

Aus der Klinik für Kardiovaskuläre Chirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Untersuchung zur Durchführbarkeit und Effektivität der autologen
Knochenmarksstammzelltransplantation in Verbindung mit einer
chirurgischen Koronarrevaskularisation von Myokardinfarktpatienten

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Frau Birte Schmeck

aus Hilden

Gutachter/in: 1. Univ.-Prof. Dr. med. W. Konertz
 2. PD Dr. med. A. Borges
 3. PD Dr. med. A. Lembcke

Datum der Promotion: 18.11.2011

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	7
1.1. Epidemiologische Daten von KHK, Myokardinfarkt und Herzinsuffizienz sowie Bedeutung der Koronaren Herzkrankheit.....	7
1.2. Pathophysiologie der Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt	8
1.2.1. Entwicklung einer Herzinsuffizienz	8
1.2.2. Koronare Herzkrankheit und Herzinsuffizienz: Rolle des hibernating und stunned myocardium	12
1.3. Bisherige Therapiemöglichkeiten bei Herzinsuffizienz und KHK und ihre Grenzen/ Problematik.....	13
1.4. Stammzellen.....	18
1.5. Herleitung der Fragestellung.....	22
2. Material und Methoden.....	24
2.1. Studiendesign.....	24
2.2. Patienten.....	24
2.3. Stammzellen.....	26
2.3.1. Gewinnung und Applikation.....	26
2.4. Untersuchungsmethoden:.....	29
2.4.1. Echokardiographie.....	29
2.4.2. MRT	29
2.4.3. Patientenakten.....	32
2.5. Statistik	32
3. Darstellung der Ergebnisse.....	34
3.1. Intraoperative Daten.....	34
3.2. frühpostoperative Ergebnisse.....	35
3.3. spätpostoperative Ergebnisse	36
3.4. Ergebnisse spezieller Untersuchungsverfahren.....	38
3.4.1. TTE-Ergebnisse	38
3.4.2. MRT-Ergebnisse.....	41
3.4.3. NYHA-Auswertung.....	44
3.5. Untergruppen Km-Tx und Kontrolle	44
3.5.1. Untergruppe Analyse „per-protocol“.....	44
3.5.1.1. LVEF und LVEDD	44

3.5.1.2. Narbengewebe	46
3.5.2. Untergruppen nach Applikationsart.....	47
4. Diskussion	50
4.1. Diskussion bisheriger klinischer und experimenteller Studien	50
4.2. Diskussion von Material und Methoden	54
4.2.1. Studiendesign.....	54
4.2.2. Stammzellen	55
4.2.3. Gewinnung und Applikation von Stammzellen.....	59
4.2.4. Untersuchungsmethoden.....	61
4.3. Diskussion der Ergebnisse	63
4.3.1. Früh- und spätoperative Daten	63
4.3.2. Spezielle Untersuchungsverfahren	63
4.3.3. Die linksventrikuläre Funktion im Verlauf.....	68
4.3.4. Diskussion von Untergruppen	71
5. Zusammenfassung.....	74
6. Literaturverzeichnis	76
7. Publikationen.....	88
8. Danksagung	89

Abkürzungen

ACVB	Aortokoronarer Venenbypass
ADH	antidiuretisches Hormon
ant	anterior
BMPC	Bone marrow progenitor cell
comb	kombiniert
EF	Ejektionsfraktion
EPC	endotheliale Progenitorzellen
ESC-like cells	embryonic stem cell like cells
g	Gramm
HRST	Herzrhythmusstörungen
h	Stunden
ITT	Intention-To-Treat
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
Km-Tx	Knochenmarksstammzelltransplantation
KÖF	Körperoberfläche
lat	lateral
LCO	low cardiac output
LIMA	left internal mammary artery
LSB	Linksschenkelblock
LVEF	Linksventriluläre Ejektionsfraktion
LVEDD	Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter
LVEDV	Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
LVEDVI	LVEDV-Index
LVAD	Left ventricular assist-device
M	Molarität
MI	Myokardinfarkt
ml	Milliliter
MO	microvascular obstruction

MRT	Magnetresonanztomographie
MSC	mesenchymale Stammzellen
NYHA	New York Heart Association
OP	Operation
p6d	post sechs Tage
p6m	post sechs Monate
RCA	Right coronary artery
RCX	Ramus circumflexus
RD	Ramus diagonalis
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
phVEGF	Plasmid, welches humane VEGF-cDNA kodiert
RIVA	Ramus interventrikularis anterior
RMS	Ramus marginalis sinister
post	posterior
PP	Per-Protocoll
prä-OP	präoperativ
SD	Standardabweichung
TTE	Transthorakale Echokardiographie
VEGF	vascular endothelial growth factor
VT	ventrikuläre Tachykardie
w	Wochen
WMS	Wall-Motion-Score

1. Einleitung

1.1. Epidemiologische Daten von KHK, Myokardinfarkt und Herzinsuffizienz sowie Bedeutung der Koronaren Herzkrankheit

Die Europäische Gesellschaft für Kardiologie beziffert die Prävalenz für symptomatische chronische Herzinsuffizienz in der europäischen Population mit 0,4-2% [1].

Dies bedeutet, dass bei westlichem Lebensstandard in Europa mindestens 10 Millionen Patienten an einer chronischen Herzinsuffizienz leiden [1].

Die Inzidenz der Herzinsuffizienz ist altersabhängig: so beträgt die Zahl der Neuerkrankungen pro Jahr bezogen auf 100 000 Einwohner z.B. in der Gruppe der 55-59-Jährigen 140 Personen, während sie in der Gruppe der 65-69-Jährigen bereits 540 Personen beträgt. Aus der Gruppe der 75-79-Jährigen erkranken dann bereits 1700 Individuen pro 100 000 Einwohner pro Jahr [2].

Auch die Lebenszeitprävalenz ist beachtlich. So beträgt z.B. für 55-jährige Personen das Risiko im weiteren Leben an einer Herzinsuffizienz zu leiden 30% [2].

Die Prognose ist dabei mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 35% eher schlecht [2].

Dabei ist der Herzinfarkt in Europa die häufigste Ursache für eine chronische Herzinsuffizienz bei Patienten unter 75 Jahren [1].

Die häufigste Todesursache in Deutschland sind die kardiovaskulären Erkrankungen, am akuten Myokardinfarkt sterben jährlich 56.226 Patienten. Wird die Akutphase des Myokardinfarkts überlebt, so erreichen die Patienten das Stadium der chronischen Herzinsuffizienz, an der wiederum 74.000 Patienten pro Jahr versterben (2009) [3] [4].

Wie man aus den oben genannten Zahlen erkennen kann, ist die Prognose trotz der bisherigen Therapiemöglichkeiten schlecht, da es bisher keine etablierte Therapie gibt, die das verlorengegangene Herzmuskelgewebe wiederherstellen kann.

1.2. Pathophysiologie der Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt

1.2.1. Entwicklung einer Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz ist definiert als das mechanische Versagen des Herzens bei normalem enddiastolischem Ventrikeldruck das Herzzeitvolumen aufrecht zu erhalten, welches der Organismus benötigt, um Sauerstoffversorgung und Gewebestoffwechsel in Ruhe und unter Belastung sicherzustellen [5, 6].

Die Ursachen einer Herzinsuffizienz sind vielfältig und können auf systolischer und diastolischer Ebene lokalisiert sein. Am häufigsten sind jedoch die systolischen Funktionsstörungen, an denen die Koronare Herzkrankheit einen Anteil von 54-70% trägt [6].

Im Rahmen der Pathogenese der Herzinsuffizienz werden Veränderungen auf vielfältigen Ebenen gesehen. Eine Rolle hierbei spielen unter anderem Genexpression, Integrität der Zellorganellen, Zellgröße und Form, sowie auch Anordnung und Organisation von Muskelfasern und Extrazellulärer Matrix [7].

Zwei sehr wichtige Pfeiler, auf denen nach aktuellen Konzepten die Pathogenese der Herzinsuffizienz unabhängig von der Ursache hauptsächlich beruht, sind das ventrikuläre Remodeling und die neuroendokrine Aktivierung mittels vor allem dem Sympatho-Adrenergen System und dem Renin-Angiotensin-System [8].

Im Anfang stellen beide Systeme funktionierende Kompensationsmechanismen dar.

Bei zunächst erfolgreicher Anpassung und erfolgreichem Erhalt der Auswurfleistung des Herzens führen sie auf lange Sicht gesehen jedoch durch hämodynamische Überlastung des insuffizienten Herzens zur Maladaptation mit resultierendem Circulus Vitiosus.

Neuroendokrine Aktivierung

Am Anfang der Pathogenese der an dieser Studie teilhabenden Patienten steht ein kardioischämisches Ereignis mit konsekutiver systolischer Ventrikelfunktionsstörung, die als Kontraktionsschwäche mit verminderter LVEF imponiert.

Durch Sympathikusaktivierung werden anfänglich die Herzfrequenz und Kontraktionskraft gesteigert. Mit zunehmender Herzinsuffizienz werden immer höhere Dosen Noradrenalin nötig, was zum Anstieg des Plasmanoradrenalinpiegels führt. Durch die folgende Downregulation der kardialen β -Rezeptoren verringert sich jedoch die inotrope Wirkung der Katecholamine am Herzen zunehmend. Gleichzeitig steigt jedoch die Wirkung des erhöhten Noradrenalinpiegels an den Gefäßen mit folgender Steigerung des peripheren Widerstands (Afterload) über Steigerung des Arteriomentonus.

Es erfolgt ebenfalls eine Steigerung des Venentonus mit vermehrtem Blutangebot an das Herz und somit erhöhter Vorlast. Auch hierdurch wird im Anfang eine Steigerung der Kontraktionskraft erreicht. Ist jedoch die physiologische Grenze der kardialen Vordehnung bei zunehmender Herzinsuffizienz überschritten, so vermindert sich die Wirksamkeit des Frank-Starling-Mechanismus und es ist keine Steigerung der Kontraktionskraft mehr möglich.

Hierdurch resultiert bei Verminderung des zirkulierenden Blutvolumens eine relative Minderperfusion der Nieren.

Es kommt zur Aktivierung des RAAS, wodurch über das vasokonstriktorisches Angiotensin II die Nachlast und über Na^+ - und Wasserretention durch Aldosteron die Vorlast gesteigert wird.

Volumenmangel im arteriellen System, der über Barorezeptoren im rechten Vorhof des Herzens und im Aortenbogen registriert wird, ist zudem ein Stimulus für die Ausschüttung von Vasopressin (ADH), welches dann über eine Wasserretention die Vorlast erhöht.

Durch diese anfänglich hilfreichen Kompensationsmechanismen kommt es im Verlauf zur hämodynamischen Überbelastung und zur weiteren Verschlechterung einer Herzinsuffizienz mit resultierendem Circulus Vitiosus.

Remodeling

Das versagende Herz wird von molekularen, proteinbiochemischen und zellulären Veränderungen mit Auswirkungen auf Ventrikelform, -größe und Funktion begleitet - dem Remodeling [9].

Remodeling kann abhängig von der Ausgangskrankheit (z.B. regionaler Infarkt, Kardiomyopathie) regional oder global stattfinden und wird durch einen Anstieg von Masse und Volumen der Ventrikel sowie einer Veränderung der Ventrikelform mit Dilatation und interstitiellem Wachstum herbeigeführt.

Durch die z.B. aus einem Herzinfarkt resultierende Kontraktionsschwäche mit verminderter LVEF wird die Aufrechterhaltung des Schlagvolumens gefährdet, was nach Kompensationsmechanismen verlangt, welche zum Teil bereits oben erörtert wurden.

Als Kompensation zur Aufrechterhaltung des Schlagvolumens ist, wie bereits beschrieben, nach Frank-Starling ein erhöhter enddiastolischer Druck nötig, welcher über eine erhöhte Vordehnung mit erhöhtem enddiastolischem Volumen erreicht wird [10].

Folgende Veränderung geschehen gemäß dem Laplace-Gesetz. Nach diesem errechnet sich die Wandspannung K eines (etwa kugeligen) Hohlorgans aus $(\text{transmuralem Druck} * \text{Radius}) / (2 * \text{Wanddicke})$ [10].

Die Wandspannung bezeichnet hierbei die Kraft, die das Myokard pro Wandquerschnittsfläche zur Aufrechterhaltung eines Schlagvolumens aufbringen müsste[10].

Aus der proportionalen Beziehung nach Laplace folgt aus Vergrößerung des Ventrikelradius und erhöhtem enddiastolischem Druck eine Erhöhung der Wandspannung des übrigen, nicht geschädigten Ventrikelmyokards [10].

Durch die erhöhte Wandspannung resultiert ein für das Herz ungünstiger erhöhter O₂-Bedarf, so dass nach Laplace über eine Hypertrophie des Ventrikelmyokards (und damit einer Steigerung der Wanddicke) die erhöhte Wandspannung als Kompensation wieder gesenkt wird[10].

Ab einem kritischen Herzgewicht von 500g jedoch kommt es zur Dekompensation mit Entwicklung einer relativen Koronarinsuffizienz mit Abnahme der Leistungsfähigkeit des Herzens und es kommt zur Gefügedilatation des Herzens. Die ventrikuläre Dilatation führt dann über einen dehnungsinduzierten programmierten Zelltod (Apoptose) zur weiteren Dilatation [11].

Innerhalb physiologischer Grenzen ist die Aufrechterhaltung des Schlagvolumens durch vermehrte Ventrikelfüllung durch Dilatation noch möglich.

Ist jedoch die physiologische Grenze der kardialen Vordehnung bei zunehmender Herzinsuffizienz überschritten, so vermindert sich die Wirksamkeit des Frank-Starling-

Mechanismus und es ist keine Steigerung der Kontraktionskraft mehr möglich. Die erhöhte Vorlast wird zur Volumenbelastung und verschlechtert die Herzinsuffizienz.

Bei einem 2-3-fachen Anstieg des Gehalts an myokardialem Kollagen werden die Füllungseigenschaften des Ventrikels vor allem durch diastolische Steifheit beeinträchtigt. Ein vierfacher oder höherer Anstieg affiziert ebenfalls die systolische Funktion [12].

Neben den hämodynamischen Erklärungen für Hypertrophie und Dilatation im Rahmen der pathogenese der Herzinsuffizienz konnten die Mechanismen, die zur Dilatation und Hypertrophie durch Remodeling führen, noch nicht vollständig bzw. nur zum Teil geklärt werden.

Nachgewiesen ist, dass bei der Stimulation des myozytären und interstitiellen Wachstums Angiotensin II eine große Rolle spielt, auch Aldosteron und auch Noradrenalin (Myozytenhypertrophie) sind beteiligt [13-15].

Ein Erklärungsmodell zum Mechanismus der Dilatation des Ventrikels beim Remodeling macht zum Teil das sogenannte myozytäre Gleiten der einzelnen Muskelfaszikel (Bündel) gegeneinander verantwortlich [5, 16].

Das Remodeling von kardialen Strukturen und ihrer Funktion als Antwort auf eine Schädigung ist ein gut etabliertes Kennzeichen für das Fortschreiten der Herzinsuffizienz. Es lässt sich als Vorhersagewert für ein ansteigendes Mortalitätsrisiko sehen [17, 18].

Zur Standardtherapie einer Herzinsuffizienz gehören u. a. auch ACE-Hemmer und β -Blocker, die bekanntermaßen auch einen Antiremodeling-Effekt besitzen [19, 20].

Jedoch gibt es eine Vielzahl von Signalbahnen, welche zum Entstehen und Fortschreiten einer Herzinsuffizienz beitragen. Es ist daher anzunehmen, dass ein Teil dieser Signaltransduktionen durch die bisherige Medikation gar nicht erreicht wird und somit bisher unbeeinflusst bleibt. Sogar pharmakologische Mehrfachkombinationen können möglicherweise einem Fortschreiten des Remodeling nicht entgegenwirken, was nach alternativen Herangehensweisen verlangt.

Als ein Beispiel für einen durch die bisherigen Therapiemöglichkeiten unerreichten Faktor, welcher nachgewiesen zur Entwicklung des Remodeling beiträgt, lässt sich die Mikrovaskuläre Obstruktion (MO) aufführen [21, 22].

Sie entsteht durch Schäden der terminalen Strombahn im Bereich der mikrovaskulären Zirkulation und ihre nachfolgende Obstruktion durch Erythrozyten, Neutrophile und Zelldebris [23].

MO kann sich nach erfolgreicher Reperfusion einer verschlossenen Koronararterie durch das sogenannte No-Reflow-Phänomen bemerkbar machen, wenn trotz erfolgreicher Revaskularisation mit Wiederherstellung des epikardialen Blutflusses das Gewebe des infarzierten Herzens einem limitierten Blutfluss unterliegt.

1.2.2. Koronare Herzkrankheit und Herzinsuffizienz: Rolle des hibernating und stunned myocardium

Entsteht eine Herzinsuffizienz auf dem Boden einer koronaren Herzkrankheit, so kann sie sich klinisch auf dem Wege dorthin von der stabilen Angina bis zum plötzlichen Herztod sehr variabel präsentieren. Drei Parameter - der myokardiale Blutfluß, O₂-Verbrauch und kontraktile Funktion - spielen hierbei eine große Rolle, sie sind eng miteinander verbunden und bei einer KHK fast ausnahmslos verändert.

Ischämie kann jedoch verschiedene Grade von myokardialer Dysfunktion hervorbringen. Ist sie schwer und über längere Zeit anhaltend, führt sie zur myokardialen Nekrose.

Zusätzlich stellt sie Bedingungen her, die den Zustand des stunning und hibernating myocardium begünstigen [5]. Dieser Zustand ist von der Möglichkeit des ebenfalls durch Gewebsischämie resultierenden Narbengewebes abzugrenzen, welches als totes Gewebe seine Funktion endgültig verloren hat.

Myokardiales Stunning:

Akute Ischämie, wie z.B. der Akute Herzinfarkt, eine PTCA oder Herz-OP, kann zum myokardialen Stunning führen. Es ist definiert als verzögerte Erholung der myokardialen Funktion trotz Wiederherstellung des Koronaren Blutflusses im Bereich ehemals ischämischen Myokards. Zunächst liegt hier kein irreversibler Schaden vor [24, 25].

Diese verzögerte Erholung kann für eine variable Zeitperiode bestehen bleiben, welche von der Länge und dem Schweregrad der vorangegangenen Ischämie bestimmt wird [26].

Es besteht ein Ungleichgewicht zwischen myokardialen Blutfluss und Funktion: während der Blutfluß normal ist, ist die Funktion eingeschränkt.

Stunned myocardium imponiert also mit Dyskinesie bei normaler Perfusion und normaler Glukoseutilisation/metabolischer Aktivität im PET [27].

Hibernating myocardium:

Unter Hibernating myocardium versteht man Wandkinetikabnormalitäten (hypo-, a-, dyskinetische Segmente) im Ruhezustand, welche im Geschehen einer chronischen Ischämie entstehen und persistieren [5]. Die Glucoseverwertung bzw. metabolische Aktivität ist hierbei normal [27].

Die Myozyten bleiben lebensfähig und die Funktion kann durch Revaskularisation wiederhergestellt werden.

Es besteht eine enge Übereinstimmung mit dem myokardialen Blutfluss - ist dieser reduziert ist die Funktion ebenfalls eingeschränkt. Als Beispiele für klinische Szenarien, wo hibernating myocardium möglicherweise vorliegt, können die chronisch stabile und instabile Angina pectoris genannt werden.

Obwohl der Mechanismus umstritten bleibt, besteht eindeutig die Fähigkeit der linksventrikulären Funktion, sich nach Revaskularisation bei Patienten mit KHK und chronisch linksventrikulärer Dysfunktion zu erholen [28-30].

1.3. Bisherige Therapiemöglichkeiten bei Herzinsuffizienz und KHK und ihre Grenzen/ Problematik

Die bisherigen Behandlungsmöglichkeiten von Koronarer Herzkrankheit und Myokardinfarkt reichen von konservativ medikamentöser Therapie mittels β -Blockern, ASS, Statinen und ggfs. ACE-Hemmern als Basistherapie bis hin zu Nitraten, Molsidomin als antianginöse Therapie über die interventionelle Revaskularisationstherapie bis hin zur herzchirurgischen Bypassoperation.

Die medikamentöse Therapie ist im Falle des akuten Myokardinfarkts die Therapie von akuter Herzinsuffizienz und kardiogenem Schock. Ein wichtiges, zu erreichendes Ziel ist jedoch die schnelle Revaskularisation. Daher kommen in der Akutphase in erster Linie sofern vorhanden,

interventionelle Verfahren, wie die perkutane arterielle Balondilatation (PTCA) und Stentimplantation zur Wiedereröffnung des Herzkranzgefäßes zum Einsatz [31].

Gibt es keine Möglichkeit zur Herzkatheteruntersuchung, besteht zudem die Möglichkeit einer Lysetherapie mit Auflösung des das Herzkranzgefäß verschließenden Thrombus innerhalb des vorgegebenen Zeitfensters. Jedoch ergab die Auswertung internationaler Studien, wie der randomisierten Multicenterstudie TACTICS-TIMI im Juni 2001, eine Überlegenheit der invasiven Methoden gegenüber der rein konservativen Therapieverfahren, inklusive der Lysetherapie. Es scheint sogar die Verlegung des Patienten zur PTCA in eine entsprechende Klinik und die damit verbundene Inkaufnahme einer verzögerten Therapie der direkten Lysetherapie überlegen [32].

Während für akute Koronarsyndrome STEMI und NSTEMI die zeitliche Komponente bis zur Eröffnung der „culprit lesion“ entscheidend ist und hier die PCI in den meisten Fällen als Therapie der Wahl gilt, besteht nach aktuellen Leitlinien für die Behandlung der stabilen Angina im Falle einer Mehrgefäßerkrankung eine IA-Empfehlung für die chirurgische Revaskularisationstherapie. Eine Ausnahme bildet die Eingefäßerkrankung ohne RIVA-Beteiligung [33, 34].

Für die PCI ergeben sich in Abhängigkeit von der Komplexität der Läsionen IIaB- bis IIIB-Empfehlungen [33, 34].

Diese Empfehlung der aktuellen Leitlinie für die myokardiale Revaskularisationstherapie beruht vor allem auf den Daten der SYNTAX-Studie.

Auf der einen Seite wird die grundsätzliche Indikation zur Revaskularisation bei symptomatischen Patienten mit persistierenden limitierenden Symptomen (Angina oder Anginaäquivalent) trotz optimaler medikamentöser Therapie gesehen. Zudem ist jedoch aus prognostischen Gründen die Revaskularisationstherapie angesichts bestimmter pathologisch-morphologischer Voraussetzungen und positiven, signifikanten Ischämienachweises auch bei asymptomatischen Patienten angezeigt. Signifikante Hauptstammstenosen und die Beteiligung des proximalen RIVA, insbesondere bei der Mehrgefäßerkrankung, stellen eine IA-Revaskularisationsindikation dar [33, 34].

Die medikamentöse Therapie von KHK bzw. chronisch ischämischer Herzinsuffizienz besteht zum einen aus der Prävention eines erneuten ischämischen Ereignisses, dem Aufhalten des Fortschreitens der KHK und dem Senken der Letalität, was durch Optimieren vorhandener

Risikofaktoren wie z.B. Senken des Cholesterinspiegels und Verbesserung des Lipidstoffwechsels durch Statine, der Gabe von ASS zur Thrombozytenaggregationshemmung sowie β -Blocker geschieht.

Zum anderen ist es durch die medikamentöse Therapie möglich, im Rahmen der KHK das Verhältnis von O_2 Angebot zu O_2 -Verbrauch zu verbessern, die Herzarbeit zu ökonomisieren und somit eine bereits vorhandene Herzinsuffizienz zu optimieren. Dies geschieht über die Senkung von Vor- und Nachlast sowie eine Koronardilatation und Senkung der Herzfrequenz, wodurch letztendlich der O_2 -Verbrauch vermindert und das O_2 -Angebot erhöht wird. Hierfür stehen Nitrate, Molsidomin, β -Blocker und Ca-Antagonisten zu Verfügung. Zusätzlich können kontraktilitätssteigernde Mittel wie Digitalis-Glykoside eingesetzt werden.

Behandelt man die chronische Herzinsuffizienz leitliniengerecht [6] mittels medikamentöser Therapie mit ACE-Hemmern, β -Blockern, Diuretika und Digitalis-Glykosiden, kann die 1-Jahres-Mortalität um ca. 50% gesenkt werden [6].

Liegt im fortgeschrittenen Stadium der Herzinsuffizienz gleichzeitig eine Störung des Reizleitungssystems vor, welche zumeist im Oberflächen-EKG als linksschenkelblockartige Verbreiterung des Kammerkomplexes imponiert, steht als weitere therapeutische Option die kardiale Resynchronisationstherapie zur Verfügung. Diese soll den durch die Reizleitungsstörung bedingten asynchronen Kontraktionsablauf des linken Ventrikels rekoordinieren bzw. ihm entgegenwirken und somit auch dessen negative hämodynamische Auswirkungen mildern [35]. Primäres Ziel ist die Verbesserung der linksventrikulären Auswurfleistung. In Studien wurde bereits ihre Wirksamkeit belegt. Voraussetzung für die Anwendung sind neben eingeschränkter LVEF und LSB jedoch noch eine Reihe von weiteren Kriterien [35], auf die hier nicht näher eingegangen wird.

Als Sekundärprophylaxe des plötzlichen Herztodes durch eine maligne ventrikuläre Arrhythmie wird gemäß den MADIT-Kriterien [36] bei fortgeschrittener Herzinsuffizienz der Implantierbare Kardioverter-Defibrillator (ICD) eingesetzt. In Studien wurde eine 30%ige Reduktion der Gesamtletalität bei Patienten mit reduzierter Ventrikelfunktion und Zustand nach Reanimation nach Kammerflimmern im Vergleich zur medikamentösen Therapie mit Amiodaron belegt [35].

Kommt es im Krankheitsverlauf zu einer dilatativen Kardiomyopathie, so sollten an dieser Stelle operative Therapieversuche wie z.B. die Batista-OP und die aktive und passive Kardiomyoplastie angesprochen werden.

Bei der aktiven (dynamischen) Kardiomyoplastie erfolgt die autologe Transplantation eines Skelettmuskels der Rückenmuskulatur um das Herz. Dieser Skelettmuskel, der durch einen ebenfalls implantierten Kardiomyostimulator stimuliert wird, soll durch Unterstützung der Kammerwandbewegungen in der Systole durch externe, aktive Kompression des Herzens von außen die kardiale Pumpfunktion verbessern [37].

Bei nachgewiesener anfänglicher subjektiver Verbesserung der NYHA- Klassifikation, der Leistungsfähigkeit und Wohlbefinden der Operierten, konnte hier jedoch in Langzeitstudien keine objektive Verbesserung der Herzinsuffizienz nachgewiesen werden [37].

Eine Etablierung als wirksame Therapieoption fand daher nicht statt.

Demgegenüber wird bei der passiven Kardiomyoplastie durch ein vorgeformtes Polyesternetz (z.B. ACORN CorCap), das intraoperativ um den Ventrikel gelegt und befestigt wird, eine passive diastolische Stützung des Herzens erzeugt. So soll es zur Begrenzung der linksventrikulären Dilatation sowie zu einer Umkehrung der myokardialen Umbauvorgänge und damit zur kardialen Funktionsverbesserung und zur Steigerung der Leistungsfähigkeit kommen.

Die Langzeitwirkung der CorCap -Therapie wird derzeit bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie untersucht [35, 38-40]. Gegenwärtig fehlen jedoch gesicherte Daten hinsichtlich des therapeutischen Nutzens und der Indikationsstellung dieses Verfahrens [37].

Einige mittelfristige Ergebnisse mit Hinweisen auf positiven Nutzen hinsichtlich einer Verbesserung von Ventrikelgeometrie und Funktion liegen jedoch vor [41-45].

Einen weiteren operativen Therapieansatz bildete die Batista-OP, bei der es zu einer definierten Entfernung von „überflüssigem“ bzw. geschädigtem Herzmuskelgewebe kam [46, 47]. Ziel war hier über eine Volumenverkleinerung eine Reduktion der Wandspannung zu erzielen und so die linksventrikuläre Auswurfleistung zu verbessern [35] [48].

Hierbei konnte initial zwar eine Verbesserung der Auswurfleistung und der kardiopulmonalen Leistungsfähigkeit bei einzelnen Operierten gezeigt werden, jedoch bleibt die Ventrikelgeometrie, insbesondere die Orientierung der Muskelfasern, auch nach der Operation gestört [48].

Zudem ist das Verfahren komplikationsreich und wird von einer hohen Früh- und Spätletalität von bis zu 30% begleitet, weshalb sich dieses nicht etablieren konnte.

Trotz der enormen Fortschritte der interventionellen und konservativen Herangehensweisen an die Koronare Herzkrankheit und ihre Folgen, sind den bisher etablierten Therapiestrategien Grenzen gesetzt. Häufig kann nur prophylaktisch ein weiteres Fortschreiten der KHK oder das erstmalige oder wiederholte Auftreten von ischämischen Ereignissen oder deren Komplikationen vermieden werden.

Dies führt dazu, dass z.B. immer mehr Patienten die Akutphase eines Infarkts überleben und nicht selten ein Stadium der chronischen Herzinsuffizienz erreichen.

Neben den enormen Fortschritten in der interventionellen und medikamentösen Therapie, trägt auch eine signifikant erhöhte Lebenserwartung der Bevölkerung zum häufigen Erreichen eines terminalen Stadiums der chronischen Herzinsuffizienz bei [35].

Beim Patienten im Finalstadium bleibt jedoch als einziger kausaler Therapieansatz die Herztransplantation.

Zur Überbrückung der oft langen Wartezeiten auf ein Spenderherz besteht bei Notwendigkeit die Möglichkeit der Implantation einer mechanischen Unterstützungspumpe, dem sogenannten ASSIST Device, das bei Unterstützung des linken Herzens als LVAD (left ventricular assist-device) bezeichnet wird. Dieses wird zum Herz parallel geschaltet, so dass Herz und LVAD unabhängig voneinander arbeiten und so die Herzfunktion unterstützt wird [49-51].

Kommt eine Herztransplantation nicht infrage (z.B. bei rezidivierendem Krebsleiden, schwerer Niereninsuffizienz, schwerer pulmonaler Hypertonie [52]), so wird in einigen Fällen die Implantation eines ASSIST-Device als sogenannte Destination-Therapie im Sinne einer endgültigen Versorgung angesehen.

Eine Alternative zum ASSIST-Device ist das Total Artificial Heart, welches nicht parallel geschaltet ist, sondern anstelle des eigenen Herzens implantiert wird [53].

Die Möglichkeit des sogenannten Kunstherzens stellt jedoch keine zufriedenstellende endgültige Lösung dar, da sie trotz der besseren Überbrückung der Wartezeit auf ein Spenderorgan keine längerfristige Überlebensperspektive bieten kann.

Zudem können auch hier schwerwiegende Komplikationen, wie Thrombembolien, Infektionen, Blutungen und hämolytische Anämien auftreten [52, 54].

Allerdings sinkt die Zahl an verfügbaren Transplantaten seit Jahren: Im Jahr 2004 wurden in Deutschland 384 Herztransplantationen durchgeführt [55], in 2009 lag die Zahl bei 347 [56]. Bei einer durchschnittlichen Wartezeit auf ein Spenderherz von 9-12 Monaten versterben ca. 30% aller gelisteten Patienten auf der Warteliste [4].

Beachtlich ist jedoch das inzwischen erzielte Outcome. So beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate nach Herztransplantation bis zu 70%-80% international [35, 52], die 10-Jahres-Überlebensrate liegt bei 50% [35].

Jedoch ist auch nach erfolgreicher Transplantation keine wahre Genesung erreicht, da ein Leben lang gegen eine mögliche Abstoßung Immunsuppressiva mit beachtlichen Nebenwirkungen (z.B. Infektanfälligkeit, Hypertonie etc.) eingenommen werden müssen.

Neben der Abstoßungsreaktion drohen Infektionen, später auch Transplantatvaskulopathie und Malignome.

In Anbetracht der hohen Morbidität und Mortalität der ischämiebedingten Herzinsuffizienz und ihrer noch nicht zufriedenstellenden Therapiemöglichkeiten sind neue Methoden gefragt, die die Herzfunktion verbessern und Herzversagen vorbeugen. Als vielversprechende neue Therapiemethode erscheint die Verwendung von autologen adulten Knochenmarksstammzellen.

1.4. Stammzellen

Stammzellen sind undifferenzierte oder zum Teil differenzierte Vorläuferzellen, die die Fähigkeit besitzen sich selbst zu erneuern, auf Nachfrage zu proliferieren und sich in die entsprechende reife Zellen zu differenzieren. Sie bilden ein Reservoir für die Bildung oder Erneuerung von Organen. Als Beispiele können hier Vorläuferzellen des Bluts und Hautstammzellen genannt werden.

Stammzellen können durch ihr Differenzierungspotential (pluripotent, multipotent, unipotent) oder durch ihren Entwicklungsursprung kategorisiert werden.

Pluripotent bedeutet die Fähigkeit, sich in viele verschiedene Gewebetypen differenzieren zu können. Bezogen auf den menschlichen Körper bedeutet dies die Fähigkeit zu Umwandlung in Zellen aller 3 Keimblätter des Körpers (Ektoderm, Mesoderm, Endoderm) [57]. Multipotente Stammzellen können sich nur in wenige Gewebetypen umwandeln, und zwar in alle Zellen innerhalb eines spezifischen Keimblattes oder einer Zelllinie.

Demgegenüber ist bei unipotenten Stammzellen die Umwandlung in nur einen Zelltyp möglich.

Als ein grundlegendes Beispiel für pluripotente Kompetenz wären die embryonalen Stammzellen zu nennen, die für die Generation der menschlichen Organe in den Anfangsstadien in unserer Entwicklung stehen.

Im Gegensatz dazu sind die meisten fetalen und adulten Stammzellen multipotent und dadurch fähig, eine kleine Reihe von differenzierten Zelllinien passend zu ihrer Lokalisation zu produzieren. Adulte Stammzellen werden entweder auf Nachfrage lokal oder durch Mobilisation aus dem Knochenmark aktiviert. Letztere zirkulieren ins Blut und können so zu ihrem spezifischen Organ gelangen (homing)[58].

Das geringste Differenzierungspotential besitzen unipotente Stammzellen, wie Skelettmuskelzellen, endotheliale Vorläuferzellen oder Stammzellen in der Basalzellschicht der Epidermis.

In dieser Studie wurden adulte Knochenmarksstammzellen gewählt, welche autolog transplantiert wurden.

Adulte Knochenmarksstammzellen sind postnatale Stamm- oder Progenitorzellen, die sich z.B. im Knochenmark oder zirkulierend im Blut befinden. Bei der autologen Transplantation dieser Zellen sind Spender und Empfänger der Knochenmarksstammzellen identisch, d.h. ein und dieselbe Person.

Sie zeichnen sich durch ethische und immunologische Unbedenklichkeit sowie einfache Handhabung und Gewinnung aus.

Rolle der Stammzellen im menschlichen Organismus:

Die Mobilisation von Progenitorzellen aus dem Knochenmark stellt einen von Natur aus angelegten, physiologischen Reparaturmechanismus dar. Das ischämische Organ steuert dabei die Aufnahme („homing“) und Inkorporation der Progenitorzellen durch die im Rahmen der Ischämie freigesetzten Botenstoffe. In die Zirkulation abgegeben fördern sie je nach Art des Botenstoffs die Mobilisation aus dem Knochenmark (z.B. Wachstumsfaktoren wie „vascular endothelial growth factor“ (VEGF), oder aber als sogenannte Homing-Faktoren die Aufnahme der Zellen ins Zielorgan, wie z.B. ins Myokard (z.B. SDF-1 und SCF, „stem cell factor“) [4].

Stammzellen spielen also nicht nur zu Beginn des Lebens eine Rolle.

Auch der adulte Organismus verfügt über Stammzellen, die jedoch nun eine eingeschränkte und meist auf ein Organ limitierte Fähigkeit zur Erneuerung besitzen, wie zum Beispiel die

Dermatoblasten zur Regeneration der Haut oder das Knochenmark mit der Fähigkeit zu Blutbildung [58].

Entgegengesetzt der langjährigen bisherigen Annahme, das Herz sei ein postmitotisches und damit ausdifferenziertes Organ, fand man nun die Präsenz von kardialen Stammzellen innerhalb von menschlichem Herzmuskelgewebe beim lebenden Organismus und wiederlegte somit diese bisherige Annahme.

Aktuelle Studien fanden heraus, dass es unter bestimmten Bedingungen wie Ischämie und Hypertension, zur kardialen Proliferation und `cycling` kommt [59-61]. Weiter wurden ortsansässige kardiale Zellen gefunden, welche Charakteristika von Stammzellen aufwiesen [62-64].

Diese im Herzmuskelgewebe physiologisch vorhandenen kardialen Stammzellen ließen sich u.a. durch ihre Fähigkeit zur Expression von verschiedenen Antigenen und Rezeptoren noch weiter differenzieren. Ob es sich hierbei um Vorstufen ein und desselben Zelltyps oder ob es sich um eigenständige Zellen handelt, ist jedoch weiterhin unklar [57]. Als Beispiele für die unterschiedlichen Expressionen der Zellen können hier der c-Kit Rezeptor, der auch als CD 117 bekannt ist, oder das Stammzellantigen 1 (Sca-1+) genannt werden.

Aktuelle Studien konnten nachweisen, dass es nach einer Gewebeschädigung z.B. durch Ischämie zur erhöhten Migration von kardialen Stammzellen in das ischämische Gebiet kommt [65].

Bei einigen Zelltypen der kardialen Stammzellen (z.B. die, die das Stammzell-Antigen 1 exprimieren), wurde zudem neben der Migration (homing) in das infarzierte Myokard ebenfalls die Umwandlung in Kardiomyozyten um das geschädigte Gebiet herum nachgewiesen [65].

Obwohl der Pool dieser Zellen im Vergleich zu der Anzahl der normalen ausgereiften Kardiomyozyten klein ist, glaubt man, dass auch im Rahmen einer physiologischen Homöostase aus diesem Pool ständig verlorengegangene Kardiomyozyten ersetzt werden [66].

Kardiale „residente“ Stammzellen (ebenso wie Stammzellen von anderen Geweben), scheinen sich in spezialisierten Nischen aufzuhalten, welche überall im Myokard, jedoch insbesondere in den Vorhöfen und in der Herzspitze lokalisiert sind [67-70].

Verwirrend erscheint bei diesen neuen Erkenntnissen die Tatsache, dass es augenscheinlich dem menschlichen Körper dennoch nicht gelingt, das verlorengegangene funktionstüchtige Myokard durch Umwandlung der vorhandenen kardialen Stammzellen suffizient zu ersetzen. Die genaue Begründung bleibt unklar. Einige Vermutungen werden jedoch dahingehend

aufgestellt, dass möglicherweise zum einen die kardialen Stammzellen in hypoxischem Gewebe nicht überleben und zum anderen die Anzahl mit zunehmendem Alter sinkt [57] [66].

Nach aktuellen tierexperimentellen Erkenntnissen sind adulte Knochenmarkstammzellen fähig, sich in Kardiomyozyten umzuwandeln.

Aus einer Studie von Makino et al. [71] geht hervor, dass aus Knochenmarksstammzellen von Mäusen in vitro eine Zelllinie von Kardiomyozyten isoliert werden kann.

Weiter zeigen tierexperimentelle Studien, dass die Transplantation von Knochenmarksstammzellen zu einer Verbesserung der Herzfunktion und zur Reduktion der Infarktgröße durch neu gebildetes Myokard führten [72, 73].

In einem Versuch mit Mäusen transplantierte Orlic et al [72] Lin^{-} und $c-kit^{pos}$ Stammzellen in die sich kontrahierende Muskelwand, die unmittelbar an das infarzierte Myokardareal grenzte. Es entwickelte sich binnen 9 Tagen neues Herzmuskelgewebe. Das sich entwickelnde Gewebe bestand aus proliferierenden Myozyten und Gefäßstrukturen.

Tomita et. al [73] zeigten ebenfalls tierexperimentell an Mäusen, dass sich nach einer autologen Transplantation von 5-AZA behandelten Knochenmarksstammzellen in die zuvor erzeugte Herzmuskelnarbe des linken Ventrikels im Narbengewebe Zellen entwickeln, die positiv auf Troponin I und myosin heavy chain (Myosinschwerkettenprotein) getestet wurden. Außerdem induzierten die transplantierten Zellen die Angiogenese im Narbengewebe.

Letztendlich resultierte somit eine Verbesserung der Herzfunktion.

In weiteren, folgenden tierexperimentellen Studien konnte ebenfalls gezeigt werden, dass bei einer Transplantation von adulten Knochenmarksstammzellen in das Ischämiegebiet des Herzens diese die herzspezifischen Marker Troponin I [74] und kardiales Myosin [69] exprimieren.

In einer Reihe von tierexperimentellen Studien wurde bisher die Wirksamkeit der autologen Knochenmarkstammzellen auf infarzierte Tierherzen geprüft.

So testeten z.B. Xu et al [75] in ihrer randomisierten Studie zu diesem Thema 21 Kaninchen, bei denen durch Ligatur der LAD künstlich ein Vorderwandinfarkt erzeugt wurde.

Sie kamen durch Evaluation mittels Echokardiographie zu dem Ergebnis, dass mononukleäre Knochenmarksstammzellen, die zuvor mit phVEGF stimuliert wurden, die kardiale Funktion nach akutem Myokardinfarkt im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Applikation von Zellen signifikant verbessern.

Auch eine Reihe von randomisierten und multizentrischen klinischen Studien, welche die Wirksamkeit der autologen Knochenmarksstammzelltransplantation ergaben, wurden bereits durchgeführt. Als Beispiele kann z.B. die Studie von Stamm et al. [76] aufgeführt werden. Genauer wird hierauf im Diskussionsteil dieser Arbeit eingegangen.

1.5. Herleitung der Fragestellung

Der Myokardinfarkt führt durch Gewebeverlust zu einer Beeinträchtigung der Herzleistung. Das Postinfarkt-Herz verschlechtert sich mit der Zeit immer mehr, was auch durch die bisherigen etablierten Therapiemethoden langfristig nicht verhindert werden kann.

Der Körper ist nicht von sich aus in der Lage über die verbleibenden Kardiomyozyten oder durch Regeneration von neuen Herzmuskelzellen aus körpereigenen Stammzellen das nekrotische Gewebe zu reparieren.

Daher sind neue Methoden zu entwickeln, die auch langfristig den durch Ischämie entstandenen Schaden beheben können, indem sie an der Ursache der resultierenden Herzinsuffizienz ansetzen und somit eine Wiedereingliederung des abgestorbenen jedoch notwendigen Herzmuskelbereichs in die Pumpleistung des Herzens ermöglichen.

Den Ansatzpunkt hierzu gibt der Körper selbst vor: er ist fähig über die Zellen seines Knochenmarks bei Bedarf Blutzellen zu bilden. Bei anderen Geweben, wie z.B. der Haut ist ein natürlicher Erneuerungsprozess durch spezielle Stammzellen von Anfang an festgelegt, vielmehr sogar selbstverständlich und unverzichtbar.

Andere Organe, wie die Leber, sind nach Beschädigung ebenfalls fähig zu Regeneration.

Die Transplantation autologer Knochenmarksstammzellen ist demnach eine mögliche Art der Therapie, die den physiologischen Reparaturmechanismen des Körpers sehr nahe kommt und im Gegensatz zu allen bisherigen Therapiemöglichkeiten bei Myokardinfarktpatienten die Kernursache ihrer Herzinsuffizienz bekämpft, nämlich den bisher irreversiblen Ausfall eines Teils ihrer Herzmuskulatur.

Dass Knochenmarksstammzellen fähig sind, sich in Kardiomyozyten zu entwickeln, ist in zahlreichen tier- und zellexperimentellen Studien nachgewiesen worden. Daher wurde im

nächsten Schritt die Transplantation von Knochenmarksstammzellen in klinischen Studien zur Therapie der ischämischen Kardiopathie/Herzinsuffizienz eingesetzt. Hier wurde gezeigt, dass Knochenmarksstammzellen sicher sowohl kathetergestützt als auch chirurgisch appliziert werden können [76-78]. Funktionelle, geometrische sowie morphologische Parameter von geschädigten Herzen wurden, abhängig vom selektierten Zelltyp und der Applikationsart, mehr oder weniger positiv beeinflusst.

Um die Zellgewinnung zu vereinfachen und den komplexen Effekt der reinen Knochenmarksstammzellen zu eruieren, transplantierten wir unselektierte, nichtkultivierte Knochenmarksstammzellen.

In der hier vorgelegten Arbeit sollten die Auswirkungen der Transplantation autologer Knochenmarksstammzellen in Verbindung mit einer Koronarrevaskularisation bei Myokardinfarktpatienten untersucht werden.

Hierbei sollen folgende konkrete Fragen formuliert und am Ende dieser Arbeit beantwortet werden:

1. Ist die autologe Knochenmarksstammzelltransplantation sicher durchführbar?
2. Bewirkt die autologe Knochenmarksstammzelltransplantation innerhalb des mittelfristigen Beobachtungszeitraums von 6 Monaten eine Verbesserung kardialer Funktionsparameter im Vergleich zur alleinigen Revaskularisationsmaßnahme ?
3. Kommt es zur Reduktion des myokardialen Narbengewebes der stammzelltransplantierten Patienten?
4. Wird eine Verbesserung der Herzinsuffizienzsymptome der Patienten bewirkt?

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

Es handelt sich um eine nicht-randomisierte prospektive Pilot-Studie, welche aus 22 Zell-transplantierten Patienten sowie einer entsprechenden Kontrollgruppe besteht. Die Patienten der Kontrollgruppe wurden mit den Patienten der transplantierten Gruppe nach Alter, Schwere der KHK und linksventrikulärer Ejektionsfraktion gematcht.

Die Einschlusskriterien für die Patientenauswahl waren das Vorhandensein eines nachgewiesenen, stattgefundenen Herzinfarktes (Q-Welle im EKG und korrespondierendem okkludiertem Koronargefäß im Angiogramm), eingeschränkte linksventrikuläre Funktion (LVEF<50%) sowie die Indikation zur elektiven, isolierten sowie erstmaligen Bypass-OP.

Zu den Ausschlusskriterien der Studie zählen die Notwendigkeit anderer begleitender Eingriffe, eine vorangegangene Sternotomie, eine bekannte hämatologische Erkrankung und klinische Instabilität.

Die Zustimmung der lokalen Ethikkommission sowie die Zustimmung der teilnehmenden Patienten zu dieser Studie liegen vor.

2.2. Patienten

In einem Zeitraum von August 2003 bis November 2005 wurden insgesamt 41 Patienten mit elektiv geplanter Bypass-OP in die Studie eingeschlossen. Hiervon bekamen 22 dieser Patienten im Rahmen der Operation Stammzellen transplantiert, während 19 Patienten die Kontrollgruppe bildeten. Die Gruppe mit Stammzelltransplantation bestand aus 18 Männern und 4 Frauen während in der Kontrollgruppe ebenfalls 4 Patienten Frauen waren und 15 der Patienten Männer.

Das Durchschnittsalter der transplantierten Patienten betrug 68 (44-84) Jahre. In der Kontrollgruppe betrug das durchschnittliche Alter 69 (47-84) Jahre.

Der durchschnittliche logistische Euroscore der transplantierten Gruppe betrug 6 %, in der Kontrollgruppe 7 %.

In der transplantierten Gruppe hatten 17 Patienten eine koronare Dreigefäßerkrankung,

5 Patienten eine koronare Zweigefäßerkrankung und keiner der Patienten eine koronare Eingefäßerkrankung. Die Kontrollgruppe gab es 15 Patienten mit koronarer Dreigefäßerkrankung. Die koronare Zweigefäßerkrankung lag hier 4 mal vor, während die koronare Eingefäßerkrankung ebenfalls nicht auftrat.

Die durchschnittliche präoperative linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) betrug 35,5 % in der transplantierten Gruppe und 36,7 % in der Kontrollgruppe.

Bezüglich der erlittenen Myokardinfarkte der Patienten wären hier zum einen das durchschnittliche Infarktalter zu nennen, das in der transplantierten Gruppe 634,45 Tage (4-6570) und in der Kontrollgruppe 2177,5 Tage (6-9000) betrug. In der transplantierten Gruppe war bei 4 Patienten das Infarktalter unbekannt, kein Patient erlitt einen Infarkt innerhalb 48h vor der Bypass-OP. Bei drei Patienten war es kleiner als drei Wochen, bei elf Patienten lag das ischämische Ereignis mehr als drei Wochen vor der OP zurück und in 4 Fällen gab es bei mehreren Infarkten zu unterschiedlichen Zeitpunkten mehrere Zeitspannen. Bei den Kontrollpatienten war in neun Fällen der genaue Zeitpunkt des Infarktes unbekannt, in keinem Fall war das Infarktalter <48h, bei vier Patienten fiel es in den Zeitraum von <3 Wochen vor stationärer Aufnahme, bei sechs Patienten betrug das Infarktalter mehr als drei Wochen. Infarkte zu verschiedenen Zeitpunkten traten bei den Kontrollpatienten nicht auf.

Bezüglich der Infarktlokalisierung ist hier zu sagen, dass sich in der transplantierten Gruppe bei 5 Patienten ein Vorderwandinfarkt ereignet hatte, einen Infarkt im Bereich der Hinterwand hatten 5 Patienten erlitten, ein Seitenwandinfarkt trat bei 3 Patienten auf. Die Kombination aus Vorder- und Hinterwandinfarkt hatten 9 Patienten erlitten. In der Kontrollgruppe betrug die Anzahl der Patienten mit Vorderwandinfarkt 9, mit Hinterwandinfarkt 8 und mit Seitenwandinfarkt 2, während sich bei keinem Patienten sowohl Vorder- als auch Hinterwandinfarkt ereignet hatte.

Die durchschnittliche NYHA-Klassifikation betrug präoperativ 2,6 bei den transplantierten Patienten und 2,4 in der Kontrollgruppe.

Übereinstimmung der Matchingkriterien:

Die Abweichungen der durchschnittlichen LVEF der beiden Gruppen sollten weniger als +-5 Prozentpunkte vom jeweiligen Partner betragen. Zudem durften sich die Matchingpartner nicht mehr als 5 Jahre bezüglich ihres Alters voneinander unterscheiden. Hinsichtlich der KHK waren keine Unterschiede erlaubt. Mittels Wilcoxon-Test wurde sowohl beim Alter ($p=0,353$)

als auch bei der LVEF ($p=0,216$) ein nicht signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen errechnet. Beide Gruppen waren hinsichtlich ihrer KHK (2,7) komplett identisch.

Die Unterschiede sind somit nicht signifikant.

Tabelle 1 Präoperative Patientendaten.

	Km-Tx	Kontrollgruppe
Patientenzahl	22	19
Geschlecht (m:w)	18:4	15:4
Infarktlokalisierung (ant./post./lat./comb.)	5/5/3/9	9/8/2/0
Infarktalter (unbek., <48h, <3w, >3w, multi)	4,0,3,11,4	9,0,4,6,0
KHK (1-,2-,3-)	0/5/17	0/4/15
Euroscore (%)	6 (6,2; 1,3-13,5)	7 (4,6 ;1,3-20)
LVEF (%)	35,6 (35; 15-50)	36,8 (40; 25-45)
Alter (Jahre)	68 (72; 44-84)	69 (69; 47-84)
NYHA	2,6 (3; 1-4)	2,4 (2; 1-5)

2.3. Stammzellen

2.3.1. Gewinnung und Applikation

Die Stammzellgewinnung und Transplantation erfolgte während der Bypass-Operation.

Zu Beginn der Bypassoperation wurde zur Stammzellgewinnung 100ml heparinisiertes Knochenmarksblut vor der Sternotomie aus dem Sternum mittels Aspiration entnommen. Nach Heparinisierung erfolgt die Filterung und Zentrifugation des Knochenmarks mit 4000G über 12 Minuten zur Gewinnung eines sterilen Buffycoats.

Die Bypassoperation wurde dann bei Normothermie, kardiopulmonalem Bypass und warmer Blutkardioplegie während der Aufbereitung der Stammzellen durchgeführt.



Abb.1-4: Gewinnung und Aufbereitung des Knochenmarks

Die Applikation der Stammzellen wurde während des kardioplegischen Herzstillstandes nach Fertigstellung der distalen Anastomose durchgeführt.

Es kamen drei Arten der Stammzellapplikation zum Einsatz. Zum einen wurden die Stammzellen direkt über den Venenbypass verabreicht. Die Indikation für diese Art der Applikation war gegeben, wenn das Infarktgebiet der Bypasschirurgie zugänglich war.

Die zweite Methode bestand in der direkten Injektion der Stammzellen in das Myokard, sofern sich im Infarktareal kein anschlussfähiges Gefäß fand, aber das Areal visuell vom gesunden Myokard abgrenzbar war. Trat der Fall auf, dass das Infarktgebiet weder der Bypasschirurgie zugänglich noch sichtbar war, so wurden die Zellen über die Kardioplegiekanüle in die Aortenwurzel verabreicht und damit intrakoronar verteilt.

Anschließend wurden die proximalen Anastomosen fertiggestellt und der Patient von der Herzlungenmaschine entwöhnt. Der Thorax wurde nach dem üblichen standardisierten Verfahren verschlossen.

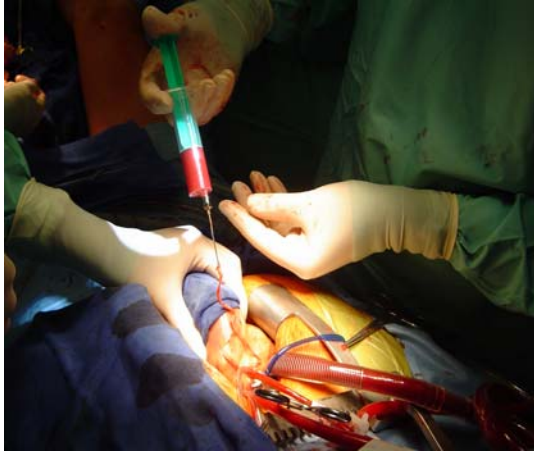


Abb. 5 Stammzellapplikation via Bypass

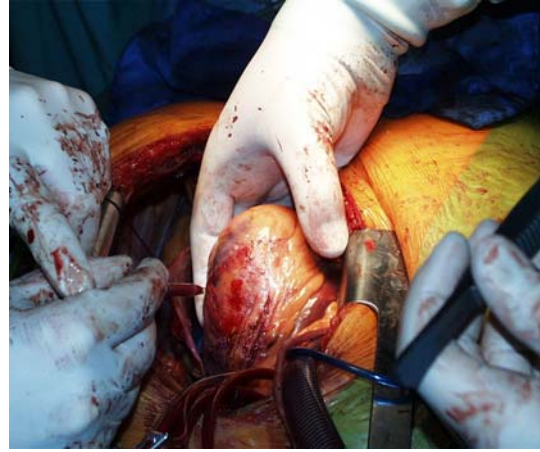


Abb.6 intramyocardiale Stammzellapplikation

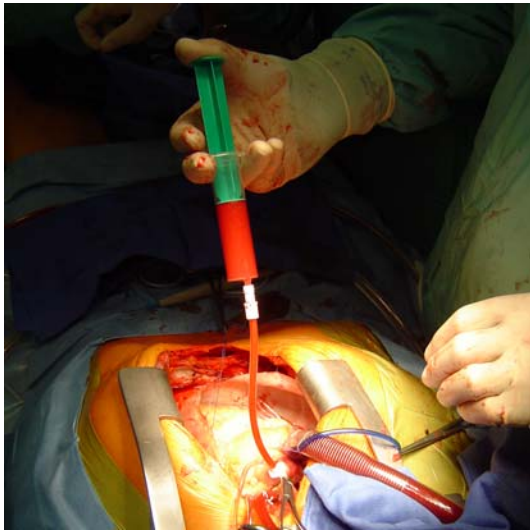


Abb.7 Stammzellapplikation via Aortenwurzel

2.4. Untersuchungsmethoden:

Zur Evaluation von funktionalen und morphologischen Veränderungen des Herzens kam die transthorakale Echokardiographie obligatorisch (HP Sonos 5500, Hewlett-Packard Company, Palo Alto, USA) sowie das Gadolinium-gestützte MRT fakultativ (Siemens Magnetom Sonata, 1,5 T, Siemens, Erlangen, Germany) zum Einsatz, die jeweils zu drei verschiedenen Untersuchungszeitpunkten durchgeführt wurden. Untersucht wurde 1 Tag vor dem Eingriff, am sechsten postoperativen Tag sowie sechs Monate nach der Operation.

Zudem erfolgten bei den Nachuntersuchungen Anamneseerhebung und klinische Untersuchung. Von besonderem Interesse waren hierbei zum einen kardiale Symptome, Ereignisse und Interventionen und zum anderen neu aufgetretene neoplastische Erkrankungen.

2.4.1. Echokardiographie

Zu allen drei Zeitpunkten wurde hier als globaler Funktionsparameter die LVEF und als morphologischer Parameter der LVEDD bestimmt.

Die Ejektionsfraktion wurde im apikalen Vier-Kammer-Blick visuell sowie planimetrisch nach der Simpson-Methode (Scheibchensummationsmethode) berechnet.

Die so berechneten Volumina lassen die Berechnung der LVEF nach folgender Formel zu:

$$\text{LVEF} = (\text{LVEDV} - \text{LVESV}) / \text{LVEDV} \quad [79]$$

Der LVEDD wurde in der M-Mode Darstellung der parasternal langen Achse in Höhe der Papillarsehnenfäden gemessen.

2.4.2. MRT

Die Untersuchung der Patienten fand nach im folgenden beschriebenen Standardprotokoll an einem klinischen 1,5 T Hochfeldgerät (Magnetom Sonata Siemens, Erlangen) statt. Alle Patienten befanden sich in Rückenlage. Während der Untersuchung wurde ein EKG abgeleitet. Eine körperadaptierte Empfängerspule (body phased-array) wurde auf der Brust des Patienten zu Bildaufnahme positioniert. Nach Lokalisationsschichten wurden doppelt angulierte Cine-

Sequenzen in den drei langen Herzachsen (2,3,4 - Kammerblick) und in der kurzen Herzachse aufgenommen.

Die in der kurzen Herzachse durchgeführte linksventrikuläre Volumendarstellung deckte den linken Ventrikel in 10 mm dicken Schichten von Mitralklappe bis Herzspitze lückenlos ab.

Nach intravenöser Injektion eines niedermolekularen, gadoliniumhaltigen Kontrastmittels (Gadovist präoperativ, Magnevist postoperativ) in einer Dosis von 0,1 mmol pro kg (KG) konnten inversionspräparierte T1 gewichtete Sequenzen in den gleichen Schichtorientierungen wie die Cinebilder aufgenommen werden. Hierdurch war es möglich das Infarktausmaß und die Transmuralität der Myokardinfarkte zu bestimmen.

Eine Untersuchung mittels MRT war nicht möglich bei Patienten mit absoluten (Defi, intrakranielle Aneurysmaclips, Metallimplantate) oder relativen (schwere Klaustrophobie, fehlendes Einverständnis des Patienten zur MRT-Untersuchung) Kontraindikationen. Auch logistische Gründe (limitierte Verfügbarkeit, schneller Operationszeitpunkt nach Aufnahme, Kurzatmigkeit des Patienten) verhinderten MRT-Untersuchungen.

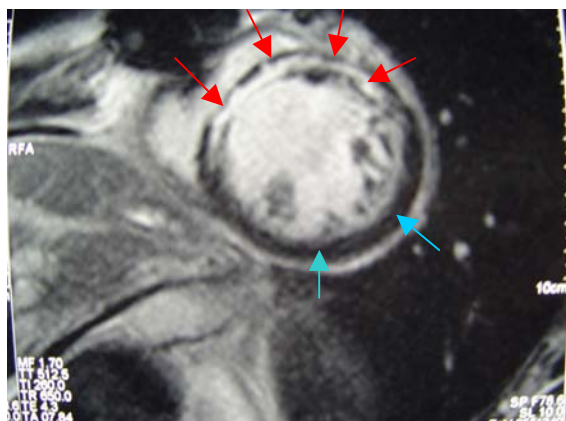
So erhielten von 22 transplantierten Patienten 14 präoperativ, 16 sechs Tage nach der OP und 13 zur 6-Monats-Folgeuntersuchung eine MRT des Herzens. In der Kontrollgruppe waren es präoperativ 7, postoperativ 7 und nach einem halben Jahr 6 Patienten.

Beurteilung der Regionen mit Hyperenhancement:

Durch die Kontrastmittelgabe kam es in kardialen Narbenbereichen zur Mehranreicherung an Kontrastmittel, was sich als hyperintenses Areal abgrenzen ließ.

Mit Hilfe des 17-Segment-Modells [79], welches eine standardisierte Einteilung des Ventrikelmyokards in 17 Segmente vorsieht, konnte die Transmuralität des Narbengewebes des linken Ventrikels abgeschätzt werden. Hierbei wurde zu jedem Untersuchungszeitpunkt jedes Segment visuell graduiert, indem benannt wurde, ob das Hyperenhancement 0%, <25%, 25-50%, 50-75% oder 75-100% des Gesamtmyokards im abgegrenzten Myokardareal betrug. Hierzu wurden ein Score von 0-4 verwendet, wobei der Score 0 bei =0% Hyperenhancement vergeben wurde und so weiter. Den Score 4 erhielten die Segmente, deren Narbenanteil 75%-100% des Gesamtmyokards betrug. Zur Beurteilung der Ausdehnung der Transmuralität des Narbengewebes wurden auch die nicht-kontrastmittelangereicherten entsprechenden Cine-Sequenzen herangezogen. Zudem wurde im Rahmen einer genaueren Betrachtung

unterschieden zwischen Infarktsegmenten und Nicht-Infarktsegmenten. Hierzu wurden alle Segmente, welche den Score 0 trugen den Nicht-Infarktsegmenten, alle übrigen den Infarktsegmenten zugeordnet. Im Rahmen der Auswertung wurde aufgrund der Notwendigkeit zur Zusammenfassung der erhobenen Werte der oben beschriebene Score den Klassenmitten der Bewertungsskalen zugeordnet.



➤ kontrastmittelangereichertes myokardiales Narbengewebe = late enhancement

➤ „gesundes“ nicht-infarziertes Myokard

Abb.8 Late enhancement des linken Ventrikels im MRT im short-axis-view

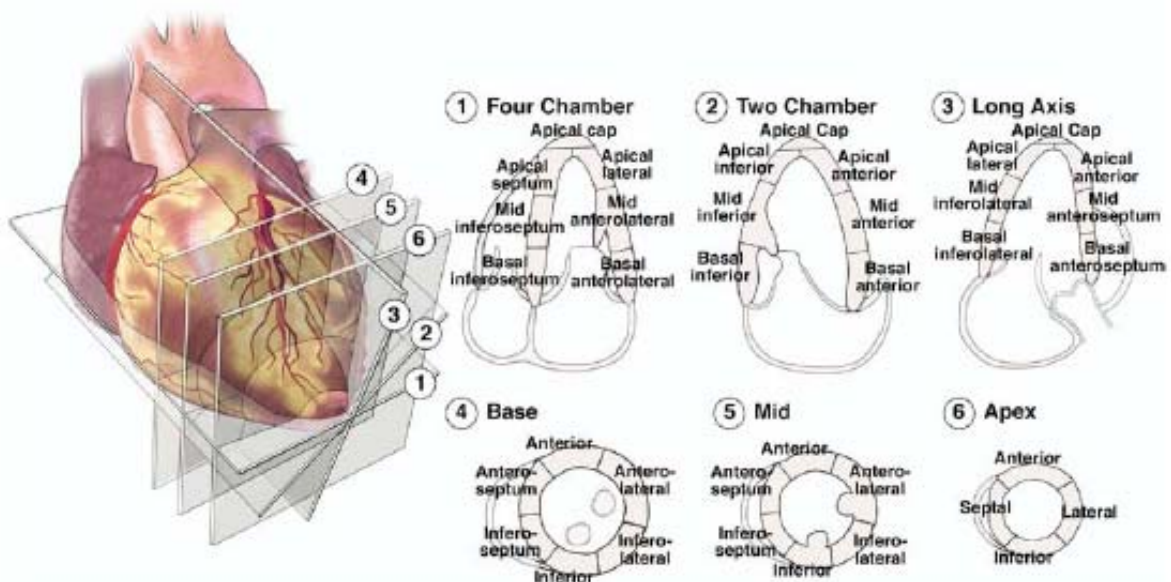


Abb.9 Segmenteinteilung des linken Ventrikels nach dem 17-Segmentmodell [79]

2.4.3. Patientenakten

Die hier verwendeten präoperativen, operativen und postoperativen Daten der Patienten wurden aus den jeweiligen Akten des Zentralarchivs der Charité entnommen.

2.5. Statistik

Die statistische Auswertung der Daten wurde mit Hilfe des Statistikprogramm SPSS 14.01 (SPSS Inc., Chicago, USA) für Windows durchgeführt. Das Signifikanzlevel wurde auf $\alpha \leq 0,05$ festgelegt.

Begonnen wurde mit der Durchführung einer deskriptiven Statistik und einer explorativen Datenanalyse. Anhand der so gewonnenen Histogramme wurden die Daten auf Normalverteilung geprüft. Hierzu wurde ebenfalls die durch die explorative Datenanalyse gewonnene Schiefe herangezogen, die bei normal verteilten Daten $|\leq 1|$ betragen musste.

Zur Prüfung auf statistisch signifikante Unterschiede zwischen zwei Datenmengen war es neben der Prüfung ihrer Verteilung weiter notwendig zu entscheiden, ob es sich um eine verbundene oder unverbundene Stichprobe handelt.

Tests für verbundene Stichproben wurden dann gewählt, wenn Vergleiche zwischen verschiedenen Untersuchungszeitpunkten derselben Patientengruppe erfolgen sollten. Für normalverteilte Daten war das der t-Test, für nicht-normalverteilte Daten der Wilcoxon-Test.

Bei gleichem Untersuchungszeitpunkt, jedoch Vergleich zwischen zwei verschiedenen Patientengruppen (d.h. jeder Patient gehört nur jeweils einer von zwei Stichproben an), wurden Tests für unverbundene Stichproben durchgeführt. Hier kam bei Normalverteilung ebenfalls der t-Test, bei fehlender Normalverteilung der Mann-Whitney-Test zum Einsatz.

Unter bestimmten Bedingungen wurden die so ermittelten p-Werte anschließend der Korrektur nach Bonferroni unterzogen [80].

Dies war immer dann der Fall, wenn eine Stichprobe an mindestens zwei statistischen Tests teilhatte. Die Bonferroni-Methode dient der Korrektur des sogenannten alpha-Fehlers, welcher das Entstehen von zufällig signifikanten Ergebnissen durch häufiges Verwenden einer Stichprobe bei statistischen Tests mit paarweisen Vergleichen beschreibt.

Zudem kam der Chi-Quadrat-Test bei der Untersuchung von Verteilungseigenschaften statistischer Grundgesamtheiten zum Einsatz, wie z.B. bei der Betrachtung von Komplikationen und Mortalität beider Gruppen.

3. Darstellung der Ergebnisse

3.1. Intraoperative Daten

Im folgenden sollen relevante intraoperative Daten dargestellt werden, eine Übersicht gibt Tabelle 2. Aus dieser sind zunächst die Daten dargestellt, welche die Gewinnung und Applikation der Knochenmarksstammzellen betreffen.

Letztendlich konnten aus jeweils 100 ml aspiriertem Knochenmark durch Zentrifugation durchschnittlich 363×10^6 Knochenmarksstammzellen gewonnen werden, welche bei 16 Patienten über den venösen Bypassgraft (ACVB) appliziert wurden. Bei 4 Patienten wurden die Zellen über die Kardioplegiekanüle und somit der Aortenwurzel verabreicht, bei 2 Patienten kam es zur intramyokardialen Injektion der Zellen.

In der Kontrollgruppe wurden keine Knochenmarksstammzellen transplantiert.

Weiter dargestellt werden die durchschnittliche Anzahl an Bypasses sowie die Operationsdauer.

Intraoperative Komplikationen traten weder in der transplantierten Gruppe noch unter den Kontrollpatienten auf. Zwei Patienten der transplantierten Gruppe erhielten intraoperativ wegen eines LCO zur Linksherzunterstützung eine intraaortale Ballonpumpe (IABP), welche am zweiten und dritten postoperativen Tag problemlos entfernt werden konnte.

Parameter	Km-Tx-Gruppe mean \pm SD, (median; Range)	Kontrollgruppe mean \pm SD, (median; Range)
Transplantiertes Volumen des Knochenmarks (ml)	9,8 \pm 4,2 (10; 1-15)	-
Anzahl der transplantierten Knochenmarkszellen (n $\times 10^6$)	363 \pm 533 (388; 18,7-1596)	-
Operationsdauer	212 \pm 34,3 (210; 145-295)	165 \pm 35,1 (175; 105-210)
Bypasses	3 \pm 1,2 (3; 1-6)	2,8 \pm 0,8 (3; 1-4)
Intraoperative Komplikationen	-	-

Tabelle 2 Operative Patientendaten

3.2. frühpostoperative Ergebnisse

Betrachtet man Tabelle 3, so sind die dort dargestellten frühpostoperativen Ergebnisse in beiden Gruppen sehr ähnlich. Aufgeführt sind unter anderem frühpostoperativer Blutverlust, Beatmungszeit und inotroper Support.

Der Tabelle 3 zu entnehmen ist weiter die Gesamtzahl der Fälle von aufgetretenen Herzrhythmustörungen. Bezüglich der transplantierten Gruppe lassen sich die aufgeführten 7 Fälle weiter in sechs Ereignisse von Vorhofflimmern sowie eine stattgehabte ventrikuläre Tachykardie differenzieren. Unter den Kontrollpatienten sind hier 5 Fälle von HRST zu nennen, von denen einer eine vorübergehende Asystolie erlitt. Bei weiteren 4 trat Vorhofflimmern auf. Der hier angewendete Chi-Quadrat-Test ergab einen nicht-signifikanten Unterschied ($p=1,86$) in der Häufigkeit des aufgetretenen Vorhofflimmerns.

Im Vergleich der beiden Gruppen konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede im Auftreten von Komplikationen in der frühen postoperativen Phase beobachtet werden.

Bei keinem der Patienten aus beiden Gruppen kam es zu einer Herzbeutelamponade, Reexplorationen aufgrund von Blutungen, gastrointestinalen Komplikationen, Nierenversagen, Mediastinitis oder cerebral-vaskulären Ereignissen.

Im postoperativen Verlauf verstarb jedoch am 18. postoperativen Tag ein mit Stammzellen transplantiertes Patient im Krankenhaus an den Folgen eines Herzinfarktes, welcher einen akuten kardiogenen Schock zu Folge hatte. Die pathologische Untersuchung zeigte eine Thrombose von zwei venösen Bypasses, welche in Gegenwart einer heparininduzierten Thrombozytopenie und sehr kleinen Zielgefäßen auftrat.

Parameter	Km-Tx mean ± SD (median; range)	Kontrolle mean ± SD (median; range)
Beatmungszeit (h)	14,3 ± 14,6 (9,5; 2-70)	12,4 ± 4,2 (12,5; 6-22)
Inotroper Support (h)	15 ± 18,1 (8,5; 0-72)	12,4 ± 17,6 (6; 0-63)
Blutverlust (ml)	735,8 ± 471(650; 140-1935)	919,2 ± 811 (664; 230-3730)

Komplikationen (Anzahl)	Km-Tx	Kontrolle
-Rethorakotomie	0	0
-Tamponade	0	0
-Wundinfektion	2	0
-LCO	0	2
-HRST	7	5
-ARF	0	0
-TIA/ CVA	0	0
-Myokardinfarkt	0	0
-Tod (stationär)	1	0

Tabelle 3 Frühe postoperative Ergebnisse der Km-Tx Patienten

3.3. spätpostoperative Ergebnisse

Es wurden sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der transplantierten Gruppe keine neuen ischämischen Ereignisse beobachtet, die nach dem 30. postoperativen Tag auftraten. Ebenso waren im postoperativen Verlauf in beiden Gruppen keine erneuten chirurgischen Interventionen im Sinne einer Reoperation indiziert. Bei einem Patienten der transplantierten Gruppe wurde eine erneute PTCA durchgeführt, die Kontrollgruppe blieb davon unberührt. Sechs Monate nach der Operation war in jeder der Gruppen jeweils ein Patient an einer nicht-kardialen Todesursache verstorben.

In beiden Gruppen traten im spätpostoperativen Verlauf in 2 Fällen Vorhofflimmern auf.

In der transplantierten Gruppe bestand in 3 Fällen die Notwendigkeit zur Implantation eines AICD, in der Kontrollgruppe war dies in 2 Fällen indiziert. Dies geschah entsprechend der MADIT-Kriterien [36, 81, 82].

Neoplasien wurden im späten postoperativen Verlauf bei den transplantierten Patienten nicht diagnostiziert, wohingegen bei einem Patienten der Kontrollgruppe im Rahmen der MRT-Kontrolle zufällig neoplastische Neubildungen in der Leber festgestellt wurden.

Die NYHA-Klassifikation zum Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung hatte sich in beiden Gruppen verbessert. Der NYHA-Score der transplantierten Patienten verbesserte sich signifikant von präoperativ 2,7 auf 1,5 nach 6 Monaten ($p < 0,05$), wohingegen die Kontrollpatienten eine geringere, nicht-signifikante Verbesserung von 2,4 auf 1,9 ($p = 0,3$) zeigte.

	Km-Tx	Kontrolle
Myokardinfarkt > 30 pod	0	0
Interventionen		
-PTCA/ Stent	1	0
-Reoperation	0	0
Arrhythmien:		
- Vorhofflimmern	2	2
-PM-Implantation	0	0
-AICD-Implantation	3	2
Neoplasien	0	1
Tod		
-kardial	0	0
-nicht-kardial	1	1

Tabelle 4 Späte postoperative Ergebnisse

Beurteilung der Mortalität insgesamt:

Insgesamt verstarben 2 Patienten der zelltransplantierten und 1 Patient der Kontrollgruppe während des Beobachtungszeitraums der Studie. Unter Anwendung des Chi-Quadrat-Testes ist dieser Unterschied statistisch nicht signifikant ($p = 0,547$).

3.4. Ergebnisse spezieller Untersuchungsverfahren

3.4.1. TTE-Ergebnisse

LVEF:

Zunächst soll die in der transthorakalen Echokardiographie ermittelte LVEF dargestellt werden. Eine Verlaufsbeschreibung der LVEF mit Gegenüberstellung der beiden Gruppen zeigt Abbildung 10. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden hier nur die Mittelwerte verwendet.

Präoperativ starten die transplantierten Patienten mit einer linksventrikulären Ejektionsfraktion von im Durchschnitt $35,5 \pm 9,3$ % (Median: 35, Range 15-50). Nach sechs Tagen zeigte sich bereits eine leichte Verbesserung auf $37,9 \pm 10,8$ % (Median: 39, Range 20-60), welche jedoch nicht signifikant war ($p > 0,05$). Sechs Monate später hingegen ist der zu verzeichnende Anstieg auf $42,7 \pm 7,2$ % signifikant ($p = 0,03$).

An den drei Untersuchungszeitpunkten präoperativ, sechs Tage und sechs Monate nach dem Operationstermin konnten in der Gruppe der Kontrollpatienten folgende Werte ermittelt werden: einen Tag vor der Operation wurde ein Ausgangswert von durchschnittlich $36,7 \pm 7,5$ % (Median 40, Range 25-45) gemessen. Nach sechs Tagen war dieser auf einen durchschnittlichen Wert von $37,9 \pm 6,3$ % (Median 40, Range 25-45) gestiegen. Ein weiterer Anstieg war zum Zeitpunkt der Halbjahresnachuntersuchung auf $41 \pm 9,2$ % (Median 42, Range 30-55) zu verzeichnen. Keine der hier beschriebenen Veränderungen zwischen den drei Untersuchungszeitpunkten wurde als signifikant berechnet (p jeweils $> 0,05$).

Während nach 6 Tagen beide Gruppen mit ihrer LVEF auf gleichem Niveau liegen, verbessert sich die LVEF der Km-Tx Gruppe etwas mehr als die der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist jedoch nicht signifikant ($p > 0,05$).

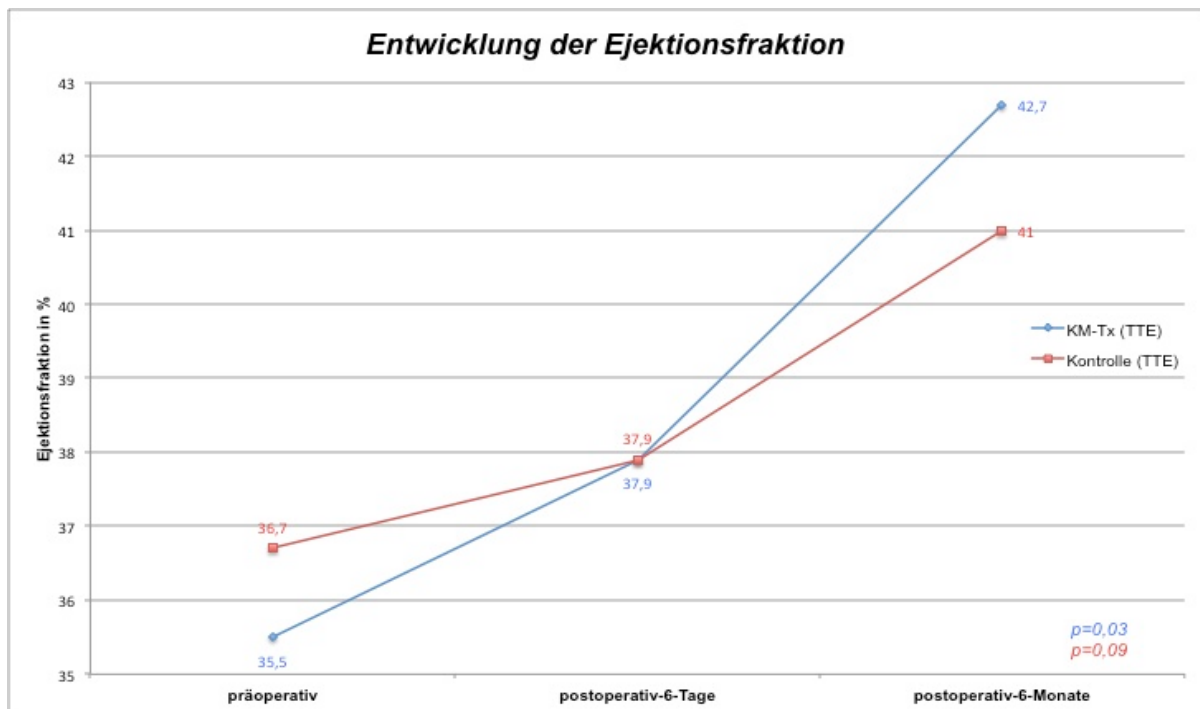


Abb. 10 Die LVEF im Verlauf – Liniendiagramm

LVEDD:

Ebenfalls ermittelt wurde im Rahmen der transthorakalen Echokardiographieuntersuchung der linksventrikuläre enddiastolische Diameter (LVEDD).

Der präoperativ gemessene LVEDD der transplantierten Gruppe betrug durchschnittlich $59 \pm 9,3$ mm (Median 62, Range 44-80). Zum sechsten postoperativen Tag hin verbesserte sich der LVEDD durchschnittlich um 5,5 mm auf $53,5 \pm 7,9$ mm (Median 54 mm, Range 39-64). Diese Verbesserung wurde mit Hilfe statistischer Tests als nicht signifikant eingestuft ($p=0,09$). Signifikant verbesserte sich jedoch der LVEDD zum 180. postoperativen Tag hin im Vergleich zu präoperativ (60,1mm) um 6 mm auf $54 \pm 7,8$ mm (Median 55, Range 44-64, $p<0,05$). Zwischen sechstem und 180. postoperativen Tag fand keine signifikante Verbesserung des LVEDD statt.

Die Kontrollpatienten starten mit einem Mittelwert von $58 \pm 7,5$ mm (Median 57, Range 44-71) präoperativ.

Der nach sechs Tagen gemessene durchschnittliche LVEDD von $55 \pm 5,8$ mm (Median 52, Range 44-67), stieg zum 180. Tag leicht auf $56 \pm 7,1$ mm (Median 56, Range 44-68). Die Verringerung des LVEDD von 58 mm auf 55 bzw. 56 mm im Verlauf wurde als nicht signifikant bestimmt. ($p > 0,05$).

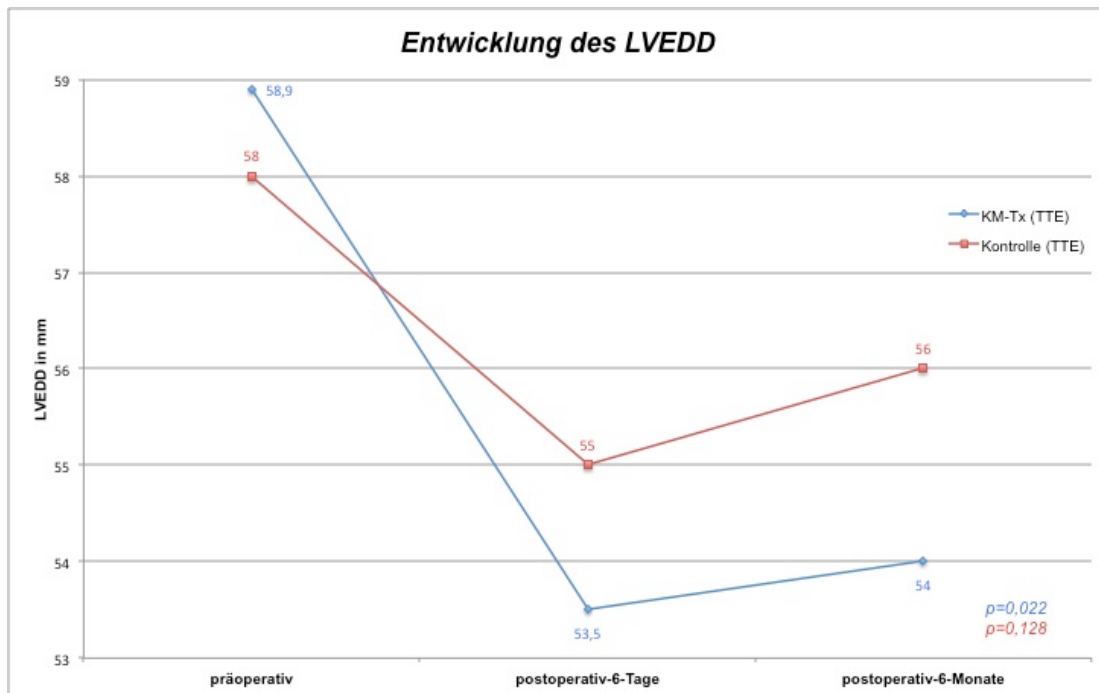


Abb. 11 Der LVEDD im Verlauf-Liniendiagramm

In beiden Gruppen besteht der Trend hin zu einer kontinuierlichen Verkleinerung des LVEDD mit der Zeit. Dieser Trend ist in der zelltransplantierten Gruppe jedoch stärker ausgeprägt, es kommt hier im Gegensatz zur Kontrollgruppe zur signifikanten Veränderung (Abb. 12).

Mit im Methodikteil beschriebenen statistischen Tests wurde der beobachtete Unterschied in der Entwicklung des LVEDD zwischen den beiden Gruppen zu beiden Untersuchungszeitpunkten jedoch als nicht signifikant ermittelt ($p > 0,05$).

3.4.2. MRT-Ergebnisse

LVEF:

In der zelltransplantierten Gruppe konnte mittels MRT eine präoperative EF von durchschnittlich $37,2 \pm 15,7$ % ermittelt werden (Median 34,5; Range 17-66). Im Verlauf zeigt sich ein postoperativer Abfall nach sechs Tagen auf $32,7 \pm 12,2$ % (Median 30; Range 10-60) woraufhin bis zum Halbjahres-Follow-Up ein Anstieg auf $44,4 \pm 12,5$ % (Median 42; Range 24-73) zu beobachten war. Die Verschlechterung der EF zum Untersuchungszeitpunkt nach 6 Tagen ist bei einem p-Wert von 0,08 als nicht signifikant einzustufen. Signifikant ist jedoch der Anstieg der EF zwischen den Untersuchungszeitpunkten nach sechs Tagen und sechs Monaten ($p=0,004$). Die Veränderung der EF ist im Vergleich der präoperativen Untersuchungsergebnisse mit denen nach einem halben Jahr nicht signifikant ($p=0,07$, nach Bonferroni-Korrektur: 0,14).

Die Teilnehmerzahl der Patienten der Kontrollgruppe beschränkte sich aus logistischen Gründen auf sieben präoperativ, sowie auf jeweils sechs bei den Untersuchungen nach sechs Tagen und sechs Monaten (siehe auch Diskussionsteil). Im Folgenden sollen die so erhobenen Daten dargestellt werden, wobei trotz der geringen Teilnehmerzahl zwar eine Signifikanzanalyse durchgeführt wurde, die Aussagekraft ist jedoch aufgrund der geringen Fallzahl eingeschränkt.

Die LVEF betrug in der Kontrollgruppe präoperativ durchschnittlich $37,9 \pm 10,3$ % (Median 41; Range 17 - 46) Im postoperativen Zustand ergab sich nach sechs Tagen eine durchschnittliche EF von $36,8 \pm 12$ % (Median 42; Range 16-46; $p=1,0$).

Zur Follow-Up Untersuchung nach einem halben Jahr erhielten wir einen Durchschnittswert von $53,8 \pm 13$ % (Median 53,5; Range 36-68). Die berechneten p-Werte von 0,067 für den Vergleich präoperativ versus p6m sowie 0,144 für p6d vs. p6m sind gleichbedeutend mit nicht-signifikanten Veränderungen.

LVEDV:

Die präoperative Untersuchung ergab bei den zelltransplantierten Patienten ein mittleres LVEDV von $220 \pm 75,6$ ml (Median 200, Range 99-343). Es verbesserte sich kontinuierlich auf $173,4 \pm 57,6$ ml (Median 166, Range 93-282) nach sechs Tagen und endete mit einem gemessenen Wert von $185,7 \pm 65,3$ ml (Median 176, Range 105-327) nach sechs Monaten.

Sowohl die Verbesserung des LVEDV von präoperativ nach p6d als auch die Verbesserung von präoperativ hinsichtlich der halbjährigen Follow-Up Untersuchung waren signifikant ((p=0,002, p=0,034); beide Werte Bonferroni-korrigiert). Die leichte Verschlechterung des enddiastolischen Volumens zwischen den Untersuchungszeitpunkten p6d und p6m war nicht signifikant (p= 0,578).

Die Entwicklung des LVEDV der Kontrollpatienten startete mit einem Wert von durchschnittlich $184,3 \pm 26,11$ ml (Median 196ml; Range 143-210 ml) bei der präoperativen MRT-Untersuchung. Im Verlauf zeigte sich bis zum sechs Tage Follow-Up eine Verringerung des LVEDV auf $163,7 \pm 57,2$ ml (Median 160ml, Range 111- 266ml) und bis zum sechs Monats Follow-Up eine Verringerung auf durchschnittlich $160 \pm 43,9$ ml (Median 157ml, Range 106- 229 ml) Die zu beobachtende geringe Dynamik wurde als nicht signifikant berechnet. (p=0,5/0,34/0,2).

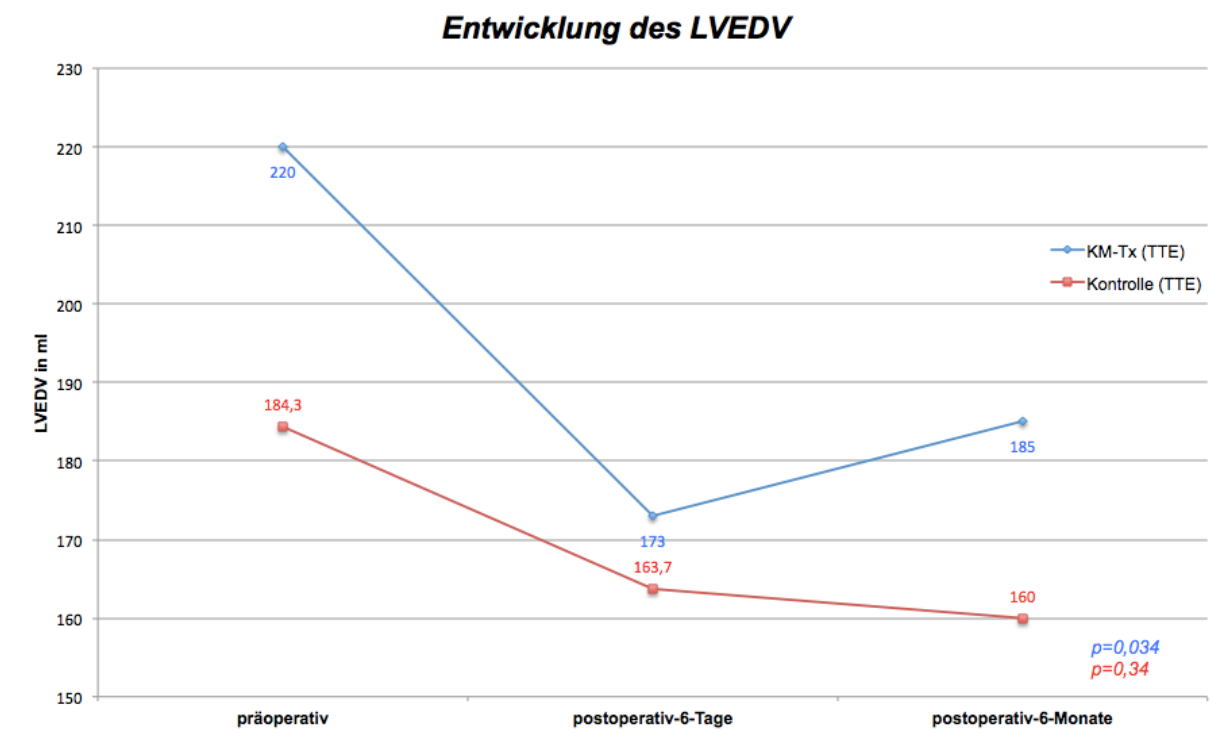


Abb. 12 Der LVEDV im Verlauf-Liniendiagramm

Das linksventrikuläre enddiastolische Volumen der Km-Tx-Gruppe zeigt im Verlauf seinen Tiefpunkt bereits nach 6 Tagen, woraufhin es nach 6 Monaten wieder leicht ansteigt. Insgesamt nimmt es jedoch um 35 ml ab.

Sowohl die Verringerung des LVEDV bis zum sechs Tages Follow-Up als auch die insgesamt Verringerung des Volumens vom präoperativen Ausgangszeitpunkt bis zur Halbjahresnachuntersuchung sind signifikant.

Währenddessen nimmt der LVEDV der Kontrollgruppe innerhalb des Beobachtungszeitraums eines halben Jahres kontinuierlich um insgesamt 24 ml ab. Ihr Minimum liegt bei der letzten Untersuchung nach 6 Monaten.

Es lässt sich in der Tendenz eine größere Abnahme des LVEDV in der Km-Tx-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe feststellen.

Das LVEDV lässt sich bezogen auf die Körperoberfläche (KÖF) auch als LVEDV-Index (LVEDVI) ausdrücken.

Der Vorteil des LVEDVI gegenüber dem LVEDV liegt darin, dass die unterschiedliche körperliche Konstitution der teilhabenden Studienpatienten, die allein schon zwischen beiden Geschlechtern vorhanden ist, mitberücksichtigt wird.

So darf, den existierenden Normwerten zufolge, ein männlicher Patient mit großer KÖF ein deutlich größeres LVEDV aufweisen, als eine Patienten mit kleinerer KÖF, um in dieselbe Herzinsuffizienzgruppe eingeordnet zu werden.

Es gelingt somit eine bessere Einordnung der erhaltenen Absolutwerte des LVEDV-Index einer gemischten Studienpopulation hinsichtlich ihrer Schwere der Herzinsuffizienz.

In dieser Studie war das hauptsächliche Ziel jedoch die Prüfung auf Signifikanz der relativen Veränderungen des linksventrikulären enddiastolischen Volumens über die Zeit.

Unter der Annahme einer konstanten Körperoberfläche über den Beobachtungszeitraum sind die prozentualen Veränderung von LVEDV und LVEDVI identisch. Auch eine Signifikanzanalyse ergäbe dieselben Ergebnisse.

		prä-OP	post-6-Tage	post-6-M
LVEF (%) (TTE)	Km-Tx	35,5 ± 9,3	37,9 ± 10,8	42,7 ± 7,2
	Kontroll	36,7 ± 7,5	37,9 ± 6,3	41 ± 9,2
LVEDD (mm)	Km-Tx	58,9 ± 9,3	53,5 ± 7,9	54 ± 7,8
	Kontroll	58 ± 7,5	55 ± 5,8	56 ± 7,1
LVEDV (ml) (MRT)	Km-Tx	220 ± 75,6	173 ± 57,6	185 ± 65,3
	Kontroll	184,3 ± 26,11	163,7 ± 57,2	160 ± 43,9
LVEF (%) (MRT)	Km-Tx	37,2 ± 15,7	32,3 ± 12,2	44,4 ± 12,5
	Kontroll	37,9 ± 10,3	36,8 ± 12,0	53,8 ± 13

Tabelle 5: Gegenüberstellung der Ergebnisse-Mittelwerte ± SD

3.4.3. NYHA-Auswertung

Betrachtet man den Grad der Herzinsuffizienz hinsichtlich der durch die Patienten empfundenen Symptomausprägung mit Hilfe der erweiterten NYHA-Klassifikation, so zeigt sich in der transplantierten Gruppe eine signifikante Verbesserung ($p < 0,05$) der Herzinsuffizienzsymptome; bei einer präoperativen Einstufung unseres Patientenkollektivs auf im Durchschnitt NYHA 2,7, lässt sich nach sechs Monaten eine signifikante Reduktion dieses NYHA-Durchschnittswert auf 1,5 feststellen. In der Kontrollgruppe konnte ebenfalls eine Linderung der Herzinsuffizienzsymptome beobachtet werden. Diese war jedoch bei einer Reduktion von durchschnittlich 2,4 auf 1,9 nicht signifikant.

3.5. Untergruppen Km-Tx und Kontrolle

3.5.1. Untergruppe Analyse „per-protocol“

3.5.1.1. LVEF und LVEDD

Folgend wird eine weitere, ebenfalls mögliche Methode zur statistischen Auswertung des bei dieser Studie gewonnenen Datensatzes beschrieben und angewandt.

Aufgrund verschiedenster Faktoren, wie z.B. Tod, Nichterscheinen des Patienten zur Follow-Up-Untersuchung, schlechte Untersuchungsbedingungen im TTE usw. konnten nicht bei allen Patienten zu allen Zeitpunkten alle Werte gemessen werden. Ist z.B. ein Patient nach der ersten Nachuntersuchung nach 6 Tagen verstorben, konnte seine LVEF nur zwei mal gemessen werden, nämlich präoperativ und zum Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung. Nach sechs Monaten fehlt sein `Beitrag` zur Gesamtstatistik der LVEF. Dies legt die Vermutung nahe, dass die Beurteilung des Verlaufs der LVEF durch Teilnahme z.B. an den ersten beiden Mittelwerten, aber nicht am letzten Mittelwert nach 6 Monaten, verfälscht wird und somit die Validität der gewonnenen Aussage eingeschränkt wird.

Daher wurden in den folgend dargestellten Berechnungen genau diese Datensätze von Patienten, die nicht an allen drei Untersuchungszeitpunkten teilnahmen, herausgenommen. Zusätzlich wurden nur die Patienten verwendet, die neben den vorhandenen Daten zu allen drei Untersuchungszeitpunkten einen Matchingpartner besaßen, welcher ebenfalls zu allen drei Zeitpunkten den jeweiligen Wert (z.B. LVEF) zur Gesamtstatistik beitrug.

An den zentralen Größen der Studie, LVEF und LVEDD, soll nun im Vergleich zu den bereits dargestellten Ergebnissen eine weitere Berechnungsmethode im Folgenden dargestellt werden. Es handelt sich dabei um eine alternative, jedoch nicht überlegene Variante der Auswertung der Daten dieser Studie. Genauer wird hierauf im Diskussionsteil dieser Arbeit eingegangen. Einen Überblick über die so berechneten Ergebnisse sollen Tabellen 6-9 geben. Hierbei stehen die Bezeichnungen „EF I“ bzw. „LVEDD I“ für die ausschließliche Verwendung von Daten von Patienten, die ebenso wie ihr Matchingpartner zu allen drei Untersuchungszeitpunkten mit dem entsprechenden Wert am Datensatz teil hatten. Unter „EF II“ bzw. „LVEDD II“ wurden alle erhobenen Daten verwendet. Angegeben wird der Mittelwert \pm SD, in Klammern Angabe von Median und Range.

TTE	EF I (%)	EF II (%)	LVEDD I (mm)	LVEDDII (mm)
prä-OP	36,5 \pm 9,7 (40;15-50)	35,5 \pm 9,3	58,6 \pm 9,8 (59; 44-80)	58,9 \pm 9.3
p6M	43,2 \pm 7,4 (45;30-55)	42,7 \pm 7,2	53,7 \pm 7,4 (56; 40-64)	54 \pm 7,8
p-Wert	0,048	0,03	0,025	0,02

Tabelle 6 Wertevergleich Km-Tx-Patienten mit Untergruppe

TTE	EF I (%)	EF II (%)	LVEDD I (mm)	LVEDDII (mm)
prä-OP	37,2 ± 7,3 (40;25-45)	36,7 ± 7,5	56,3 ± 7,1 (57; 44-67)	58 ± 7,5
p6M	40,9 ± 8,1 (42;30-55)	40,9 ± 9,2	55,2 ± 7,4 (56; 44-68)	56 ± 7,1
p-Wert	0,14	0,09	0,449	0,369

Tabelle 7 Wertevergleich Kontrollpatienten mit Untergruppe

3.5.1.2. Narbengewebe

In der stammzelltransplantierten Gruppe bekamen 12 von 22 transplantierten Patienten sowohl am 6pod als auch nach 6 Monaten ein MRT. Die Auswertung ihrer Narbengewebsgrößen soll nun isoliert betrachtet werden.

Weiter differenziert wird zudem zwischen Infarkt- und Nichtinfarktsegmenten.

Der durchschnittliche Narbengewebscore aller Segmente sank von 1,14 nach sechs Tagen auf 1,11 nach sechs Monaten. Dieser Unterschied wurde als nicht-signifikant berechnet ($p=0,4$). Betrachtet man ausschließlich den Narbengewebscore der Infarktareale, so lag dieser nach sechs Tagen bei 2,53 und sank zur Nachuntersuchung nach sechs Monaten auf 2,42 ab. Diese Entwicklung wurde im durchgeführten statistischen Test als signifikant eingestuft ($p<0,05$).

Da hier lediglich ein weiterer Patient zum Untersuchungszeitpunkt nach 6 Tagen mit seinem Narbenanteil nicht an dieser Berechnung PP teilhatte und sich die Ergebnisse nach der ITT-Methode (also mit diesem einen Wert zusätzlich) nur marginal von den hier besprochenen unterscheiden, wurden diese hier nicht mit aufgeführt.

Bei den Kontrollpatienten liegen bei sechs der 19 Patienten zu beiden Untersuchungszeitpunkten Daten zum Narbengewebe vor. In diesem Fall wurden alle erhobenen Werte verwendet, ITT und PP-Methode wären also identisch.

So lässt sich ein Narbengewebscore aller Segmente von 0,63 nach sechs Tagen und von 0,66 nach sechs Monaten berechnen. Die isolierte Betrachtung der Infarktsegmente ergibt einen Score von 1,78 nach sechs Tagen. Nach sechs Monaten betrug er 1,81. Sowohl die Gesamtbetrachtung aller Segmente als auch die isolierte Betrachtung der Infarktsegmente ergab eine nicht-signifikante geringe Dynamik ($p=1,0$).

		KM-Tx		Kontrolle	
MRT		p6d	p6M	p6d	p6M
Gesamt	%	22,84 ± 7,6	21,66 ± 8,1	10,92 ± 4	11,76 ± 3,8
	Score	1,14 ± 0,3	1,11 ± 0,34	0,63 ± 0,21	0,66 ± 0,17
p-Wert		p = 0,4		p = 1,0	
Infarktareal	%	51,65 ± 18	48,48 ± 18	32,45 ± 16,2	33,01 ± 12
	Score	2,52 ± 0,8	2,42 ± 0,71	1,78 ± 0,7	1,81 ± 0,48
p-Wert		p < 0,05		p = 1,0	

Tabelle 8 Narbengewebe im Vergleich, Angabe der Mittelwerte ± SD.

3.5.2. Untergruppen nach Applikationsart

Eine weitere Differenzierung der Datenmenge der Patienten ergibt sich durch drei verschiedene Applikationen der Stammzellen. Die Ergebnisse der Untergruppen via Bypass, via Aortenwurzel und intramyokardiale Applikation werden im Folgenden dargestellt. Hierbei beschränkten wir uns jedoch auf die Leitgrößen dieser Studie, die LVEF und den LVEDD.

In den Tabellen angegeben wird der Mittelwert ± SD, in Klammern Angabe von Median und Range.

TTE	EF (%) Km-Tx	EF (%) -Kontroll	LVEDD(mm)-Km-Tx	LVEDD-Kontroll
prä-OP	36,5 ± 8,0 (37,5; 20-50)	37,4 ± 6,6 (40; 25-45)	58,7 ± 7,6 (62; 44-70)	56,4 ± 5,7 (56,5; 44-65)
p6d	38,8 ± 10,7 (40; 20-60)	38,6 ± 4 (40; 30-42)	54,6 ± 9 (56,5; 39-64)	53,8 ± 4,4 (52; 49-62)
p6M	42,8 ± 7,9 (44; 30-55)	39,8 ± 6,6 (42; 30-48)	55,1 ± 7,9 (56; 40-64)	56 ± 7,4 (58; 44-68)

Tabelle 9 Applikation der Stammzellen via Bypass (16 transplantierte, 13 Kontrollpatienten)

TTE	EF (%) Km-Tx	EF (%) -Kontroll	LVEDD(mm)-Km-Tx	LVEDD-Kontroll
prä-OP	26,3 ± 7,4 (27,5; 15-35)	30,5 ± 7,0 (27,5; 25-42)	63,3 ± 12,8 (64,5; 44-80)	60 ± 11,6 (62; 45-71)
p6d	29,8 ± 6,9 (31,5; 20-36)	32,5 ± 9,6 (30; 25-45)	50,8 ± 8,5 (50,8; 45-57)	53,3 ± 7,9 (53; 44-62)
p6M	40,3 ± 4,7 (39,5; 35-47)	42,5 ± 9,4 (37,5; 30-65)	52 ± 6,2 (56; 42-58)	56,2 ± 7,9 (56,5; 48-64)

Tabelle 10 Applikation der Stammzellen Via Aortenwurzel (4 transplantierte, 4 Kontrollpatienten)

TTE	EF (%) Km-Tx	EF (%) -Kontroll	LVEDD(mm)-Km-Tx	LVEDD-Kontroll
prä-OP	47 ± 2 (47;45-49)	45 ± 2 (45; 45-45)	51,5 ± 0,5 (51,5;51-52)	58 ± 1 (58;57-59)
p6d	48 ± 11,3 (48;40-56)	45 ± 0 (45; 45-50)	51,5 ± 0,7 (51,5;51-52)	67 ± 0 (67;67-67)
p6M	47,5 ± 2,5 (47,5; 45-50)	50 ± 2,5 (50; 45-55)	47 ± 0 (47;47-47)	53 ± 3,1 (53; 50-56)

Tabelle 11 Intramyokardiale Applikation der Stammzellen (2 transplantierte, 2 Kontrollpatienten)

Die zahlenmäßig größte Gruppe ist die Gruppe der Bypass-transplantierten Patienten. Betrachtet man die in der Tabelle dargestellten Werte, so findet man Verbesserungen bei beiden Gruppen sowohl im LVEDD als auch bei der LVEF, wobei die der zelltransplantierten Gruppe deutlicher ausgeprägter sind.

Die Untergruppe der über den Bypass-transplantierten Patienten ist zahlenmäßig groß genug (n=16) für eine statistische Analyse, diese zeigt jedoch keinen signifikanten Unterschied in der EF, weder von transplantierten noch gematchten Patienten. Die Signifikanzanalyse des LVEDD ergab nur bei den transplantierten Patienten eine signifikante Verringerung (p=0,03).

Allerdings wird bei ausschließlicher Verwendung der Patienten, welche an allen drei Untersuchungen teilnahmen und einen Matchingpartner hatten, das Signifikanzniveau nicht erreicht ($p=0,105$).

Die größte Entwicklung der LVEF ist mit einer Verbesserung von 14 % bei den transplantierten Patienten in der intraaortalen Gruppe zu verzeichnen, jedoch ist die Anzahl der Teilnehmer ($n=4$) zu klein für eine Signifikanztestung. Der LVEDD sinkt hier in der transplantierten Gruppe um 10,6 mm, in der Kontrollgruppe sind es nur 3,8 mm.

Kaum einen Unterschied zeigt sich in der intramyokardialen Gruppe, wobei hier die Teilnehmerzahl mit $n=2$ noch geringer ist.

4. Diskussion

4.1. Diskussion bisheriger klinischer und experimenteller Studien

Experimentelle Studien:

Wie bereits in der Einleitung besprochen, wurde in verschiedenen Studien gezeigt, dass sowohl *in vitro* [71] als auch tierexperimentell [72, 73]. eine Umwandlung von Knochenmarksstammzellen in Herzmuskelzellen stattfindet und im Tierexperiment eine Verbesserung der Herzfunktion erzielt wird.

Scheinbar verbessert die autologe Knochenmarksstammzelltransplantation die Herzfunktion jedoch möglicherweise nicht nur durch Neubildung von Kardiomyozyten. Studien zeigen, dass es durch adulte Stammzellen ebenfalls zur Angiogenese im entsprechenden Bereich kommt [73, 83].

Die Verbesserung der Herzfunktion beruht möglicherweise auch auf einer Verbesserung der Blutversorgung des ischämischen Gebietes [83].

Bailey AS et al. postulieren, dass es nicht nur bloß zu einer Induktion der Angiogenese kommt, sondern das adulte Knochenmarksstammzellen endotheliale Vorläuferzellen mit dem Potential zur Angiogenese als Subpopulation enthalten [84].

Doch nicht nur direkte Effekte werden den autologen Knochenmarksstammzellen (BMPCs) zugeschrieben; verschiedene Studien schreiben den BMPCs ebenfalls eine parakrine Wirkweise zu, welche die Überlebensrate von gefährdetem Gewebe ansteigen lässt und zu Steigerung der Funktion von überlebenden Kardiomyozyten führt [69, 85-87].

Durch zahlreiche in den Knochenmarksstammzellen enthaltene Zytokine (z.B. VEG, insulin-like growth factor, platelet-derived growth factor) werden Myozyten zur Regeneration und Stimulation angeregt.

Als weitere Beispiele für sezernierte spezifische Produkte von transplantierten Stammzellen können z.B. Thymosin β 4 und der Wnt-Antagonist SFRP-2 aufgeführt werden. Thymosin β 4 unterstützt die Wundheilung, der Wnt-Antagonist SFRP-2 bewahrt Kardiomyozyten vor Hypoxie-induzierter Apoptose [88-90].

Wahrscheinlich wirken von Stammzellen sezernierte Faktoren entzündungshemmend, Apoptose-senkend, Angiogenese-induzierend, reduzierend auf die Ausdehnung von Fibrose und rekrutierend auf andere Stammzellen [91-93].

Urbanek et al. zeigen in ihrer Studie, dass es ebenfalls zu einer Stimulation der eigentlichen myokardialen Stammzellen kommt [70, 94], welche hierdurch zu einer Zellregeneration und Zellfusion angeregt werden [66, 69, 70].

Das zytokininduzierte Wachstum der verbleibenden lebensfähigen Myozyten ist am stärksten im Grenzbereich des ischämischen und/ oder infarzierten Gewebes ausgeprägt [95]. So zeigen Studien, dass Mitoseindices im Grenzbereich der myokardialen Nekrose im Vergleich mit den Mitoseindices des gesunden Herzmuskelgewebes 3-4 mal so häufig sind [61].

Letztlich konnte bisher jedoch nicht geklärt werden, welche von den oben genannten Mechanismen und Theorien, ob allein oder in Kombination, die Rolle der BMPC's bei der Reparatur des Herzmuskelgewebes erklärt.

Klinische Studien:

Ein Großteil der bisherigen klinisch durchgeführten Zelltransplantationen mit autologen Knochenmarksstammzellen beschäftigt sich mit Patienten, die einen akuten Myokardinfarkt (MI) erlitten haben. Hier kam es im Rahmen der Akuttherapie z. B. im Rahmen einer PTCA zur Stammzellapplikation.

In der TOPCARE-AMI Studie [77, 78] wurde 20 Patienten durchschnittlich 4 Tage nach einem akuten MI während einer Herzkatheteruntersuchung Knochenmarksstammzellen intrakoronar appliziert. Es zeigte sich hier eine signifikante Verbesserung linksventrikulärer Funktionsparameter wie z.B. der LVEF. In einer gematchten Kontrollgruppe kam es zu keiner signifikanten Verbesserung dieser Parameter.

In die BOOST-Studie [96, 97], einer randomisierten und kontrollierten Studie, wurden insgesamt 30 Patienten eingeschlossen. Im Verhältnis 1:1 wurden die eingeschlossenen Patienten auf 2 Gruppen verteilt, eine mit Zellen zu transplantierende Gruppe und eine Kontrollgruppe. Den Patienten der Versuchsgruppe wurde durchschnittlich 5-7 Tage nach einem akuten Herzinfarkt Knochenmarkstammzellen während einer Koronarangioplastie appliziert. Die mittels MRT angefertigten Kontrolluntersuchungen ergaben eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikante Verbesserung der LVEF nach 6 Monaten. Bei der Nachuntersuchung nach 18 Monaten zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied mehr zwischen der LVEF der zelltransplantierten und der Kontrollgruppe. Es wurde insgesamt eine deutlichere Verbesserung der LVEF in der zelltransplantierten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt: die LVEF stieg jeweils im Vergleich zum Ausgangszeitpunkt in

der zelltransplantierten Gruppe um 6,7 Prozentpunkte nach 6 Monaten und um 5,9 Prozentpunkte nach 18 Monaten. In der Kontrollgruppe waren es lediglich 0,7 Prozentpunkte zum Untersuchungszeitpunkt 6 Monate, nach 18 Monaten war die LVEF um 3,1 Prozentpunkte im Vergleich zum Ausgangswert gestiegen.

Beide Studien kamen zu dem Ergebnis, dass eine autologe Knochenmarksstammzelltransplantation keine erhöhte Rate an Komplikationen, wie Restenosen der Koronarien oder Herzrhythmusstörungen, mit sich führt.

Eine weitere placebo-kontrollierte, doppelblinde und multizentrische Studie wurde von Schachinger et al. unter dem Namen REPAIR-AMI durchgeführt [98]. Im Unterschied zu den bisher genannten Studien mit eher geringen Fallzahlen, schließt diese Studie 204 Myokardinfarkt-Patienten ein, denen randomisiert entweder ein Placebogemisch oder eine Stammzellsuspension 3-7 Tage nach dem akuten Infarkt ereignis und erfolgreich abgelaufener PTCA mittels Katheter in die Infarktarterie verabreicht wurde. Hier zeigte sich bereits nach vier Monaten eine signifikante Verbesserung der LVEF in der stammzelltransplantierten Gruppe (von präinterventionell 48,3% auf 53,8%) im Vergleich zur Kontrollgruppe, die sich von einer Ausgangs-EF von 46,% lediglich auf einen Wert von 49,9% nach vier Monaten steigerte.

Eine signifikante Steigerung der regionalen Kontraktilität in der zelltransplantierten Gruppe im Vergleich zu Placebogruppe konnte in dieser Studie ebenfalls nachgewiesen werden.

Bei einer nicht kleinen Zahl von Studien, die der autologen Stammzelltransplantation beim Akutinfarkt während PTCA eine Wirkung nachweisen, gelangen jedoch nicht alle zu dem Ergebnis, dass es durch die Transplantation von Stammzellen zu einer globalen Verbesserung der EF kommt. So kamen Janssens et al. in der LEUVEN-Studie, einer doppelblinden, kontrollierten und randomisierten Studie zu einem, den bisher genannten Studien widersprechenden Ergebnis [99].

Sie testeten insgesamt 67 Patienten mit einem mindestens 2 h alten akuten Myokardinfarkt, von denen 33 während einer PTCA einen Tag zuvor entnommene Knochenmarksstammzellen erhielten, und 34 einen Placebo statt der Zellen bekamen.

Mittels Echo, MRT und PET fand sich zwar eine Verbesserung der globalen linksventrikulären Funktion zur Follow-Up Untersuchung nach 4 Monaten, dies geschah jedoch in beiden Gruppen in sehr ähnlichem Maße. Einen Unterschied zwischen beiden Gruppen konnten

Janssens et al. ebenfalls nicht in der Verringerung des Late Enhancement im Infarktgebiet (MRT), im Metabolismus von Sauerstoff (PET) oder im wall thickening (TTE) finden.

Bei den hier beschriebenen Studien lag meistens keine oder nur eine leichte chronische Herzinsuffizienz vor mit einer überwiegend LVEF von präinterventionell um 50%. Gemeinsam ist ihnen ebenfalls die Applikationsmethode während einer Herzkatheteruntersuchung und der infarktereignisnahe Applikationszeitpunkt .

Im Gegensatz zu den genannten Studien, die vor allem die Wirksamkeit der Stammzellen beim akuten MI prüften, testeten Strauer et al. in der IACT-Studie 18 Patienten mit chronisch koronarer Herzerkrankung, die alle einen Herzinfarkt erlitten hatten. Der Zeitpunkt des Myokardinfarkts lag mindestens 5 Monate und maximal 8 Jahre zurück [100]. Hier ergab sich ein signifikanter Anstieg der LVEF und eine signifikante Reduktion des Narbengewebes nach drei Monaten im Vergleich zu präinterventionell erhobenen Daten.

Wenige Studien beschäftigten sich jedoch bisher mit der Patientengruppe der mittelgradig bis schwer herzinsuffizienten Patienten, die einmal einen Myokardinfarkt erlitten haben und bei denen die Indikation zur Bypass-OP besteht.

Zu nennen wären hier Stamm et al [76], die in ihrer Studie 43 Myokardinfarkt - Patienten mit einem Infarktalter von mindestens 14 Tagen testeten. Auch hier wurden die Patienten randomisiert in zwei Gruppen geteilt, wobei die eine Gruppe während der indizierten Bypass-OP CD133+ Knochenmarksstammzellen intramyokardial appliziert bekamen, während in Gruppe zwei nur die Bypass-OP ohne Zelltransplantation durchgeführt wurde. Mittels TTE-Untersuchungen stellten sie eine signifikant höhere Verbesserung der LVEF in der zelltransplantierten Gruppe (37,4% vs. 47,1%) nach sechs Monaten im Vergleich zur Kontrollgruppe (37,9% vs. 41,3%) fest.

In der ebenfalls durchgeführten Thallium-Szintigraphie zeigte sich eine Verbesserung der Perfusion des Infarktmyokards in der transplantierten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. In einer Parallelstudie mit 16 Patienten konnten Stamm et al. nachweisen, dass die autologe Knochenmarksstammzelltransplantation im Rahmen einer Koronarrevaskularisation sicher ist und keine erhöhte Rate an Komplikationen innerhalb von drei Jahren postoperativ mit sich führt.

Bei ähnlicher Methodik kommen Hendrikx et al. [101] zu einem anderen Ergebnis: sie testeten 20 Patienten mit transmuralen chronischen Myokardinfarkt mit einem Durchschnittsalter von 217 Tagen, die sie randomisiert 1:1 in zwei Gruppen einteilten. Auch bei ihnen erhielt eine der Gruppen während der Bypass-OP autologe Knochenmarksstammzellen, die andere Gruppe diente als Kontrollgruppe.

Die Evaluation erfolgte mittels MRT und Thallium-Szintigraphie 9-14 Tage vor und 4 Monate nach dem Eingriff. Es zeigte sich nach vier Monaten eine nicht signifikante Verbesserung der LVEF in beiden Gruppen ohne beobachtbaren signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen. Allerdings fanden sie Hinweise für eine lokale Verbesserung des Herzmuskels. Zum einen verbesserte sich in der transplantierten Gruppe das wall-thickening signifikant, während es in der nicht-transplantierten Gruppe unverändert blieb. Zum anderen kam es zwar zu keinem signifikanten Unterschied im Thallium-Reuptake der Infarktsegmente zwischen beiden Gruppen, gemessen als Thallium-Reuptake-Defekt-Score mittels Thallium-Szintigraphie. Allerdings sank der Defekt-Score in der transplantierten Gruppe bis nach vier Monaten deutlich ab, während dieser in der Kontrollgruppe unverändert blieb.

Hierdurch nahmen Hendrikx et al einen lokalen Effekt der Stammzellen auf das Herzmuskelgewebe an und vermuteten ebenfalls einen Antiremodeling-Effekt [101].

4.2. Diskussion von Material und Methoden

4.2.1. Studiendesign.

Im Gegensatz zu den meisten anderen gängigen Studien, die die autologe Knochenmarksstammzelltransplantation im Zusammenhang mit einer PTCA nach akutem Herzinfarkt untersuchten, beschäftigte sich unsere Studie mit chronisch herzinsuffizienten Patienten, bei denen nach abgelaufenem Myokardinfarkt die chirurgische Koronarrevaskularisation indiziert ist.

Herzinsuffizienz, die auf dem Boden einer KHK mit Myokardinfarkt entstanden ist, fällt im chronischen Stadium viel häufiger mit der Indikation zur Bypass-OP zusammen, da eine Ballondilatation bzw. Stentimplantation häufig nicht mehr indiziert ist.

Daher machte es für uns mehr Sinn, die Gruppe der bisher im Rahmen der Stammzelltherapie weniger betrachteten chronisch herzinsuffizienten Patienten in Kombination mit einer Bypass-OP als mit PTCA zu untersuchen.

Als Nachteil dieser Studie ist hier zu benennen, dass es aus organisatorischen Gründen nicht möglich war, ein randomisiertes Vorgehen bei der Zuteilung der Patienten zur Stammzell- und Kontrollgruppe zu wählen. Auch blind bzw. doppelblind wurde diese Studie nicht durchgeführt.

4.2.2. Stammzellen

Der ideale Zelltyp für die kardiale Stammzelltransplantation sollte die Fähigkeit zur Proliferation und zur Differenzierung in kontraktile Zellen mitbringen. Er sollte sich zudem elektromechanisch an benachbarte Herzmuskelzellen anschließen können. Auch eine unproblematische Handhabung in der Gewinnung mit der Aussicht auf eine ausreichende Anzahl von Zellen ist nicht unbedeutend. Zudem sollten sie möglichst keine immunologischen oder ethischen Probleme aufwerfen. Im Folgenden werden die Vor- und Nachteile der verschiedenen Stammzellarten hinsichtlich einer Transplantation bezüglich dieser oder ähnlicher Studien dargestellt.

Als eine von verschiedenen Möglichkeiten wären hier die skelettalen Myoblasten zu nennen.

Sie sind widerstandsfähig gegenüber Ischämie und können sich in Myotubuli in vivo umwandeln, nicht jedoch in Kardiomyozyten [102].

In experimentellen Studien an Tieren verbessern sie linksventrikuläre Funktion [103].

In klinischen Studien verändert sich die linksventrikuläre Funktion jedoch kaum bis gar nicht und sie besitzen ein arrhythmogenes Potential [104], so dass bereits einige Studien wegen ungenügender Effektivität abgebrochen wurden [105].

Zudem können sich die entstandenen Myotubuli nicht elektromechanisch an die übrigen Kardiomyozyten des Gewebes anschließen und kontrahieren sich daher auch nicht synchron mit dem sie umgebenden Myokard [102, 104].

Eine weitere und theoretisch zur Transplantation geeignete Stammzellart stellen die fetalen Kardiomyozyten dar. Sie sind ebenfalls kultivierbar, im Experiment steigern sie die

linksventrikuläre Funktion und die Ausbildung von interzellulären Gap-Junctions findet statt [106-108].

Jedoch verhindern ethische und immunologische Aspekte die verbreitete Erprobung in klinischen Studien.

Embryonale Stammzellen sind fähig, sich in alle Zellen der drei Keimblätter (Ektoderm, Mesoderm, Endoderm) umzuwandeln [57]. Somit sind sie auch zur Umwandlung in Kardiomyozyten fähig [109]. Jedoch besteht hier durch die Pluripotenz dieser Stammzellart die Gefahr, dass nicht die erwünschten Kardiomyozyten gebildet werden, sondern z.B. ein Teratom am Ort der Transplantation entsteht. Obwohl man bei Teratomen in den meisten Fällen von gutartigen Geschwulsten ausgeht, wurden jüngst in selbigen Zellmarker entdeckt, welche ebenfalls in malignen Tumoren zu finden sind [110].

Als ein weiterer großer Nachteil ist die mögliche Abstoßungsreaktion nach der Transplantation zu nennen, da embryonale Stammzellen verschiedene Subklassen von spezifischem humanem Leukozytenantigen (HLA) exprimieren [111]. Es wäre daher nach einer Transplantation unabdingbar, zusätzlich immunsuppressive Medikamente wie Steroide zu verabreichen. Doch eine immunsuppressive Therapie mit Steroiden ohne begleitende Stammzelltherapie hat sich in einigen Fällen bereits als schädlich für akut-ischämisches Myokard herausgestellt [112]. Daher würde nicht nur die Immunsuppression an sich die Behandlung mit embryonalen Stammzellen komplizieren, sondern möglicherweise sogar jeglichen positiven Effekt der Zelltransplantation zunichte machen [57], zumindest im Falle der akuten Ischämie. Zur Zeit wird an einer Reduktion der Immunogenität von embryonalen Stammzellen zur allogenen Transplantation geforscht [57].

Zudem ist zu ihrer Gewinnung die innere Zellmasse von embryonalen Blastozysten erforderlich. Sie werden im pluripotenten Stadium eines in vitro fertilisierten Embryos gewonnen [4].

Dies wirft große ethische Probleme auf, da hierzu menschliche Embryonen notwendig sind [113-115]. Ethisch verwerflich bis nahezu abstoßend erscheint sowohl die Vorstellung einer vorzeitigen Abtreibung zur „Produktion“ von Embryonen nur zu diesem Zweck als auch die in-vitro-Züchtung von Embryonen zur Gewinnung der gewünschten Zellmasse. Daher sind bisher auch keine klinischen Studien mit menschlichen Teilnehmern durchgeführt worden [57].

Die kürzliche Entdeckung von ESC-like cells, auch inducible pluripotent stem cells (iPS cells oder iPSC abgekürzt) genannt, könnten in Zukunft eine mögliche Alternative zu embryonalen Stammzellen bieten. Zu ihrer Herstellung werden adulte somatische Zellen mit Genen, die die Pluripotenz der embryonalen Stammzellen regulieren, reprogrammiert [116-118], so dass eine forcierte Expression dieser Gene induziert werden kann [119].

Sie ähneln, wie der Name schon sagt, sehr den natürlichen pluripotenten Stammzellen hinsichtlich ihren biologischen Eigenschaften und ihrem Können bzw. ihrer Potenzität. Jedoch wird die gesamte Bandbreite ihrer Beziehung zu den natürlichen Stammzellen noch erforscht. [120]

Möglicherweise können hierdurch in Zukunft ethische und immunologische Probleme reduziert oder vielleicht sogar umgangen werden. Weitere Forschungsarbeit ist hier von Nöten, damit von einer guten Alternative zur embryonalen Stammzellen gesprochen werden kann.

Zwei weitere, bisher zur Stammzelltransplantation eingesetzte Zellarten, stellen die adulten Knochenmarksstammzellen und die adulten, aus dem Knochenmark ausgeschwemmten, im Blut zirkulierenden Stammzellen dar. Bei beiden ist ebenfalls das Potential zur Umwandlung in Kardiomyozyten belegt [71, 72].

Zwei sehr entscheidende Nachteile, die sich bei fast allen anderen oben erwähnten Zellarten finden, haben die autologen Knochenmarksstammzellen nicht. Zum einen ist eine autologe Transplantation möglich, was die Transplantation dieser Zellen immunologisch unbedenklich macht. Es ist weder eine Abstoßungsreaktion zu befürchten noch ist eine mit häufig schweren Nebenwirkungen belastete Immunsuppressionstherapie notwendig. Außerdem treten hier keine ethische Probleme auf, da für ihre Gewinnung keine Embryonen nötig sind.

Während sich jedoch die Isolation der Blutstammzellen schwierig gestaltet, ist der Zugriff auf die adulten Knochenmarksstammzellen mittels Aspiration aus dem Knochenmark relativ einfach.

Adulte Knochenmarksstammzellen qualifizieren sich durch ihre einfache Gewinnung und Handhabung bei fehlenden Nachteilen der ethischen und immunologischen Problematik für den klinischen Gebrauch besonders. Bislang konnte kein arrhythmogenes Potential oder eine Umwandlung in unerwünschte Gewebe beobachtet werden [121].

Knochenmarksstammzellen lassen sich in drei verschiedene Typen unterteilen: hämatopoetische Stammzellen, mesenchymale Stammzellen, endotheliale Stammzellen.

In ihrer physiologischen Rolle entwickeln sich bei Bedarf hämatopoetische Stammzellen zu weißen Blutkörperchen, roten Blutkörperchen und den Blutplättchen.

Mesenchymale Stammzellen (MSC) befinden sich um den Zentralsinus des Knochenmarks. Sie wandeln sich unter anderem in Osteoblasten, Chondrozyten und Myozyten um. Ihnen wird zudem eine „Pfortner-Funktion“ des Knochenmarks zugeschrieben.

Eine in-vitro-Umwandlung in Kardiomyozyten wurde bei ihnen ebenfalls nachgewiesen [73, 122]. Folgend konnte ebenfalls in klinischen Studien [123] eine verbesserte linksventrikuläre Funktion bei Transplantation mesenchymaler Stammzellen bei Patienten mit erlittenem Herzinfarkt festgestellt werden. Jedoch fanden einige Studien, dass sich die implantierten MSCs in Osteoblasten innerhalb des ventrikulären Myokardgewebes umgewandelt hatten [124, 125]. Dieser unerwünschte Effekt spricht gegen den alleinigen Einsatz von mesenchymalen Stammzellen bei der klinischen Stammzelltherapie.

Wie in Studien nachgewiesen können sich endotheliale Stammzellen, oder auch endotheliale Progenitorzellen (EPCs), nach Transplantation in Endothelzellen umwandeln und durch Gefäßneubildung bzw. Eingliederung in die ortsansässige Mikrovaskularisation zu einer Verbesserung der Durchblutungssituation des entsprechenden Gewebes beitragen [126-128]. Es wurde zudem eine Bewegung der endothelialen Stammzellen an Ort und Stelle des zellulären Schadens/Gewebes Schadens nachgewiesen. Unter bestimmten Bedingungen (z.B. Verbrennung, Herzinfarkt, Krebs) erfolgt diese auf natürlichem Wege durch Mobilisation aus dem Knochenmark [126, 129-131].

In Studien wurde ihnen ebenfalls die Fähigkeit, sich in Kardiomyozyten umzuwandeln, nachgewiesen [130].

Jedoch ist der Stammzellpool der EPCs begrenzt, sodass nur durch ex-vivo-Vermehrung eine ausreichende Anzahl von Zellen erlangt werden kann, um eine Wirkung auf geschädigtes Gewebe zu erzielen [132]. Zudem ist die Anzahl der zirkulierenden EPCs bei Komorbiditäten der KHK wie Diabetes mellitus, Hypertonus und Hypercholesterinämie erniedrigt [133, 134].

4.2.3. Gewinnung und Applikation von Stammzellen

Ebenfalls sind Unterschiede in der Zellzusammensetzung im Vergleich zu anderen Studien festzustellen. Während wir nach Zentrifugation und Aufbereitung der Stammzellsuspension keine zusätzliche Trennung nach verschiedenen Merkmalen vornahmen und die Zellen unverändert verabreichten, kam es in einigen anderen Studien zur Auswahl von CD 133+ und CD 34+ markierten Zellen, wie z.B. bei Stamm et al. [76]. Zusätzlich hierzu wurde in manchen Fällen das Knochenmark einige Tage vor der Knochenmarkspunktion stimuliert, um z.B. ihre Fähigkeit zur Migration zu erhöhen [76].

Die hierfür benötigten Verfahren sind sehr zeit- und kostenintensiv. Zudem ist hier eine spezielle Ausrüstung erforderlich, welche nicht routinemäßig verfügbar ist. Unglücklicherweise führte dies zur Derandomisierung der Rostock-Studie [76].

Da jedoch der genaue Wirkmechanismus der Stammzellen noch nicht ausreichend geklärt ist, war es unserer Ansicht nach zu früh um eine derartige Auswahl treffen zu können. Möglicherweise werden durch diese Auslese einige der Wirkmechanismen unterdrückt bzw. potentielle Wirkstoffe wie Zytokine mit aussortiert. Ein weiterer Vorteil unserer Vorgehensweise ist, dass Gewinnung und Applikation der Stammzellen im Rahmen einer Prozedur durchgeführt werden konnten.

Hierdurch resultierte eine geringere zusätzliche Invasivität für den Patienten, da die KM-Punktion unmittelbar vor der Sternotomie erfolgte.

Nur wenige Studien untersuchten Patienten mit chronischer Ischämiesituation und chronischer Herzinsuffizienz, meist war es der akute Myokardinfarkt, der untersucht wurde. Noch seltener wurde jedoch die autologe Knochenmarksstammzelltransplantation in Zusammenhang mit einer Bypass-OP durchgeführt. Diese erfolgte meistens im Rahmen einer PTCA.

Die Art der Applikation ist beim Herzkatheter jedoch beschränkter, da sie nur intrakoronar bzw. intraarteriell erfolgen kann. Im Gegensatz hierzu kann man bei der Bypass-OP das Infarkt- bzw. Narbengebiet besser visualisieren und somit die Zellen auch intramyokardial verabreichen.

Ein weiterer Vorteil ist möglicherweise die durch die Kardioplegie und den vorübergehenden Herzstillstand während der Bypass-OP entstehende Ischämiesituation.

Einige Studien haben gezeigt, dass Ischämie das Homing der Stammzellen und die Umwandlung dieser in Kardiomyozyten fördert [135].

In unserer Studie wurden drei verschiedene Applikationsarten gewählt. Die Auswahl richtete sich danach, welche Applikationsart am besten geeignet war, um die Zellen möglichst nah an das Infarktgebiet heranzubringen. So sollte eine für den Patienten bestmögliche Wirkung durch die Stammzellen erzielt werden.

Auffallend ist, dass sich die verschiedenen Untergruppen in ihrer Ausgangs-EF deutlich unterscheiden; z.B. hat die Untergruppe der Applikation über die Aortenwurzel im Durchschnitt eine um 10%-Punkte niedrigere Ausgangs-EF als die Patienten, denen die Zellen über den Bypass verabreicht wurden. Im Vergleich zur intramyokardialen Applikation ist diese sogar um 20%-Punkte niedriger. Das lässt die Vermutung zu, dass die Gruppen sich auch in der Schwere bzw. Diffusität ihrer KHK unterscheiden. Finden sich kaum anschlussfähige Gefäße, so liegt häufiger auch eine diffuse, schwerere KHK vor, als wenn Anschlüsse einfach zu finden sind. Diese Tatsache hatte entscheidenden Einfluss auf die Wahl der Applikation der Zellen: fand sich kein anschlussfähiges Gefäß, so wurde intramyokardial appliziert. War dies bei nicht identifizierbarer Narbe ebenfalls nicht möglich, so wurden die Zellen als letzte Möglichkeit über die Aortenwurzel verabreicht.

Hätte man sich allerdings nur für eine Injektion der Zellen über den angeschlossenen Bypass entschieden, so wäre die Gruppe mit Applikation über die Aortenwurzel mit deutlich schlechterer Ausgangslage ihren Grad der Herzinsuffizienz betreffend, aus-`selektiert` worden. Man könnte auch sagen durch Verwendung der drei unterschiedlichen Applikationsmethoden besteht eine repräsentativere Darstellung der Herzinsuffizienz der Gruppe der bypasspflichtigen Patienten, als wenn nur eine Applikationsart eingesetzt worden wäre.

Dass gerade in der Gruppe der intramyokardialen Applikation, bei der der Operateur den Infarkt visualisierte, die beste Ausgangs-EF besteht, kann bei einer Gruppengröße von 2 Patienten allerdings zufällig sein, denn ist der Infarktbereich schwer und großflächig, so ist häufig auch eine ausgeprägte Einschränkung der Ejektionsfraktion zu finden.

Für eine statistisch gesicherte Aussage z.B. zu einer Korrelation zwischen Operationssituation mit folgender Applikationsmethode und Schwere bzw. Diffusität der KHK ist die Teilnehmerzahl von 2 der 3 Untergruppen jedoch zu klein.

Ein möglicher Kritikpunkt an der Verwendung drei verschiedener Applikationsmethoden ist, dass sich die Anzahl der Variablen erhöht.

4.2.4. Untersuchungsmethoden

Echokardiographie

Vorteile der transthorakalen Echokardiographie sind die gute Verfügbarkeit und Nicht-Invasivität bei guter Aussagekraft. Das Erheben einer aussagefähigen, reproduzierbaren Untersuchung ist innerhalb relativ kurzer Zeit möglich, was insbesondere dem schmerzgeplagten Patienten postoperativ entgegen kommt. Jedoch ist die Aussagekraft der erhobenen Werte untersucherabhängig.

Unter bestimmten Verhältnissen, wie starker Adipositas oder kurze Zeit nach der Herzoperation sind die Untersuchungsbedingungen eingeschränkt bis schlecht, so dass auch die Aussagekraft der erhobenen Daten sinkt.

MRT

Bei der hohen Aussagekraft der Herz-MRT-Untersuchung gibt es einige zu beachtende Nachteile, die v.a. die Durchführbarkeit der MRT-Untersuchung am Patienten nicht selten einschränken.

Zum einen zu nennen wäre die beengende Untersuchungssituation, sowie das erforderliche Stillliegen des Patienten während der gesamten Untersuchungszeit, die bis zu einer Stunde betragen kann. Einige Patienten können dies nicht oder nur schlecht tolerieren, insbesondere dann, wenn ein starkes Krankheitsgefühl hinzukommt und postoperativ durch z.B. Pleuraergüsse oder Wundschmerzen die allgemeine Toleranzschwelle des Patienten herabgesetzt ist.

Sehr wichtig für gut auswertbare Aufnahmen ist die Atmung des Patienten nach den durch den Untersucher vorgegebenen Atemkommandos, bei denen unter anderem für die Zeit einer Aufnahme die Luft angehalten werden muss. Auch hier treten insbesondere bei postoperativ stark zu Dyspnoe neigenden Patienten Probleme bei der Durchführung auf.

Dies kann dazu führen, dass die entstehenden Bilder nur sehr schlecht bis gar nicht ausgewertet werden können.

Eine weitere Bedingung für die Teilnahme an den postoperativen MRT-Untersuchungen bei einem Patienten war die präoperative Untersuchung des Patienten.

Jedoch war bei der meist stationären Aufnahme der Patienten von einem bis 2 Tagen vor der OP eine kurzfristige Organisation eines MRT-Termins oft nur schwierig oder gar nicht möglich. Auch sollte die Durchführung aller notwendigen Vorbereitungen des Patienten auf die Operation nicht gefährdet werden, was z.T. zum Verzicht auf eine MRT-Untersuchung bei Studienpatienten führte.

Ebenfalls Voraussetzung für den Erhalt von auswertbaren Bildern war ein Sinusrhythmus. Da es nicht selten im postoperativen Stadium einer Bypass-OP zu vorübergehendem Vorhofflimmern kommen kann, konnten aus diesem Grund auch in unserer Studie nicht bei allen Patienten eine MRT-Untersuchung durchgeführt werden.

Eine Kontraindikation für die Durchführung der MRT-Untersuchung sind zudem Metallimplantate im Patienten, wie in unserem Fall v.a. Schrittmacher oder AICD. Bei insgesamt 5 Patienten konnten somit keine MRT-Untersuchungen durchgeführt werden.

Eine weitere Begrenzung/Schwäche unserer Studie ist die verwendete Methode zur Quantifizierung des Narbengewebes mittels MRT. Zum Beispiel werden Veränderungen bis zu 25% der Narbe eines Segments evtl. ein und demselben Score zugeordnet, so dass im schlechtesten Fall Veränderungen bis 25% nicht berücksichtigt werden. Dies ist jedoch nur der Fall, wenn eine Klassengrenze nicht überschritten wird. Andere Versuche, die infarzierte Region zu quantifizieren, z.B. mit Umrundung des Narbenareals, haben sich aufgrund des disseminierten Erscheinungsbildes des nicht-vitalen Gewebes nicht etabliert. Die Methode zur Quantifizierung des Narbengewebes sollte zukünftig noch verfeinert werden.

Zudem besteht eine weitere Limitation durch Verwendung unterschiedlicher gadoliniumhaltiger Kontrastmittel präoperativ (Gadovist 1,0 M) und postoperativ (Magnevist 0,5 M), welche sich in ihrer Molarität sowie in ihren Komplexbildnern unterscheiden. Die Molarität wurde über die Dosierung angeglichen, d.h. es wurde, wie bereits im Methodikteil beschrieben, zu jedem Untersuchungszeitpunkt 0,1 mmol pro kg (KG) Kontrastmittel verabreicht. Dennoch wurde auf einen Vergleich des Narbengewebes mit präoperativen Daten verzichtet. Die Auswertung der funktionsgeometrischen Daten blieb hiervon unberührt.

Als weitere Einschränkung ist zu diskutieren, dass 54,5% aller Patienten der Km-Tx-Gruppe, jedoch nur 31,6% aller Patienten der Kontrollgruppe an den MRT-Untersuchungen teilnahmen. Zum einen hat dies Gründe, welche in diesem Kapitel bereits erläutert wurden. Zum anderen kann ein möglicher Grund für den unterschiedlich großen Anteil an Patienten mit MRT-Untersuchung eine geringere Motivation bzw. Bereitschaft der Patienten der Kontrollgruppe

selbst und auch deren Umfeld sein, sich einer solchen Untersuchung zu unterziehen. Die Ursache hierin könnte im Wissen darum liegen, keine Stammzellen bekommen zu haben mit dadurch geringerer Einsicht über die Notwendigkeit, eine zeitaufwändige und für manche unangenehme Untersuchung durchführen zu lassen.

4.3. Diskussion der Ergebnisse

4.3.1. Früh- und spätpostoperative Daten

Die autologe Stammzelltransplantation ist durchführbar und sicher. Im Vergleich zur Kontrollgruppe sind keine signifikant höheren Komplikationen wie Herzrhythmusstörungen, Reinfarkt oder Tod beobachtet worden. Auch kam es im Vergleich zur Kontrollgruppe zu keinem signifikant höheren Anteil an Patienten mit Reversschluss der Infarktarterie.

Ebenso zeigen sich im Auftreten von Langzeitkomplikationen in beiden Gruppen keine Unterschiede. So verstarben im postoperativen Verlauf in jeder Gruppe jeweils 1 Patient an nichtkardialen Ursachen. Kardiale Todesfälle fanden nicht statt, ebenso wenig wie erneute ischämische Ereignisse. Auch im spätpostoperativen Verlauf zeigte sich keine signifikant höhere Inzidenz von Herzrhythmusstörungen in der transplantierten Gruppe im Vergleich zu Kontrollgruppe. So traten in beiden Gruppen in jeweils 2 Fällen Vorhofflimmern auf.

4.3.2. Spezielle Untersuchungsverfahren

LVEF (TTE und MRT)

In der Gruppe der zelltransplantierten Patienten steigt die LVEF innerhalb eines halben Jahres im Vergleich zu den präoperativ erhobenen Daten signifikant um 7,2 Prozentpunkte an (35,5% präoperativ vs. 42,7% postoperativ, $p=0,01$). Auch in der Kontrollgruppe kommt es zur signifikanten Verbesserung der Ejektionsfraktion in der transthorakalen Echountersuchung beim halbjährigen Follow-Up, wobei die Verbesserung mit 4,3 Prozentpunkten jedoch geringer

ausfällt und nicht signifikant ist. Dieser Unterschied in der Verbesserung der EF zwischen der stammzelltransplantierten Gruppe und der Kontrollgruppe ist jedoch ebenfalls nicht signifikant. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommen Hendrikx et al. in ihrer Studie [101].

Sie testeten 20 Patienten mit transmuralen chronischen Myokardinfarkt mit einem Durchschnittsalter von 217 Tagen, die sie randomisiert 1:1 in zwei Gruppen einteilten. Auch bei ihnen erhielt eine der Gruppen während der Bypass-OP autologe Knochenmarksstammzellen, die andere Gruppe diente als Kontrollgruppe.

Die Evaluation erfolgte mittels MRT und Thallium-Szintigraphie 9-14 Tage vor und 4 Monate nach dem Eingriff.

Sie erhielten ebenfalls kein signifikant unterschiedliches Verhalten der LVEF über die Zeit zwischen zelltransplantierte Gruppe und Kontrollgruppe. Im Unterschied zu uns hingegen verbesserte sich hier jedoch in beiden Gruppen die LVEF bis zur letzten Follow-Up-Untersuchung nach vier Monaten nicht signifikant [101].

Teilweise übereinstimmend, teilweise unterschiedlich verhielt sich die Entwicklung der LVEF in der Studie von Stamm et al. [76]. Auch sie stellten wie wir eine signifikante Verbesserung der LVEF in der zelltransplantierten Gruppe fest.

Sie kamen jedoch im Gegensatz zu unserer Studie ebenfalls zu einem signifikanten Unterschied der EF zwischen beiden Gruppen nach 6 Monaten. Auch die Entwicklung der LV-Funktion der Kontrollgruppe war bei ihnen signifikant.

Die mittels TTE evaluierten/ermittelten Daten gaben Hinweise darauf, dass die Transplantation von autologen Knochenmarksstammzellen möglicherweise eine Verbesserung der Herzfunktion bewirkte.

An dieser Stelle verglichen wir zudem den aus der Gesamtanalyse „ausreißenden“ Wert der LVEF der Kontrollpatienten im MRT nach sechs Monaten der sechs beteiligten Patienten mit denen des TTE.

Hierzu betrachteten wir ausschließlich die Werte selbiger sechs Patienten und fanden eine gute Korrelation. Der Mittelwert der LVEF im TTE nach 6 Monaten ergab bei dieser Patientengruppe 49 %. Er liegt damit innerhalb des 5% Spielraums unserer Matchingkriterien dieser Studie.

Insgesamt war die statistische Aussagekraft der MRT-Ergebnisse durch die geringen Fallzahlen von z.T. nur sechs Patienten (Kontrollgruppe) stark eingeschränkt. Zudem sinkt die Wahrscheinlichkeit eines signifikanten Ergebnisses mit der Fallzahl [136]. So ist die Veränderung der LVEF im MRT bei den transplantierten Patienten im Vergleich präoperativ zur post-6-Monate trotz numerisch vergleichbarem Wert zum Herzultraschall im Gegensatz zur Entwicklung im TTE nicht signifikant. Siehe auch Abbildung 14.

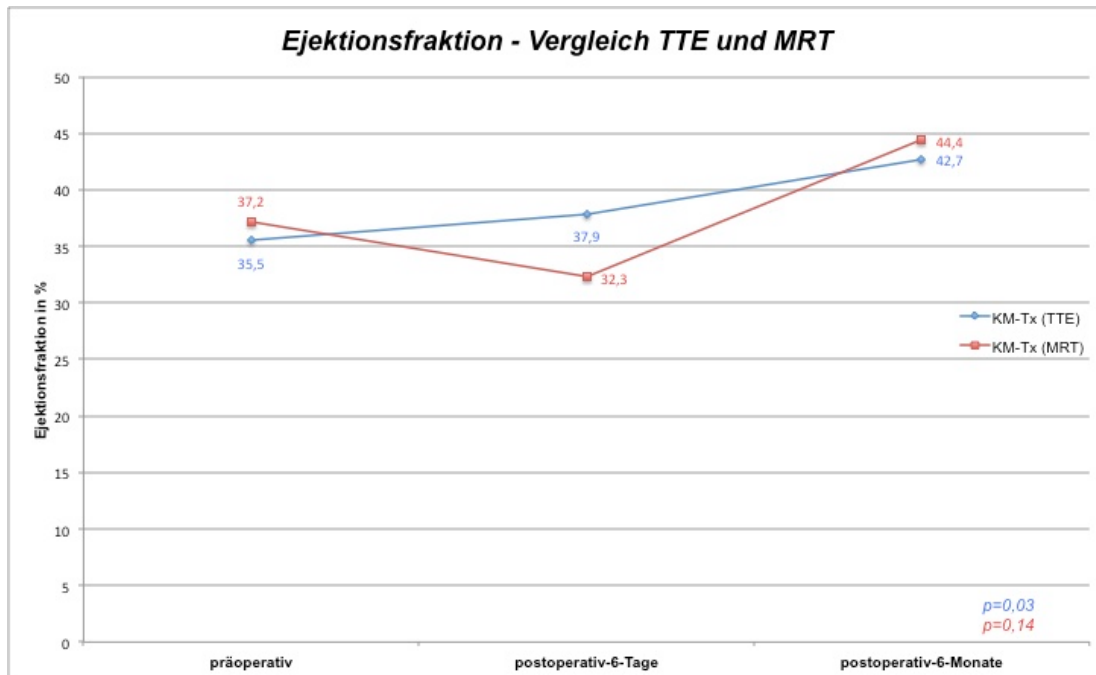


Abb. 13 Vergleich LVEF der Km-Tx-Patienten MRT vs. TTE

Das Absinken der LVEF im MRT zum Untersuchungszeitpunkt nach 6 Tagen lässt sich, wie im Diskussionsteil auf Seite 53/54 bereits ausführlich besprochen, gut durch den noch klinisch kompromittierten `frisch` Bypass-operierten Patienten und die dadurch eingeschränkte Mitarbeit erklären (erschwertes Einhalten der Atemkommandos etc.).

LVEDD (TTE)

Betrachtet man die Geometrie des linken Ventrikels, so lassen sich hier nur signifikante Veränderungen in der zelltransplantierten Gruppe beobachten; zu nennen wäre hier der LVEDD, der eine Aussage über den Grad der Dilatation des linken Ventrikels zulässt.

In der zelltransplantierten Gruppe zeigt sich zudem eine signifikante Verkleinerung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers innerhalb eines halben Jahres auf 50,5 mm im Vergleich zum präoperativen Ausgangswert von 59 mm. Dieses Ergebnis lässt den Schluss zu, dass sich der linke Ventrikel in der stammzelltransplantierten Gruppe über einen Zeitraum von sechs Monaten verkleinert hat.

Stamm et al. [76] untersuchten in ihrer Studie ebenfalls den LVEDD und kamen zu einem ähnlichen Ergebnis. Sie transplantierten sechs Patienten mit Myokardinfarkt im Zusammenhang mit einer Bypass-OP Stammzellen in den Infarktgrenzzonenbereich. 3-9 Monate nach der OP war neben einer Verbesserung der globalen linksventrikulären Funktion bei 4 Patienten eine Abnahme des LVEDD zu verzeichnen. Aussagen über Signifikanz wurden hier nicht gemacht.

LVEDV (MRT)

Ebenfalls signifikant ist die Veränderung des LVEDV im MRT; dieser nimmt in der transplantierten Gruppe um 35 ml ab, was in der Signifikanzprüfung einen p-Wert von 0,034 ergab. Es lässt sich eine signifikante Verbesserung des LVEDV in der zelltransplantierten Gruppe feststellen, während in der Kontrollgruppe der LVEDV zwar sinkt, allerdings nicht signifikant. Der Unterschied in der Verbesserung des LVEDV bis nach sechs Monaten im Vergleich der zelltransplantierten Gruppe mit der Kontrollgruppe ist jedoch nicht signifikant.

Auch Stamm et al. [76] untersuchten in ihrer kontrollierten Studie mit 43 Myokardinfarktpatienten die Auswirkungen der autologen Stammzelltransplantation von CD133+ markierten Zellen im Rahmen einer chirurgischen Koronarrevaskularisation. Sie stellten hier ebenfalls eine Abnahme des LVEDV nach 6 Monaten im Vergleich zu präoperativ fest, konnten bei dieser Veränderung jedoch keine Signifikanz nachweisen. Allerdings benutzten sie auch nicht das Kardiale MRT zur Untersuchung der Volumina, sondern bestimmten diese mittels TTE. Das kardiale MRT ist jedoch zur Bestimmung der linksventrikulären Volumina die reproduzierbarere und validere Untersuchungsmethode.

Narbgewebsgröße (MRT)

Die Infarktsegmente betreffend sich im Bereich der durch late enhancement detektierten Narbgewebsgrößen eine signifikante Dynamik bei den stammzelltransplantierten Patienten erkennen ($p < 0,05$) von einem Ausgangswert von 51,6% Narbgewebe, entsprechend einem

Defect-Score von 2,52 wurde nach sechs Monaten das Narbengewebe mit durchschnittlich 48,5% (Defect-Score= 2,42) ermittelt.

In der Kontrollgruppe blieb der Defect-Score bzw. das Narbengewebe nahezu unverändert. Eine signifikante Veränderung wurde nicht beobachtet.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kam die TOPCARE-AMI – Studie. Neben einer signifikanten Verbesserung der LVEF und einer Verbesserung der Vitalität in den infarzierten Segmenten kam es ebenfalls zur Abnahme der Infarkt Narbe im MRT (late enhancement) [58, 77]. Allerdings handelte es sich hier um die Behandlung akuter Myokardinfarkte.

Betrachtet man jedoch die Veränderung des Narbengewebes in Relation zum Gesamtmyokard des linken Ventrikels, so ist in beiden Gruppen keine signifikante Abnahme des Narbengewebes im Vergleich der Untersuchungszeitpunkte sechs Tage und sechs Monate nach der OP festzustellen.

Jedoch lässt sich die Tendenz zur Abnahme des Narbengewebes in der Km-Tx-Gruppe erkennen, insbesondere dann, wenn man nicht die Mittelwerte, sondern die Mediane zur Betrachtung heranzieht. Der Median sechs Tage nach der OP beträgt 23,2 % während der Median nach einem halben Jahr nur noch 20,6 % beträgt.

Es ist an dieser Stelle besonders sinnvoll die Mediane zur Beurteilung und besseren Einschätzung der Ergebnisse heranzuziehen, da es sich bei dieser Datenmenge um eine nicht-normalverteilte Stichprobenmenge handelt und in einer solchen der Median im Vergleich zum Mittelwert die repräsentativere Größe ist.

Zu sehr ähnlichen Ergebnissen im Verhalten des Narbengewebes kommen Hendrikx et al. in ihrer Studie [101]. Allerdings zogen sie nicht kontrastmittelangereicherte Sequenzen mittels Herz-MRT zur Beurteilung heran, sondern verwendeten die Thallium-Szintigraphie. Der Thallium-Uptake-Defect-Score veränderte sich bis nach vier Monaten nicht signifikant in beiden Gruppen. Jedoch stellten sie, ähnlich wie wir, eine nicht-signifikante Verringerung des Narbengewebes in der zelltransplantierten Gruppe fest, wohingegen der Gesamt-Defect-Score in der Kontrollgruppe, wie auch bei uns, so gut wie unverändert blieb.

Da hier zur Beurteilung des Narbengewebes zwei verschiedene Untersuchungsmethoden gewählt wurden, die nicht direkt verglichen werden können, kann man im Gesamtergebnis von einer gemeinsamen Tendenz sprechen.

4.3.3. Die linksventrikuläre Funktion im Verlauf

Die hier genannten Ergebnisse, wie die Verkleinerung des Ventrikels, die Zunahme der EF und die Verminderung des enddiastolischen Volumens, zeigen eine klare signifikante Verbesserung der linksventrikulären Funktion und eine Verbesserung der Ventrikelgeometrie in der zelltransplantierten Patientengruppe.

In der Kontrollgruppe lassen sich ebenfalls einige Veränderungen beobachten:

die LVEF gemessen mittels TTE verbessert sich bis zum Halbjahres-Follow-Up ebenfalls, jedoch nicht signifikant, um 4,3 Prozentpunkte von 36,7% auf 41%.

Auch LVEDD und LVEDV verbessern sich. Im Unterschied zur zelltransplantierten Gruppe ergibt der Test auf Signifikanz hier eine nicht-signifikante Veränderung der genannten Größen. Es lässt sich also feststellen, dass Hinweise auf eine Verbesserung der Ventrikelgeometrie ausschließlich in der zelltransplantierten Gruppe bestehen. Zusammen mit dem weitaus höheren Anstieg der linksventrikulären Ejektionsfraktion der zelltransplantierten Gruppe liegt hier die Vermutung nahe, dass die autologe Knochenmarkstammzelltransplantation möglicherweise einen Effekt hat, der dem Remodeling nach Myokardinfarkt positiv entgegenwirkt.

Zum Remodeling gehören Umbauvorgänge der Herzmuskulatur wie Fibrosierung und auch die Dilatation der Ventrikel [137] und es spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Herzinsuffizienz bei ischämischen Herzmuskelerkrankungen (siehe Einleitung).

In der Erholungsphase nach einem akuten Myokardinfarkt finden Umbauvorgänge sowohl im Bereich der infarzierten als auch im Bereich der gesunden Myokardareale statt [23].

Dass neben LVEDD und LVEDV sich auch die Narbengewebsgröße im Bereich des Infarktsegmente verbessert hat, spricht für eine Wirksamkeit der Zellen im Bereich des myokardialen Narbengewebes [23].

Wie in der Einleitung beschrieben, wird den Knochenmarksstammzellen eine durchblutungsverbessernde Funktion zugeschrieben [73, 83, 84]. Da bei der Pathogenese des Remodeling die sogenannte Mikrovaskuläre Obstruktion, also eine verminderte Durchblutung des Herzmuskels durch die Verengung kleinster Gefäß eine große Rolle spielt, lässt sich hier ein möglicher Erklärungsansatz zur Wirkweise der Stammzellen finden [22, 23, 137, 138].

Die Mikrovaskuläre Obstruktion spielt jedoch nur bzw. v.a. im akuten Stadium der Herzmuskelischämie eine Rolle.

Dass eine Herzinsuffizienz durch die Verbesserung der Ventrikelgeometrie auch im chronischen Stadium noch positiv beeinflusst werden kann, zeigt die Wirkungsweise z.B. der passiven Kardiomyoplastie bei der chirurgischen Anlage eines vorgeformten Polyesternetzes, eines sogenannten CorCaps, um den Ventrikel [7].

Weitere Studien lassen vermuten, dass sich durch die Stammzelltransplantation eine Herzinsuffizienz durch Modulation der Remodeling-Faktoren unabhängig von ihrer ursprünglichen Ursache verbessert [139].

Dies spricht auch für den Ansatz des Anti-Remodeling-Effekts der Stammzellen, da Remodeling in jeder Pathogenese einer Herzinsuffizienz – nicht nur der ischämischen – eine zentrale Rolle spielt.

So testeten Seht et al. die intrakoronare Stammzelltransplantation bei Patienten mit nicht-ischämischer dilatativer Kardiomyopathie [139].

Keiner der Studienpatienten litt hier an einer koronaren Herzkrankheit, die zuvor per Herzkatheter ausgeschlossen wurde.

Bei 10 Patienten der Studie mit idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie war zum Untersuchungszeitpunkt nach 3 Monaten die LVEF im Vergleich zu präinterventionell signifikant gestiegen. Auch der LVEDD sank signifikant und impliziert damit eine Verkleinerung des linken Ventrikels.

Vor, sowie 6 Monate nach Intervention wurde hier eine endomyokardiale Biopsie entnommen.

Diese ergab einen Anstieg des Verhältnisses von Kapillaren zu Myozyten, der jedoch nicht signifikant war.

In der Biopsie konnten keine persistierenden Stammzellen, keine neuen Kardiomyozyten, keine Anzeichen für Entzündung, Infarkt oder Neovaskularisation gefunden werden [139].

Experimentelle Studien zu diesem Thema geben Hinweise darauf, dass der Benefit der Stammzelltherapie hauptsächlich von niedrigeren Leveln an Fibrose und gesteigerter Vaskularisation herrührt [140].

Die Tatsache, dass kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen bezüglich der ermittelten Funktions- und geometrischen Parameter erkennbar ist, lässt sich evtl. damit erklären, dass alle in diese Studie involvierten Patienten mindestens eine 2-KHK haben, in den meisten Fällen jedoch 3 Gefäße betroffen sind. Somit ist wahrscheinlicher als bei Patienten mit

einer 1-Gefäßerkrankung, dass mehr als ein Areal des Herzmuskels unter dem Einwirken von vorübergehender oder dauerhafter Ischämie stand. Vielmehr noch hatten 9 von 22 zelltransplantierten Patienten mehr als einen Infarkt mit mehr als einer Lokalisation erlitten. Die Stammzellen wurden jedoch zum überwiegenden Teil in nur ein infarziertes Areal appliziert. Nur in 4 von 22 Fällen wurden die Zellen über die Kardioplegiekanüle und somit die Aortenwurzel appliziert, so dass sich die Zellen über alle Herzkranzgefäße verteilen konnten. In den übrigen Fällen kam es entweder direkt zur intramyokardialen Injektion der Zellen oder zur Applikation über den venösen Bypassgraft und somit zu einer lokaleren Applikation, bei dem nur ein Infarktgebiet durch die Zellen erreicht wurde.

Der nichtsignifikante Unterschied im Gesamtergebnis beim Vergleich zwischen den beiden Gruppen spricht also nicht zwangsläufig gegen eine Unwirksamkeit der Zellen. Möglicherweise wird ein signifikantes Ergebnis des Unterschiedes zwischen den Gruppen dadurch maskiert, dass nicht alle Infarktareale sowie auch nicht das übrige Myokard durch die Zelltransplantation erreicht wurden.

Für die Annahme der besseren Wirksamkeit der Zellen bei systemischer und nicht lokaler Applikation spricht ebenfalls, dass sich bei Betrachtung gerade dieser 4 Patienten mit systemischer Applikation der Zellen über die Aortenwurzel die mit Abstand größte Verbesserung der linksventrikulären Funktionsparameter im Vergleich mit den Untergruppen 'Applikation über den Bypass' und 'intramyokardiale Applikation' zu beobachten ist.

So verbesserte sich hier die Ejektionsfraktion von 26,2% präoperativ auf 40% zum halbjährigen Follow-Up. In sehr ähnlichem Trend verhält sich der LVEDD: er verbessert sich von präoperativ im Durchschnitt 63,2 mm innerhalb von sechs Monaten auf 52 mm. Diese Veränderungen liegen deutlich über der durchschnittlichen Verbesserung der gesamten zelltransplantierten Gruppe sowie auch über dem Schnitt der anderen beiden Untergruppen via Bypass und Intramyokardial wie auch in Tabelle 17 im Ergebnisteil dargestellt.

Auch dieses Ergebnis spricht für die These, dass die Wirkung der Stammzellen möglicherweise nicht durch das lokale Geschehen einer Umwandlung der Zellen in Kardiomyozyten nur im Bereich des Narbengewebes stattfindet, sondern hier eine Wirkweise vorliegt, die auch das Restmyokard des linken Ventrikels mit einbezieht, wie es bei einem Anti-Remodeling-Effekt der Fall wäre.

Der beobachtete Effekt könnte zudem auch mit dem Ort der höchsten zellulären Aktivität in Bezug auf das Narbengewebe begründet werden. Die Zellen erreichen die Peripherie des Infarktgewebes über offene Koronargefäße und Kollateralen nach der intraaortalen Applikation. Im Gegensatz hierzu führt eine direkte Injektion und die Injektion über den venösen Bypass-Graft zum Infarkt-Gefäß, dazu, dass die Zellen in mehr oder weniger zentrale Anteile des Infarktgewebes gelangen. Gerade aber der zentrale Anteil einer Narbe stellt eine schlechtere nutritive Umgebung für die transplantierten Zellen im Vergleich mit der Grenzregion des Infarktgebietes darstellt.

4.3.4. Diskussion von Untergruppen

Aufgrund des Auftretens von missing values auch in unserer Studie drängte sich die Überlegung auf, wie diese bei der statistischen Auswertung zu behandeln sind.

Dennoch wird in der Literatur darauf hingewiesen, dass eindeutige Richtlinien für eine einziges richtiges Verfahren für den Umgang mit missing values nicht existieren [141]. Vielmehr handelt es sich um eine komplexe statistische Fragestellung, deren Lösung von Fall zu Fall gesucht werden muss.

In der Literatur werden verschiedene Methoden beschrieben, bei denen mit der erhobenen Datenmenge unterschiedlich verfahren wird. Als Beispiele sollen hier die `Intent-to-treat`-Analyse (ITT) und das `per protocol`-Verfahren (PP) genannt werden [142]. Bei der Intent-to-treat Methode werden alle erhobenen Werte in die statistischen Berechnungen eingeschlossen. Nach dem `per protocol` Verfahren wird in einem zuvor aufgesetzten Studienprotokoll entschieden, wie mit fehlenden Werten verfahren werden soll. Zum Beispiel können auch Patienten, bei denen Werte fehlen, von der Studie ausgeschlossen werden. In unserer Studie wurden zwei verschiedene Methoden parallel angewandt. Der Hauptstamm der Daten wurde berechnet, ohne das Patienten ausgeschlossen wurden, d.h. alle erhobenen und gemessenen Werte flossen in die statistische Auswertung ein.

Bei einem Teil der Daten, welche in dieser Studie von besonderer Bedeutung erschienen, wurde eine weitere Methode angewandt. Hier nahmen nur die Patienten an den jeweiligen statistischen Berechnungen teil, welche zu jedem der drei Untersuchungszeitpunkte an der Ermittlung des jeweiligen Wertes (z.B. LVEF gemessen im TTE) teilhatten.

Beide Verfahrensweisen haben hinsichtlich der Aussagekraft der resultierenden Ergebnisse Vorteile und Schwächen.

Bei der Intent-to-treat Methode ist zum einen die Fallzahl höher, zum anderen findet keine Selektion der Datenmenge statt, was zu einer im Vergleich höheren statistischen Aussagekraft führt. Die Datenmenge ist zudem repräsentativer. Als Schwäche könnte man hervorbringen, dass möglicherweise die sich ergebenden Daten durch z.T. fehlende und z.T. vorhandene Daten eines Patienten im Verlauf `verfälscht` werden und somit die Richtigkeit des Endergebnisses und die daraus gewonnene Aussage `verfälscht` wird. Hat z.B. ein Patient eine im Vergleich zum Rest der Patienten dieser Studie relativ gesehen gute LV-Funktion zu Beginn, nimmt aber nur zum präoperativen und früh-postoperativen Untersuchungszeitpunkt teil, so ist der Gesamtdurchschnitt der LVEF nach sechs Monaten möglicherweise schlechter, als sie bei einer Teilnahme des Patienten auch an dieser Untersuchung wäre. Somit könnte eine möglicherweise stattgehabte durchschnittliche Verbesserung der LVEF einer Gruppe im Verlauf nicht sichtbar bzw. vermindert werden.

Ähnliche Überlegungen zu möglicherweise resultierenden Verfälschung des Ergebnisses einer Studie durch den Nicht-Ausschluss von Daten bzw. Studienteilnehmern wird auch in der Literatur beschrieben, z.B. im Fall der Non-Compliance von Studienteilnehmern [142].

Aus diesem Grund wurde unter der Annahme einer möglichen Abschwächung der Sichtbarkeit eines Unterschiedes im Vergleich vor der Therapie mit Nachher die oben beschriebenen Berechnungen zusätzlich durchgeführt. Als Schwächen sind hier die gesunkene Fallzahl und die Selektion der Daten zu nennen.

Um die Schwere der Selektion einschätzen zu können, wurden die Gründe für das Fehlen von Daten genauer betrachtet. Wie oben beschrieben, zeigte sich keine signifikant unterschiedliche Rate für Tot und Komplikationen. So verstarben 2 Patienten in der transplantierten und ein Patient in der Kontrollgruppe. Auch, meist vorübergehende, Komplikationen wie Herzrhythmusstörungen verhinderten die Teilnahme an der Follow-Up Untersuchung mittels Echokardiographie meist nicht. Eine Ausnahme stellt ein vorübergehendes postoperatives Vorhofflimmern bezüglich der Teilnahme an einer MRT-Untersuchung dar. Organisatorische Gründe wie nicht Erscheinen des Patienten zur Nachuntersuchung, schlechte Untersuchungsbedingungen usw. waren die hauptsächlichen Ursachen für die missing data dieser Studie.

Betrachtet man nun die Ergebnisse beider statistischer Analysen, so lassen sich zwar Unterschiede erkennen, jedoch sind die Signifikanzen vergleichbar. So veränderte sich z.B. die

LVEF in der zelltransplantierten Gruppe in der ITT-Analyse um 7,1 %-Punkte, während die ermittelte Differenz im Mittelwert in der PP-Untergruppe 6,7 %-Punkte beträgt (s. auch Ergebnisteil Tabellen 6-8).

5. Zusammenfassung

1. Hintergrundwissen und Zielsetzung

Die Prognose von chronischer Herzinsuffizienz hauptsächlich ischämischer Genese ist trotz der etablierten konservativen und chirurgischen Therapien unbefriedigend. Bisher existiert zudem keine etablierte Therapie, die abgestorbenes Herzmuskelgewebe wiederherstellen kann.

Weil aktuelle Studien zeigen, dass adulte Knochenmarksstammzellen das Potential besitzen, sich zu Kardiomyozyten zu differenzieren, wurde das Konzept der intrakardialen Transplantation dieser Zellen entwickelt. In Tierversuchen wurde die Durchführbarkeit und Effektivität dieses Verfahrens aufgezeigt. Jetzt soll im Rahmen einer klinischen Studie diese Behandlungsmethode evaluiert werden.

2. Material und Methoden

Bei dieser Studie handelt es sich um eine prospektive, nicht-randomisierte Studie mit nach Alter, LVEF und Gefäßerkrankung gematchter Kontrollgruppe. In die Studie eingeschlossen wurden Myokardinfarktpatienten mit eingeschränkter linksventrikulärer Funktion (LVEF<50%), die sich einer elektiven Bypass-OP unterzogen. Zu Beginn der Bypassoperation wurden 100ml Knochenmarksblut aus dem Sternum aspiriert und daraus nach Zentrifugation der buffycoat gewonnen. Dieser wurde dann je nach Befund entweder direkt in das myokardiale Narbenareal, oder über den venösen Graft oder über die Aortenwurzel appliziert. Die kardiale Funktionsdiagnostik erfolgte präoperativ, am 6. pod und am 180. pod mittels transthorakaler Echokardiographie und kontrastverstärkter MRT. Evaluiert wurden die linksventrikuläre Ventrikelgeometrie und –funktion sowie die Ausdehnung der myokardialen Narben.

Kontrollgruppe und transplantierte Gruppe unterscheiden sich weder in Alter, noch LVEF oder Schwere der Gefäßerkrankung signifikant voneinander.

Auch die intraoperativ gewonnenen Daten zeigen in den wichtigen Parametern keine drastischen Unterschiede.

3. Ergebnisse:

Es konnten keine Unterschiede im Bereich der früh- und spätpostoperativen Komplikationen festgestellt werden.

In der transplantierten Gruppe zeigt sich eine signifikante Verbesserung der linksventrikulären Funktion, was sich insbesondere durch eine signifikante Steigerung der LVEF im Verlauf um durchschnittlich 7,7% Prozentpunkte (von 35,5% auf 42,7%) zeigt.

Auch haben sich Parameter zur Beschreibung der Ventrikelgeometrie und –größe innerhalb eines halben Jahres im Vergleich zu präoperativ nur in der zelltransplantierten Gruppe signifikant verbessert. So kam es zu einer signifikanten Verringerung des LVEDD nach einem halben Jahr um 8,4 mm (von 58,9 auf 50,5 mm) sowie auch zu einer signifikanten Abnahme des linksventrikulären enddiastolischen Volumens um 35 ml (von 220ml auf 185ml).

Auch die Herzinsuffizienzsymptome wurden nur in der zelltransplantierten Gruppe signifikant reduziert.

Bei einer numerisch deutlichen, jedoch nicht signifikanten Verbesserung der linksventrikulären Ejektionsfraktion der Kontrollpatienten blieben die eher geringen Veränderungen der Parameter zur Beschreibung der Ventrikelgeometrie wie LVEDD und LVEDV in dieser Gruppe auf einem nicht-signifikanten Niveau. Das Narbengewebe blieb ebenso nahezu unverändert.

4.Schlussfolgerung:

Bei der Herleitung der Aufgabenstellung wurden vier Fragen formuliert, welche nun alle konkret beantwortet werden können:

1. Die intrakardiale autologe Knochenmarksstammzelltransplantation ist sicher durchführbar.
2. Sie führt als Ergänzung zur Bypass-OP sowohl zu einer moderaten Verbesserung der myokardialen Funktion als auch der Geometrie des linken Ventrikels. Im Vergleich zur alleinigen Koronarrevaskularisation sind die Veränderungen in der zelltransplantierten Gruppe größer.
3. Sie führt zur Reduktion der myokardialen Narbe bezüglich der Infarktsegmente.
4. Zudem werden die Symptome der Herzinsuffizienz reduziert.

Die signifikante Verbesserung der linksventrikulären Auswurfleistung in Kombination mit einer verbesserten Geometrie und reduzierten Volumina (LVEDV) des linken Ventrikels bei nahezu unverändertem Gesamt-Narbengewebe lässt auf einen Effekt schließen, der möglicherweise auch im Bereich des Antiremodelings liegt und nicht zwangsläufig durch eine Umwandlung der Stammzellen in Herzmuskelzellen erklärt werden muß.

Die signifikante Reduktion des Narbengewebes im Bereich der Infarktsegmente nur in der zelltransplantierten Gruppe spricht für eine Wirksamkeit der Stammzellen lokal im Bereich der Narbe.

6. Literaturverzeichnis

1. Krum H, The Task Force for the diagnosis and treatment of chronic heart failure of the European Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: full text (update 2005). *Eur Heart J*, 2005. 26: p. 2472; author reply 2473-2474.
2. Bleumink GS, Knetsch AM, Sturkenboom MC, et al., Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart failure The Rotterdam Study, in *Eur Heart J*. 2004. p. 1614-1619.
3. Todesursachen in Deutschland-Fachserie12 Reihe 4-2009. Statistisches Bundesamt Deutschland, 2009.
4. Theiss HD and Franz WM, [Stem cell therapy in chronic heart failure]. *Med Klin (Munich)*, 2006. 101: p. 77-81.
5. Baig MK, Mahon N, McKenna WJ, et al., The pathophysiology of advanced heart failure. *Heart Lung*, 1999. 28: p. 87-101.
6. Hoppe UC, Bohm M, Dietz R, et al., [Guidelines for therapy of chronic heart failure]. *Z Kardiol*, 2005. 94: p. 488-509.
7. Oz MC, Konertz WF, Kleber FX, et al., Global surgical experience with the Acorn cardiac support device. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003. 126: p. 983-991.
8. Cohn JN, Ferrari R and Sharpe N, Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol*, 2000. 35: p. 569-582.
9. Lund GK, Stork A, Muellerleile K, et al., Prediction of left ventricular remodeling and analysis of infarct resorption in patients with reperfused myocardial infarcts by using contrast-enhanced MR imaging. *Radiology*, 2007. 245: p. 95-102.
10. Silbernagl S and Lang F, Color atlas of pathophysiology. 2000, Stuttgart ; New York: Thieme. x, 406 p.
11. Kasper DL and Harrison TR, Harrison's principles of internal medicine. 16th ed. 2005, New York: McGraw-Hill, Medical Pub. Division.
12. Weber KT, Sun Y and Guarda E, Structural remodeling in hypertensive heart disease and the role of hormones. *Hypertension*, 1994. 23: p. 869-877.

13. Lorell BH, Role of angiotensin AT1, and AT2 receptors in cardiac hypertrophy and disease. *Am J Cardiol*, 1999. 83: p. 48H-52H.
14. Sil P and Sen S, Angiotensin II and myocyte growth: role of fibroblasts. *Hypertension*, 1997. 30: p. 209-216.
15. Gonzalez A, Lopez B, Ravassa S, et al., Stimulation of cardiac apoptosis in essential hypertension: potential role of angiotensin II. *Hypertension*, 2002. 39: p. 75-80.
16. Caulfield JB and Borg TK, The collagen network of the heart. *Lab Invest*, 1979. 40: p. 364-372.
17. Goldstein S, Ali AS and Sabbah H, Ventricular remodeling. Mechanisms and prevention. *Cardiol Clin*, 1998. 16: p. 623-632, vii-viii.
18. Lee TH, Hamilton MA, Stevenson LW, et al., Impact of left ventricular cavity size on survival in advanced heart failure. *Am J Cardiol*, 1993. 72: p. 672-676.
19. Greenberg BH, Effects of angiotensin converting enzyme inhibitors on remodeling in clinical trials. *J Card Fail*, 2002. 8: p. S486-490.
20. Udelson JE, Ventricular remodeling in heart failure and the effect of beta-blockade. *Am J Cardiol*, 2004. 93: p. 43B-48B.
21. Ito H, Maruyama A, Iwakura K, et al., Clinical implications of the 'no reflow' phenomenon. A predictor of complications and left ventricular remodeling in reperfused anterior wall myocardial infarction. *Circulation*, 1996. 93: p. 223-228.
22. Bolognese L, Carrabba N, Parodi G, et al., Impact of microvascular dysfunction on left ventricular remodeling and long-term clinical outcome after primary coronary angioplasty for acute myocardial infarction. *Circulation*, 2004. 109: p. 1121-1126.
23. Gerber BL, Rochitte CE, Melin JA, et al., Microvascular obstruction and left ventricular remodeling early after acute myocardial infarction. *Circulation*, 2000. 101: p. 2734-2741.
24. Pfeffer MA and Braunwald E, Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation*, 1990. 81: p. 1161-1172.
25. Patel AN, Geffner L, Vina RF, et al., Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005. 130: p. 1631-1638.

26. Dorge H, Schulz R and Heusch G, Pathophysiology of hibernation, stunning, and ischemic preconditioning. *Thorac Cardiovasc Surg*, 1998. 46 Suppl 2: p. 255-262; discussion 263.
27. Bax JJ, Visser FC, Poldermans D, et al., Time course of functional recovery of stunned and hibernating segments after surgical revascularization. *Circulation*, 2001. 104: p. I314-318.
28. Califf RM, Harrell FE, Jr., Lee KL, et al., Changing efficacy of coronary revascularization. Implications for patient selection. *Circulation*, 1988. 78: p. I185-191.
29. Cohen M, Charney R, Hershman R, Fuster V and Gorlin R, Reversal of chronic ischemic myocardial dysfunction after transluminal coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*, 1988. 12: p. 1193-1198.
30. Takeishi Y, Tono-oka I, Kubota I, et al., Functional recovery of hibernating myocardium after coronary bypass surgery: does it coincide with improvement in perfusion? *Am Heart J*, 1991. 122: p. 665-670.
31. Smith SC, Jr., Dove JT, Jacobs AK, et al., ACC/AHA guidelines for percutaneous coronary intervention (revision of the 1993 PTCA guidelines)-executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee to revise the 1993 guidelines for percutaneous transluminal coronary angioplasty) endorsed by the Society for Cardiac Angiography and Interventions. *Circulation*, 2001. 103: p. 3019-3041.
32. Cannon CP and Baim DS, Expanding the reach of primary percutaneous coronary intervention for the treatment of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2002. 39: p. 1720-1722.
33. Wijns W, Kolh P, Danchin N, et al., Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*, 2010. 31: p. 2501-2555.
34. Falk V CJ, Kommentar zur Joint ESC/EACTS Practice Guidelines on Myocardial Revascularisation. *Z Herz- Thorax- Gefäßchir*, 2011. 25: p. 51-56.
35. Schmid F, Chirurgische Therapieoptionen bei schwerer Herzinsuffizienz. *Dtsch Arztebl*, 2004:101. 7: p. A 429-435

36. Reynolds MR and Josephson ME, MADIT II (second Multicenter Automated Defibrillator Implantation Trial) debate: risk stratification, costs, and public policy. *Circulation*, 2003. 108: p. 1779-1783.
37. Furnary AP, Chachques JC, Moreira LF, et al., Long-term outcome, survival analysis, and risk stratification of dynamic cardiomyoplasty. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1996. 112: p. 1640-1649; discussion 1649-1650.
38. Konertz WF, Shapland JE, Hotz H, et al., Passive containment and reverse remodeling by a novel textile cardiac support device. *Circulation*, 2001. 104: p. I270-275.
39. Konertz W, Cardiac Support Device: Novel surgical option for heart failure., in *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2001. p. 167-170.
40. Sabbah H, Passive ventricular constraint with acorn prosthetic jacket prevents progressive left ventricular dilatation and improves ejection in dogs with moderate heart failure. (Abstract). *J Am Coll Cardiol*, 1999. 33:207A.
41. Starling RC, Jessup M, Oh JK, et al., Sustained benefits of the CorCap Cardiac Support Device on left ventricular remodeling: three year follow-up results from the Acorn clinical trial. *Ann Thorac Surg*, 2007. 84: p. 1236-1242.
42. Oz MC, Konertz WF, Raman J and Kleber FX, Reverse remodeling of the failing ventricle: surgical intervention with the Acorn Cardiac Support Device. *Congest Heart Fail*, 2004. 10: p. 96-104; discussion 105.
43. Lembcke A, Dushe S, Enzweiler CN, et al., Passive external cardiac constraint improves segmental left ventricular wall motion and reduces akinetic area in patients with non-ischemic dilated cardiomyopathy. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2004. 25: p. 84-90.
44. Lembcke A, Wiese TH, Dushe S, et al., Effects of passive cardiac containment on left ventricular structure and function: verification by volume and flow measurements. *J Heart Lung Transplant*, 2004. 23: p. 11-19.
45. Konertz W, [Berlin experiences with the "CorCap". "Hearts have become smaller, pump function is improved]. *MMW Fortschr Med*, 2004. 146: p. 5.
46. Konertz W, Hotz H, Khoyneshad A, Zytowski M and Baumann G, Results after partial left ventriculectomy in a European heart failure population. *J Card Surg*, 1999. 14: p. 129-135.

47. Konertz W, Khoynezhad A, Sidiropoulos A, Borak V and Baumann G, Early and intermediate results of left ventricular reduction surgery. *Eur J Cardiothorac Surg*, 1999. 15 Suppl 1: p. S26-30; discussion S39-43.
48. Gorcsan J, 3rd, Feldman AM, Kormos RL, et al., Heterogeneous immediate effects of partial left ventriculectomy on cardiac performance. *Circulation*, 1998. 97: p. 839-842.
49. Santambrogio L, Bianchi T, Fuardo M, et al., Right ventricular failure after left ventricular assist device insertion: preoperative risk factors. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2006. 5: p. 379-382.
50. Vetshev PS, Shkrob OS, Ippolitov LI and Polunin GV, [Diagnosis and surgical treatment of arterial hypertension of adrenal origin]. *Khirurgiia (Mosk)*, 2001: p. 33-40.
51. Verheugt FW, [The electric heart assist device for patients on the waiting list for a heart transplant: a bridge too far]. *Ned Tijdschr Geneesk*, 2002. 146: p. 351-352.
52. Schlensak C, Benk C, Siepe M, Heilmann C and Beyersdorf F, Clinical experience with the VentrAssist left ventricular assist device. *Thorac Cardiovasc Surg*. 58 Suppl 2: p. S198-201.
53. Copeland JG, Smith RG, Arabia FA, et al., Cardiac replacement with a total artificial heart as a bridge to transplantation. *N Engl J Med*, 2004. 351: p. 859-867.
54. Sasaoka T, Kato TS, Komamura K, et al., Improved long-term performance of pulsatile extracorporeal left ventricular assist device. *J Cardiol*, 2010. 56: p. 220-228.
55. Gummert JF, Funkat A and Krian A, Cardiac surgery in Germany during 2004: a report on behalf of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2005. 53: p. 391-399.
56. Gummert JF, Funkat A, Beckmann A, et al., Cardiac surgery in Germany during 2008. A report on behalf of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2009. 57: p. 315-323.
57. Joggerst SJ and Hatzopoulos AK, Stem cell therapy for cardiac repair: benefits and barriers. *Expert Rev Mol Med*, 2009. 11: p. e20.
58. Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, et al., Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation*, 2003. 108: p. 2212-2218.

59. Anversa P, Palackal T, Sonnenblick EH, Olivetti G and Capasso JM, Hypertensive cardiomyopathy. Myocyte nuclei hyperplasia in the mammalian rat heart. *J Clin Invest*, 1990. 85: p. 994-997.
60. Kajstura J, Leri A, Finato N, et al., Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. 95: p. 8801-8805.
61. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al., Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2001. 344: p. 1750-1757.
62. Challen GA and Little MH, A side order of stem cells: the SP phenotype. *Stem Cells*, 2006. 24: p. 3-12.
63. Hierlihy AM, Seale P, Lobe CG, Rudnicki MA and Megeney LA, The post-natal heart contains a myocardial stem cell population. *FEBS Lett*, 2002. 530: p. 239-243.
64. Martin CM, Meeson AP, Robertson SM, et al., Persistent expression of the ATP-binding cassette transporter, *Abcg2*, identifies cardiac SP cells in the developing and adult heart. *Dev Biol*, 2004. 265: p. 262-275.
65. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, et al., Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003. 100: p. 12313-12318.
66. Torella D, Ellison GM, Mendez-Ferrer S, Ibanez B and Nadal-Ginard B, Resident human cardiac stem cells: role in cardiac cellular homeostasis and potential for myocardial regeneration. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2006. 3 Suppl 1: p. S8-13.
67. Fuchs E, Tumber T and Guasch G, Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell*, 2004. 116: p. 769-778.
68. Moore KA and Lemischka IR, Stem cells and their niches. *Science*, 2006. 311: p. 1880-1885.
69. Urbanek K, Torella D, Sheikh F, et al., Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005. 102: p. 8692-8697.
70. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al., Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*, 2003. 114: p. 763-776.
71. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al., Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest*, 1999. 103: p. 697-705.
72. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al., Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*, 2001. 410: p. 701-705.

73. Tomita S, Li RK, Weisel RD, et al., Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation*, 1999. 100: p. II247-256.
74. Yoon YS, Wecker A, Heyd L, et al., Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction. *J Clin Invest*, 2005. 115: p. 326-338.
75. Xu HX, Li GS, Jiang H, et al., Implantation of BM cells transfected with phVEGF165 enhances functional improvement of the infarcted heart. *Cytotherapy*, 2004. 6: p. 204-211.
76. Stamm C, Kleine HD, Choi YH, et al., Intramyocardial delivery of CD133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease: safety and efficacy studies. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2007. 133: p. 717-725.
77. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al., Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation*, 2002. 106: p. 3009-3017.
78. Schachinger V, Assmus B, Britten MB, et al., Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol*, 2004. 44: p. 1690-1699.
79. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al., Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*, 2005. 18: p. 1440-1463.
80. Salkind NJ and Rasmussen K, *Encyclopedia of measurement and statistics*. 2007, Thousand Oaks, Calif.: SAGE Publications.
81. Multicenter automatic defibrillator implantation trial (MADIT): design and clinical protocol. MADIT Executive Committee. *Pacing Clin Electrophysiol*, 1991. 14: p. 920-927.
82. Moss AJ, Update on MADIT: the Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial. The long QT interval syndrome. *Am J Cardiol*, 1997. 79: p. 16-19.
83. Hur J, Yoon CH, Kim HS, et al., Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovasculogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004. 24: p. 288-293.

84. Bailey AS, Jiang S, Afentoulis M, et al., Transplanted adult hematopoietic stems cells differentiate into functional endothelial cells. *Blood*, 2004. 103: p. 13-19.
85. Rehman J, Li J, Orschell CM and March KL, Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation*, 2003. 107: p. 1164-1169.
86. Narboneva DA, Vukmirovic R, Davis ME, Kamm RD and Lee RT, Endothelial cells promote cardiac myocyte survival and spatial reorganization: implications for cardiac regeneration. *Circulation*, 2004. 110: p. 962-968.
87. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al., Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation*, 2004. 109: p. 1543-1549.
88. Hinkel R, El-Aouni C, Olson T, et al., Thymosin beta4 is an essential paracrine factor of embryonic endothelial progenitor cell-mediated cardioprotection. *Circulation*, 2008. 117: p. 2232-2240.
89. Mirotsov M, Zhang Z, Deb A, et al., Secreted frizzled related protein 2 (Sfrp2) is the key Akt-mesenchymal stem cell-released paracrine factor mediating myocardial survival and repair. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. 104: p. 1643-1648.
90. Alfaro MP, Pagni M, Vincent A, et al., The Wnt modulator sFRP2 enhances mesenchymal stem cell engraftment, granulation tissue formation and myocardial repair. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. 105: p. 18366-18371.
91. Kupatt C, Horstkotte J, Vlastos GA, et al., Embryonic endothelial progenitor cells expressing a broad range of proangiogenic and remodeling factors enhance vascularization and tissue recovery in acute and chronic ischemia. *Faseb J*, 2005. 19: p. 1576-1578.
92. Gnecci M, Zhang Z, Ni A and Dzau VJ, Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res*, 2008. 103: p. 1204-1219.
93. Haider H, Jiang S, Idris NM and Ashraf M, IGF-1-overexpressing mesenchymal stem cells accelerate bone marrow stem cell mobilization via paracrine activation of SDF-1alpha/CXCR4 signaling to promote myocardial repair. *Circ Res*, 2008. 103: p. 1300-1308.
94. Leri A, Kajstura J and Anversa P, Myocyte proliferation and ventricular remodeling. *J Card Fail*, 2002. 8: p. S518-525.

95. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al., Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. 98: p. 10344-10349.
96. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al., Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet*, 2004. 364: p. 141-148.
97. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al., Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrOW transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation*, 2006. 113: p. 1287-1294.
98. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al., Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2006. 355: p. 1210-1221.
99. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, et al., Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 2006. 367: p. 113-121.
100. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al., Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study. *J Am Coll Cardiol*, 2005. 46: p. 1651-1658.
101. Hendrikx M, Hensen K, Clijsters C, et al., Recovery of regional but not global contractile function by the direct intramyocardial autologous bone marrow transplantation: results from a randomized controlled clinical trial. *Circulation*, 2006. 114: p. 1101-1107.
102. Laflamme MA and Murry CE, Regenerating the heart. *Nat Biotechnol*, 2005. 23: p. 845-856.
103. Menasche P, Skeletal myoblasts as a therapeutic agent. *Prog Cardiovasc Dis*, 2007. 50: p. 7-17.
104. Menasche P, Alfieri O, Janssens S, et al., The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation. *Circulation*, 2008. 117: p. 1189-1200.
105. Cleland JG, Coletta AP, Abdellah AT, et al., Clinical trials update from the American Heart Association 2006: OAT, SALT 1 and 2, MAGIC, ABCD, PABA-CHF, IMPROVE-CHF, and percutaneous mitral annuloplasty. *Eur J Heart Fail*, 2007. 9: p. 92-97.

106. Halbach M, Pfannkuche K, Pillekamp F, et al., Electrophysiological maturation and integration of murine fetal cardiomyocytes after transplantation. *Circ Res*, 2007. 101: p. 484-492.
107. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD, et al., Cardiomyocyte transplantation improves heart function. *Ann Thorac Surg*, 1996. 62: p. 654-660; discussion 660-651.
108. Sakai T, Li RK, Weisel RD, et al., Fetal cell transplantation: a comparison of three cell types. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1999. 118: p. 715-724.
109. Gepstein L, Derivation and potential applications of human embryonic stem cells. *Circ Res*, 2002. 91: p. 866-876.
110. Blum B and Benvenisty N, The tumorigenicity of human embryonic stem cells. *Adv Cancer Res*, 2008. 100: p. 133-158.
111. Draper JS, Pigott C, Thomson JA and Andrews PW, Surface antigens of human embryonic stem cells: changes upon differentiation in culture. *J Anat*, 2002. 200: p. 249-258.
112. Silverman HS and Pfeifer MP, Relation between use of anti-inflammatory agents and left ventricular free wall rupture during acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 1987. 59: p. 363-364.
113. Evans MJ and Kaufman MH, Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, 1981. 292: p. 154-156.
114. Martin GR, Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1981. 78: p. 7634-7638.
115. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al., Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998. 282: p. 1145-1147.
116. Okita K, Ichisaka T and Yamanaka S, Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2007. 448: p. 313-317.
117. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al., Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007. 131: p. 861-872.
118. Wernig M, Meissner A, Foreman R, et al., In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature*, 2007. 448: p. 318-324.
119. Baker M. Adult cells reprogrammed to pluripotency, without tumors. *Nature Reports Stem Cells* 3.2.2011 [cited 2011 4.2.2011]; Available from: <http://www.nature.com/stemcells/2007/0712/071206/full/stemcells.2007.124.html>.

120. Takahashi K and Yamanaka S, Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006. 126: p. 663-676.
121. Rubin R, Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine. 2007: Lippincott Williams & Wilkins. pp. 90.
122. Shiota M, Heike T, Haruyama M, et al., Isolation and characterization of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells with myogenic and neuronal properties. *Exp Cell Res*, 2007. 313: p. 1008-1023.
123. Chen SL, Fang WW, Ye F, et al., Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 2004. 94: p. 92-95.
124. Yoon YS, Park JS, Tkebuchava T, Luedeman C and Losordo DW, Unexpected severe calcification after transplantation of bone marrow cells in acute myocardial infarction. *Circulation*, 2004. 109: p. 3154-3157.
125. Breitbach M, Bostani T, Roell W, et al., Potential risks of bone marrow cell transplantation into infarcted hearts. *Blood*, 2007. 110: p. 1362-1369.
126. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al., Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997. 275: p. 964-967.
127. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, et al., Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000. 97: p. 3422-3427.
128. Murohara T, Therapeutic vasculogenesis using human cord blood-derived endothelial progenitors. *Trends Cardiovasc Med*, 2001. 11: p. 303-307.
129. Shi Q, Rafii S, Wu MH, et al., Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood*, 1998. 92: p. 362-367.
130. Iwasaki H, Kawamoto A, Ishikawa M, et al., Dose-dependent contribution of CD34-positive cell transplantation to concurrent vasculogenesis and cardiomyogenesis for functional regenerative recovery after myocardial infarction. *Circulation*, 2006. 113: p. 1311-1325.
131. Bui QT, Gertz ZM and Wilensky RL, Intracoronary delivery of bone-marrow-derived stem cells. *Stem Cell Res Ther*. 1: p. 29.
132. Jujo K, Ii M and Losordo DW, Endothelial progenitor cells in neovascularization of infarcted myocardium. *J Mol Cell Cardiol*, 2008. 45: p. 530-544.

133. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al., Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*, 2001. 89: p. E1-7.
134. Imanishi T, Moriwaki C, Hano T and Nishio I, Endothelial progenitor cell senescence is accelerated in both experimental hypertensive rats and patients with essential hypertension. *J Hypertens*, 2005. 23: p. 1831-1837.
135. Schachinger V, Dimmeler S and Zeiher AM, [Stem cells after myocardial infarction]. *Herz*, 2006. 31: p. 127-136; quiz 142-123.
136. Petrie A and Sabin C, *Medical statistics at a glance*. 3rd ed. At a glance series. 2009, Chichester, UK ; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell. 180 p.
137. Gaballa MA and Goldman S, Ventricular remodeling in heart failure. *J Card Fail*, 2002. 8: p. S476-485.
138. Galiuto L, Garramone B, Scara A, et al., The extent of microvascular damage during myocardial contrast echocardiography is superior to other known indexes of post-infarct reperfusion in predicting left ventricular remodeling: results of the multicenter AMICI study. *J Am Coll Cardiol*, 2008. 51: p. 552-559.
139. Seth S, Narang R, Bhargava B, et al., Percutaneous intracoronary cellular cardiomyoplasty for nonischemic cardiomyopathy: clinical and histopathological results: the first-in-man ABCD (Autologous Bone Marrow Cells in Dilated Cardiomyopathy) trial. *J Am Coll Cardiol*, 2006. 48: p. 2350-2351.
140. Nagaya N, Kangawa K, Itoh T, et al., Transplantation of mesenchymal stem cells improves cardiac function in a rat model of dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 2005. 112: p. 1128-1135.
141. EMA/CPMP/EWP/1776/99 Rev. 1 - Guideline on missing data in confirmatory clinical trials. [cited 2011 04.02.2011]; Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/09/WC500096793.pdf.
142. Armitage P and Colton T, *Encyclopedia of biostatistics*. 1998, Chichester ; New York: J. Wiley.

7. Publikationen

Holinski S, Schmeck B, Claus B, Radtke H, Elgeti T, Holzhausen M, Konertz W, Encouraging experience with intracardiac transplantation of unselected autologous bone marrow cells concomitant with coronary artery bypass surgery after myocardial infarction. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, accepted, print in progress

8. Danksagung

Bedanken möchte ich mich im Folgenden gerne bei allen, deren Unterstützung und Begleitung zur Entstehung der vorliegenden Dissertation beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. med. W. Konertz, durch den ich erst die Möglichkeit bekam, die hier besprochene Thematik als Promotion zu bearbeiten und hierdurch wertvolle Erfahrungen zu sammeln.

Zudem danke Herrn OA Dr. Sebastian Holinski, der mir mit seinem fachkundigen Wissen, seinen zahlreichen Ratschlägen und seiner engagierten Betreuung eine wertvolle Hilfe war.

Des Weiteren danke ich Herrn Dr. med. Thomas Elgeti und Herrn PD. Dr. med. D. Kivelitz des Instituts für Radiologie für die engagierte und freundliche Heranführung an die radiologische Methodik. Die hierdurch gewonnenen Erfahrungen sowie die gute Kooperation weiß und wusste ich sehr zu schätzen.

Mein Dank gilt außerdem Herrn Orawa, Herrn Dr. phil. M. Holzhausen sowie Herrn Dr. rer. nat. E. Dietz des statistischen Instituts für die Kooperation und Anleitung bei der statistischen Auswertung meiner Daten.

Nicht zuletzt zu Dank verpflichtet bin ich Herrn Dr. med. H. Radtke für den unermüdlichen Einsatz und die Kooperation im Rahmen der Gewinnung der Knochenmarksstammzellen.

Erklärung

„Ich, Birte Schmeck, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Untersuchung zur Durchführbarkeit und Effektivität der autologen Knochenmarksstammzelltransplantation in Verbindung mit einer chirurgischen Koronarrevaskularisation von Myokardinfarktpatienten“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift