

**Aus der
Medizinischen Klinik und Poliklinik I
Klinikum Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität München**
Direktor: Prof. Dr. med. Gerhard Steinbeck

**G-CSF-Therapie zur adjuvanten Behandlung des verzögert
revaskularisierten Myokardinfarktes (STEMI)**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von
Christine Anna Maria Theiss

aus
Greiz

2008

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W.-M. Franz

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Wolfgang Siess
Priv. Doz. Dr. Florian Krötz

Betreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. M. G. Engelmann

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.2008

Meinem geliebten Mann Hans.

Inhaltsverzeichnis

<i>Inhaltsverzeichnis</i>	4
<i>Abkürzungsverzeichnis</i>	6
1. Zusammenfassung	9
2. Einleitung	11
2.1 Ischämische kardiovaskuläre Erkrankungen	11
2.2 Stammzell-Populationen	13
2.3 Wirkmechanismen der endogenen Stammzellmobilisation aus dem Knochenmark	17
2.4 Therapie mit adulten Knochenmarkstammzellen	21
2.4.1 Technische Applikationsmöglichkeiten	21
2.4.2 Katheter-basierte Stammzellapplikation	22
2.4.3 Stammzellmobilisation – Wirkmechanismen von G-CSF	25
2.5 G-CSF in der klinischen Routine	29
3. Fragestellung	31
4. Material und Methoden	32
4.1 Studiendesign	32
4.1.1 Studienprotokoll	32
4.1.2 Zeitlicher Ablauf der Studie	32
4.1.3 Einschlusskriterien	35
4.1.4 Ausschlusskriterien	35
Allgemein.....	35
4.1.5 Fallzahlschätzung	36
4.2 Endpunkte der Studie	36
4.2.1 Primäre Endpunkte	36
4.2.2 Sekundäre Endpunkte	37
4.3 Laboranalysen	37
4.4 Durchflusszytometrie	38
4.5 Elektrokardiogramm (EKG)	39
4.6 Kernspिनresonanztomographie (Magnetresonanz Tomographie, MRT)	39
4.6.1 Myokardiale Funktionsanalyse	40
4.6.2 Myokardperfusion	42
4.7 Koronarangiographie	45
4.7.1 Quantitative Koronarangiographie (QCA).....	45
4.8 Seattle Angina Questionnaire (SAQ)	46
4.9 Datenbank	48
4.10 Statistische Analysen	48
5. Ergebnisse	49
5.1 Studienkollektiv	49
5.2 Verlauf von Leukozytenzahl und Stammzellpopulationen im peripheren Blut	51
5.3 Verlauf von Entzündungsparametern und anderen Laborwerten	54
5.4 Myokardiale Funktions- und Perfusionsanalyse mittels MRT	56

5.4.1 Globale und regionale Myokardfunktion.....	56
5.4.2 Globale und regionale Myokardfunktion im Verlauf über 12 Wochen unter Berücksichtigung der 4-Wochenuntersuchung.....	63
5.4.3 Myokardperfusion	69
5.4.4 Subgruppenanalyse: frühe versus späte Gabe von G-CSF.....	72
5.5 Auswertung der Herzkatheteruntersuchung.....	74
5.5.1 QCA (Quantitative Koronarangiographie).....	74
5.6 Die Sicherheit der Gabe von G-CSF.....	77
5.7 Seattle Angina Questionnaire (SAQ).....	81
5.7.1 Ergebnisse des SAQ.....	81
6. Diskussion.....	88
6.1 Vergleich zu anderen Studien bezogen auf.....	89
6.1.1 Katheter-basierte Stammzellapplikation	89
6.1.2 G-CSF-Studien	89
6.1.3 Sicherheitsaspekte im Vergleich	92
6.2 Vergleich mit Tiermodellen.....	95
6.2.1 Kleintiermodell	95
6.2.2 Großtiermodell	96
6.3 Limitationen	97
6.4 Ausblick	98
7. Literatur.....	99
8. Lebenslauf	107
9. Danksagung.....	112

Abkürzungsverzeichnis

ACC	<i>American College of Cardiology</i>
ACE	<i>Angiotensin converting enzyme</i>
AE	<i>Adverse event, unerwünschte Nebenwirkung</i>
AHA	<i>American Heart Association</i>
ASTAMI	<i>Autologous stem cell transplantation in acute myocardial infarction</i> (Lunde, Solheim et al. 2005; Lunde, Solheim et al. 2006)
BM	<i>Bone marrow, Knochenmark</i>
BMSC	Knochenmarkstammzellen
BOOST	<i>Bone marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration trial</i> (Wollert, Meyer et al. 2004; Meyer, Wollert et al. 2006)
BR	Binäre Restenoserate
CABG	<i>Coronary artery bypass graft, Bypass der Koronararterien</i>
CD	<i>Cluster of differentiation, Differenzierungsmarker an Zelloberflächen</i>
CMC	Kardiomyozyten
CRP	C-reaktives Protein
CXCR4	Chemokin-Rezeptor 4
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
EC	Endothelzellen
EF	<i>Ejectionfraction, Auswurffraktion</i>
EKG	Elektrokardiogramm
EPC	Endotheliale Progenitorzellen
ES	Embryonale Stammzellen
FACS	<i>Fluorescence activated cell sorting, Durchflusszytometrie</i>
FGF	<i>Fibroblast growth factor</i>
FIRSTLINE-AMI	<i>Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction</i> (Ince, Petzsch et al. 2005; Ince, Petzsch et al. 2005)
FISP	<i>Fast imaging with steady precession</i>
FLASH	<i>Fast low angle shot</i>
G-CSF	<i>Granulocyte-colony stimulating factor</i>
G-CSFR	<i>Granulocyte-colony stimulating factor</i> Rezeptor
GFP	Grün fluoreszierendes Protein
GM-CSF	<i>Granulocyte-makrophage-colony stimulating factor</i>
GPIIb/IIIa	Glykoprotein IIb/IIIa
HSC	Hämatopoietische Stammzellen
ICAM	<i>Intercellular adhesion molecule, Interzelluläres Adhäsionsmolekül</i>
IGF-1	<i>Insulin-like growth factor</i>
IL	Interleukin

ISR	<i>In Stent-Restenose</i>
KHK	Koronare Herzkrankheit
KM	Knochenmark
LAD	<i>Left anterior descending artery</i> , Ramus interventricularis anterior
LDL	Low density protein
LV	Linker Ventrikel, linksventrikulär
LVEDD	Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
LVESD	Linksventrikuläres endsystolisches Volumen
MACE	Major cardiac event, bedeutendes kardiales Ereignis
MAGIC Cell	Myocardial Regeneration and Angiogenesis in Myocardial Infarction with G-CSF and Intra-Coronary Stem Cell Infusion (Kang, Kim et al. 2004)
MAPC	Multipotente adulte Progenitorzelle
MI	Myokardinfarkt
MLD	Minimaler luminaler Durchmesser
MPRI	Myokardialer Perfusionsreserveindex
MRT	Magnetresonanztomographie
MSC	Mesenchymale Stammzellen
OAT	<i>Coronary intervention for persistent occlusion after myocardial infarction</i> (Hochman, Lamas et al. 2006)
Oct-4	Octamer-4
PBSC	Periphere Blutstammzellen
PCI	<i>percutaneous coronary intervention</i> , perkutane Koronarintervention
PTCA	Perkutane transluminale Koronarangioplastie
QCA	Quantitative Koronarangiographie
RD	Referenzdurchmesser
REPAIR-AMI	<i>Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction</i> (Schachinger, Erbs et al. 2006)
SAQ	<i>Seattle Angina Questionnaire</i>
SCF	<i>Stem cell factor</i> , Stammzell-Faktor
SCID	<i>Severe combined immunodeficiency</i>
SD	<i>Standard deviation</i> , Standardabweichung
SDF-1	<i>Stromal cell-derived factor-1</i>
SP	<i>Side population</i>
SSEA	Stage-specific embryonic antigen
STEMI	<i>ST elevation myocardial infarction</i> , ST-Hebungsinfarkt
STEMMI	<i>Stem cells in myocardial infarction</i> (Ripa, Jorgensen et al. 2006)
TIMI	<i>Thrombolysis in myocardial infarction</i> , Klassifikationsschema
TLR	<i>Target lesion revascularization</i> , Revaskularisierung von In Stent-Restenose
TNF	Tumornekrosefaktor

Topcare-AMI	<i>Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction</i> (Assmus, Schachinger et al. 2002; Britten, Abolmaali et al. 2003; Schachinger, Assmus et al. 2004)
TOSCA	<i>Total occlusion study of Canada</i> (Dzavik, Buller et al. 2006)
TTE	Transthorakale Echokardiographie
USSC	Umbilikale somatische Stammzellen
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>

1. Zusammenfassung

Die Prognose der chronisch ischämischen Herzinsuffizienz ist trotz optimaler medikamentöser Therapie außerordentlich ungünstig. Hinsichtlich dieser unbefriedigenden Situation erscheint die Entwicklung alternativer Behandlungsverfahren dringend geboten.

Unsere Studie vergleicht mittels einer prospektiv randomisierten, doppelblinden und Placebo-kontrollierten Phase II-Studie den Effekt und die Sicherheit einer durch *Granulocyte-Colony Stimulating Factor* (G-CSF) induzierten Stammzellmobilisierung bei Patienten, die nach akutem myokardialen ST-Hebungsinfarkt (STEMI) verzögert revaskularisiert wurden.

44 Patienten wurden entweder mit G-CSF (10 µg/kg/d s.c., n=23) oder Placebo (n=21) über 5 Tage nach erfolgreicher PCI des Infarktgefäßes behandelt. Klinische Sicherheitsparameter wurden bis zu 24 Monate verfolgt und das Ausmaß der mobilisierten Stammzellpopulationen mittels Durchflusszytometrie charakterisiert. Das Auftreten von In-Stent-Restenosen wurde per Koronarangiographie im Verlauf untersucht. Die globale und regionale myokardiale Funktion sowie Perfusion wurden im MRT analysiert.

G-CSF war klinisch insgesamt gut verträglich ohne Nachweis einer erhöhten Rate von In-Stent-Restenosen (G-CSF: 21%, Placebo: 29%) Das Ereignis-freie Überleben (Tod, Myokardinfarkt und Revaskularisation) lag bei 78,3% (G-CSF) vs. 71,4% (Placebo). G-CSF führte zu einer signifikanten Mobilisation von überwiegend endothelialen Vorläuferzellpopulationen (CD34⁺/CD31⁺, CD34⁺/CD133⁺). Die globale Myokardfunktion verbesserte sich über 3 Monate in beiden Gruppen ($\Delta_{\text{Ejektionsfraktion}}$ +6.2±9.0 vs. +5.3±9.8%, p=0.770) und lag nach 12 Monaten bei 45,7±15,1% (G-CSF) vs. 42,9±15,4% (Placebo). Die Myokardperfusion im Infarktgebiet war im kurzfristigen Verlauf nach G-CSF-Behandlung signifikant besser als in der Placebo-Gruppe.

Die Behandlung mit G-CSF nach interventioneller Revaskularisierung bei akutem STEMI ist machbar und sicher. Die Patienten profitieren vor allem hinsichtlich der myokardialen Perfusion im Infarktgebiet, während die globale Ejektionsfraktion nicht

signifikant beeinflusst wird. Daher sollten zukünftige Studien auf eine Kombination aus Stammzellmobilisation und eine Verbesserung der kardialen Homingkapazität abzielen.

2. Einleitung

2.1 Ischämische kardiovaskuläre Erkrankungen

Ischämische kardiovaskuläre Erkrankungen stellen die häufigste Todesursache in westlichen Ländern dar. Im Jahr 2004 bildeten Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei Männern mit 33% (25 – 74 Jahre) bis 61% (≥ 90 Jahre) und bei Frauen mit 28% bzw. 66% aller Todesfälle die Hauptgruppe der Todesursachen in Deutschland. (Lowel and Meisinger 2006) Als Folge der invasiven Katheter-basierenden Therapie des Myokardinfarktes konnte in beiden Geschlechtern von 1985 bis 2004 die kardiovaskuläre Mortalität gesenkt werden: Bei Männern um 52% bzw. 16% und bei Frauen um 56% bzw. 23%. Parallel dazu reduzierte sich die Rate der innerhalb von 24 h Verstorbenen um 30% bei den Männern und 44% bei den Frauen. Die Verbesserung der Überlebensrate beim akuten Herzinfarkt führt zu einer wachsenden Bedeutung der Sekundärprävention und der Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. (Lowel and Meisinger 2006)

Die ischämischen Gefäßerkrankungen sind progressive Erkrankungen mit einem breiten Spektrum von klinischen Manifestationen, das von der asymptomatischen Atherosklerose und stabilen Angina pectoris bis zu den Koronarsyndromen wie instabile Angina pectoris und Myokardinfarkt reicht. Die Myokardischämie beruht auf einem Ungleichgewicht zwischen Sauerstoffversorgung und Sauerstoffbedarf. Das Leitsymptom ist der Brustschmerz. Die koronare Herzerkrankung ist ein chronisch inflammatorischer Prozess bei Endothelläsionen, subendothelialer Inflammation und Lipidakkumulation. Hierbei kommt es im Verlauf zur Bildung von atherosklerotischen Plaques mit Stenosierung des Koronarlumens. Eine Plaqueruptur kann durch Thrombusbildung zu instabiler Angina pectoris und Myokardinfarkt führen.

Die primäre interventionelle Wiedereröffnung des Infarktgefäßes durch perkutane Koronarintervention (PCI) ist neben der Thrombolyse die Behandlung der Wahl beim akuten Myokardinfarkt. (Lange and Hillis 2002) Auch heute gelangen viele Patienten erst verspätet in die klinische Behandlung. Die späte koronare Revaskularisation in das Infarktgefäß ist

sicher (Hsieh, Chang et al. 1998), es ist jedoch unklar, inwieweit die Patienten von einer späten Reperfusionstherapie tatsächlich profitieren. Sowohl in der kürzlich publizierten OAT-Studie (*Coronary intervention for persistent occlusion after myocardial infarction*) (Hochman, Lamas et al. 2006) als auch in der TOSCA-Studie (*total occlusion study of Canada*) (Dzavik, Buller et al. 2006) ergab sich nach verspäteter Revaskularisation (Intervention mehr als drei Tage nach Schmerzbeginn) hinsichtlich Tod, Reinfarkt oder Herzinsuffizienz kein Vorteil für eine invasive Revaskularisierungsstrategie. Im Gegenteil, die OAT-Studie zeigte einen Trend zu einem deutlich gesteigerten Reinfarkt-Risiko in der PTCA-Gruppe.

Die myokardiale Pumpfunktion ist bei spät revaskularisierten Infarkten deutlich reduziert. Die verspätete koronare Reperfusion ist häufig mit einem ausgeprägten linksventrikulären *Remodeling* assoziiert, welches häufig zu plötzlichem Herztod oder einer progressiven Herzinsuffizienz führt. (Moss, Zareba et al. 2002) Das *Remodeling* kann mit einem Herzwandaneurysma durch die nekrosebedingte Myokardschwäche einhergehen, klinisch sichtbar durch Wandbewegungsstörungen des Herzmuskels. Diese Asynchronisationen des linken Ventrikels sind gleichzeitig eine weitere wichtige Ursache einer sich allmählich verstärkenden Linksherzinsuffizienz.

Die Prognose der chronischen Herzinsuffizienz ist trotz optimaler medikamentöser Therapie außerordentlich ungünstig. Wie aus kumulativen Überlebenskurven von Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz (NYHA IV) hervorgeht, leben nach einem Jahr noch 35%, nach drei Jahren lediglich 18% der Patienten. An erster Stelle der Todesursachen steht mit ca. 40% der plötzliche Herztod vor dem myokardialen Pumpversagen mit ca. 30%. Soweit Alter, Begleiterkrankungen und psychische Verfassung des Patienten es erlauben, kommt im Endstadium einer chronischen Herzinsuffizienz grundsätzlich eine Herztransplantation in Betracht. Trotz der inzwischen günstigen 1-Jahres-Überlebensrate von über 85% bleibt diese Option aufgrund der geringen Zahl von Organspenden nur einer sehr kleinen Gruppe von Patienten vorbehalten; in Deutschland sind dies 300 bis 400 Patienten pro Jahr.

Hinsichtlich dieser unbefriedigenden Situation erscheint die Entwicklung alternativer Behandlungsverfahren beim akuten Myokardinfarkt dringend geboten. Innovative Behandlungsstrategien mittels Stammzellen, wie die Induktion einer gesteigerten

Neoangiogenese und/oder Geweberegeneration zur Verbesserung der myokardialen Funktion, erscheinen vielversprechend.

2.2 Stammzell-Populationen

Adulte bzw. somatische Stammzellen sind teilungsfähige Zellen, die in bislang 20 Organen des Körpers, beispielsweise im Knochenmark, im Blut und im Gehirn, nachgewiesen wurden und dort lebenslänglich vorhanden sind. Sie können sich in verschiedenste Zelltypen differenzieren (Pluripotenz). Auch das Nabelschnurblut von Neugeborenen enthält adulte Stammzellen. Somatische Stammzellen haben nach dem gegenwärtigen Forschungsstand im Vergleich zu fetalen und embryonalen Stammzellen ein geringeres Entwicklungspotential (s. Abb. 1). Im Gegensatz zu embryonalen Stammzellen ist ihre Teilbarkeit limitiert und ihre Lebensdauer somit begrenzt. Ihr wesentlicher Vorteil liegt darin, dass sie dem Patienten autolog entnommen werden können und somit keine immunologischen Einschränkungen durch spätere Abstoßungsreaktionen bestehen. Zudem treten bei der Gewinnung von adulten Stammzellen keine ethischen Probleme auf.

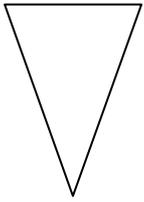
Entwicklungspotential	Entwicklungsstadium
Totipotent	Blastomere bis zum 8-Zellstadium
Pluripotent 	Embryonale Stammzellen (ES, EC, EG)
	Fetale Stammzellen
	Adulte Stammzellen (HSC, NSC, MSC, ...)

Abb. 1: Entwicklungspotential von Stammzellen abhängig von ihrem Entwicklungsstadium.

ES = embryonale Stammzellen, EC = embryonale Teratokarzinom-Stammzellen, EG = primordiale Stammzellen, HSC = hämatopoietische Stammzellen, NSC = neurale Stammzellen, MSC = mesenchymale Stammzellen.

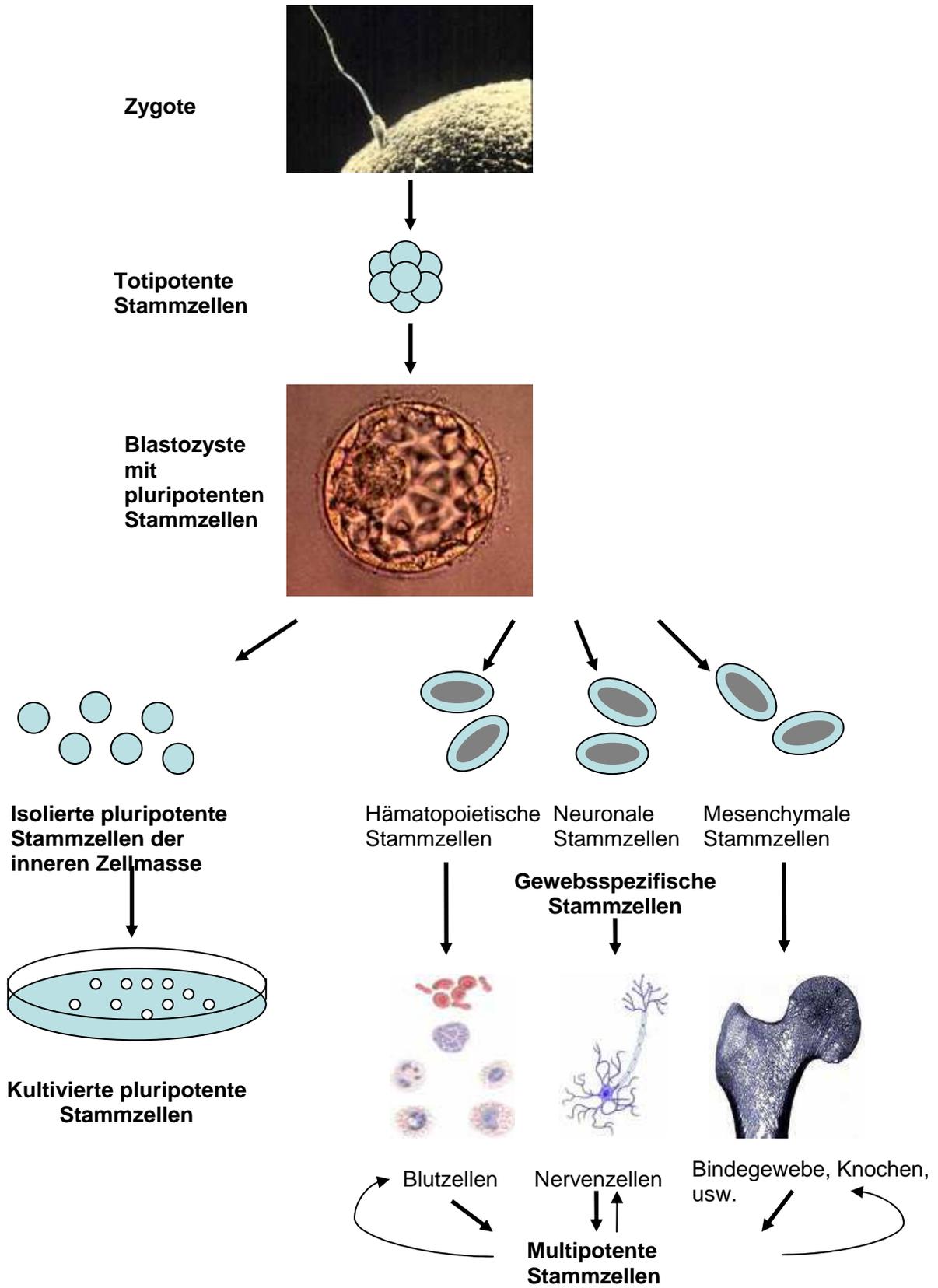


Abb. 2: Gewinnung und Entwicklung von embryonalen und adulten Stammzellen

Die Hauptquelle somatischer Stammzellen ist das Knochenmark, das verschiedene Subpopulationen von Progenitorzellen aufweist (s. Abb. 2). Eine Progenitorzelle ("Vorläuferzelle") ist der Abkömmling einer adulten Stammzelle oder wurde aus fetalem Gewebe isoliert. Sie weist einerseits hinsichtlich ihrer Regenerationsfähigkeit Stammzeleigenschaften auf, ist aber andererseits auf die Entwicklung bestimmter Zelltypen festgelegt - allerdings ist diese "Festlegung" noch umkehrbar. Progenitorzellen werden daher gelegentlich auch als determinierte Stammzellen bezeichnet. Zu den erwähnten Subpopulationen gehören hämatopoietische Stammzellen (HSC), Zellen der „*side population*“ (SP), (Goodell, Rosenzweig et al. 1997) mesenchymale Stammzellen (MSC) (Pittenger and Martin 2004) sowie multipotente adulte Progenitorzellen (MAPC), eine Subpopulation der MSC (s. Abb. 1). (Jiang, Vaessen et al. 2002) Endotheliale Progenitorzellen (EPC) können aus mononukleären Zellen des peripheren Blutes kultiviert werden. (Badorff, Brandes et al. 2003) Eine weitere Quelle für Stammzellen ist Fettgewebe, aus dem *Adipose tissue-derived stromal cells* kultiviert werden können. (Nakagami, Maeda et al. 2005; Moon, Kim et al. 2006; Nakagami, Morishita et al. 2006) Somatische Stammzellen können auch aus menschlichem Nabelschnurblut gewonnen werden. Diese humanen umbilikalen Stammzellen (USSCs) besitzen ein großes Differenzierungspotential in myogene Zellen und können Angiogenese induzieren. (Kim, Tian et al. 2005)

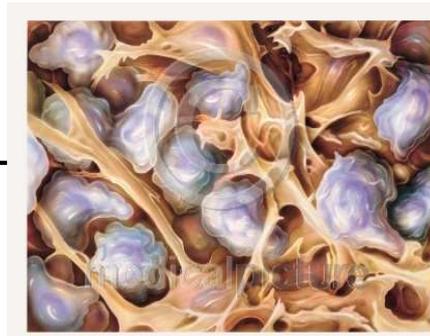
Zudem sind residente kardiale Stammzellen in Nischen lokalisiert und sind möglicherweise in der Lage, in Kardiomyozyten zu differenzieren und die Regeneration von myokardialem Gewebe zu erleichtern. Allerdings ist ihre Zahl nicht ausreichend, um eine vollständige myokardiale Regeneration nach Myokardinfarkt zu bewirken. (Beltrami, Barlucchi et al. 2003; Messina, De Angelis et al. 2004)

Nabelschnurblut



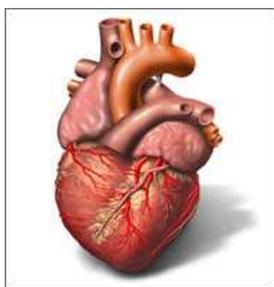
USSC
 CD44+
 CD90+
 CD105+
 CD34-
 CD45-
 c-kit-

Knochenmark



Kardiale Stammzellen

Hohe Telomeraseaktivität
 c-kit+/-
 Sca-1 similar+
 MDR1+
 KDR1+
 Isl1+



Herz

Mesenchymale Stammzellen

CD44+
 CD90+
 CD105+
 Stro-1+
 CD34-
 CD45-
 CD133-

MAPC

CD34-
 Flk-1+
 VE-Cadherin-
 CD133+

„Side population“ Zellen

Efflux von Hoechst
 Farbe 33342 via
 ABCG2

EPC

CD133+/-
 CD34+/-
 VEGFR2+
 CD31+
 vWF-/+
 VE-Cadherin-/+
 E-Selectin-/+
 eNOS-/+

KM Hämangioblast

c-kit+
 VEGFR2+

KM Angioblast

CD133+
 CD34+
 VEGFR2+

EPC
 CD34-
 CD14+

Abb. 3: Ursprung verschiedener Stammzell-Populationen

Bestimmte Stammzell-Populationen können aus verschiedenen Quellen wie dem Knochenmark und dem Nabelschnurblut freigesetzt werden oder sind resident im Herzen vorhanden. Progenitorzellen können über ihre Oberflächenmarker differenziert und gereinigt werden. USSC: umbilikale somatische Stammzellen, MAPC: multipotente adulte Progenitorzellen, KM: Knochenmark, EPC: endotheliale Progenitorzellen.

Zelltyp	Quelle	Charakteristika/Phänotyp	Referenz
Hämatopoietische Stammzellen (HSC)	Knochenmark	CD34 ⁺ , CD 45 ⁺ , CD133 ⁺ , c-kit ⁺ Lin ⁻	
Zellen der „Side population“ (SP)	Knochenmark	Ausstrom von Hoechst 33342-Farbe über den Transportkanal ABCG2	(Jackson, Majka et al. 2001)
Mesenchymale Stammzellen (MSC)	Knochenmark	Fibronectinadhärenz, nicht- hämatopoietische KM-Stromazellen CD44 ⁺ , CD90 ⁺ , CD105 ⁺ , Stro-1 ⁺ CD34 ⁻ , CD45 ⁻ , CD133 ⁻	(Pittenger and Martin 2004)
Multipotente adult Progenitorzellen (MAPC)	Knochenmark	Subtyp von MSC Differenzieren in Zellen aller 3 embryonalen Keimblätter CD45 ⁻ , Glykophorin A ⁻	(Jiang, Vaessen et al. 2002)
“Very small embryonic-like stem cells” (VSEL-SC)	Knochenmark	Expression von SSEA, Oct-4 und Nanog. CXCR-4 ⁺ , lin ⁻ , CD45 ⁻	
Umbilikale somatische Stammzellen (USSC)	Nabelschnurblut	Subtyp von MSC Differenzieren in Zellen aller 3 embryonalen Keimblätter CD 44 ⁺ ; CD90 ⁺ ; CD105 ⁺ CD34 ⁻ ; CD45 ⁻ ; c-kit ⁻	(Kogler, Sensken et al. 2004)
Endotheliale Progenitorzellen (EPC)	Peripheres Blut	Isolation aus mononukleären Zellen <i>ex vivo</i> Kultivierung CD31 ⁺ ; CD34 ⁺ ; CD133 ⁺ , CD105 ⁺ ; KDR ⁺ , Tie-2 ⁺ ; CD45 ⁻	(Asahara, Murohara et al. 1997; Shi, Rafii et al. 1998)
Residente kardiale Stammzellen (Kardioblasten, CSC; “cardiospheres“)	Herz	Isolation aus Myokardbiopsien <i>ex vivo</i> Kultivierung keine hämatopoietischen Marker hohe Telomeraseaktivität aus adultem Herzen: c-kit ^{+/+} , Sca-1 similar epitopes ⁺ , MDR1 ⁺ , KDR1 ⁺ aus neonatalem Herzen: Isl-1 ⁺	(Beltrami, Barlucchi et al. 2003; Oh, Bradfute et al. 2003; Messina, De Angelis et al. 2004; Laugwitz, Moretti et al. 2005)
Skelettmuoblasten	Skelettmuskel	Isolation aus Skelettmuskelbiopsien <i>ex vivo</i> Kultivierung CD56 ⁺	(Menasche 2005)

Tab. 1: Verschiedene Stammzellsubgruppen und ihre Charakterisierung

2.3 Wirkmechanismen der endogenen Stammzellmobilisation aus dem Knochenmark

Eine physiologische Stammzellmobilisation aus dem Knochenmark ins periphere Blut findet beispielsweise in Stresssituationen statt, das Ausmaß hängt von Alter, Geschlecht, sowie von der körperlichen Aktivität ab. Eine iatrogen vermehrte Stammzellausschüttung

findet man nach einer therapeutischen Gabe von Statinen, Erythropoietin und natürlich nach direkter Verabreichung von Stammzellen.

Nach einem akuten Myokardinfarkt findet eine endogene Mobilisierung statt: VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), SDF-1 (*Stromal Cell Derived Factor*) und andere Zytokine zirkulieren vermehrt im peripheren Blut. (Shintani, Murohara et al. 2001) Sie können das Knochenmark stimulieren und somit eine Freisetzung verschiedener Stammzellpopulationen wie der endothelialen Progenitor-Zellen (EPC) (Asahara, Murohara et al. 1997) oder Zellen der so genannten *Side-Population* (Jackson, Majka et al. 2001) führen (s. Abb. 3).

Die Progenitorzellen zirkulieren zum ischämischen Myokard: Dort werden vermehrt sog. „*Homing-Faktoren*“ wie SDF-1 und SCF (*Stem cell Factor*) exprimiert. (Askari, Unzek et al. 2003; Franz, Zaruba et al. 2003) „*Homing*“ bedeutet, dass die myokardialen Faktoren mit korrespondierenden Rezeptoren auf den Stammzellen interagieren (z.B. SDF-1-CXCR-4 und SCF-CD117) und die Aufnahme ins Myokard bewirken. Die inkorporierten Stammzellen können mutmaßlich zu einer Verbesserung der kardialen Pumpfunktion beitragen. (Kocher, Schuster et al. 2001) Die zugrunde liegenden Mechanismen sind allerdings noch nicht endgültig geklärt

Transplantierte Knochenmarkszellen können möglicherweise in Herzmuskelzellen differenzieren und erlauben eine Regeneration funktionellen Myokards in Infarktarealen innerhalb von 9 Tagen. (Orlic, Kajstura et al. 2001) Adulte periphere CD34+-Zellen aus dem peripheren Blut können in Kardiomyozyten, reife Endothelzellen und glatte Muskelzellen in vivo differenzieren. Diese Transdifferenzierung wurde in einem SCID-Mausinfarktmodell gezeigt. (Yeh, Zhang et al. 2003) Transplantierte EPCs aus humanem Knochenmark steigerten dosisabhängig die Neovaskularisation mit der Entwicklung von größeren Kapillaren in der Infarkttrandzone gekoppelt mit einer verbesserten Myokardfunktion. (Schuster, Kocher et al. 2004)

Die Hypothese der „Transdifferenzierung“ von Stammzellen in Kardiomyozyten wurde durch mehrere neuere Arbeiten in Frage gestellt. Die direkte Applikation von GFP-markierten hämatopoietischen Stammzellen führte weder in normalen noch in infarzierten Mäuserzen

zu einer Expression von Markern eines kardiomyozytären Phänotyps. Interessanterweise kam es zu einer Verbesserung der myokardialen Funktion nach Zelltherapie ohne nachweisbarer Myo- und Angiogenese in den transplantierten Zellen. (Balsam, Wagers et al. 2004; Murry, Soonpaa et al. 2004) Als Mechanismen einer kardialen Regeneration könnten die Abschwächung des linksventrikulären Remodelings oder einer Verminderung der Apoptose in Frage kommen. Therapeutisch verabreichte oder mobilisierte Progenitorzellen werden heute eher als „Regeneratorzellen“ angesehen, die über Myogenese, Angiogenese und Beeinflussung des Remodelings auf das Myokard des Empfängers wirken. (Engelmann and Franz 2006)

Heute wird angenommen, dass parakrine Effekte der Stammzellen am wahrscheinlichsten für regenerative Mechanismen verantwortlich sind. Diese Effekte resultieren aus Zell-Zell-Kommunikationen, die durch Zytokine und Wachstumsfaktoren, welche von benachbart liegenden Zellen freigesetzt werden, vermittelt werden (s. Abb. 4). Autologe CD34+ Zellen aus dem Knochenmark verbesserten den regionalen Blutfluss und die kardiale Funktion bei Affen über eine Steigerung der regionalen Konzentration von VEGF, wenn sie in die Perinfarktzone appliziert wurden. (Yoshioka, Ageyama et al. 2005) Andere angiogene Proteine, wie FGF (fibroblast growth factor) oder SDF-1, erhöhten die Kapillardichte um 40%, wenn sie gleichzeitig mit einer MSC basierten Zelltherapie eingesetzt wurden. (Tang, Tang et al. 2005) Knochenmarksstammzellen sezernieren Zytokine wie VEGF, basic FGF, IGF-1 (insuline like growth factor) und SDF-1 unter ischämischen Bedingungen, diese sollen eine Apoptose von Kardiomyozyten im (Peri)Infarktareal vorbeugen. Die Präkonditionierung von BMSCs verbessert ihr Überleben und ihre Fähigkeit, das *LV-Remodeling* abzumildern. (Uemura, Xu et al. 2006) Die Injektion von Akt1-MSC konditioniertem Medium begrenzte deutlich die Infarktgröße in Ratten nach LAD-Okklusion und verminderte das Ausmaß der Apoptose von Kardiomyozyten. (Gnecchi, He et al. 2005)

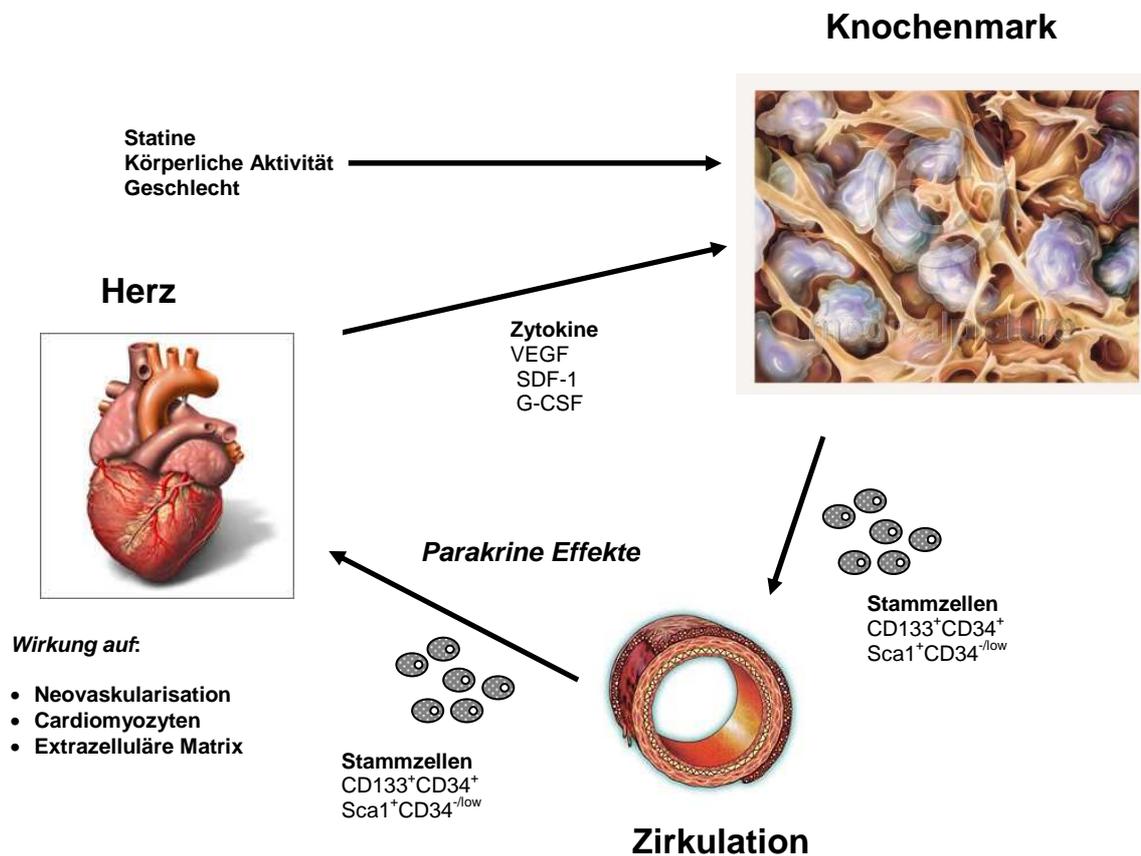


Abb. 4: Mechanismen der Stammzell-vermittelten myokardialen Regeneration.

Therapeutisch verabreichte oder mobilisierte Stammzellen verstärken die myokardiale Neovaskularisation und die Funktion der Kardiomyozyten, zudem schwächen sie das kardiale Remodelling über Effekte auf die extrazelluläre Matrix ab. VEGF: vascular endothelial growth factor, SDF-1: stromal cell-derived factor, G-CSF: granulocyte-colony stimulating factor, CD: cluster of differentiation.

Es ist unklar, ob die günstigen Effekte einer Stammzelltherapie auf die myokardiale Funktion anhaltend sind. Dai et al. injizierten MSCs direkt in die myokardiale Narbe von Ratten. Die LV-Funktion der MSC-behandelten Tiere verbesserte sich 4 Wochen nach der Zelltransplantation; nach 6 Monaten war der Effekt jedoch nicht mehr nachweisbar. Die anfängliche Verbesserung der LV-Funktion lag nicht an einer Differenzierung zu Kardiomyozyten und einem dadurch messbaren Ersatz für das Narbengewebe. Unerwartet war auch, dass die transplantierten MSCs nach 6 Monaten zwar muskelspezifische Marker exprimierten, die LV-Funktion dennoch vergleichbar mit Tieren der Kontrollgruppe war. Diese Befunde implizieren, dass vor allem parakrine oder humorale Faktoren zu der frühen vorübergehenden Erholung der Herzfunktion beigetragen haben. (Dai, Hale et al. 2005)

2.4 Therapie mit adulten Knochenmarkstammzellen

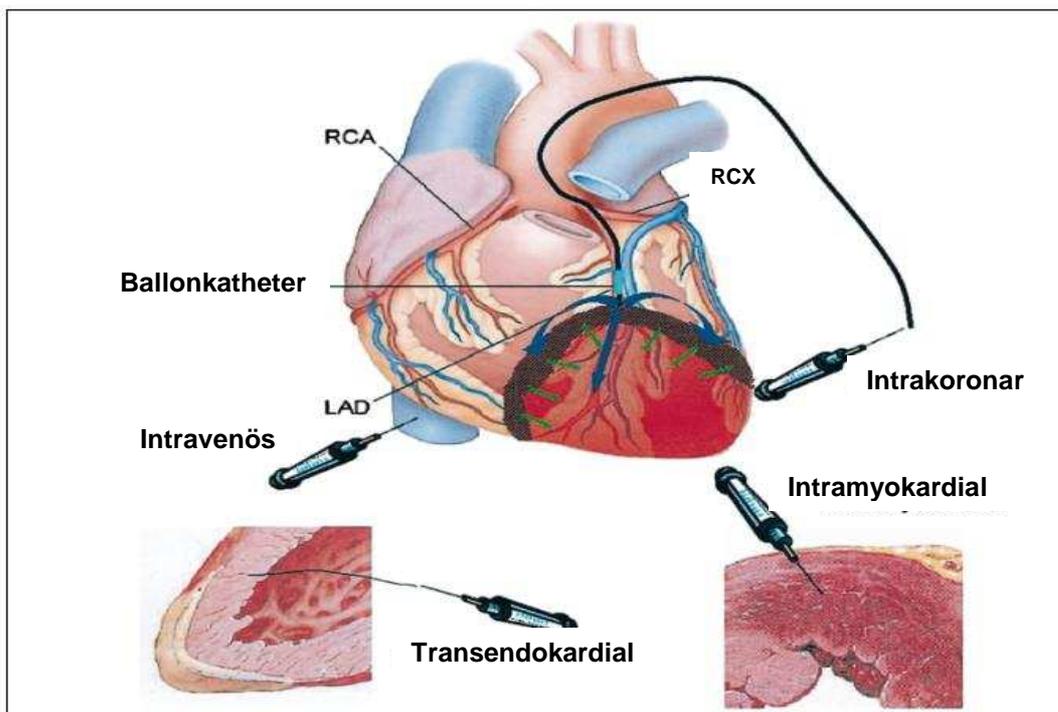
2.4.1 Technische Applikationsmöglichkeiten

In einigen ersten Studien wurde die Therapie mit autologen, adulten Stammzellen bei ischämischen Myokarderkrankungen untersucht: Menasche et al. gewannen skelettale Myoblasten aus dem Musculus vastus lateralis und transplantierten diese bei ischämischer Kardiomyopathie im Rahmen einer Bypassoperation in die myokardiale Infarktnarbe. (Menasche, Hagege et al. 2003) Dabei traten bei den Empfängern eine erhöhte Rate an ventrikulären Tachykardien und Kammerflimmern auf, die die Implantation eines ICD-Gerätes (= implantierbarer Cardioverter/Defibrillator) notwendig machten. (Menasche, Hagege et al. 2003)

In Parallelstudien gewannen andere Arbeitsgruppen nach akuten Myokardinfarkt autologe Stammzellen durch Knochenmarkspunktion oder Apherese aus dem peripheren Patientenblut. (Assmus, Schachinger et al. 2002; Wollert, Meyer et al. 2004) Nach mehrtägiger Kultivierung *in vitro* wurden die Stammzellen *in toto* oder eine entsprechend selektionierte Subpopulation intrakoronar oder transendokardial über Herzkatheter verabreicht. Endoluminale Applikationstechniken umfassen das elektroanatomische Mappingsystem (NOGA), das die Identifizierung von Narbengewebe und die Zellgabe in die Infarkttrandzone mittels steuerbarer Katheterspitze erlaubt. (Chazaud, Hittinger et al. 2003; Smits, van Geuns et al. 2003) Die intrakoronare Applikation von Stammzellen wird üblicherweise mittels eines *over-the-wire* Ballonkatheters durchgeführt, wobei multiple Zellgaben durchgeführt und durch Inflation des Ballons das beschleunigte Auswaschen von Zellen durch den Blutstrom verhindert werden (s. Abb. 5). (Wollert, Meyer et al. 2004) Nachteile dieser Technik sind vor allem die niedrige Zahl injizierter Zellen und die sehr kurze örtliche Verweildauer der Zellen. Kinetische Untersuchungen zeigten, dass die meisten intrakoronar verabreichten Zellen bereits nach 2 Stunden eliminiert sind. (Templin, Kotlarz et al. 2006) In einem porcinen Modell, bei dem Stammzellen mit Eisen markiert wurden und mittels Kernspintomographie visualisiert werden konnten, waren Stammzellen bereits 3

Wochen nach intrakoronarer Gabe nicht mehr nachweisbar. (Kraitchman, Heldman et al. 2003)

Als weiterer Ansatz wurden Progenitorzellen intramyokardial injiziert (s. Abb. 5). Die direkte Verabreichung von Zellen am offenen Herzen bietet den Vorteil der makroskopischen Identifikation von geschädigtem oder Narbengewebe und erlaubt die Applikation von einer hohen Anzahl von Zellen in die Infarkttrandzone. (Strauer, Brehm et al. 2002; Stamm, Kleine et al. 2004)



nach Strauer et al. (Strauer, Brehm et al. 2002)

Abb. 5: Invasive bzw. operative Stammzellapplikation

2.4.2 Katheter-basierte Stammzellapplikation

In ersten humanen klinischen Studien wurde das regenerative Potential von autologen Knochenmarkszellen nach katheter-basierten Stammzellapplikation nach Myokardinfarkt untersucht. Die direkte Applikation von Stammzellen in das Infarktgefäß stellte sich dabei als machbar und sicher heraus. (Strauer, Brehm et al. 2002; Schachinger, Assmus et al. 2004; Wollert, Meyer et al. 2004) In mehreren Untersuchungen wurde eine Verbesserung der regionalen und globalen linksventrikulären Funktion nach der direkten Stammzellgabe gezeigt. Strauer et al. wiesen 2002 eine Erhöhung der Ejektionsfraktion von

57±8% auf 62±10% nach der Zellapplikation mittels Ballonkatheter nach; allerdings zeigte die Kontrollgruppe eine vergleichbare Verbesserung von 60±7% auf 64±7% (p=NS). Bei der myokardialen Perfusion fanden die Autoren eine signifikante Verbesserung (funktioneller Defekt: 13±7% nach Zelltherapie vs. 20±11% in Kontrolle, p=0.04). Allerdings war bei dieser Studie die Kontrollgruppe weder prospektiv randomisiert noch fand eine Placebo-Behandlung statt.

In der BOOST-Studie wurden in einem ähnlichen Studienaufbau insgesamt 60 Patienten nach akuter Wiedereröffnung des Infarktgefäßes mittels PCI auf eine Zelltherapiegruppe (n=30) oder eine Nicht-Placebo-Kontrollgruppe mit konservativer Postinfarktbehandlung prospektiv randomisiert. (Wollert, Meyer et al. 2004) Im Verlauf über 6 Monate konnte in der Zelltherapiegruppe eine Verbesserung der globalen Myokardfunktion von +6.7% gegenüber +0.7% in der Kontrollgruppe beobachtet werden (p=0.0026). Die Relevanz dieses Ergebnisses muss kritisch betrachtet werden, da die Autoren in einer Langzeitkontrolle nach 18 Monaten diesen vormals signifikanten Effekt nicht mehr nachweisen konnten. Während sich die Kontrollgruppe deutlich von 0.7% auf 3.1% verbessert hatte, verschlechterte sich die Stammzelltherapiegruppe von ehemals 6.7% auf 5.9% nach 18 Monaten (p=0.27). (Meyer, Wollert et al. 2006)

Eine prospektiv Placebo-kontrollierte Studie aus Belgien mit 67 Patienten zeigte eine geringgradige Verbesserung der globalen Myokardfunktion in beiden Therapiestrata und eine geringe - aber signifikante - Reduktion des Infarktareals in der Verumgruppe. Der mittels Positronenemissionstomographie (PET) gemessene myokardiale Stoffwechsel war ebenfalls in beiden Gruppen unverändert. (Janssens, Dubois et al. 2006) 2006 erfolgte die erste multizentrische Placebo-kontrollierte Studie (REPAIR-AMI), in der die intrakoronare Gabe von Knochenmarkszellen gegen die intrakoronare Gabe von Zellkulturmedium analysiert wurde. Sie ergab bei 204 untersuchten Patienten einen Vorteil der Stammzellbehandlung (Δ_{EF} +5.5% (BMSC) vs. +3% (Placebo), p<0.05), der umso größer war, je später die Stammzellbehandlung nach Infarkt erfolgte und je ausgedehnter die myokardiale Schädigung war. (Schachinger, Erbs et al. 2006) Die jüngst vorgestellte ASTAMI-Studie aus

Norwegen konnte wiederum keinen Unterschied hinsichtlich der myokardialen Funktionsverbesserung zwischen direkter intrakoronarer Gabe von Knochenmarkszellen und Standardtherapie nach Herzinfarkt in den durchgeführten bildgebenden Verfahren (Echokardiographie, Ventrikulographie, Kernspintomographie) nachweisen. (Lunde, Solheim et al. 2005; Lunde, Solheim et al. 2006) Hierbei wurde allerdings die Zellsuspension über Nacht in Kochsalzlösung inkubiert, was zu einer Abnahme der Zellzahl im Vergleich zur REPAIR-AMI-Studie geführt haben könnte.

Die klinische oder prognostische Bedeutung der direkten Zellgabe nach Myokardinfarkt kann zum momentanen Zeitpunkt nicht abgeschätzt werden. Tabelle 2 zeigt Design sowie die wichtigsten Ergebnisse der relevanten klinischen zelltherapeutischen Studien im Überblick.

Studie/ Jahr (Referenz)	n	Kon- trolle	Placebo	Appli- kation	Zellen/ Zellzahl	Zeitpunkt der Applikation	Wesentliche Befunde	MACE
Strauer, 2002 (Strauer, Brehm et al. 2002)	10	ja	nein	i.c.	BMSC ca. 2×10^7	5 bis 9 Tage nach PCI	Perfusion ↑ Globale Myokardfunktion ↔	keine
Topcare-AMI, 2002-04 (Assmus, Schachinger et al. 2002; Britten, Abolmaali et al. 2003; Schachinger, Assmus et al. 2004)	59	nein	nein	i.c.	CPC/BMSC 1×10^7	4.9±1.5 Tage nach PCI	Perfusion ↑ Globale Myokardfunktion ↑ Vitalität ↑	keine
BOOST, 2004 (Wollert, Meyer et al. 2004; Meyer, Wollert et al. 2006)	60	ja	nein	i.c.	BMSC	4.8±1.3 Tage nach PCI	EF ↑ (6.7% vs. 0.7%, p=0.0026) Langzeitwirkung: EF ↑ in bed. Grp. (5.9% vs. 3.1%, p=0.27)	keine
Janssens, 2006 (Janssens, Dubois et al. 2006)	67	ja	ja	i.c.	BMSC 17×10^7 mononukl. Zellen	1 Tag nach PCI	Globale Myokardfunktion ↔ (3% vs. 2%, p=0.36) Infarktgröße ↓ (10g vs. 8g, p=0.036) Metabolische Effekte ↔	1 Tod (BMSC Gruppe, hämor- rhag. Schock)
ASTAMI, 2006 (Lunde, Solheim et al. 2005; Lunde, Solheim et al. 2006)	100	ja	nein	i.c.	BMSC 8×10^7	6±1.3 Tage nach PCI	Globale Myokardfunktion ↑ in beiden Gruppen (8% vs. 7%, p=0.63, SPECT) Infarktgröße ↓ in bd. Gruppen	3/2 CABG 13/12 RePCI (p=NS)
REPAIR-AMI, 2006 (Schachinger, Erbs et al. 2006)	204	ja	ja	i.c.	BMSC	4 Tage nach PCI	EF ↑ (5.5% vs. 3%, p=0.014) Infarktgröße ↓ BMSC umso besser je später	2/2 Tod 19/19 TVR (p=NS)

Tabelle 2: Direkte Stammzellgabe nach Myokardinfarkt: Klinische Phase I/II-Studien:
i.c.: intrakoronar; PCI: perkutane koronare Intervention; EF: Ejektionsfraktion, TVR: *Target vessel revascularization*, BMSC: Knochenmarksstammzellen; CPC: kultivierte Progenitorzellen; CABG: Bypassoperation; RePCI: erneute PCI; SPECT: Myokardszintigraphie;

2.4.3 Stammzellmobilisation – Wirkmechanismen von G-CSF

Die Mobilisierung von endogenen Stammzellen ist durch die Vermeidung exogener Zell-Gaben eine mögliche attraktive nicht-invasive Alternativstrategie (Kovacic, Muller et al. 2005). Auch unter ethischen und Immunitäts Gesichtspunkten ist sie einfacher vertretbar. Der *Granulocyte-colony stimulating factor* (G-CSF) ist das am besten untersuchte Zytokin. Er stimuliert die Proliferation und Freisetzung von verschiedenen Knochenmarkzellen, einschließlich der Progenitorzellen. Zudem wird G-CSF kommerziell produziert, ist seit vielen Jahren zugelassen für den klinischen Einsatz und besitzt ein nachweislich sicheres Profil, was die Anwendung bei kardiovaskulären Erkrankungen erleichtert. (Kovacic, Muller et al. 2007)

2.4.3.1 Stammzellmobilisation durch endogenes G-CSF

G-CSF ist ein 25 kDa großes Glykoprotein, welches hauptsächlich von hämatopoietischen Zellen wie Monozyten/Makrophagen und Lymphozyten produziert wird. Andere Zellen wie Fibroblasten, Endothelzellen, Astrozyten und KM-Stromazellen können ebenso nach entsprechenden Stimuli G-CSF produzieren. (Basu, Dunn et al. 2002) G-CSF wird bei extremem physiologischem oder pathologischem Stress wie z.B. Sepsis (Kawakami, Tsutsumi et al. 1990) oder akutem Myokardinfarkt freigesetzt. (Wojakowski, Tendera et al. 2004; Leone, Rutella et al. 2006) G-CSF bindet an einen spezifischen Zelloberflächenrezeptor, den G-CSF-Rezeptor (G-CSFR) CD114. Der G-CSFR besitzt 4 assoziierte zytoplasmatische Tyrosinkinasen, welche rasch nach Bindung eines Liganden phosphorylieren und damit eine spezifische *downstream* Kaskade auslösen. (Basu, Dunn et al. 2002; Roberts 2005) Der G-CSFR wird von Neutrophilen und deren Vorläuferzellen exprimiert, einschließlich myeloischer Progenitorzellen und primitiver hämatopoietischer Zellen. (McKinstry, Li et al. 1997; Basu, Dunn et al. 2002; Roberts 2005) Andere Zelltypen, die den G-CSFR exprimieren, sind humane Endothelzellen, (Bussolino, Wang et al. 1989)

EC in humanen Umbilicalvenen und Koronararterien, (Lee, Aoki et al. 2005) Neurone des zentralen Nervensystems mit ihren Vorläuferzellen, (Schneider, Kruger et al. 2005) Kardiomyozyten, (Harada, Qin et al. 2005) Plazentazellen, aktivierte T-Lymphozyten und verschiedene nicht-hämatologische Tumoren. (Roberts 2005)

Neben Neutrophilen mobilisiert G-CSF auch eine Reihe von Zellen aus dem Knochenmark, die keinen G-CSFR ausbilden, wie Erythrozyten, Megakaryozyten, Lymphozyten und endotheliale Progenitorzellen. (Roberts 2005) Die Mobilisierung von Zellen aus dem Blut geschieht wahrscheinlich über ein Aufbrechen von zellulären Ankerproteinen im Inneren des sog. *Microenvironments* (Zellumgebung) des Knochenmarks. Ein dabei entscheidender Faktor ist der CXCR-4/SDF-1 Komplex (s. Abb. 6). (Petit, Szyper-Kravitz et al. 2002) Ein weiterer wesentlicher Faktor ist das vaskuläre endotheliale Cadherin (VE-Cadherin). (Papayannopoulou 2004) Zellen, die charakteristischerweise CXCR-4 (Chemokinrezeptor 4) exprimieren, sind hämatopoietische Stammzellen (HSC) (Wright, Bowman et al. 2002), endotheliale Progenitorzellen (EPC) (Ceradini, Kulkarni et al. 2004) und ein Teil der mesenchymalen Stammzellen (MSC). (Wynn, Hart et al. 2004) Im Gegensatz dazu wird das Chemokin SDF-1 (stroma cell-derived factor 1) von Zellen ausgebildet, die CXCR-4-positive Zellen im Inneren des KMs an sich binden, wie Osteoblasten und einige KM-endotheliale Zellen. (Semerad, Christopher et al. 2005) Die Unterbindung dieses Ankerkomplexes erlaubt den Vorläuferzellen das KM zu verlassen und in die periphere Zirkulation überzutreten (s. Abb. 6).

G-CSF kann diesen CXCR-4/SDF-1-Komplex durch verschiedene Mechanismen aufbrechen. Der erste führt zu einer Ausschüttung von Proteasen aus G-CSFR tragenden neutrophilen Granulozyten, hauptsächlich Neutrophilen-Elastase, Cathepsin-G und Matrix-Metalloproteinase-9, (Levesque, Liu et al. 2004; Papayannopoulou 2004) welche dann die Interaktionen von CXCR-4/SDF-1 unterbrechen (s. Abb. 6). Jedoch kann G-CSF weiterhin Progenitorzellen in Mäusen mobilisieren, denen fast alle von Neutrophilen abstammenden Proteasen fehlen. (Dlubek, Drabczak-Skrzypek et al. 2006) Ein zweiter Mechanismus, durch den G-CSF die Ankerkomplexe lösen kann, ist die geringere Expression sowohl von SDF-1 (Semerad, Christopher et al. 2005) als auch CXCR-4 (Dlubek, Drabczak-Skrzypek et al.

2006) durch die Osteoblasten beziehungsweise den Progenitorzellen. Die Reduktion von CXCR-4 wird wahrscheinlich durch eine veränderte Synthese (Kim, De La Luz Sierra et al. 2006) und/oder Membranexpression von den Progenitorzellen verursacht. (Dlubek, Drabczak-Skrzypek et al. 2006; Kim, De La Luz Sierra et al. 2006) Dagegen wird das Absinken von SDF-1 hauptsächlich durch eine Verringerung der absoluten KM-Osteoblasten-Zahl ausgelöst (mit einer kleinen Veränderung der SDF-1 Expression auf der Oberfläche des einzelnen Osteoblasten) (s. Abb. 6). (Semerad, Christopher et al. 2005) Interessanterweise beeinflusst G-CSF die Osteoblasten über Modulationen am sympathischen neuronalen Tonus, was zumindest teilweise die veränderte Osteoblasten-Aktivität und reduzierten SDF-1-Spiegel im KM nach G-CSF-Therapie erklärt. Zudem zeigt sich in vivo, dass die Gabe von β_2 -adrenergen Agonisten die G-CSF induzierte Mobilisation steigert, während eine β -Blockade diese abnehmen lässt. (Katayama, Battista et al. 2006) Diese Erkenntnis hat möglicherweise direkte Konsequenzen für die Stammzellmobilisation bei Patienten mit β -Blocker-Therapie.

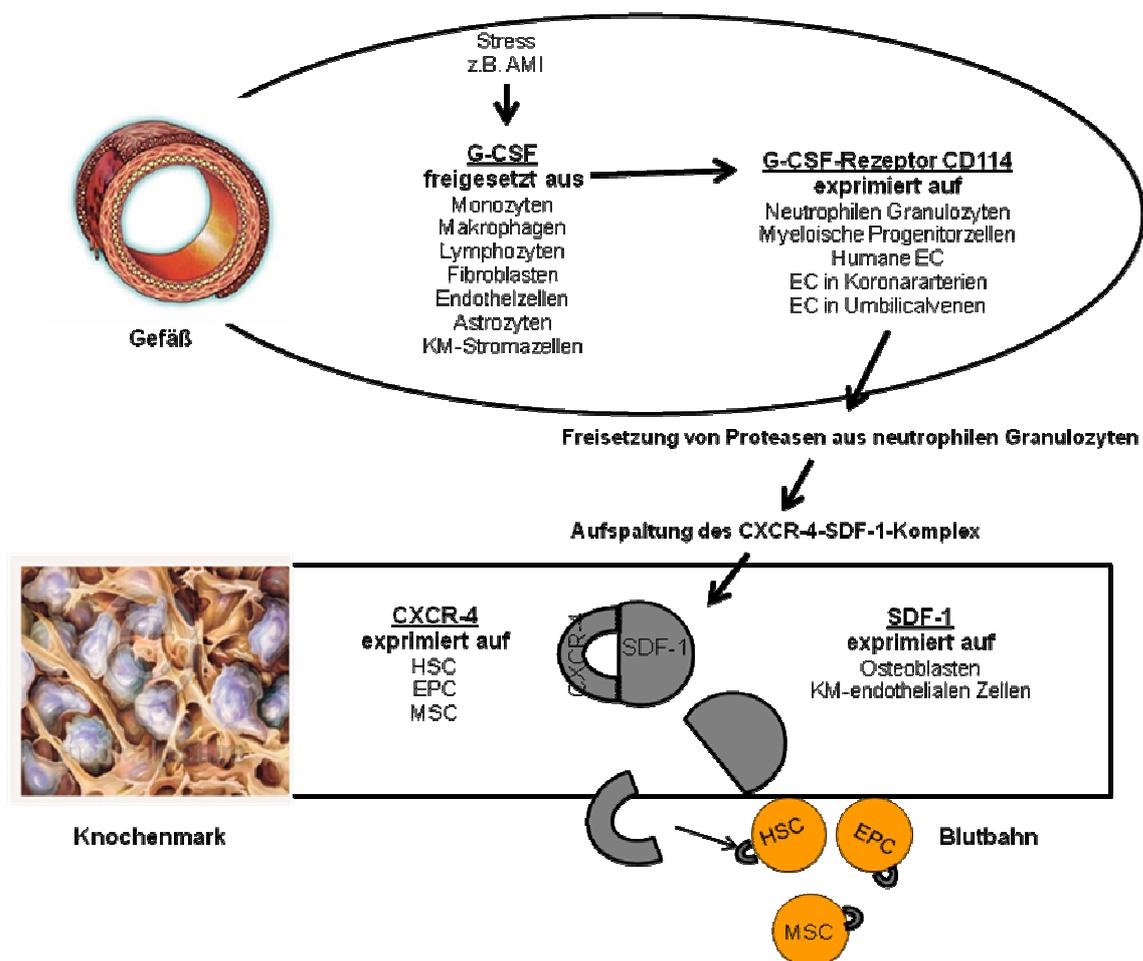


Abb. 6: Freisetzung von adulten Stammzellen aus dem Knochenmark durch endogenes G-CSF.

Endogenes G-CSF bindet an G-CSF-Rezeptor, dadurch kommt es zur Freisetzung von Proteasen, die den CXCR-4-SDF-1-Komplex im KM aufbrechen, was zur Ausschüttung von Stammzellen in die Blutbahn führt. AMI: Akuter Myokardinfarkt, G-CSF: Granulocyte-colony stimulating factor, EC: Endothelzellen, KM: Knochenmark, CXCR-4: Chemokin-Rezeptor 4, SDF-1: Stromal cell-derived factor, HSC: hämatopoietische Stammzellen, EPC: endotheliale Progenitorzellen, MSC: mesenchymale Stammzellen.

2.4.3.2 Bedeutung der Hypoxie bei Stammzellmobilisation

Die Hypoxie ist ein weiterer wichtiger Regulator der CXCR-4/SDF-1-Signalkette und verstärkt die CXCR-4/SDF-1-Achse durch Steigerung der Expression sowohl von CXCR-4 durch Progenitorzellen (Schioppa, Uranchimeg et al. 2003) als auch SDF-1 in ischämischen Geweben. (Abbott, Huang et al. 2004) Eine vermehrte SDF-1-Expression ist direkt proportional zu einer Reduktion des Sauerstoffpartialdrucks (Ceradini, Kulkarni et al. 2004) und erhöht das Homing von CXCR-4 ausschüttenden Progenitorzellen in ischämische Gebiete. (Abbott, Huang et al. 2004; De Falco, Porcelli et al. 2004; Butler, Guthrie et al. 2005) Zu den Geweben, die eine gesteigerte lokale SDF-1-Expression bei Hypoxie zeigen, gehören Herz, (Abbott, Huang et al. 2004) Gehirn, (Imitola, Raddassi et al. 2004) Extremitäten (De Falco, Porcelli et al. 2004) und Glaskörper (Butler, Guthrie et al. 2005) Es wird berichtet, dass die zunehmende SDF-1-Ausschüttung im ischämischen Myokard durch eine Gabe von G-CSF noch weiter gesteigert werden könne. (Misao, Takemura et al. 2006) Außerdem erleichtert eine herzspezifische SDF-1-Überexpression nach einem Myokardinfarkt die Zirkulation der G-CSF mobilisierten Stammzellen zum Herzen, verringert den myokardialen Schaden und verbessert die linksventrikuläre Leistung. (Askari, Unzek et al. 2003) Unter physiologischen Bedingungen ist das sog. *Microenvironment* des Knochenmarks relativ hypoxisch (Harrison, Rameshwar et al. 2002), wahrscheinlich trägt dieser Umstand seinen Teil zu dem festen „Verankern“ der Progenitorzellen bei.

2.5 G-CSF in der klinischen Routine

Die ersten klinischen Versuche mit G-CSF fanden Mitte der 80er Jahre statt. (Anderlini, Przepiorka et al. 1996) Die anfängliche klinische Zielsetzung war die Beschleunigung der Erholungsphase nach einer Knochenmarkssuppression (nach Chemotherapie oder KM-Transplantation) oder bei einer chronischen Neutropenie. Dabei zeigte sich, dass G-CSF Vorläuferzellen mobilisiert. Durch die Gabe von G-CSF für 4-6 Tage und die anschließende Leukapherese (durch Zentrifugation werden die weißen Progenitorzellen separiert und gesammelt) konnten die KM-Vorläuferzellen als „KM-Transplantat“ genutzt werden. Diese einfache und überall einsetzbare Methode zur Sammlung von KM-Progenitorzellen verdrängte die direkte Aspiration fast vollständig bei der Nutzung von autologen Transplantation. (Anderlini, Przepiorka et al. 1996; Fruehauf and Seggewiss 2003)

Verschiedene kommerziell hergestellte Präparate von G-CSF sind heute verfügbar, die meisten werden über die rekombinante DNA-Technologie hergestellt. G-CSF wird üblicherweise subkutan mit vorgefertigten Spritzen ein- bis zweimal täglich gewichtsadaptiert verabreicht. Nebenwirkungen verlaufen in aller Regel mild und bestehen hauptsächlich aus grippeähnlichen Symptomen (Myalgien, Arthralgien, Müdigkeit, Kopfschmerzen). (Anderlini, Przepiorka et al. 1996) Das Auftreten einer Splenomegalie ist typisch, meist aber mit subklinischem Verlauf. Es gibt, allerdings selten, ernste Komplikationen wie Milzrupturen. (Dincer, Gottschall et al. 2004; Kovacic, Macdonald et al. 2007)

Für die medizinische Praxis ist G-CSF von zwei Anbietern auf dem Markt: GRANOCYTE® = Lenograstin von Chugai Pharma sowie NEUPOGEN® = Filgrastim von Amgen, die in ihrem Wirkprofil als gleich einzustufen sind. Das in unserer Studie verwendete G-CSF ist seit 1991 unter dem Namen Filgrastim (NEUPOGEN®, Amgen, München) in Deutschland erhältlich. Das Medikament enthält "nicht-glykosilierten rekombinanten humanen Methionin Granulozyten-Kolonien stimulierenden Faktor" (r-metHuG-CSF). Das hydrophobe Protein besteht aus 175 Aminosäuren und wird gentechnologisch aus E. coli-Bakterien gewonnen, in die zuvor eine synthetisch hergestellte Kopie des humanen G-CSF Gens eingefügt wurde. Das rekombinante Protein unterscheidet sich von dem natürlichen humanen G-CSF durch einen zusätzlichen aminoterminalen Methioninrest sowie durch das

Fehlen einer O-Glykosilierung. Das natürliche und das rekombinante Protein zeigen in vitro und in vivo vergleichbare pharmakologische Wirkungen. Die Konzentration des Wirkstoffes in NEUPOGEN beträgt 30 Millionen Einheiten (300 µg) pro Milliliter. Die minimale wirksame Dosis beträgt etwa 3,5 µg/kg KG pro Tag.

3. Fragestellung

Die vorliegende klinische Phase II-Studie untersucht die Machbarkeit sowie die klinische Effizienz einer durch G-CSF induzierten Stammzellmobilisierung bei Patienten nach einem verzögert revascularisierten Myokardinfarkt, bei denen G-CSF zusätzlich zur medikamentösen und interventionellen Standardbehandlung einschließlich PCI gegeben wurde. Primäre Endpunkte waren die Veränderung von regionaler und globaler linksventrikulärer Funktion im Vergleich zur Placebo-Gabe. Die myokardiale Funktion wurde mittels Kernspintomographie analysiert. Sekundäre Endpunkte waren Sicherheit und Verträglichkeit der Behandlung, Ausmaß und Kinetik der G-CSF induzierten Stammzellmobilisierung, Veränderung von Laborparametern, einschließlich inflammatorischer Parameter sowie die Analyse der myokardialen Funktion, Infarktgröße sowie Perfusion im kurz- und langfristigen Verlauf.

4. Material und Methoden

4.1 Studiendesign

4.1.1 Studienprotokoll

Bei der vorliegenden Studie wurde der Effekt einer Knochenmarksstammzell-Mobilisierung induziert durch „granulocyte-colony stimulating factor“ (G-CSF) zur Verbesserung der ischämischen Herzinsuffizienz bei Patienten mit verspäteter Revaskularisation nach akutem Myokardinfarkt untersucht. Es handelt sich hierbei um eine Placebo-kontrollierte, randomisierte Doppelblindstudie (Phase II), die im Dezember 2002 an der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Klinikums Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München initiiert wurde.

Die Studie wurde entsprechend den Grundsätzen der Deklaration von Helsinki mit ihren Novellierungen von Tokio, 1975, und Hong Kong, 1989, Somerset West, 1996 und Edinburgh, 2000 für die Durchführung klinischer Studien durchgeführt und war von der Ethikkommission der Universität München genehmigt worden (AZ. 177/02).^{1,2,3} Alle Maßnahmen erfolgten entsprechend den klinikinternen Richtlinien. Alle Patienten erklärten sich nach einer ausführlichen Aufklärung schriftlich mit der Teilnahme an der klinischen Studie einverstanden. Die Studiendurchführung erfolgte nach Good Clinical Practice (GCP).⁴

4.1.2 Zeitlicher Ablauf der Studie

Die Studie bestand aus einer Revaskularisierungsphase (revascularization period), in der die Stentimplantation in das Infarktgefäß durchgeführt wurde. Es folgten die stationäre Behandlungsphase (treatment period, eine Woche) und die ambulante Nachuntersuchungsphase (follow-up period nach 4 und 12 Wochen). Nach einem Jahr wurden alle Studienpatienten telefonisch kontaktiert, eine Subgruppe im Rahmen der 1-Jahres-Kontrolle nochmals untersucht (s. Abb. 7).

Die Revaskularisierungsphase begann mit der Behandlung des Patienten in der Nothilfe des Klinikums. Alle Patienten erhielten die Standardbehandlung des Myokardinfarkts mit Aspirin, Heparin, Betablockern und Nitraten, sofern keine Kontraindikationen vorlagen. Bei allen Patienten wurde so schnell wie möglich eine akute PCI des Infarktgefäßes mit Stentimplantation durchgeführt. Bei komplexen Gefäßläsionen, sowie Nachweis von thrombotischem Material, welches in die Peripherie zu streuen drohte, wurde der betroffene Patient zudem mit einem Glykoprotein IIb/IIIa-Antagonisten behandelt (Tirofiban, Aggrastat, MSD). Nach der Implantation eines nicht-beschichteten Metallstents (bare metal stent) in das Infarktgefäß erhielten alle Patienten eine Behandlung mit Clopidogrel für mindestens 4 Wochen. Es wurde eine Empfehlung an den weiterbehandelnden Hausarzt/Kardiologen ausgesprochen, die Behandlung mit Clopidogrel auf 3 bis 6 Monate auszudehnen (ACC/AHA Empfehlungen 2002: Vier Wochen Behandlung mit Clopidogrel bei Patienten nach PTCA: Klasse IA Empfehlung, Langzeit-Behandlung mit Clopidogrel: Klasse IB Empfehlung). (Braunwald, Antman et al. 2002)

Die erste Phase der folgenden Behandlungsperiode bestand aus einer Screeningphase (24 Stunden), während der geprüft wurde, ob der Patient die Ein- und Ausschlusskriterien der Studie erfüllte. In der zweiten Phase der Behandlungsperiode erfolgte nach der Einverständniserklärung die Randomisierung in die Placebo- oder G-CSF-Gruppe, in der mit Placebo oder G-CSF (r-Hu-met-G-CSF, Filgrastim, Amgen GmbH, München) über einen Zeitraum von 5 Tagen (10µg/kg/d geteilt in zwei Dosen s.c.) behandelt wurde.⁵ Die Randomisierung der Patienten wurde durch die - hinsichtlich der Studienplanung und Studiendurchführung unabhängige - Apotheke des Klinikums Großhadern vorgenommen, die auch die Dokumentation der verschlüsselten Zuordnung durchführte. Die Patienten wurden im Verhältnis 1:1 randomisiert. Die Verabreichung von Verum/Placebo erfolgte doppelblind, weder Patient noch behandelnder Arzt kannten den Inhalt. Als Placebo fand physiologische Kochsalzlösung in identischem Volumen wie das Verumpräparat Verwendung. Die Behandlung erfolgte als „*off label use*“ adjuvant zur etablierten Standardtherapie. Keinem Patienten wurde eine anerkannte oder indizierte Behandlung nach Myokardinfarkt vorenthalten.

Während der Behandlungsphase wurden die Basisuntersuchungen der Kernspintomographie und der transthorakalen Echokardiographie sowie klinische und laborchemische Untersuchungen durchgeführt. Zwei Follow-Up-Untersuchungen nach 4 und nach 12 Wochen einschließlich klinischer Untersuchung, Auftreten von Nebenwirkungen (adverse events = AEs), Laboruntersuchungen, Kernspintomographie und Echokardiographie fanden während der Nachuntersuchungsphase statt. Nach Beendigung der 3 Monats-Nachuntersuchung erfolgte eine klinische Nachbeobachtung aller Patienten (klinischer Status, Auftreten von AEs oder kardiovaskulären Ereignissen) bis zu 12 Monate.

Zusätzlich zum ursprünglichen Studienprotokoll, bei dem keine Routine-Kontrollangiographie vorgesehen war, wurde eine Koronarangiographie zur Überprüfung des Auftretens einer In-Stent-Restenose bei 19 von 23 Patienten der G-CSF-Gruppe und bei 21 von 21 Patienten der Placebogruppe 6 Monate nach Einschluss in die Studie durchgeführt.

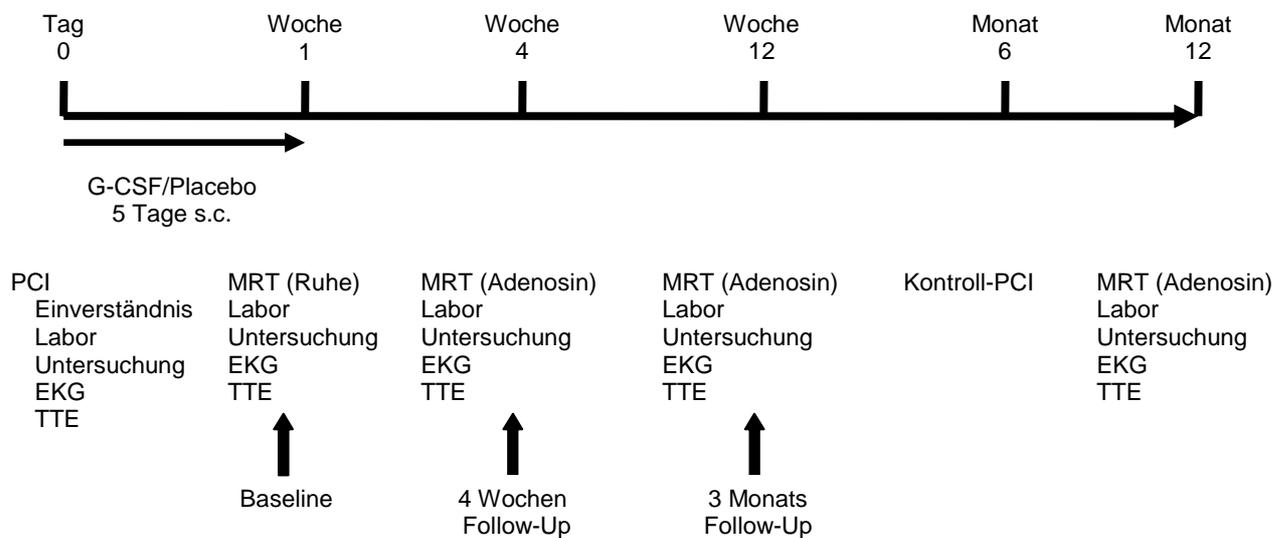


Abb. 7: Zeitlicher Ablauf der Studie, G-CSF: *Granulocyte stimulating factor*, PCI: perkutane transluminale Koronarangiographie, EKG: Elektrokardiogramm, TTE: transthorakale Echokardiographie, MRT: Magnetresonanztomographie.

4.1.3 Einschlusskriterien

- Mindestalter 18 Jahre
- Akuter Myokardinfarkt
 - ST-Hebung > 0,1 mV
 - (> 1 Ableitung)
 - AP > 30 min.
 - CK – Anstieg
 - Troponinerhöhung
- Regionale Akinesie /TTE
- Infarktbeginn \geq 6 Stunden
- Fehlen von Kontraindikationen gegen eine Angiographie
- Keine Kontraindikationen gegen die MRT
 - keine Klaustrophobie
 - kein permanentes Vorhofflimmern
 - keine schwere COPD
- Vorliegende Einverständniserklärung
- Verständnis/Compliance

4.1.4 Ausschlusskriterien

Allgemein

- Alter < 18 Jahre
- Schwangerschaft (möglich oder geplant), Stillzeit
- Infarkt ereignis > 7 Tage
- bereits in eine andere Studie eingeschlossen
- große nicht-kardiale OP in < 6 Monaten geplant
- schwere Grunderkrankung
- Lebenserwartung < 1 Jahr
- Kontraindikation gegen eine Koronarangiographie
- Kontraindikation gegen die Untersuchung mit Magnetresonanztomographie
- Unmöglichkeit des Follow-ups
 - (Wohnsitz, Alkoholabusus, Drogenkonsum, psychische Instabilität)
- eingeschränkte Zustimmungsfähigkeit

Kontraindikationen gegen G-CSF

- Maligne myeloische Erkrankung
- kongenitale Neutropenie
- schwere Leberdysfunktion

Kardiovaskuläre Ausschlusskriterien

- kardiogener Schock
- EF < 25%
- Perikarditis
- Endokarditis
- Kontraindikation gegen Koronarangiographie
- geplante Bypass-OP
- LV-Thrombus
- Ventrikuläre Arrhythmien (VT's, Kammerflimmern < 24 h nach Aufnahme)

Andere Ausschlusskriterien

- Aspirinunverträglichkeit
- Immunsuppressiva, Zytostatika
- Kortikoide (> 10 mg/d Prednison)

4.1.5 Fallzahlschätzung

Die Fallzahl wurde berechnet zur Bestimmung der Wirkung von G-CSF hinsichtlich einer Verbesserung der segmentalen systolischen Wandverdickung und der linksventrikulären Ejektionsfraktion. Die Detektion einer Differenz von 1 mm systolischer Wandverdickung bzw. ein Unterschied von 8% in der linksventrikulären EF erforderte bei einer Power von 80% und einem Alphafehler von 5% 36 Patienten (je 18 Patienten pro Behandlungsgruppe). Die geschätzte Verbesserung der LVEF von 8% basierte auf der Arbeit von Assmus et al., die im Dezember 2002 eine Verbesserung der Ejektionsfraktion von $51.6 \pm 9.6\%$ auf $60.1 \pm 8.6\%$ ($\Delta_{EF} +8,5\%$) nach Stammzelltherapie berichteten. (Assmus, Schachinger et al. 2002) Wir berechneten die Fallzahl für eine geschätzte *Drop-out*-Rate von 10%, woraus sich eine Studienpopulation von $n = 40$ (20 Patienten pro Behandlungsgruppe) errechnete.

4.2 Endpunkte der Studie

4.2.1 Primäre Endpunkte

Primärer Endpunkt war die Erfassung der myokardialen Regenerationsfähigkeit nach Stammzellmobilisierung durch GCSF, gemessen an der Veränderung der myokardialen Dicke, der regionalen Myokardfunktion sowie der globalen kardialen Funktion innerhalb eines Zeitraumes von 12 Wochen nach Behandlungsbeginn. Die Analyse der kardialen Funktion setzte sich zusammen aus den Durchschnittswerten der enddiastolischen Myokarddicke, der segmentalen Wanddicke, des enddiastolischen Volumens (EDV), des endsystolischen Volumens (ESV), des Schlagvolumens, der Auswurfraction (ejection fraction = EF) und der kardialen Auswurfleistung, die Auswertung erfolgte mittels MRT und TTE.

4.2.2 Sekundäre Endpunkte

Als sekundäre Endpunkte dienten nach 12 Wochen: Änderungen der Myokardperfusion analysiert durch MRT. Das Auftreten gravierender kardialer Ereignisse (major cardiac events = MACE) wie Tod, Myokardinfarkt, koronare Bypass-Operation, akutes Koronarsyndrom oder Re-Intervention und die Bewertung des Auftretens spontan berichteter Nebenwirkungen (adverse events = AEs). Ein AE, das zu einer Hospitalisierung, einem verlängerten Krankenhausaufenthalt sowie zum Absetzen des Studienmedikaments geführt hatte, wurde als schwerwiegend (serious adverse event = SAE) bewertet. Darüber hinaus wurden hämatologische und serumchemische Veränderungen (Leukozyten, Erythrozyten, Thrombozytenzahl, Leberwerte) sowie inflammatorische Parameter (C-reaktives Protein, Interleukin-6, TNF- α , TNF Rezeptoren p55 und p75) analysiert. Progenitorzellpopulationen, von denen ein myokardiales Regenerationspotential angenommen wird, wurden mittels Durchflusszytometrie (FACS) charakterisiert: CD34⁺/c-kit⁺, (Kocher, Schuster et al. 2001) CD34⁺/CD31⁺, (Asahara, Murohara et al. 1997) sowie CD34⁺/CD133⁺. (Salven, Mustjoki et al. 2003) Zudem wurde die Lebensqualität (health related quality of life = HRQOL) der Patienten mit Hilfe eines standardisierten Fragebogens, dem Seattle Angina Questionnaire, erfasst. (Spertus, Winder et al. 1995)

Weiterhin erfolgten eine Analyse der kardialen Pumpfunktion sowie der Myokardperfusion mittels MRT und die Erfassung von hämatologischen serumchemischen Veränderungen inklusive der inflammatorischen Parameter zu den Zeitpunkten 4 Wochen und 1 Jahr. Die Lebensqualität der Patienten wurde bei diesen Untersuchungsterminen ebenfalls mittels SAQ festgehalten.

4.3 Laboranalysen

Sämtliche hämatologische und serologische Analysen erfolgten im Institut für Klinische Chemie des Klinikums Großhadern (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Dietrich Seidel). Blutbildbestimmungen wurden mittels eines automatisierten Zellzählers im

Routinelabor durchgeführt. Der Nachweis von C-reaktivem Protein fand automatisiert mit dem Tina-quant[®] Test statt, einem homogenen Immunoassay (HIA), die fotometrische Auswertung zur Quantitätsbestimmung erfolgte über Turbidimetrie (Messung der Trübung) (Roche Diagnostics, Mannheim). Die Zytokinspiegel von IL-6, TNF- α sowie den TNF-Rezeptoren (p55 and p75) wurden mittels ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) gemessen (Biosource Diagnostics, Brüssel, Belgium). Die Leberenzymwerte wurden im Routinelabor durch einen vollautomatischen Analyser bestimmt (Olympus, Hamburg, Germany).

4.4 Durchflusszytometrie

Zur Bestimmung der Progenitorzellen wurden zytometrischen Untersuchungen mittels eines Durchflusszytometers (FACS[®] = Fluorescence activated cell sorting, Becton Dickinson, Heidelberg) durchgeführt. Das Prinzip der Untersuchung beruht auf der Emission von optischen Signalen seitens der Zelle, wenn diese einen Laserstrahl passiert.

Hierbei werden in einer Lösung befindliche Zellen durch eine Kapillare gesaugt und passieren im Sensormodul einzeln einen Laserstrahl. Die Zelle emittiert dabei Streulicht und, wenn Antikörper gebunden sind, Fluoreszenzimpulse, woraus man unterschiedliche Eigenschaften der Zelle ableiten kann. Das Streulicht wird durch Zellgröße, die Struktur der Zellmembran sowie intrazelluläre Bestandteile beeinflusst. Die Zellen können damit in unterschiedliche Fraktionen sortiert und gezählt werden.

Hierzu dienen zwei Parameter: Das Vorwärtsstreulicht FSC (Forward Scatter) wird durch Beugung des Lichts hervorgerufen und dient als Maß für die Zellgröße, das Seitwärtsstreulicht SSC (Side Scatter) wird durch Brechung des Lichts hervorgerufen und dient als Maß für die Granularität (Größe und Struktur des Zellkerns etc.). Eine grobe Sortierung ist hierdurch schon möglich. Zudem kann die Probe vorher mit Antikörpern, die mit verschiedenen fluoreszierenden Farbstoffen verbunden sind, inkubiert werden. Die Antikörper sind gegen bestimmte Oberflächenmerkmale (z.B. CD = "Cluster of

differentiation") gerichtet. Nach Markierung kann dann auch die Sortierung nach diesen Merkmalen erfolgen. Durch Einsatz verschiedenfarbiger Laser ist es möglich, die Anzahl der einsetzbaren Farbstoffe und damit die Informationsdichte zu erhöhen.

Zur Immunphänotypisierung der Subpopulationen von adulten humanen Stammzellen wurden monoklonale Antikörper gegen CD31, CD34, CD45, CD117 (c-kit), CD133 und CXCR4 (Clone 12G5, R&D Systems) verwendet. Diese waren mit Fluoresceinisothiocyanat, Phycoerythrin oder Phycoerythrin-cyanin-5 (BD PharMingen/Coulter Immunotech, Hamburg) konjugiert. Ein Volumen von 100 µL von venösem EDTA-Blut wurde für 10 min in Dunkelheit mit den o.g. Antikörpern inkubiert. Unter Addition von PeliLyse (Hiss Diagnostics GmbH, Freiburg) für 10 min wurden die Zellen in PBS (phosphate buffer saline) und 0.1% Natriumacid gewaschen, zentrifugiert und in 200 µL PBS zur Analyse im Durchflusszytometer resuspendiert. (Keeney, Chin-Yee et al. 1998) Jede Analyse umfasste 100 000 Ergebnisse.

4.5 Elektrokardiogramm (EKG)

Im 12-Kanal-EKG wurden Herzfrequenz, Herzzeitwerte (PQ-, QRS-, QT-Intervalle), ST-Hebungen und –Senkungen, R-Verlust und das Auftreten eines pathologischen Qs erfasst.

4.6 Kernspinresonanztomographie (Magnetresonanztomographie, MRT)

Die MRT-Untersuchungen wurden in Kooperation mit dem Institut für Radiologie (Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser) durchgeführt. Die MRT bietet eine hohe räumliche Auflösung zur Beurteilung der kardialen Morphologie und Funktion. Volumina, Masse und Auswurfraction beider Ventrikel können akkurat quantifiziert werden, die Klappenfunktion kann beurteilt werden, und nicht zuletzt können kontraktile Funktionen und

Gewebsintegrität ventrikulärer Wandabschnitte reproduzierbar untersucht werden. Neue Verfahren der quantitativen Wandbewegungsanalyse („myocardial tagging“, Phasenkontrast MRT) könnten die Aussagekraft der Untersuchung weiter verbessern. Zunehmend werden Perfusionsmessungen auch mit dem Narbennachweis durch Delayed-Enhancement-Untersuchung kombiniert. Dies untermauert die Vielseitigkeit der Methode, die zudem ohne Strahlenexposition für den Patienten ist. (Bengel 2006)

Die MRT-Untersuchungen wurden mit einem 1.5 T Ganzkörperscanner (Magnetom Sonata, Siemens Medical Solutions, Erlangen) zu drei bzw. vier Zeitpunkten durchgeführt. Eine Woche nach erfolgreicher PCI erfolgte die erste Untersuchung (Baseline, 1 Woche nach PCI). Dieser Zeitpunkt wurde gewählt, da sehr häufig nach einem akuten Herzinfarkt myokardiales „*Stunning*“ auftritt. Mit „*stunned*“ *myocardium* wird ein Zustand der postischämischen kontraktile Dysfunktion beschrieben, der auch nach Wiederherstellung normaler Perfusionsverhältnisse zunächst persistiert, aber nicht zu irreversiblen Zellschädigungen führt. Dies führt durch dynamische Veränderungen der mikrovaskulären Funktion oft zu einer überproportionalen Beeinträchtigung der LV-Funktion. (Bolli, Triana et al. 1990; Bengel 2006) Die Dauer dieser Dysfunktion überschreitet die der vorausgehenden Ischämie oftmals beträchtlich. (Bolli 1988) Darüber hinaus sind Patienten unmittelbar nach PCI durch Reperfusionarrhythmien gefährdet, weshalb eine intensivstationäre Überwachung erforderlich ist.

Die weiteren MR-Untersuchungen wurden im Verlauf nach 4 und 12 Wochen durchgeführt.

4.6.1 Myokardiale Funktionsanalyse

Die kardiale Funktionsdarstellung basierte auf einer segmentierten CINE TrueFISP-Pulssequenz unter Verwendung einer shared echo-Technik. Die Messung der enddiastolischen Wanddicke aus cine-MRT-Aufnahmen der Ventrikelfunktion ist der einfachste Ansatz zur Vitalitätsbeurteilung. Eine Wanddicke von unter 5-6 mm wird dabei als

Zeichen fehlender Vitalität interpretiert. (Bengel 2006) Die zeitliche Auflösung betrug 42 ms. Die Voxelgröße wurde definiert als Auflösung von 1.3 x 1.5 mm² in der Ebene bei einer Scheibendicke von 8 mm. Die funktionellen Analysen wurden mit einer Anzahl von Scheiben mit 1 cm Abstand in einer doppeltschrägen Kurzachsenausrichtung ausgeführt (von der Mitte einer Scheibe zur Mitte der nächsten), woraus eine Lücke von 2 mm bei einer Schichtdicke von 8 mm resultierte. Der verwendete Distanzfaktor wird in der Routine verwendet. Die cine-Untersuchung zur Analyse der globalen und regionalen Wandbewegung wird im Allgemeinen als Goldstandard angesehen. Die notwendigen zeitlichen und räumlichen Auflösungen wurden entsprechend den Untersuchungen von Miller et al. (Miller, Simonetti et al. 2002) und Wintersperger et al. (Wintersperger, Reeder et al. 2006) verwendet. Zur Analyse der regionalen Wandbewegung wurde ein etabliertes, standardisiertes 17-Segmentmodell angewendet (s. Abb. 8). (Cerqueira, Weissman et al. 2002)

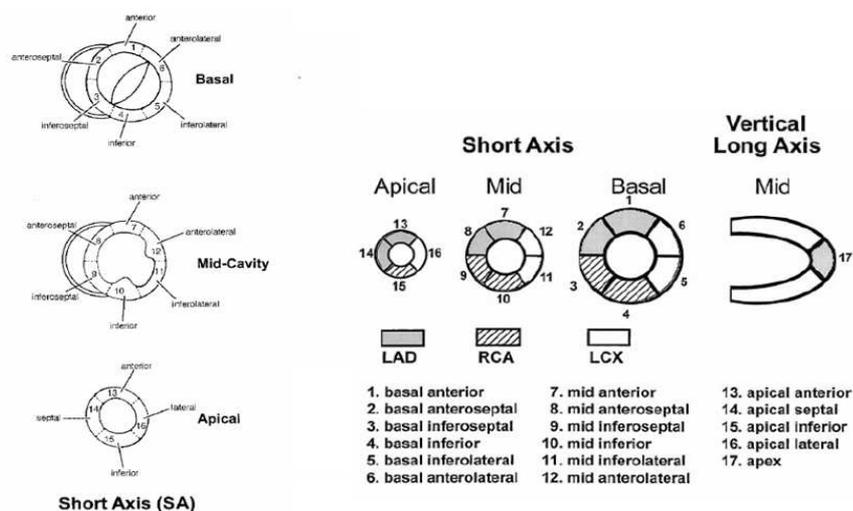


Abb. 8: 17-Segmentmodell der American Heart Association (mod. nach Cerqueira (Cerqueira, Weissman et al. 2002))

Kardiale Volumina und regionale Funktionsparameter wurden mittels einer standardisierten Analysesoftware (Argus, Siemens, Erlangen) ausgewertet, die eine halbautomatische Erkennung endo- und epikardialer Grenzen erlaubte. Zur Berechnung der enddiastolischen und endsystolischen Volumina wurde die Gruppe von Kurzachsenbildern segmentiert und das Volumen unter Verwendung der Simpsonschen Regel errechnet:

$$\text{Ejektionsfraktion} = \frac{(\text{enddiastolisches Volumen} - \text{endsystolisches Volumen})}{\text{enddiastolisches Volumen}}$$

Zur Berechnung der regionalen systolischen myokardialen Verdickung wurde die Differenz zwischen enddiastolischer und endsystolischer Dicke auf einer segmentalen Basis als absoluter und relativer Wert bestimmt, sowohl im Infarktareal als auch im Areal, welches nicht vom Infarkt betroffen war. Die myokardialen Segmente, die von der Infarktarterie versorgt wurden, einen Funktionsverlust aufwiesen und in der Kontrastmittel-verstärkten Aufnahmetechnik ein *late enhancement* zeigten, wurden als Infarktsegment bezeichnet. *Late enhancement* beschreibt die späte Anreicherung von Kontrastmittel (Gadoliniumchelate) in frisch nekrotischem Gewebe nach Myokardinfarkt und in Narbenarealen bei alten Infarkten. Zwei dem Infarktsegment benachbarte Segmente, die auf der identischen Schicht lokalisiert waren, wurden als Infarkttrandzone (*border zone*) definiert. Dabei wurde die diastolische und endsystolische Wanddicke jeweils addiert und durch 2 geteilt. Als *Remote*-Segmente wurden Areale klassifiziert, welche eine erhaltene kontraktile Funktion bei fehlendem *late enhancement* aufwiesen. Die myokardiale Vitalität (*viability*) wurde mittels *inversion recovery* T1-gewichteter, kontrastverstärkter MRI unter Verwendung der "*late enhancement*"-Technik analysiert. (Kim, Fieno et al. 1999) Zur Datenakquisition wurde eine segmentierte *inversion recovery* turboFLASH-Technik mit einer Auflösung von 1.3 x 1.8 mm² in der Ebene bei einer Schichtdicke von 8 mm angewendet. Zur Unterscheidung zwischen vitalem und nicht-vitalem Myokard erfolgte die Datenakquisition nach der Injektion von Gadobenatdimeglumin (Multihance, Altana, Konstanz) von 0.1 mmol/kg Körpergewicht mit 10 min Zeitverzögerung. Die Volumina des nicht-vitalen Myokards wurden durch die Bestimmung der entsprechenden myokardialen Areale in allen Kurzachsenschnitten gemessen, welche summiert und mit der Schichtdicke multipliziert wurden.

4.6.2 Myokardperfusion

Die myokardiale Perfusion wurde mittels einer T1-gewichteten *saturation recovery* Echosequenz (flip angle 12°, TE 1,0 ms, Akquisitionsfenster 192 ms, Inversionszeit 100 ms, 128 phasenkodierte Linien) mit prospektiver EKG-Triggerung während der ersten Passage der intravenösen Kontrastmittelgabe durchgeführt. Drei Schichten mit einer Dicke von 10 mm

wurden in basaler, mittpapillärer und apikaler Position in einer Kurzachsenprojektion während jedes Herzschlages aufgenommen. Mit einem typischen *field-of-view* von 340 x 265 mm² betrug die Auflösung in der Ebene 2.7 x 2.1 mm. Durch eine kontinuierliche (3-6 min) intravenöse Infusion von 140 µg/kg•min⁻¹ Adenosin (Adenoscan™, Sanofi, München) wurde eine Hyperämie induziert. Gadobenatdimeglumin (Multihance, Altana, Konstanz) wurde mit einem Bolus von 0.05 mmol/kg Körpergewicht und einer Flussgeschwindigkeit von 5 mL/s appliziert, gefolgt von 20 mL isotonischer Kochsalzlösung. Das Kontrastmittel wurde über einen MR-kompatiblen motorgetriebenen Injektor (Spectris, Medrad, Indianola, PA, USA) in den kontralateralen Arm appliziert, während die Adenosininfusion fortgesetzt wurde. Zur Minimierung von Atemartefakten wurde die erste Passage von Kontrastmittel in Atemanhaltetechnik durchgeführt. Die Untersuchung der Ruheperfusion wurde 10 min nach der Stressuntersuchung und Beendigung der Adenosininfusion mittels eines zweiten Kontrastmittelbolus durchgeführt, der unter identischen Bedingungen wie bei der Stressuntersuchung appliziert wurde. Die Schichtpositionen und Pulssequenzen entsprachen denen der Stressuntersuchung. Aufgrund der Sicherheitserwägung von Seiten der Ethikkommission wurde zum Ausgangszeitpunkt (Baseline, 1 Woche nach PTCA) lediglich eine Ruheuntersuchung durchgeführt; nach 1 und 3 Monaten wurden sowohl Ruhe- und Stressuntersuchungen unter Adenosin-induzierter Hyperämie durchgeführt.

Die Perfusionsdaten wurden mittels kommerziell erhältlicher Software (Dynamic Signal Analysis, Argus, Siemens Medical Solutions, Erlangen) auf einer Leonardo Workstation (Dynamic Signal Analysis, Argus, Siemens Medical Solutions, Erlangen) ausgewertet. Die sub-endokardialen und sub-epikardialen Grenzen wurden auf jeder Schicht in einem Rahmen mit hohem Kontrast zwischen linksventrikulärem Cavum und Myokard positioniert. Die Grenzen wurden Software-gestützt unter Verwendung einer halbautomatischen Konturenkorrektur über alle Rahmen abgebildet. Eine interaktive Korrektur erfolgte im Bedarfsfall. Das linksventrikuläre Myokard wurde in 6 äquianguläre Segmente pro Schicht geteilt, entsprechend der modifizierten standardisierten Nomenklatur für tomographische Bildgebung. (Cerqueira, Weissman et al. 2002) Insgesamt wurden 36 Segmente pro Patient (18 für die Stressuntersuchung und 18 für die Ruheuntersuchung)

ausgewertet. Die mittlere Signalintensität eines jeden Segmentes wurde über die Zeit registriert und Signalintensitäts-Zeitkurven erstellt. Da die Signalintensität in verschiedenen myokardialen Segmenten abhängig vom Spulenempfindlichkeitsprofil gering variierte, wurde zur Eliminierung von durch Segmentlokalisierung und Oberflächenspule bedingten Signalinhomogenitäten eine Ausgangs- und Spulennormalisierung nach folgender Gleichung durchgeführt:

$$\text{Signal}_{\text{corrected}} = \frac{\text{Mean}_{\text{Baseline/Segment}}}{\text{Mean}_{\text{Baseline/AllSegments}}} * \text{Signal}_{\text{Source Data}} - \text{Mean}_{\text{Baseline/Segment}}$$

$\text{Mean}_{\text{Baseline/Segment}}$ ist der Mittelwert von konsekutiven Signalwerten zum Ausgangspunkt im individuellen Segment. $\text{Mean}_{\text{Baseline/AllSegments}}$ ist der Mittelwert von konsekutiven Signalwerten der Ausgangspunkte von allen Segmenten in 3 Schichten. $\text{Signal}_{\text{SourceData}}$ ist der Signalintensitätswert zu einem Zeitpunkt der Signalintensitätskurve in einem Segment ohne jede Korrektur. $\text{Signal}_{\text{corrected}}$ ist der resultierende Wert der Signalintensität zu einem Zeitpunkt der Signalintensitätskurve in einem Segment nach der vollständigen Korrektur. Mittels dieser Gleichung konnte eine Normalisierung der Kurven und Subtraktion vom Ausgangswert erfolgen.

Für jede Signalintensitäts-Zeitkurve wurden Fußpunkt und Maximalpunkt Softwaregestützt ermittelt. Eine lineare Anpassung wurde für die Datenpunkte vom Fußpunkt bis zum Maximum berechnet. Der *upslope*-Wert dieser Linie wurde für die weiteren Berechnungen verwendet. Der myokardiale Perfusionsreserve-Index (MPRI) diente als semi-quantitative Abschätzung der Perfusionsreserve. Der MPRI wurde berechnet durch die Teilung des korrigierten *upslope*-Wertes der Stressuntersuchung durch den korrespondierenden korrigierten *upslope*-Wert der Ruheuntersuchung (MPRI: $\text{upslope}_{\text{stress(corrected)}}/\text{upslope}_{\text{rest(corrected)}}$). Die mikrovaskuläre Obstruktion wurde auf Einzelschichten als Areal von persistierender fehlender sub-endokardialer Kontrastverstärkung in der ersten Passage des Kontrastmittels identifiziert. (Gerber, Garot et al. 2002; Lund, Stork et al. 2004)

Alle MR-Analysen wurden im Konsens von unabhängigen erfahrenen Radiologen (PD Dr. Bernd J. Wintersperger, PD Dr. Armin Huber, Klinik für diagnostische Radiologie, Klinikum Großhadern) durchgeführt, die bezüglich der Studienbehandlung geblindet waren und zu keinem Zeitpunkt Kenntnis klinischer, hämatologischer oder laborchemischer Daten der Studienpatienten hatten.

4.7 Koronarangiographie

Zur Diagnostik der morphologischen Verhältnisse der Koronararterien und zur Lokalisierung von Stenosen sowie deren Art und Ausmaß diente die konventionelle Koronarangiographie. Diese ist eine invasive angiographische Untersuchungsmethode, die mit Hilfe von Kontrastmitteln das Lumen der Koronararterien sichtbar macht. Dabei wird über die Femoralarterie mit einem speziellen Koronarkatheter das Ostium der linken bzw. der rechten Koronararterie selektiv sondiert und durch KM-Injektion das Lumen der Koronararterie dargestellt.

Die Kontrastierung der Koronararterie wird radiographisch digital erfasst. Koronarstenosen oder -verschlüsse können in gleicher Sitzung mit einem Ballonkatheter aufgedehnt (Perkutane Koronarintervention = PCI) und mit einem Stent rekanalisiert werden. Über eine Füllung des linken Herzens mit Kontrastmittel ließen sich Störungen des Kontraktionsablaufs des Herzens unter Durchleuchtung sichtbar machen (Lävokardiographie). Die Untersuchungen in unserer Studie erfolgten nach den aktuell gültigen Leitlinien. (Silber, Albertsson et al. 2005)

4.7.1 Quantitative Koronarangiographie (QCA)

Zur Quantifizierung der bei der Koronarangiographie gewonnenen Bilddaten bedienten wir uns des Anwendungsprogramms „Quantcor [CAAS II] V 5.0“ (Pie Medical Imaging, Maastricht). Die Methode der quantitativen Koronarangiographie beruht auf der

automatischen Konturerkennung eines kontrastmittelgefüllten Gefäßabschnittes anhand der Graustufenveränderung am Gefäßrand. Bei der Analyse wurde das proximale und distale Ende des zuvor gestenteten Gefäßabschnittes bestimmt, die dargestellte Gefäßkontur korrigiert und der Bezugsquerschnitt des vor und hinter der Läsion liegenden Segmentbereiches bestimmt. Zuvor erfolgte die Kalibrierung anhand des platzierten Koronarkatheters.

In unsere Auswertung wurden folgenden Parameter einbezogen. Es wurde der Referenzdurchmesser (RD) des Infarktgefäßes erfasst, dies entspricht dem Diameter des Gefäßes ohne Stenose. Der minimale lumenale Durchmesser (MLD) zeigt die tatsächliche Weite des Gefäßes, das heißt, er misst den Gefäßdurchmesser abzüglich der Einengung durch eine Stenose. Aus den beiden genannten Werten RD und MLD lässt sich die binäre Restenose (BR) berechnen, mit dieser lässt sich eine Aussage über die Prozentzahl einer vorhandenen Stenose treffen. Der *Late luminal loss* gibt den zeitlichen Verlauf des MLD wieder und ist die Differenz aus den beiden gemessenen Werten ($MLD_{6\text{ Monate}} - MLD_{\text{Baseline}}$). Ein negativer Wert bedeutet eine weitere Einengung innerhalb des untersuchten Zeitraumes.

4.8 Seattle Angina Questionnaire (SAQ)

Zur Erfassung der Lebensqualität der Patienten wurde die deutsche Version des Seattle Angina Questionnaire verwandt. Dieser Test wurde speziell auf die Bedürfnisse von KHK-Patienten abgestimmt. Der SAQ ist ein von den Patienten selbständig auszufüllender Fragebogen, bestehend aus 19 Punkten, unterteilt in fünf übergeordnete Einheiten. Skala I besteht aus einer Frage mit neun Unterpunkten und bewertet, wie sehr tägliche Verrichtungen verschiedener Belastungsstufen durch Angina Pectoris Anfälle eingeschränkt werden. Die Skala II erfasst mit einer Frage die aktuelle Stabilität der Angina durch die Beschwerدهäufigkeit durch Angina Pectoris bei der körperlich anstrengsten Verrichtung verglichen mit den vorangegangenen vier Wochen. Skala III beinhaltet die Fragen drei und vier und erfasst, wie häufig Angina Pectoris Anfälle in den letzten vier Wochen auftraten und

wie oft Nitroglycerin eingenommen wurde. Die Zufriedenheit mit der aktuellen Behandlung der Herzerkrankung untersuchten die Fragen fünf bis acht, die der Skala IV zugeordnet sind. In der Skala V werden die Beeinträchtigung der Lebensfreude durch die Beschwerden, die prospektive Lebenszufriedenheit bei anhaltender Symptomatik und die Auseinandersetzung mit dem Tod erfasst (s. Tab. 3). (Spertus, Winder et al. 1995)

Jeder Antwort wird ein Zahlenwert zugeordnet, beginnend mit einem Punkt für die niedrigste Bewertung bis fünf oder sechs Punkte für die höchste Bewertung. Innerhalb der fünf Skalen werden die Punkte addiert. Von dem Skalengesamtergebnis wird die niedrigst mögliche Punktzahl abgezogen, dividiert durch die Streuung der Skala und mit 100 multipliziert. Eine höhere Punktzahl bedeutet eine bessere Funktionalität der Patienten in dem von der Skala erfassten Themenbereich. Zur übersichtlichen Auswertung empfahl Spertus die Punkte in jeder Skala in Bewertungseinheiten zusammenzufassen, die von „sehr beeinträchtigt“ (0 bis 24 Punkte), „deutlich beeinträchtigt“ (25 bis 29 Punkte), „mäßig beeinträchtigt“ (50 bis 74 Punkte) und „kaum beeinträchtigt“ (75 bis 100 Punkte) reichen. Nach Spertus zeigt eine Veränderung von zehn Punkten eine signifikante klinische Änderung.

Skalen	Inhalte der Fragen
Skala I	<ul style="list-style-type: none"> • Wie eingeschränkt sind alltägliche Tätigkeiten mit leichter, mittlerer und schwerer körperlicher Belastung?
Skala II	<ul style="list-style-type: none"> • Wie häufig tritt zur Zeit die Angina Pectoris Symptomatik bei der anstrengsten Tätigkeit auf, im Vergleich zu den letzten vier Wochen?
Skala III	<ul style="list-style-type: none"> • Wie oft trat in den letzten vier Wochen Angina Pectoris auf? • Wie oft wurde Nitroglycerin benötigt?
Skala IV	<ul style="list-style-type: none"> • Wie lästig fällt die Medikamenteneinnahme? • Wie überzeugt sind Sie, dass alles getan wird, um die Angina Pectoris zu behandeln? • Wie zufrieden sind Sie mit den Erläuterungen des Arztes? • Wie zufrieden sind Sie insgesamt mit der Behandlung?

- Skala V**
- Wie sehr ist in den vergangenen vier Wochen durch die Angina Symptomatik Ihre Lebensfreude eingeschränkt?
 - Wie zufrieden wären Sie, wenn Sie mit der momentanen Symptomatik weiter leben müssten?
 - Wie oft denken Sie an einen Herzinfarkt oder daran, dass Sie plötzlich sterben können?
-

Tab. 3: Seattle Angina Questionnaire, der 19-teilige Fragebogen wird thematisch zu fünf Skalen zusammengefasst.

4.9 Datenbank

Für die Dokumentation und Archivierung der relevanten Daten wurde eine eigene ACCESS-Datenbank entwickelt (Windows 2000, Microsoft®). Diese ermöglichte eine umfassende und korrekte Erhebung der Ergebnisse und konnte über Excel direkt in das Statistikprogramm SPSS für Windows übertragen werden (Version 13.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4.10 Statistische Analysen

Die Ergebniswerte sind dargestellt als Mittelwerte \pm Standardabweichung, bzw. Median (Range). Normalverteilte parametrische Variablen wurden mittels t-Tests analysiert. Kategoriale Variablen wurden mittels χ^2 -Tests analysiert. Nicht-normalverteilte Variablen wurden mittels nicht-parametrischer Tests untersucht (Mann-Whitney U-Test, Wilcoxon-Test). Die Analyse des Ereignis-freien Überlebens erfolgte mit einer Kaplan-Meier-Kurve. Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0.05$. Die Statistik wurde mit dem Programm SPSS für Windows (Version 13.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) berechnet.

5. Ergebnisse

5.1 Studienkollektiv

Die Basischarakteristika der Studienpopulation waren in beiden Therapiegruppen vergleichbar, allein die Patienten der Placebogruppe wiesen signifikant häufiger ($p < 0.05$) eine positive Familienanamnese auf als die der Verumgruppe (s. Tab. 4). Alle Patienten zeigten einen subtotalen oder vollständigen Verschluss der Infarktarterie (TIMI Fluss 0 – 1), der zu einem ausgedehnten ST-Hebungsinfarkt geführt hatte. Die durchschnittliche Zeit von den ersten wahrgenommenen Signalen einer Angina pectoris bis zur PCI war in der Placebogruppe geringfügig länger (51 ± 53 Stunden vs. 32 ± 45 Stunden, $p = 0,2$). Die initiale Revaskularisierung konnte bei allen Patienten erfolgreich durchgeführt werden, so dass am Ende der PCI im Infarktgefäß ein TIMI Flussgrad von 2 bis 3 wiederhergestellt werden konnte. Das Zeitintervall von der Intervention bis zum Beginn der Stammzellmobilisierung oder Placebobehandlung war in beiden Gruppen vergleichbar, ebenso wie die Häufigkeit einer Thrombolyse vor der PCI oder des Einsatzes von Glykoprotein IIb/IIIa-Inhibitor. Die Größen der verwendeten Stents lagen zwischen 2,5 mm und 3,5 mm, auch hier waren der mittlere Stentdurchmesser sowie die Zahl der eingesetzten Stents in den beiden Behandlungsgruppen vergleichbar (s. Tab. 4).

	G-CSF	Placebo	P Wert
Patienten [n]	23	21	
Männlich [n]/%	20/87	19/90	NS
Alter [Jahre]	60±11	57±11	NS
Kardiovaskuläre Risikofaktoren			
Bluthochdruck [%]	74	71	NS
Diabetes mellitus [%]	22	24	NS
Zigarettenrauchen [%]	65	52	NS
Hypercholesterinämie [%]	57	43	NS
Positive Familienanamnese [%]	17	48	p < 0,05
Perkutane Koronarintervention			
Infarktarterie (LAD/RCX/RCA)	11 / 3 / 9	12 / 3 / 6	NS
Maximale Kreatinkinase [U/L]	2355±1803	3021±2302	NS
Zeit vom Beginn der Angina bis zur PCI [h, Range]	32±45 (6-160)	51±53 (7-168)	NS
GPIIb/IIIa-Inhibitor [%]	65	43	NS
Thrombolyse vor PCI [%]	17	14	NS
Beginn der Stammzell-Mobilisierung/Placebobehandlung nach PCI [h, Range]	31±24 (2-107)	39±28 (13-135)	NS
Zeit von der PCI bis zur Baseline-MRT [Tage]	8.2±2.6	7.7±2.9	NS
Medikation zum Zeitpunkt 3 Monate			
Aspirin [%]	95	100	NS
Clopidogrel [%]	52	29	NS
Betablocker [%]	100	100	NS
ACE Inhibitor [%]	100	100	NS
Diuretika [%]	42	29	NS

Werte entsprechen Mittelwert±Standardabweichung. G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor, LAD: left anterior descending artery (R. interventricularis anterior), RCX: Arteria ramus circumflexus, RCA, right coronary artery, PCI: perkutane Koronarintervention, MRT: Magnetresonanztomographie. GPIIb/IIIa-Inhibitor: GlykoproteinIIb/IIIa-Inhibitor; ACE: Angiotensin-Converting Enzyme.

Tab. 4: Baseline-Charakteristika der beiden Therapiegruppen

Von 23 eingeschlossenen Verum-Patienten (21 Placebo-Patienten) verweigerten 5 (6) das 4-Wochen-MRT, 4 (3) das 12-Wochen-MRT, 3 (0) den 6-Monats-Herzkatheter und 12 (8) das 12-Monats-MRT (s. Abb. 9).

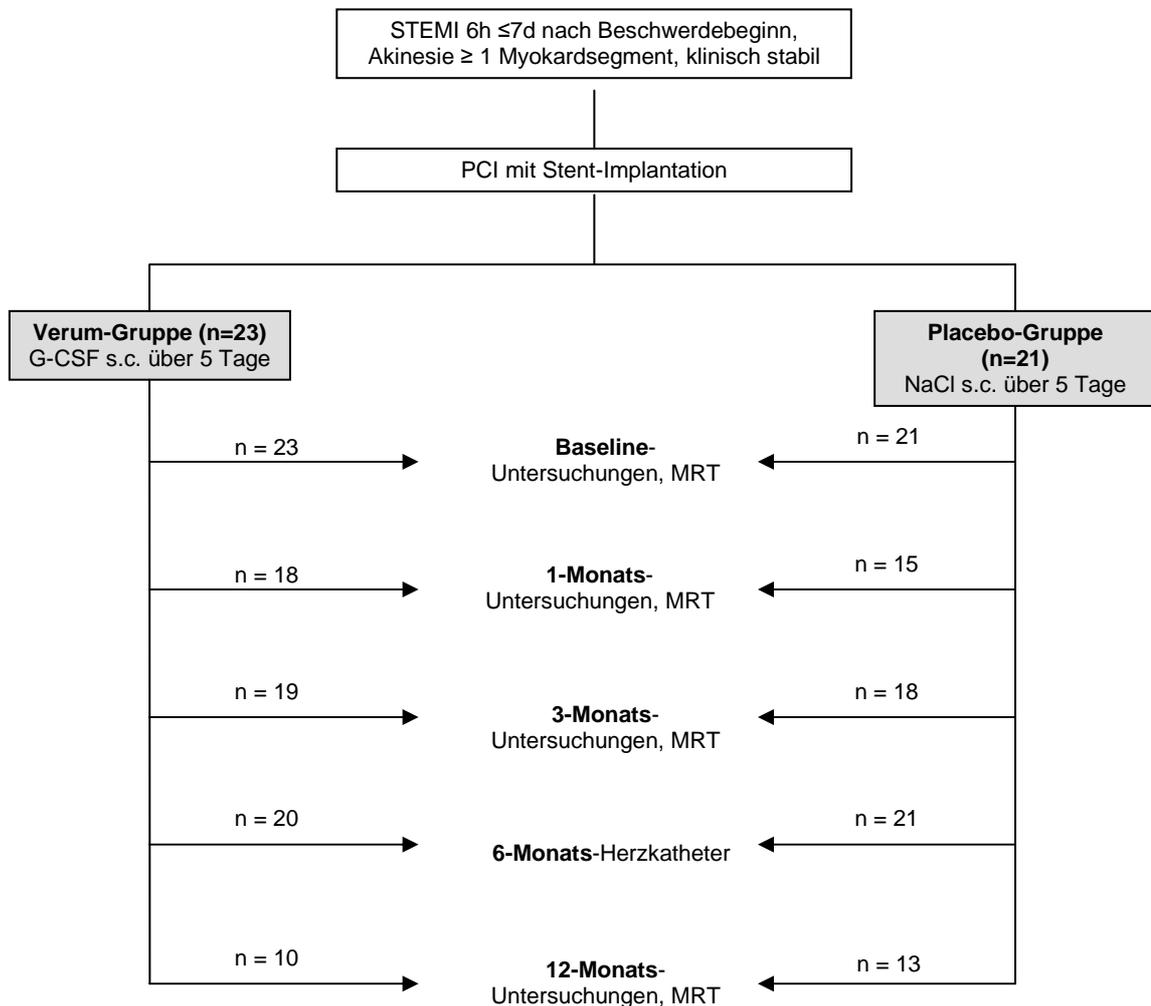


Abb. 9: Studienverlauf

5.2 Verlauf von Leukozytenzahl und Stammzellpopulationen im peripheren Blut

Die Behandlung mit G-CSF führte zu einer signifikanten Mobilisierung verschiedener Stammzell-Populationen (Abb. 9, Tab. 5). Die Leukozyten waren bereits vor dem Therapiebeginn in der G-CSF-Gruppe höher als in der Placebo-Gruppe (11.2 ± 4.0 vs. 9.2 ± 2.4 G/L, $p=0.038$). Die G-CSF-Behandlung führte zu einem vierfachen Anstieg der Leukozyten

auf ein mittleres Maximum von 42.9 ± 25.7 G/L am Tag 5 nach Beginn der Behandlung im Vergleich zur Placebo-Behandlung (7.7 ± 2.3 G/L, $p < 0.001$). Bei der 1- bzw. 3-Monats-Kontrolle lag die Leukozytenzahl wieder im Normbereich (s. Tab. 6).

Die Zahl $CD34^+/CD31^+$ endothelialer Progenitorzellen stieg in der Verumgruppe um den Faktor 23 an (von 2.0 ± 0.9 auf 46.4 ± 32.8 Zellen/ μ L, $p = 0.003$). Unreifere endotheliale Progenitorzellen ($CD34^+/CD133^+$ Zellen) stiegen um den Faktor 28 an (von 1.6 ± 0.9 auf 46.1 ± 32.9 Zellen/ μ L, $p = 0.002$). Die Zahl der mobilisierten $CD34^+/c-kit^+$ -Vorläuferzellen erhöhte sich von 2.5 ± 1.4 auf 41.2 ± 26.8 Zellen/ μ L ($p = 0.008$), die Zahl der $CD34^+$ Zellen, die den Homingrezeptor CXCR4 auf ihrer Oberfläche ko-exprimierten, von 1.2 ± 0.7 auf 19.0 ± 23.3 Zellen/ μ L ($p = 0.008$). Patienten, die Placebo erhalten hatten, zeigten keinen signifikanten Anstieg der Progenitorzellen oder der CXCR4-Expression im peripheren Blut (s. Tab. 5 und Abb. 10).

Parameter	Untersuchungstag	G-CSF (n=23)	Placebo (n=21)	P-Wert
CD34+/CD133+	Vor Behandlung	1.6 ± 0.9	1.8 ± 1.0	NS
	Tag 5	$46.1 \pm 33 \ddagger$	2.2 ± 1.4	< 0.001
CD34+/CD31+	Vor Behandlung	2.0 ± 0.9	2.2 ± 1.0	NS
	Tag 5	$46.4 \pm 32.9 \ddagger$	2.2 ± 1.4	< 0.001
CD34+/c-kit+	Vor Behandlung	2.5 ± 1.4	2.2 ± 1.2	NS
	Tag 5	$41.2 \pm 26.8 \P$	3.3 ± 3.3	< 0.001
CD34+/CXCR4+	Vor Behandlung	1.2 ± 0.7	1.3 ± 0.6	NS
	Tag 5	$19.0 \pm 23.3 \S$	1.2 ± 0.7	0.039

Werte entsprechen Mittelwerten \pm Standardabweichung. †: $p = 0.002$ zwischen Ausgangswert und Tag 5; ‡: $p = 0.003$ zwischen Ausgangswert und Tag 5. ¶: $p = 0.008$ zwischen Ausgangswert und Tag 5. §: $p = 0.008$ zwischen Ausgangswert und Tag 5.

Tab. 5: Verlauf der Stammzellspiegel im peripheren Blut

Parameter	Untersuchungstag	G-CSF (n=23)	Placebo (n=21)	p-Wert
Leukozyten [G/L]	Vor Behandlung	11.2±4	9.2±2.4	0.038
	Tag 5	42.9±25.7*	7.7±2.3	<0.001
	1 Monat	6.8±1.9	6.4±2.0	NS
	3 Monate	7.1±1.8	7.4±2.4	NS

Werte entsprechen Mittelwerten ± Standardabweichung. *: p<0.001 zwischen Ausgangswert und Tag 5.

Tab. 6: Verlauf der Leukozytenspiegel im peripheren Blut

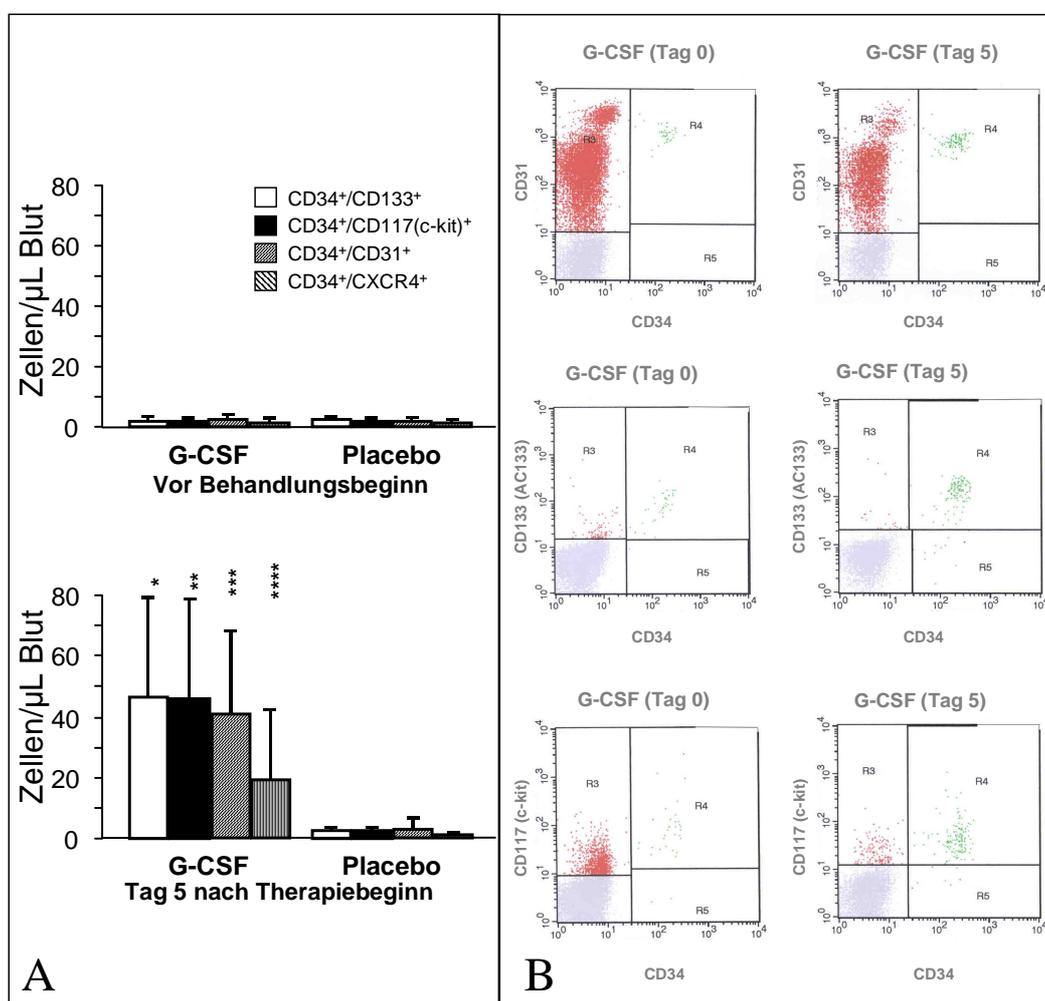


Abb. 10: Durchflusszytometrische Analyse der mobilisierten Stammzellpopulationen vor und 5 Tage nach Behandlung mit G-CSF oder Placebo.

CD34⁺ Stammzell-Populationen im peripheren Blut (FACS Analyse). A: Quantitative Messungen von CD34⁺/CD31⁺, CD34⁺/133⁺, CD34⁺/CD117⁺ und CD34⁺/CXCR4⁺ Zellen bei Placebo- und G-CSF-behandelten Patienten vor (oben) und an Tag 5 der Behandlung (unten), *p<0.001, **p<0.001, ***p<0.001, ****p=0.039 bei Vergleich mit Placebo am Tag 5. B: Die R4 Populationen zeigen einen Anstieg von CD34⁺/CD31⁺ (oben), CD34⁺/CD133⁺ (Mitte), CD 34⁺/c-kit⁺ (unten) Vorläuferzellen bei einem repräsentativen Patienten vor und am Tag 5 der Behandlung mit G-CSF.

5.3 Verlauf von Entzündungsparametern und anderen Laborwerten

Wie in Tab. 7 ersichtlich, zeigten sich in beiden Behandlungsgruppen mäßig erhöhte Entzündungsparameter vor Therapiebeginn (CRP 8.4 ± 8.4 mg/dL (Placebo) vs. 5.8 ± 6.4 mg/dL (G-CSF), $p=0.264$). Das CRP sank in beiden Patientengruppen im Verlauf ab; am Tag 5 lag das CRP in der G-CSF-Gruppe im Trend höher als in der Placebogruppe (2.5 ± 3.3 mg/dL (Placebo) vs. 4.1 ± 2.0 mg/dL (G-CSF), $p=0.062$). Interleukin-6 zeigte sich ebenfalls vor Beginn der Therapie deutlich erhöht und fiel im Verlauf der Behandlung in der G-CSF-Gruppe (Baseline: 64 ± 67 ng/mL, Tag 5 der Behandlung: 18 ± 13 ng/mL) wie in der Placebogruppe (Baseline: 50 ± 70 , Tag 5 der Behandlung: 12 ± 12 ng/mL, $p=0.126$ vs. G-CSF) deutlich ab.

Die Thrombozytenzahl blieb während des Studienverlaufs unverändert im Normbereich. Im Verlauf der Behandlung mit G-CSF kam es zu keinen signifikanten Zeichen einer eventuellen Leberzellschädigung. Bezüglich der Transaminasen fand sich kein signifikanter Unterschied, nur die γ -GT war in der Placebogruppe nach 4 Wochen signifikant höher als in der Verumgruppe (s. Tab. 8).

Die Serumspiegel von TNF- α stiegen während der Behandlung mit G-CSF an und waren zum Zeitpunkt der maximalen Mobilisation signifikant höher im Vergleich zu Placebo-behandelten Patienten, die keine auffälligen Veränderungen zeigten (46 ± 21 ng/mL vs. 32 ± 20 ng/mL, $p=0.032$). Ein ähnliches Bild wiesen die Serumspiegel der TNF-Rezeptoren p55 und p75 auf. Beide zeigten unter G-CSF Therapie nahezu eine Verdoppelung vom Ausgangswert mit signifikant höheren Serumspiegel im Vergleich zur Kontrolle (s. Tabelle 9).

Alle Laborwerte lagen bis auf wenige Ausnahmen, auf die im nächsten Kapitel eingegangen werden soll, bei den nachfolgenden Untersuchungen von 3 bzw. 12 Monaten im Normbereich.

	Untersuchungstag	G-CSF (n=23)	Placebo (n=21)	P-Wert
CRP [mg/dL]	Vor Behandlung	5.8±6.4	8.4±8.4	NS
	Tag 5	4.1±2	2.5±3.3	0.062
	1 Monat	0.5±0.2	0.6±0.1	NS
	3 Monate	0.5±0.3	0.5±0.1	NS
IL-6 [ng/mL]	Vor Behandlung	64±67	50±70	NS
	Tag 5	18±13	12±12	NS
	1 Monat	5.2±2.3	4.9±2.9	NS
	3 Monate	5.2±3.8	4.6±2.6	NS

Werte entsprechen Mittelwerten ± Standardabweichung. CRP: C-reaktives Protein, IL: Interleukin.

Tab. 7: Verlauf von Entzündungsparametern

Parameter	Untersuchungstag	G-CSF (n=23)	Placebo (n=21)	P-Wert
Thrombozyten [G/L]	Vor Behandlung	218±59	212±73	NS
	Tag 5	237±56	282±76	0.029
	1 Monat	236±62	251±95	NS
	3 Monate	230±68	222±54	NS
γGT [U/L]	Vor Behandlung	48±59	78±80	NS
	Tag 5	71±66	94±104	NS
	1 Monat	32±21	56±59	0.09
GOT [U/L]	Vor Behandlung	194±249	117±71	NS
	Tag 5	52±29	45±33	NS
	1 Monat	24±7	25±8	NS
GPT [U/L]	Vor Behandlung	78±60	62±28	NS
	Tag 5	73±50	63±31	NS
	1 Monat	34±15	38±19	NS

Werte entsprechen Mittelwerten ± Standardabweichung. γGT: γ-Glutaryl-Transferase. GOT: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase. GPT: Glutamat-Pyruvat-Transaminase.

Tab. 8: Verlauf von Thrombozyten und Leberwerte.

Parameter	Untersuchungstag	G-CSF (n=23)	Placebo (n=21)	P-Wert
TNF- α [ng/mL]	Vor Behandlung	26 \pm 17	32 \pm 20	NS
	Tag 5	46 \pm 21	29.2 \pm 9.9	0.032
	1 Monat	27.8 \pm 8.5	23.8 \pm 9.4	NS
	3 Monate	27.0 \pm 12.1	25 \pm 14	NS
TNFRp55 [ng/mL]	Vor Behandlung	2.9 \pm 2.5	2.4 \pm 0.5	NS
	Tag 5	4.7 \pm 2	2.2 \pm 0.6	<0.001
	1 Monat	2.1 \pm 0.5	1.8 \pm 0.6	NS
	3 Monate	2.0 \pm 0.4	1.9 \pm 0.6	NS
TNFRp75 [ng/mL]	Vor Behandlung	4.9 \pm 1.9	5.2 \pm 1.4	NS
	Tag 5	9.5 \pm 3.8	4.8 \pm 1.4	<0.001
	1 Monat	4.3 \pm 1.4	4.3 \pm 1.9	NS
	3 Monate	4.2 \pm 1.2	4.3 \pm 1.7	NS

Werte entsprechen Mittelwerten \pm Standardabweichung. TNF- α : Tumornekrosefaktor α ; TNFRp55: Tumornekrosefaktorrezeptor p55; TNFRp75: Tumornekrosefaktor-Rezeptor p75.

Tab. 9: Veränderungen von Tumornekrosefaktor und –Rezeptoren

5.4 Myokardiale Funktions- und Perfusionsanalyse mittels MRT

Baseline-, 1-Monats- und 3-Monatsuntersuchungen mittels MRT wurden 8 \pm 3, 41 \pm 17, bzw. 109 \pm 23 Tage nach PCI durchgeführt. Es ergaben sich keine Unterschiede in der zeitlichen Durchführung der MR-Untersuchungen zwischen G-CSF- und Placebo-behandelten Patienten. 39 Patienten hatten das 3-Monats-Follow-Up komplettiert (G-CSF: n=20, Placebo: n=19).

Zu der 1-Jahres-Kontrolle konnten in der G-CSF-Gruppe 10 und in der Placebo-Gruppe 13 Probanden MR-tomographisch analysiert werden.

5.4.1 Globale und regionale Myokardfunktion

Primäres Endziel der Studie waren die globale und regionale myokardiale Pumpfunktion nach 3 Monaten. Die Auswertung wurde bei 37 Patienten (19 Verum/18

Placebo) durchgeführt, die eine vollständige, auswertbare MR-Untersuchung sowohl am Baseline-, als auch am 12-Wochen-Termin vorweisen konnten.

In der Baseline-Analyse war die linksventrikuläre Auswurffraktion (ejection fraction = EF) in beiden Gruppen vergleichbar reduziert (G-CSF: $41\pm 12\%$, Placebo: $44\pm 9\%$, $p=NS$). Die EF verbesserte sich im Mittel um 6.2 ± 9.0 Prozentpunkte vom Ausgangswert zur 3-Monatskontrolle bei G-CSF-behandelten Patienten und um 5.3 ± 9.8 Prozentpunkte bei den Patienten der Placebogruppe ($p=0.770$, s. Abb. 11, 12 und Tabelle 10). Bei beiden Gruppen sank jedoch die EF nach einem Jahr leicht auf $45,7\pm 15,1\%$ (G-CSF) und $42,9\pm 15,4\%$ (Placebo)(s. Tab. 10).

Die Analyse der regionalen Herzfunktion zeigte eine vergleichbare Dysfunktion vom Infarkt- und Infarkttrandareal in beiden Behandlungsgruppen zum Zeitpunkt der Ausgangsmessung eine Woche nach PCI. Nach G-CSF-Behandlung verbesserte sich die systolische myokardiale Wanddickenzunahme im Infarktbereich über 3 Monate diskret von 2.7 ± 2.3 mm auf 3.1 ± 1.5 mm. Die Analyse der Infarkttrandzone zeigte eine ähnliche Verbesserung von 2.9 ± 1.6 mm auf 3.5 ± 2.6 mm. Im Vergleich zu Placebo-behandelten Patienten ergab sich jedoch kein signifikanter Unterschied (s. Abb. 13 und Tab. 11).

Beide Gruppen zeigten nach dem Infarktereignis erhöhte linksventrikuläre enddiastolische (LVEDV) und endsystolische Volumina (LVESV) bei der Ausgangsuntersuchung (s. Abb. 14, Tab. 12). Bei G-CSF behandelten Patienten blieb das LVEDV nahezu unverändert (Baseline: 140 ± 44 mL, 3 Monate: 145 ± 61 mL, $p=NS$). Bei Placebo-behandelten Patienten vergrößerte sich das LVEDV um nahezu 10% von 149 ± 32 mL auf 162 ± 52 mL; allerdings war auch dieser Anstieg nicht signifikant.

Die Schlagvolumina waren vergleichbar in beiden Gruppen und stiegen im Verlauf in der G-CSF-Gruppe leicht, in der Placebo-Gruppe signifikant an (von 63 ± 20 mL auf 77 ± 22 mL, $p=0.041$, s. Tabelle 13). Die anfänglichen Infarkt volumina waren vergleichbar in beiden Gruppen und verringerten sich im Verlauf über 3 Monate signifikant nach G-CSF-Behandlung (von 30 ± 11 mL auf 25 ± 11 mL, $p=0.015$). Das Infarktvolumen bei Placebo-behandelten Patienten reduzierte sich im Trend (von 35 ± 20 mL auf 31 ± 18 mL, $p=0.08$, s.

Abb. 15, Tabelle 13). Eine mikrovaskuläre Obstruktion wurde bei 33% (G-CSF-Gruppe), bzw. 29% (Placebo-Gruppe) der Fälle beobachtet ($p=1.0$).

	G-CSF (n=19)	Placebo (n=18)	P Wert †
Ejectionfraction (EF)			
Baseline [%]	41,1±12	43,8±9	NS
12 Wochen [%]	47±12	49,5±12	NS
P Wert ‡	0.007	0.035	
$\Delta_{\text{ejection fraction}}$ [%points]	6.2±9.0	5.3±9.8	NS
12 Monate [%]	45,7±15,1	42,9±15,4	NS
P Wert *	NS	NS	
$\Delta_{\text{ejection fraction}}$ [%points]	3,2±12,6	0,88±11,8	NS

Werte repräsentieren Mittelwerte \pm Standardabweichung; † zwischen Behandlungsgruppen; ‡ zwischen Baseline (1 Woche nach PCI) und 3 Monats Follow-up Magnetresonanztomographie; * zwischen Baseline (1 Woche nach PCI) und 12 Monats Follow-up Magnetresonanztomographie. G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; PCI: perkutane Koronarintervention.

Tab. 10: Veränderung der globalen Myokardfunktion (Ejection fraction, analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von der Ausgangsuntersuchung bis zur 3-Monatskontrolle.

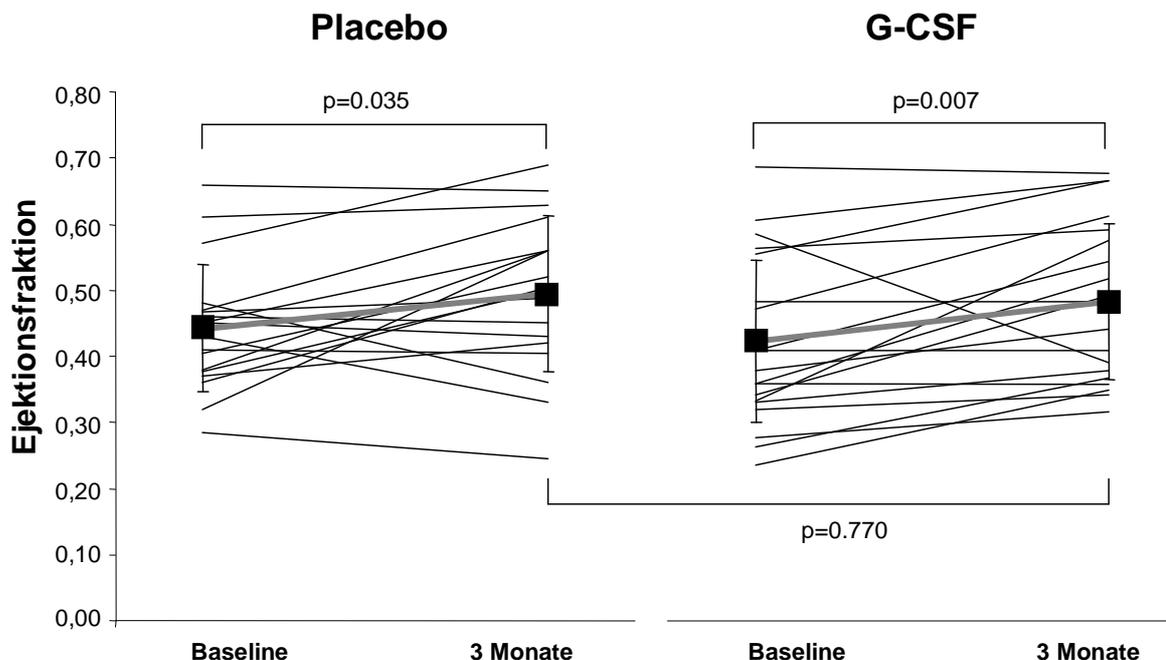


Abb. 11: Veränderung der globalen Myokardfunktion (Ejectionsfraktion, analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von der Ausgangsuntersuchung bis zur 3-Monatskontrolle. Links: Placebo-behandelte Patienten (n=18); rechts: G-CSF-behandelten Patienten (n=19). Fett gesetzte Quadrate entsprechen Mittelwerten±SD.

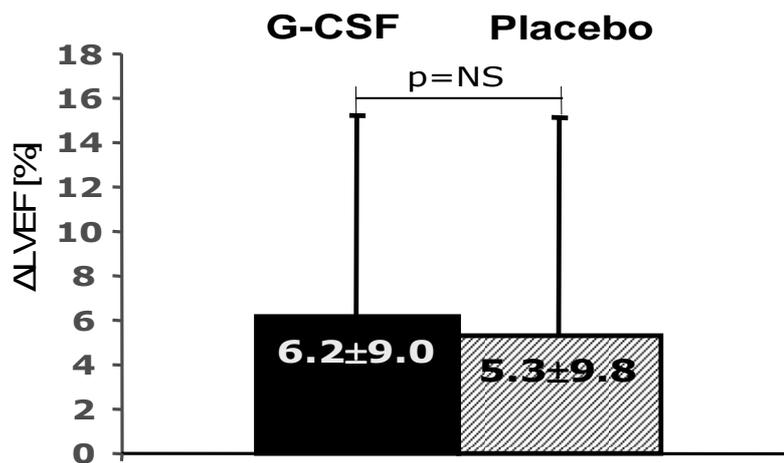


Abb. 12: Veränderung der globalen Myokardfunktion (Delta-Ejektionsfraktion, analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von der Ausgangsuntersuchung bis zur 3-Monatskontrolle. Mittelwert±SD. G-CSF-behandelte Patienten (n=19); Placebo-behandelte Patienten (n=18).

	G-CSF (n=19)	Placebo (n=18)	P Wert †
Systolische myokardiale Wanddickenzunahme im Infarktareal			
Baseline [mm]	2.7±2.3	3.1±2.5	NS
3 Monate [%]	3.1±1.5	3.6±1.7	NS
P Wert ‡	NS	NS	
$\Delta\text{SMT}_{\text{Infarktareal}}$ [mm]	0.5±2.0	0.9±2.1	NS
Systolische myokardiale Wanddickenzunahme in der Infarkttrandzone			
Baseline [mm]	2.9±1.6	3.0±1.9	NS
3 Monate [%]	3.5±2.6	3.2±2.0	NS
P Wert ‡	NS	NS	
$\Delta\text{SMT}_{\text{Randzone}}$ [mm]	0.4±2.3	0.5±2.2	NS

Werte repräsentieren Mittelwerte \pm Standardabweichung; † zwischen Behandlungsgruppen; ‡ zwischen Baseline (1 Woche nach PCI) und 3 Monats Follow-up Magnetresonanztomographie. G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; PCI: perkutane Koronarintervention; SMT: systolische myokardiale Wanddickenzunahme.

Tab. 11: Veränderung der regionalen Myokardfunktion (systolische myokardiale Wanddickenzunahme im Infarktareal und in der Infarkttrandzone, analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von der Ausgangsuntersuchung bis zur 3-Monatskontrolle.

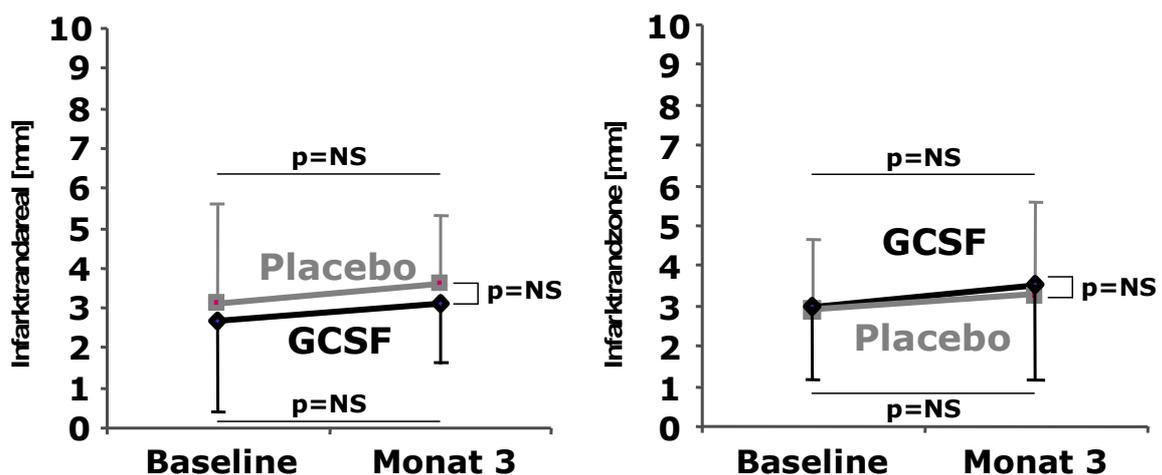


Abb. 13: Veränderung der regionalen Myokardfunktion in der Infarktzone und im Infarkttrandareal, (analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von der Ausgangsuntersuchung bis zur 3-Monatskontrolle. Systolische Wanddickenzunahme. Placebo-behandelte Patienten (n=18); G-CSF-behandelte Patienten (n=19). Mittelwert \pm SD.

	G-CSF (n=19)	Placebo (n=18)	P Wert †
LVEDV			
Baseline [ml]	140±44	149±32	NS
3 Monate [%]	145±61	162±52	NS
P Wert‡	NS	NS	
Δ_{LVEDV} [ml]	2±42	13±46	NS
LVESV			
Baseline [ml]	83±38	87±21	NS
3 Monate [%]	79±46	85±44	NS
P Wert‡	NS	NS	
Δ_{LVESV} [ml]	-5±26	-2±35	NS

Werte repräsentieren Mittelwerte \pm Standardabweichung; † zwischen Behandlungsgruppen; ‡ zwischen Baseline (1 Woche nach PCI) und 3 Monats Follow-up Magnetresonanztomographie. G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; PCI: perkutane Koronarintervention.

Tab. 12: Veränderung der globalen Myokardfunktion (LVEDV und LVESV, analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von der Ausgangsuntersuchung bis zur 3-Monatskontrolle.

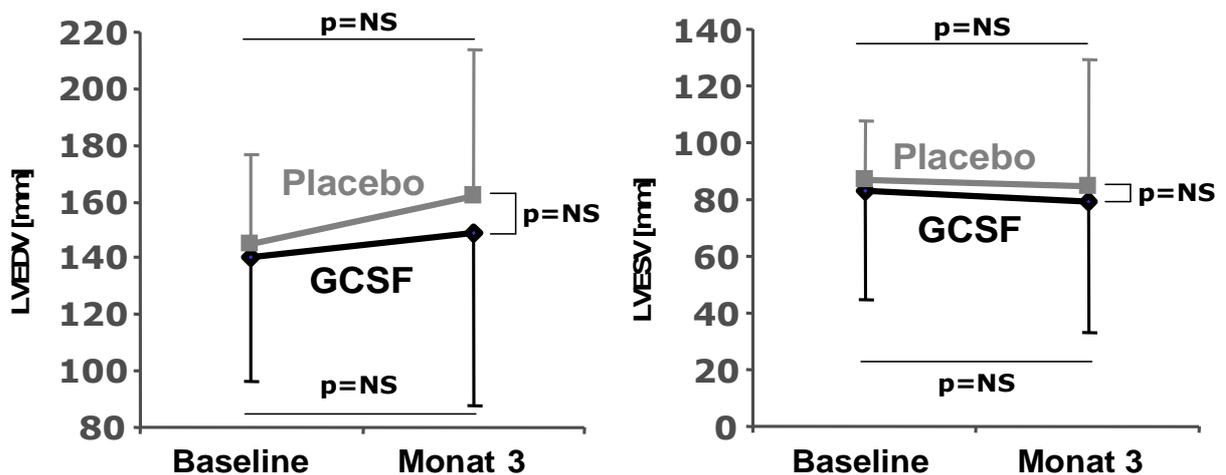


Abb. 14: Veränderung des LVEDV und des LVESV in beiden Therapiegruppen von der Ausgangsuntersuchung 1 Woche nach PCI (Baseline) und 3 Monaten. Gemessen mittels Kernspintomographie. Placebo-behandelte Patienten (n=18); G-CSF-behandelte Patienten (n=19). Mittelwert \pm SD.

	G-CSF (n=19)	Placebo (n=18)	P Wert †
Schlagvolumen			
Baseline [ml]	57±21	63±20	NS
3 Monate [%]	65±21	77±22	NS
P Wert ‡	NS	0.041	
ΔSchlagvolumen [ml]	6±24	15±28	NS
Infarktvolumen			
Baseline [ml]	30±11	35±20	NS
3 Monate [%]	25±11	31±18	NS
P Wert ‡	0.015	0.08	
ΔInfarktvolumen [ml]	-5±6	-5±11	NS

Werte repräsentieren Mittelwerte ± Standardabweichung; † zwischen Behandlungsgruppen; ‡ zwischen Baseline (1 Woche nach PCI) und 3 Monats Follow-up Magnetresonanztomographie. G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; PCI: perkutane Koronarintervention.

Tab. 13: Veränderung von Schlag- und Infarktvolumen (analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von der Ausgangsuntersuchung bis zur 3-Monatskontrolle.

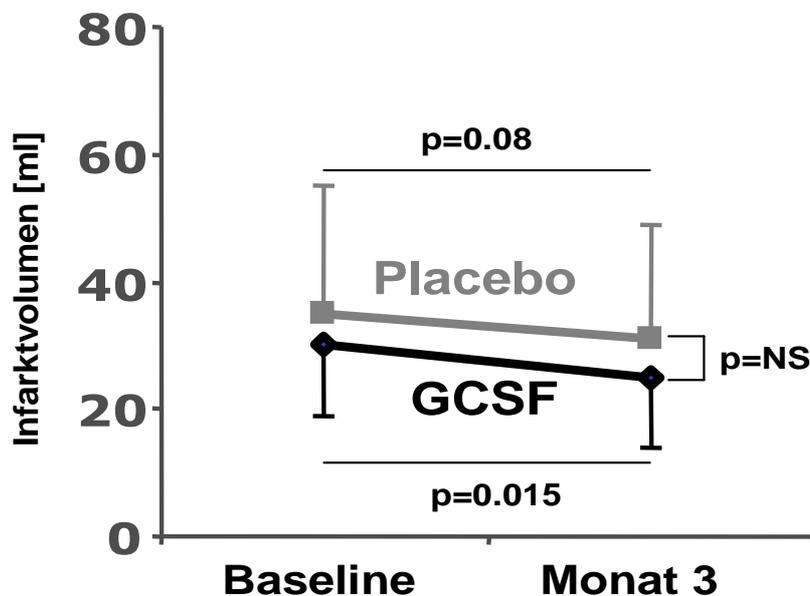


Abb. 15: Infarktvolumen in beiden Therapiegruppen von der Ausgangsuntersuchung 1 Woche nach PCI (Baseline) und 3 Monaten. Gemessen mittels Kernspintomographie. Placebo-behandelte Patienten (n=18); G-CSF-behandelte Patienten (n=19). Mittelwert±SD.

5.4.2 Globale und regionale Myokardfunktion im Verlauf über 12 Wochen unter Berücksichtigung der 4-Wochenuntersuchung

Wie bereits dargelegt, wurden die MR-Untersuchungen nicht nur nach 3 Monaten, sondern auch nach 4 Wochen durchgeführt, um einen zeitlichen Verlauf zu ermitteln. Zum Vergleich dieser Daten wurden per Protokoll nur Patienten ausgewertet, die vollständige Baseline-, 4-Wochen- und 12-Wochen-Kontrolluntersuchungen aufwiesen.

Für diese Analyse der linksventrikulären Auswurfraction waren 17 Patienten aus dem G-CSF- und 14 Patienten aus dem Kontrollkollektiv auswertbar. Zur Baseline-Untersuchung wurden in beiden Therapiegruppen reduzierte Ejection fractions (EF) gemessen, wobei die G-CSF-Gruppe die schlechteren Ausgangswerte besaß (G-CSF: $40,6 \pm 12,6\%$, Placebo: $45,9 \pm 9,3\%$). Im Laufe der nächsten 4 Wochen verbesserte sich die EF um 3,4 Prozentpunkte in der Verum-, und 3,1 Punkte in der Placebogruppe, nach 12 Wochen erfolgte ein weiterer Anstieg um 2,5 bzw. 3,3 Prozentpunkte hinzu (4 Wochen G-CSF: $44,6 \pm 11\%$, Placebo: $49 \pm 10,6\%$; 12 Wochen G-CSF: $47,1 \pm 12,1\%$, Placebo: $52,3 \pm 10,2\%$). Sowohl der Vergleich der Gruppen untereinander, als auch des zeitlichen Verlaufs erbrachte keine signifikanten Unterschiede (s. Abb. 16 und Tab. 14)

Hinsichtlich der linksventrikulären enddiastolischen und endsystolischen Volumina liegen in beiden Gruppen nach Myokardinfarkt erhöhte Volumina bei der Ausgangsuntersuchung vor. Im G-CSF-Kollektiv lag die LVEDV bei 143 ml, stieg nach 4 Wochen auf 159 ml an und sank nach 12 Wochen auf 151 ml ab. Die Placebo-Patienten zeigten im Mittel hingegen anfangs stärker erhöhte Volumina (156 ml), auch diese stiegen, allerdings weniger deutlich, nach 4 Wochen auf 157 ml an und sanken ebenfalls nach 3 Monaten ab, hier lag der Wert mit 155 ml sogar unter dem ursprünglichen Ausgangswert. Insgesamt waren hier die Schwankungen deutlich geringer ausgeprägt als in der Verumgruppe, die Unterschiede waren nicht signifikant (s. Abb. 17 und Tab. 15). Bei dem LVESV zeigte sich in der G-CSF-Gruppe ebenfalls ein Gipfel nach 4 Wochen, während in der Placebo-Gruppe ein stetiger Abfall zu verzeichnen war, nach 12 Wochen wiesen diese Patienten im Mittel ein niedrigeres LVESV auf, obwohl sie ein höheres Ausgangsniveau

aufwiesen (G-CSF Baseline: 86 ml, 4 Wochen: 92 ml, 12 Wochen: 84 ml; Placebo Baseline: 88 ml, 4 Wochen: 82 ml, 12 Wochen: 75 ml).

Die Schlagvolumina stiegen in beiden Gruppen ungefähr gleich an, auch hier wiesen die G-CSF-Patienten zu Beginn der Behandlung deutlich schlechtere Werte auf. Sie steigerten ihr Schlagvolumen im Laufe der 12 Wochen von 56 ml um 11 ml auf 67 ml. In der Placebogruppe lag das Ausgangsniveau bei 68 ml und stieg um 13 ml auf 81 ml an (s. Abb. 18 und Tab. 16). Bei den Infarkt volumina zeigten sich in beiden Kollektiven vergleichbare Werte, sowohl die Baseline- als auch die 12 Wochen-Ergebnisse betreffend. Unterschied hier ist eine deutliche Verbesserung von 33 ml Ausgangsniveau auf 26 ml nach 4 Wochen in der Placebogruppe. Allerdings ist dieser Effekt nach 12 Wochen nicht mehr nachweisbar (Baseline G-CSF: 32 ml, Placebo: 33 ml; 4 Wochen G-CSF: 29 ml, Placebo: 26 ml; 12 Wochen G-CSF: 28 ml, Placebo: 28 ml). Auch diese Werte zeigten keine Signifikanzen (s. Abb. 19 und Tab. 16).

	G-CSF (n=17)	Placebo (n=14)	P Wert †
Ejectionfraction (EF)			
Baseline [%]	40,6±12,6	45,9±9,3	NS
4 Wochen [%]	44,6±11	49±10,6	NS
P Wert ¥	NS	NS	
12 Wochen [%]	47,1±12,1	52,3±10,2	NS
P Wert ‡	NS	NS	
P Wert *	NS	NS	

Werte repräsentieren Mittelwerte ± Standardabweichung; † zwischen Behandlungsgruppen; ¥ zwischen Baseline (1 Woche nach PCI) und 4 Wochen Follow-up; ‡ zwischen Baseline und 12 Wochen; * zwischen 4 Wochen und 12 Wochen. Magnetresonanztomographie. G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; PCI: perkutane Koronarintervention.

Tab. 14: Veränderung der globalen Myokardfunktion (Ejection fraction, analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von der Baseline-, 4-Wochen und 12 Wochenuntersuchung. Mittelwert±SD.

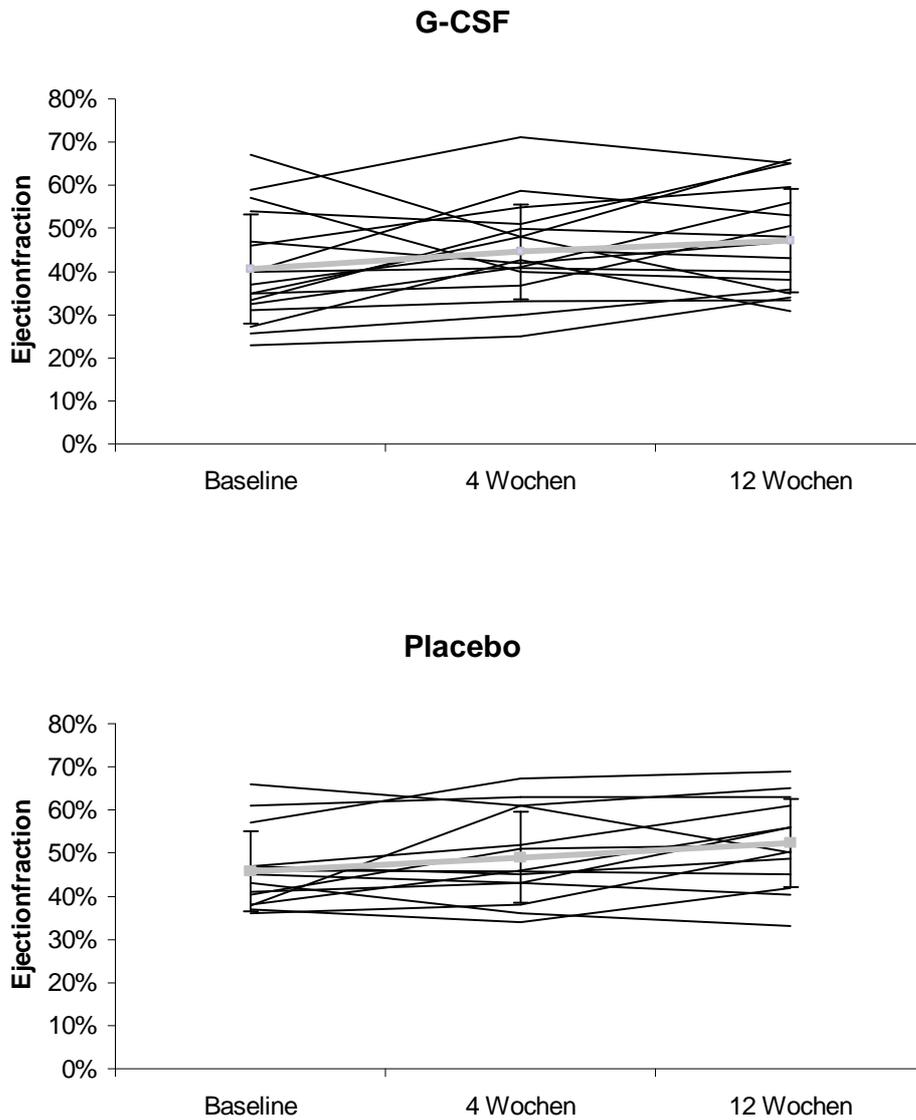


Abb. 16: Veränderung der globalen Myokardfunktion (ejectionfraction) in beiden Therapiegruppen von der Baseline- (1 Woche nach PTCA) zur 4-Wochen- und 12-Wochen-Kontrolluntersuchung. Gemessen mittels Magnetresonanztomographie. G-CSF-behandelte Patienten (n=17); Placebo-behandelte Patienten (n=14). Die fettgesetzten Quadrate entsprechen Mittelwert±SD.

	G-CSF (n=14)	Placebo (n=13)	P Wert †
LVEDV			
Baseline [ml]	143±48	156±30	NS
4 Wochen [ml]	159±54	157±44	NS
P Wert ¥	NS	NS	
3 Monate [ml]	151±62	155±47	NS
P Wert ‡	NS	NS	
P Wert *	NS	NS	
LVESV			
Baseline [ml]	86±38	88±23	NS
4 Wochen [ml]	92±43	82±31	NS
P Wert ¥	NS	NS	
3 Monate [ml]	84±48	75±31	NS
P Wert ‡	NS	NS	
P Wert *	NS	NS	

Werte repräsentieren Mittelwerte ± Standardabweichung; † zwischen Behandlungsgruppen; ¥ zwischen Baseline (1 Woche nach PCI) und 4 Wochen Follow-up; ‡ zwischen Baseline und 12 Wochen; * zwischen 4 Wochen und 12 Wochen. Magnetresonanztomographie. G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; LVEDV: linksventrikuläres enddiastolisches Volumen; LVESV: linksventrikuläres endsystolisches Volumen; PCI: perkutane Koronarintervention.

Tab. 15: Veränderung der globalen Myokardfunktion (LVEDV und LVESV, analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von Baseline-, 4-Wochen- und 12-Wochen-Untersuchung. Mittelwert±SD.

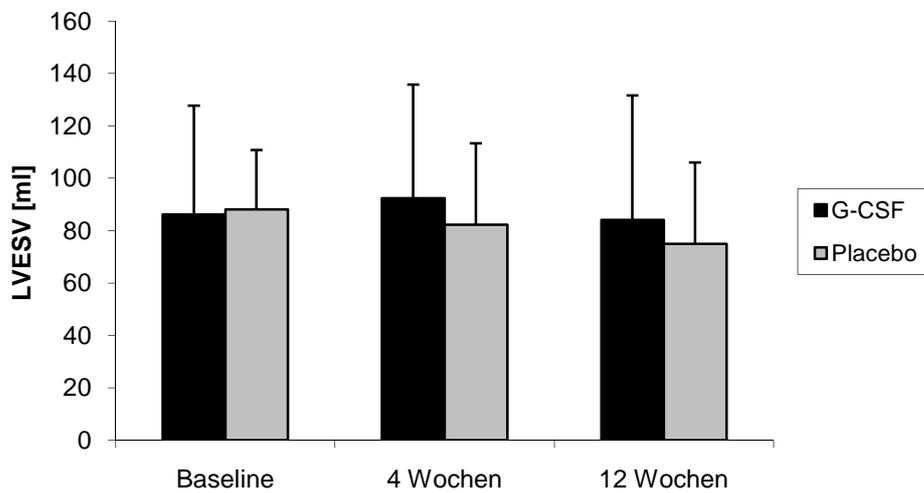
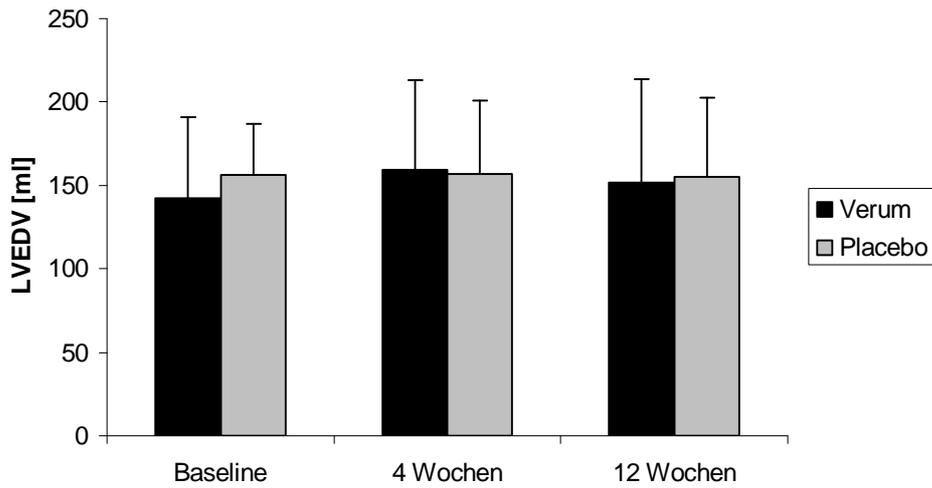


Abb. 17: Veränderung des LVEDV und des LVESV in beiden Therapiegruppen von der Baseline- (1 Woche nach PCI) zur 4-Wochen- und 12-Wochen-Kontrolluntersuchung. Gemessen mittels Magnetresonanztomographie. G-CSF-behandelte Patienten (n=14); Placebo-behandelte Patienten (n=13). Mittelwert±SD.

	G-CSF (n=14)	Placebo (n=13)	P Wert †
Schlagvolumen			
Baseline [ml]	56±21	68±19	NS
4 Wochen [ml]	64±26	74±23	NS
P Wert¥	NS	NS	
3 Monate [ml]	67±21	81±25	NS
P Wert‡	NS	NS	
P Wert *	NS	NS	
Infarktvolumen			
	(n=12)	(n=10)	
Baseline [ml]	32±12	33±13	NS
4 Wochen [ml]	29±12	26±13	NS
P Wert¥	NS	NS	
3 Monate [ml]	28±10	28±12	NS
P Wert‡	NS	NS	
P Wert *	NS	NS	

Werte repräsentieren Mittelwerte ± Standardabweichung; † zwischen Behandlungsgruppen; ¥ zwischen Baseline (1 Woche nach PCI) und 4 Wochen Follow-up; ‡ zwischen Baseline und 12 Wochen; * zwischen 4 Wochen und 12 Wochen. Magnetresonanztomographie. G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; PCI: perkutane Koronarintervention.

Tab. 16: Veränderung der globalen Myokardfunktion (Schlag- und Infarktvolumen, analysiert mittels Magnetresonanztomographie) von Baseline-, 4-Wochen- und 12-Wochen-Untersuchung. Mittelwert±SD.

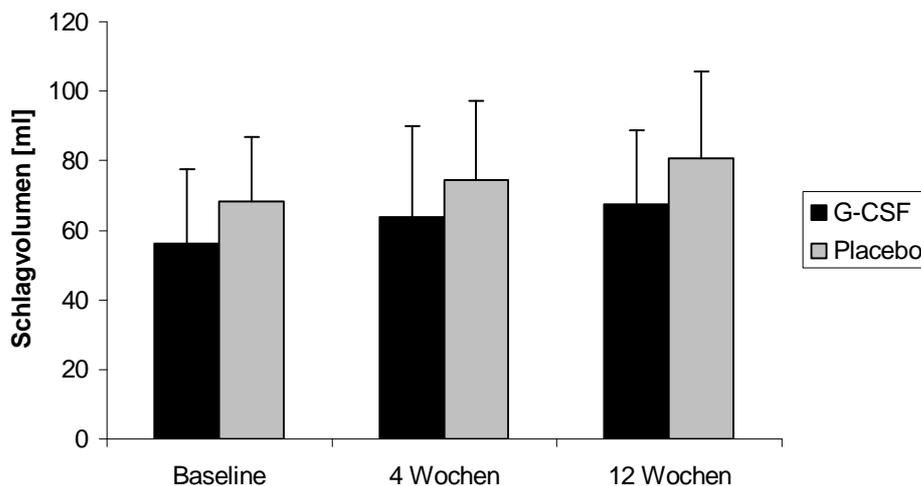


Abb. 18: Schlagvolumen in beiden Therapiegruppen der Baseline- (1 Woche nach PCI), 4-Wochen- und 12-Wochen-Kontrolluntersuchung. Gemessen mittels Magnetresonanztomographie. G-CSF-behandelte Patienten (n=14); Placebo-behandelte Patienten (n=13). Mittelwert±SD.

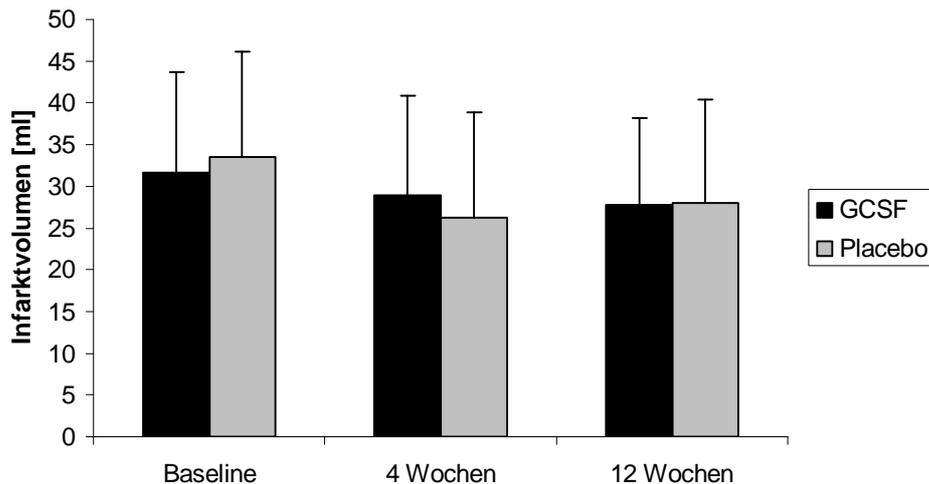


Abb. 19: Infarktvolumen in beiden Therapiegruppen der Baseline- (1 Woche nach PCI), 4-Wochen- und 12-Wochen-Kontrolluntersuchung. Gemessen mittels Magnetresonanztomographie. G-CSF-behandelte Patienten (n=12); Placebo-behandelte Patienten (n=10). Mittelwert±SD.

5.4.3 Myokardperfusion

Die Perfusionsdaten waren sowohl im G-CSF- als auch im Placebo-Kollektiv aufgrund von Artefakten bei jeweils 17 Patienten vollständig auswertbar. In der G-CSF behandelten Gruppe lag die Ruheperfusion im Infarktareal zum Ausgangszeitpunkt signifikant über der der Placebo-behandelten Patienten ($\text{Upslope}_{\text{Rest}}$ 1.1 ± 0.5 vs. 0.7 ± 0.4 , $p=0.048$). Das gleiche Bild zeigte sich in der 1-Monatskontrolluntersuchung ($\text{Upslope}_{\text{Rest}}$ 1.1 ± 1.2 vs. 0.7 ± 0.4 , $p=0.016$, s. Tab. 17, Abb. 20). Die Ruheperfusion nach 3 Monaten war leicht vermehrt bei G-CSF behandelten Patienten ($\text{Upslope}_{\text{Rest}}$ 1.0 ± 0.5 vs. 0.8 ± 0.5 , $p=\text{NS}$). Im Remoteareal war ebenfalls eine leicht gesteigerte Perfusion in Ruhe bei G-CSF- im Vergleich zu Placebo-behandelten Patienten zu verzeichnen. Die Adenosin-induzierte Hyperämie, die nach 1 und 3 Monaten durchgeführt wurde, führte zu einer gesteigerten Perfusion sowohl bei G-CSF als auch bei Placebo-behandelten Patienten im Infarkt- und Remoteareal. Die absoluten Upslope -Werte waren nicht signifikant vermehrt in der G-CSF-Gruppe. Der myokardiale Perfusionsreserve-Index (MPRI) war leicht gesteigert in Infarkt- und Remotearealen von Placebo-behandelten Patienten im Vergleich zur G-CSF Gruppe (s. Tab. 17).

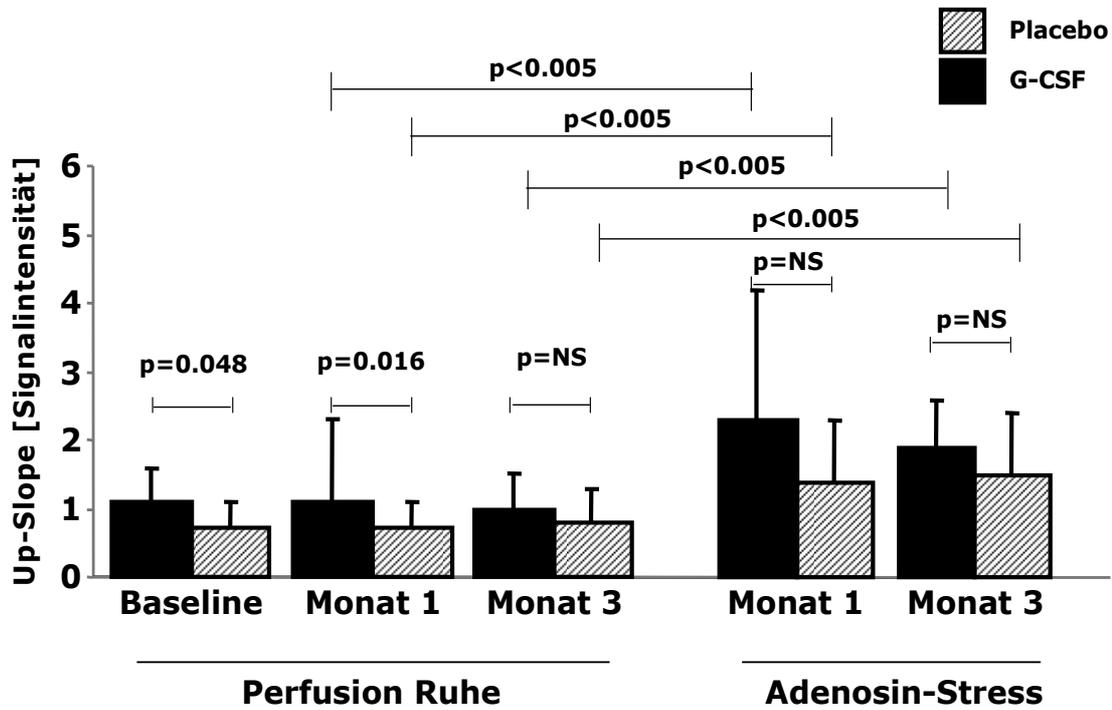


Abb. 20: Veränderung der regionalen Myokardperfusion der Infarktzone (analysiert mittels Magnetresonanztomographie). Up-Slope gemessen als Zunahme der Signalintensität in der ersten Kontrastmittelpassage. Placebo-behandelte Patienten (n=17); G-CSF-behandelte Patienten (n=17). Median±SD.

	G-CSF (n=17)	Placebo (n=17)	P Wert †
Perfusion in Ruhe (upslope) [Signalintensität]			
<i>Infarktareal</i>			
Baseline	1.1 (0-2)	0.7 (0-2)	0,048
1 Monat	1.1 (0-6)	0.7 (0-2)	0.016
3 Monate	1.0 (0-2)	0.8 (0-2)	NS
P Wert ‡	NS	NS	
<i>Remotearéal</i>			
Baseline	1.2 (0-3)	0.9 (0-2)	NS
1 Monat	1.1 (0-8)	0.7 (0-2)	NS
3 Monate	1.0 (0-2)	0.9 (0-3)	NS
P Wert ‡	NS	NS	
Perfusion mit Adenosinbelastung (upslope) [Signalintensität]			
<i>Infarktareal</i>			
1 Monat	2.3 (0-8)*	1.4 (0-3)¶	NS
3 Monate	1.9 (1-3)*	1.5 (1-4)¶	NS
P Wert ‡	NS	NS	
<i>Remotearéal</i>			
1 Monat	2.8 (0-9)*	1.6 (1-5)¶	NS
3 Monate	2.0 (1-4)*	1.8 (0-4)¶	NS
P Wert ‡	NS	NS	
MPRI (upslope_{stress}/ upslope_{rest})			
<i>Infarktareal</i>			
1 Monat	1.5 (0-6)	2.3 (1-13)	NS
3 Monate	1.7 (1-3)	2.0 (0-29)	NS
P Wert ‡	NS	NS	
<i>Remotearéal</i>			
1 Monat	1.7 (1-3)	2.1 (1-7)	NS
3 Monate	1.7 (0-4)	2.2 (0-32)	NS
P Wert ‡	NS	NS	

Baseline = 1 Woche nach PTCA. Werte entsprechen Median (Range); †: zwischen Therapiegruppen; ‡: zwischen Baseline und 1 Monatskontrolle. *: p<0.005 im Vergleich zum up-slope in Ruhe; ¶: p<0.005 im Vergleich zum up-slope in Ruhe. MPRI: Myokardialer Perfusionsreserve-Index.

Tab. 17: Myokardperfusion (gemessen mit Magnetresonanztomographie) der Baseline-, 4-Wochen- und 12-Wochen-Untersuchung.

5.4.4 Subgruppenanalyse: frühe versus späte Gabe von G-CSF

Für diese Subgruppenanalyse wurden die Patientengruppen hinsichtlich des Zeitpunktes der G-CSF-Gabe verglichen. In der frühen Gruppe findet man die Patienten, die innerhalb von 24 Stunden nach PCI ihre erste G-CSF-Injektion erhielten. Alle G-CSF-Gaben über diesen Zeitpunkt hinaus, werden als spät bezeichnet. Analysiert wurden die Patienten, die eine vollständige MRT-Untersuchung bei der Baseline- (1 Woche nach PCI) und 3-Monats-Kontrolle aufwiesen (G-CSF: n=19, Placebo: n=18) (s. Tab. 18).

Es wurden die globalen und regionalen myokardialen Funktionsparameter miteinander verglichen (s. Tab. 18). Die beiden Verum-Gruppen zeigten eine ähnliche Reduktion der linksventrikulären Auswurfsfraktion bei der Baseline-Untersuchung (G-CSF/früh Baseline: EF = $42\pm 15\%$, 3-Monate: EF = $46\pm 13\%$; G-CSF/spät Baseline: EF = $41\pm 10\%$, 3-Monate: EF = $48\pm 12\%$). Auch bei den Placebo-behandelten Patienten fanden sich ähnliche Verläufe (Placebo/früh Baseline: $44\pm 11\%$, 3-Monate: $51\pm 15\%$; Placebo/spät Baseline: $44\pm 9\%$, 3-Monate: $48\pm 10\%$). Die weiteren globalen myokardialen Funktionsparameter, wie die linksventrikulären enddiastolischen und –systolischen Volumina, werden ebenfalls in der Tab. 18 gezeigt.

Die Infarkt volumina verhielten sich vergleichbar und nahmen von der Baseline- bis zur 3-Monats-Untersuchung in beiden G-CSF-Behandlungsgruppen ab. Die Infarkt volumina in der Placebogruppe blieben ebenfalls fast unverändert. Die regionale myokardiale Funktion verbesserte sich geringfügig, ohne Unterschiede zwischen den Gruppen aufzuweisen (s. Tab. 18).

	G-CSF			Placebo		
	Früh ≤ 24 h (n=10)	Spät > 24 h (n=9)	P Wert †	Früh ≤ 24 h (n=8)	Spät > 24 h (n=10)	P Wert †
Ejectionfraction						
Baseline [%]	42±15	41±10	0,75	44±11	44±9	0,93
3 Monate [%]	46±13	48±12	0,76	51±15	48±10	0,68
P Wert‡	0,24	0,03		0,07	0,24	
LVEDV						
Baseline [ml]	143±44	137±42	0,79	140±21	151±36	0,46
3 Monate [ml]	84±48	75±31	0,42	141±67	178±39	0,14
P Wert‡	0,52	0,23		0,98	0,014	
LVESV						
Baseline [ml]	83±40	81±34	0,92	79	89	0,27
3 Monate [ml]	74±53	86±39	0,61	74	92	0,40
P Wert‡	0,42	0,91		0,79	0,98	
Infarktvolumen						
Baseline [ml]	30±13	29±9	0,93	40±26	30±13	0,31
3 Monate [ml]	27±12	23±9	0,56	33±25	30±10	0,06
P Wert‡	0,14	0,08		0,79	0,98	
Wanddicke (Infarktareal)						
Baseline [mm]	3,0±2,7	1,7±1,9	0,27	3,2±2,1	2,1±2,7	0,32
3 Monate [mm]	3,1±2,0	2,6±1,5	0,56	4,2±1,6	2,8±1,6	0,06
P Wert‡	0,84	0,31		0,22	0,24	
Wanddicke (Grenzgebiet)						
Baseline [ml]	3,8±2,2	2,1±1,1	0,06	3,0±1,6	2,8±1,6	0,75
3 Monate [ml]	4,4±1,9	2,7±3,0	0,12	2,5±2,2	3,7±1,8	0,24
P Wert‡	0,18	0,73		0,63	0,17	

Werte repräsentieren Mittelwerte ± Standardabweichung; † zwischen frühem und spätem Behandlungsbeginn; ‡ zwischen Baseline (1 Woche nach PCI) und 3 Monaten. Magnetresonanztomographie. G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; LVEDV: linksventrikuläres enddiastolisches Volumen; LVESV: linksventrikuläres endsystolisches Volumen; PCI: perkutane Koronarintervention.

Tab. 18: Subgruppenanalyse: frühe versus späte G-CSF-Gabe. Globale und regionale linksventrikuläre Funktionsparameter (gemessen mit Magnetresonanztomographie) der Baseline- und 3-Monats-Untersuchung.

5.5 Auswertung der Herzkatheteruntersuchung

Die Herzkatheteruntersuchungen wurden am Tag 0 sowie nach 6 Monaten durchgeführt. Es wurde erfasst, ob direkt nach Wiedereröffnung des Infarktgefäßes noch eine Einengung in dem gestenteten Bereich vorlag, zudem wurden diese Rest-Stenosen mittels QCA quantifiziert. Die 6-Monats-Kontrolle wurde nach den gleichen Kriterien analysiert. Insgesamt konnten Daten von 41 Patienten (G-CSF n=20, Placebo n=21) ausgewertet werden.

5.5.1 QCA (Quantitative Koronarangiographie)

Am Tag 0 betrug der mittlere Referenzdurchmesser (RD) in der G-CSF-Gruppe $2,92 \pm 0,65$ mm versus $2,90 \pm 0,43$ mm in der Placebo-Gruppe ($p=NS$). Nach 6 Monaten zeigte sich der RD in beiden Gruppen vergleichbar (G-CSF: $2,78 \pm 0,54$ mm; Placebo: $2,60 \pm 0,40$ mm; $p=NS$), allerdings zeigte sich nur in dem Placebokollektiv eine signifikante Verschlechterung ($p=0,009$) (s. Tab. 19).

Die Ausgangswerte des MLD (minimalen luminalen Durchmesser) bei der Baseline-Untersuchung waren in beiden Patientenkollektiven ähnlich (G-CSF: $2,45 \pm 0,56$ mm; Placebo: $2,49 \pm 0,43$ mm; $p=NS$), hier zeigten sich bei der Kontrolluntersuchung nach einem halben Jahr in beiden Therapiegruppen signifikante Verschlechterungen der Durchmesser (G-CSF: $1,93 \pm 0,90$ mm, $p=0,011$ mm; Placebo: $1,64 \pm 0,58$ mm, $p=0,0001$). Der Vergleich der Datensätze untereinander ergab aber keine signifikanten Unterschiede (s. Tab. 19).

RD, MLD und BR (binäre Restenose) wurden nicht nur direkt in dem gestenteten Gefäßabschnitt bestimmt, sondern auch in dem gesamten Segment. Der Einfachheit halber wurden die Werte für den Segmentbereich bei RD und MLD nicht explizit aufgeführt, dies wird für die BR nachgeholt. Die BR war am Tag 0 nicht nur im direkten Stentgebiet in beiden Therapiegruppen ähnlich (G-CSF: $16 \pm 9\%$; Placebo: $14 \pm 7\%$; $p=NS$), sondern auch im umgebenden Segment (G-CSF: $19 \pm 9\%$; Placebo: $20 \pm 9\%$; $p=NS$). Nach 6 Monaten gab es in beiden Patientenkollektiven signifikante Zunahmen der vorhandenen Lumeneinengungen sowohl im Stent- (G-CSF: $32 \pm 27\%$, $p=0,011$; Placebo: $34 \pm 28\%$; $p=0,004$) als auch im

Segmentbereich (G-CSF: 35±27%, p=0,008; Placebo: 40±26%; p=0,002) (s. Tab. 19 und Abb. 21 und 22).

Der zeitliche Verlauf des MLD wird durch den *Late luminal loss* wiedergegeben, er ergibt sowohl in der Verum- als auch in der Placebogruppe eine Zunahme der vorhandenen Stenosen in den Stents innerhalb der beobachteten 6 Monate (G-CSF: -0,67±0,77 mm; Placebo: -0,80±0,69 mm; p=NS). Insgesamt vier Patienten, jeweils zwei aus jeder Therapiegruppe, wiesen einen totalen Verschluss auf (s. Tab. 19 und Abb. 23).

	G-CSF (n=19)	Placebo (n=20)	P Wert †
RD im Stent [mm]			
Baseline	2,92±0,65	2,90±0,43	NS
6 Monate *	2,78±0,54	2,60±0,40	NS
P Wert¥	NS	0,009	
MLD im Stent [mm]			
Baseline	2,45±0,56	2,49±0,42	NS
6 Monate *	1,93±0,90	1,64±0,58	NS
P Wert¥	0,011	0,0001	
BR im Stent [%]			
Baseline	16±9	14±7	NS
6 Monate *	32±27	34±28	NS
P Wert¥	0,011	0,004	
BR im Segment [%]			
Baseline	19±9	20±9	NS
6 Monate *	35±27	40±26	NS
P Wert¥	0,008	0,002	
Late luminal loss im Stent [mm] (MLD_{6 Monate} – MLD_{Baseline})			
6 Monate *	-0,67±0,77	-0,80±0,69	NS

Werte repräsentieren Mittelwerte ± Standardabweichung; † zwischen Behandlungsgruppen; ¥ zwischen Baseline (initiale PCI) und 6-Monats-Kontrolle; * bei 6-Monats-PCI n=19 (G-CSF) und n=20 (Placebo) für beide Behandlungsgruppen; G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; RD: Referenzdurchmesser; MLD: minimale lumenale Durchmesser; BR: binäre Restenose; PCI: perkutane Koronarintervention.

Tab. 19: QCA-Auswertung (quantitative Koronarangiographie) an den Zeitpunkten Tag 0 (Baseline) und 6 Monate.

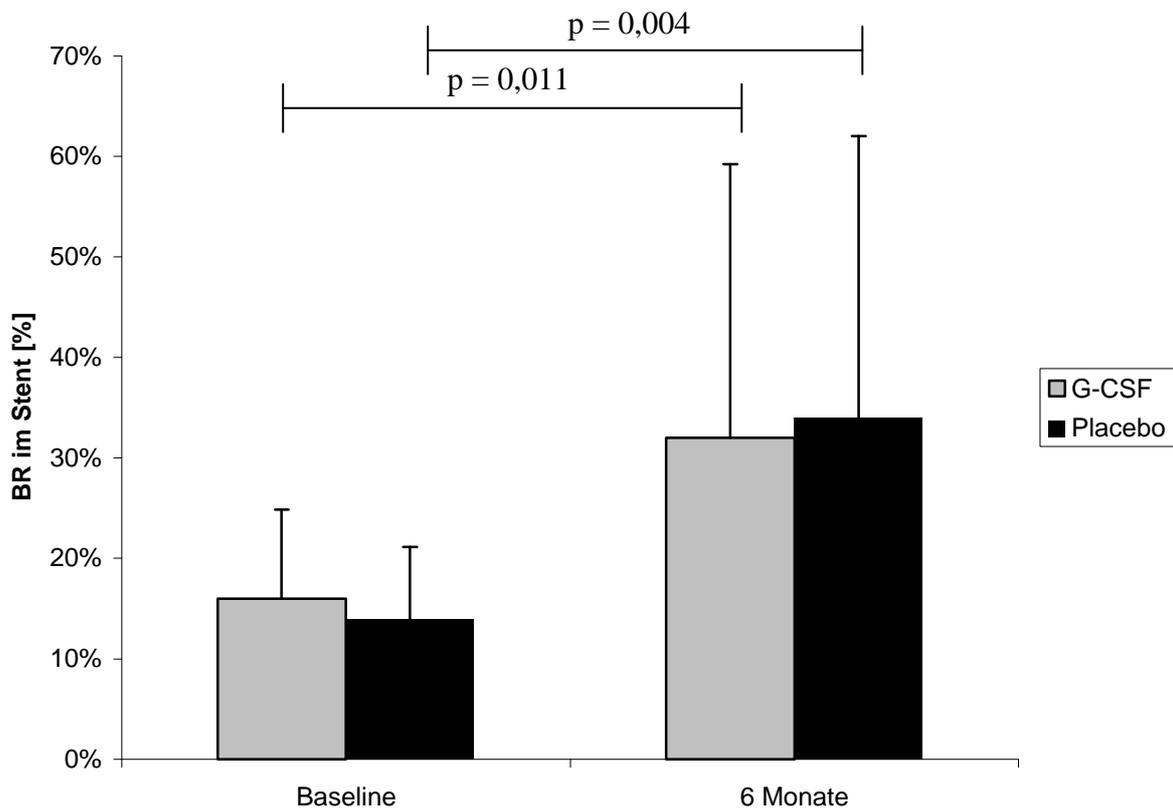


Abb. 21: Binäre Restenose im Stent in beiden Therapiegruppen der Baseline- (Tag 0) und der 6-Monats-Herzkatheteruntersuchung. Ausgewertet mittels QCA. G-CSF-behandelte Patienten n=23 (6 Monate: n=19), Placebo-behandelte Patienten n=21 (6 Monate: n=20). Mittelwert±SD.

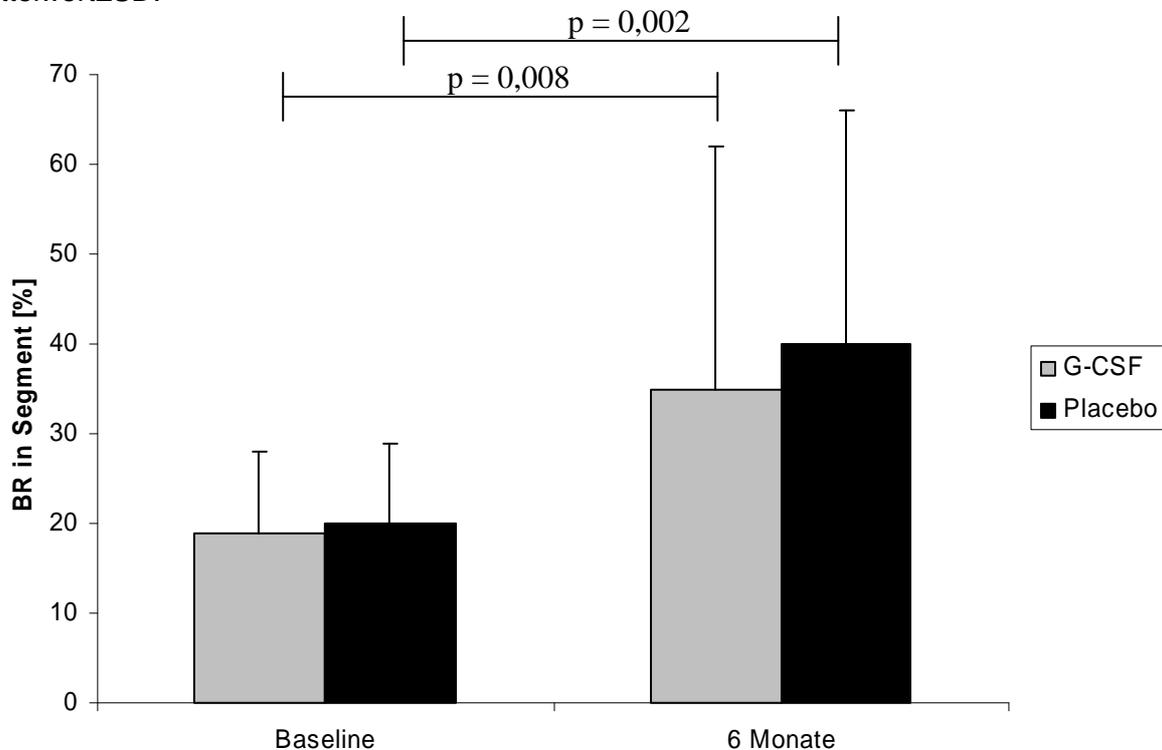


Abb. 22: Binäre Restenose im Segment in beiden Therapiegruppen der Baseline- (Tag 0) und der 6-Monats-Herzkatheteruntersuchung. Ausgewertet mittels QCA. G-CSF-behandelte Patienten n=23 (6 Monate: n=19), Placebo-behandelte Patienten n=21 (6 Monate: n=20). Mittelwert±SD.

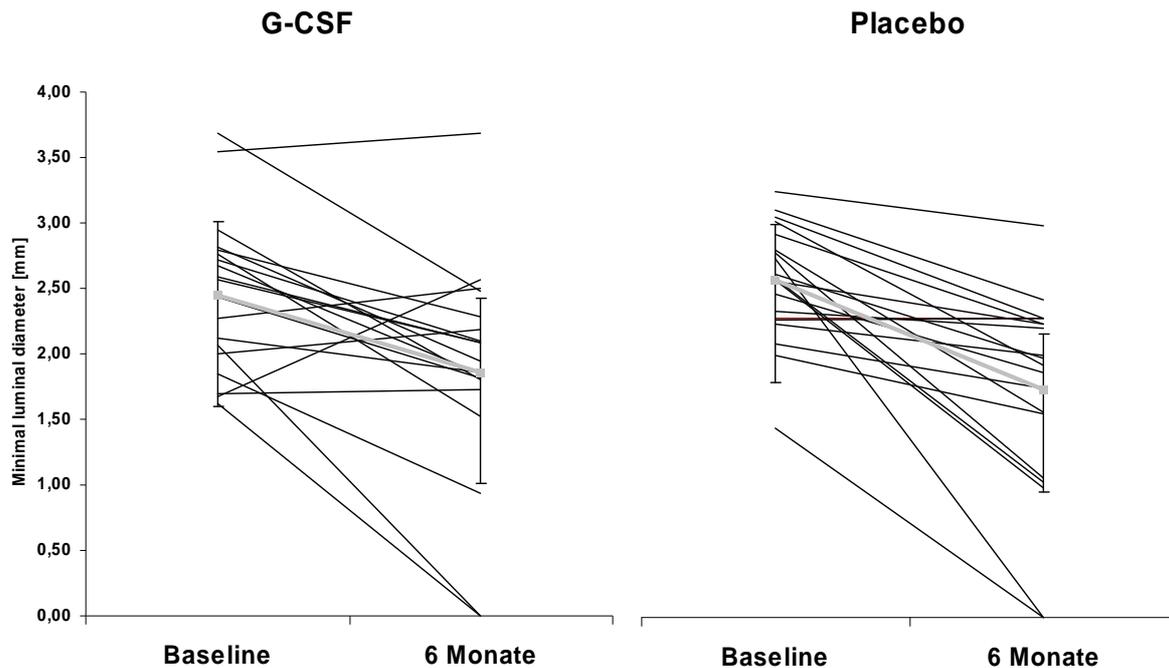


Abb. 23: Late luminal loss im Stent, Verlauf des MLD über 6 Monate ausgehend von Tag 0 in beiden Therapiegruppen. Gemessen mittels PTCA, ausgewertet mit QCA. G-CSF-behandelte Patienten (n=19), Placebo-behandelte Patienten (n=20). Mittelwert \pm SD.

5.6 Die Sicherheit der Gabe von G-CSF

Die Behandlung mit G-CSF und die nachfolgende Stammzellmobilisierung wurden von den meisten Patienten gut toleriert. Während der Gabe von G-CSF oder Placebo kam es zu keinem Auftreten von MACE (major adverse cardiac event). Bei zwei Patienten musste die Behandlung mit G-CSF am Tag 3 vorzeitig beendet werden, einmal aufgrund eines Perikardergusses und ein anderes Mal wegen Knochenschmerzen. Bei dem Patienten, der unter der G-CSF-Behandlung moderate Knochen- und Muskelschmerzen entwickelte, war zeitgleich ein grippaler Infekt zu verzeichnen. Diese Nebenwirkung konnte mit nicht-steroidalen Antiphlogistika behandelt werden und verschwand nach Beendigung der G-CSF-Behandlung vollständig. In der Placebo-Gruppe trat ebenfalls bei einem Patienten ein Perikarderguss auf. Andere beobachtete unerwünschte Ereignisse während des initialen Krankenhausaufenthaltes waren eine lokale Entzündung an der arteriellen Punktionsstelle

sowie zwei Fälle von Pneumonie (G-CSF-Gruppe), welche unter Antibiotika rasch rückläufig waren (Tab. 20).

Während der folgenden 12-monatigen Beobachtungsperiode waren MACE in beiden Therapiegruppen zu verzeichnen. Ein mit G-CSF behandelter Patient entwickelte einen erneuten Myokardinfarkt 14 Tage nach der primären Stentimplantation. Obwohl der Patient Aspirin und Clopidogrel korrekt eingenommen hatte, zeigte die sofort durchgeführte Angiographie einen thrombotischen Verschluss im Stent der proximalen LAD. Während der initialen Revaskularisierung hatte dieser Patient insgesamt drei Stents mit einer kumulativen Stentlänge von ca. 45 mm in die LAD erhalten, zudem erfolgte eine anschließende Behandlung mit Tirofiban über 48 Stunden. Der Verschluss konnte erfolgreich mittels Angioplastie und Einsatz eines weiteren Stents wiedereröffnet werden.

Ein Patient der G-CSF Behandlungsgruppe starb drei Wochen nach der 6-Monatsangiographie. Der Katheterbefund hatte keine neuen relevanten Stenosen gezeigt und auch das ursprüngliche Infarktgefäß war offen ohne Restenosierung im Stent. Eine Autopsie wurde von den Angehörigen leider verweigert, so dass keine weiteren Aussagen über eine mögliche Todesursache getroffen werden konnten.

Bei zwei Patienten der Placebo-Gruppe war im Verlauf eine Bypassoperation nötig; in der Verumgruppe war dies nicht der Fall.

Vier von 19 Patienten (21%) aus der G-CSF Gruppe wiesen in der 6-Monats-Angiographie-Kontrolle eine In-Stent-Restenose des Infarktgefäßes auf, die mittels PCI erfolgreich behandelt werden konnte (*target lesion revascularisation* = TLR). Bei einem Patienten konnte das vollständig verschlossene Infarktgefäß nicht wiedereröffnet werden. Sechs von 21 Patienten (29%, $p=0.7$) aus der Placebo-Gruppe erhielten ebenfalls eine TLR aufgrund von In-Stent-Restenosen (s. Tabelle 21). *De novo* Läsionen (neu aufgetretene Koronarbefunde außerhalb des initialen Infarktgefäßes), die mittels PCI behandelt werden mussten, waren geringfügig häufiger bei G-CSF-behandelten Patienten (4 von 23, 17%, vs. 2 von 21, 10%, $p=0.398$). Vier Patienten aus der G-CSF-Gruppe hatten eine Kontrollangiographie abgelehnt. Von diesen wies keiner anamnestisch im Langzeitverlauf

eine erneute Angina pectoris auf. Die kumulative Inzidenz von MACE oder Restenose unterschied sich in der G-CSF-Gruppe nicht signifikant von Placebo-behandelten Patienten.

Ein Patient der G-CSF-Gruppe berichtete anlässlich der 3-Monats-Kontrolle von Stuhlunregelmäßigkeiten begleitet von einem allgemeinen Krankheitsgefühl. Die klinische Abklärung ergab ein Kolonkarzinom, welches mittels Chemotherapie behandelt werden konnte. Bei einem anderen Patienten der Placebogruppe wurde eine CRP-Erhöhung unklarer Genese festgestellt. Die intensive Ursachenabklärung blieb ergebnislos. Das CRP normalisierte sich hier nach Gabe oraler Steroide. Der Vergleich der beobachteten unerwünschten Ereignisse zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen (s. Tab. 21).

In der Analyse (Kaplan-Meier-Kurve bis zu 24 Monate nach Behandlung) des Ereignis-freiem Überlebens (Tod, Myokardinfarkt, Revaskularisation) lagen die G-CSF-Patienten bei 78,3% und die Placebo-behandelten bei 71,4% (s. Abb. 24).

	G-CSF (n=23)	Placebo (n=21)	P-Wert
MACE	0	0	NS
AE			
Perikarderguss	1 (4)	1	NS
Knochenschmerzen	1 (4)	0	NS
Lokale Entzündung	1 (4)	0	NS
Pneumonie	2 (9)	0	NS

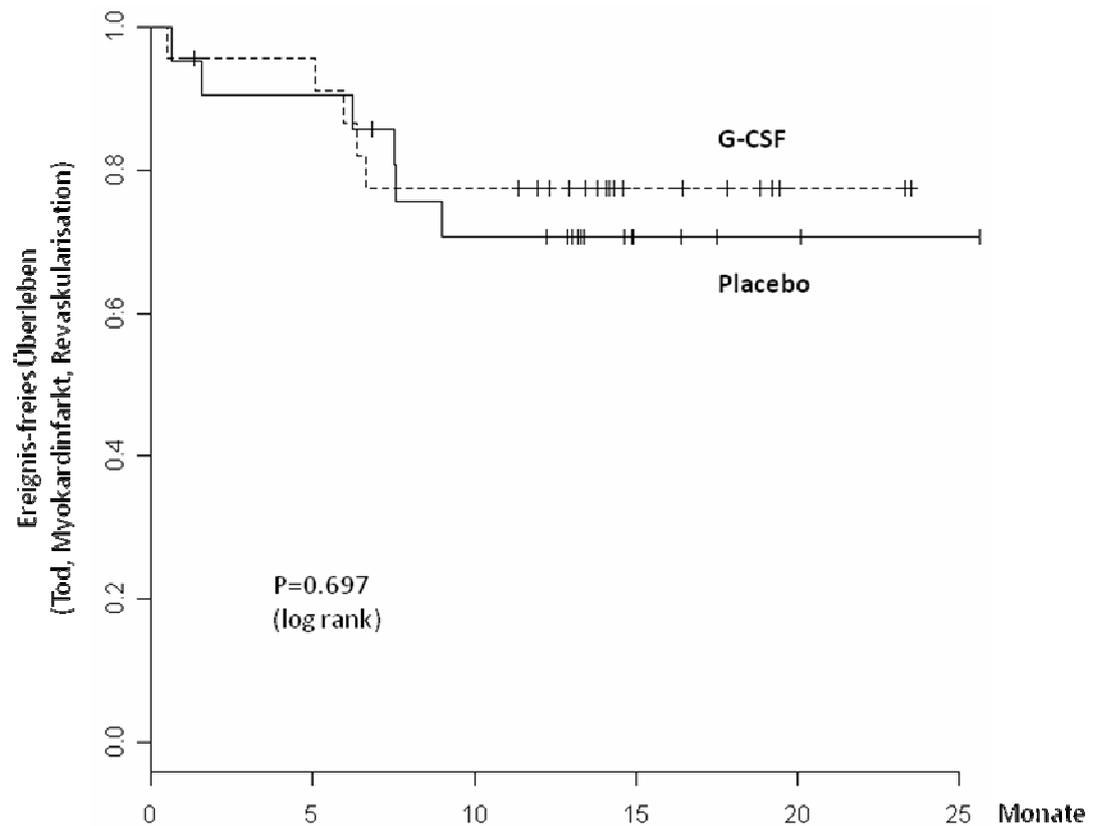
Zahlen entsprechen n (%). G-CSF: Granulocyte stimulating factor; MACE: major adverse cardiac event; AE: adverse event.

Tab. 20: Auftreten von unerwünschten Ereignissen während der Behandlungsperiode.

	G-CSF (n=23)	Placebo (n=21)	P Wert
MACE			
Tod	1 (4)	0	NS
(erneuter) Myokardinfarkt	1 (4)	0	NS
Akutes Koronarsyndrom	0	0	
Koronare Bypassoperation	0	2 (10)	NS
Revaskularisation der Zielläsion (TLR) aufgrund von In-Stent Restenose*	4 (21)*	6 (29)*	NS
De novo Läsion mit notwendiger PCI*	4 (21)*	2 (10)*	NS
AE			
Kolonkarzinom	1 (4)	0	NS
Anhaltende CRP-Erhöhung unbekannter Ursache	0	1 (5)	NS
Kumulative spontan berichtete unerwünschte Ereignisse	7 (30)	3 (14)	NS

Zahlen entsprechen n (%). G-CSF: Granulocyte colony-stimulating factor; PCI: perkutane Koronarintervention; TLR: target lesion revascularisation; CRP: C-reaktives Protein; *: Bei 19 von 23 Patienten aus der G-CSF Gruppe und bei 21 von 21 Patienten aus der Placebo-Gruppe wurde eine Kontroll-Koronarangiographie durchgeführt.

Tab. 21: Auftreten von unerwünschten Ereignissen während der 12-monatigen Beobachtungsperiode.



Anzahl der Patienten	Placebo	21	19	15	15
	G-CSF	23	21	18	18

Abb. 24: Ereignis-freies Überleben (Tod, Myokardinfarkt, Revaskularisation). Die einzelnen Balken repräsentieren den letzten Zeitpunkt, zu dem jeder einzelne Patient während des Follow-up kontaktiert wurde.

5.7 Seattle Angina Questionnaire (SAQ)

Die Auswertung des Seattle Angina Questionnaires erfolgte nach der von John Spertus definierten Methode. Die Zahl der ausgefüllten und auswertbaren Fragebögen wies zwischen den einzelnen Untersuchungsterminen starke Schwankungen auf.

5.7.1 Ergebnisse des SAQ

Die Einschränkung der körperlichen Aktivität durch den Herzinfarkt wurde in Skala I von Patienten beider Therapiegruppen zum Zeitpunkt der Baseline-Untersuchung (1 Woche

nach PCI) mit einem Mittelwert von 66 Punkten angegeben, dies entspricht einer Beurteilung von „mäßig beeinträchtigt“. In den anschließenden 3 Monaten zeigten sich in der G-CSF-Gruppe nur geringe Schwankungen (4 Wochen: 67 ± 14 , 12 Wochen 66 ± 9), in der Placebo-Gruppe kam es zu einer leichten Steigerung der körperlichen Belastbarkeit (4 Wochen: 71 ± 9 , 12 Wochen: 72 ± 17). Nach einem Jahr fiel in beiden Gruppen der Punktwert mit 58 ± 18 (G-CSF) und 63 ± 17 (Placebo) unter den Ausgangswert ab (s. Tab. 22, Abb. 25).

In Skala II wurde die Stabilität der Angina im Vergleich zu den letzten vier Wochen erfasst. Hierbei wurden die Punkte 0 bis 24 als „viel schlechter als vor vier Wochen“, 25 bis 49 als „etwas schlechter als vor vier Wochen“, 50 als „unverändert“, 51 bis 75 als „etwas besser als vor vier Wochen“ und 76 bis 100 Punkte als „viel besser als vor vier Wochen“ beurteilt. Im Durchschnitt gaben Patienten der Verumgruppe bei Baseline-Untersuchung einen Punktwert von 54 ± 28 an, hingegen lag der Wert der Placebogruppe bei 67 ± 23 . In der Verumgruppe schwankte im Jahresverlauf der Wert (4 Wochen: 72 ± 16 , 12 Wochen: 63 ± 19 , 12 Monate: 57 ± 18), während er in der Placebogruppe relativ konstant blieb (4 Wochen: 69 ± 11 , 12 Wochen: 70 ± 22 , 12 Monate: 68 ± 21). Alle Werte blieben somit im Bereich „etwas besser als vor vier Wochen“ (s. Tab. 22, Abb. 26).

Skala III beschrieb die durchschnittliche Beeinträchtigung durch die Frequenz der Herzbeschwerden in den letzten vier Wochen und die Häufigkeit der Nitroglycerineinnahme. Bei der Baseline-Untersuchung zeigten sich noch größere Differenzen zwischen den beiden Behandlungsgruppen hinsichtlich des durchschnittlich erreichten Punktwertes (G-CSF: 56 ± 24 , Placebo: 79 ± 7). Bei den Folgeuntersuchungen waren die Werte hingegen beinahe identisch (G-CSF 4 Wochen: 77 ± 10 , 12 Wochen: 76 ± 15 , 12 Monate: 76 ± 13 ; Placebo 4 Wochen: 77 ± 11 , 12 Wochen: 73 ± 22 , 12 Monate: 75 ± 16). Dies deutet auf eine Besserung der Beschwerdesymptomatik bei fast allen Patienten hin (s. Tab. 21, Abb. 27).

Der Punktwert in Skala IV, der die Zufriedenheit mit der Behandlung umschreibt, stieg bei den Patienten der Verumgruppe von Baseline-Untersuchung bis zur 1-Jahreskontrolle kontinuierlich an (Baseline: 63 ± 16 , 4-Wochen: 64 ± 13 , 12-Wochen: 72 ± 13 , 12-Monate: 75 ± 7). In der Placebogruppe sank der Durchschnittswert im gleichen Zeitraum (Baseline: 73 ± 2 , 4-

Wochen: 73 ± 6 , 12-Wochen: 72 ± 8 , 12-Monate: 66 ± 17), hierbei zeigte sich kein Patient mit seiner Behandlung im Krankenhaus unzufrieden (s. Tab. 22, Abb. 28).

Die gesundheitsbezogene Lebensqualität, wie sie die fünfte Skala erfasst, wurde von Patienten der G-CSF-Gruppe zur Baseline-Untersuchung mit durchschnittlich 47 ± 16 Punkten angegeben, bei der Placebo-Gruppe mit 49 ± 14 . Dieser Wert besserte sich in beiden Gruppen deutlich im weiteren Beobachtungszeitraum (G-CSF 4 Wochen: 51 ± 22 , 12 Wochen: 63 ± 17 , 12-Monate: 59 ± 14 ; Placebo 4 Wochen: 70 ± 7 , 12 Wochen: 62 ± 14 , 12 Monate: 59 ± 19) (s. Tab. 22, Abb. 29).

	G-CSF		Placebo		p-Wert
	Erreichte Punktzahl	Anzahl Patienten	Erreichte Punktzahl	Anzahl Patienten	
Skala I					
Baseline	66±18	12	66±16	7	NS
4-Wochen	67±14	14	71±9	8	NS
12-Wochen	66±9	16	72±17	14	NS
12-Monate	58±18	8	63±17	11	NS
Skala II					
Baseline	54±28	7	67±23	3	NS
4-Wochen	72±16	12	69±11	7	NS
12-Wochen	63±19	12	70±22	10	NS
12-Monate	57±18	7	68±21	10	NS
Skala III					
Baseline	56±24	13	79±7	6	NS
4-Wochen	77±10	14	77±11	8	NS
12-Wochen	76±15	15	73±22	13	NS
12-Monate	76±13	9	75±16	11	NS
Skala IV					
Baseline	63±16	10	73±2	5	NS
4-Wochen	64±13	13	73±6	6	NS
12-Wochen	72±13	9	72±8	12	NS
12-Monate	75±7	9	66±17	11	NS
Skala V					
Baseline	47±16	13	49±14	5	NS
4-Wochen	51±22	12	70±7	5	NS
12-Wochen	63±17	11	62±14	12	NS
12-Monate	59±14	9	59±19	11	NS

Tab. 22: Seattle Angina Questionnaire, die Punktwerte reichen von 0 bis 100. Eine höhere Punktzahl bedeutet eine bessere Funktionalität der Patienten in dem von der Skala erfassten Thema. Skala I: Durchschnittliche körperliche Aktivität, Skala II: Durchschnittliche Stabilität der Angina Pectoris, Skala III: Durchschnittliche Frequenz der Angina, Skala IV: Durchschnittliche Zufriedenheit mit der Behandlung, Skala V: Gesundheitsbezogene Lebensqualität. Die angegebenen Punktwerte sind Mittelwert±SD.

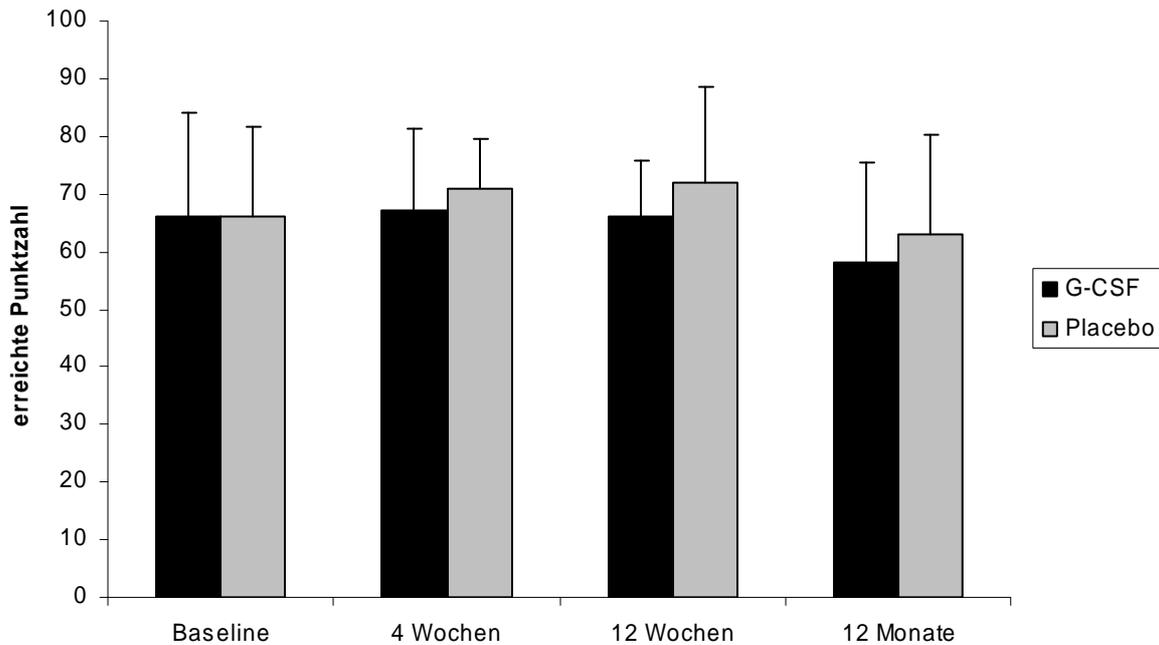


Abb. 25: Seattle Angina Questionnaire, Skala I, durchschnittliche körperliche Aktivität in Punkten beider Therapiegruppen der Baseline- (1 Woche nach PCI), 4-Wochen-, 12-Wochen und 12-Monats-Kontrolluntersuchung. Baseline: G-CSF n=12, Placebo n=7; 4-Wochen: G-CSF n=14, Placebo n=8, 12-Wochen: G-CSF: n=16, Placebo n=14, 12-Monate: G-CSF n=8, Placebo n=11. Mittelwert±SD.

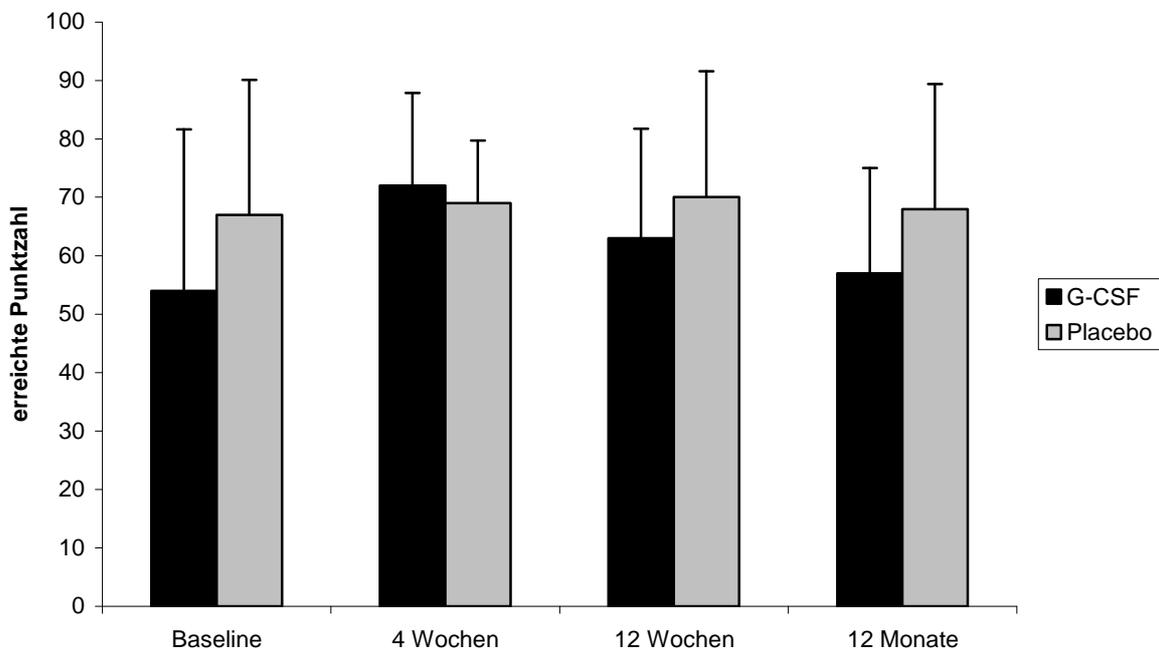


Abb. 26: Seattle Angina Questionnaire, Skala II, aktuelle Stabilität der Angina Pectoris in Punkten beider Therapiegruppen der Baseline- (1 Woche nach PCI), 4-Wochen-, 12-Wochen und 12-Monats-Kontrolluntersuchung. Erfasst wird die Beschwerdehäufigkeit durch Angina Pectoris verglichen mit den vorangegangenen vier Wochen. Baseline: G-CSF n=7, Placebo n=3; 4-Wochen: G-CSF n=12, Placebo n=7, 12-Wochen: G-CSF: n=12, Placebo n=10, 12-Monate: G-CSF n=7, Placebo n=10. Mittelwert±SD.

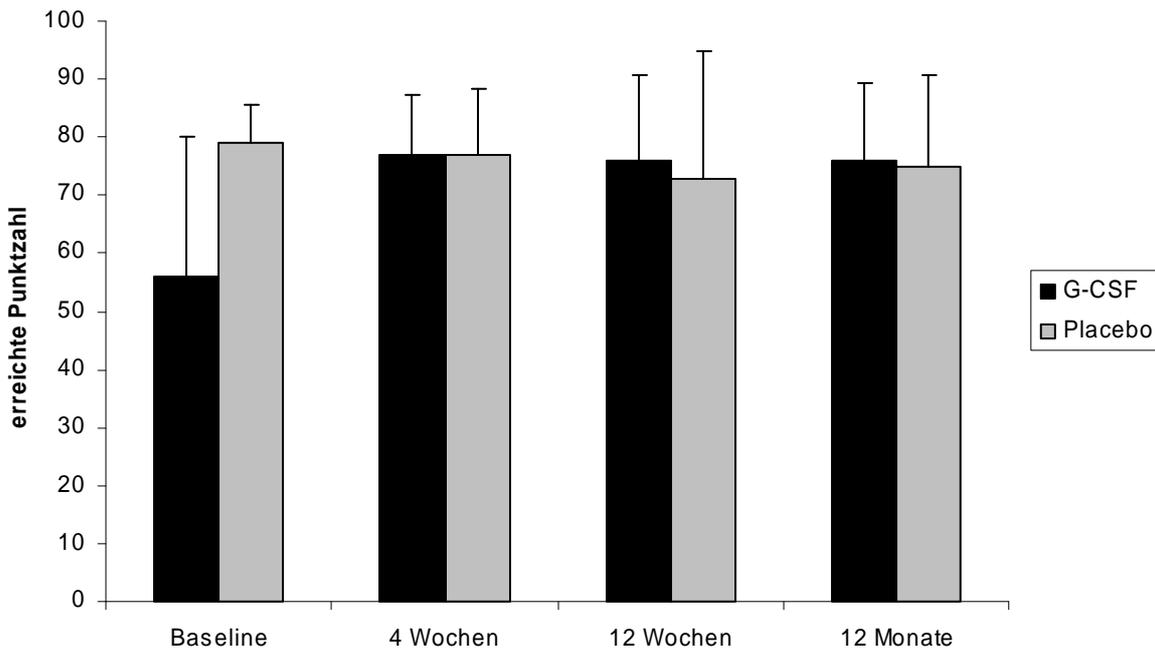


Abb. 27: Seattle Angina Questionnaire, Skala III, Häufigkeit von Angina Pectoris Beschwerden und Einnahme von Nitro-Spray in Punkten beider Therapiegruppen der Baseline- (1 Woche nach PCI), 4-Wochen-, 12-Wochen und 12-Monats-Kontrolluntersuchung. Baseline: G-CSF n=13, Placebo n=6; 4-Wochen: G-CSF n=14, Placebo n=8, 12-Wochen: G-CSF: n=15, Placebo n=13, 12-Monate: G-CSF n=9, Placebo n=11. Mittelwert±SD.

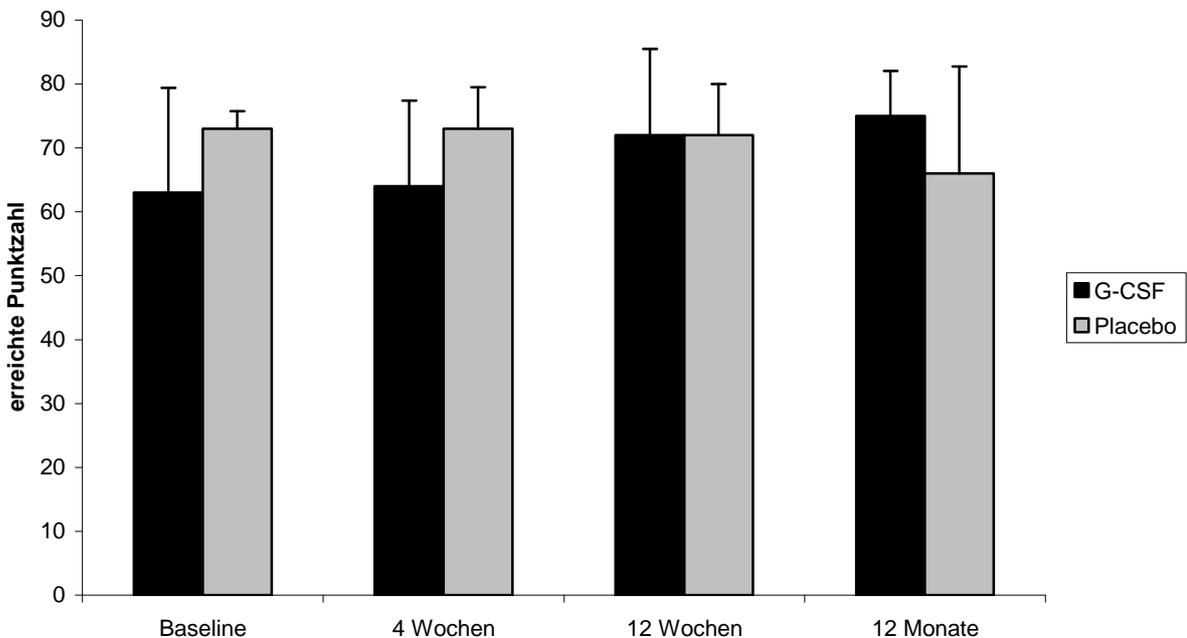


Abb. 28: Seattle Angina Questionnaire, Skala IV, durchschnittliche Zufriedenheit mit der Behandlung in Punkten beider Therapiegruppen der Baseline- (1 Woche nach PCI), 4-Wochen-, 12-Wochen und 12-Monats-Kontrolluntersuchung. Baseline: G-CSF n=10, Placebo n=5; 4-Wochen: G-CSF n=13, Placebo n=6, 12-Wochen: G-CSF: n=9, Placebo n=12, 12-Monate: G-CSF n=9, Placebo n=11. Mittelwert±SD.

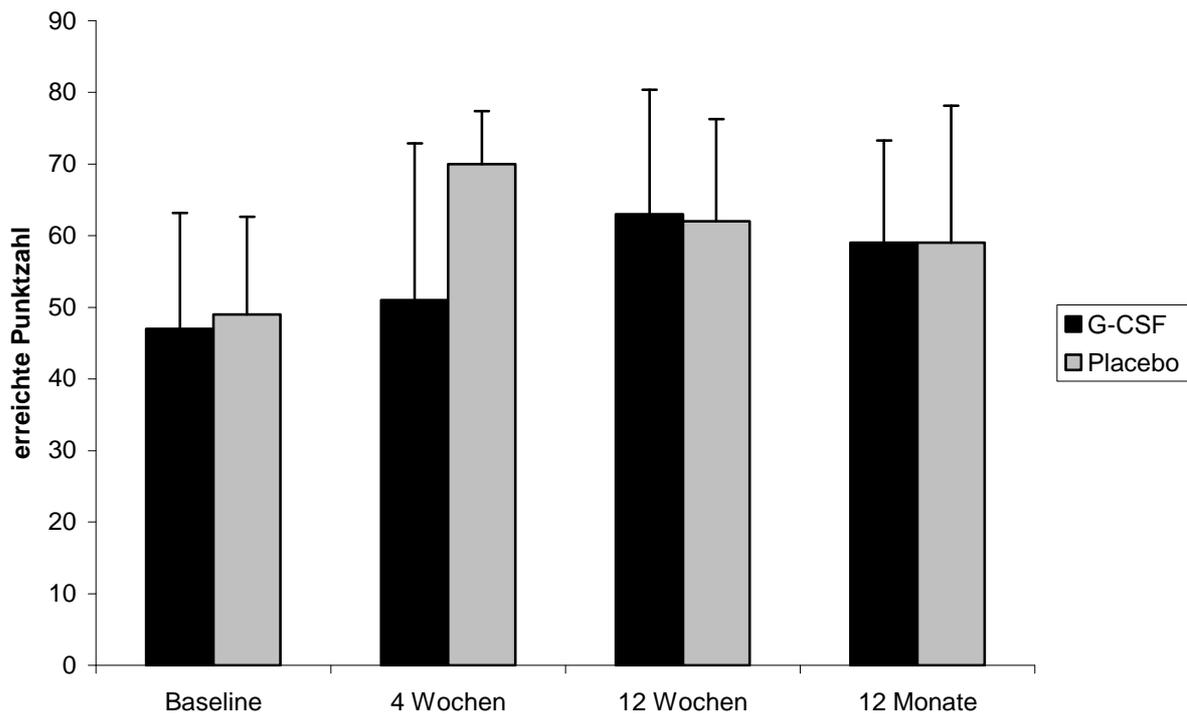


Abb. 29: Seattle Angina Questionnaire, Skala V, durchschnittliche Beeinträchtigung der Lebensfreude sowie prospektive Lebenszufriedenheit in Punkten beider Therapiegruppen der Baseline- (1 Woche nach PCI), 4-Wochen-, 12-Wochen und 12-Monats-Kontrolluntersuchung. Baseline: G-CSF n=13, Placebo n=5; 4-Wochen: G-CSF n=12, Placebo n=5, 12-Wochen: G-CSF: n=11, Placebo n=12, 12-Monate: G-CSF n=9, Placebo n=11. Mittelwert±SD.

6. Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit demonstrieren erstmals in einer prospektiv randomisierten und Placebo-kontrollierten Studie die Anwendung einer Stammzellmobilisation durch G-CSF bei Patienten, die einen spät revaskularisierten ST-Hebungsinfarkt (STEMI) erlitten. Die Bestimmung der myokardialen Funktion erfolgte mit Hilfe der MRT. Zum einem konnte so sicher gestellt werden, dass ein geblindeter Kollege der Radiologie, der keinerlei Kenntnisse über die an der Studie teilnehmenden Patienten hatte, die Auswertung übernahm. Zum anderen weist die MRT eine hohe räumliche Auflösung zur Beurteilung der kardialen Morphologie und Funktion auf. Vor allem die Reproduzierbarkeit war für den Vergleich der Patientendaten von Bedeutung. Einen weiteren Vorteil bietet dieses Verfahren hinsichtlich der fehlenden Strahlenbelastung für den Patienten.(Engelmann, Theiss et al. 2006)

G-CSF war der Placebo-Behandlung hinsichtlich einer Verbesserung der globalen und der regionalen myokardialen Funktion nicht überlegen.(Engelmann, Theiss et al. 2006)
Zudem spielte der Zeitpunkt der G-CSF-Gabe keine Rolle.(Engelmann, Theiss et al. 2008)
Als sekundärer Befund zeigte sich jedoch eine signifikant bessere myokardiale Perfusion im kurzfristigen Verlauf. Verschiedene Stammzell-Populationen, denen man eine myokardiale Regenerationsfähigkeit zuschreibt, wurden durch die Gabe von G-CSF signifikant mobilisiert. Die Gabe von G-CSF nach PCI wurde generell gut vertragen ohne ein signifikant erhöhtes Auftreten einer In Stent-Restenose oder von MACE im Vergleich zur Placebobehandlung.(Engelmann, Theiss et al. 2006)

6.1 Vergleich zu anderen Studien bezogen auf

6.1.1 Katheter-basierte Stammzellapplikation

Im Vergleich zur Katheter-gestützten intrakoronaren Applikation von Knochenmarkszellen oder kultivierten Stammzellen aus jüngst publizierten klinischen Studien (7×10^6 Zellen, TOPCARE-AMI Studie)(Assmus, Schachinger et al. 2002; Schachinger, Assmus et al. 2004), durchströmt nach G-CSF-Mobilisierung eine vergleichbare Stammzellzahl das Myokard in nur einer Minute. Das bedeutet, in den 5 Tagen der Mobilisation durch G-CSF passieren rund 5×10^{10} Zellen das Myokard. Ein weiterer Vorteil der Stammzellmobilisation durch G-CSF besteht in der fehlenden Invasivität.

Im Gegensatz zu unserer Studie wiesen Topcare-AMI (Assmus, Schachinger et al. 2002; Britten, Abolmaali et al. 2003; Schachinger, Assmus et al. 2004), BOOST (Wollert, Meyer et al. 2004; Meyer, Wollert et al. 2006), ASTAMI (Lunde, Solheim et al. 2006) und die Studie von Strauer (Strauer, Brehm et al. 2002) keine Placebokontrollen auf. Auf die aktuelle Studienlage im Einzelnen wurde bereits in der Einleitung genauer eingegangen.

6.1.2 G-CSF-Studien

Die aktuelle Studienlage hinsichtlich G-CSF-Gabe nach akutem Myokardinfarkt ist heterogen. Kang et al. verglichen in der MAGIC Cell-Studie die alleinige Gabe von G-CSF sowie die intrakoronare Infusion von G-CSF-mobilisierten Stammzellen nach Myokardinfarkt mit einer Kontrollgruppe. In dieser Studie erfolgte im Gegensatz zu den meisten anderen Mobilisationsstudien die G-CSF-Gabe vor der PCI. In der Zwischenanalyse wurden signifikant erhöhte Restenose-Raten im G-CSF-Kollektiv berichtet. (Kang, Kim et al. 2004) 2007 wurden die 2-Jahres-Daten der MAGIC Cell-Studie veröffentlicht. Hier zeigte sich die intrakoronare Infusion der durch G-CSF mobilisierten Stammzellen einer alleinigen G-CSF-Gabe überlegen hinsichtlich kardialer Funktion (EF und LVESV) und Remodeling. Jedoch

fand sich auch in dieser Gruppe kein signifikanter Unterschied zum Kontrollkollektiv. (Kang, Kim et al. 2007)

Die jüngst veröffentlichte FIRSTLINE-AMI-Studie konnte in einem randomisierten und kontrollierten, jedoch nicht geblindeten Phase Ib-Studiendesign einen günstigen Effekt auf die globale myokardiale Funktion nachweisen, nachdem G-CSF sehr schnell nach akut aufgetretenem Myokardinfarkt gegeben worden war. Die Behandlung von 25 Patienten (Gesamtstudie n=50) mit einer Dosis von 10 µg/kg/d G-CSF, begonnen 85±30 min nach unmittelbar durchgeführter PCI (Angina-PCI-Intervall 293±115 min) resultierte in einer signifikanten Verbesserung der linksventrikulären Auswurffraktion von 6% (48±4% auf 54±8%) nach 4 Monaten und 8% (48±4% auf 56±9%) nach 12 Monaten. Überraschenderweise beschreiben die Autoren eine Reduktion der Auswurffraktion bei den nicht-Placebo behandelten Kontrollpatienten um -5% (47±5% auf 43±5%) nach 4 Monaten, die sich auch nach 12 Monaten zeigte, obwohl die Mehrzahl der Studienpopulation mit ACE-Hemmern und Betablockern behandelt worden war. (Ince, Petzsch et al. 2005; Ince, Petzsch et al. 2005) Dieser Befund steht im Gegensatz zur publizierten Literatur; nahezu alle veröffentlichten großen Studien berichten eine Verbesserung der Auswurffraktion nach PCI bei akutem Herzinfarkt. (Brodie, Stone et al. 2001; Montalescot, Barragan et al. 2001) Eine mögliche Erklärung könnte die Patientenauswahl oder das nicht geblindete Studiendesign geben.

Valgimigli et al. untersuchten placebo-kontrolliert 20 Patienten mit STEMI, von denen 14 eine initiale PCI erhielten. (Valgimigli, Rigolin et al. 2005) Probanden mit einem Zeitintervall von mehr als 12h seit Bestehen der Beschwerden wurden keiner primären PCI unterzogen. In der G-CSF behandelten Gruppe war ein Trend zur Verbesserung von LVEF und LVEDV zu verzeichnen. G-CSF/Placebo war in einer niedrigeren Dosis initiiert worden (5µg/kg über 4 d, im Gegensatz zu 10µg/kg über 5 d in der vorliegenden Studie) und deutlich früher verabreicht worden (16 h).

In einer weiteren prospektiven *open label*-Studie wurden 14 Patienten 48 h nach erfolgreicher Stentprozedur mit 10 µg/kg/d G-CSF subkutan über eine mittlere Dauer von

7±1 d behandelt. (Kuethe, Figulla et al. 2005) Diese Studie war allerdings weder randomisiert noch Placebo-kontrolliert; als Kontrollpatienten dienten die Patienten, die eine G-CSF-Behandlung abgelehnt hatten. Die linksventrikuläre Auswurffraktion verbesserte sich um 8% ($p < 0.01$), verglichen mit 3% in der Kontrollgruppe ($p = 0.049$).

Bei den vorgenannten positiven Studien könnte im Gegensatz zu unserer Studie eine Voreingenommenheit durch das Fehlen einer doppelblinden Placebo-Behandlung oder eine besondere Auswahl von Studienpatienten, die eine G-CSF-Behandlung verweigerten, vorliegen. Dagegen veröffentlichten Ripa et al. die Ergebnisse der doppelblinden, randomisierten, Placebo-kontrollierten *Stem Cells in Myocardial Infarction* (STEMMI) Studie. (Ripa, Jorgensen et al. 2006) Diese große Studie untersuchte ebenfalls die Wirkung von G-CSF gegenüber Placebo nach unmittelbar durchgeführter PCI (Angina-PCI-Intervall < 12 h, im Mittel 4 h). Der Zeitpunkt der G-CSF Initiierung nach PCI war bei der STEMMI-Studie mit 29 h vergleichbar mit unserer Studie (31 ± 24 h). Der primäre Endpunkt war die Veränderung der systolischen Wandverdickung, welche um jeweils 17% im Infarktareal in der G-CSF Gruppe als auch in der Placebogruppe zunahm ($p = 1.0$). Die Infarktgröße vom Ausgangszeitpunkt bis 6 Monate nach Infarkt veränderte sich in beiden Gruppen nicht. Beide Behandlungsarme wiesen eine Verbesserung der Auswurffraktion auf (G-CSF: +8.5% vs. Placebo: +8.0% gemessen mittels MRT, $p = 0.9$), G-CSF war der Placebobehandlung hinsichtlich der Erholung der myokardialen Funktion jedoch nicht überlegen. Die vergleichbare Verbesserung der globalen wie auch der regionalen Herzfunktion ist konsistent mit den Ergebnissen unserer Untersuchung.

In einer kürzlich publizierten Metaanalyse untersuchten Zohlhöfer et al. zehn kontrollierte, randomisierte Studien zur G-CSF-Gabe nach akutem Myokardinfarkt. Die Studien wurden im Zeitraum von Januar 2003 bis August 2007 durchgeführt und umfassten insgesamt 445 Patienten. In dieser Analyse fand sich sowohl in den Placebo- als auch in den G-CSF-Gruppen eine Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion ohne signifikanten Unterschied. Allerdings konnte klar gezeigt werden, dass die G-CSF-Therapie nach akutem Myokardinfarkt machbar und sicher ist

6.1.3 Sicherheitsaspekte im Vergleich

In den meisten klinischen Studien werden als Nebenwirkungen diskrete bis mäßige (10%), in einigen Fällen schwere (3%) Knochen- und Muskelschmerzen beschrieben, die üblicherweise mit Standard-Analgetika gut zu behandeln sind. (Anderlini, Korbling et al. 1997; Braunwald, Antman et al. 2002) In der vorliegenden Studie traten bei einem Patienten (4%), der gleichzeitig an einem Schnupfen litt, mäßige bis schwere Knochenschmerzen während der G-CSF-Gabe auf. Andere Nebenwirkungen umfassten klinische inflammatorische Ereignisse wie Perikarditis oder Pneumonie, die am ehesten als Folge des Myokardinfarktes zu werten sind. Die Entzündungsparameter CRP und IL-6 waren vor Beginn der G-CSF-Gabe am höchsten und verminderten sich deutlich unter der Behandlung. Die inflammatorischen Cytokine IL-6 und TNF- α werden im Rahmen eines Myokardinfarktes vor allem als Ausdruck mechanischen Stresses und der myokardialen Ischämie freigesetzt. (Kalra, Zhu et al. 2002; Nian, Lee et al. 2004) Im Rahmen der Behandlung mit G-CSF war eine Erhöhung des TNF- α -Spiegels am Tag 5 der Mobilisation zu beobachten. Gleichzeitig kam es zu einem signifikanten Anstieg der TNF-Rezeptoren p55 und p75. Diese Hochregulierung des TNF-Rezeptorsystems kann möglicherweise Ausdruck einer kardioprotektiven Wirkung von G-CSF am Myokard sein, da TNF- α über den Transkriptionsfaktor NF- κ B eine Aktivierung zytoprotektiver Gene bewirkt. Transgene Tiere mit herzspezifischer Überexpression von TNF- α entwickeln eine myokardiale Hypertrophie, die das myokardiale Remodelling abschwächen kann. (Kubota, McTiernan et al. 1997)

Das neuartige therapeutische Konzept der Stammzellmobilisierung bei Myokardinfarkt wurde 2004 durch die MAGIC Cell-Studie von Kang et al. in Frage gestellt, welche das Auftreten von In Stent-Restenosen als schwere unerwünschte Wirkung von G-CSF bei akutem Myokardinfarkt beschrieben. (Kang, Kim et al. 2004) Allerdings wich das Studiendesign im Vergleich zu den meisten anderen Mobilisationsstudien dahingehend ab, dass die G-CSF-Applikation vor der koronaren Intervention erfolgte. Dies dürfte die Hauptursache dafür sein, dass die MAGIC Cell-Studie aufgrund einer exzessiv hohen

Inzidenz der In Stent-Restenosen vorzeitig abgebrochen worden ist. Im Gegensatz zu diesem Bericht sahen wir in unserer Studie keine signifikante Häufung von Restenosen im Stent durch Stammzellmobilisierung nach einem Herzinfarkt. In-Stent-Restenosen des Infarktgefäßes, die mittels PCI erfolgreich behandelt werden konnten (*target lesion revascularisation* = TLR) traten geringfügig seltener bei G-CSF behandelten Patienten auf. Diese Befunde werden durch 4 jüngst veröffentlichte klinische Studien bestätigt, die ebenfalls niedrige Raten von In Stent-Restenosen oder TLR bei 11%, (Ripa, Jorgensen et al. 2006) 0%, (Valgimigli, Rigolin et al. 2005) 20% (Ince, Petzsch et al. 2005) und 7% (Kuethe, Figulla et al 2005) der Fälle bei G-CSF-behandelten Infarktpatienten berichten, die TLR von Kontrollpatienten (13%, 13%, 20% und 0%) vergleichbar war. Darüber hinaus konnte in der einzigen klinischen Studie, bei der revaskularisierte Infarktarterien mittels intravaskulärem Ultraschall untersucht wurden, keine vermehrte Neointimaformation nach PCI bei G-CSF behandelten Patienten gezeigt werden. (Jorgensen, Ripa et al. 2006)

Die niedrigere Restenoserate in der vorliegenden Studie könnte durch den Zeitpunkt der Verabreichung von G-CSF nach der vollständigen Wiederherstellung der koronaren Zirkulation im Infarktgefäß günstig beeinflusst worden sein. In der Studie von Kang et al. wurden Patienten mehr als 48 h seit Beginn des Myokardinfarktes eingeschlossen und auf folgende Behandlungsgruppen randomisiert: G-CSF-Behandlung mit Apherese und nachfolgender Stammzellinfusion, G-CSF subkutan sowie eine Kontrollgruppe. (Kang, Kim et al. 2007) Die verzögerte PCI wurde erst 4 Tage nach Beginn der Stammzellmobilisierung durchgeführt. Als Folge dieses Therapieregimes wurde die koronare Intervention zum Zeitpunkt der maximalen Leukozytose ausgeführt, was zu verstärkten angiogenen und inflammatorischen Prozessen innerhalb der Infarktläsion führte, was die Autoren in Atherektomieproben von Restenose-Läsionen nachweisen konnten. (Kang, Kim et al. 2007) Kang et al. berichteten kürzlich über die Ergebnisse der MAGIC Cell-DES 3-Studie. Dabei war unter Verwendung von *drug eluting*-Stents keine signifikante Erhöhung des Restenoserisikos nach intrakoronarer Infusion von G-CSF mobilisierten Stammzellen aus dem peripheren Blut nachweisbar. (Kang, Lee et al. 2006)

Im Gegensatz zu anderen klinischen G-CSF Studien, die außer TLR keinerlei MACE beobachteten, (Brodie, Stone et al. 2001; Montalescot, Barragan et al. 2001; Kang, Kim et al. 2004) traten in unserer Studie ein erneuter Myokardinfarkt sowie ein Todesfall in der G-CSF Gruppe auf: ein Patient aus der G-CSF Gruppe erlitt 2 Wochen nach der zunächst erfolgreichen Stentprozedur einen erneuten Vorderwandinfarkt (9 Tage nach Beendigung der G-CSF-Therapie). Die Koronarangiographie zeigte eine In Stent-Thrombose in der proximalen LAD. Bei der initialen PCI hatte der Patient 3 Stents in die LAD erhalten und war mit Clopidogrel und Tirofiban behandelt worden. Die gesamte Stentlänge von ca. 45 mm könnte zum Stentverschluss beigetragen haben, da Stent-Restenosen und -thrombosen mit steigender Läsions- und Stentlänge gehäuft auftreten. (Kastrati, Elezi et al. 1999; Kobayashi, De Gregorio et al. 1999) Ein männlicher 69-jähriger Patient aus der G-CSF-Gruppe wurde 3 Wochen nach der 6-Monatsangiographie tot in seinem Haus aufgefunden. Die Herzkatheteruntersuchung zeigte ein gutes langfristiges Resultat des Stents und eine normale Myokardfunktion ohne Nachweis von regionalen Wandbewegungsstörungen. Die Obduktion wurde von den Angehörigen verweigert. Als Todesursache kommt ein plötzlicher Herztod in Betracht, auch wenn ventrikuläre Arrhythmien in der medizinischen Vorgeschichte des Patienten nicht bekannt waren und im Langzeit-EKG nach dem Infarkt keine relevanten ventrikulären Arrhythmien nachgewiesen werden konnten. Einen direkten Zusammenhang mit der G-CSF-Gabe halten wir für nicht wahrscheinlich.

Ein Fall eines Kolonkarzinoms wurde bei einem Patienten aus der G-CSF-Gruppe beim 3-Monats-Follow-Up beobachtet. Das Auftreten eines zuvor nicht-diagnostizierten intestinalen Tumors könnte zufällig sein, da bei menschlichen Knochenmarksspendern, die G-CSF erhalten hatten, keine gesteigerte Rate von malignen Erkrankungen beschrieben wurde. (Cavallaro, Lilleby et al. 2000) G-CSF hat keine Wirkung auf die Krebszellproliferation bei Mäusen, kann aber das Tumorwachstum über eine gesteigerte Angiogenese begünstigen. (Natori, Sata et al. 2002) Dennoch sollten größere, zukünftige Studien ihren Focus auch auf die Häufigkeit maligner Erkrankungen im Follow-up richten.

6.2 Vergleich mit Tiermodellen

6.2.1 Kleintiermodell

In der vorliegenden Studie verbesserte sich die linksventrikuläre Auswurffraktion in beiden Behandlungsgruppen, jedoch war G-CSF der Placebobehandlung nicht überlegen ($\Delta_{\text{ejection fraction}}$ G-CSF: +6.2% vs. Placebo: +5.3%, $p=0.770$). Im Gegensatz dazu zeigten die meisten *in vivo*-Studien an Maus-, Ratten- oder Kanincheninfarktmodellen eine verbesserte Hämodynamik und gesteigerte Pumpleistung gegenüber Kontrolltieren, wenn G-CSF vor oder nach einem experimentellen Infarkt gegeben wurde. Beispielsweise zeigten Orlic et al. 2001 im Mausmodell nach der Gabe von G-CSF und SCF vor und nach Infarkt eine gesteigerte Kontraktilität, eine erniedrigte Mortalität und ein erhöhtes Homing. (Orlic, Kajstura et al. 2001)

Ebenfalls eine Kontraktilitätssteigerung konnten Minatoguchi et al. 2004 im Kaninchenmodell nachweisen, zudem kam es bei G-CSF-Gabe nach Infarkt zu weniger Narbenbildung und einer beschleunigten Heilung. (Minatoguchi, Takemura et al. 2004) Auch Deindl et al. zeigten 2006 eine Steigerung von kontraktile Funktion, Neovaskularisierung, Expression von ICAM-1 und eine verringerte Mortalität nach G-CSF-Gabe im Mausmodell. (Deindl, Zaruba et al. 2006) BALB/c Mäuse profitieren nach experimentellem Myokardinfarkt nicht, was möglicherweise an der verminderten Kapazität dieses Tierstammes liegt, Kollateralgefäße zu bilden. (Deten, Volz et al. 2005) In einer neueren Studie in einem Ischämie-Reperfusionmodell an Wildtyp-Mäusen konnte keine Verbesserung der myokardialen Funktion nach G-CSF alleine, wohl aber nach kombinierter Behandlung mit anderen Cytokinen (G-CSF plus SCF, G-CSF plus Flt-3 Ligand) nachgewiesen werden. (Dawn, Guo et al. 2006)

Dass sich diese Ergebnisse in den klinischen Studien am Menschen so nicht reproduzieren ließen, könnte zu einem daran liegen, dass in Tierversuchen mit ursprünglich gesunden, artherosklerotisch nicht-vorbelasteten Tiere gearbeitet wird. Zudem weisen diese

Tiere nach der Ligatur einen chronischen Verschluss des Koronargefäßes auf - somit unterscheidet sich dieses Modell von einem revaskularisierten Gefäß nach akutem Myokardinfarkt. Hinzu kommt eine oftmals höhere Dosis von G-CSF in Tiermodellen. Ein weiterer Aspekt ist die fehlende Begleitmedikation der Versuchstiere. Eventuell könnten sich daher die positiven Effekte von G-CSF bei unseren Patienten nicht hervorheben, deren Therapie mit Beta-Blockern und ACE-Hemmern optimiert ist. Dies lässt sich selbstverständlich aus ethischen Gründen nicht anders gestalten.

6.2.2 Großtiermodell

Zu unterschiedlichen Ergebnissen kommen die Versuche an Hunde- und Schweinemodellen mit G-CSF nach Infarkt. Iwanaga et al. zeigten eine Steigerung der kontraktilen Funktion, sowie eine Senkung von Apoptose und Remodeling bei Hunden und Schweinen. (Iwanaga, Takano et al. 2004) Eine Verbesserung der Kontraktion und eine Verringerung von Arrhythmien und Infarktgröße bei Hunden sahen Takahama et al. (Takahama, Minamino et al. 2006) Lee sah hingegen am Schweinemodell keine globale kontraktile Funktionsverbesserung, lediglich eine regionale Erholung. (Lee, Naqvi et al. 2007)

In einem Primatenmodell, bei dem den Tieren G-CSF und SCF 4 h nach einem experimentellen Myokardinfarkt verabreicht wurden, konnten Norol et al. einen gesteigerten kardialen Blutfluss und Metabolismus nachweisen. Eine Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion ergab sich in diesem Modell allerdings nicht, zudem wiesen die verwendeten Baboons eine hohe Sterblichkeit auf. (Norol, Merlet et al. 2003)

Im Gegensatz zu den Kleintieren ist im Großtiermodell wie bei den klinischen Studien die Datenlage zu Effekten der G-CSF-Gabe nach Myokardinfarkt heterogen, wobei sich jedoch eine Tendenz in Richtung myokardiale Perfusionsverbesserung nach G-CSF-Gabe abzeichnet. (Norol, Merlet et al. 2003)

6.3 Limitationen

Der Zeitpunkt des Beginns der G-CSF-Behandlung nach erfolgreicher PCI ist möglicherweise ein limitierender Faktor für den nachweisbaren Effekt der Behandlung. Im Gegensatz zu der Reihe unlängst publizierter Studien, bei denen Patienten eingeschlossen wurden, bei denen eine frühzeitige PCI (meistens < 12 h nach Beginn der Beschwerden) durchgeführt werden konnte, fokussierte sich die vorliegende Arbeit auf die Wirkung von G-CSF bei Patienten, die an einem subakuten Myokardinfarkt litten und zeitlich verzögert zur Koronarintervention aufgenommen wurden. Im Mittel lag die Zeit vom Beginn der pectanginösen Beschwerden bis zur PCI bei 32 ± 45 h (Range: 6 bis 160 h). Die sehr frühe Verabreichung von G-CSF in der FIRSTLINE-AMI Studie (im Mittel 1.5 Stunden nach PCI) führte zu einer ausgeprägten Verbesserung der globalen Myokardfunktion. (Ince, Petzsch et al. 2005; Ince, Petzsch et al. 2005) Im Vergleich dazu wurde die G-CSF-/Placebo-Behandlung in der vorliegenden Studie im Mittel 31 ± 24 h (Range: 2 - 107 h) nach der erfolgreichen Revaskularisierung begonnen. In einer größeren Studie (n=114) erhielten 56 Patienten $10\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ G-CSF erst 5 Tage nach schnell durchgeführter PCI (Angina-PC-Intervall <12 h). (Zohlhofer, Ott et al. 2006) Dieser sehr späte Behandlungsbeginn resultierte in einer geringfügigen Reduktion der Infarktgröße in beiden Therapiearmen (G-CSF $-6.2\pm 9.1\%$ gegenüber $-4.9\pm 8.9\%$ in Placebo-behandelten Patienten, $p=0.56$) und auch einer geringen Verbesserung der Auswurfraction in beiden Gruppen (G-CSF: $+0.5\pm 3.8\%$ vs. Placebo: $+2.0\pm 4.9\%$, $p=0.14$). Diese Ergebnisse stützen die Hypothese einer sich im Zeitverlauf abschwächenden Wirkung von G-CSF nach Infarkt.

Weitere Faktoren für den ausgebliebenen positiven Effekt von G-CSF auf die globale Pumpfunktion könnten die ausgedehnten myokardialen Funktionsstörungen in beiden Therapiegruppen sein. Die initial gemessene Auswurfraction in der vorliegenden Studie war als Ausdruck dieser Funktionsstörungen in beiden Behandlungsgruppen deutlich eingeschränkt (EF: 41%, Placebo 44%, $p=\text{NS}$). Die meisten anderen Studien schlossen Patienten mit einer weniger ausgeprägten Funktionsstörung des Myokards ein. (Ince, Petzsch et al. 2005; Zohlhofer, Ott et al. 2006)

Die statistische Aussagekraft der vorliegenden Studie ist möglicherweise durch die Fallzahl von 44 Studienpatienten mit einer Power von 80% eingeschränkt.

6.4 Ausblick

Die Behandlung mit G-CSF nach interventioneller Revaskularisierung bei subakutem STEMI ist machbar und relativ sicher; In-Stent-Restenosen treten im Vergleich zur Standardtherapie nicht gehäuft auf, wenn G-CSF nach erfolgreicher interventioneller Revaskularisierung verabreicht wird. Patienten mit akutem und subakutem Myokardinfarkt profitieren hinsichtlich einer Verbesserung der Herzfunktion anscheinend nicht von der Stammzellmobilisierung mit G-CSF, wenn die Intervention oder auch die G-CSF-Gabe spät erfolgt. Es zeigten sich jedoch positive Effekte auf die myokardiale Perfusion im kurzfristigen Verlauf. Hier sollte in zukünftigen Mobilisationsstudien versucht werden, die G-CSF-Gabe schnell, vor allem aber nach einer frühen Revaskularisierung zu initiieren. Außerdem sollten zukünftige Studien darauf abzielen, die myokardiale Homingkapazität zu steigern. Dies könnte beispielsweise durch direkte Injektion oder aber den verminderten Abbau von Homingfaktoren erreicht werden. Da überdies direkte Effekte von G-CSF auf myokardiales Gewebe bekannt sind, könnten auch alternative Applikationsregime wie die direkte myokardiale Applikation von G-CSF oder die Kombination mit anderen mobilisierenden Substanzen untersucht werden. Insgesamt bieten sich somit verschiedene Wege an, die Strategie der G-CSF-Gabe zu verfeinern und zu einer effektiven therapeutischen Alternative bei der Behandlung des akuten Myokardinfarktes zu entwickeln.

7. Literatur

- Abbott, J. D., Y. Huang, et al. (2004). "Stromal cell-derived factor-1alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury." Circulation **110**(21): 3300-5.
- Anderlini, P., M. Korbling, et al. (1997). "Allogeneic blood stem cell transplantation: considerations for donors." Blood **90**(3): 903-8.
- Anderlini, P., D. Przepiorka, et al. (1996). "Biologic and clinical effects of granulocyte colony-stimulating factor in normal individuals." Blood **88**(8): 2819-25.
- Asahara, T., T. Murohara, et al. (1997). "Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis." Science **275**(5302): 964-7.
- Askari, A. T., S. Unzek, et al. (2003). "Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy." Lancet **362**(9385): 697-703.
- Assmus, B., V. Schachinger, et al. (2002). "Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI)." Circulation **106**(24): 3009-17.
- Badorff, C., R. P. Brandes, et al. (2003). "Transdifferentiation of blood-derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes." Circulation **107**(7): 1024-32.
- Balsam, L. B., A. J. Wagers, et al. (2004). "Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium." Nature **428**(6983): 668-73.
- Basu, S., A. Dunn, et al. (2002). "G-CSF: function and modes of action (Review)." Int J Mol Med **10**(1): 3-10.
- Beltrami, A. P., L. Barlucchi, et al. (2003). "Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration." Cell **114**(6): 763-76.
- Bengel, F. M. (2006). "Positron emission tomography and magnetic resonance imaging in heart failure." J Nucl Cardiol **13**(2): 145-9.
- Bolli, R. (1988). "Oxygen-derived free radicals and postischemic myocardial dysfunction ("stunned myocardium")." J Am Coll Cardiol **12**(1): 239-49.
- Bolli, R., J. F. Triana, et al. (1990). "Prolonged impairment of coronary vasodilation after reversible ischemia. Evidence for microvascular "stunning"." Circ Res **67**(2): 332-43.
- Braunwald, E., E. M. Antman, et al. (2002). "ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction--summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina)." J Am Coll Cardiol **40**(7): 1366-74.
- Britten, M. B., N. D. Abolmaali, et al. (2003). "Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging." Circulation **108**(18): 2212-8.
- Brodie, B. R., G. W. Stone, et al. (2001). "Importance of time to reperfusion on outcomes with primary coronary angioplasty for acute myocardial infarction (results from the Stent Primary Angioplasty in Myocardial Infarction Trial)." Am J Cardiol **88**(10): 1085-90.

- Bussolino, F., J. M. Wang, et al. (1989). "Granulocyte- and granulocyte-macrophage-colony stimulating factors induce human endothelial cells to migrate and proliferate." Nature **337**(6206): 471-3.
- Butler, J. M., S. M. Guthrie, et al. (2005). "SDF-1 is both necessary and sufficient to promote proliferative retinopathy." J Clin Invest **115**(1): 86-93.
- Cavallaro, A. M., K. Lilleby, et al. (2000). "Three to six year follow-up of normal donors who received recombinant human granulocyte colony-stimulating factor." Bone Marrow Transplant **25**(1): 85-9.
- Ceradini, D. J., A. R. Kulkarni, et al. (2004). "Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1." Nat Med **10**(8): 858-64.
- Cerqueira, M. D., N. J. Weissman, et al. (2002). "Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart: a statement for healthcare professionals from the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association." Circulation **105**(4): 539-42.
- Chazaud, B., L. Hittinger, et al. (2003). "Endoventricular porcine autologous myoblast transplantation can be successfully achieved with minor mechanical cell damage." Cardiovasc Res **58**(2): 444-50.
- Dai, W., S. L. Hale, et al. (2005). "Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in postinfarcted rat myocardium: short- and long-term effects." Circulation **112**(2): 214-23.
- Dawn, B., Y. Guo, et al. (2006). "Postinfarct cytokine therapy regenerates cardiac tissue and improves left ventricular function." Circ Res **98**(8): 1098-105.
- De Falco, E., D. Porcelli, et al. (2004). "SDF-1 involvement in endothelial phenotype and ischemia-induced recruitment of bone marrow progenitor cells." Blood **104**(12): 3472-82.
- Deindl, E., M. M. Zaruba, et al. (2006). "G-CSF administration after myocardial infarction in mice attenuates late ischemic cardiomyopathy by enhanced arteriogenesis." Faseb J **20**(7): 956-8.
- Deten, A., H. C. Volz, et al. (2005). "Hematopoietic stem cells do not repair the infarcted mouse heart." Cardiovasc Res **65**(1): 52-63.
- Dincer, A. P., J. Gottschall, et al. (2004). "Splenic rupture in a parental donor undergoing peripheral blood progenitor cell mobilization." J Pediatr Hematol Oncol **26**(11): 761-3.
- Dlubek, D., D. Drabczak-Skrzypek, et al. (2006). "Low CXCR4 membrane expression on CD34(+) cells characterizes cells mobilized to blood." Bone Marrow Transplant **37**(1): 19-23.
- Dzavik, V., C. E. Buller, et al. (2006). "Randomized trial of percutaneous coronary intervention for subacute infarct-related coronary artery occlusion to achieve long-term patency and improve ventricular function: the Total Occlusion Study of Canada (TOSCA)-2 trial." Circulation **114**(23): 2449-57.
- Engelmann, M. G. and W. M. Franz (2006). "Stem cell therapy after myocardial infarction: ready for clinical application?" Curr Opin Mol Ther **8**(5): 396-414.
- Engelmann, M. G., H. D. Theiss, et al. (2006). "Autologous bone marrow stem cell mobilization induced by granulocyte colony-stimulating factor after subacute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing late revascularization: final results from the G-CSF-STEMI (Granulocyte Colony-Stimulating Factor ST-Segment Elevation Myocardial Infarction) trial." J Am Coll Cardiol **48**(8): 1712-21.
- Engelmann, M. G., H. D. Theiss, et al. (2008). "G-CSF in patients suffering from late revascularized ST elevation myocardial infarction: Analysis on the timing of G-CSF administration." Exp Hematol.

- Franz, W. M., M. Zaruba, et al. (2003). "Stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy." Lancet **362**(9385): 675-6.
- Fruehauf, S. and R. Seggewiss (2003). "It's moving day: factors affecting peripheral blood stem cell mobilization and strategies for improvement [corrected]." Br J Haematol **122**(3): 360-75.
- Gerber, B. L., J. Garot, et al. (2002). "Accuracy of contrast-enhanced magnetic resonance imaging in predicting improvement of regional myocardial function in patients after acute myocardial infarction." Circulation **106**(9): 1083-9.
- Gnecchi, M., H. He, et al. (2005). "Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells." Nat Med **11**(4): 367-8.
- Goodell, M. A., M. Rosenzweig, et al. (1997). "Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD34 antigen exist in multiple species." Nat Med **3**(12): 1337-45.
- Harada, M., Y. Qin, et al. (2005). "G-CSF prevents cardiac remodeling after myocardial infarction by activating the Jak-Stat pathway in cardiomyocytes." Nat Med **11**(3): 305-11.
- Harrison, J. S., P. Rameshwar, et al. (2002). "Oxygen saturation in the bone marrow of healthy volunteers." Blood **99**(1): 394.
- Hochman, J. S., G. A. Lamas, et al. (2006). "Coronary intervention for persistent occlusion after myocardial infarction." N Engl J Med **355**(23): 2395-407.
- Hsieh, I. C., H. J. Chang, et al. (1998). "Late coronary artery stenting in patients with acute myocardial infarction." Am Heart J **136**(4 Pt 1): 606-12.
- Imitola, J., K. Raddassi, et al. (2004). "Directed migration of neural stem cells to sites of CNS injury by the stromal cell-derived factor 1alpha/CXC chemokine receptor 4 pathway." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(52): 18117-22.
- Ince, H., M. Petzsch, et al. (2005). "Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction: final 1-year results of the Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor (FIRSTLINE-AMI) Trial." Circulation **112**(9 Suppl): I73-80.
- Ince, H., M. Petzsch, et al. (2005). "Preservation from left ventricular remodeling by front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte-colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI)." Circulation **112**(20): 3097-106.
- Iwanaga, K., H. Takano, et al. (2004). "Effects of G-CSF on cardiac remodeling after acute myocardial infarction in swine." Biochem Biophys Res Commun **325**(4): 1353-9.
- Jackson, K. A., S. M. Majka, et al. (2001). "Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells." J Clin Invest **107**(11): 1395-402.
- Janssens, S., C. Dubois, et al. (2006). "Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial." Lancet **367**(9505): 113-21.
- Jiang, Y., B. Vaessen, et al. (2002). "Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain." Exp Hematol **30**(8): 896-904.
- Jorgensen, E., R. S. Ripa, et al. (2006). "In-stent neo-intimal hyperplasia after stem cell mobilization by granulocyte-colony stimulating factor Preliminary intracoronary ultrasound results from a double-blind randomized placebo-controlled study of patients treated with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (STEMMI Trial)." Int J Cardiol **111**(1): 174-7.

- Kalra, D. K., X. Zhu, et al. (2002). "Increased myocardial gene expression of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide synthase-2: a potential mechanism for depressed myocardial function in hibernating myocardium in humans." Circulation **105**(13): 1537-40.
- Kang, H. J., H. S. Kim, et al. (2007). "Intracoronary infusion of the mobilized peripheral blood stem cell by G-CSF is better than mobilization alone by G-CSF for improvement of cardiac function and remodeling: 2-year follow-up results of the Myocardial Regeneration and Angiogenesis in Myocardial Infarction with G-CSF and Intra-Coronary Stem Cell Infusion (MAGIC Cell) 1 trial." Am Heart J **153**(2): 237 e1-8.
- Kang, H. J., H. S. Kim, et al. (2004). "Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial." Lancet **363**(9411): 751-6.
- Kang, H. J., H. Y. Lee, et al. (2006). "Differential effect of intracoronary infusion of mobilized peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor on left ventricular function and remodeling in patients with acute myocardial infarction versus old myocardial infarction: the MAGIC Cell-3-DES randomized, controlled trial." Circulation **114**(1 Suppl): 1145-51.
- Kastrati, A., S. Elezi, et al. (1999). "Influence of lesion length on restenosis after coronary stent placement." Am J Cardiol **83**(12): 1617-22.
- Katayama, Y., M. Battista, et al. (2006). "Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow." Cell **124**(2): 407-21.
- Kawakami, M., H. Tsutsumi, et al. (1990). "Levels of serum granulocyte colony-stimulating factor in patients with infections." Blood **76**(10): 1962-4.
- Keeney, M., I. Chin-Yee, et al. (1998). "Single platform flow cytometric absolute CD34+ cell counts based on the ISHAGE guidelines. International Society of Hematotherapy and Graft Engineering." Cytometry **34**(2): 61-70.
- Kim, B. O., H. Tian, et al. (2005). "Cell transplantation improves ventricular function after a myocardial infarction: a preclinical study of human unrestricted somatic stem cells in a porcine model." Circulation **112**(9 Suppl): 196-104.
- Kim, H. K., M. De La Luz Sierra, et al. (2006). "G-CSF down-regulation of CXCR4 expression identified as a mechanism for mobilization of myeloid cells." Blood **108**(3): 812-20.
- Kim, R. J., D. S. Fieno, et al. (1999). "Relationship of MRI delayed contrast enhancement to irreversible injury, infarct age, and contractile function." Circulation **100**(19): 1992-2002.
- Kobayashi, Y., J. De Gregorio, et al. (1999). "Stented segment length as an independent predictor of restenosis." J Am Coll Cardiol **34**(3): 651-9.
- Kocher, A. A., M. D. Schuster, et al. (2001). "Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function." Nat Med **7**(4): 430-6.
- Kogler, G., S. Sensken, et al. (2004). "A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential." J Exp Med **200**(2): 123-35.
- Kovacic, J. C., P. Macdonald, et al. (2007). "Profound thrombocytopenia related to G-CSF." Am J Hematol **82**(3): 229-30.
- Kovacic, J. C., D. W. Muller, et al. (2007). "Actions and therapeutic potential of G-CSF and GM-CSF in cardiovascular disease." J Mol Cell Cardiol **42**(1): 19-33.
- Kovacic, J. C., D. W. Muller, et al. (2005). "Update on the use of stem cells for cardiac disease." Intern Med J **35**(6): 348-56.

- Kraitchman, D. L., A. W. Heldman, et al. (2003). "In vivo magnetic resonance imaging of mesenchymal stem cells in myocardial infarction." Circulation **107**(18): 2290-3.
- Kubota, T., C. F. McTiernan, et al. (1997). "Cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha causes lethal myocarditis in transgenic mice." J Card Fail **3**(2): 117-24.
- Kueth, F., H. R. Figulla, et al. (2005). "Treatment with granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction." Am Heart J **150**(1): 115.
- Lange, R. A. and L. D. Hillis (2002). "Reperfusion therapy in acute myocardial infarction." N Engl J Med **346**(13): 954-5.
- Laugwitz, K. L., A. Moretti, et al. (2005). "Postnatal Isl1+ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages." Nature **433**(7026): 647-53.
- Lee, M., M. Aoki, et al. (2005). "Therapeutic angiogenesis with intramuscular injection of low-dose recombinant granulocyte-colony stimulating factor." Arterioscler Thromb Vasc Biol **25**(12): 2535-41.
- Lee, S. S., T. Z. Naqvi, et al. (2007). "The effect of granulocyte colony stimulating factor on regional and global myocardial function in the porcine infarct model." Int J Cardiol **116**(2): 225-30.
- Leone, A. M., S. Rutella, et al. (2006). "Endogenous G-CSF and CD34+ cell mobilization after acute myocardial infarction." Int J Cardiol **111**(2): 202-8.
- Levesque, J. P., F. Liu, et al. (2004). "Characterization of hematopoietic progenitor mobilization in protease-deficient mice." Blood **104**(1): 65-72.
- Lowel, H. and C. Meisinger (2006). "[Epidemiology and demographic evolution exemplified for cardiovascular diseases in Germany]." Med Klin (Munich) **101**(10): 804-11.
- Lund, G. K., A. Stork, et al. (2004). "Acute myocardial infarction: evaluation with first-pass enhancement and delayed enhancement MR imaging compared with 201Tl SPECT imaging." Radiology **232**(1): 49-57.
- Lunde, K., S. Solheim, et al. (2006). "Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction." N Engl J Med **355**(12): 1199-209.
- Lunde, K., S. Solheim, et al. (2005). "Autologous stem cell transplantation in acute myocardial infarction: The ASTAMI randomized controlled trial. Intracoronary transplantation of autologous mononuclear bone marrow cells, study design and safety aspects." Scand Cardiovasc J **39**(3): 150-8.
- McKinstry, W. J., C. L. Li, et al. (1997). "Cytokine receptor expression on hematopoietic stem and progenitor cells." Blood **89**(1): 65-71.
- Menasche, P. (2005). "Skeletal myoblast for cell therapy." Coron Artery Dis **16**(2): 105-10.
- Menasche, P., A. A. Hagege, et al. (2003). "Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction." J Am Coll Cardiol **41**(7): 1078-83.
- Messina, E., L. De Angelis, et al. (2004). "Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart." Circ Res **95**(9): 911-21.
- Meyer, G. P., K. C. Wollert, et al. (2006). "Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial." Circulation **113**(10): 1287-94.
- Miller, S., O. P. Simonetti, et al. (2002). "MR Imaging of the heart with cine true fast imaging with steady-state precession: influence of spatial and temporal resolutions on left ventricular functional parameters." Radiology **223**(1): 263-9.

- Minatoguchi, S., G. Takemura, et al. (2004). "Acceleration of the healing process and myocardial regeneration may be important as a mechanism of improvement of cardiac function and remodeling by postinfarction granulocyte colony-stimulating factor treatment." Circulation **109**(21): 2572-80.
- Misao, Y., G. Takemura, et al. (2006). "Importance of recruitment of bone marrow-derived CXCR4+ cells in post-infarct cardiac repair mediated by G-CSF." Cardiovasc Res **71**(3): 455-65.
- Montalescot, G., P. Barragan, et al. (2001). "Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibition with coronary stenting for acute myocardial infarction." N Engl J Med **344**(25): 1895-903.
- Moon, M. H., S. Y. Kim, et al. (2006). "Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hindlimb ischemia." Cell Physiol Biochem **17**(5-6): 279-90.
- Moss, A. J., W. Zareba, et al. (2002). "Prophylactic implantation of a defibrillator in patients with myocardial infarction and reduced ejection fraction." N Engl J Med **346**(12): 877-83.
- Murry, C. E., M. H. Soonpaa, et al. (2004). "Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts." Nature **428**(6983): 664-8.
- Nakagami, H., K. Maeda, et al. (2005). "Novel autologous cell therapy in ischemic limb disease through growth factor secretion by cultured adipose tissue-derived stromal cells." Arterioscler Thromb Vasc Biol **25**(12): 2542-7.
- Nakagami, H., R. Morishita, et al. (2006). "Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell therapy." J Atheroscler Thromb **13**(2): 77-81.
- Natori, T., M. Sata, et al. (2002). "G-CSF stimulates angiogenesis and promotes tumor growth: potential contribution of bone marrow-derived endothelial progenitor cells." Biochem Biophys Res Commun **297**(4): 1058-61.
- Nian, M., P. Lee, et al. (2004). "Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling." Circ Res **94**(12): 1543-53.
- Norol, F., P. Merlet, et al. (2003). "Influence of mobilized stem cells on myocardial infarct repair in a nonhuman primate model." Blood **102**(13): 4361-8.
- Oh, H., S. B. Bradfute, et al. (2003). "Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction." Proc Natl Acad Sci U S A **100**(21): 12313-8.
- Orlic, D., J. Kajstura, et al. (2001). "Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice." Ann N Y Acad Sci **938**: 221-9; discussion 229-30.
- Orlic, D., J. Kajstura, et al. (2001). "Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium." Nature **410**(6829): 701-5.
- Papayannopoulou, T. (2004). "Current mechanistic scenarios in hematopoietic stem/progenitor cell mobilization." Blood **103**(5): 1580-5.
- Petit, I., M. Szyper-Kravitz, et al. (2002). "G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4." Nat Immunol **3**(7): 687-94.
- Pittenger, M. F. and B. J. Martin (2004). "Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics." Circ Res **95**(1): 9-20.
- Ripa, R. S., E. Jorgensen, et al. (2006). "Stem cell mobilization induced by subcutaneous granulocyte-colony stimulating factor to improve cardiac regeneration after acute ST-elevation myocardial infarction: result of the double-blind, randomized, placebo-controlled stem cells in myocardial infarction (STEMMI) trial." Circulation **113**(16): 1983-92.

- Roberts, A. W. (2005). "G-CSF: a key regulator of neutrophil production, but that's not all!" Growth Factors **23**(1): 33-41.
- Salven, P., S. Mustjoki, et al. (2003). "VEGFR-3 and CD133 identify a population of CD34+ lymphatic/vascular endothelial precursor cells." Blood **101**(1): 168-72.
- Schachinger, V., B. Assmus, et al. (2004). "Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial." J Am Coll Cardiol **44**(8): 1690-9.
- Schachinger, V., S. Erbs, et al. (2006). "Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction." N Engl J Med **355**(12): 1210-21.
- Schioppa, T., B. Uranchimeg, et al. (2003). "Regulation of the chemokine receptor CXCR4 by hypoxia." J Exp Med **198**(9): 1391-402.
- Schneider, A., C. Kruger, et al. (2005). "The hematopoietic factor G-CSF is a neuronal ligand that counteracts programmed cell death and drives neurogenesis." J Clin Invest **115**(8): 2083-98.
- Schuster, M. D., A. A. Kocher, et al. (2004). "Myocardial neovascularization by bone marrow angioblasts results in cardiomyocyte regeneration." Am J Physiol Heart Circ Physiol **287**(2): H525-32.
- Semerad, C. L., M. J. Christopher, et al. (2005). "G-CSF potently inhibits osteoblast activity and CXCL12 mRNA expression in the bone marrow." Blood **106**(9): 3020-7.
- Shi, Q., S. Rafii, et al. (1998). "Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells." Blood **92**(2): 362-7.
- Shintani, S., T. Murohara, et al. (2001). "Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction." Circulation **103**(23): 2776-9.
- Silber, S., P. Albertsson, et al. (2005). "Guidelines for percutaneous coronary interventions. The Task Force for Percutaneous Coronary Interventions of the European Society of Cardiology." Eur Heart J **26**(8): 804-47.
- Smits, P. C., R. J. van Geuns, et al. (2003). "Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up." J Am Coll Cardiol **42**(12): 2063-9.
- Spertus, J. A., J. A. Winder, et al. (1995). "Development and evaluation of the Seattle Angina Questionnaire: a new functional status measure for coronary artery disease." J Am Coll Cardiol **25**(2): 333-41.
- Stamm, C., H. D. Kleine, et al. (2004). "CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction." Thorac Cardiovasc Surg **52**(3): 152-8.
- Strauer, B. E., M. Brehm, et al. (2002). "Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans." Circulation **106**(15): 1913-8.
- Takahama, H., T. Minamino, et al. (2006). "Granulocyte colony-stimulating factor mediates cardioprotection against ischemia/reperfusion injury via phosphatidylinositol-3-kinase/Akt pathway in canine hearts." Cardiovasc Drugs Ther **20**(3): 159-65.
- Tang, Y. L., Y. Tang, et al. (2005). "Improved graft mesenchymal stem cell survival in ischemic heart with a hypoxia-regulated heme oxygenase-1 vector." J Am Coll Cardiol **46**(7): 1339-50.
- Templin, C., D. Kotlarz, et al. (2006). "Transcoronary delivery of bone marrow cells to the infarcted murine myocardium: feasibility, cellular kinetics, and improvement in cardiac function." Basic Res Cardiol **101**(4): 301-10.
- Uemura, R., M. Xu, et al. (2006). "Bone marrow stem cells prevent left ventricular remodeling of ischemic heart through paracrine signaling." Circ Res **98**(11): 1414-21.

- Valgimigli, M., G. M. Rigolin, et al. (2005). "Use of granulocyte-colony stimulating factor during acute myocardial infarction to enhance bone marrow stem cell mobilization in humans: clinical and angiographic safety profile." *Eur Heart J* **26**(18): 1838-45.
- Wintersperger, B. J., S. B. Reeder, et al. (2006). "Cardiac CINE MR imaging with a 32-channel cardiac coil and parallel imaging: impact of acceleration factors on image quality and volumetric accuracy." *J Magn Reson Imaging* **23**(2): 222-7.
- Wojakowski, W., M. Tendera, et al. (2004). "Mobilization of CD34/CXCR4+, CD34/CD117+, c-met+ stem cells, and mononuclear cells expressing early cardiac, muscle, and endothelial markers into peripheral blood in patients with acute myocardial infarction." *Circulation* **110**(20): 3213-20.
- Wollert, K. C., G. P. Meyer, et al. (2004). "Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial." *Lancet* **364**(9429): 141-8.
- Wright, D. E., E. P. Bowman, et al. (2002). "Hematopoietic stem cells are uniquely selective in their migratory response to chemokines." *J Exp Med* **195**(9): 1145-54.
- Wynn, R. F., C. A. Hart, et al. (2004). "A small proportion of mesenchymal stem cells strongly expresses functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow." *Blood* **104**(9): 2643-5.
- Yeh, E. T., S. Zhang, et al. (2003). "Transdifferentiation of human peripheral blood CD34+-enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells in vivo." *Circulation* **108**(17): 2070-3.
- Yoshioka, T., N. Ageyama, et al. (2005). "Repair of infarcted myocardium mediated by transplanted bone marrow-derived CD34+ stem cells in a nonhuman primate model." *Stem Cells* **23**(3): 355-64.
- Zohnhofer, D., I. Ott, et al. (2006). "Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myocardial infarction: a randomized controlled trial." *Jama* **295**(9): 1003-10.

- ¹ 1994. *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceutical Products for Human Use: ICH Harmonized Tripartite Guideline, "Clinical Data Safety Management: Definitions and Standards for Expedited Reporting"*. Recommended for Adoption at Step 4 of the ICH Process on 27 May 1994. www.ifpma.org/ich5e.html#Safety
- ² 1996. *Declaration of Helsinki: Guiding Physicians in Biomedical Research Involving Human Subjects*. Adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki (Finland), June 1964. Last amendment by the 48th General Assembly, Somerset West (Rep. of South Africa).
- ³ 1996. *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceutical Products for Human Use: ICH Harmonized Tripartite Guideline, "Guideline for Good Clinical Practice"*. Recommended for Adoption at Step 4 of the ICH Process on 1 May 1996. www.ifpma.org/ich5e.html#GCP
- ⁴ 2004. Verordnung über die Anwendung der Guten Klinischen Praxis bei der Durchführung von klinischen Prüfungen mit Arzneimitteln zur Anwendung am Menschen (GCP-Verordnung - GCP-V) in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. August 2004. *BGBI I*: 2081.
- ⁵ Amgen. 2002. Fachinformation Neupogen 30/48.

8. Lebenslauf



Christine Anna Maria Theiss

Geburtsdatum: 22.02.1980

Geburtsort: Greiz

Geburtsname: Hennig

Ehemann: Dr. med. Hans Diogenes Theiss

Eltern: Dr. med. Wolfgang Hennig, Arzt
Dr. med. Gisela Hennig, geb. Konieczny, Ärztin

Adresse: Destouchesstr. 65
80796 München
089/36055415
christine.theiss@email.de

Ausbildung: 1986 bis 1990
Grundschule Herzoghöhe in Bayreuth
1990 bis 1999
Gymnasium Christian Ernestinum in Bayreuth
1999
Abitur (Note 2,2)
Ab April 2001
Studium der Humanmedizin an der LMU in München
März 2003
Physikum (Note 2,6)
Januar 2006 – Januar 2007
Praktisches Jahr:

Chirurgische Klinik, Krankenhaus München Schwabing;
Klinik für Anästhesiologie, Klinikum der Universität
München/Großhadern;

Klinik für Nieren-, Hochdruck- und Rheumaerkrankungen,
Krankenhaus München Schwabing

November 2007

2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung nach neuer ÄAppO (Note
2,0)

seit April 2003

Promotion bei Prof. Dr. med. W.-M. Franz an der
Medizinischen Klinik und Poliklinik I der Universität
München/Großhadern über das Thema „*G-CSF-Therapie zur
adjuvanten Behandlung des verzögert revascularisierten
Myokardinfarktes (STEMI)*“

Praktika:

September 1999 – Oktober 2000:

Praktikum in Internistisch-Allgemeinärztlicher Gemeinschafts-
praxis in Bayreuth

November 2000 – Februar 2001:

Vorsemester am Institut für Biologie und Medizin in Köln

August - September 2001:

Pflegepraktikum auf der allgemein-chirurgischen und
orthopädischen Station der WolfartKlinik Gräfelfing

August – September 2003:

Famulatur in der Medizinischen Klinik I der Universität
München/ Klinikum Großhadern

August – September 2004:

Famulatur in Internistisch-Allgemeinärztlicher Gemeinschafts-
praxis in Bayreuth

Februar – März 2005:

Famulatur in der Medizinischen Klinik II des Krankenhaus
München Schwabing

Publikationen:

Engelmann MG, Theiss HD, **Hennig-Theiss C**, Huber A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger AE, Schoenberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *Autologous bone marrow stem cell mobilization induced by granulocyte colony-stimulating factor after subacute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing late revascularization: final results from the G-CSF-STEMI (Granulocyte Colony-Stimulating Factor ST-Segment Elevation Myocardial Infarction) trial.* J Am Coll Cardiol. 2006 Oct 17;48(8):1712-21.

Engelmann MG, Theiss HD, **Hennig-Theiss C**, Huber A, Wintersperger BJ, Schoenberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *G-CSF in patients suffering from late revascularized ST elevation myocardial infarction: Analysis on the timing of G-CSF administration.* Exp Hematol. 2008 Jun;36(6):703-9. Epub 2008 Mar 17.

Engelmann MG, Theiss HD, **Hennig-Theiss C**, Huber A, Wintersperger BJ, Schoenberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *G-CSF in patients suffering from late revascularized ST elevation myocardial infarction: Final 1-year results of the G-CSF-STEMI Trial.* Eingereicht beim Int. J. Cardiol.

Abstracts:

Engelmann M, Theiss H, **Hennig C**, Huber A, Wintersperger B, Schönberg S, Steinbeck G, Franz WM. *Sicherheit der durch Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) induzierten Stammzell-Mobilisation beim verzögert revascularisierten myokardialen ST-Hebungsinfarkt (STEMI).* Z-Kardiologie 93 (Suppl 3): III/34 (2004).

Franz WM, Engelmann M, Theiss H, **Hennig C**, Huber A, Wintersperger B, Schönberg S. *Wirkung der Stammzellmobilisation induziert durch Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) auf die Verbesserung der ischämischen Herzinsuffizienz bei Patienten nach verzögerte Revaskularisation eines ST-Hebungsinfarktes (G-CSF in STEMI Studie).* Z-Kardiologie 93 (Suppl 3):III/243 (2004).

Franz WM, Engelmann M, Theiss H, **Hennig C**, Huber A, Wintersperger BJ, Schönberg S, Steinbeck G. *Placebo-kontrollierte, randomisierte Doppelblindstudie über den Effekt einer Knochenmarkstammzell-Mobilisierung induziert durch granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) auf die Verbesserung der ischämischen Herzinsuffizienz bei Patienten nach verspäteter Revaskularisation bei myokardialem ST-Hebungsinfarkt.* Z-Kardiologie: P 23 (2004).

Franz WM, Engelmann MG, Theiss HD, **Hennig C**, Huber A, Wintersperger BJ, Schönberg SO, Steinbeck G. *Efficacy of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on improvement of ischemic heart failure in patients undergoing delayed revascularization for ST segment elevation myocardial infarction.* European Heart Journal 2004: 2004;25 (Abstract Suppl): 195.

Engelmann MG, Theiss HD, **Hennig C**, Huber A, Wintersperger BJ, Schönberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *Safety of bone-marrow stem cell mobilization induced by granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) in patients undergoing delayed revascularization for ST segment elevation myocardial infarction.* European Heart Journal 2004:25 (Abstract Suppl): 195.

Franz WM, Theiss HD, **Hennig C**, Huber A, Wintersperger BJ, Schönberg SO, Steinbeck G, Engelmann MG. *Bone-marrow stem cell mobilization induced by Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) in patients*

undergoing delayed revascularization for ST segment elevation myocardial infarction. Circulation 2004;110 (Suppl): 1554.

Engelmann MG, Theiss HD, **Hennig C**, Huber A, Wintersperger BJ, Schönberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *Bone-marrow stem cell mobilization induced by Granulocyte-Colony Stimulating Factor in patients undergoing delayed revascularisation for ST segment elevation myocardial infarction: Early results from the G-CSF in STEMI trial.* J Am Coll Cardiol 2005;45 (Suppl. A) 238A

Engelmann MG, Theiss HD, **Theiss C**, Huber A, Werle-Ruedinger A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger A, Schönberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *Autologous bone-marrow stem cell mobilisation induced by granulocyte-colony stimulating factor after sub-acute ST segment elevation myocardial infarction undergoing late revascularisation: Final results from the GCSF-STEMI trial.* Proceedings of the 4th Dutch-German Meeting on Molecular Cardiology 2006.

Franz WM, Engelmann MG, Theiss HD, **Theiss C**, Huber A, Wintersperger B, Schönberg S, Steinbeck G. *Autologous bone-marrow stem cell mobilization using Granulocyte-Colony Stimulating Factor does not improve myocardial function in patients undergoing delayed revascularisation for ST segment elevation myocardial infarction (G-CSF in STEMI trial).* Clin Res Cardiol 2006; 95 (Suppl. 5): V577.

Franz WM, Engelmann MG, Theiss HD, **Theiss C**, Huber A, Wintersperger B, Schoenberg SO, Steinbeck G. *Autologous bone-marrow stem cell mobilization induced by G-CSF after sub-acute ST segment elevation myocardial infarction undergoing late revascularisation.* Eur Heart J 2006; 27 (Suppl. 1). P1678.

Engelmann MG, Theiss HD, **Theiss C**, Huber A, Werle-Ruedinger A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger A, Schönberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *Autologous bone-marrow stem cell mobilization induced by G-CSF after sub-acute ST segment elevation myocardial infarction undergoing late revascularization: Final results from the G-CSF-STEMI trial.* Proceedings of the 1. Congress of the German Stem Cell Society, Köln, 2006. Abstract 89

Engelmann MG, Theiss HD, **Theiss C**, Huber A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger A, Schoenberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *Granulocyte-colony Stimulating Factor as Adjunctive Treatment after sub-acute ST Segment Elevation Myocardial Infarction Undergoing late Revascularization: Final Results of the GCSF-STEMI Trial.* Circulation 2006; 114 II_360.

Engelmann MG, Theiss HD, **Theiss C**, Huber A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger A, Schoenberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *Early Treatment Initiation of Granulocyte-colony Stimulating Factor (G-CSF) after Late Revascularized Sub-acute Myocardial Infarction does not result in Better Improvement of Myocardial Function.* Circulation 2006; 114 II_794.

Engelmann MG, Theiss HD, **Theiss C**, Huber A, Werle-Ruedinger A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger A, Schönberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *Early treatment initiation of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) after late revascularized sub-acute myocardial infarction does not result in better improvement of myocardial function.* Proceedings of the 5th Dutch-German Meeting on Molecular Cardiology 2007.

Engelmann MG, Theiss HD, **Theiss C**, Huber A, Werle-Ruedinger A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger A, Schönberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *Early treatment initiation of granulocyte-colony stimulating factor (G-*

CSF) after late revascularized sub-acute myocardial infarction does not result in better improvement of myocardial function. Clin Res Cardiol 2007;96 Suppl 1: V732

Engelmann MG, Theiss HD, **Theiss C**, Huber A, Werle-Ruedinger A, Wintersperger BJ, Werle-Ruedinger A, Schönberg SO, Steinbeck G, Franz WM. *G-CSF improves myocardial perfusion but not function after late revascularized myocardial infarction – One year results of the G-CSF-STEMI trial. Clin Res Cardiol 2008;97 Suppl 1. V709*

9. Danksagung

Großen Dank schulde ich meinem Ehemann Dr. Hans Diogenes Theiss für sein Verständnis, die faire Kritik meiner Doktorarbeit und das Aushalten meiner Launen.

Ich möchte mich ganz herzlich bei Herrn PD Dr. Markus G. Engelmann für die sehr persönliche und gute Betreuung der Doktorarbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang-Michael Franz danke ich ganz besonders für seinen wissenschaftlichen Rat und die persönliche Unterstützung.

Meinen Eltern gebührt mein Dank für all die liebevolle Unterstützung während meines Studiums.