

# Journal für Kardiologie

Austrian Journal of Cardiology

Österreichische Zeitschrift für Herz-Kreislaferkrankungen

## Therapeutische Angiogenese bei peripher-arterieller Verschlußkrankheit

Kopp CW, Minar E, Steiner S

*Journal für Kardiologie - Austrian*

*Journal of Cardiology* 2004; 11

(3), 79-83

Homepage:

[www.kup.at/kardiologie](http://www.kup.at/kardiologie)

Online-Datenbank  
mit Autoren-  
und Stichwortsuche



Member of the



EUROPEAN  
SOCIETY OF  
CARDIOLOGY®

ESC-Editor's Club

Offizielles Organ des  
Österreichischen Herzfonds



Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/SCOPUS

Krause & Pachernegg GmbH • Verlag für Medizin und Wirtschaft • A-3003 Gablitz

P.b.b. 02Z031105M,

Verlagsort: 3003 Gablitz, Linzerstraße 177A/21

Preis: EUR 10,-

### **Datenschutz:**

Ihre Daten unterliegen dem Datenschutzgesetz und werden nicht an Dritte weitergegeben. Die Daten werden vom Verlag ausschließlich für den Versand der PDF-Files des Journals für Kardiologie und eventueller weiterer Informationen das Journal betreffend genutzt.

### **Lieferung:**

Die Lieferung umfasst die jeweils aktuelle Ausgabe des Journals für Kardiologie. Sie werden per E-Mail informiert, durch Klick auf den gesendeten Link erhalten Sie die komplette Ausgabe als PDF (Umfang ca. 5–10 MB). Außerhalb dieses Angebots ist keine Lieferung möglich.

### **Abbestellen:**

Das Gratis-Online-Abonnement kann jederzeit per Mausklick wieder abbestellt werden. In jeder Benachrichtigung finden Sie die Information, wie das Abo abbestellt werden kann.

### Das e-Journal

### **Journal für Kardiologie**

- ✓ steht als PDF-Datei (ca. 5–10 MB) stets internetunabhängig zur Verfügung
- ✓ kann bei geringem Platzaufwand gespeichert werden
- ✓ ist jederzeit abrufbar
- ✓ bietet einen direkten, ortsunabhängigen Zugriff
- ✓ ist funktionsfähig auf Tablets, iPads und den meisten marktüblichen e-Book-Readern
- ✓ ist leicht im Volltext durchsuchbar
- ✓ umfasst neben Texten und Bildern ggf. auch eingebettete Videosequenzen.

# Therapeutische Angiogenese bei peripher-arterieller Verschlusskrankheit

C. W. Kopp, S. Steiner, E. Minar

**Kurzfassung:** Die therapeutische Angiogenese zur Induktion des Wachstums neuer Blutgefäße fasziniert Kliniker aller kardiovaskulären Disziplinen, weil sie die Möglichkeit zur Perfusionsverbesserung jenseits interventioneller und gefäßchirurgischer Grenzen in Aussicht stellt. Trotz der Vielzahl klinischer Studien und Anwendungsprotokolle, lassen sich die großen experimentellen Erfolge auf diesem Gebiet bis dato nur langsam in klinisch faßbare Verbesserungen für den einzelnen Patienten übertragen. Das Ziel der therapeutischen Angiogenese in der Behandlung der peripher-arteriellen Verschlusskrankheit ist es, diese als weiterführende extremitätenerhaltende Therapieoption unter Beweis zu stellen. Der klinische Erfolg der therapeutischen Angiogenese wird unabhängig von der gewähl-

ten Methode – ob angiogenetische Gentherapie, Verabreichung rekombinanter angiogenetischer Wachstumsfaktoren und Zytokine oder Transplantation bzw. Mobilisation von Knochenmarkstammzellen – von der Synergie aus Gefäßneubildung und optimalem Management kardiovaskulärer Risikofaktoren abhängen und soll erst nach Ausschöpfung aller interventionellen und chirurgischen perfusionsverbessernden Maßnahmen erfolgen.

**Abstract: Therapeutic Angiogenesis in Peripheral Arterial Disease.** Cardiovascular clinicians and scientists are intrigued by the promise of therapeutic angiogenesis (TA) to improve vascular perfusion beyond surgical and interventional limits simply by form-

ing new collateral blood vessels. However, it is still a long way from bench to bedside and patient benefit, despite a considerable number of ongoing clinical trials. In peripheral arterial disease we still have to prove safety and efficacy of the various forms of TA before one can conclude on its role as an additional limb saving strategy. Independent of the technical approach – whether it may be gene-therapy, application of angiogenic growth factors or cytokines, stem-cell therapy by transplantation or mobilization – the clinical success of TA will depend on the synergism with optimal cardiovascular risk factor management and should be considered only when all interventional and surgical options for perfusion improvement failed. **J Kardiol 2004; 11: 79–83.**

## ■ Einleitung

Die periphere arterielle Verschlusskrankheit (PAVK) im klinischen Stadium III und IV nach Fontaine umfaßt Patienten mit ischämischen Ruheschmerz und/oder chronischen Ulzera, ausgelöst durch eine objektiv dokumentierte arterielle Verschlusskrankheit [1]. Die geschätzte Inzidenz der kritisch-chronischen Ischämie liegt bei 500–1000 pro Million und Jahr [2]. Trotz Fortschritten in der chirurgischen und endovaskulären Intervention, kann ein Teil der Patienten nicht revaskularisiert werden, sodaß eine Amputation zwingend nötig wird. Eine Untersuchung der Lebensqualität von Patienten mit kritisch-chronischer Ischämie und drohender Amputation ergab eine psychische Belastung vergleichbar mit onkologischen Patienten in der terminalen Phase ihrer Erkrankung [3]. Nicht revaskularisierbare Patienten mit PAVK-III/IV bedürfen daher der lokalen Perfusionsverbesserung.

Die therapeutische Angiogenese (TA) bezeichnet die Induktion der Gefäßneubildung und verbesserte Kollateralgefäßbildung durch das lokale Einbringen angiogenetischer Wachstumsfaktoren und Zytokine [4] bzw. durch die Transplantation [5] oder Mobilisation [6] autologer endothelialer Progenitorzellen (EPC) [7]. Die klinische Voraussetzung für diese bislang experimentelle Form der Revaskularisationstherapie ist die peripher-arterielle Verschlusskrankheit im klinischen Stadium III und IV nach Fontaine ohne weitere chirurgische oder interventionelle Option. Davon betroffen sind in erster Linie Patienten mit fortgeschrittener – häufig diabetischer – Makro- und Mikroangiopathie sowie Patienten mit Thrombangitis obliterans (TAO).

Während initial zur therapeutischen Angiogenese vor allem angiogenetische Wachstumsfaktoren – entweder in Form ihres Proteins oder des für sie kodierenden Gens – verwendet wurden, bedienen sich klinische Zentren heute zunehmend der endothelialen Stammzelltransplantation, um eine Perfusionsverbesserung ischämisch geschädigter Gewebe

herbeizuführen. Die folgende Übersicht behandelt die drei Mechanismen der Gefäßneubildung, die angiogenetischen Wachstumsfaktoren und Zytokine, die Rolle endothelialer Progenitorzellen und ihr Verhältnis zu kardiovaskulären Risikofaktoren sowie die Ergebnisse der klinisch relevanten Studien zur therapeutischen Angiogenese in der PAVK.

## ■ Mechanismus der Vaskulogenese, Angiogenese und Arteriogenese

Bereits Leonardo da Vinci spekulierte über die Entstehung des Gefäßsystems in Analogie zur Natur: „Es entwickelt sich wie ein Baum aus einem Keim (dem Herzen), wird ernährt von sprießenden Wurzeln (dem Kapillarbett der Leber) und bildet einen Stamm (die Aorta) und abgehende Verzweigungen (die peripheren Gefäße) aus“ [8]. Obwohl das Aussprossen und das Verzweigen von neuen Gefäßen weiterhin einen prinzipiellen Mechanismus – genannt Angiogenese – darstellt, kennen wir heute weitere Mechanismen der Entstehung von Blutgefäßen und wissen, daß das Gefäßsystem in der Embryogenese bereits angelegt ist, bevor das Herz zu schlagen beginnt (Abb. 1).

Die Vaskulogenese bezeichnet die *De-novo*-Entstehung eines frühen Gefäßplexus aus Angioblasten des Mesoderms [9]. Aus diesem Plexus entwickeln sich die ersten primitiven Blutgefäße, wobei der Familie der Fibroblastenwachstumsfaktoren (fibroblast growth factors; FGF) und den endothelia-

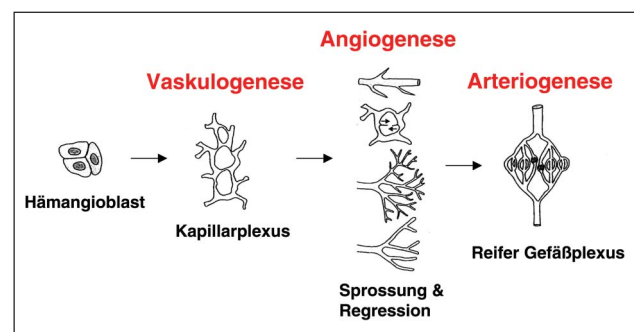


Abbildung 1: Stadien der Gefäßneubildung

Aus der Abteilung für Angiologie, Universitätsklinik für Innere Medizin II, Wien  
**Korrespondenzadresse:** Dr. med. Christoph W. Kopp, Univ.-Klinik für Innere Medizin II, Abteilung für Angiologie, Währinger Gürtel 18–20, A-1090 Wien; E-Mail: christoph.kopp@univie.ac.at.

len Wachstumsfaktoren (vascular endothelial growth factors; VEGF) eine wesentliche Rolle bei der mesodermalen Differenzierung des Hämangioblasten, eines bipotenten Vorläufers angioblastischer und hämatopoetischer Vorläuferzellen, zukommt [10]. Die postnatale Vaskulogenese bezeichnet die *De-novo*-Entstehung von Gefäßplexen im erwachsenen Organismus auf der Basis analoger Mechanismen, wie sie für die embryonale Vaskulogenese beschrieben wurden, wobei über den VEGF-Rezeptor Typ 2 die Angioblastendifferenzierung initialisiert wird und die Konzentration von VEGF-Liganden das Überleben des Angioblasten bestimmt [11].

Angiogenese bezeichnet das Wachstum von Blutgefäßen ausgehend von bestehenden Gefäßstrukturen durch Rekrutierung, Integration und Proliferation endothelialer Progenitorzellen (EPC), welche zu einem Aussprossen neuer Kapillaren (sprouting angiogenesis) oder der Teilung präexistenter Kapillaren (non-sprouting angiogenesis oder intussusception) führen [8]. Beinahe alle angiogeneseinduzierenden Faktoren können eine oder mehrere dieser Aktivitäten *in vitro* induzieren; welche tatsächlich *in vivo* mechanistisch werden, ist bis dato nicht bekannt [12]. Die endotheliale Rezeptor-Tyrosinkinase TIE-2 und die Interaktion mit ihren Liganden der Angiopoetin-Familie modulieren VEGF-Effekte im Hinblick auf die vaskuläre Lumenverengung vor Sprossungs- bzw. Teilungsvorgängen und spielen somit eine Schlüsselrolle für die Angiogenese [13, 14]. Ebenso entscheidend erscheint die regulierte Entstehung und Degradierung extrazellulärer Matrix, welche zur Teilung von Kapillaren führen kann [15].

Arteriogenese bezeichnet die Ausreifung von Kapillaren zu wandstarken arteriellen Kapazitätsgefäßen. Intra- und extraluminale Faktoren spielen bei diesem Reifungsprozeß (vaskuläres Remodelling) eine wesentliche Rolle. So bestimmt die Richtung des Blutflusses, welche Gefäße zu Arteriolen bzw. Venolen werden [16]; nichtperfundierte Gefäße degenerieren. Scherkräfte führen zur Induktion von PDGF- $\beta$  (platelet derived growth factor beta) und aktivieren perivaskuläre mesenchymale Zellen, Perizyten und glatte Muskelzellen, sich an das proliferierende Endothel anzulagern [17]. Der Gewebefaktor (tissue factor) ist ein weiterer Faktor, der einerseits für die Rekrutierung perivaskulärer Zellen [18], andererseits für die Induktion von TGF- $\beta$  verantwortlich ist [19, 20]. TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta) erscheint essentiell für die embryonale wie adulte vaskuläre Ausreifung, da die Inaktivierung der TGF- $\beta$ -abhängigen Signaltransduktion zu Telangiektasien führt [20].

## ■ Angiogenetische Wachstumsfaktoren

Der endotheliale Wachstumsfaktor A (vascular endothelial growth factor; VEGF<sub>165</sub> oder VEGF-A), als erster aus der VEGF-Familie (VEGF-A-E und plazentarer Wachstumsfaktor) kloniert, wurde zunächst als ein permeabilitätssteigernder Faktor (vascular permeability factor; VPF) bekannt, später durch seine mitogene Wirkung auf Endothelzellen [21]. VEGF ist der beststudierte und für die Angiogenese mit Abstand wichtigste Wachstumsfaktor. Von den 6 Isoformen wurden VEGF<sub>121</sub> und VEGF<sub>165</sub> am häufigsten in experimentellen und in klinischen Studien zur therapeutischen Angiogenese der PAVK verwendet [22, 23]. VEGF wird induziert durch Hypoxie, Hypoglykämie, Entzündung sowie im Rahmen der

Wundheilung und bei Tumorerkrankungen. Der durch Hypoxie induzierbare Transkriptionsfaktor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) reguliert die Expression von VEGF bei verschiedenen O<sub>2</sub>-Gewebekonzentrationen [24, 25]. Die angiogenetischen und vasodilatatorischen Wirkmechanismen von VEGF werden zum Teil durch Stickstoffoxyd (NO) mediiert [26, 27]. Die essentielle Bedeutung von VEGF für die Gefäßbildung zeigt sich darin, daß bereits heterozygote VEGF-Knockout-Mäuse am embryonalen Tag 11–12 versterben [11]. Die VEGF-Wirkung wird durch vier VEGF-Rezeptortypen (VEGF-R1–R3 und Neuropilin-1) mediiert, wobei der VEGF-R2 (KDR/Flk-1) den proangiogenetischen (mitogen/antiapoptotisch) Rezeptortyp darstellt [28–30]. Eine weitere angiogenetische Eigenschaft von VEGF besteht in seiner chemotaktischen Wirkung auf EPC, zirkulierende Monozyten und Leukozyten [31, 32].

Die Familie der Fibroblastenwachstumsfaktoren (fibroblast growth factors; FGF) stellt neben VEGF die zweite Gruppe wesentlicher proangiogenetischer Wachstumsfaktoren dar und umfaßt 20 Subtypen [33]. Ihre Wirkung wird durch 7 Rezeptoren vermittelt, wobei FGF-R1 bis FGF-R3 jeweils als 2 Splicevarianten vorkommen können, FGF-R4 jedoch nur in einer Isoform [33–35]. FGF stimulieren die Proliferation von Zellen mesodermalen und neuroektodermalen Ursprungs, wie Endothelzellen, glatte Muskelzellen und Myoblasten [33–35], wobei FGF-2 und FGF-4 eine besondere Stellung in der embryonalen Extremitätenentwicklung zukommt [36]. Die FGF-4-Wirkung scheint zum Teil VEGF-mediiert [37]. Im Kaninchenmodell der akuten Beinischämie führten FGF und VEGF synergistisch zu einer besseren Kollateralgefäßbildung [38].

Neben VEGF und FGF zeigte der Hepatozytenwachstumsfaktor (hepatocyte growth factor; HGF) eine verbesserte Kollateralgefäßentwicklung, vermehrte Angiogenese und eine Potenzierung der VEGF-Aktivität [39–41] sowie eine verbesserte Regeneration der Skelettmuskulatur [42]. Angiopoietin-1 (Ang-1) ist essentiell für die Entstehung reifer, wandstarker Blutgefäße [43] und zeigte synergistische Wirkung mit VEGF [44]. Platelet derived growth factor (PDGF-BB) vermag Perizyten im Rahmen der mikrovaskulären Angiogenese zu rekrutieren [45, 46]. Monozytenchemotaktisches Protein (monocyte chemotactic peptide; MCP-1) und Granulozytenkolonie-stimulierender Faktor (granulocyte colony stimulating factor; G-CSF) zählen zu den rekrutierenden angiogenetischen Zytokinen [6, 47].

## ■ Die Rolle endothelialer Progenitorzellen bei Angiogenese und Vaskulogenese

Endotheliale Progenitorzellen (EPC) wurden erstmals im peripheren Blut als eine kleine Population CD34<sup>+</sup>-positiver mononukleärer Zellen beschrieben, welche gleichzeitig die frühen hämatopoetischen Stammzellmarker AC133 und VEGF-R2 tragen [7]. Diese Zellen sind sogenannte Transitzellen mit bereits endothelialer Programmierung, aber noch erhaltener Stammheit: Das bedeutet, daß sie einerseits eine echte Selbsterneuerungskapazität mit proliferativem Potential besitzen, andererseits die Fähigkeit haben, in verschiedene differenzierte Gewebe auszureifen. Auf fibronectinbeschichteten Kulturschalen bilden diese Zellen *in vitro* zunächst clusterartige Zellhaufen, später tubuläre und retikuläre gefäß-

artige Strukturen aus. Immunhistochemisch sind diese Zellen durch die Aufnahme von acetyliertem Di-LDL und der positiven Anfärbung mit Ulex Europeus Lectin (Abb. 2) gekennzeichnet; spätere Stadien von EPC tragen neben CD34<sup>+</sup> die Marker CD31<sup>+</sup>, VEGF-R2, VE-Cadherin, von Willebrand-Faktor, Tie-2 sowie E-Selectin und bilden NO.

Verglichen mit ihrer Konzentration im peripheren Blut sind CD34<sup>+</sup>-positive Zellen in bis zu 100fach höherer Zahl im Knochenmark enthalten [48] (Abb. 3) und durch Erhöhung des peripheren VEGF-Spiegels aus dem Knochenmark mobilisierbar [49]. Da im ischämischen Gewebe der hypoxieinduzierbare Transkriptionsfaktor HIF-1 $\alpha$  hochreguliert wird, welcher die VEGF-Transkription verstärkt, entsteht ein Gradient, entlang welchem EPC in das ischämisch geschädigte Gewebe migrieren können. Dort angelangt, werden EPC in das residente Kapillarnetz inkorporiert, wo sie proliferieren und angiogenetische Wachstumsfaktoren abgeben, was zur Angiogenese durch Aussprossen neuer Kapillaren beiträgt. EPC können aber auch über weite Strecken migrieren [8] und als lumenlose Angioblasten durch postnatale Vaskulogenese neue Gefäßplexen in avaskulärem Gewebe *de novo* entstehen lassen – ein Prozeß, der eigentlich als mit der Embryogenese abgeschlossen gedacht war.

■ Endotheliale Progenitorzellen und kardiovaskuläre Risikofaktoren

Während die akute Ischämie zu einer verstärkten Ausschwemmung endothelialer Progenitorzellen aus dem Knochenmark führt [31], korrelieren die klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren negativ mit der Anzahl zirkulierender EPC [50]. In Patienten mit diabetischer Stoffwechsellage wurde weiters eine gestörte Proliferations-, Migrations- und Adhäsionsfähigkeit von EPC festgestellt [51]. Die endotheliale Dysfunktion, ein früher Marker vaskulären Schadens, assoziiert mit reduzierter endogener NO-Produktion, korreliert ebenfalls mit einer verminderten peripheren EPC-Konzentration [52]. Die Beobachtung, daß ältere ApoE<sup>-/-</sup>-defiziente Mäuse weniger endotheliale Knochenmarksstammzellen in spontane aortale Endotheldefekte inkorporieren als jüngere Tiere und größere atherosklerotische Plaques ausbilden, unterstützt das Konzept der kontinuierlichen Rejuvenation von Gefäßstrukturen durch zirkulierende EPCs sowie der Erschöpfung des EPC-Pools im höheren Alter als mögliche

Ursache bleibender atherosklerotischer Schäden [53]. In diesem Zusammenhang ist eine verbesserte Mobilisation von EPC insbesondere unter HMG-Co-Enzym-A-Reduktase-Inhibitoren zu erwähnen [54, 55].

■ Potentielle Risiken der therapeutischen Angiogenese

Die Induktion der Tumorangiogenese oder der proliferativen Retinopathie und die Destabilisierung atherosklerotischer

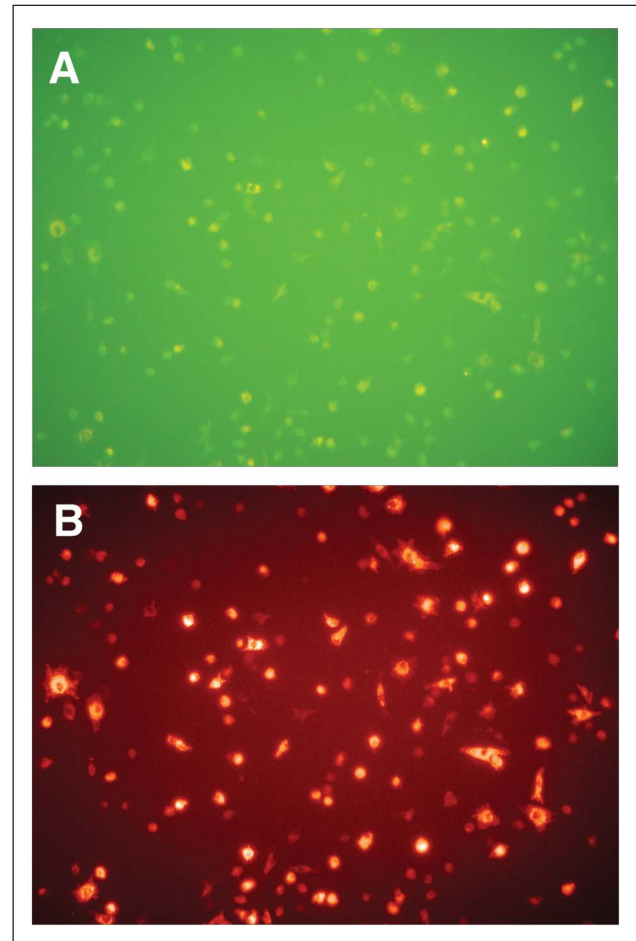


Abbildung 2: Endotheliale Progenitorzellen aus peripherem Blut doppelt positiv für Ulex Europeus Lectin (A) und acetyliertes Di-LDL (B)

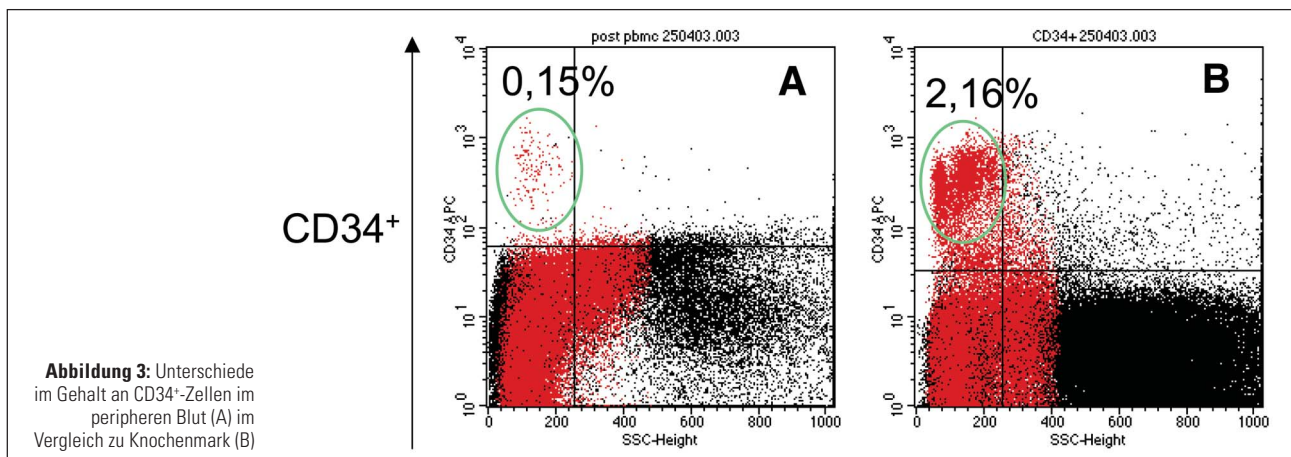


Abbildung 3: Unterschiede im Gehalt an CD34<sup>+</sup>-Zellen im peripheren Blut (A) im Vergleich zu Knochenmark (B)

Plaques durch Plaqueangiogenese stellen, zumindest theoretisch, potentielle Gefahren für die Anwendung der therapeutischen Angiogenese dar [56]. Die beiden ersteren sind durch aufmerksame Voruntersuchung und Selektion der Patienten zu vermeiden. Plaquedestabilisierung wurde insbesondere für die Verwendung von MCP-1 zur therapeutischen Angiogenese postuliert [57, 58]. Auch in einem Fall der autologen Knochenmarkszelltherapie bei Patienten mit PAVK kam es zu einem akuten Myokardinfarkt trotz lokaler intramuskulärer Applikation der Stammzellen [59]. Ob es sich hierbei um eine echte unerwünschte Nebenwirkung der therapeutischen Angiogenese oder eine reine Koinzidenz handelte, werden Studien mit größerer Fallzahl zeigen.

## ■ Klinische Studien zur therapeutischen Angiogenese bei PAVK

### Gentherapie und rekombinante angiogenetische Wachstumsfaktoren

Die erste, nichtrandomisierte Studie, in welcher die intramuskuläre VEGF-Gentherapie an 9 Patienten mit PAVK-III/IV bzw. Thrombangitis obliterans getestet wurde, ergab Hinweise darauf, daß der erzielte transiente VEGF-Anstieg zu einer Induktion der Angiogenese in der ischämischen Extremität geführt hat [22]. Die nackte Plasmid-DNA mit VEGF<sub>165</sub> als Transgen wurde dabei in einer Gesamtdosis von 4 g intramuskulär verabreicht. Über die gesamte Gruppe kam es zu einem signifikanten Anstieg des Dopplerdruckindex (RR-Verhältnis Knöchel/Oberarm = anke brachial index; ABI) 4 Wochen nach Gentransfer; bei 4 von 7 betroffenen Extremitäten kam es zu einer beschleunigten Abheilung der Ulzera, und alle Patienten gaben eine signifikante Reduktion des Ruheschmerzes sowie ihres Analgetikabedarfs an. Mittels Magnetresonanz (MR)-Angiographie und konventioneller Kontrastmittelangiographie (i.a. DSA) wurde eine im Verhältnis zum Ausgangspunkt vermehrte Kollateralgefäßbildung dokumentiert. Als einzige unerwünschte Nebenwirkung wurde eine passagere ödematöse Schwellung der VEGF-behandelten Extremität bei 6 von 9 Patienten beobachtet.

Im Gegensatz zu dieser ersten, nichtkontrollierten Studie kam die RAVE-Studie (Regional Angiogenesis with Vascular Endothelial growth factor), in der insgesamt 105 Patienten placebokontrolliert und in zwei Studiengruppen randomisiert entweder  $4 \times 10^9$  oder  $4 \times 10^{10}$  koloniebildende Einheiten AdVEGF<sub>121</sub> intramuskulär verabreicht bekamen, nicht zum Schluß einer signifikanten Verbesserung der peripheren Perfusion, obwohl der adenovirale Vektor zu wesentlich höheren lokalen (wie systemischen) VEGF-Spiegeln geführt haben mußte, als das nackte phVEGF<sub>165</sub>-Plasmid [60]. Neben dem vorteilhaften Unterschied in der Größe der Studienpopulation und der Tatsache, daß es sich um eine kontrollierte Studie handelte, sind die weichen Einschlusskriterien in RAVE hinsichtlich des ABI ( $0,6 \pm 0,2!$ ) sowie der ausschließlich unilaterale PAVK-Typ zu bemängeln. Zudem gab es einen signifikant höheren Anteil an bettlägerigen Patienten in den beiden Studiengruppen im Vergleich zur Placebogruppe. Inwieweit der VEGF<sub>121</sub>-Isotyp eine Rolle für das negative Ergebnis gespielt haben könnte, ist nicht abzuschätzen. Neben der Ineffektivität wurde als unerwünschte Nebenwirkung wiederum ein ver-

mehrtes Auftreten von Beinödemen in der behandelten Extremität konstatiert, ein indirekter Hinweis auf suffiziente VEGF-Genexpression (VEGF = VPF).

Die bis dato größte randomisierte, multizentrische Doppelblindstudie zur therapeutischen Angiogenese als Behandlung der intermittierenden Claudicatio (TRAFFIC-Studie; Chiron Corporation, Emeryville, CA, USA) untersuchte die klinische Effizienz der intraarteriellen Infusion von rekombinantem FGF-2. Innerhalb von 30 Tagen wurden 190 Patienten in drei Gruppen (1:1:1) randomisiert und erhielten entweder rFGF-2 (30 µg/kg KG) als Doppelbolus (Tag 1 und 30), eine Kombination von rFGF-2-Bolus (Tag 1) und Placebo (Tag 30) oder einen Doppelbolus Placebo (Tag 1 und Tag 30) intraarteriell verabreicht [23]. Die maximale Gehstrecke als primärer Endpunkt verbesserte sich um 1,77 Minuten in der Einzeldosis-FGF-2-Gruppe und um 1,54 Minuten in der Doppeldosis-FGF-2-Gruppe, verglichen mit 0,6 Minuten Gehzeitverbesserung in der Placebogruppe. Die statistische Analyse, in der alle 190 eingeschlossenen Patienten entsprechend der Absicht zu Behandeln (intention to treat) verglichen wurden, ergab eine knapp signifikante Verbesserung in den Verumgruppen verglichen mit Placebo ( $p = 0,034$ ). Der Paarvergleich blieb signifikant zwischen Placebo und Einzeldosis-therapie, nicht aber zwischen Placebo und Doppeldosis-therapie [23]. Die Autoren schlossen aus ihren Daten einen Hinweis auf eine effiziente therapeutische Angiogenese durch die intraarterielle Infusion des angiogenetischen Proteins FGF-2.

### Autologe Stammzelltherapie

Nach zahlreichen tierexperimentellen Ansätzen [5, 48] konnte eine japanische Arbeitsgruppe (TACT Study Investigators) 2002 erstmals Daten präsentieren, welche eine klinische Relevanz der therapeutischen Angiogenese durch eine autologe Stammzelltherapie für Patienten mit chronisch kritischer Extremitätenischämie dokumentierten [59]. Bei 22 Patienten mit bilateraler PAVK-III/IV wurde doppelblind randomisiert jeweils ein Bein mit peripheren mononukleären Zellen, das andere mit mononukleären Zellen aus dem Knochenmark durch intramuskuläre Injektion behandelt. Bereits 4 Wochen später wurde eine signifikante Besserung der klinischen Symptomatik, mit Verminderung des Ruheschmerzes, Verlängerung der schmerzfreien Gehstrecke sowie Besserung des Dopplerdruckindex ABI (Knöchel-RR/Oberarm-RR) und eine Reduktion der transkutanen O<sub>2</sub>-Spannung durch eine verstärkte Kollateralgefäßbildung in den mit Knochenmarksstammzellen behandelten Extremitäten registriert. Die Autoren führten das bessere klinische Ergebnis der Behandlung mit Knochenmarksstammzellen verglichen mit peripheren mononukleären Zellen auf die bis zu 100fach höhere Anzahl CD34<sup>+</sup>-positiver Zellen im Knochenmark (Abb. 2) zurück. Bei 7 von 10 (70 %) Extremitäten konnte eine drohende Amputation abgewendet werden; vormals nicht heilende ischämische Ulzera heilten bei 6 von 10 Patienten aus.

## ■ Zusammenfassung und Ausblick

Aktuell werden in vielen universitären Zentren unterschiedliche Strategien der therapeutischen Angiogenese auf ihre klinische Effizienz hin getestet. Die Transplantation autologer Stammzellen stellt derzeit den letzten klinisch realisierten

Entwicklungsschritt dieser Therapieform dar. Als mögliche Weiterentwicklung läßt sich, aus jüngsten tierexperimentellen Ergebnissen abgeleitet, die Stammzellmobilisation in Kombination mit gesteuertem „Zell-Homing“ absehen. Während die Mobilisation endothelialer Progenitorzellen aus dem Knochenmark bereits eine Routinemethode der Transfusionsmedizin darstellt, wie sie in Kombination mit der Leukaphese seit mehr als 10 Jahren zur Gewinnung von Knochenmark Verwendung findet, ist die gezielte Steuerung der Migration endothelialer Progenitorzellen in ischämische Areale noch ein Thema intensiver Forschung.

## Literatur

- Second European Consensus Document on chronic critical leg ischemia. *Circulation* 1991; 84 (Suppl 4): IV1-IV26.
- Criqui MH, Fronck A, Barrett-Connor E, Klauber MR, Gabriel S, Goodman D. The prevalence of peripheral arterial disease in a defined population. *Circulation* 1985; 71: 510-5.
- Albers M, Fratezi AC, De Luccia N. Assessment of quality of life of patients with severe ischemia as a result of infrainguinal arterial occlusive disease. *J Vasc Surg* 1992; 16: 54-9.
- Rissanen TT, Vajanto I, Yla-Herttuala S. Gene therapy for therapeutic angiogenesis in critically ischaemic lower limb – on the way to the clinic. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 651-66.
- Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Kalka-Moll WM, Silver M, Kearney M et al. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3422-7.
- Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999; 5: 434-8.
- Asahara T. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964-7.
- Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997; 386: 671-4.
- Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1995; 11: 73-91.
- Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu XF, Breitman ML et al. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature* 1995; 376: 62-6.
- Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996; 380: 435-9.
- Risau W. What, if anything, is an angiogenic factor? *Cancer Metastasis Rev* 1996; 5: 149-51.
- Sato TN, Tazawa Y, Deutsch U, Wolburg-Buchholz K, Fujiwara Y, Gendron-Maguire M et al. Distinct roles of the receptor tyrosine kinases Tie-1 and Tie-2 in blood vessel formation. *Nature* 1995; 376: 70-4.
- Puri MC, Rossant J, Alitalo K, Bernstein A, Partanen J. The receptor tyrosine kinase Tie is required for integrity and survival of vascular endothelial cells. *Embo J* 1995; 14: 5884-91.
- Patan S, Haenni B, Burri PH. Implementation of intussusceptive microvascular growth in the chicken chorioallantoic membrane (CAM): 1. Pillar formation by folding of the capillary wall. *Microvasc Res* 1996; 51: 80-98.
- Resnick N, Gimbrone MA Jr. Hemodynamic forces are complex regulators of endothelial gene expression. *Faseb J* 1995; 9: 874-82.
- Franke RP, Grafe M, Schnittler H, Seiffge D, Mittermayer C, Drenckhahn D. Induction of human vascular endothelial stress fibres by fluid shear stress. *Nature* 1984; 307: 648-9.
- Carmeliet P, Mackman N, Moons L, Luther T, Gressens P, Van Vlaenderen I et al. Role of tissue factor in embryonic blood vessel development. *Nature* 1996; 383: 73-5.
- Antonelli-Orlidge A, Saunders KB, Smith SR, D'Amore PA. An activated form of transforming growth factor beta is produced by cocultures of endothelial cells and pericytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 4544-8.
- Johnson DW, Berg JN, Baldwin MA, Gallione CJ, Marondel I, Yoon SJ et al. Mutations in the activin receptor-like kinase 1 gene in hereditary haemorrhagic telangiectasia type 2. *Nat Genet* 1996; 13: 189-95.
- Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246: 1306-9.
- Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, Blair R, Kearney M, Walsh K et al. Constitutive expression of rhVEGF165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 1998; 97: 1114-23.
- Lederman RJ, Mendelsohn FO, Anderson RD, Saucedo JF, Tenaglia AN, Hermiller JB et al. Therapeutic angiogenesis with recombinant fibroblast growth factor-2 for intermittent claudication (the TRAFFIC study): a randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 2053-8.
- Semenza GL. Surviving ischemia: adaptive responses mediated by hypoxia-inducible factor 1. *J Clin Invest* 2000; 106: 809-12.
- Stein I, Neeman M, Shweiki D, Itin A, Keshet E. Stabilization of vascular endothelial growth factor mRNA by hypoxia and hypoglycemia and coregulation with other ischemia-induced genes. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 5363-8.
- Matsunaga T, Wartier DC, Weirauch DW, Moniz M, Tessmer J, Chilian WM. Ischemia-induced coronary collateral growth is dependent on vascular endothelial growth factor and nitric oxide. *Circulation* 2000; 102: 3098-103.
- Laitinen M, Zachary I, Breier G, Pakkanen T, Hakkinen T, Luoma J et al. VEGF gene transfer reduces intimal thickening via increased production of nitric oxide in carotid arteries. *Hum Gene Ther* 1997; 8: 1737-44.
- Gille H, Kowalski J, Li B, LeCouter J, Moffat B, Zionscheck TF et al. Analysis of biological effects and signaling properties of Flt-1 (VEGFR-1) and KDR (VEGFR-2). A reassessment using novel receptor-specific vascular endothelial growth factor mutants. *J Biol Chem* 2001; 276: 3222-30.
- Gerber HP, McMurtry A, Kowalski J, Yan M, Keyt BA, Dixit V et al. Vascular endothelial growth factor regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. Requirement for Flk-1/KDR activation. *J Biol Chem* 1998; 273: 30336-43.
- Shen BQ, Lee DY, Zionscheck TF. Vascular endothelial growth factor governs endothelial nitric oxide synthase expression via a KDR/Flk-1 receptor and a protein kinase C signaling pathway. *J Biol Chem* 1999; 274: 33057-63.
- Asahara T, Takahashi T, Masuda H, Kalka C, Chen D, Iwaguro H et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Embo J* 1999; 18: 3964-72.
- Barleon B, Sozzani S, Zhou D, Weich HA, Mantovani A, Marme D. Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1. *Blood* 1996; 87: 3336-43.
- Galzie Z, Kinsella AR, Smith JA. Fibroblast growth factors and their receptors. *Biochem Cell Biol* 1997; 75: 669-85.
- Ornitz DM, Xu J, Colvin JS, McEwen DG, MacArthur CA, Coulier F et al. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. *J Biol Chem* 1996; 271: 15292-7.
- Klint P, Claesson-Welsh L. Signal transduction by fibroblast growth factor receptors. *Front Biosci* 1999; 4: D165-D177.
- Xu X, Weinstein M, Li C, Deng C. Fibroblast growth factor receptors (FGFRs) and their roles in limb development. *Cell Tissue Res* 1999; 296: 33-43.
- Deroanne CF, Hajitou A, Calberg-Bacq CM, Nussgens BV, Lapiere CM. Angiogenesis by fibroblast growth factor 4 is mediated through an autocrine up-regulation of vascular endothelial growth factor expression. *Cancer Res* 1997; 57: 5590-7.
- Asahara T, Bauters C, Zheng LP, Takeshita S, Bunting S, Ferrara N et al. Synergistic effect of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis in vivo. *Circulation* 1995; 92 (Suppl): II365-II371.
- Morishita R, Nakamura S, Hayashi S, Taniyama Y, Moriguchi A, Nagano T et al. Therapeutic angiogenesis induced by human recombinant hepatocyte growth factor in rabbit hind limb ischemia model as cytokine supplement therapy. *Hypertension* 1999; 33: 1379-84.
- Aoki M, Morishita R, Taniyama Y, Kida I, Moriguchi A, Matsumoto K et al. Angiogenesis induced by hepatocyte growth factor in non-infarcted myocardium and infarcted myocardium: up-regulation of essential transcription factor for angiogenesis, etc. *Gene Ther* 2000; 7: 417-27.
- Van Belle E, Witzensichler B, Chen D, Silver M, Chang L, Schwall R et al. Potentiated angiogenic effect of scatter factor/hepatocyte growth factor via induction of vascular endothelial growth factor: the case for paracrine amplification of angiogenesis. *Circulation* 1998; 97: 381-90.
- Grounds MD. Muscle regeneration: molecular aspects and therapeutic implications. *Curr Opin Neurol* 1999; 12: 535-43.
- Shyu KG, Manor O, Magner M, Yancopoulos GD, Isner JM. Direct intramuscular injection of plasmid DNA encoding angiopoietin-1 but not angiopoietin-2 augments revascularization in the rabbit ischemic hindlimb. *Circulation* 1998; 98: 2081-7.
- Chae JK, Kim I, Lim ST, Chung MJ, Kim WH, Kim HG et al. Coadministration of angiopoietin-1 and vascular endothelial growth factor enhances collateral vascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2573-8.
- Edelberg JM, Aird WC, Wu W, Rayburn H, Mamuya WS, Mercola M et al. PDGF mediates cardiac microvascular communication. *J Clin Invest* 1998; 102: 837-43.
- Martins RN, Chleboun JO, Sellers P, Sleight M, Muir J. The role of PDGF-BB on the development of the collateral circulation after acute arterial occlusion. *Growth Factors* 1994; 10: 299-306.
- Ito WD, Arras M, Winkler B, Scholz D, Schaper J, Schaper W. Monocyte chemotactic protein-1 increases collateral and peripheral conductance after femoral artery occlusion. *Circ Res* 1997; 80: 829-37.
- Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Sasaki K, Duan J et al. Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation. *Circulation* 2001; 103: 897-903.
- Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Gordon R, Tepper O, Graveriaux E et al. Vascular endothelial growth factor(165) gene transfer augments circulating endothelial progenitor cells in human subjects. *Circ Res* 2000; 86: 1198-202.
- Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001; 89: E1-7.
- Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation* 2002; 106: 2781-6.
- Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003; 348: 593-600.
- Rauscher FM, Goldschmidt-Clermont PJ, Davis BH, Wang T, Gregg D, Ramaswami P et al. Aging, progenitor cell exhaustion, and atherosclerosis. *Circulation* 2003; 108: 457-63.
- Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, Aicher A, Martin H, Zeiher AM et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2001; 103: 2885-90.
- Llavadot J, Murasawa S, Kureishi Y, Uchida S, Masuda H, Kawamoto A et al. HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *J Clin Invest* 2001; 108: 399-405.
- Epstein SE, Kornowski R, Fuchs S, Dvorak HF. Angiogenesis therapy: amidst the hype, the neglected potential for serious side effects. *Circulation* 2001; 104: 115-9.
- Arras M, Ito WD, Scholz D, Winkler B, Schaper J, Schaper W. Monocyte activation in angiogenesis and collateral growth in the rabbit hindlimb. *J Clin Invest* 1998; 101: 40-50.
- Libby P, Geng YJ, Aikawa M, Schoenbeck U, Mach F, Clinton SK et al. Macrophages and atherosclerotic plaque stability. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 330-5.
- Tateishi-Yuyama E, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 427-35.
- Rajagopalan S, Mohler ER, 3rd, Lederman RJ, Mendelsohn FO, Saucedo JF, Goldman CK et al. Regional angiogenesis with vascular endothelial growth factor in peripheral arterial disease: a phase II randomized, double-blind, controlled study of adenoviral delivery of vascular endothelial growth factor 121 in patients with disabling intermittent claudication. *Circulation* 2003; 108: 1933-8.

# Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

## [Medizintechnik-Produkte](#)



Neues CRTD Implantat  
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno  
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:  
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3  
Labotect GmbH



InControl 1050  
Labotect GmbH

## e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

## [Bestellung e-Journal-Abo](#)

### Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)