

Der Chirurg

Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin

Organ des Berufsverbands der Deutschen Chirurgen e.V. (BDC), der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie (DGCh)
und der Deutschen Gesellschaft für Viszeralchirurgie (DGVC)

**Elektronischer Sonderdruck für
G. Steinhoff**

Ein Service von Springer Medizin

Chirurg 2011 · 82:295–302 · DOI 10.1007/s00104-010-2030-3

© Springer-Verlag 2011

zur nichtkommerziellen Nutzung auf der
privaten Homepage und Institutssite des Autors

C. Klopsch · P. Donndorf · A. Kaminski · N. Ma · G. Steinhoff

**Zellquellen für kardiovaskuläres Tissue
Engineering**

Zellquellen für kardio- vaskuläres Tissue Engineering

Die Prognose und Lebensqualität von Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen ist eingeschränkt. Die Entdeckung toti-, pluri- und multipotenter Stammzellen (Abb. 1) gab der kardiovaskulären Regenerationsforschung einen historischen Schub und neue Hoffnung auf vollständige Heilung. Die Generierung und Rekonstruktion von lebendem, wachsendem, anpassungsfähigem, autologem und funktionell kompetentem Herzgewebe scheinen durch die Prinzipien des „tissue engineering“ (Gewebzüchtung) greifbar nah. Angeborene und erworbene Herzkrankheiten können bereits heute vielversprechend behandelt werden.

Stammzellen und die Genesis des Herzen

Stamm- und Progenitorzellen bewirken die Herzentstehung und die Zellvielfalt sowie die einzigartige Struktur und Funktionalität des adulten Herzen [1]. Während der embryonalen Entwicklung formieren Stammzellpopulationen des kranialen anterioren Mesoderms die wachsende Herzanlage. Für die Induktion von Herzvorläuferzellen sind Wachstumsfaktoren der FGF („fibroblast growth factors“)-, BMP („bone morphogenetic proteins“)- und Wnt-Familien essenziell [2, 3, 4]. Diese Vorläuferzellen lassen sich durch die Transkriptionsfaktoren wie Nkx2.5, Isl-1, Tbx20 und die GATA-Faktoren spezifizieren [4, 5, 6, 7]. Sie gruppieren sich in die primären und sekundären Herzfelder,

wobei Isl-1 vorzugsweise als ein Marker des sekundären Herzfeldes gilt [4].

Das primäre bilaterale Herzfeld bildet die Herzanlage und später hauptsächlich den linken Ventrikel und die Vorhöfe. Das sekundäre anteriore Herzfeld liegt medial der Herzanlage und bildet vornehmlich den rechten Ventrikel und dessen Ausflusstrakt [4, 8, 9]. Unter Beachtung der hohen Plastizität von embryonalen und postnatalen Nkx2.5⁺/Isl-1⁺ kardialen Vorläuferzellen bilden diese Zellen möglicherweise einen potenten Stammzellpool für Tissue-Engineering-basierte Therapien von angeborenen Herzdefekten und erworbenen Herzerkrankungen [5, 9, 10, 11].

Embryonale Stammzellen

Die Pluripotenz embryonaler Stammzellen (ESC) brachte diese Zellen in den Fokus vieler Forschungsgruppen. Studien zum Herz-Kreislauf-System bewiesen sowohl für In-vitro- als auch In-vivo-Experimente deren Fähigkeit zur Differenzierung in funktionelle Kardiomyozyten [12]. Im ischämischen nichtkontraktilen Myokard konnte durch die Transplantation und funktionelle Integration von Kardiomyozyten, die aus humanen ESC generiert wurden, die Kontraktilität regeneriert werden [13]. Das Überleben dieser Zellen im gesunden Herzen sowie im Infarktgewebe konnte darüber hinaus signifikant verbessert werden [14, 15]. Die Regeneration und Züchtung von funktionellem Herzgewebe, Herzklappen oder ganzen Organteilen für Revaskularisationstherapien, plastische Rekonstruk-

tionen oder Organersatz erscheinen daher gleichermaßen visionär wie möglich [16, 17, 18].

Im Hinblick auf die klinische Anwendung von humanen ESC müssen jedoch ethische Konsequenzen und potenzielle Risiken betrachtet werden. Die Transplantation von ESC kann zur Induktion von Tumoren wie Teratomen führen, die unabhängig von der Transplantationsform (syngen gegenüber allogenen) und dem Zustand des Empfängergewebes auftreten. Ebenso ist die Immunogenität von allogenen transplantierten ESC kritisch zu bewerten [19]. Die Aufreinigung humaner ESC durch selektive Kultivierung, Differenzierungsinduktion und Sortierung mittels genetischem und epigenetischem Screening sowie Proteom- oder MikroRNA-Profilen könnte die Effektivität und Sicherheit dieser Therapie nach In-vivo-Transplantation deutlich erhöhen [20, 21].

Alternativquellen pluripotenter Stammzellen

Die Verwendung gesunder humaner ESC geht einher mit dem Risiko einer möglichen Zerstörung überlebensfähiger totipotenter Zellen und menschlicher Embryonen. Aufgrund dieser bedeutsamen ethischen Bedenken sind alternative Quellen pluripotenter Stammzellen entwickelt worden. De Coppi et al. berichteten, dass fötale Stammzellen der Amnionflüssigkeit sich wie humane ESC in Zellen aller drei Keimblätter differenzieren lassen [22]. Die Gewinnung humaner ESC aus spät arretierten Embryonen, die

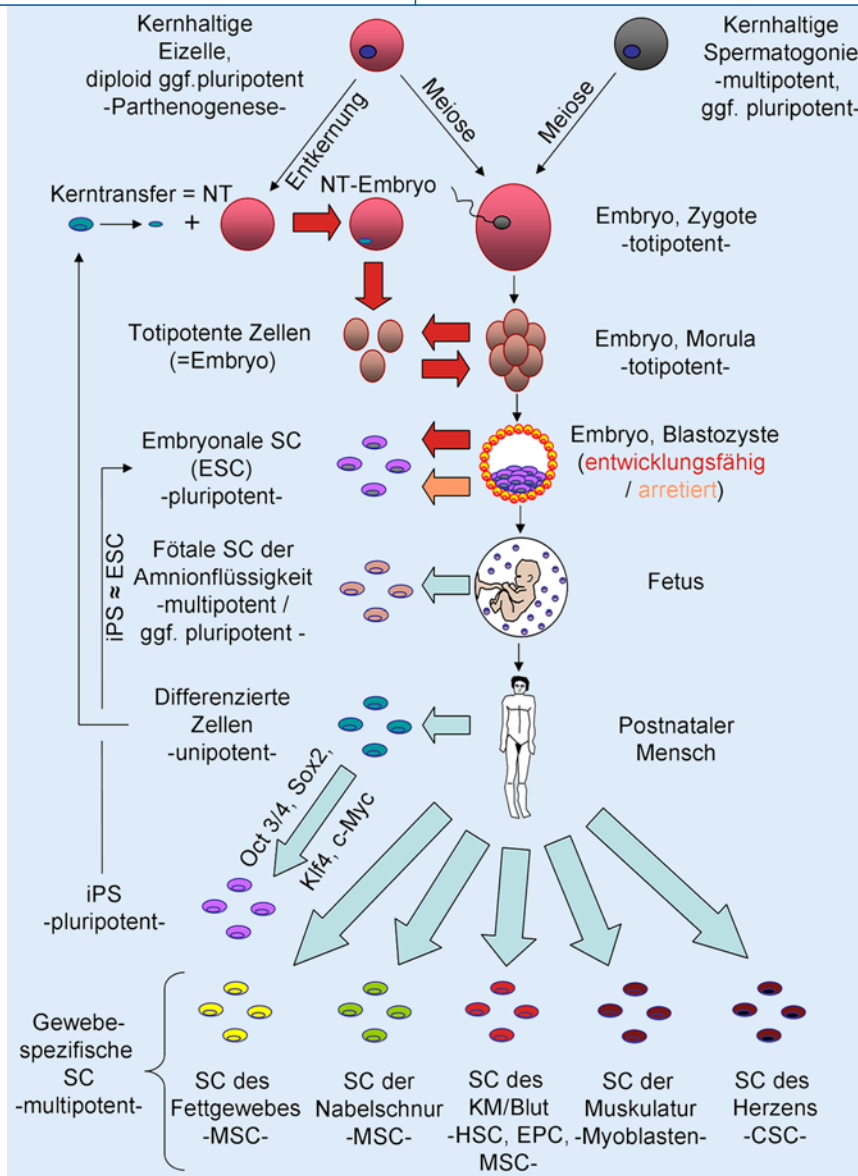


Abb. 1 ▲ Quellen isolierbarer Stammzellen (SC) und deren Potenz für kardiovaskuläres Tissue Engineering. Die Farbgebung der großen Pfeile bezieht sich auf den Umgang mit humanem Material. Roter Pfeil: die Isolierung/Schaffung ist nach deutscher Gesetzeslage nicht zugelassen; orangefarbener Pfeil: nach gesetzlichen Regularien in Deutschland ausgeschlossen; blauer Pfeil: Isolation möglich und erwünscht. NT Kerntransfer, iPS induzierte pluripotente Stammzellen, EPC endotheliale Progenitorzellen, ESC embryonale, MSC mesenchymale, HSC hämatopoetische, CSC kardiale Stammzellen

keine Möglichkeit zur Weiterentwicklung haben, wurde ebenfalls beschrieben [23]. Deren genetische Unversehrtheit sowie ihr Differenzierungs- und Vermehrungspotenzial ist jedoch umstritten.

➤ **Spermatogoniale Stammzellen zeigen viele Gemeinsamkeiten mit humanen ESC**

Mittels Kerntransfer („nuclear transfer“, NT), d. h. gezieltes Einbringen eines somatischen Zellkerns in eine entkernte

Eizelle, konnte die Klonierung autologer embryonaler Zellen diverser Tierarten (inklusive „Klonschaf Dolly“) erreicht werden. French et al. berichteten über die Generierung menschlicher „NT-Embryonen“ bis zum Blastozystenstadium [24]. Eine Gewinnung autologer humaner ESC-Linien aus dieser Quelle ist denkbar. Es bedarf dennoch einer differenzierten ethischen Erörterung, da theoretisch eine Entwicklung zum Menschen möglich ist. Entsprechende Versuche die Totipotenzen der durch NT erzeugten embryona-

len Zellen zu unterdrücken, sind exemplarisch im Tiermodell durchgeführt worden [25]. In der Folge sind diese Zellen jedoch genetisch verändert und ihr Differenzierungspotenzial scheint eingeschränkt.

Eine weitere Möglichkeit der Gewinnung autologer humaner ESC könnte die Schaffung von interspezieshybriden Stammzellen durch NT sein, wobei ein somatischer menschlicher Zellkern in eine entkernte tierische Eizelle eingebracht wird. Dadurch wird die Verfügbarkeit von Eizellen deutlich erleichtert. Die Frage, ob das menschliche Genom bei vorhandenen tierischen Mitochondrien in der Eizelle vollkommene Durchsetzungs- und Funktionsfähigkeit besitzt, ist jedoch noch nicht endgültig beantwortet [26].

Menschliche parthenogenetische Stammzellen könnten ebenfalls als Quelle pluripotenter Stammzellen dienen [27]. Diese Zellen könnten aus embryoähnlichen Stadien isoliert werden, die sich unter bestimmten Bedingungen aus reproduzierenden euploiden unbefruchteten Eizellen entwickeln können [28]. Daneben sind adulte spermatogoniale Stammzellen des Hodens bereits als attraktive pluripotente Stammzellen für die myokardiale Regeneration beschrieben worden. Sie zeigen viele Gemeinsamkeiten zu humanen ESC [29], bilden embryonenähnliche Zellverbände („embryoid bodies“) und können spontan rhythmisch kontrahierende kardiomyozytenähnliche Zellen generieren [30].

Induzierte pluripotente Stammzellen

Takahashi and Yamanaka beschrieben 2006 erstmalig die Reprogrammierung unipotenter somatischer Zellen (Fibroblasten) in einen pluripotenten Zustand durch die retrovirale Überexpression der vier Transkriptionsfaktoren (Genprodukte) [31, 32]:

- „octamer binding transcription factor 3/4“ (Oct 3/4),
- „Sry-related HMG-box transcription factor 2“ (Sox2),
- „Kruppel-like factor 4“ (Klf4) und
- „cellular myelocytomatosis oncogene“ (c-Myc, Überexpression jedoch nicht obligatorisch erforderlich).

Hier steht eine Anzeige.



Derartig generierte Induzierte pluripotente Stammzellen (iPS) zeigten eine weitreichende Ähnlichkeit mit ESC hinsichtlich der Genexpression, DNA-Methylierung sowie Histonmodifikation [33, 34, 35] und sind in der Lage, Zellen aller drei Keimblätter zu produzieren [34]. Mauritz et al. dokumentierten die Differenzierung von iPS zu funktionellen, elektrisch-gekoppelten Kardiomyozyten mit zelltypischer Reaktion auf β -adrenerge Stimulation in rhythmisch koordiniert kontrahierenden „embryoid bodies“ [36]. Die Herstellung patientenspezifischer (autologer) iPS aus körpereigenen somatischen Zellen (z. B. Fibroblasten der Haut) könnte daher eine außerordentlich attraktive Quelle effektiver pluripotenter Stammzellen für kardiales Tissue Engineering darstellen.

► Der retrovirale Gentransfer führt zur dauerhaften Veränderung des Empfänger-genoms

Bedenken hinsichtlich des klinischen Einsatzes von iPS bestehen wie bei ESC in der Neigung zur Entwicklung von Tumoren, insbesondere von Teratomen [21]. Weiterhin verbietet der retrovirale Gentransfer zur Herstellung der iPS und die dadurch bedingte dauerhafte Veränderung des Empfänger-genoms aktuell den therapeutischen Einsatz beim Menschen. Eine intensive Forschungsarbeit zur Entwicklung effizienter nonviraler Vektorsystem ist notwendig. Darüber hinaus ist auch der Einsatz spezifischer Mikro-RNAs und deren Antagonisten, sog. Antagomirs, zur temporären Beeinflussung der zellulären Gen- und Proteinexpression ohne dauerhafte Veränderung des Empfänger-genoms denkbar [37]. Eine andere Möglichkeit zur Herstellung von Stammzellen aus somatischen differenzierten Zellen kann durch den Einsatz sog. „small molecules“ erreicht werden [38].

Nabelschnurstammzellen

Die Nabelschnur ist eine Quelle junger, undifferenzierter adulter Stammzellen. In der Nabelschnur selbst sowie in den Gefäßwänden der Nabelschnurarterien und der Nabelschnurvene finden sich hauptsächlich fibroblastenähnliche mesenchymale Stammzellen (MSC), die denen des

Knochenmarks (KM, s. unten) ähneln. Ihre signifikante Potenz für das kardio-vaskuläre Tissue Engineering ist beschrieben worden [39]. Das Nabelschnurblut ist reich an unreifen Stamm- und Progenitorzellen mit hoher Plastizität und positiver Wirkung auf die kardiale Regeneration nach Myokardinfarkt [40, 41].

Ma et al. verwiesen auf eine verbesserte Neovaskularisation im ischämischen Myokard [42]. Gaebel et al. dokumentieren jedoch eine verringerte Ischämietoleranz der Nabelschnur-MSK und eine geminderte funktionelle Erholung des Herzens nach Herzinfarkt im Vergleich zur Therapie mit MSC aus KM. Sie verdeutlichen weiterhin eine Steigerung des regenerativen Potenzials durch Aufreinigung zu CD105-positiven Nabelschnur-MSK [43]. Im nichtischämischen Myokard zeigten Yerebakan et al. durch autologe mononukleäre Zellen des Nabelvenenblutes eine verbesserte funktionelle Adaptation und kardiale Wundheilung des rechten Ventrikels nach transannulärer Patchplastik im rechtsventrikulären Ausflusstrakt [44]. Durch die heute standardisierte Kryokonservierung humaner kindlicher Nabelschnurstammzellen in Stammzellbanken eröffnet sich die Möglichkeit, angeborene Herzdefekte eines Menschen durch autologe stammzellbasierte Rekonstruktionen und Tissue-Engineering-Konzepte zu therapieren [45].

Stammzellen des Fettgewebes

Das Fettgewebe ist eine weitere Quelle multipotenter Stammzellen. Ähnlich den MSC aus dem KM (s. unten) scheinen die Fettgewebstammzellen (auch MSC des Fettgewebes genannt) eine Mischpopulation zu sein. Diese offenbar vaskulären Vorläuferzellen befinden sich in unterschiedlichen Stadien der Differenzierung, können aus dem Gefäßstroma des Fettgewebes isoliert werden und transdifferenzieren multilinear [46, 47]. Bei vergleichbar hoher Plastizität der MSC aus KM und Fettgewebe ist der Zugang zum subkutanen Fettgewebe deutlich nichtinvasiver und die Isolierbarkeit dieser MSC-Form entsprechend erleichtert [48]. Differenzierungen letzterer zu Fettgewebe, Knochen- und Knorpelgewebe sowie zu neuronalen

und kardialen Strukturen wurden aufgezeigt [48].

Rangappa et al. demonstrierten eine Formierung kontrahierender myokardähnlicher Strukturen sowie die Bildung von reizleitendem Gewebe [49]. Eine effektive endotheliale Differenzierung der Fettgewebstammzellen, ihre Aktivierung unter Hypoxie und ihre erhöhte Ischämietoleranz führten in mehreren Studien zu verbesserter postischämischer Geweberegeneration [43, 50, 51]. Daneben konnten auch protektive Effekte der Fettgewebstammzellen auf andere Stammzellen nach Kotransplantation nachgewiesen werden [52].

Stammzellen des Knochenmarks

Hämatopoetische Stammzellen (HSC) des KM, insbesondere jene positiv für die Oberflächenmarker c-Kit, CD34 oder CD133, sowie die von ihnen abgeleiteten endothelialen Progenitorzellen (EPC) aus KM und Blut wurden während des letzten Jahrzehnts zunehmend zur Therapie von Herz-Kreislauf-Erkrankungen genutzt [53, 54, 55]. EPC gelten darüber hinaus als Prädiktoren für Morbidität und Mortalität bei erkrankten Patienten [56, 57, 58]. Klinische Studien und Metaanalysen präsentierten überwiegend eine Verbesserung der Herzfunktion nach Zelltherapie der Myokardischämie mithilfe von definierten HSC und EPC [54, 55, 59, 60, 61]. Die zugrunde liegenden regenerativen Mechanismen scheinen insbesondere die Neovaskularisation des hypoxischen Gewebes und die dadurch bewirkte Umkehrung des pathologischen Remodeling-Prozesses (Reverse-Remodeling) zu sein [54, 55, 59, 62].

Bisher unzureichend geklärt ist, ob eine effektive Differenzierung der HSC und EPC in funktionell kompetente Kardiomyozyten mit reifer Sarkomerorganisation stattfindet [63, 64]. Weiterhin scheint unklar, ob eine direkte stammzellassoziierte Gewebeneubildung für die postischämische Regeneration verantwortlich ist oder ob eine rein parakrine Aktivität der Stammzellen zur Initiation regenerativer Mechanismen führt [65]. Die aktuell noch begrenzte klinisch-therapeutische Effektivität könnte durch zusätzliche Aktivierungs- und Rekrutierungssysteme deut-

lich gesteigert werden. Lokalisierte Exposition oder nonviraler Gentransfer von Wachstums- und Rekrutierungsfaktoren wie SDF-1, Erythropoietin oder VEGF („vascular endothelial growth factor“) könnten das kardioregenerative Potenzial von Stammzellen des KM signifikant verbessern [66, 67, 68, 69, 70].

Mesenchymale Stromazellen bzw. Stammzellen (MSC) des KM beherbergen einen heterogenen Pool multipotenter Stammzellen [71]. Ihr kardioregeneratives Hauptpotenzial liegt höchstwahrscheinlich in der parakrinen Sekretion angiogenetischer sowie zellprotektiver und antiinflammatorischer Faktoren [68, 72]. Mehrere Studien unterstreichen des Weiteren die Differenzierung von MSC in Endothelzellen und glattmuskuläre Zellen zur Promotion der Vaskularisation [73]. Darüber hinaus erscheint eine Differenzierung der MSC in kardiospezifische Phänotypen möglich [74, 75]. In-vitro-Studien verdeutlichten eine wesentliche Beeinflussung der kardiogenen Differenzierung durch das Alter der Zellen sowie die Art und Weise der externen Stimulation durch 5-Azacytidin-Konditionierung und die Kulturbedingungen [76, 77]. In einer aktuellen Arbeit unserer Forschungslaboratorien zeigten die MSC des KM im Vergleich zu MSC aus Fettgewebe und Nabelschnurblut das größte kardioregenerative Potenzial nach Myokardischämie [43]. Tissue-Engineering-Konzepte mit Verwendung autologer MSC des KM könnten daher besonders leistungsfähig sein. Hingegen könnte ein positiver Langzeiteffekt nach Transplantation allogener MSC ausbleiben. Durch Ausdifferenzierung der ursprünglich immunosuppressiven Zellen wird scheinbar deren Immunogenität induziert [78]. Weiterhin muss die Applikationsroute von MSC bei kardialer Zelltherapie bedacht werden. Während eine extravaskuläre Zelltherapie in vielen Studien sicher erscheint, stellt die intravasculäre Applikation eine mögliche Gefährdung des Organismus durch arterielle und pulmonalarterielle Embolien dar [79]. Neben der Verwendung von MSC für Konzepte des kardiomyozytären Tissue Engineerings könnte diese Zellquelle ebenso für die Schaffung biologischer Schrittmachersysteme dienen [80, 81].

Chirurg 2011 · 82:295–302 DOI 10.1007/s00104-010-2030-3
© Springer-Verlag 2011

C. Klopsch · P. Donndorf · A. Kaminski · N. Ma · G. Steinhoff
Zellquellen für kardiovaskuläres Tissue Engineering

Zusammenfassung

Zahlreiche Studien belegen eine signifikante Potenz verschiedener Stammzelltherapien zur Regeneration angeborener und erworbener Herzerkrankungen. Die Verwendung embryonaler Stammzellen und induzierter pluripotenter Stammzellen verspricht die mögliche Generierung und Regenerierung aller Strukturen des kardiovaskulären Systems. Fötale und adulte Stammzellen wie endotheliale Progenitorzellen, mesenchymale, hämatopoetische, kardiale Stammzellen und Myoblasten besitzen einerseits eingeschränktes multipotentes Differenzierungspotenzial. Andererseits sind sie offenbar parakrin hoch aktiv und unterstützen mit mehrfach bestätigter Sicherheit die Rekonstruktion und Herstellung kardiovaskulärer Strukturen. Auf dem vi-

sionären Weg zum durch „tissue engineering“ gebildeten, autonom funktionierenden autologen Herzen konnten bereits verschiedene vaskuläre, valvuläre und myokardiale Produkte erzeugt werden. Die Arbeit beschreibt mögliche Stammzellquellen für kardiovaskuläres Tissue Engineering und evaluiert deren Potenz und Sicherheit aus medizinischer wie ethischer Sicht entsprechend einer systematischen Literaturrecherche (Medline-Datenbank) und eigener Studien.

Schlüsselwörter

Stammzellen · Pluripotent · Multipotent · Myokard · Herzklappen

Cell sources for cardiovascular tissue engineering

Abstract

Numerous studies have confirmed that stem cell therapy has significant potential for the regeneration of congenital and acquired heart diseases. The utilization of embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells promises a possible generation and regeneration of all cardiovascular structures. On the one hand fetal and adult stem cells, e.g. endothelial progenitors, mesenchymal, hematopoietic, cardiac stem cells and myoblasts, possess limited potential for multilinear differentiation. On the other hand these cells have high paracrine activity and support with well-confirmed safety the reconstruction and formation of cardiovascular structures. On

the visionary track towards an autonomously functioning autologous heart generated by tissue engineering, vascular, valvular and myocardial tissues have already been successfully created. This manuscript describes the possible stem cell sources for cardiovascular tissue engineering and evaluates their potency and safety from a medical and ethical point of view employing the data from systematic reviews (Medline database) and own investigations.

Keywords

Stem cells · Pluripotent · Multipotent · Myocardium · Heart valves

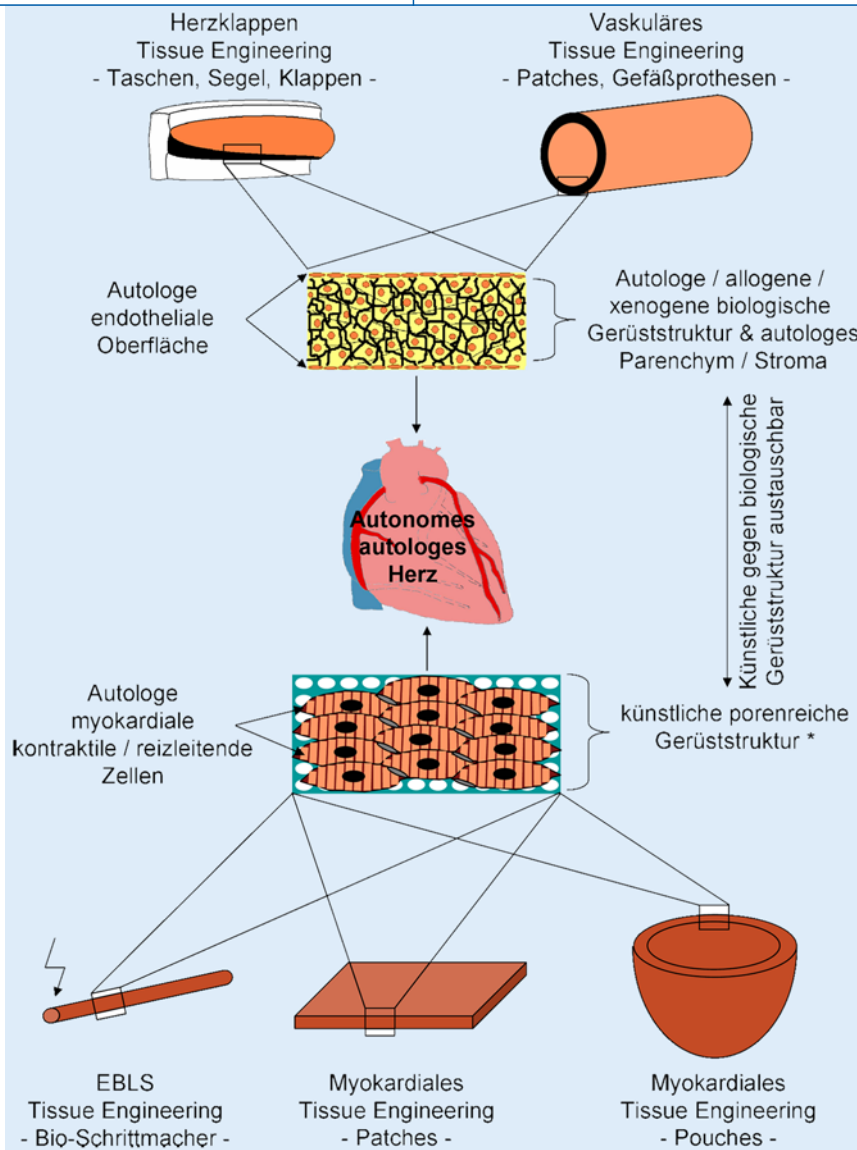


Abb. 2 ▲ Wesentlichen Methoden des kardiovaskulären Tissue Engineerings von valvulären, vaskulären, myokardialen Produkten und des Erregungsbildungs- und Erregungsleitungssystem (ECLS).
*Autologes Stroma ist zur Vereinfachung nicht dargestellt

Muskuläre Vorläuferzellen

Lokalisiert an der Basalmembran der Skelettmuskulatur werden muskuläre Vorläuferzellen (Myoblasten) im Falle einer muskulären Schädigung aktiviert, um untergehende Myozyten zu ersetzen. Zahlreiche Studien belegen ihre relativ hohe Resistenz gegenüber ischämischen Stress sowie ihre Fähigkeit zur Bildung von muskulären Strukturen (Myotubuli) innerhalb von Narbengewebe [82]. Folglich gelten sie seit mehr als einem Jahrzehnt als potenzielle Quelle zur Regeneration ischämisch geschädigten Myokards [83]. Pouly et al. konnten sogar eine Verbesse-

rung der kardialen Funktion nach Transplantation von Myoblasten bei nichtischämischer Kardiomyopathie zeigen [84]. Die positiven Effekte wurden insbesondere ihrer parakrinen Aktivität sowie der Begrenzung des ventrikulären Remodelings attribuiert. Eine Differenzierung zu funktionellen Kardiomyozyten mit elektrischer Ankopplung an residente Kardiomyozyten scheint jedoch nicht stattzufinden. Folglich wurde mehrfach eine kritische Proarrhythmogenität dieser Zellen nach Transplantation berichtet [82]. Diese intrinsische elektrische Aktivität könnte für die Schaffung von biologischen Schrittmachersystemen durch Tissue En-

gineering wiederum nützlich erscheinen [85].

Kardiale Stammzellen

Das Herz ist kein postmitotisches Organ. Kardiale Stammzellen (CSC) in Stammzellnischen dienen der Regeneration des Herzens bei gleichzeitig ablaufender Apoptose adulter Kardiomyozyten [86, 87]. Sie besitzen ein natürlich vorgeprägtes Potenzial zur Differenzierung in alle Zelllinien des Myokards. Daher erscheinen CSC als ideale Zellquelle für das kardiovaskuläre Tissue Engineering [86]. Dennoch bestehen derzeit klare Grenzen bei der Gewinnung, Kultivierung und Präservierung von CSC sowie bei der Entwicklung effektiver Therapien mit dieser Zellform. CSC lassen sich einerseits aus dem Herzen isolieren [88] und eine ischämische Konditionierung des Herzens könnte zu einer deutlich erhöhten Menge verfügbarer CSC führen [86]. Andererseits ist die Zellausbeute nach autologer Isolation bei Patienten deutlich limitiert [89] und die Funktion der CSC scheint mit deren Alter und Reifegrad zunehmend eingeschränkt [17]. Die Ex-vivo-Expansion autologer CSC und deren In-vivo-Reimplantation im Rahmen des kardiovaskulären Tissue Engineerings könnten durch Aktivierungssysteme und zytoprotektive Strategien deutlich effektiviert werden. Eigene Ergebnisse könnten auf eine mögliche Aktivierung und Proliferation residenter c-Kit-positiver CSC früh nach intrakardialer Erythropoietintherapie des ischämischen Myokards hinweisen [66, 90]. Weitere Studien verdeutlichen die Möglichkeiten der Stimulation und Protektion von CSC [91, 92].

Tissue-Engineering-Konzepte

Erste zellbasierte kardiovaskuläre Therapien wurden lokal oder systemisch durchgeführt. Die Effektivität der Rekrutierung muss jedoch insbesondere nach systemischer Gabe kritisch betrachtet werden [72, 93]. Zellbasiertes Tissue Engineering hingegen wird durch die Anwendung von dreidimensionalen Zell-Matrix-Konstrukten erreicht. Es benötigt biokompatible, mehr oder minder stabile, feste oder flüssige, organische oder an-

organische Matrixstrukturen. Diese Gerüstsubstanz wird mit potenten Stammzellen und/oder differenzierten unipolaren Zellen wie Kardiomyozyten, Endothelzellen und Interstitialzellen besiedelt, um möglichst funktionelle myokardiale und valvuläre Transplantate herzustellen [18, 39, 94–102]. Dabei sind myokardiale und vaskuläre Patches und Prothesen, einzelne Klappentaschen und -segel, ganze Herzklappenprothesen, Erregungsbildungs- und Erregungsleitungsgewebe bis hin zum vollständig durch Tissue Engineering erzeugten, autonom funktionierenden Herzen denkbar (■ **Abb. 2**). Derzeitig ist die Langzeitfunktion kardiovaskulärer Tissue-Engineering-Produkte jedoch häufig durch fehlendes Wachstums- und Anpassungspotenzial sowie durch immunologische Inkompatibilität von Zellen und Matrix eingeschränkt.

■ Die Verwendung lebender autologer Zellen ist essenziell.

Xenogene und allogene organische Matrices werden entsprechend dezelluliert

und können vor In-vivo-Transplantation mit autologen Zellen rezellularisiert werden [94, 100, 103]. Neben der Nutzung biologischer kardiovaskulärer Strukturen kann die intestinale Submukosa als Matrix für Tissue-Engineering-Konzepte verwendet werden [104, 105]. Lutter et al. implantierten bereits einen derartig durch Tissue Engineering erzeugten pulmonalklappentragenden Stent im Tiermodell [105].

Anorganische Matrizes wie Polytetrafluoroethylen oder Dacron standen am Anfang der Zellbesiedelungsverfahren von Kunstmaterialien und deren ersten In-vivo-Applikationen [106, 107]. Heute stehen verschiedene biodegradierbare Gerüstsubstanzen wie Kollagen, Fibrin, Gelatin, Alginat, Polyglycolid, Polylactid, Polylactid-co-Polyglycolid und Polyhydroxybutyrat zur Verfügung [108]. Biodegradierbare zellbesiedelte Matrizes können während der In-vitro-Präkonditionierung oder später in vivo durch die Besiedelungszellen selbst, durch einwandernde Zellen des Empfängers und die durch sie gebildete Interzellulärmatrix ersetzt werden. Flanagan et al. beschreiben

die Herstellung von autologen Pulmonalklappenprothesen auf der Basis einer Fibrinmatrix im Bioreaktor und deren Implantation in vivo [109]. Die Generierung solcher Produkte ist meist komplex sowie kosten- und zeitintensiv. Darüber hinaus besteht das Risiko einer Kontamination, wenn biologisches Material den Operationssaal verlässt. Aktuelle Ergebnisse unserer Arbeitsgruppe zeigten die Möglichkeit eines direkt intraoperativen Herzklappen-Tissue-Engineerings unter Nutzung eines Stammzell-plus-Fibrin-Komposit-Sprühsystems [110].

Die Herstellung myokardialer Gewebe mit ausreichender Effektivität, um die myokardiale Pumpfunktion eines erkrankten Herzens zu unterstützen oder gar zu ersetzen, befindet sich derzeit noch in frühen Entwicklungsstadien [17]. Yildirim und Zimmermann präsentierten jedoch in visionären Studien die Möglichkeit der Herstellung myokardialer Pouchstrukturen, die in der Zukunft möglicherweise die Funktion insuffizienter Herzen unterstützen könnten [111, 112].

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

Fazit für die Praxis

- Die rasante Alltagsdynamik der Stammzellforschung offenbart eine signifikante Potenz von Stammzellen zur Therapie und Regeneration angeborener und erworbener kardiovaskulärer Erkrankungen. Unterschiedliche Stammzellquellen zeigen verschiedenartiges Differenzierungspotenzial, wobei die Unbedenklichkeit sowohl aus medizinischer als auch aus ethischer Sicht der therapeutischen Effektivität stets gegenüberzustellen ist.
- Durch die Anwendung von Prinzipien des Tissue Engineerings und die Generierung von dreidimensionalen Zell-Matrix-Konstrukten sind wir bereits heute in der Lage erste Produkte des valvulären, vaskulären, myokardialen und des Erregungsbildungs- und Erregungsleitungssystems zu rekonstruieren. Die Vorstellung eines 100%ig autonom funktionierenden autologen Herzen bleibt vorerst jedoch visionärer Natur.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. G. Steinhoff
 Klinik für Herzchirurgie, Universitäres
 Herzzentrum, Medizinische Fakultät,
 Universität Rostock,
 Schillingallee 35, 18057 Rostock
 gustav.steinhoff@med.uni-rostock.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur (Auswahl)

9. Laugwitz KL, Moretti A, Lam J et al (2005) Postnatal isl1+ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature* 433:647–653
18. Kofidis T, Bruin JL de, Hoyt G et al (2005) Myocardial restoration with embryonic stem cell bioartificial tissue transplantation. *J Heart Lung Transplant* 24:737–744
19. Nussbaum J, Minami E, Laflamme MA et al (2007) Transplantation of undifferentiated murine embryonic stem cells in the heart: teratoma formation and immune response. *FASEB J* 21:1345–1357
24. French AJ, Adams CA, Anderson LS et al (2008) Development of human cloned blastocysts following somatic cell nuclear transfer with adult fibroblasts. *Stem Cells* 26:485–493
31. Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126:663–676
42. Ma N, Ladilov Y, Moebius JM et al (2006) Intramyocardial delivery of human CD133+ cells in a SCID mouse cryoinjury model: Bone marrow vs. cord blood-derived cells. *Cardiovasc Res* 71:158–169
43. Gaebel R, Furlani D, Sorg H et al (2011) CD105 expression on human mesenchymal stem cells depends on cell origin and determines a different healing performance in cardiac regeneration. *PLoS One* (in press)
44. Yerebakan C, Sandica E, Prietz S et al (2009) Autologous umbilical cord blood mononuclear cell transplantation preserves right ventricular function in a novel model of chronic right ventricular volume overload. *Cell Transplant* 18:855–868
45. Steinhoff G (2006) The regenerating heart – hope for children with congenital heart defects. *Kinderkrankenschwester* 25:47–50
48. Schäffler A, Büchler C (2007) Concise review: adipose tissue-derived stromal cells – basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells* 25:818–827
53. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S et al (2001) Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 410:701–705
55. Stamm C, Westphal B, Kleine HD et al (2003) Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 361:45–46
59. Yerebakan C, Kaminski A, Liebold A, Steinhoff G (2007) Safety of intramyocardial stem cell therapy for the ischemic myocardium: results of the Rostock trial after 5-year follow-up. *Cell Transplant* 16:935–940
62. Stamm C, Kleine HD, Choi YH et al (2007) Intramyocardial delivery of CD133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease: safety and efficacy studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 133:717–725
66. Klopsch C, Furlani D, Gaebel R et al (2009) Intracardiac injection of erythropoietin induces stem cell recruitment and improves cardiac functions in a rat myocardial infarction model. *J Cell Mol Med* 13:664–679
68. Ward MR, Stewart DJ (2008) Erythropoietin and mesenchymal stromal cells in angiogenesis and myocardial regeneration: one plus one equals three? *Cardiovasc Res* 79:357–359
69. Wang W, Li W, Ong LL et al (2010) Localized SDF-1alpha gene release mediated by collagen substrate induces CD117 stem cells homing. *J Cell Mol Med* 14:392–402
71. Kern S, Eichler H, Stoeve J et al (2006) Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 24:1294–1301
79. Furlani D, Ugurlucan M, Ong L et al (2009) Is the intravascular administration of mesenchymal stem cells safe? Mesenchymal stem cells and intravital microscopy. *Microvasc Res* 77:370–376
82. Menasché P (2007) Skeletal myoblasts as a therapeutic agent. *Prog Cardiovasc Dis* 50:7–17
85. Choi YH, Stamm C, Hammer PE et al (2006) Cardiac conduction through engineered tissue. *Am J Pathol* 169:72–85
86. Anversa P, Kajstura J, Leri A, Bolli R (2006) Life and death of cardiac stem cells: a paradigm shift in cardiac biology. *Circulation* 113:1451–1463
87. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S et al (2009) Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 324:98–102
90. Gäbel R, Klopsch C, Furlani D et al (2009) Single high-dose intramyocardial administration of erythropoietin promotes early intracardiac proliferation, proves safety and restores cardiac performance after myocardial infarction in rats. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 9:20–25
93. Kaminski A, Ma N, Donndorf P et al (2008) Endothelial NOS is required for SDF-1alpha/CXCR4-mediated peripheral endothelial adhesion of c-kit+ bone marrow stem cells. *Lab Invest* 88:58–69
94. Steinhoff G, Stock U, Karim N et al (2000) Tissue engineering of pulmonary heart valves on all-ogenic acellular matrix conduits: in vivo restoration of valve tissue. *Circulation* 102:III50–III55
98. Stamm C, Khosravi A, Grabow N et al (2004) Biomatrix/polymer composite material for heart valve tissue engineering. *Ann Thorac Surg* 78:2084–2092
109. Flanagan TC, Sachweh JS, Frese J et al (2009) In vivo remodeling and structural characterization of fibrin-based tissue-engineered heart valves in the adult sheep model. *Tissue Eng Part A* 15:2965–2976
110. Kaminski A, Klopsch C, Mark P et al (2010) Autologous valve replacement – CD133+ stem cell-plus-fibrin composite based sprayed cell seeding for intra-operative heart valve tissue engineering. *Tissue Eng C*. DOI:10.1089/ten.tec.2010.0051
111. Yildirim Y, Naito H, Didié M et al (2007) Development of a biological ventricular assist device: preliminary data from a small animal model. *Circulation* 116:116–23

Das vollständige Literaturverzeichnis ...

... finden Sie in der html-Version dieses Beitrags im Online-Archiv auf der Zeitschriftenhomepage
www.DerChirurg.de