusst. Das Homing von Stammzellen in ischämische Areale erlaubt die systemische Gabe dieser Zellen [25]. Um die Adhäsion und Proliferation zu verstärken, können die Zellen vor der Applikation genetisch modifiziert werden. Iwaguro et al. transferierten heterologe endotheliale Vorläuferzellen vor der Injektion in athymische Mäuse mit ischämischen hinteren Extremitäten mit VEGF [56]. Die so behandelten Tiere zeigten eine verstärkte Neovaskularisation, einen erhöhten Blutfluß sowie eine um 64 % reduzierte Nekrose, verglichen mit der Kontrollgruppe. Vor der klinischen Anwendung von genetisch veränderten Vorläuferzellen bedarf es noch weiterer *In-vitro*- und *In-vivo*-Untersuchungen des möglichen Malignitätspotentials dieser Zellen.

Mobilisation

In Antwort auf eine Ischämie, kommt es zur Mobilisation von Zellen aus dem Knochenmark und Migration in das geschädigte Gewebe. Eine zusätzliche Verabreichung von Zytokinen könnte diesen Effekt verstärken. Orlic et al. haben Mäusen über 5 Tage vor Induktion eines Herzinfarktes sowie für 3 Tage danach humanes G-CSF und Rattenstammzellfaktor subkutan injiziert [57]. Zytokinbehandelte Tiere hatten nach 27 Tagen eine um 68 % geringere Mortalität, um 40 % verkleinerte Infarkte und ein um 26 % reduziertes enddiastolisches Volumen. Darüber hinaus verbesserte sich die Auswurfraction signifikant. Die Autoren haben dabei die Neubildung der Myozyten mit 15×10^6 kalkuliert, wobei diese neuen Zellen über Arteriolen und Kapillargefäße an die Zirkulation des ungeschädigten Herzmuskels angeschlossen sind. Die Limitation dieser Studie vom klinischen Gesichtspunkt liegt in der Tatsache, daß die Wachstumsfaktoren vor Auftreten des Herzinfarktes appliziert wurden. Mittlerweile gibt es Hinweise darauf, daß diese Faktoren auch bei Injektionsbeginn nach einem Herzinfarkt wirksam sind.

■ Zellfusion

Einige Wissenschaftler bezweifeln, daß hämatopoietische Stammzellen in Muskel-, Neuron-, Nieren- oder Leberzellen differenzieren, obwohl die Spenderzellen im Empfänger-gewebe nachweisbar sind [58]. Eine mögliche Erklärung für den veränderten Phänotyp der Spenderzellen ist die Fusion von Stammzellen mit lokalen, differenzierten Zellen. Zwei Gruppen kultivierten genetisch markierte embryonale Stammzellen mit erwachsenen Knochenmarkstammzellen bezie-

ungsweise neuronalen Stammzellen. Nach 4 Wochen exprimierten die embryonalen Zellen Oberflächenmarker der kultivierten Zellen, aus morphologischer Sicht ein Hinweis auf Transdifferenzierung. Weitere Untersuchungen zeigten allerdings Zellen mit 4 Geschlechtschromosomen (XXXY) und den doppelten Gehalt an DNA als Ergebnis von Zellfusion [59, 60]. Bei dieser Zellfusion handelt es sich mit 1 auf 10.000 bis 100.000 um ein extrem seltenes Ereignis, während Transdifferenzierung bei bis zu 55 % von kultivierten Zellen vorkommt. Ein eindrucksvolles Beispiel *in vivo* ist die Regeneration der Leber aus Knochenmarkstammzellen (mit einfachem Chromosomensatz) [61].

■ Stammzelltherapie in der Klinik

Humane, adulte Stammzellen werden seit einigen Jahren in ersten, nichtrandomisierten klinischen Studien zur Untersuchung der Durchführbarkeit und Sicherheit getestet. Inkludiert sind Patienten nach akutem Myokardinfarkt, mit Angina pectoris oder chronischer Ischämie. Autologe Myoblasten aus der quergestreiften Muskulatur wurden ebenfalls in klinischen Phase-I-Studien bei Patienten nach Herzinfarkt mit einer linksventrikulären Auswurfleistung von < 35 % untersucht. Im Durchschnitt wurden 874 Millionen Zellen in 37 akinetische Stellen des Herzens im Zuge einer aortokoronaren Bypassoperation injiziert. Nach einem mittleren Nachbeobachtungszeitraum von 10,9 Monaten kam es in 60 % der akinetischen Segmente zum Wiederauftreten von Kontraktilität, die NYHA-Klasse verbesserte sich von 2,7 auf 1,6, mit einer Erhöhung der Auswurfleistung von 24 % auf 32 %. In der histologischen Analyse 17,5 Monate nach Zellinjektion, zeigten sich differenzierte Myotubes mit einem erhaltenen kontraktilen Apparat [62]. Vier Patienten hatten länger anhaltende Episoden von ventrikulären Tachykardien, was die Implantation eines Defibrillators notwendig machte [63]. In der ersten Studie, bei der Myoblasten über einen Katheter transendokardial injiziert wurden, traten wiederum gehäuft ventrikuläre Tachykardien auf. Daher wurde diese Studie auf Patienten eingeschränkt, welche bereits mindestens drei Monate lang einen Defibrillator hatten. Klinisch symptomatische Arrhythmien, vor allem innerhalb der ersten Wochen nach Zelltransfer, stellen daher ein ernstes Problem bei Myoblastentransplantation dar. Ein Grund dafür ist die Tatsache, daß Myoblasten nicht transdifferenzieren und damit ein Aktionspotential behalten, das sich vom umgebenden Myokard unterscheidet. Diese elektrische Inhomogenität prädisponiert zu ventrikulären Arrhythmien.

Im Gegensatz dazu wurden bei den bislang vorgestellten klinischen Studien unter Verwendung von Knochenmarkstammzellen Arrhythmien nicht als Problem beschrieben [64, 65]. Die Anwendung von Stammzellen am Herzen hat bisher zu keinen nennenswerten Nebenwirkungen geführt, insbesondere zu keiner Verschlechterung der Pumpfunktion. Auf der anderen Seite reichen aber die bis dato publizierten Daten noch nicht, um die Wirksamkeit der Therapie zweifelsfrei zu beweisen. Keine bisher publizierte Studie ist randomisiert, auch die Publikationen in Journalen wie *Lancet* und *Circulation* haben größere Limitationen, wie beispielsweise das Fehlen einer Kontrollgruppe. Stamm et al. injizierten während der aortokoronaren Bypassoperation bis zu $1,5 \times 10^6$

autologe AC133⁺ mononukleäre Knochenmarkszellen (eine Zellfraktion, die sowohl hämatopoietische als auch multipotente Stammzellen enthält) in die Perinfarktzone [64]. Alle sechs Patienten hatten eine signifikante Verbesserung der klinischen Leistungsfähigkeit auf NYHA I, mit einer Erhöhung der Auswurfleistung von 37 % auf 48 %. Im Myokardperfusionsscan hat sich bei fünf Patienten eine Verbesserung gezeigt. Im gesamten Nachbeobachtungszeitraum kam es zu keiner Episode einer ventrikulären Tachykardie.

In der TOPCARE-AMI-Studie haben Zeiher und Kollegen die Wirkung von zirkulierenden Endothelvorläuferzellen und Knochenmarkstammzellen nach direkter intrakoronarer Injektion bei Patienten mit reperfundiertem akutem Herzinfarkt evaluiert [66]. In dieser Studie wurde eine historische Kontrollgruppe zum Vergleich herangezogen. Von den ersten 20 Patienten haben 11 EPCs und 9 BMCs erhalten. Nach 4 Monaten war die linksventrikuläre Auswurfleistung in den beiden Behandlungsarmen um 8,5 % erhöht, verglichen mit 2,5 % im Kontrollkollektiv. In der Echokardiographie zeigte sich eine substantielle Verbesserung der regionalen Wandbewegung und in der quantitativen F-18-Fluorodeoxyglukose-Positronen-Emissionstomographie war die Myokardviabilität im Infarktgebiet deutlich erhöht. Es gab keine klinisch bedeutsamen Nebenwirkungen, keine dokumentierte Arrhythmie, Erhöhung der Kreatinkinase oder von Troponin. In seriellen MRI-Untersuchungen gab es Hinweise darauf, daß die intrakoronare Infusion von Progenitorzellen einen positiven Effekt auf das Remodelling hat [67].

Strauer et al. haben die Patienten ebenfalls nicht randomisiert, sondern mit einer Kontrollpopulation aus dem Behandlungszeitraum verglichen [68]. Dabei wurden 10 Patienten mit autologer Stammzelltransplantation nach Herzinfarkt mit 10 Patienten verglichen, welche eine Teilnahme an der Studie abgelehnt haben. Die Zellapplikation erfolgte aus logistischen Gründen 5 bis 9 Tage nach dem Infarkt, um Zellaspiration, -separation und -kultivierung zu ermöglichen. Die Injektion der Zellen erfolgte über einen Katheter mit erhöhtem Druck direkt in das Infarktgefäß, wobei diese Koronararterie gleichzeitig proximal okkludiert war. Während es nach drei Monaten bei der Kontrollgruppe zu keinen wesentlichen Veränderungen am Herzen kam, wurden von der behandelten Gruppe sensationelle Ergebnisse berichtet: Eine Reduktion der Infarktgröße um 30 %, eine verdoppelte Wandbewegungsgeschwindigkeit und eine signifikante Verbesserung der Perfusion. Die Auswurfleistung hat sich kaum verbessert, was bei einer fast normalen Ausgangsfunktion auch nicht zu erwarten war. Es kam zu keinem Zeitpunkt der Studie zum Auftreten von Nebenwirkungen. Solange es keine randomisierten Studien gibt, kann nicht mit Sicherheit geschlossen werden, daß die verwendeten Endothel- bzw. Myokardvorläuferzellen, noch dazu in der geringen Zahl von 10⁴ Zellen pro Patient, tatsächlich die beschriebene Verbesserung der Herzfunktion und -perfusion herbeigeführt haben.

Eine südkoreanische Gruppe hat im März 2004 eine prospektiv-randomisierte Stammzellstudie, das Magic Trial, veröffentlicht [69]. Dabei wurden 27 Patienten mit akutem Myokardinfarkt, denen die für den Herzinfarkt verantwortliche Läsion („culprit lesion“) gestentet wurde, randomisiert: (a) Injektion von autologen Stammzellen aus dem peripheren Blut nach vorangegangener Mobilisation mit G-CSF und Apherese über einen Katheter direkt in die Koronargefäße, (b)

G-CSF-Mobilisation von Stammzellen aus dem Knochenmark und (c) Kontrollgruppe. Die Leistungsfähigkeit der Patienten am Ergometer, die Ergebnisse im SPECT sowie die linksventrikuläre Auswurfleistung verbesserten sich signifikant in Gruppe a. Unerwarteterweise entwickelten 5 der 7 Patienten dieser Gruppe sowie 2 von 3 Patienten nach G-CSF-Mobilisation eine In-Stent-Restenose. Aus diesem Grund wurde die Studie gestoppt. Es wurde eine enge Korrelation zwischen der Zunahme der Dicke der Neointima und der Verbesserung der systolischen Funktion in der Zellinfusionsgruppe beobachtet, was den Schluß nahelegt, daß die Stammzelltherapie die Hyperplasie der Neointima in dem Maße beschleunigt, wie sie die Herzfunktion verbessert [70].

Schließlich werden zur Zeit eine Anzahl von Studien mit transendokardialer Injektion verschiedener Zelltypen über einen NOGA-Katheter durchgeführt [71]. Erste Erfahrungen mit Wachstumsfaktoren zeigten, daß dieser Zugang technisch machbar und sicher ist. Für den Beweis eines Nutzens dieser Therapie ist die Datenlage nicht ausreichend und es bedarf prospektiver, randomisierter Studien.

Forscher von der Universität Michigan um Pagani zeigten die histologischen Ergebnisse nach Transplantation von Myoblasten aus der Quadrizepsmuskulatur bei 5 Patienten mit terminalem ischämischen Herzversagen, denen ein Kunstherz implantiert worden war [72]. Ein extrem kleiner Anteil von ca. 1 % dieser Zellen überlebt bis zu 6 Monate nach Transplantation in die Narbe des Herzens und differenziert in Myofasern. Um die überlebenden Myotubes fand sich eine erhöhte Anzahl an Kapillargefäßen.

Dib et al., Arizona Heart Institute, berichteten bereits die 2-Jahres-Ergebnisse einer offenen, nichtrandomisierten multizentrischen Phase-I-Studie mit 22 Patienten, denen im Zuge einer aortokoronaren Bypassoperation Myoblasten injiziert wurden [73]. Die Herzfunktion verbesserte sich von 21,2 % zum Zeitpunkt der Transplantation auf 33 %. Bei zwei Patienten kam es zum Auftreten ventrikulärer Tachykardien.

Einen anderen Zugang hat die POZNAN-Studiengruppe gewählt, und Myoblasten bei Patienten nach Herzinfarkt über einen speziellen IVUS-Katheter über den Koronarsinus in den Herzmuskel appliziert [74]. In den ersten, preliminären Ergebnissen zeigte sich eine Verbesserung der NYHA-Klasse bei allen neun Patienten sowie eine um 3–8 % erhöhte Auswurfleistung des Herzens bei 4 Patienten. Arrhythmien wurden nicht beschrieben.

Perin et al. veröffentlichten den ersten Bericht über die Wirkung von Knochenmarkstammzellen bei Patienten mit schwerem chronischem Herzversagen, bei denen weder ein aortokoronarer Bypass noch eine perkutane koronare Intervention indiziert war [75]. Die Zellen wurden über einen NOGA-Katheter transendokardial injiziert. In den Untersuchungen 4 Monate nach der Intervention war die Auswurfleistung von 20 % auf 29 % verbessert sowie das endsystolische Volumen von 174 ml auf 133 ml reduziert. Der Mechanismus hinter dieser dramatischen Verbesserung der Herzfunktion nach Anwendung der Stammzelltherapie ist völlig ungeklärt.

■ Zukunftsperspektiven

Obwohl zur Zeit bereits eine große Anzahl von klinischen Studien weltweit durchgeführt wird, gilt es noch viele prak-

tische und wissenschaftliche Aspekte zu klären, bevor man großangelegte Studien vernünftig gestalten kann. Zum einen ist es wichtig, die optimale Zellzahl zu definieren, um genügend Blutgefäße und neue Herzmuskelzellen im Infarktareal sowie der Perinfarktregion zu erhalten. Weiters ist es notwendig, die Signal- und Botenstoffe zu untersuchen, die vom ischämischen Myokard produziert werden und zur Chemoattraktion von Stammzellen führen. Da die Hochregulation von Zytokinen und Chemokinen transient ist, könnten durch eine Injektion genau dieser Botenstoffe vor einer therapeutischen Applikation von Stammzellen die Rekrutierung und Differenzierung derselben optimiert werden. Wenn man schlußendlich davon ausgeht, daß der Erfolg der Zelltherapie von einem möglichst langen Überleben der transplantierten Zellen abhängt, könnte man die Funktionalität durch die Kombination verschiedener Zelltypen verbessern. Einen ersten Versuch in diese Richtung unternahm eine Innsbrucker Forschergruppe: Eine Woche nach Induktion eines Herzinfarktes wurde eine Kombination aus Myoblasten und Knochenmarkstammzellen in das ischämische, geschädigte Areal injiziert. Dabei zeigten die Versuchstiere, die beide Zelltypen erhielten, im Ultraschall eine deutlich stärkere Verbesserung der Herzleistung. Diese Daten lassen hoffen, daß das Konzept der Kombination zweier Zelltypen auch für den klinischen Einsatz relevant sein kann, da sich dadurch die Vorteile beider Zell-Linien kombinieren lassen und man so auch die Gesamtzahl der zu verwendenden Zellen reduzieren kann [76].

Zusammenfassend läßt sich also festhalten, daß es überzeugende Beweise für das Potential sowohl adulter- als auch embryonaler Stammzellen gibt, geschädigtes Myokard zu regenerieren, Neovaskularisation zu induzieren und die Herzfunktion zu verbessern. Sorgfältig geplante klinische Studien sind notwendig, um weitere wichtige Fragen zu beantworten: Sind die bisher auch beim Menschen beobachteten positiven Effekte transient oder permanent? Welche unerwünschten Nebenwirkungen gibt es? Wie kann man die Effizienz steigern? Was ist der beste Applikationsweg der Zellen, Zellzahl, Zelltyp etc.? Die Antworten auf all diese Fragen sind nicht nur von akademischem Interesse, sondern für alle Patienten, die an Herzversagen – der führenden Ursache von Morbidität und Mortalität in der industrialisierten Welt – leiden, wichtig.

Literatur

1. American Heart Association. 2001 Heart and Stroke Statistical Update. Dallas, Texas, 2001.
2. Hognes JR. The artificial heart: prototypes, policies and patients. National Academy, Washington, 1991.
3. United States Department of Health and Human Services. Annual Report of the US Scientific Registry for Organ Transplantation and the Organ Procurement and Transplantation Network. US Department of Health and Human Services, Washington, 1990.
4. Rosea EA, Gelijns AC, Moskowitz AJ, et al. Long-term mechanical left ventricular assistance for end-stage heart failure. *N Engl J Med* 2001; 345: 1435–43.
5. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher PJ, Braunwald E. Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *Am J Physiol* 1991; 260: H1406–H1414.
6. Agocha A, Lee HW, Eghali-Webb M. Hypoxia regulates basal and induced DNA synthesis and collagen type I production in human cardiac fibroblasts: effects of TGF-β1, thyroid hormone,

angiotensin II and basic fibroblast growth factor. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 2233H–2244H.

7. Kalkman EA, Bilgin YM, van Haren P, van Suylen RJ, Saxena PR, Schoemaker RG. Determinants of coronary reserve in rats subjected to coronary artery ligation or aortic banding. *Cardiovascular Res* 1996; 32: 1088–95.
8. Nelissen-Vrancken H, Debets J, Snoeckx L, Daemen M, Smiths J. Time-related normalization of maximal coronary flow in isolated perfused hearts of rats with myocardial infarction. *Circulation* 1996; 93: 349–55.
9. Heymans S, Luttun A, Nuyens D, Theilmeier G, Creemers E, Moons L, Dyspersin GD, Cleutjens JP, Shipley M, Angellilo A, Levi M, Nube O, Baker A, Keshet E, Lupu F, Herbert JM, Smits JF, Shapiro SD, Baes M, Borgers M, Collen D, Daemen MJ, Carmeliet P. Inhibition of plasminogen activator or matrix metalloproteinases prevents cardiac rupture but impairs therapeutic angiogenesis and causes cardiac failure. *Nature Med* 1999; 5: 1135–42.
10. Hochman JS, Choo H. Limitation of myocardial infarct expansion by reperfusion independent of myocardial salvage. *Circulation* 1987; 75: 299–306.

11. Nidorf SM, Siu SC, Galambos G, Weyman AE, Picard MH. Benefit of late coronary reperfusion on ventricular morphology and function after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20: 307–13.
12. 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* 1987; 76: 44–51.
13. Liechty KW, MacKenzie TC, Shaaban AF, Radu A, Moseley AM, Deans R, Marshak DR, Flake AW. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med* 2000; 11: 1282–6.
14. Mc Lellan WR, Schneider MD. Genetic dissection of cardiac growth control pathways. *Ann Rev Physiol*. 2000; 62: 289–320.
15. Kellerman S, Moore JA, Zierhut W, et al. Nuclear DNA content and nucleation patterns in rat cardiac myocytes from different models of cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 1992; 24: 497–505.
16. Hill MF, Signal PK. Right and left myocardial antioxidant responses during heart failure subsequent to myocardial infarction. *Circulation*. 1997; 96: 2414–40.
17. Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodeling. *Nature* 2002; 415: 240–3.
18. Kajstura J, Leri A, Finato N, di Loreto N, et al. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8801–5.
19. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001; 344: 1750–7.
20. Folkman J. Therapeutic angiogenesis in ischemic limbs. *Circulation* 1998; 97: 108–10.
21. Kalka C, Masuda H, Takahashi T. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3422–7.
22. Takahashi, Kalka C, Masuda H. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999; 5: 434–8.
23. Murohara T, Ikeda H, Duan J, et al. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J Clin Invest* 2000; 105: 1527–36.
24. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, Van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964–7.
25. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, Homma S, Edwards NM, Itescu S. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nature Med* 2001; 7: 430–6.
26. Jaffredo T, Gautier R, Eichmann A, Dieterlen-Lievre F. Intraortic chemopoietic cells are derived from endothelial cells during ontogeny. *Development* 1998; 125: 4575–83.
27. Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001; 107: 1395–402.
28. Kamihata H, Matsubara H, Nishie T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, Masaki H, Mori Y, Iba O, Tateishi E, Kosaki A, Shintani S, Murohara T, Imaizumi T, Iwasaka T. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands and cytokines. *Circulation* 2001; 104: 1046–52.
29. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, Sano M, Takahashi T, Hori S, Abe H, Hata J, Umezawa A, Ogawa S. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest* 1999; 103: 697–705.
30. Pittenger MF, Mosca JD, McIntosh KR. Human mesenchymal stem cells: progenitor cells for cartilage, bone, fat and stroma. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000; 251: 3–11.
31. Tomita Y, Sachs DH, Sykes M. Myelosuppressive conditioning is required to achieve engraftment of pluripotent stem cells contained in moderate doses of syngeneic bone marrow. *Blood* 1994; 83: 939–48.
32. 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* 2001; 108: 407–14.
33. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701–5.
34. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima HO, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004; 428: 664–8.
35. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004; 428: 668–73.
36. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145–7.
37. Winston R. Embryonic stem cell research: the case for ... *Nat Med* 2001; 7: 396–7.
38. Antoniou M. Embryonic stem cell research: the case against ... *Nat Med* 2001; 7: 397–9.
39. Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY, et al. Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells form stable intracardiac grafts. *J Clin Invest* 1996; 98: 216–24.
40. Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, et al. Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7844–8.
41. Cowan CA, Klimanskaya I, McMahon J, et al. Derivation of embryonic stem-cell lines from human blastocysts. *N Engl J Med* 2004; 350: Electronic publication ahead of print.
42. Hwang WS, Ryu YJ, Park JH et al. Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science* 2004; 303: 1669–74.
43. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145–7.
44. Zhang M, Methot D, Poppa V. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: graft cell death and anti-death strategies. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 907–21.
45. Lattanzi L, Salvatori G, Coletta M. High efficiency myogenic conversion of human fibroblasts by adenoviral vector-mediated MyoD gene transfer: an alternative strategy for ex vivo gene therapy of primary myopathies. *J Clin Invest* 1998; 101: 2119–28.
46. E Oakley RM, Ooi OC, Bongso A et al. Myocyte transplantation for myocardial repair: a few good cells can mend a broken heart. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 1724–33.
47. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998; 4: 929–33.
48. Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM, et al. Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J Clin Invest* 1996; 98: 2512–23.
49. Reinecke H, Zhang M, Bartosek T, Murry CE. Survival, integration, and differentiation of cardiomyocyte grafts: a study in normal and injured rat hearts. *Circulation* 1999; 100: 193–202.
50. Reinecke H, Mc Donald GH, Hauschka SD, Murry CE. Electromechanical coupling between skeletal and cardiac muscle: implications for infarct repair. *J Cell Biol* 2000; 149: 731–40.
51. Fuchs R, Baffour R, Zhou YF, et al. Transendothelial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1726–32.

52. Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E, et al. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 122: 699–705.
53. Min JY, Yang Y, Conerson KL, et al. Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in postinfarcted rats. *J Appl Physiol* 2002; 92: 288–96.
54. Torrente Y, Camirand G, Pisati F, et al. Identification of a putative pathway for the muscle homing of stem cells in a muscular dystrophy model. *Cell Biol* 2003; 162: 511–20.
55. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cells mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. *Exp Hematol* 2002; 30: 973–81.
56. Iwaguro H, Yamaguchi J, Kalka C, et al. Endothelial progenitor cell vascular endothelial growth factor gene transfer for vascular regeneration. *Circulation* 2002; 105: 732–8.
57. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10344–9.
58. Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, et al. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 2002; 297: 2256–9.
59. Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002; 416: 542–5.
60. Ying QL, Nichols J, Evans E, et al. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002; 416: 545–8.
61. Liu Y, Rao MS. Transdifferentiation: fact or artefact? *J Cell Biochem* 2003; 88: 29–40.
62. Hagege AA, Carrion C, Menasché, et al. Viability and differentiation of autologous skeletal myoblast grafts in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet* 2003; 361: 491–2.
63. Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1078–83.
64. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45–6.
65. Hamano K, Nishida M, Hirat K, et al. Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. *Jpn Circ J* 2001; 65: 845–7.
66. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction. *Circulation* 2002; 106: 3009–17.
67. Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, et al. Infarct remodelling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2003; 108: 2212–8.
68. Strauer B, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913–8.
69. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al. effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem cells mobilized with granulocyte – colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomized clinical trial. *Lancet* 2004; 363: 751–6.
70. Sata M, Saiura A, Kunisato A, et al. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nat Med* 2002; 8: 403–9.
71. Fuchs S, Weisz G, Kornowski R, et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility and safety study. *Circulation* 2002; 106 (Suppl II): II655–II656.
72. Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A, et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 879–88.
73. Dib N. Long-term follow-up of safety and feasibility of autologous skeletal myoblast transplantation in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. American College of Cardiology, Scientific Sessions 2004, Abstract.
74. Siminiak T. Percutaneous transvenous transplantation of autologous myoblasts in the treatment of postinfarction heart failure: The Poznan trial. American College of Cardiology, Scientific Sessions 2004, Abstract.
75. Perin EC, Dohmann HFR, Borojevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2294–302.
76. Ott HC, Bonaros N, Marksteiner R, et al. Combined transplantation of autologous skeletal myoblasts and bone marrow stem cells for myocardial repair in rats. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 25: 627–34.

ANTWORTFAX

JOURNAL FÜR KARDIOLOGIE

Hiermit bestelle ich

ein Jahresabonnement
(mindestens 6 Ausgaben) zum
Preis von € 60,- (Stand 1.1.2010)
(im Ausland zzgl. Versandkosten)

Name

Anschrift

Datum, Unterschrift

Einsenden oder per Fax an:

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft,
Postfach 21, A-3003 Gablitz, **FAX: +43 (0) 2231 / 612 58-10**

Bücher & CDs
Homepage: www.kup.at/buch_cd.htm
