

Michael Brehm, Tobias Zeus und Bodo Eckehard Strauer

Intrakoronare, humane autologe Stammzell-Therapie beim akuten Herzinfarkt

Einleitung

Die Therapie des akuten Herzinfarktes basiert überwiegend auf Maßnahmen, die das Ziel haben, die Infarktzone zu begrenzen, eine Ausdehnung des Infarktareals zu verhindern, die Infarktkomplikationen zu vermeiden (u. a. Herzrhythmusstörungen, Herzinsuffizienz) und dem *Remodeling* vorzubeugen, das heißt den für die Ventrikeldynamik und Herzfunktion ungünstigen strukturellen Umbauvorgängen. Dazu sind medikamentöse (Thrombozytenhemmung, Antikoagulation, Thrombolyse, herzentlastende Medikamente etc.) sowie mechanische Therapieverfahren (Ballon, Stent u. a.) verfügbar.

Hat sich ein transmuraler Herzinfarkt manifestiert und ist ein myokardialer Schaden entstanden, werden Herzmuskelzellen irreparabel geschädigt. Eine Regeneration durch teilungsfähige Vorläuferzellen findet nur bedingt statt.¹ Die Infarktzone ist zentral nekrotisch, avital und vernarbt. In der Regel bleibt eine minimale Restperfusion erhalten. In Abhängigkeit von der initialen Infarktgröße entwickelt sich ein struktureller Umbau des Ventrikels (*Remodeling*), das heißt, es kommt zur Ventrikeldilatation und zur weiteren Abnahme der Ventrikelfunktion². Durch den rechtzeitigen Einsatz der oben genannten pharmakologischen³ und mechanischen Therapieverfahren⁴ lässt sich die Größe der sich entwickelnden Infarktzone begrenzen. Die Rückbildung einer bereits entstandenen Myokardnekrose ist dadurch nicht möglich.

Eine Neogenese an Herzmuskelzellen im Sinne einer Myoneogenese sowie, in begrenztem Umfang, eine Neogenese der Gefäße im Sinne einer Angiogenese könnte entsprechend einer Kausaltherapie eine Verbesserung der Funktion und einen Schutz vor *Remodeling* bewirken. Dadurch könnte die zentralnekrotische, avitale und vernarbte Infarktzone erneut durchblutet und mit kontraktionsfähiger Substanz regeneriert werden. Experimentelle Daten weisen darauf hin, dass dies mit autologen Knochenmarkzellen möglich ist.⁵

Auf der Basis dieser experimentellen Studien haben wir uns fünf klinische Fragen gestellt: ob 1. eine Infarktbehandlung auch am Patienten unter klinischen Bedingungen mittels Stammzelltherapie möglich ist, ob 2. humane autologe, adulte Knochenmarkzellen

¹ Beltrami *et al.* (2001).

² Bolognese *et al.* (1997).

³ Califf *et al.* (1994); Christian *et al.* (1992).

⁴ Antoniucci *et al.* (1998); Grines *et al.* (1999); Suryapranata *et al.* (1998).

⁵ Dorfman *et al.* (1998); Kessler und Byrne (1999); Kocher *et al.* (2001); Orlic *et al.* (2001a); Orlic *et al.* (2001b).

nach entsprechender Separation der hämatopoetischen Zellen zum myokardialen Zellersatz geeignet sind, ob 3. der intrakoronare Transplantationszugang, das heißt der Zugang seitens des das Infarktgebiet und die Randzone versorgenden Koronargefäßsystems, mittels Herzkathetertechniken therapeutisch realisierbar ist, ob 4. es im therapeutischen Langzeitverlauf nach Herzinfarkt und Stammzelltherapie zur Ventrikelfunktionsverbesserung kommt, die darauf hindeutet, dass das übliche *Remodeling* verzögert bzw. gar verhindert wird und ob 5. der mit Stammzellen behandelte Herzmuskel im Infarktgebiet tatsächlich eine Zellregeneration erfährt mit Verbesserung der myokardialen Perfusion, einer Zunahme der Ventrikelfunktion und erneuter Vitalität, das heißt, ob es zu tatsächlichen Neubildungen von Gefäßzellen und Herzmuskelzellen kommt.

Bis jetzt wurden in unserer Klinik 14 Patienten mit akutem Herzinfarkt intrakoronar mit humanen autologen Stammzellen behandelt. Im Folgenden möchten wir die klinischen Daten und Untersuchungsergebnisse des ersten behandelten Patienten darstellen und zeigen, dass eine Infarktbehandlung am Menschen mit dem dargestellten Verfahren möglich und klinisch nutzbar ist.

Pathophysiologie des Myokardinfarktes

Ein akuter Myokardinfarkt wird in mehr als 80 Prozent der Fälle durch einen thrombotischen Verschluss einer Koronararterie bei vorbestehender stenosierender Atheromatose und vorausgegangener Ruptur dieses atheromatösen Plaques verursacht.⁶ Die Dauer des thrombotischen Gefäßverschlusses bestimmt die Infarktgröße. Eine rasche, effektive und langanhaltende Rekanalisation der Infarktarterie, die einen größeren Myokardverlust und ein späteres ventrikuläres *Remodeling* verhindert, ist für die Langzeitprognose nach einem akuten Myokardinfarkt entscheidend, und sie bestimmt neben der kardial bedingten Mortalität auch die Lebensqualität des Patienten.

Definition des akuten transmuralen Myokardinfarktes

Klinisch wird der Myokardinfarkt nach der Weltgesundheitsorganisation (WHO) durch das Auftreten von mindestens zwei der drei nachfolgend genannten Kriterien definiert: 1. typische pektanginöse Symptome, 2. pathologischer Anstieg kardialer Enzyme im Serum (Kreatinin-Kinase MB) und 3. Infarkt-typische EKG-Veränderungen einschließlich der Ausbildung von Q-Zacken.

Primäre medikamentöse Therapie des akuten transmuralen Myokardinfarktes

Durch die intravenöse Applikation von Heparin und Acetylsalicylsäure (bis 500 mg) wird bis zur systemischen Thrombolyse bzw. bis zur perkutanen koronaren Intervention (PCI) das weitere Wachstum des intravasalen Thrombus und eine Embolisation thrombotischen Materials in die nachgeschaltete Mikrozirkulation begrenzt.⁷ Der gefäßverschließende in-

⁶ Davies und Thomas (1985).

⁷ Erbel und Heusch (1999).

travasale Thrombus kann erst durch die Einführung der systemischen Thrombolyse aufgelöst werden. Die Infarktgröße ließ sich dadurch begrenzen.

Sowohl während des Myokardinfarktes als auch während der systemischen Thrombolyse und der perkutanen koronaren Intervention kommt es zu einer systemischen Aktivierung von Thrombozyten mit veränderter Expression von P-Selektin und veränderter Bindungsaktivität des Fibrinogenrezeptors. Der Gefäß-verschließende Thrombus entsteht durch eine Quervernetzung von aktivierten Thrombozyten und Fibrinogen. Der Glykoprotein-IIa/IIIb Rezeptor der Integrin-Familie ist dafür verantwortlich. Eine effektive Blockade dieses Rezeptors wird durch die drei Substanzen Abxicimab⁸, Tirofiban⁹ und Eptifibatid¹⁰, Glykoprotein-IIa/IIIb Rezeptor-Antagonisten, bewirkt.

Interventionelle Therapie des transmuralen Myokardinfarktes

Durch eine primäre Angioplastie mit oder ohne begleitende Stent-Implantation wird bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt erreicht, dass 1. der thrombotische Verschluss der Infarktarterie vollständig wiedereröffnet wird, 2. die zugrunde liegende Stenose bzw. Plaqueruptur zeitgleich beseitigt und ein stabiles Langzeitresultat mit einer geringen Rate an thrombotischen Reverschlüssen erreicht wird und 3. die frühzeitige Kenntnis des kompletten Koronarstatus, insbesondere bei koronarer Mehrgefäßerkrankung, eine rechtzeitige und spezifische Differentialtherapie hinsichtlich Zeitpunkt und Ausmaß weiterer Rekanalisationsmaßnahmen möglich macht (perkutane koronare Intervention oder aorto-koronarvenöse Bypassoperation)¹¹.

Der akute Erfolg einer systemischen Thrombolyse wie einer primären perkutanen koronaren Intervention und die langfristige kardiovaskuläre Prognose wird bestimmt 1. durch einen hohen Anstieg von Herzenzymen CK, CKMB, Troponin T, Troponin I, welche einen ausgedehnten myokardialen Schaden und entsprechend eine deutliche Einschränkung der linksventrikulären Funktion bis hin zum kardiogenen Schock anzeigen, 2. ein geringes oder fehlendes Ausmaß an koronaren Kollateralen, 3. einen vorbestehenden Diabetes mellitus und 4. eine vorausgegangene erfolglose systemische Lyse.

Adulte autologe Stammzell-Therapie zur Behandlung des akuten Myokardinfarktes

Ist trotz rascher medikamentöser und interventioneller Therapie eine Myokardnekrose entstanden, so ist mit einem Untergang an Kardiomyozyten und dem Verlust an kontraktile Strukturen zu rechnen, so dass eine Narbe im Myokard zurückbleibt¹². In Abhängigkeit von der Größe des Infarktes und in Abhängigkeit der eingeschränkten Auswurfraction des linken Herzens kommt es zu Herzrhythmusstörungen und zur akuten Herzinsuffizi-

⁸ Califf *et al.* (1994).

⁹ King *et al.* (1997).

¹⁰ Harrington *et al.* (1998).

¹¹ Kelm und Strauer (2000).

¹² Sechtem (2001).

enz. Die Auswurfraction korreliert mit der Mortalität nach einem Myokardinfarkt.¹³ 30 Prozent der Patienten entwickeln im chronischen Infarktstadium eine progrediente Pumpfunktionsverschlechterung aufgrund des ventrikulären *Remodelings* des Restventrikels.¹⁴

Um das fehlerhafte *Remodeling* zu verhindern, die Pumpfunktion des Herzens zu verbessern und die Mortalität zu senken, ist eine Reduktion des Infarktareals von grundlegender und kausaltherapeutischer Bedeutung. Das Herz selbst ist nicht in der Lage, Herzmuskel und kleine Herzgefäße zu regenerieren. Kardiomyozyten und Endothelzellen sind nach einem Myokardinfarkt beim Menschen nur bedingt reparabel.¹⁵ Bisher konnten Regenerationszellen des Herzens nicht eindeutig belegt werden. Mit einer Zellersatztherapie könnte eine Restitution und Organprotektion erreicht werden durch eine Neogenese von Kardiomyozyten und Endothelzellen.¹⁶

Stammzellbiologie

Neben den embryonalen Stammzellen sind die adulten Stammzellen, die in der humanen mononukleären Zellfraktion enthalten sind, in der Lage, im Tiermodell durch Myogenese und Vaskulogenese das Infarktareal zu vermindern. Als Stammzellen werden diejenigen Zellen bezeichnet, die neben dem Potential, sich in reifere Stadien und verschiedene Zellreihen differenzieren zu können, noch die Fähigkeit besitzen, sich selbst zu erneuern, ohne dabei ihre Pluripotenz einzubüßen. 1998 isolierten Thompson¹⁷ und Gearhart¹⁸ getrennt voneinander humane Zellen mit den pluripotenten Eigenschaften von embryonalen Stammzellen. Diese Leistung eröffnete den Weg für die klinische Anwendung der Stammzelltherapie: Ersatz von erkranktem oder degeneriertem Zellgewebe und Organen.

Fallbeispiel zur intrakoronaren, humanen autologen Stammzell-Transplantation zur Myokardregeneration nach Herzinfarkt

Klinischer Verlauf

Der 46-jährige Patient, der erstmals fünf Wochen vor dem Infarktereignis über zunehmende linksthorakale und präkordial lokalisierte, zunächst belastungsabhängige, dann Ruheschmerzen klagte, wurde uns 14 Stunden nach Infarktbeginn zur invasiven Therapie überwiesen. Die sofort eingeleitete Diagnostik zeigte einen Verschluss des *Ramus Interventricularis Anterior* (RIVA), der linken Koronararterie, der sofort mittels Ballondilatation (PTCA plus Stent) rekanalisiert werden konnte. Das diagnostische und therapeutische Vorgehen ist standardisiert.¹⁹ Ventrikulographisch bestand eine Akinesie von Herzspitze und Vorderwand sowie von Teilen des Septums, die angrenzenden Teile der Vorderwand sowie der Hinterwand waren hypokinetisch. Die akinetische Infarktgröße betrug 24,6 Pro-

¹³ Christian *et al.* (1992).

¹⁴ Bolognese *et al.* (1997).

¹⁵ Beltrami *et al.* (2001).

¹⁶ Dorfman *et al.* (1998); Kessler und Byrne (1999); Menasché *et al.* (2001); Reinlib und Field (2000).

¹⁷ Thompson (1998).

¹⁸ Shablott *et al.* (1998).

¹⁹ Strauer *et al.* (1996).

zent der Circumferenz des linken Ventrikels. Nach der mechanischen Rekanalisation war der Patient beschwerdefrei. Infarkt komplikationen traten nicht auf.²⁰ Nach ausführlicher Aufklärung und bereits früher zu diesem Verfahren eingeholter Zustimmung seitens der Ethikkommission wurde das detailliert vorbereitete Programm zur Stammzelltransplantation initiiert.

Spezielle Untersuchungsverfahren

Die Voruntersuchungen (vor Stammzelltransplantation, 30. März 2001) erfolgten zwischen dem 27. und dem 30. März 2001: Elektrokardiogramm in Ruhe und Belastung, 24-Stunden-Langzeit-EKG, ²⁰¹Thallium-Myokardszintigraphie in SPECT-Technik (Ruhe/Belastung) mit quantifizierender ²⁰¹Thallium-Szintimetrie (Bull's-eye-Technik), Dobutamin-Stressechokardiographie, Ruheechokardiographie, Radionuklidventrikulographie, Rechtsherzkatheteruntersuchung in Ruhe und Belastung sowie entsprechende Laboruntersuchungen.

Zur Verlaufsbeurteilung und Quantifizierung des Therapieresultates der Stammzelltransplantation erfolgten die Nachuntersuchungen (Ruhe-/Belastungs-EKG, ²⁰¹Thallium SPECT, Rechtsherzkatheter in Ruhe und Belastung, Radionuklidventrikulographie sowie Dobutamin-Stressechokardiographie) zehn Wochen nach der Erstdiagnostik (zwischen dem 13. und dem 19. Juni 2001).

Stammzellgewinnung

Ziel war es, aus autologem Knochenmarkspunktat des Infarktpatienten eine Anreicherung an mononukleären Zellen zu erreichen. Dazu wurden vier Tage nach Infarkt in Lokalanästhesie 40 ml heparinisiertes Knochenmark gewonnen, additiv 20 ml peripheres heparinisiertes Patientenblut. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte unter strikten Kautelen in der GMP-Anlage des Institutes für Transplantationsdiagnostik und Zelltherapeutika.²¹

Die mononukleären Knochenmarkszellen wurden mittels eines Ficoll-Dichte-Gradienten und Lymphozyten-Separationsmediums vom Patientenblut getrennt. Noch vorhandene Proerythroblasten, Erythroblasten und Erythrozyten wurden durch H₂O lysiert. Anschließend erfolgte die Zellkultivierung in X-Vivo 15 Medium, welches mit zwei Prozent autologem Plasma supplementiert wurde. Über Nacht wurden die mononukleären Zellen auf eine Zellzahl von 1x10⁶ Zellen/ml eingestellt und in Teflonbeuteln bei 37°C und fünf Prozent CO₂ inkubiert. Hierbei wurden weder Wachstumsfaktoren zugeführt noch eine Anreicherung einer Subpopulation induziert. Allerdings sollen durch die Kultivierung Adhäsionsmoleküle an der Zelloberfläche wie ICAM und VCAM verstärkt werden. Am Folgetag wurden die Zellen geerntet, mehrmals gewaschen und nach Viabilitäts- sowie Sterilitätstests in 20 ml heparinisierte Kochsalzlösung aufgenommen. Diese Zellsuspension wurde im Anschluss intrakoronar appliziert. Die Heparinisierung erfolgte, um Zell-Clotting und Mikroembolien während der Herzkatheteruntersuchung zu vermeiden. Die Anzahl der über Nacht kultivierten mononukleären Zellen betrug 1,21x10⁷ Zellen.

Stammzelltransplantation

Fünf Tage nach dem akuten Infarkt ereignis erfolgte die intrakoronare Stammzelltransplantation im Rahmen einer vorgezogenen Re-Koronarangiographie. Koronarangiographisch

²⁰ Strauer et al. (2001).

²¹ Kögler et al. (1998).

war das Infarktgefäß völlig offen. Nach Positionierung eines 7-F-Führungskatheters wurde ein 3,0 mm Ballonkatheter innerhalb des Infarktgefäßes positioniert, so dass die Ballonkatheterspitze circa 4 bis 10 mm vor dem Beginn der Infarktzone lag (Abb. 1). Anschließend erfolgte eine Niedrig-Druck-PTCA mit dem Ziel, einen intrakoronaren Verschluss ohne einen Blutrückstrom nach proximal zu gewährleisten. Anschließend wurde die gesamte Stammzellsuspension fraktioniert über jeweils fünf bis sechs Minuten, drei- bis viermal, mit Überdruck injiziert, bis die gesamte Infarktstrombahn einschließlich ihrer Randzonen – erkennbar am Auswascheffekt des vorher stehenden Kontrastmittels – mit Stammzellsuspension gefüllt war. Dadurch soll eine ausreichend lange Kontaktzeit der als intrakoronares Depot applizierten Stammzellen gewährleistet werden. Komplikationen traten nicht auf.

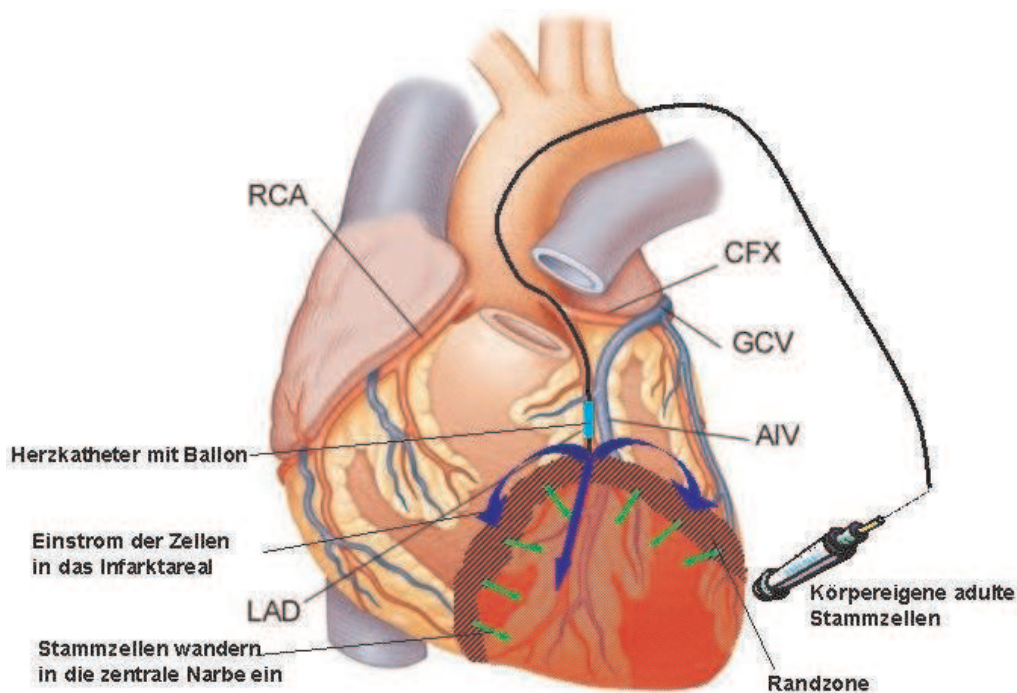


Abb. 1: Myokardregeneration nach Herzinfarkt durch Zellersatz mittels intrakoronarer autologer Stammzelltransplantation. Nach mechanischer Rekanalisation des Infarktgefäßes werden die humanen autologen Knochenmarksstammzellen intrakoronar in das Infarktgebiet mittels Stop-Flow-PTCA unter Überdruck-Perfusion eingebracht. Die in der gesunden Randzone angesiedelten autologen Stammzellen migrieren sekundär in das nekrotische Infarktareal und differenzieren in Kardiomyozyten und Endothelzellen, so dass es zur Verkleinerung des Infarktareals und funktionellen Verbesserung der linksventrikulären Ejektionsfraktion kommt.

Nachsorge

Nach Abschluss der Stammzelltransplantation war das Procedere wie üblich: Entfernung der Schleusen, Entlassung des Patienten am dritten Tag nach dem Eingriff, Nachbehandlung mit Acetylsalicylsäure (100 mg pro Tag), Clopidogrel für sechs Wochen, Metoprolol zweimal 50 mg pro Tag, vierwöchige Rehabilitation und nicht-invasive Nachkontrolle zehn Wochen danach (zwischen dem 13. und dem 19. Juni 2001).

Ergebnisse

Die Daten zeigen, dass ein 14 Stunden alter Vorderwandinfarkt erfolgreich mittels Ballon-PTCA und Stent-Implantation revaskularisiert werden konnte, dass eine Änderung der Infarktgröße dadurch nicht erreicht wurde und dass eine sechs Tage nach dem interventionellen Infarktgefäßeingriff vorgenommene autologe, intrakoronare Stammzelltransplantation zehn Wochen später zu einer eindrucksvollen Perfusionszunahme und Verbesserung der Ventrikelfunktion im Infarktgebiet mit Abnahme der Infarktgröße führte. Die Resultate zeigen insbesondere, dass die autologe Stammzelltransplantation am Menschen möglich ist, dass der intrakoronare Zugangsweg mittels "stop flow-PTCA" klinisch ohne weiteres realisierbar ist und dass eine Neovaskularisation und/oder Kardioneogenese ohne detektierbare Komplikationen erreichbar ist.

Die klinischen Kriterien des transmuralen Vorderwandinfarktes waren gegeben durch pathologische Q-Zacken in V_1 bis V_3 , ST-Hebungen in V_1 bis V_5 , terminale T-Negativierungen in V_1 bis V_4 und maximale Enzymanstiege auf 1172 U/l (CK) (CK-MB-Anteil: 108 U/l) bzw. auf 677 U/l (LDH). Die vergleichend bestimmte Infarktgröße zeigte, dass mit einer Akinesie von 24,6 Prozent der Circumferenz des linken Ventrikels ein Viertel des linken Ventrikels transmural infarziert war. Der proximale Verschluss des Infarktgefäßes (LAD) konnte durch mechanische Intervention (PTCA + Stent) komplett beseitigt werden, ohne dass die invasive Nachuntersuchung sechs Tage danach eine Änderung der Infarktgröße, bei offenem Infarktgefäß, ergab.

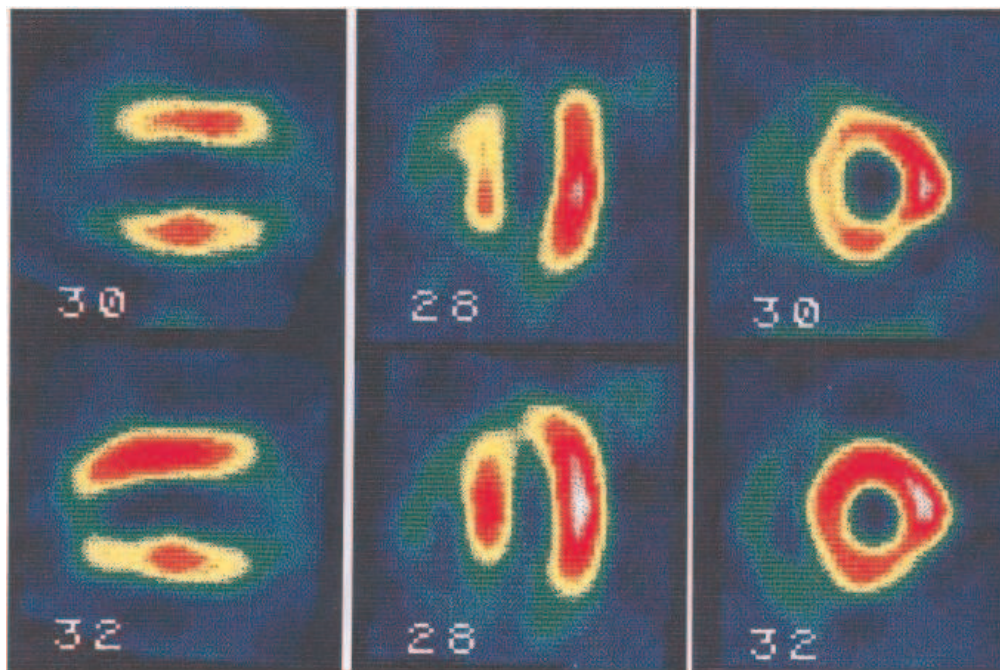


Abb. 2: Verbesserte Perfusion des Infarktareals zehn Wochen nach intrakoronarer Stammzellapplikation im Vergleich zum Ausgangsbefund vor Zelltherapie, nachgewiesen in der $^{201}\text{Thallium}$ sintigraphie. Vor Zelltherapie keine Traceranreicherung im Vorderwandspitzenareal in Ruhe und unter Belastung (oben) leichte Traceranreicherung im Randgebiet. Zehn Wochen nach Stammzelltherapie verbesserte Traceranreicherung im Vorderwandspitzengebiet in Ruhe und unter Belastung (unten) mit noch narbigen Anteilen.

Die ^{201}Tl Thalliumsintigraphie (SPECT) ergab vor Stammzelltransplantation (fünf Tage nach Infarkt) einen großen narbigen Befall im Vorderwandspitzengebiet (Abb. 2). Unter Belastung kam es lediglich zu einer leichten Tracer-Mehranreicherung im Gebiet der angrenzenden Vorderwand und Hinterwand (Randgebiete). Zehn Wochen nach durchgeführter Stammzelltransplantation war der avitale Defekt erheblich verkleinert, wenn auch nicht voll reversibel. Unter Belastung resultierte im Gegensatz zur Aufnahme vor Stammzelltransplantation eine starke Tracer-Mehrspeicherung des gesamten linken Ventrikels. Die quantifizierende ^{201}Tl Thallium-Szintimetrie mittels Bull's-eye-Technik ergab einen initialen Perfusionsdefekt von 145 cm^2 bzw. 36,8 Prozent aller darstellbaren linksventrikulären Myokardzonen (28. März 2001). Zehn Wochen nach Stammzelltransplantation war der Defektbezirk auf 97 cm^2 bzw. 28,3 Prozent verkleinert, entsprechend einer Abnahme des Schweregrades der Minderperfusion in allen vorher betroffenen Segmenten, im stärksten betroffenen Infarktsegment (D) von 74 auf 46 Prozent. Damit war infolge Stammzelltransplantation eine Infarktgrößenverkleinerung um circa ein Drittel erreicht worden (24,6 auf 15,7 Prozent).

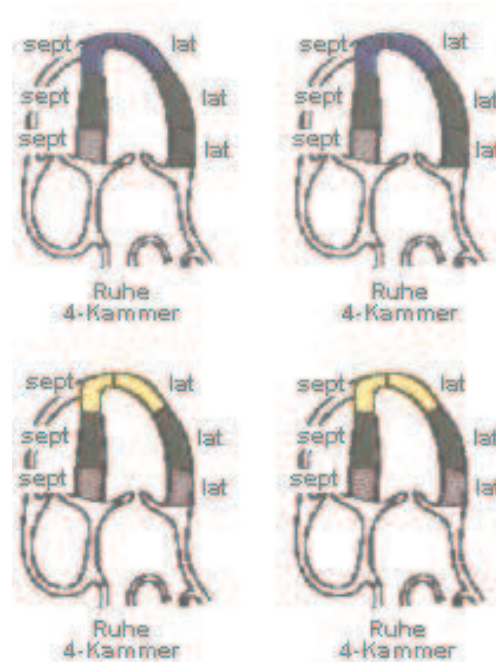


Abb. 3: Verbesserte Kontraktilität in der Dobutamin-Stressechokardiographie zehn Wochen nach intrakoronarer Stammzellapplikation im Vergleich zum Ausgangsbefund vor Zelltherapie. Die vor intrakoronarer Stammzelltransplantation nachgewiesene Akinesie der Vorderwandspitze ist zehn Wochen nach Zelltherapie nicht mehr nachweisbar. Schematisch dargestellt sind die Ruhephase sowie die Dobutamin induzierte Belastungsphase unmittelbar nach Infarktereignis und zehn Wochen nach Stammzellapplikation.

Die Dobutamin-Stressechokardiographie zeigte vor Stammzelltransplantation eine Akinesie der Vorderwandspitzenregion mit Lateralwandbeteiligung (27. März 2001), die zehn Wochen danach (29. Juni 2001) nicht mehr nachweisbar war (Abb. 3). Die Belastungsauswurffrac­tion nahm unter Dobutamin von 62 auf 67 Prozent zu, in Ruhe von 55 auf 62 Prozent. Die circumferentielle Verkürzungsgeschwindigkeit lag nach Therapie im Norm-

bereich. Lediglich eine belastungsunabhängige Hypokinesie im Bereich der Vorderwandspitze kam zur Darstellung (Abb. 3).

Die Radionuklidventrikulographie mit ^{99m}Tc zeigte im Verlauf einen Anstieg der Auswurffraktion in Ruhe von 45 auf 52 Prozent, unter Belastung von 48 auf 59 Prozent. Das enddiastolische Volumen war unter Belastung vor Therapie leicht vermehrt (159 ml), nach Therapie kam es zu einer erheblichen enddiastolischen Volumenverkleinerung (99 ml); ein Befund, der eine erhebliche Kontraktionsverbesserung des linken Ventrikels anzeigt.

Die Rechtsherzkatheteruntersuchung in Ruhe und unter körperlicher Belastung ergab eine deutliche Zunahme des Herzindex nach Stammzelltherapie (CI in Ruhe: von 2,7 auf 3,5 l/min*m², CI unter Belastung: von 8,3 auf 11,9 l/min*m²). Der Schlagvolumenindex wurde ebenfalls gesteigert (SVI in Ruhe: von 50 auf 53 ml/m², SVI unter Belastung: von 62 auf 87 ml/m²), der Pulmonalkapillardruck war nach Stammzelltherapie unter Belastung deutlich kleiner als vor Therapie (vor Therapie 25 mm Hg unter Belastung, nach Therapie 15 mm Hg unter Belastung). In Übereinstimmung mit dem unter Belastung verkleinerten enddiastolischen Volumen ist somit die diastolische Wandspannung erheblich reduziert mit konsekutiver Reduktion der systolischen Wandspannung unter Belastungsbedingungen.

Kommentar zum Fallbeispiel

Die Untersuchungen zeigen erstmals den klinischen und interventionellen Ablauf einer humanen autologen, adulten intrakoronaren Stammzelltransplantation bei einem 46 Jahre alten Patienten nach großem, akutem Vorderwandinfarkt sowie die hämodynamischen Resultate der Nachuntersuchungen zehn Wochen nach Infarkt. Es konnte erstmals dargelegt werden, dass sich das intendierte Therapieziel, die Neo-Perfusion und Vitalitätsverbesserung in der vorher avitalen Infarktzone, signifikant erreichen lässt und dass es zu einer erheblichen Abnahme der Infarktgröße und zu einer deutlichen Verbesserung der Ventrikel funktion und Geometrie des Herzens in Ruhe und unter Belastung kommt.

Die Kerninhalte dieses neuen Therapieverfahrens bei Herzinfarkt beinhalten u. a. einerseits die therapeutische Nutzung der im Knochenmark des Infarktpatienten vorhandenen Stammzellen, die nach entsprechender Präparation und Anreicherung unter GMP-Sicherheitsbedingungen zur kardialen Anwendung einsetzbar sind. Andererseits wurde ein neues Verfahren zur kardialen Anwendung der Stammzellen selbst entwickelt und eingesetzt, so dass eine gezielte, herzkathetergesteuerte Deponierung der autologen Stammzellen im Infarktgebiet und seinen Randzonen möglich ist, ohne dass ein herzchirurgisches Vorgehen mit Thorakotomie und intramyokardialer Zelinjektion oder auch eine transkoronare bzw. transmyokardiale Injektionstechnik erforderlich wäre.

Eine der wesentlichen Prämissen, die durch die Therapieresultate bestätigt wird, ist das "Angehen" der transplantierten Stammzellen, das für eine erfolgreiche Migration der in der koronaren Randzonen- und Infarktstrombahn deponierten Stammzellen erforderlich ist. Das von uns entwickelte Verfahren der Niedrig-Druck-PTCA mit temporärer Okklusion des Infarktgefäßes und fraktionierter Überdruckinjektion der Stammzellsuspension ermöglicht die Deponierung der Stammzellen in der Gesamtheit der koronaren Makro- und Mikrostrombahn, die das Infarktgebiet umgibt, die Randzonen perfundiert und als Restfluss zur Minimaldurchblutung der Infarktzone selbst beiträgt.²² Somit ermöglicht

²² Wang *et al.* (2001).

der intrakoronare Anwendungsweg die gezielte Stammzellinkorporation im Infarktgebiet und dessen Randzonen *in toto*. Ein Abstrom der deponierten Stammzellen kann nur dann erfolgen, wenn in "nicht-infarziertes" Gewebe injiziert wird. Dies ist bei der angewendeten Technik sicherlich der Fall, allerdings mit der Möglichkeit der Re-Zirkulation der Stammzellen, die somit den linken Ventrikel und das Infarktgebiet wiederholt passieren können. Die angewendete Technik der intrakoronaren Stammzelltransplantation erfolgte zudem stets mit Überdruck *post occlusionem* solange, bis die Gesamtheit der koronaren Infarktstrombahn – erkennbar am Auswascheffekt des Kontrastmittels – mit der Stammzellsuspension gefüllt war. Ein Nicht-Erreichen bzw. eine Nicht-Deponierung jeglicher perfundierter Zonen innerhalb des Infarktgebietes und seiner Randzonen war somit ausgeschlossen. Hinzu kommt, dass die mit der eingesetzten Occlusionstechnik des Infarktgefäßes bei simultanem Flusstillstand erreichte Kontaktzeit der Stammzellen mit der Gefäßwand der Arterien und Kapillaren ausreichend sein dürfte, um eine Anheftung oder Diffusion bzw. auch Migration der Zellen an oder durch die Gefäßwand zu ermöglichen.

Die Gefäßarchitektur im Gebiet eines transmuralen Infarktes ist überwiegend durch nekrotische Arteriolen und Kapillaren gekennzeichnet. Dies impliziert, abgesehen von einem stets vorhandenen, minimalen Restfluss, dass ein direktes Erreichen der zentralen Infarktzone von intrakoronar applizierten Zellen nur sehr begrenzt möglich ist. Allerdings ist dieser Restfluss in der Regel ausreichend, um das Infarktgebiet minimal zu durchbluten²³, so dass ein, wenn auch geringer, Zugang von intrakoronar eingesetzten Stammzellen in das Infarktzentrum erfolgen muss. Diese Menge könnte ausreichend sein, um in der Infarktzone selbst die dargelegte regenerative Erholung zu induzieren. Eine zweite, wahrscheinlichere Möglichkeit ist, dass die in der Randzone sowie in den das Infarktgefäß umgebenden Areale transplantierten bzw. deponierten Stammzellen infolge einer Migration vom gesunden bzw. ischämischen Periinfarktgebiet in die nekrotische Zone selbst penetrieren und dort zur Kardiomyogenese beitragen²⁴. Dieser Vorgang wurde von Orlic *et al.* kürzlich am experimentellen Infarkt der Maus nachgewiesen.²⁵ Mehrere Stunden nach dem experimentellen Infarkt wurden Spender-Stammzellen in das gesunde Periinfarktgebiet intramuskulär injiziert. Bereits nach neun Tagen war eine Anreicherung von Kardiomyozyten, glatten Muskelzellen und Endothelzellen in der vormals nekrotischen Infarktzone mit einer Gesamtanreicherung um 68 Prozent nachweisbar. Somit wird deutlich, dass auch für den Fall einer nur marginalen, aber vielleicht wichtigen Stammzellinfiltration direkt in das nekrotische Infarktgebiet hinein der Migrationsweg über in die Periinfarktzone deponierte Stammzellen zum Infarktzentrum für die Infarktregeneration morphologische und funktionelle Bedeutung erlangen dürfte (Abb. 1).

Ein weiteres Problem in der Beurteilung interventioneller Therapiemaßnahmen nach Infarkt betrifft den Spontanverlauf der Ventrikelfunktion des Infarkttherzens wie auch den möglichen Einfluss der Akut-Intervention (PTCA, Stent). Beim unkomplizierten Herzinfarkt mit fehlender oder nur kleiner transmuraler Infarktzone gibt es im langfristigen Infarktverlauf Funktionsverbesserungen, die als Randzoneneffekte infolge einer Zunahme der Perfusion im Infarkt-Randgebiet mit indirekter, ventrikelfunktionsverbessernder Wir-

²³ Sechtem (2001).

²⁴ Sussman (2001); Wang *et al.* (2000).

²⁵ Orlic *et al.* (2001a).

kung im Infarktgebiet selbst erklärbar sind. Die Infarktzone selbst bleibt unbeeinflusst. Bei großen, transmuralen Infarkten, wie bei dem dargestellten Patienten, sind regenerative Spontanveränderungen nicht denkbar, die negativen Auswirkungen des *Remodeling* auf Ventrikelfunktion und Geometrie überwiegen.²⁶ Durch interventionelle Therapiemaßnahmen (PTCA etc.) lässt sich im Frühstadium in der Mehrzahl eine wirksame Funktionsverbesserung erreichen, nicht jedoch, wie bei dem dargelegten Patienten, 14 Stunden nach Infarktbeginn; ein Zeitraum, der für eine mechanische Interventionsmaßnahme im Infarktgefäß dann sinnvoll ist, wenn eine analgetische Funktion besteht bzw. eine offene Infarktarterie zur Stabilisierung des Infarktgebietes sinnvoll ist. Eine Re-Perfusion mit myokardialer Regeneration wird dadurch in der Regel nicht erreicht.

Die eindrucksvolle Verbesserung von Perfusion und Myokardfunktion bei dem hier dargelegten Patienten ist funktionell durch treffsichere Untersuchungsverfahren belegt und als Zeichen einer Neogenese von Koronarstrombahn und Herzmuskulatur im Infarktgebiet zu bewerten. Ein direkter Beweis wäre allerdings nur durch aufwändige und großvolumige Biopsieverfahren vor und nach Stammzelltherapie mit entsprechenden Aufarbeitungstechniken zu führen; ein Verfahren, das wir hier bei fehlender klinischer Indikation nicht eingesetzt haben. Somit kann auch zunächst nicht beurteilt werden, ob der Myokardregeneration und Neoperfusion eine normale, neu gebildete Architektur im Infarktgebiet zugrunde liegt, wie lange das Überleben der Stammzellen im Infarkt persistiert, ob Kardiomyozyten, glatte Muskelzellen und Endothelzellen in normaler Relation und Struktur zueinander formiert werden, ob aufgrund der Multipotenz der Stammzellen auch nicht-funktionsgerechte Zellen ausdifferenziert werden, ob das autologe Empfängerorgan (Herz) das Schicksal der einmal transplantierten autologen Stammzellen determiniert²⁷ und ob einmal gebildetes Narbengewebe gänzlich durch autologen Zellersatz restituiert werden kann.²⁸

Zusammenfassung

Es wird erstmals über die klinische Therapie des akuten transmuralen Herzinfarktes bei einem 46 Jahre alten Patienten mittels intrakoronarer, autologer Stammzelltransplantation berichtet. Die vorher präparierten mononukleären Knochenmarkszellen ($1,2 \times 10^7$ Zellen, 10 ml) wurden sechs Tage nach Infarkt selektiv über das Infarktgefäß in das Infarktgebiet während Niedrig-Druck-PTCA transplantiert und deponiert. Zehn Wochen nach Infarkt kam es zu einer deutlichen Verkleinerung der transmuralen Narbe (²⁰¹Thallium SPECT, Dobutamin-Stressechokardiographie) mit Abnahme der Infarktgröße um 24,6 Prozent (Bull's-eye), zu einer Zunahme von Auswurffraktion, Herzindex und Schlagindex zwischen 20 und 30 Prozent (Rechtsherzkatheteruntersuchung in Ruhe und Belastung, Radionuklidventrikulographie), zu einer Abnahme des enddiastolischen Volumens unter Belastung um 30 Prozent und zu einer quantitativ vergleichbaren Abnahme des linksventrikulären Füllungsdruckes (mittlerer PC-Druck). Die Ergebnisse zeigen, dass die autologe Stammzelltransplantation mittels selektiver Herzkathetertechniken zur Regeneration der Narbe nach transmuralen Herzinfarkt führt. Ursächlich sind eine Stammzellen-assoziierte Kardiomyo- und Angioneogenese anzunehmen.

²⁶ Bolognese *et al.* (1997); Christian *et al.* (1992).

²⁷ Wang *et al.* (2000).

²⁸ Asahara *et al.* (1999); Kocher *et al.* (2001); Shintani *et al.* (2001); Tomita *et al.* (1999).

Schlussfolgerung

Mit dem hier dargestellten Verfahren wurden bislang in unserer Klinik 14 Patienten mit akutem Herzinfarkt erfolgreich behandelt. Bisher weisen unsere Resultate auf eine erhebliche Verbesserung der Perfusion und Funktion im Infarktgebiet hin in einem Umfang, der über das übliche, zu erwartende Maß bei weitem hinausgeht. Dennoch gibt es bislang lediglich indirekte Hinweise für eine Neogenese von Herzmuskelzellen und Endothelzellen. Somit kann auch zunächst für alle ansonsten derzeit verfügbaren myokardialen Stammzell-Ersatz-Therapien nicht beurteilt werden, ob der Myokardregeneration und Neoperfusion eine normale, neu gebildete Architektur im Infarktgebiet zugrunde liegt, wie lange die Stammzellen im Infarkt überleben, ob Kardiomyozyten, glatte Muskelzellen und Endothelzellen in normaler Relation und Struktur zueinander formiert werden, ob aufgrund der Multipotenz der Stammzellen auch nicht-funktionsgerechte Zellen ausdifferenziert werden, ob das autologe Empfängerorgan (Herz) das Schicksal der einmal transplantierten autologen Stammzellen determiniert und ob einmal gebildetes Narbengewebe gänzlich durch autologen Zellersatz restituiert werden kann.

Unabhängig von den noch zahlreichen offenen Fragen kann bereits jetzt festgehalten werden, dass diese neuen Therapieverfahren des zellulären Herzmuskelerersatzes neue Möglichkeiten in der Kausaltherapie des Herzinfarktes beinhalten können, da dadurch nicht nur mit indirekten Verfahren eine Entlastung des Herzens und damit eine Regeneration angestrebt wird, sondern durch kausale Intervention im Infarktgebiet selbst eine Regeneration des zugrunde gegangenen Muskels erreicht werden kann. Die Effizienz dieser innovativen Therapie muss in großen Studien allerdings noch geprüft werden. Ethische Probleme dieser Behandlung sind ausgeschlossen, da lediglich eine Umverteilung körpereigener Zellen, wenn auch unter hoch spezialisierter Technologie, zur Anwendung kommt.

Bibliographie

- ANTONIUCI, D., G.M. SANTORO, L. BOLOGNESE, R. VALENTI, M. TRAPANI, C. AALKJÆR und P.F. FAZZINI. „A clinical trial comparing primary stenting of the infarct-related artery with optimal angioplasty for acute myocardial infarction. Results from the florence randomized elective stenting in acute coronary occlusions (FRES-CO) trial“, *Journal of the American College of Cardiology* 31 (1998), 1234-1239.
- ASAHARA, T., H. MASUDA, T. TAKAHASHI, C. KALKA, C. PASTORE, M. SILVER, M. KEARNE, M. MAGNER und J.M. ISNER. „Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization“, *Circulation Research* 85 (1999), 221-228.
- BELTRAMI, A.P., K. URBANEK, J. KAJSTRUA, S.-M. YAN, N. FINATO, R. BUSSANI, B. NADAL-GINARD, F. SILVESTRI, A. LERI, A. BERTRAMI und P. ANVERSA. „Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction“, *New England Journal of Medicine* 344 (2001), 1750-1757.
- BOLOGNESE, L., G. CERISAMO, P. BUONAMICI, H. SANTINI, G.M. SANTORO, D. ANTONIACCI und P.F. FAZZINI. „Influence of infarct-zone viability on left ventricular remodeling after acute myocardial infarction“, *Circulation* 96 (1997), 3353-3359.
- CALIFF, R.M. und EPIC INVESTIGATORS. „Use of a monoclonal antibody directed

- against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high-risk coronary angioplasty“, *New England Journal of Medicine* 330 (1994), 956-961.
- CHRISTIAN, T. F., R. S. SCHWARTZ und R. J. GIBBONS. „Determinants of infarct size in reperfusion therapy for acute myocardial infarction“, *Circulation* 86 (1992), 81-90.
- DAVIES, M. J. und A. C. THOMAS. „Plaque fissuring – the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina“, *British Heart Journal* 53 (1985), 363-373.
- DORFMAN, J., M. DUONG und A. ZIBIATIS. „Myocardial tissue engineering with autologous myoblast implantation“, *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 116 (1998), 744-751.
- ERBEL, R. und G. HEUSCH. „Spontaneous and iatrogenic microembolization. A new concept for the pathogenesis of coronary artery disease“, *Herz* 24 (1999), 493-495.
- GRINES, C. L., D. A. COX, G. W. STONE, E. GARCIA, L. A. MATTOS, A. GIAMBAR-TOLOMEI, B. R. BRODIE, O. MADONNA, M. EIJGELSHOVEN, A. J. LANSKY, W. W. O’NEILL und M.-C. MORICE. „Coronary Angioplasty With or Without Stent Implantation For Acute Myocardial Infarction“, *New England Journal of Medicine* 341 (1999), 1949-1956.
- HARRINGTON, R. A. und PURSUIT TRIAL INVESTIGATORS. „Inhibition of platelet glycoprotein IIb/IIIa with eptifibatid in patients with acute coronary syndromes“, *New England Journal of Medicine* 339 (1998), 436-443.
- KELM, M. und B. E. STRAUER. „Akuter Myokardinfarkt – primäre Angioplastie oder Thrombolyse?“ *Internist* 41 (2000), 1331-1343.
- KESSLER, P. D. und B. J. BYRNE. „Myoblast cell grafting into heart muscle: cellular biology and potential applications“, *Annual Review of Physiology* 61 (1999), 243-282.
- KING III, S. B. und RESTORE INVESTIGATORS. „Effects of platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade with tirofiban on adverse cardiac events in patients with unstable angina or acute myocardial infarction undergoing coronary angioplasty“, *Circulation* 6 (1997), 1445-1453.
- KOCHER, A. A., M. D. SCHUSTER, M. J. SZABOKS, S. TAKUMA, D. BURKHOFF, J. WANG, S. HOMMA, N. M. EDWARDS und S. ITESCU. „Neovascularisation of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function“, *Nature Medicine* 7 (2001), 430-436.
- KÖGLER, G., J. CALLEJAS, R. V. SORG, J. FISCHER, H. R. MIGLIACCIO und P. WERNET. „The effect of different thawing methods, growth factor combinations and media on the ex vivo expansion of umbilical cord blood primitive and committed progenitors“, *Bone Marrow Transplantation* 21 (1998), 233-241.
- MENASCHÉ, O., A. A. HAGEGE, N. SCORSIN, B. POUZET, N. DESNOS, D. DUBOC, K. SCHWARTZ, J. T. VILQUIN und J. P. MAROLLEAU. „Myoblast transplantation for heart failure“, *Lancet* 357 (2001), 279-280.

- ORLIC, D., J. KAJSTURA, S. CHIMENTI, I. JAKONIUK, S. M. ANDERSON, B. LI, J. PICKEL, R. MCKAY, B. NADAL-GINARD, D. M. BODINE, A. LERI und P. ANVERSA. „Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium“, *Nature* 410 (2001a), 702-705.
- ORLIC, D., J. KAJSTURA, S. CHIMENTI, D. M. BODINE, A. LERI und P. ANVERSA. „Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice“, *Annals of the New York Academy of Sciences* 938 (2001b), 221-229.
- REINLIB, L. und L. FIELD. „Cell transplantation as future therapy for cardiovascular disease? A workshop of the National Heart, Lung and Blood Institute“, *Circulation* 101 (2000), E182-187.
- SECHTEM, U. „Imaging myocardial area at rest and final infarct size“, *European Heart Journal Supplement C3* (2001), C36-C46.
- SHAMBLOTT, M. J., J. AXELMAN, S. WANG, E. M. BUGG, J. W. LITTLEFIELD, P. J. DONOVAN, P. D. BLUMENTHAL, R. G. HUGGINS und J. D. GEARHART. „Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells“, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95 (1998), 13726-13731.
- SHINTANI, S., T. MUROHARA, H. IKEDA, T. UENO, T. HONMA, A. KATOH, K. SASAKI, T. SHIMADA, Y. OIKE und T. IMAIZUMI. „Mobilisation of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction“, *Circulation* 103 (2001), 2776-2779.
- STRAUER, B. E., U. E. HEIDLAND, M. P. HEINTZEN und B. SCHWARTZKOPFF. „Pharmacologic myocardial protection during percutaneous transluminal coronary angioplasty by intracoronary application of dipyridamole: impact on hemodynamic function and left ventricular performance“, *Journal of the American College of Cardiology* 28 (1996), 1119-1126.
- STRAUER, B. E., M. BREHM, T. ZEUS, N. GATTERMANN, A. HERNANDEZ, R. V. SORG, G. KÖGLER und P. WERNET. „Intrakoronare, humane autologe Stammzelltransplantation zur Myokardregeneration nach Herzinfarkt“, *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 126 (2001), 932-938.
- SURYAPRANATA, H., A. W. VAN'T HOF, J. C. HOORNTJE, M. J. DE BOER und F. ZIJLSTRA. „Randomized comparison of coronary stenting with balloon angioplasty in selected patients with acute myocardial infarction“, *Circulation* 97 (1998), 2502-2505.
- SUSSMAN, M. „Cardiovascular biology. Hearts and bones“, *Nature* 410 (2001), 640-641.
- THOMPSON, J. A. „Embryonic stem cell lines derived from human blastocytes“, *Science* 282 (1998), 1145-1147.
- TOMITA, S., R. K. LI, R. D. WEISEL, D. A. MICKLE, E. F. KIM, T. SAKAI und F. Q. JIA. „Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function“, *Circulation* 100 (1999), 247-256.
- WANG, J. S., D. SHUM-TIM, E. CHEDRAWY, N. ELIOPOULOS, J. SELIPEAN und R. C. CHIU. „Marrow stromal cells for cellular cardiomyoblasty: the importance of microenvironment for milieu dependent differentiation“, *Circulation* 102 (2000), abstract 3300.

WANG, J. S., D. SHUM-TIM, E. CHEDRAWY und R. C. CHIU. „The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: Pathophysiologic and therapeutic implications“, *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery* 122 (2001), 699-705.