

Rizwan Ahmed Malik
Dr.med.

Etablierung neuer Methoden zur intramyokardialen Integration mesenchymaler Stromazellen

Fach/Einrichtung: Innere Medizin
Doktorvater: PD Dr. med. Patrick Schweizer

Die in der vorliegenden Arbeit etablierte und getestete Methode der lokalen Anreicherung von MSCs mittels RFCA-induzierter Läsionen zeigt, dass systemisch verabreichte MSCs basierend auf dem Prinzip des "Homings" im Großtiermodell des Hausschweins intramyokardial integriert werden können. Mit der RFCA-Technik wird Herzgewebe im rechten Herzhohr, in der Nähe des kardialen Schrittmacherzentrums, gezielt verödet. Von der Läsion ausgehende zelluläre Signale stimulieren systemisch applizierte MSCs zur Migration und Ansiedlung in dieser Region.

Wir konnten in unserer Studie zeigen, dass *SDF-1*, einer der möglichen Homingfaktoren, als Folge der Verletzung im Gewebe verstärkt exprimiert wird und so die Einwanderung und Integration der applizierten Zellen verbessern könnte. Durch das in dieser Arbeit vorgestellte neue und minimal-invasive Verfahren könnte eine offene Thorakotomie mit direkter intrakardialer Injektion der Zellen, wie sie in vielen experimentellen Studien verwendet wird, ersetzt werden. In qualitativen Analysen mit allogenen transplantierten porcinen MSCs, aber auch in quantitativen Analysen mit xenogen transplantierten humanen MSCs, konnte eine signifikante Migration von MSCs in der Umgebung des Läsionsareals nachgewiesen werden. Zur quantitativen Analyse wurden hochspezifische Primer für das humane GAPDH-Gen entwickelt, die es erlauben, humane GAPDH Transkripte im Schweineherzen selektiv nachzuweisen.

Mit Hilfe einer Approximationsanalyse und unter Verwendung von Eichkurven konnte auf Basis der mittels PCR detektierten human-spezifischen Signale, die Anzahl der im Myokard residenten und transkriptionell aktiven humanen Zellen errechnet werden. Unter Verwendung dieser Methode wurde beobachtet, dass eine systemische Gabe von $1,1 \times 10^6$ hMSCs/kg KG, nach Ablation im rechten Herzhohr, zur höchsten MSCs-Einwanderungen führt. Die Gesamtmenge an in das rechte Herzhohr immigrierten Zellen ließ sich auch durch Steigerung der systemisch applizierten eingesetzten Zellzahl nicht optimieren, was auf einen gewissen Sättigungseffekt hindeutet.

In Langzeit-Versuchen konnte gezeigt werden, dass xenogen-applizierte Stammzellen auch 6 Monate nach der Transplantation noch nachweisbar waren. Allerdings war zu beobachten, dass die Anzahl der im rechten Herzhohr nachweisbaren Zellen im Vergleich zu den

Kurzzeitversuchen deutlich abnahm. Die Ursachen hierfür könnten sowohl immunologisch bedingt sein, es ist darüber hinaus auch denkbar, dass ins Myokard integrierte Zellen, die nicht zur myokardiale Differenzierung befähigt sind, zur Apoptose führende Signalwege durchlaufen und somit sukzessive absterben. Zudem wurde in anderen Studien gezeigt, dass zelluläre Umverteilungen nach kardialer Schädigung (z.B. Myokardinfarkt) stattfinden, sodass diese Möglichkeit ebenfalls bedacht werden muß und Gegenstand weiterführender Experimente sein sollte. Hervorzuheben ist dennoch, dass es mit der hier beschriebenen Methode gelingt eine Woche nach systemischer Zellapplikation relevante Mengen an MSCs in unmittelbarer Nähe einer selektiv erzeugten Läsion myokardial zu integrieren. Ziel weiterführender Experimente muss es sein, zu überprüfen, ob auf diese Weise in das Myokard einbrachte Zellen strukturell und elektrisch so integriert sind, dass sie Funktionen wie etwa die Generierung einer Schrittmacheraktivität ausüben können. Hierfür wird es notwendig sein MSCs, auch mittels viralem Gentransfer, so zu modifizieren, dass sie zur Generierung eines Schrittmacherpotentials befähigt sind. Die Überprüfung, ob genetisch modifizierte MSCs weiterhin die in dieser Arbeit beschriebenen Eigenschaften der myokardialen Integration aufweisen, ist eine weitere wichtige Fragestellung. Übergreifend kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstrichen werden, dass zelltherapeutische Konzepte hoffnungsvolle und innovative Strategien zur zukünftigen Therapie kardialer Funktionsstörungen darstellen.