



universität
wien

MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit

**„Einfluss und Applikation von Stammzellen in
ausgewählten Organen und Organsystemen“**

Verfasst von:

Andrea Orlic, Bakk.rer.nat.

angestrebter akademischer Grad:

„Master of Science (MSc.)“

Wien, November 2015

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 066 826

Studienrichtung lt. Studienblatt: Masterstudium Sportwissenschaft, „Trainingstherapie“
(MTT)

Betreuer: o. Univ.-Prof. Dr. Norbert Bachl

Vorwort

Ich widme diese Masterarbeit meinen Geschwistern Lorena und Nikola, Aleksandar und Olivera. Hiermit möchte Euch ermutigen, dass ihr auch mit Geduld, Ausdauer- und Durchhaltevermögen, scheinbar Unmögliches möglich machen könnt.

An diese Stelle möchte ich mich bei meiner Familie, die mir mein ganzes Leben lang eine unermessliche seelische und moralische Stütze war, bedanken. Danke Mama und Tata, dass ihr mir alle Wege offen gehalten habt und dass ihr mich bedingungslos in jeder Hinsicht unterstützt habt. Ganz besonderer Dank gilt meiner Mutter, die immer an mich geglaubt hat und mich durch gefühlvollen seelischen Beistand und mit liebevoller Geduld zu jeder Zeit meines Lebens motiviert hat.

Mein herzlichster Dank gilt meinen Onkel Sasa und Tante Vesna, die mir das Studium erst ermöglicht haben und mich in allen Belangen unterstützt haben. Vielen Dank an dieser Stelle für die Finanzierung Großteiles meines Studiums!

Besonders möchte ich meine tiefe Dankbarkeit gegenüber meinem Verlobten Admir Bajric ausdrücken, der mich mit bemerkenswerter Hingabe über all diese Jahre des Studiums begleitet hat. Er hat mir mit Korrekturen, Ratschlägen und Ideen geholfen mein Studium erfolgreich abzuschließen. Danke für Deinen unermüdlichen Einsatz, der mich in aussichtslosen Zeiten immer wieder aufgebaut, ermutigt und unterstützt hat.

Ein herzliches Dankeschön möchte ich an die Familie Bajric aussprechen, die mir immer Mut zugesprochen haben und ein Teil des Studiums sorgenfrei ermöglichten. Danke Behidza, Sejdo und Senada, dass ihr mich während des Masterstudiums tatkräftig unterstützt habt.

Vielen lieben Dank meinen lieben Freunden und Freundinnen, die für mich stets da waren. Danke Jelena, Vladislava, Nevena, Katarina, Zlatko, Bojan, Rade u. a. für Euer immer offenes Ohr, für Eure wertvollen Ratschläge, sowie für Eure emotionale Unterstützung und aufmunternden Gespräche.

Abschließend möchte ich mich bei meinem Betreuer Herrn o. Univ.- Prof. Dr. Norbert Bachl bedanken. Er hat mir dieses Thema vermittelt und hiermit bedanke ich mich für immer netten Empfang, sowie für die Betreuung und Beratung während der Erstellung der Arbeit.

Zusammenfassung

Das Ziel vorliegender Arbeit ist die Untersuchung der Fragen, in wie weit die Applikation der Stammzellen in regenerativer Medizin, in Bezug auf ausgewählte Organe und Organsysteme, Anwendung findet und in wie weit körperliche Aktivität oder eine Bewegungstherapie die Organregeneration und Organfunktion verbessern und fördern kann. Zudem wurde untersucht, in wie weit Erkenntnisse aus der Entwicklung neuer Therapieverfahren zur Leistungsmanipulation im Sport herangezogen werden können.

Zusammenfassend kann geschlossen werden, dass Stammzelltherapie als therapeutische Behandlungsmöglichkeit eine sichere und durchführbare Methode für die Behandlung der kardiovaskulären Erkrankungen und der Lebererkrankungen darstellt. Im Hinblick auf muskuläre Erkrankungen befindet sich ein Großteil der stammzellbasierten Studien noch immer im Bereich der Grundlagerecherche.

Klinische Studien belegen positive Effekte des körperlichen Trainings, sowohl bei Herz-Kreislauf-PatientInnen als auch bei gesunden ProbandInnen. Es wurde aufgezeigt, dass Ausdauertraining, aber auch Kombination aus Kraft- und Ausdauertraining Erhöhung der Anzahl zirkulierende endotheliale Vorläuferzellen hervorruft und somit zur Endothelfunktionsverbesserung beiträgt. Trainingsinduzierte Aktivierung der Satellitenzellen bei gesunden ProbandInnen kann eher dem Krafttraining zugeschrieben werden. Sogar sanftes Krafttraining kann die Zunahme der Satellitenzellanzahl induzieren.

Neueste Entwicklungen aus dem Grundlagerecherchebereich bieten neue Ansätze für die Behandlung altersbedingten Krankheiten, durch die Verjüngung und Vermehrung der alten Zellen. Gleichzeitig eröffnen diese Entdeckungen, Möglichkeiten für Missbrauch und Betrug im Sport.

Schlüsselwörter: Stammzellen, Herzmuskel, Skelettmuskulatur, Leber, Gefäße, körperliche Aktivität, Doping

Abstract

The aim of the present study was to investigate the following issues, in how far application of stem cells can be used in regenerative medicine, in relation to selected organs and organ systems, and in how far physical activity or exercise therapy can be used to improve and promote organ regeneration and organ function. In addition, it was investigated, in how far findings from the development of new therapeutic methods can be used to manipulate physical performance in sports.

In summary it can be concluded that stem cell therapy as a therapeutic treatment is safe and feasible method for the treatment of cardiovascular diseases and liver diseases. In regard to muscular diseases, a majority of stem cell-based studies is still in the field of basic research.

Clinical studies have demonstrated positive effects of physical training, both in cardiovascular-patients and healthy volunteers. It has been shown that aerobic exercise, but also combination of strength and endurance training increased the number of circulating endothelial progenitor cells and thus improved the endothelial function. Training-induced activation of the satellite cells in healthy subjects is rather associated with strength training. Moreover, it has been demonstrated that even very light load resistance training can induce an increase in the number of satellite cells.

Recent developments from the level of fundamental research are offering new approaches for treating age-related diseases considering the regeneration and proliferation of old cells. At the same time these discoveries open up opportunities for misuse and fraudulence in sport.

Key words: Stem cells, heart muscle, skeletal muscles, liver, vessels, physical activity, doping

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Forschungsfragen.....	3
1.2 Methode.....	4
1.3 Gliederung der Arbeit	5
2.Theoretische Teil	6
2.1 Begriffbestimmungen.....	6
2.1.1 Potentialität (Entwicklungs- und Differenzierungsmöglichkeit)	7
2.1.2 Arten der Stammzellen	8
2.2 Tissue engineering and regenerative Medizin (TERM)	10
2.3 Gendoping	14
3. Applikation von Stammzellen im ausgewählten Organen und Organsystemen	16
3.1 Muskulatur	16
3.1.1 Stand des Wissens	17
3.1.2 Anwendungen.....	18
3.2 Herzmuskel	25
3.2.1 Stand des Wissens	25
3.2.2 Anwendungen.....	27
3.3 Leber	36
3.3.1 Stand des Wissens	36
3.3.2 Anwendungen.....	36
3.4 Gefäße	43
3.4.1 Stand des Wissens	43
3.4.2 Anwendungen.....	44
4. Stammzellforschung in Zusammenhang mit der körperlichen Aktivität....	49
5. Möglichkeiten zur Manipulation und Leistungssteigerung im Sport.....	66
6. Diskussion der Studien Ergebnisse	79
7. Ausblick	91
Literaturverzeichnis	93
Abbildungsverzeichnis	101
Abkürzungsverzeichnis	103
Anhang	105

1. Einleitung

Stammzellforschung ist eine facettenreiche Thematik, die hohe wissenschaftliche Aufmerksamkeit genießt. Forschung der Stammzellen gilt als ein Gebiet mit großem Potential für die Grundlagenforschung, für die Entwicklung neuer Therapeutischer Ansätze und für die Entwicklung medizinischer Behandlungsstrategien. Aufgrund ihres besonderen Potenzials, speziell bei der Regenerations- und Entwicklungsfähigkeit, ist die Stammzellenforschung in den Mittelpunkt des Interesses des `Tissue Engineering` und der regenerativen Medizin eingelangt. Gewebezüchtung und regenerative Medizin sind vielversprechende Themen in der aktuellen medizinischen Forschung geworden, wobei Stammzellen als Quelle für Therapeutische Ansätze verwendet werden.

Im Allgemeinen sind Stammzellen undifferenzierte Zellen, die sich selbst fortwährend erneuern können und unterschiedliche spezialisierte Zellen bilden können. Ihre dominante Funktion im Körper ist unter anderem die Grunderneuerung des Organismus. Die Stammzellen haben die Fähigkeit unsere Körper zu reparieren bzw. alternde und verbrauchte Zellen durch neue zu ersetzen. Sie sind im Stande ihre eigene Population zu vermehren und bereits spezialisierte Zelltypen zu regenerieren (vgl. Müller & Hassel, 2012, S. 458).

Müller und Hassel (vgl. ebd.) beschreiben Regeneration als Ersatz verlorener Körperteile. Sie beschrieben „Re-Generation“ auch als „Wieder- Erzeugung“ oder „nochmaliges Hervorbringen“.

Die Schwerpunkte regenerativer Medizin liegen in der Reparatur, dem Ersatz und der Regeneration zellulärer, gewebsbedingter und organischer Funktionsstörungen unterschiedlicher Genese. Dazu gehören angeborene und erworbene Erkrankungen, sowie Traumata und natürliche Alterungsprozesse. Regenerative Medizin kommt hierzu als multidisziplinärer Ansatz in Form des Tissue Engineering (TE) oder als direkte Zellanwendung (Zelltherapie). Durch zusammenführen unterschiedlicher Komponente produziert TE dreidimensionales funktionelles Gewebe. Direkte Zellanwendung (Zelltherapie) verwendet sowohl Stammzellen, als auch ausdifferenzierte Zelle bzw. somatische Zelle in autologer (Verwendung der körpereigenen Zellen) oder allogener (Verwendung der Spenderzellen) Form (vgl. Jungebluth, Haag & Macchiarini, 2014, S.3).

Der Begriff Tissue Engineering wird häufig als „Gewebezüchtung oder Gewebekonstruktion“ übersetzt. Er beschreibt einen interdisziplinären Ansatz der sich aus dem Bereich der Biomaterialforschung, der Ingenieurwissenschaften, der Zellbiologie, der Biomedizin und der einzelnen Disziplinen in der Chirurgie zusammensetzt. TE ist ein

relativ junges Forschungsgebiet und beschäftigt sich mit der Erhaltung bzw. Herstellung des funktionellen Gewebes und der Organteile auf Basis kultivierter Zellen (vgl. Minuth, Strehl & Schumacher, 2012).

Durch zahlreiche Ergebnisse aus der Grundlagerecherche, der Pharmakologischen Recherche und neu entwickelter Behandlungsstrategien, ist die Gefahr der Gendopingmanipulation der Leistungsfähigkeit des Athleten gestiegen.

Biologisch relevante Ansatzpunkte für gentechnische und/oder pharmakologische Manipulation im Sport, sind folgende leistungslimitierende Faktoren:

- Skelettmuskulatur (Zusammensetzung, Masse, Regeneration);
- die Sauerstoffversorgung des Gewebes (Hämoglobinkonzentration im Blut, Vaskularisierung des Gewebes)
- Energiebereitstellung (vgl. Diel, 2012, S. 29)

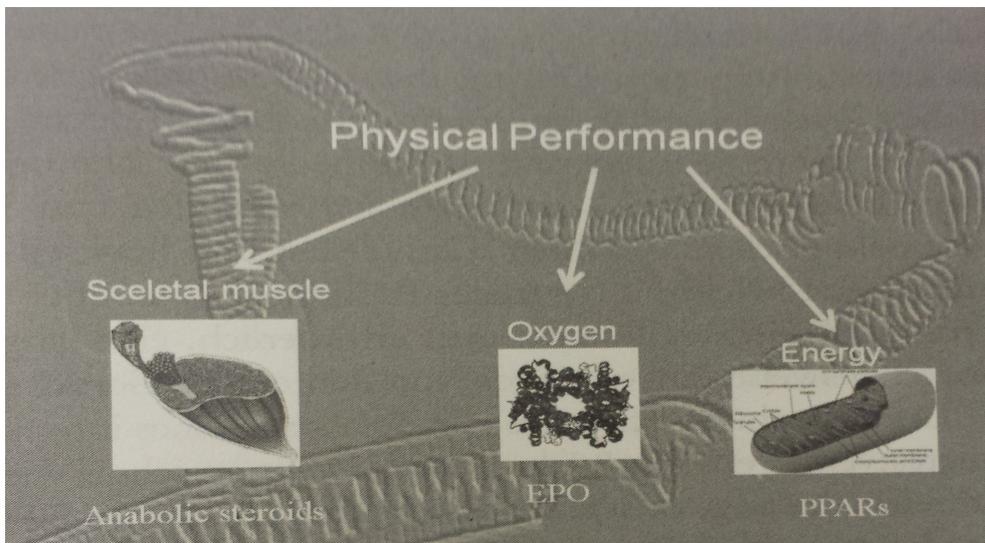


Abb 1. Angriffsziele für die Manipulation der körperlichen Leistungsfähigkeit (vgl. Diel, 2012)

Das Ziel der Arbeit ist die Darstellung einer Übersicht zum aktuellen Forschungsstand folgender Zusammenhänge: Stammzellforschung und TERM (Tissue Engineering und Regenerative Medizin), Stammzellen und körperlicher Aktivität, und Stammzelle als potentielle Quelle zur Leistungsmanipulation im Sport.

1.1 Forschungsfragen

Die folgende Arbeit untersucht, in wie weit die Applikation der Stammzellen in der regenerativen Medizin Anwendung findet und in wie weit körperliche Aktivität oder eine Bewegungstherapie die Regeneration verbessern kann.

Zudem wird untersucht, in wieweit Erkenntnisse aus der Entwicklung neuer Therapieverfahren zur Leistungsmanipulation im Sport herangezogen werden können.

Die Forschungsfrage wird in folgende Teilfragen untergliedert:

Was sind Stammzellen?

Was sind Tissue Engineering und regenerative Medizin?

Gibt es bereits Applikationen von Stammzellen in der regenerativen Medizin? Wenn ja, wie sieht dieser Zusammenhang aus?

Was sind die Ergebnisse der bisherigen Applikationen?

In wie weit kann Sport die körpereigene Reparaturvorgänge beeinflussen?

Was ist Gendoping?

Wie können Ergebnisse aus der Stammzellforschung als Gendoping im Sport missbraucht werden?

1.2 Methode

Es wird ein Überblick über den gegenwärtigen Stand der klinischen Forschung und es werden aktuelle Ergebnisse und Entwicklungen aus den Bereichen der Stammzellforschung, der regenerativen Medizin und des Gendoping, anhand einer selektiven, auf Internet basierenden Literaturrecherche dargestellt.

Zu untersuchende Organe und Organsysteme:

- Muskeln, insbesondere Skelettmuskulatur und Herzmuskel
- Gefäße
- Leber

1.2.1 Prozess der Recherche:

Es handelt sich hierbei um ein Thema, das hohe wissenschaftliche Aufmerksamkeit genießt. Um den Stand der Forschung klar dazustellen, werden nur neuere Artikel herangezogen. Als Relevanzkriterium werden die Artikel Stammzellforschung bzw. Stammzellen und Sport, regenerative Medizin und Gendoping als Hauptthemen behandelt.

Um die Suche auf den „Stand der Forschung“ einzuschränken, werden nur Artikel die innerhalb von 2010-2015 veröffentlicht wurden, in der Analyse mitberücksichtigt.

Weiters werden nur jene Artikel ausgewählt, die im engen Bezug zum Thema stehen. Diese werden Relevanzabhängig selektiert und für weitere Bearbeitung geordnet.

Bei der Suche werden sowohl englische als auch deutsche Schlagworte in Form von Einzelwörtern oder Wörterkombinationen in den unterschiedlichsten wissenschaftlichen Datenbanken und Onlinejournals eingesetzt. Um möglichst hohe wissenschaftliche Aussagefähigkeit der klinischen Studien zu bekommen, wurden primär randomisiert kontrollierte Studien, Meta-Analysen und systematische Reviews in die Arbeit herangezogen.

In das Literaturverzeichnis werden zahlreiche themenvergleichende Analysen aufgenommen.

1.3 Gliederung der Arbeit

Im ersten Abschnitt werden theoretische Grundlagen und Begriffsbestimmungen für die Themengebiete Stammzellen, regenerative Medizin und Gendoping zusammengefasst. Für die Arbeit relevante Begriffe werden definiert und ihren möglichen Anwendungsfeldern zugeordnet.

Der zweite Abschnitt stellt den Hauptteil der Arbeit dar. Dieser gibt einen Überblick über den Stand der wissenschaftlichen Forschung bezüglich Applikation von Stammzellen in ausgewählten Organen und Organsystemen. Zudem wird geklärt, welche Rolle die körperliche Aktivität bei körpereigenen Reparaturvorgängen einnimmt. Es wird der endogene Einfluss von Sport und körperlicher Aktivität auf Aktivierung, Mobilisierung und Differenzierung verschiedener Stammzelltypen diskutiert. Weiters wird untersucht in wieweit körperliches Training Organregeneration und Organfunktion verbessern und fördern kann. Zum Schluss werden Erkenntnisse aus der Entwicklung neuer Behandlungsmöglichkeiten für die altersbedingte Erkrankungen dargestellt, die zur Leistungsmanipulation im Sport herangezogen werden können.

Abschließend werden die zentralen Ergebnisse der Analyse zusammengefasst und diskutiert.

2.Theoretische Teil

2.1 Begriffbestimmungen

*„In the beginning there is the stem cell;
It is the origin of an organism's life.“*

(zit. n. Sell, 2004, S.1)

Stammzellen werden von Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts und Walter (2011, S. 1619) als Zellen beschrieben, die darauf spezialisiert sind, einen unbegrenzten Vorrat an frisch differenzierten Zellen zu schaffen, und zwar dort wo Zellen verloren gingen, ausrangiert wurden oder in größerer Anzahl benötigt wurden.

Stammzellen befinden sich, im Vergleich zu „normalen“ Terminal¹ differenzierten Zellen, in einem undifferenzierten Zustand (vgl. Kühn & Kühn, 2012, S. 15).

Näher bezeichnen die beiden Autoren (vgl. S. 57) Stammzellen als Zellen, die über folgende definierende Eigenschaften gekennzeichnet sind:

- zum einen haben sie die Fähigkeit sich in verschiedene Zelltypen zu differenzieren und zur Bildung unterschiedlicher Gewebe beizutragen. Dafür wird der Begriff „Potentialität“² verwendet. Dieser steht in Verbindung mit Entwicklungs- und Differenzierungsmöglichkeiten von Stammzellen
- zum anderen sind sie in der Lage sich unbegrenzt zu teilen
- sie sind auch im Stande sich selbst zu erneuern. Dieser Vorgang wird „Selbsterneuerung oder Selbstvermehrung“ genannt.

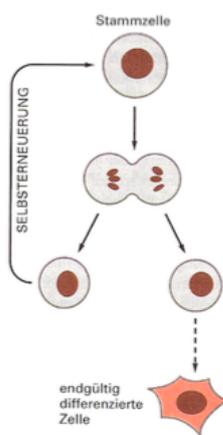


Abb. 2: Die Definition einer Stammzelle. (Alberts et al. 2011, S. 1623)

¹ Terminal differenzierte Zellen sind Zellen die für eine bestimmte Funktion im Körper spezialisiert sind (z.B. eine Hautzelle). Sie sind stabil und können sich nicht weiter teilen und können somit keine neuen Zellen produzieren (vgl. Kühn & Kühn, 2012, S.15).

² Mit dem Begriff „Potenz“ wird in der Entwicklungsbiologie die Fähigkeit bestimmter Zellen und Gewebe bezeichnet, sich zu differenzieren (vgl. Gstraunthaler & Lindl, 2013, S. 243).

Bei der symmetrischen Zellteilung entstehen zwei identische Tochterzellen, die das gleiche Entwicklungspotenzial wie die Mutterzelle haben und den internen Stammzellpool aufrechterhalten. Bei der asymmetrischen Zellteilung entsteht eine Stammzelle und eine Progenitor bzw. Vorläuferzelle mit limitiertem Erneuerungspotential. Vorläuferzellen können mehrere Runden der Zellteilung durchmachen, bis sie das Endstadium bzw. das Stadium terminaldifferenzierter Erwachsenenzelle erreicht haben (vgl. Inaba und Yamashita, 2012).

2.1.1 Potentialität (Entwicklungs- und Differenzierungsmöglichkeit)

Die entwicklungsbiologischen Potenziale sind bei embryonalen, fötalen und adulten Stammzellen in unterschiedlichem Maße ausgeprägt. In Bezug auf das Entwicklungs- und Differenzierungspotential von Stammzellen ist es notwendig folgende Begriffe zu definieren:

Totipotenz wird als Fähigkeit einer Zelle verstanden, einen kompletten Organismus bzw. ein menschliches Individuum zu bilden und sich in alle Zelltypen des Embryos zu differenzieren. In diesem Sinne sind nur Zygote und Blastomere totipotent (vgl. Kühn & Kühn, 2012, S. 61; Gstraunthaler & Lindl, 2013, S. 243).

Pluripotenz wird als die Fähigkeit einer Zelle verstanden, sich in alle Zelltypen des Körpers, sowie alle drei Keimblätter zu differenzieren, wobei sie kein ganzes Individuum mehr bilden können. Diesbezüglich werden embryonale Stammzellen (vgl. Kühn & Kühn, 2012, S. 61) und induzierte pluripotente Stammzellen als pluripotent beschrieben (iPS) (vgl. Gstraunthaler & Lindl, 2013, S. 243).

Multipotenz wird als die Fähigkeit einer Zelle beschrieben, sich in mehrere Entwicklungslinien differenzieren zu können und somit ein Organ bilden zu können (z.B. hämatopoietische Stammzellen) (vgl. ebd.) (Derivate nur eines Keimblattes). Hierzu nennen Müller und Hasel (2012, S. 459) die endodermalen Stammzellen der Dünndarmzotten und die mesodermalen blutbildenden Stammzellen des Knochenmarks.

Oligopotenz wird als die Fähigkeit einer Zelle beschrieben, sich in einige wenige Abkömmlinge differenzieren zu können. Als Beispiel wurden lymphoide und myeloide Stammzellen genannt (vgl. Gstraunthaler & Lindl, 2013, S. 243).

Unipotenz wird als Fähigkeit einer Stammzelle verstanden, nur einen einzigen differenzierten Zelltyp erbringen zu können. Als Beispiel können die Stammzellen der Epidermis der Haut genannt werden. Zellen der neuralen Kategorie sind die Sinneszellen der Riechschleimhaut. Diese haben eine kurze Lebensdauer und müssen ständig aus

einem Reservoir von Stammzellen nachgeliefert werden (vgl. Müller & Hasel, 2012, S. 459).

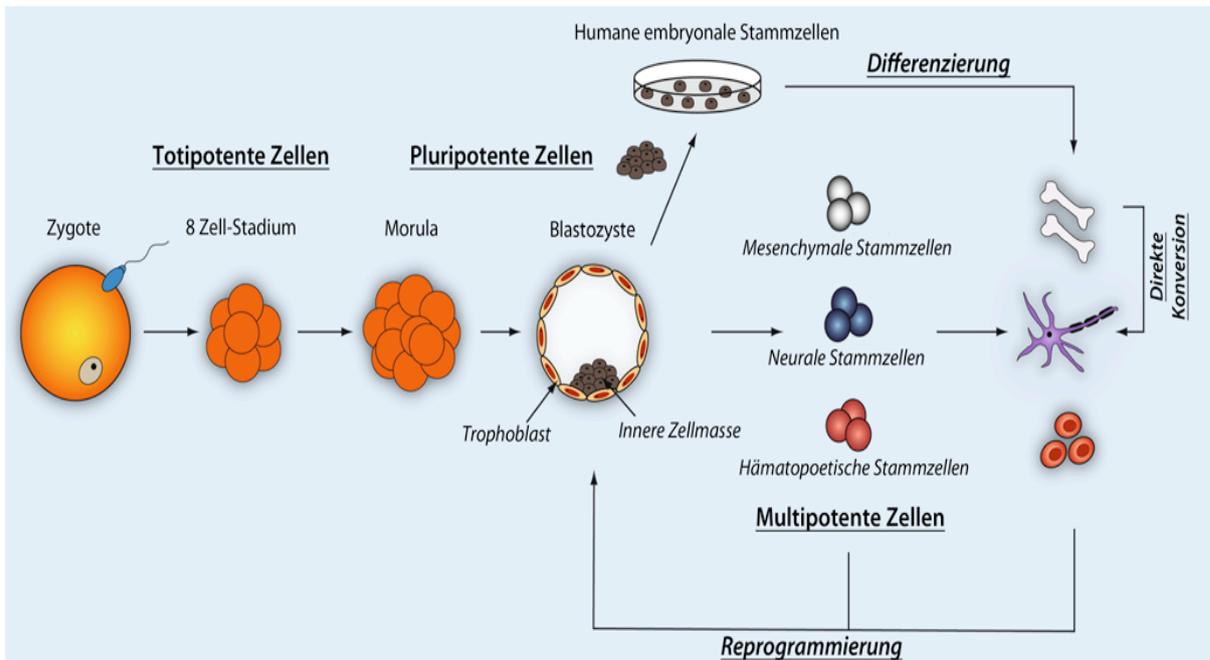


Abb. 3. Einige Stadien des Differenzierungspotentials während der Organismuserwicklung nach Liebau, Stockmann, Illing, Seufferlein und Kleger (2014, S. 460)

2.1.2 Arten der Stammzellen

Es gibt unterschiedlichen Arten von Stammzellen. Je nach ihrer Herkunft können sie folgendermaßen aufgeteilt werden:

Humane embryonale Stammzellen sind pluripotente Stammzellen, die sich unter adäquaten Bedingungen zu allen Gewebearten entwickeln können, nur nicht zu einem Ganzen Individuum (vgl. Gstraunthaler & Lindl, 2013, S. 243). Sie verfügen über uneingeschränktes Vermehrungs- und Differenzierungspotential. Aufgrund ihrer Pluripotenz können sie sich in Derivate aller drei Keimblätter (Ektoderm, Endoderm und Mesoderm) und zu mehr als 220 Zelltypen des Körpers ausdifferenzieren (Fujimaki, Machida, Hidaka, Asashima, Takemasa & Kuwabara, 2013). Humane embryonale Stammzellen werden, in sehr frühem Embryonalstadium, sogenanntem Acht- Zell- bis Blastozystenstadium, aus innerer Zellmasse gewonnen und im Labor unter speziellen Bedingungen weiter kultiviert. Diese Blastozysten stammen aus überzähligen Embryonen, welche durch In-vitro- Fertilisation (IVF)³ erzeugt wurden und für die Implantation nicht weiter benötigt werden. Die Gewinnungsverfahren führen zu einer unwiderruflichen

³ Unter In-vitro- Fertilisation IVF wird künstliche Befruchtung im Labor verstanden, die infertilen Paaren zu einem eigenen Kind verhilft (vgl. Nebel, 2015, S.93).

Zerstörung des Embryos. Demnach sorgt die Gewinnung, die Kultivierung sowie die die die Forschung an humanen embryonalen Stammzellen weltweit für ethische Bedenken und löst kontroverse bioethische Debatten aus. Die Gewinnung der humanen embryonalen Stammzellen ist nach derzeitiger Rechtslage in Österreich und in Deutschland nicht erlaubt (vgl. Nebel, 2015, S. 94; Kühn & Kühn, 2012, S.200-201).

Adulte Stammzellen sind gewebespezifische bzw. somatische Stammzellen. Sie kommen aus dem Organismus eines erwachsenen Menschen und befinden sich in ausdifferenziertem Gewebe. Sie besitzen die Fähigkeit sich selbst zu erneuern und in verschiedene Zelltypen auszureifen. Ihre Differenzierungsfähigkeit ist nur auf ihr Ursprungsgewebe beschränkt (Kühn & Kühn, 2012, S. 94). Sie sind Multipotent und können d.h. nur bestimmte Zelltypen bilden. Adulte Stammzellen produzieren identische Kopien von sich selbst und versorgen auf diese Weise ihre Ursprungsorgane und Gewebe mit dem benötigten Zellmaterial (vgl. ebd. S. 14). Sie differenzieren sich nach Bedarf im betreffenden Gewebe, ersetzen abgestorbene Zellen und regenerieren geschädigtes Gewebe (vgl. Fujimaki et al., 2013). Daher spielen sie die Hauptrolle in der Aufrechterhaltung und Regeneration des betreffenden Gewebes. Unter dem Einfluss spezieller Mikroumgebung, sogenannter Nische, tragen adulte Stammzellen zur Generierung eines breiten Spektrums differenzierter Vorläuferzellen bei (vgl. Kadi, 2011, S. 343). Das Merkmal der Selbsterneuerung (engl. „*self-renewal*“) und der Geweberegeneration haben u. a. Knochenmark-, Blut-, Gehirn-, Skelettmuskulatur-, Leber- und Pankreaszellen. Ihr Entwicklungspotential kann mittels spezifischer Wachstumsfaktoren dazu angeregt werden, sich in spezialisierte Zelltypen zu entwickeln. Adulte Stammzellen wurden schon in vielen Geweben und Organen gefunden inkl. Skelettmuskeln, Knochen, Knorpel, Haut, Blutgefäße, Zähne, Herz, Leber, Darm, Periphere Blut, Ovarial Epithelium, Testis und Knochenmark (vgl. Macaluso & Myburgh, 2012). Im Gegenteil zu embryonalen Stammzellen sind humane adulte Stammzellen ethisch unbedenklich (vgl. Schrezenmeier, 2014, S. 475).

Eine weitere Untergruppe wird „*Induzierte pluripotente Stammzellen*“ genannt. Darunter wird die Reprogrammierung einer bereits spezialisierten (Adulte) Zelle in eine embryonalstammzellähnliche Zelle verstanden. Im Prozess der Rückwandlung wird künstliche Pluripotenz erzeugt, sodass eine bereits ausdifferenzierte Körperzelle (z. B. eine Hautzelle) durch bestimmte Faktoren in einen undifferenzierten, frühembryonalen Zustand zurückversetzt wird (vgl. Kühn & Kühn, 2012, S. 175). Takahshi und Yamanaka (2006) haben adulte Mausfibroblasten mit Hilfe von vier Transkriptionsfaktoren (Oct4, Sox2, Klf4, c-myc) reprogrammiert bzw. in das Stadium der Pluripotenz zurückgewandelt. Diese Zellen wurden *induced pluripotent stem cells* genannt, kurz iPS- Zellen. Ein Jahr

später wurden humane induzierte pluripotente Stammzellen aus menschlicher Zelle (kurz: hiPS-Zellen) gewonnen (vgl. Takahashi et al., 2007).

...demonstrate the generation of iPS cells from adult human dermal fibroblasts with the same four factors: Oct3/4, Sox2, Klf4, and c-Myc. Human iPS cells were similar to human embryonic stem (ES) cells in morphology, proliferation, surface antigens, gene expression, epigenetic status of pluripotent cell-specific genes, and telomerase activity. Furthermore, these cells could differentiate into cell types of the three germ layers in vitro and in teratomas. These findings demonstrate that iPS cells can be generated from adult human fibroblasts (z. n. Takahashi et al., 2007).

HiPS-Zellen weisen Pluripotenz auf und sind in der Lage sich in alle drei Keimblätter zu differenzieren. Im Vergleich zu Embryonalen Stammzellen stellen hiPS-Zellen eine ethisch unbedenkliche Alternative für die Grundlagenforschung und für die Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten dar.

Therapeutische Klone gehören zu oft diskutierten therapeutischen Möglichkeiten mit Stammzellen. Dabei wird zunächst einem Patient, z.B. mit Diabetes, eine gesunde Körperzelle entnommen. Weiters wird eine weibliche Person gebeten, eine ihrer Eizellen zu spenden. Ein Arzt entnimmt die Eizelle und entfernt ihren Zellkern. In die entkernte Eizelle wird die gesunde Körperzelle des Patienten transferiert und im Labor weiter bis zur Blastozystephase als embryonale Stammzelllinie kultiviert. Die Entwicklung beginnt also vom Neuen. Daraus entstandene pluripotente Stammzellen werden der inneren Zellmasse entnommen und zu den benötigten Gewebezellen (in diesem Beispiel Insulin produzierende Zelle) ausdifferenziert. Letztlich werden diese neu gewonnene differenzierte Zellen zur Behandlung in den Patientenorganismus implantiert (vgl. Wörmer, 2003, S. 78-80).

2.2 Tissue engineering and regenerative Medizin (TERM)

„Tissue engineering and regenerative medicine (TERM)“ remains to be one of the fastest growing fields, which covers a wide scope of topics of both basic and applied biological researches“ (z. n. Huang, Lin, Shi, & Liu, 2015, S.4)

Die Grundlagenforschung TERM ist eine relativ neue Forschungsrichtung und verbindet folgende wissenschaftliche Disziplinen: Stammzellbiologie, Zell-engineering, somatische Kerntransfer, genome Editing, Entdeckung neuer Gewebe Progenitor/ Stammzellen, Modulation des Immunsystems von Stammzellen und Geweberegeneration (vgl. ebd.).

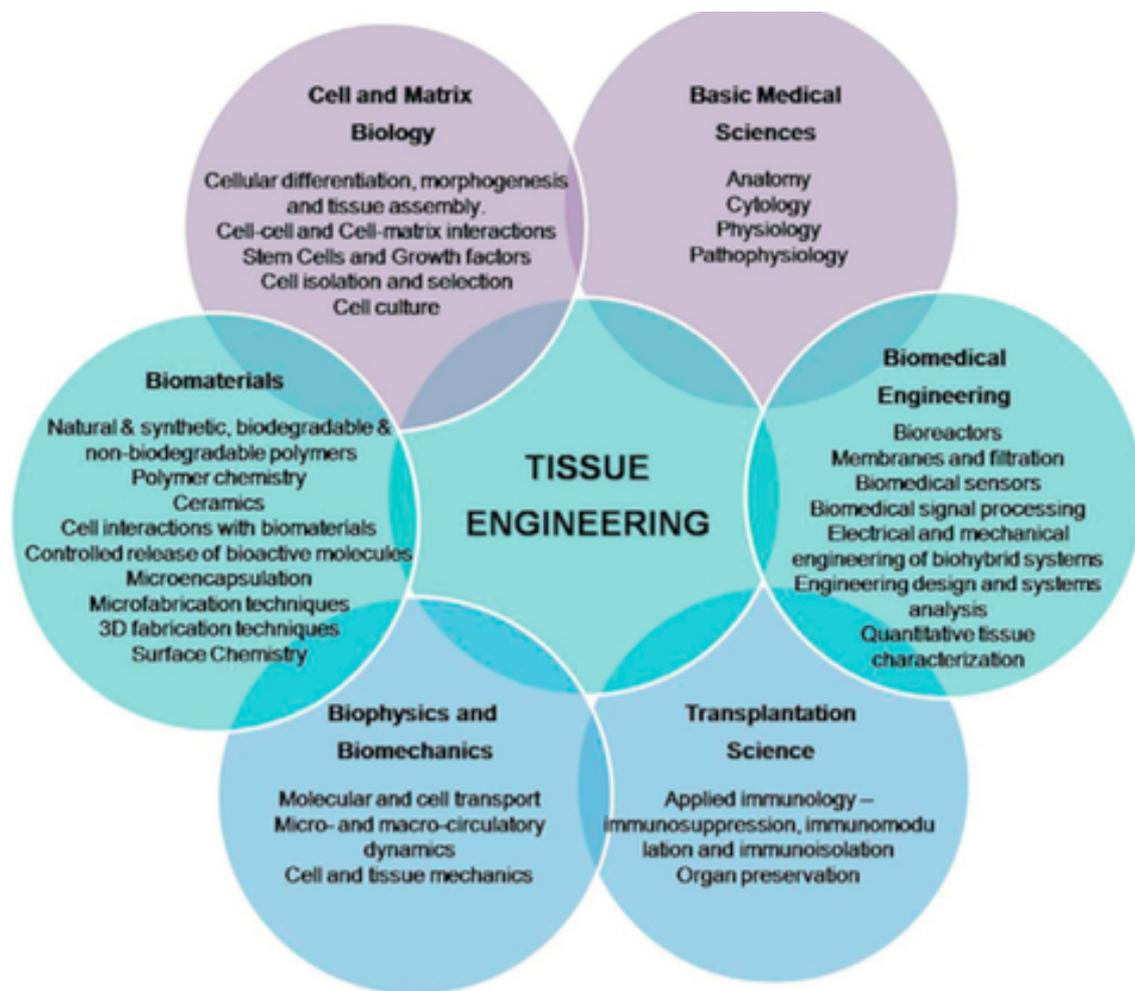


Abb. 4. TE Bereiche (Vishwakarma, Sharpe, Shi & Ramalingam, 2014)

Auf der Abbildung haben Vishwakarma, Sharpe, Shi und Ramalingam (2014) die schematisch wichtigsten Tissue Engineering Bereiche dargestellt.

Vishwakarma et al. (2014) definieren Tissue Engineering als einen interdisziplinären Bereich, in welchem die Prinzipien der Engineering und der Biowissenschaften, anhand von Methoden zur Entwicklung biologischer Ersatzteile angewendet werden um Gewebefunktion wiederherzustellen, aufrechtzuerhalten oder zu verbessern.

Nach Gstraunthaler und Lindl (2013, S. 307) stellt Tissue Engineering eine Methode dreidimensionaler Zellkultur, in welcher künstliches Gewebe als Ersatz für Transplantationszwecke gezüchtet wird. Es wird unterschieden zwischen *autologer* Transplantation (vom selben Patienten stammend), *allogener* Transplantation (von einem fremden, aber derselben Spezies stammenden Spendergewebes) und *xenogener* Transplantation (von artfremdem Gewebe, z. B. einem tierischen Organismus stammend).

Jungebluth et al. (2014, S. 1) nennen im Bereich des Tissue Engineering folgende Komponente die funktionelle 3-dimensionale Gewebe generieren, reparieren oder

ersetzen zu können und daher von entscheidender Bedeutung sind:

- Scaffold: ein biologisches oder synthetisches 3- dimensionales Grundgerüst, das extrazelluläre Matrix darstellen soll. Es wird mit Zellen besiedelt und wenn nötig als Gewebe oder als Organ transplantiert.
- Zellen: für Besiedlung und Kultivierung werden sowohl Stammzellen als auch ausdifferenzierte allogene / autologe Zellen verwendet.
- Bioreaktor: soll ein Milieu mit essentiellen Charakteristika des Organismus darstellen.
- Bioaktive Moleküle: jene Art von Liganden, Hormonen, Zytokinen oder Proteinen, die in irgendeiner Form, Zellproliferation, Zelldifferenzierung und „homing“ der anderen zellulären Mechanismen im Körper aktivieren bzw. einen Einfluss auf diese haben (vgl. ebd).

Zelltherapien sind große Hoffnungsträger in der Medizin. Zelltherapie stellt eine Behandlungsmethode dar, in der funktionelle Zellen bzw. Stammzellen, oder von Stammzellen abgeleitete Zellen, in ein erkranktes System oder Organ transplantiert werden, um beschädigte Gewebe des Patienten zu ersetzen oder zu reparieren (vgl. Liebau et al., 2014, S. 464).

Bei der Entwicklung neuer Therapien muss immer auf mögliche Risiken und Nebenwirkungen geachtet werden. Als Nachteile werden vor allem Transplantation von Spendenorganen oder Verwendung allogener Zellen erkannt. Bei vielen angeborenen oder erworbenen Erkrankungen ist die allogene Organtransplantation die einzige kurative Behandlungsmethode. Mögliche Komplikationen dabei sind Abstoßungsreaktion und unkontrollierte Immunreaktion gegen das Empfängergewebe (vgl. Jungebluth et al., 2014). Applikationen von körperfremden Zellen oder Transplantationen Organtransplantationen haben häufig eine lebenslange Einnahme der Immunsuppressiva zur Folge. Besonders in hochentwickelten Industrieländern, wo die Anzahl älterer PatientInnen ansteigt, herrscht die Problematik der Organspenderknappheit. Daher wäre es sinnvoll alternative Behandlungswege, wie z.B. TERM zu suchen (vgl. ebd.)

In der Literatur werden unterschiedliche vorteilhafte Anwendungsmöglichkeiten von iPS-Zellen diskutiert. Dabei wird oft auf die Einsatzproblematik hingewiesen.

Fujimaki et al. (2013) sehen die wichtigsten medizinischen Anwendungsfelder der iPS-Zellen in der Etablierung personalisierter iPS-Zellen bei klinischen Applikationen. Diese Möglichkeit der Generierung autologer Zellen für die Zellersatztherapie ist eines der

wichtigsten Aspekte der iPS- Zelltechnologie. Dadurch werden allogene hES-⁴ Zellen aus Embryos nicht mehr nötig. Die Generierung patientenspezifischer iPS- Zellen ist bedeutend, für die *in vitro* oder *in vivo* Modelle, um Pathogenese spezifische Erkrankungen zu untersuchen.

Sogenannte Zellkulturmodelle bzw. humane spezifische Krankheitsmodelle (engl. iPSC-based disease modelling) nach Wu und Hochedlinger (2011) eignen sich gut zur Erforschung der Krankheitsverläufe durch Veranschaulichung pathologischer Vorgänge auf molekularer und zellulärer Ebene. Auf diese Weise können molekulare Ursachen verschiedener Krankheiten besser verstanden werden. Produktion von Krankheitsphänotypen aus unterschiedlichen iPS- Zellen *in vitro* ist einerseits ein wichtiger Schritt zur Krankheitsmodellierung, und andererseits ein wichtiger Schritt zur Identifizierung neuer Signalwege und neuer Medikamente, welche die Krankheitsprozesse beeinflussen können.

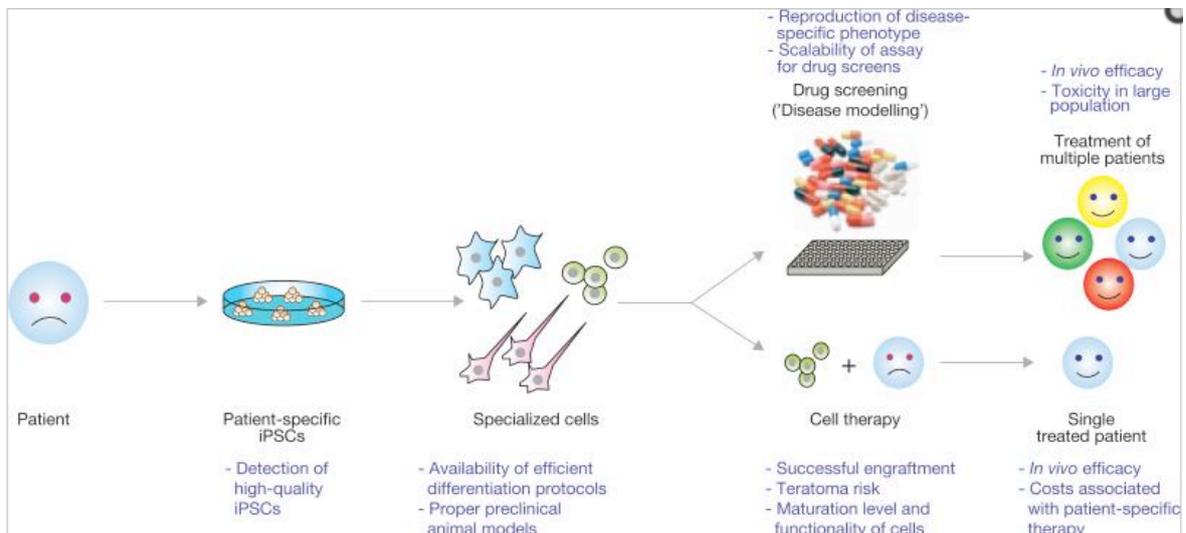


Abb. 5. Potentielle Nutzen und Risiken von iPS-Zelltechnologie in regenerative Medizin schematisch dargestellt nach Wu und Hochedlinger (2011)

iPS- Zellen können auch für die Identifizierung und Entwicklung neuer Wirkstoffe in der Pharma- und in der Toxikologie angewendet werden. Durch sogenannte Medikamentenscreening können Medikamente bereits vor der Verabreichung überprüft werden (vgl. Wu & Hochedlinger, 2011).

Da sich bei hiPS- Zellen um autologe, also vom Patient selbst stammende Zellen handelt, werden sie vom eigenen Immunsystem nicht abgestoßen.

⁴ humane embryonale Stammzellen

Der Einsatz pluripotenter Zellen in zellbasierten Therapien ist von der Effizienz zellabstammender spezifischer Differenzierung, von der Effizienz der Zellreinigung und schließlich von der Entwicklung neuer Methoden der Zellenlieferung, abhängig (vgl. Fujimaki et al., 2013).

Bevor erfolgreiche Implementierungen von iPSC- basierten Medikamentenscreening eingesetzt werden können, müssen noch einige Fragen gelöst werden. Eine der wichtigsten Fragen die sich dabei stellt ist, ob man relevante Krankheitsphänotypen vertrauensvoll *in vitro* reproduzieren kann, und wenn das funktioniert, ob diese Krankheitsmodelle *in vivo* Krankheitsverhalten exakt vorhersehen können (vgl. Fujimaki et al., 2013).

Zelltherapien und Tissue Engineering zeigen sowohl in präklinischen Studien als auch in klinischer Anwendung bedeutende Behandlungserfolge, eine Verbesserung in der Lebensqualität von Patienten und eine Kosteneinsparungen für das Gesundheitssystem (vgl. Jungebluth et al., 2014).

Um regenerative Medizin sinnvoll voranzubringen und für das Patientenwohl sichere und relevante Therapien zu entwickeln, ist es weiterhin notwendig, mithilfe der Grundlagerecherche und mithilfe präklinischer Studien, die zugrunde liegende Mechanismen zu erforschen und bestehende Konzepte zu optimieren (vgl. ebd.).

Okano und Dezawa (2014) beschreiben die regenerative Medizin als vielversprechende heilmitteltherapeutische Behandlung, die PatientInnen mit schweren Krankheiten heilen können, was die herkömmlichen konventionellen symptomatische Behandlungen nicht in der Lage sind. Um den Fortschritt der regenerativen Medizin zu unterstützen, empfehlen die beiden Autoren eine multidisziplinäre Annäherung unterschiedlicher Felder wie Molekularbiologie, Zellbiologie, Technologie (Technik und Wissenschaft), pharmazeutische und medizinische Wissenschaft. Sie fordern die Anerkennung regenerativer Medizin als eine selbständige akademische Disziplin.

2.3 Gendoping

Der Begriff „Gendoping“ ist seit dem Jahr 2002 in der Liste der verbotenen Wirkstoffe und Methoden zu finden. „Gen- oder Zelldoping ist jede nichttherapeutische Anwendung von Genen, Genelementen und/oder Zellen, die die Fähigkeit haben, sportlich- athletische Leistung zu steigern“ (zit. n. Müller- Platz & Wolfarth, 2003). Demnach sind Gen- oder Zelldoping alle Methoden, mit denen das Genom der Zelle verändert werden kann (vgl. ebd.). Der genetische Eingriff besteht vorrangig darin, Gene mit den gewünschten

Eigenschaften in die Erbinformation des Wirtsorganismus einzubringen. Es wird nach erkennbaren, für die sportliche Leistungsfähigkeit begünstigenden Merkmalen gesucht, um diese mit lokalisierten Genen zu verknüpfen (vgl. Müller- Platz und Wolfarth, 2003).

Die Gentechnologie ermöglicht es AthletInnen bestimmte Eigenschaften zu implementieren. Es ermöglicht Sportartspezifisch zu dopen (Wachstumshormone, Amphetamine, Testosteron, Insulin, Betablocker usw.). Gendoping macht Pillen und Spritzen überflüssig. Denn mit einem einzigen Eingriff in das Erbgut der Zelle, werden Dopingsubstanzen im eigenen Körper vom Körper selbst produziert (vgl. Derrich, 2010).

Einige Gentherapien, die in klinischen Studien ihre Effektivität nachweisen, könnten bald von skrupellosen AthletInnen oder ihren TrainerInnen als Gendoping adaptiert und missbraucht werden. Goud (2013) stellt die erfolgreich durchgeführten Gentherapien, die als potentielle Ziele der Gendoping sein können.

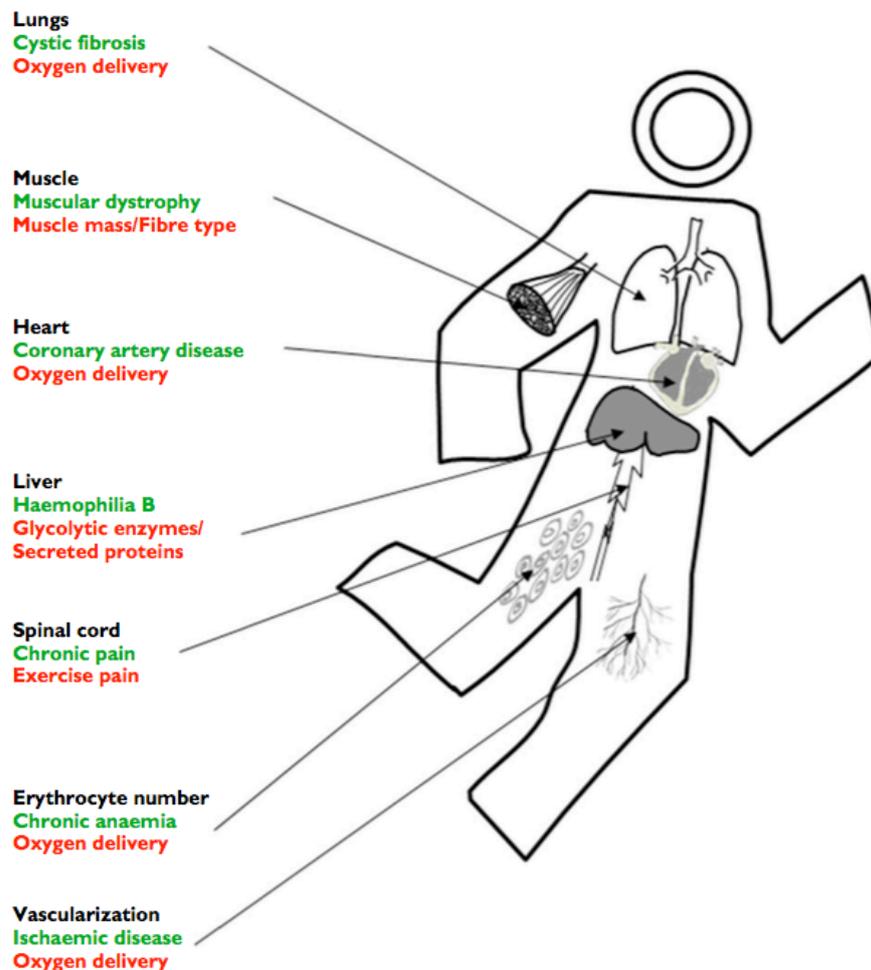


Abb. 6. Zielorgane wo Gendoping eingesetzt werden könnte. Grüne Wörter stellen die Gentherapieansatz und rote Wörter potentielle Gendoping (vgl. Goud, 2013)

3. Applikation von Stammzellen im ausgewählten Organen und Organsystemen

Dank beachtlichem Progress in der Stammzellgrundlagenforschung konnten die neuen Therapieansätze bereits erprobt werden. Im folgenden Teil sollen anhand vorliegender Daten die Indikation und die Ergebnisse bisherige Applikationen der Stammzellen in ausgewählten Organen und Organsystemen dargelegt werden.

Anhand einer Literaturrecherche werden sowohl tierexperimentelle Studien, als auch klinische Studien vorgestellt. Insbesondere werden neulich erschienene (von 2010 bis 2015) randomisiert- kontrollierte Studien, systemische Reviews und Metaanalysen evaluiert.

3.1 Muskulatur

Unter dem Begriff „Muskel“ werden viele Zelltypen verstanden, die alle auf Kontraktion spezialisiert sind, sich aber in Funktion, Aufbau und Entwicklung unterscheiden. Diese sind: Skelettmuskelzellen, Herzmuskelzellen, glatte Muskelzellen und Myoepithelzellen. Ihre Kontraktionskraft wird mittels organisierten, auf Actin und Myosin basierenden Filamentsystemen, erzeugt. (vgl. Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts und Walter, 2011, S.1672).

- Skelettmuskelzellen sind für willkürlich kontrollierte Bewegungen zuständig und sie werden als Muskelfaser bezeichnet. Bei erwachsenen Menschen sind sie 2-3 cm lang und 100 µm im Durchmesser. Jede Skelettmuskelfaser wird als Synzytium mit vielen Kernen innerhalb eines gemeinsamen Zytoplasmas verstanden, während andere Arten von Muskelzellen nur einen Kern haben. Skelettmuskelfasern entstehen durch Myoblastenfusion bzw. Verschmelzung. Nach der Verschmelzung sind sie nicht mehr teilungsfähig.
- Herzmuskelzellen haben auch ihre Actin- und Myosinfilamente, die in hoch geordneten Reihen liegen und eine Folge kontraktile Einheiten (Sarkomere) bilden.
- Myoepithelzellen liegen in Epithel und stammen aus Ektoderm. Sie bilden den Dilatatormuskel der Pupille und dienen, im Drüsengewebe dazu, die Speichel, den Schweiß oder die Milch aus den jeweiligen Drüsen auszutreiben.
- Glatte Muskelzellen haben zahlreiche Aufgaben. Sie reichen vom Voranschleichen der Nahrung im Verdauungstrakt bis zum Aufrichten der Haare als Reaktion auf Kälte oder Angst (vgl. ebd.).

3.1.1 Stand des Wissens

Adulte Stammzellen sind unter normalen Bedingungen ziemlich stabile Gewebe, die aber bemerkenswerte Fähigkeit zur Regeneration nach der Muskelverletzung haben. Skelettmuskelregeneration ist ein hoch komplexer Prozess, der Aktivierung von unterschiedlichen zellulären und molekularen Reaktionen miteinbezieht. Als Skelettmuskelzelle, spielen die Satellitenzellen unersetzbare Rolle in diesem Prozess. Die Selbstvermehrungsfähigkeit und Proliferation der Satellitenzellen dient nicht nur zur Aufrechterhaltung der Stammzellpopulation, sondern auch zur Lieferung zahlreicher myogener Zellen. Sie können sich proliferieren, differenzieren und fusionieren. Diese Prozesse führen zu neuen Muskelfaserformation- und Rekonstruktionen. Das komplexe Verhalten der Satellitenzellen während der Muskelregeneration ist reguliert durch das Zusammenspiel zwischen intrinsischen Faktoren in Satellitenzellen und extrinsischen Faktoren festgelegt von Muskelstammzellnischen bzw. von Mikroumgebungen (vgl. Yin, Price & Rudnicki, 2013)

Satellitenzellen sind Stammzellen der erwachsenen Skelettmuskulatur, so hat sie ihr Entdecker Mauro (1961) nach ihrer anatomischen Lage genannt. Sie befinden sich in einem Ruhestadium (engl. Quiescent Cells) zwischen der Basalmembran und dem Sarkolemm. Sie sind satellitenähnlich um die Muskelfaser angeordnet.

Die Muskelverletzungen, die durch körperliche Belastung wie Krafttraining oder genetische Defekte wie muskuläre Dystrophie entstanden sind, stehen in Verbindung zu Muskelfaser Nekrose, entzündlicher Reaktion, Aktivierung von Satellitenzellen, Proliferation und Differenzierung von Zell- gewonnenen Myoblasts. Dieser Prozess, der mit Muskelfasernekrose anfängt und mit neuer Muskelfaserformation endet, heißt Muskelregeneration (vgl. Yin et al., 2013).

3.1.2 Anwendungen

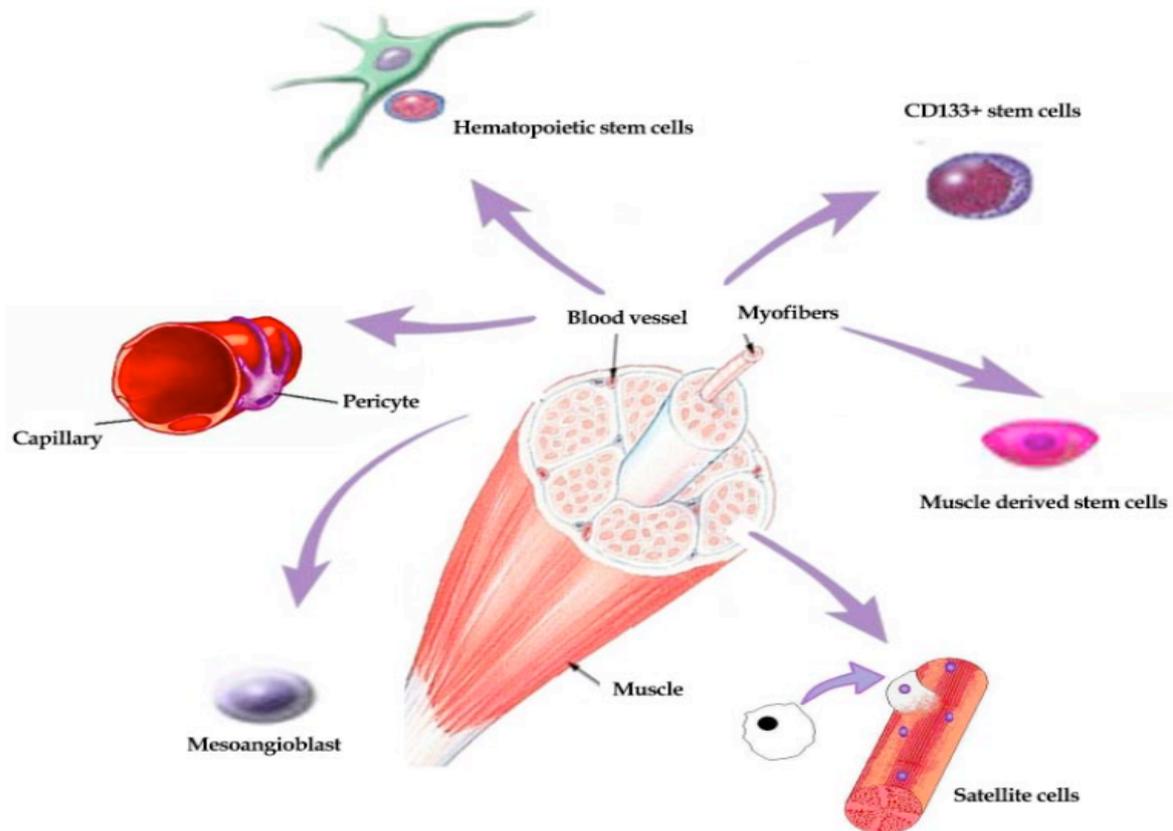


Abb. 7. Mögliche myogene Stammzellquellen aus Blut und Muskel (vgl. Farini et al., 2009)

Farini, Razini, Erratico, Torrente und Meregalli (2009) haben muskuläre- und nichtmuskuläre Subpopulationen, die sich aktiv an der Myogenese beteiligen können, bildlich dargestellt. Im Skelettmuskel befinden sich neben den Satellitenzellen weitere adulte Vorläuferzellpopulationen mit myogener Fähigkeit: die muskel- abgeleitete Stammzellen (MDSCs), Hämatopoetische Stammzellen, CD133+ Stammzellen, Perizyten und Mesoangioblasten.

Muskuläre Rekonstruktion erfolgt u.a. durch unipotente Satellitenzellen. In intakten Muskeln haben diese Zellen eine Selbsterneuerungsfähigkeit und wenn es notwendig ist, beteiligen sie sich an der Muskelregeneration. Tritt eine Verletzung auftritt, treten diese Zellen wieder in Zellzyklus. Sie proliferieren und differenzieren sich in Myoblasten. Diese Myoblasten fusionieren in eine neue Myofibrillenform, oder fusionieren mit schon vorhandenen Muskelfasern. Dieser komplexe Muskelregenerationsprozess führt normalerweise zur Rekonstruktion des funktionalen Muskelgewebes. Allerdings fällt in den Erkrankungen wie Myopathie (z.B. Duchenne muscular dystrophie- DMD) die Muskelregeneration aus. Die Muskeldystrophie vom Typ Duchenne ist die häufigste und

die schwierigste Form von allen Muskeldystrophien. Diese Muskelerkrankung führt zu progressiver Muskelfasernekrose, zu Proliferation der Fibroblasten und zum Wachstum von Fasergewebe und Fett. Die Ursache für Muskeldystrophie ist eine Mutation des Dystrophin Gen. Das Dystrophin Gen ist auf dem kurzen Arm von Chromosom X (Xp21.2 locus) loziert (vgl. Bajek, Porowinska, Kloskowski, Brzoska, Ciemerych & Drewa, 2015).

Ziel der DMD Zelltherapie ist die Lieferung der „gesunden“ Zellen, welche Regeneration unterstützen, sowie die Wiederherstellung fehlender Muskelfunktion und die Erhaltung der Langzeitauswirkungen. Transplantierte Zellen sollen imstande sein, Myogenes Programm zu folgen, sich an der Muskelregeneration zu beteiligen und die nächste Runde der Regeneration zu unterstützen. Effektivität der Therapie zeichnet sich durch „Wiederbelebung“ funktionsfähigen Dystrophins und durch die Steigerung der Muskelkraft aus, was schließlich zur Verbesserung der Lebensqualität der DMD Patienten führt (vgl. Bajek et al., 2015).

Myoblasten

Die erste Zellauswahl für eine DMD Therapie waren die Satellitenzellen und die Myoblasten der Satellitenzellen. Die Fähigkeit der transplantierten Myoblasten an der Muskelregeneration teilzunehmen und Dystrophin Expression wiederherzustellen hat Partridge et al. im Jahr 1989 am Dystrophin Defizienten der mdx Maus gezeigt.

Drauf basierend folgten zahlreiche klinische Studien an Menschen. Die meisten Studien, die sich auf Myoblast Transplantation in DMD Patienten fokussierten, wurden in 90er Jahren durchgeführt. Vielversprechende Ergebnisse aus Tierversuchen führten dazu, Zelltherapien in klinischen Studien zu untersuchen (vgl. Tadesco, Dallavalle, Diaz-Manera, Messina & Cossu, 2010).

Clinical trials of myoblast transplantation in DMD patients

Author	Year	Blind	Number of pts	Pt age	Drugs administered	Number of myoblasts ($\times 10^6$)	Expression of dystrophin	Improved strength	Ref
Law	1991	No	3	9–10	Cyclosporine	8	3/3 by IHC and WB at 3 months	3/3 patients at 3 months	95
Huard	1992	No	4	13–20	None	25	3/4 by IHC and WB at 4 months (up to 80% fibers positive)	3/4 patients	96
Law	1992	No	21	6–14	Cyclosporine	5000	Not evaluated	43% muscles examined improved	98
Gussoni	1992	Yes	8	6–10	None	100	3/8 by PCR at 1 month	Not evaluated	99
Karpati	1993	Yes	8	6–10	Cyclophosphamide	55	0/8 by IHC at 1-year follow-up	3/8	97
Tremblay	1993	Yes	5	4–9	None	100–240	3/4 by IHC at 1 month (up to 36% fibers positive); 1/4 by IHC at 6 months	0/5	100
Morandi	1995	Yes	3	6–9	Cyclosporine	55	0/3 by IHC or PCR	Not evaluated	101
Mendell	1995	Yes	12	5–9	Cyclosporine	110	1/12 by IHC ^A	0/12	102
Miller	1997	Yes	10	5–10	Cyclosporine	100	3/10 by PCR at 1 month; 1/10 at 6 months	0/10	103
Neumeyer	1998	Yes	6 ^B	>21	Cyclosporine	73–100	0/3, by IHC ^C	0/3	94
Skuk	2006	Yes	9	8–17	Tacrolimus	30	8/9 patients by IHC ^C 3.5%–26% fibers expressed dystrophin	Not evaluated	104

Pt, patient; IHC, immunohistochemistry; WB, Western blot. ^AMultiple injection site protocol. ^BStudy performed with Becker muscular dystrophy patients. ^CIHC was performed using a peptide-specific antibody recognizing only donor dystrophin.

Abb. 8. Klinische Studien von Myoblast Transplantation in DMD Patienten (vgl. Tadesco et al., 2010)

Wichtig hervorzuheben ist, dass alle Myoblasten-Transplantationsmethoden sicher waren und dass es zu keinen unerwarteten Nebeneffekten in klinischen Studien kam. Eine Großzahl der Studien verwendete Immunsuppressiva nach der Transplantation, um Abstoßungsreaktion der Spenderzellen vorzubeugen. Transplantation von Myoblasten in den klinischen Studien zeigte sich als ineffiziente Behandlungsmethode, da Dystrophienproduktion in Muskelfasern zu keiner funktionellen oder klinischen Verbesserung bei Patienten geführt hat. Daraufhin wurden viele Bemühungen darauf fokussiert, innovative Methoden zur Herstellung „gesunder“ Zellen zu entwickeln, die sich dann in der Rekonstruktion der DMD Skelettmuskeln beteiligen können (vgl. Bajek et al., 2015).

Aufgrund ungenügend zufriedenstellender Effekte der intramuskulären Transplantation der Myoblasten vom gesunden Spender, wird in aktuelleren Studien versucht, neue Stammzellquellen und neue Behandlungsmethoden zu erforschen (vgl. ebd.).

Pluripotente Stammzellen

HAC (engl.: human artificial chromosome)- vermittelte Gentransfer zeigte Effizienz in präklinischen Modell der DMD und öffnete Potenzial für zukünftige klinische Studien.

Kazuki et al. (2010) demonstrierte in ihrer Machbarkeitsstudie (proof of concept), eine

komplette Korrektur des Gendefektes des Dystrophin in iPS-Zellen, welche aus dem DMD Modell (mdx Maus) und Fibroblasten des DMD Patienten gewonnen waren. Gendefekte der iPS-Zellen wurden mit humanen künstlichen Chromosom (HAC) korrigiert und beinhalteten komplette Dystrophinsequenz (dystrophin sequence human artificial chromosome, kurz: DYS-HAC), welche mittels MMCT (microcell-mediated chromosome transfer) transferiert wurden. Genetisch korrigierte iPS-Zellen aus DMD Patienten und mdx- spezifischen Mäusen mit DYS-HAC, konnten sich in alle drei Keimblätter und in muskelähnliche Gewebe differenzieren, sowie menschliche Dystrophinexpression im muskelähnlichen Gewebe festlegen.

Experimente mit genetisch modifizierten Mesoangioblast, durch welche die Expression der Dystrophin wieder entstanden ist, wurden von der Autorengruppe Tedesco et al. im Jahr 2011 durchgeführt. Sie zeigten, dass menschliche iPS-Zellen von Mesoangioblast-ähnlichen Zellen *in vitro* kultiviert werden können.

Viele therapeutische Strategien verwendeten Gentherapie, um normal Dystrophin Gen zu bekommen und diesen dann in dystrophen Muskel zu verabreichen. Jedoch, ist das Dystrophingen zu lang um von Viralvektor getragen zu werden und sollte in allen Muskeln im Körper mit Vektor und Ersatzgen injiziert werden. Autorengruppe Tedesco et al. (2011) kombinierte Stammzelltherapie mit humanen künstlichen Chromosomen (HAC)- Vektor, um diese zwei Herausforderungen zu überwinden. Dieses Team identifizierte zuvor die Gefäßstammzellen, die sogenannten Mesoangioblasten. Die Mesoangioblasten haben die Fähigkeit, Gefäßwand zu überqueren und sich in verschiedene mesodermale Zelltypen zu differenzieren, inkl. Muskelzellen. Tedesco und Kollegen (2011) konstruierten den humanen künstlichen Chromosomvektor, welcher den vollständigen normalen menschlichen Dystrophingen, inkl. Regulatorische Region, tragen kann. Die Autoren zeigten eine Anwachsung transplantierte Mesoangioblast im dystrophen Muskel, sowie Expression des normalen Dystrophin und Produktion funktioneller Muskelfasern mit Verbesserung dystropher Pathologie. Transplantierte Mesoangioblast trägt zu Muskelsatellitenstammzellpool bei, in dem sie neue Muskelzellen unter normalen Bedingungen produzieren. Weiters zeigten die Mäuse, welche das Mesoangioblasttransplantat bekommen haben, eine reduzierte Fiber Empfindlichkeit, erhöhte Kraft und größere motorische Kapazität am Laufband und beim Freilaufstest. Beide Mäuse (intramuskulär und intraarteriell behandelnde SCID/mdx Mäuse) rannten zwei- bis vierfach mehr als die Kontrollgruppe. Eine Verbesserung des dystrophen Phänotypes im Duchenne Muskeldystrophie (DMD) mdx Mausmodell konnte gezeigt werden. Genetisch korrigierte Mesoangioblast führt zur morphologischer und funktioneller Verbesserung von Phänotyp und dauert bis zu acht Monate nach der Transplantation.

Ein Jahr später erforschte Tadesco et al. (2012) genetisch korrigierte iPS-mesoangioblastähnliche Zellen von Patienten mit Gliedergürtel-Muskeldystrophie Typ 2D (limb-girdle muscular dystrophy 2D, kurz: LGMD2D) als potenzielle Zelltherapiemöglichkeit. Nach intramuskulärer oder intraarterieller Injektion in die LGMD2D-Maus waren die iPS-derivierte Mesonangioblastzellen in der Lage in beschädigte Muskel einzutreten („homing“), sich zu engrafte und Muskelfaser zu formieren. Nach der Transplantation demonstrierten die behandelten Mäuse eine größere motorische Kapazität. Sie rannten von 48% auf 62% im Vergleich zur Leistungsbaseline und von 12% auf 22% mehr als die unbehandelten Mäuse 35 Tage nach der Transplantation. Auch die tetanische Kontraktion von M. tibialis anterior war signifikant höher als bei unbehandelten Mäusen.

Diese Studien weisen auf eine nützliche Therapiemöglichkeit bei den Muskeldystrophien hin.

Ein großes Hindernis in der Applikation zellbasierter Therapien für Behandlungen neuromuskulärer Erkrankungen war die Erhaltung geeigneter Stämme bzw. geeigneter Vorläuferzellnummer, um effektives Engraftment zu produzieren. Darabi et al. (2012) ist es zum ersten Mal gelungen, eine große Anzahl der frühen (Pax7) myogenen Skelettvorläuferzellen aus menschlichen ES und iPS-Zellen effizient zu generieren. Diese Zellen waren in der Lage, nach der Transplantation in dystrophe Mausmuskel, sich effizient zu engrafte und über 11 Monate nach der Transplantation dort zu bleiben. Sie haben auch menschliche dystrophinpositive Myofibrillen produziert, Muskelfunktion wiederhergestellt und Kraft verbessert. Nach der intramuskulären Transplantation der iPax7 hES und hiPS- myogene Vorläuferzellen in M. tibialis anterior wurde eine signifikante funktionelle Verbesserung demonstriert. Es wurden keine erheblichen Unterschiede in Engraftmentbedingungen zwischen ES und iPS- myogenen Vorläuferzellen, sowie keine Tumorbildungen auch nach Langzeit Kohorte festgestellt (46 Wochen).

Diese Studie liefert „proof of principle“ für die Derivation funktioneller, aus hES und iPS-Zellen gewonnener, myogener Skelettvorläuferzellen und hebt ihr Potenzial für zukünftige therapeutische Applikation bei Muskeldystrophie.

Peryzyten

Dellavalle et al. (2011) demonstrierten, dass vaskuläre Perizyten, die in postnataler Skelettmuskulatur residieren, nach intraarterieller Injektion in immundefizite mdx Mäuse, sich in Muskelfaser differenzieren können, sowie Satellitenzellen generieren können und

Pax7 exprimieren können. Sie können mit induzierbarer alkalischer Phosphatase (kurz: AP) CreERT2 (Cre-Rekombinase), aber nicht mit Endothelzellen, mit entwickelnden Myofibrillen fusionieren und Stammzellkompartiment während postnatale Entwicklung betreten. Dies nimmt während akuter Verletzung oder chronischer Regeneration vom dystrophischen Muskel signifikant zu.

Ergebnisse zeigen, dass AP+ Perizyten auf pathologische Konditionen reagieren und als mögliche Quelle für Zellbasierte Therapie beim Muskeldystrophie Patienten dienen können (vgl. Dellavalle et al., 2011).

Autologen mononukleären Knochenmarkzellen

Es wurde ein klinischer Versuch von Sharma et al. (2013) an 150 Patienten mit diagnostizierter Muskeldystrophie durchgeführt. Davon 125 Patienten mit Duchenne, 20 mit Gliedergürtel und 5 mit Becker Muskeldystrophie. Dabei wurde Effizienz von autologen mononukleären Knochenmarkzellen als Therapie geprüft. Diese Zellen wurden intrathekal und intramuskulär in motorischen Reizpunkten schwacher Muskeln appliziert.

Nach mittleren Nachbeobachtungszeit, 12 ± 1 Monaten nach der Stammzellapplikation, zeigten 86.67% der Fälle eine Verbesserung, 80 (53, 33%) von 150 Fälle zeigten Kraftverbesserung in Rumpf und unteren Extremitäten und 57 (45, 6%) eine Kraftverbesserung in oberen Extremitäten. Statistische Daten nach der Behandlung dokumentieren eine signifikante Steigerung der Kraft in oberen Extremitäten (15,6%), unteren Extremitäten (27,1%) und im Rumpf (27,1%).

Autoren konkludieren, dass autologe mononukleäre Knochenmarkzelltransplantation im Anschluss an umfangreiche Rehabilitationsprogramme (Physio-, Ergo- und Psychologische Therapie), eine sichere Behandlungsoption ist. Es wurden funktionelle Verbesserungen nachgewiesen und dadurch auch die Steigerung der Lebensqualität des Patienten mit Muskeldystrophie. Zudem wurden keine signifikante unerwünschte Ereignisse bemerkt. Hauptlimitierung dieser Studie ist, dass es hier um eine monozentrische Studie handelt, welche ohne eine Kontrollgruppe durchgeführt wurde. Für zukünftige Analysen und fundierte Effizienz empfehlen die Autoren mehrere große Multizentrischen klinische Studien (vgl. Sharma et al., 2013).

Menschliche CD133+

Neuere Untersuchungen von Meng et al. (2014) zeigen, dass hCD133+ heterogen und multipotent sind, sowie die Fähigkeit haben, Myotube und Satellitenzellenreserve *in vitro*

zu formieren. Sie unterstützen extensive muskuläre Regeneration und Satellitenzellenformation bei der anschließenden intramuskulären Transplantation in bestrahlte und kryogene- Beschädigung der M. tibialis anterior einer immundefiziter Maus. Spendersatellitenzellen exprimierten myogenen Regulationsfaktor (MyoD), was eine Aktivierung indiziert. Bei neuerlicher Verletzung behandelter Muskeln, zeigten sich signifikant mehr neue regenerierte Muskelfaser von der Spenderherkunft. Dies weist drauf hin, dass hCD133+ Zellen funktionelle Muskelstammzellen bilden können, welche sich als Antwort auf Verletzung aktivieren und den Prozess der Muskelregeneration unterstützen.

Meng und Kollegen (2014) belegen, dass diese Zellen für die klinische Applikation höchst geeignet sind.

Muskel- abgeleitete Stammzellen (MDSCs)

Ota et al. (2011) untersuchten den Effekt der Stammzellen aus dem Muskelgewebe (muscle derived stem cells, kurz: MDSCs), die am ersten, vierten und siebten Tag nach der Muskelquetschung im Mausmodell transplantiert wurden. MDSCs gewonnen aus Blutgefäßen haben multipotentes Differenzierungspotential und beinhalten myogene und endotheliale Linien. Sie wollten beweisen, dass intramuskuläre Transplantation von MDSCs muskuläre Heilung mittels Angiogenese (Blutgefäßneubildung) verbessert werden kann.

Transplantation am vierten Tag zeigte ein hohes VEGF (Vascular endothelial growth factor) Niveau, Angiogenese in der erste Woche, gesteigerte Muskelkraft in der zweite Woche und weniger Fibroseformation in der vierte Woche. Gruppe die eine Implantation am siebten Tag bekommen hatte, zeigte auch statistisch einen signifikanten Abfall des Narbengewebes im Vergleich zu der anderen Gruppe.

Diese Ergebnisse zeigen, dass Stammzellen ein mögliches Potential aufweisen, Heilungsprozesse bei Muskelverletzungen zu beschleunigen und Formation der Narbengewebe, welche zur chronischen Symptomatik der Verletzung führt, reduzieren können (vgl. Ota et al., 2011).

3.2 Herzmuskel

Herzerkrankungen können zu Absterben mehr als einer Milliarde Herzmuskelzellen und zu pathologischen Veränderungen des Herzens führen. Die Folgen sind Herzinsuffizienz oder plötzlicher Tod (vgl. Plowright et al., 2014).

Trotz immer besserer Behandlungsmöglichkeiten sind die Herz-Kreislauf-Erkrankungen weiterhin die führende Todesursache in den Industrieländern (vgl. Roger et al., 2012)

Die Herztransplantation stellt immer noch die einzige kurative Therapieoption für chronische Herzinsuffizienz im Endstadium dar. Sie spielt weiterhin eine sehr wichtige Rolle bei der Überlebensrate von annähernd 50% aller Patientinnen nach 10 Jahren. Bei täglicher Routine alternativer Therapien in der Behandlung von Patientinnen sollte dies stets eine Beachtung finden. Aufgrund der Organknappheit und limitierter Anzahl transplantierbarer Spendeorgane, besteht ein immer größer werdendes Interesse alternative Therapiestrategien zu erforschen (vgl. Garbade, Barten, Bittner & Mohr, 2013, S. 378).

3.2.1 Stand des Wissens

Die regenerative Medizin stellt eine aussichtsreiche Disziplin dar und hat das theoretische Potenzial, ein innovativer Therapieansatz und ein zentrales Ziel zukünftiger kardiovaskulärer Forschungsaktivitäten zu werden. Verfahren regenerativer Medizin versuchen Gewebedefekte durch Neubildung des Herzmuskels sowohl strukturell als auch funktionell auszugleichen. (vgl. Zimmermann, 2014, S. 202-203). Nach einem Herzinfarkt wird das geschädigte Gewebe durch Fibroblasten und extrazelluläre Matrix ersetzt. Durch die gebildete Narbe wird die herzeigene Leit- und Kontraktionsfähigkeit gehindert. Eines der wichtigsten Ziele in der regenerativen Medizin ist die Umprogrammierung des fibrotischen Reparaturprogramms, sowie der Aufbau neues kontrahierbaren Muskels statt dem Narbengewebe (Plowright et al., 2014).

In den letzten Jahren wurde viele, sowohl klinische als auch experimentelle Studien, im Bereich zellbasierter regenerativer Medizin, mit unterschiedlichen Stamm- und Vorläuferzellen, ausgeführt.

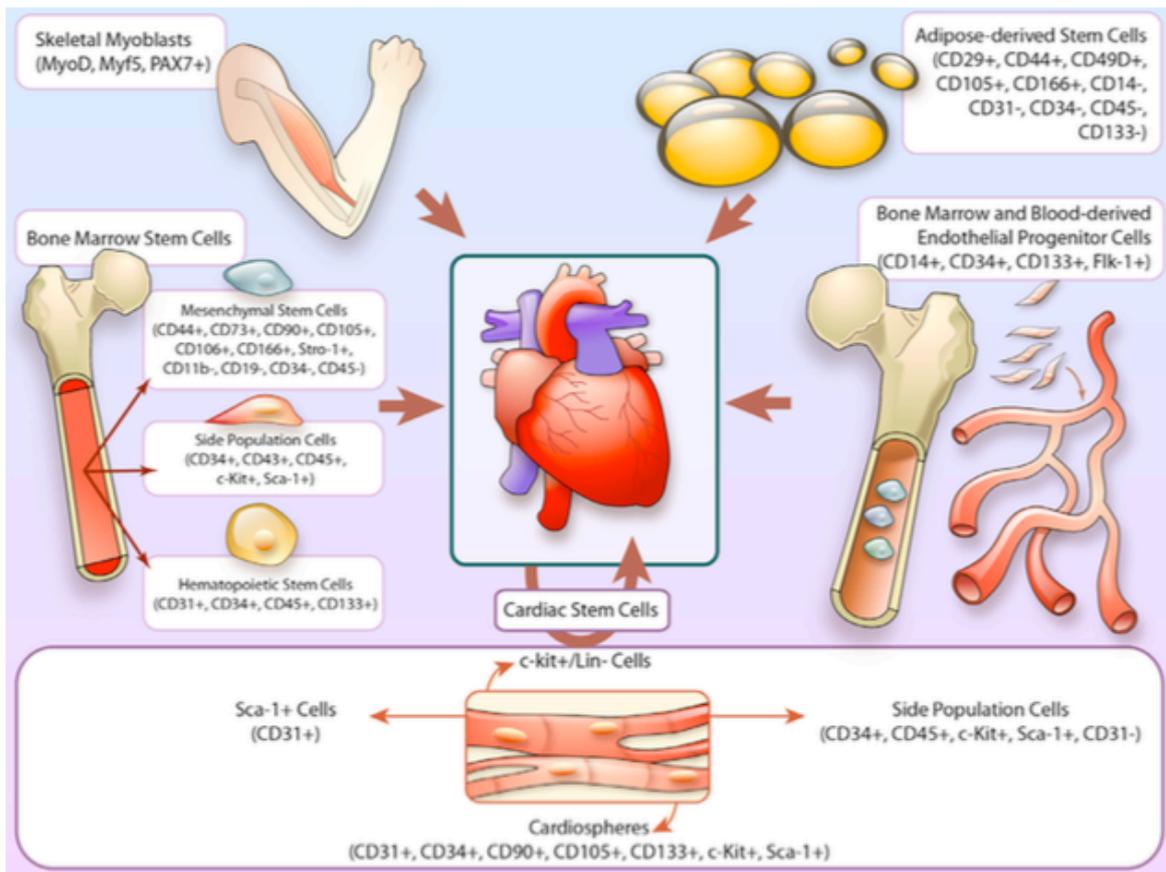


Abb. 9. Unterschiedliche Stammzellquellen für kardiale Reparatur: Skelettmyoblasten; Knochenmarkszellen (MSC mesenchymale, HSC hämatopoetische, Side-Population Zellen,); Fettgewebstammzellen; Endotheliale Vorläuferzellen; CSC Kardiale Stammzellen (vgl. Sanganalmath & Bolli, 2013)

Folgende Stammzellquellen wurden bisher in unterschiedlichen experimentellen und klinischen Studien aus dem Bereich der regenerativen Medizin für die Behandlung der kardiovaskulären Erkrankungen angewendet:

- Embryonale Stammzellen (vgl. Shiba et al., 2012; Chong et al., 2014)
- iPS-Zellen (vgl. Burridge, Keller, Gold & Wu, 2012; Oh, Wei, Ma, Sun & Liew, 2012)
- Muskelvorläuferzellen, (sog. Skeletale Myoblaste) (vgl. Povsic et al., 2011; Druckers et al., 2011)
- residente Kardiale Stammzellen (vgl. Bolli et al., 2011 und 2012), cardiosphere-derived cells (kurz: CDCs) (vgl. Makkar et al., 2012; Malliaras et al., 2014)
- Zellen aus Fettgewebe: adipose tissue-derived regenerative cells (kurz: ADRCs, vgl. Houtgraaf et al., 2012; Perin et al., 2014)
- Mesenchymale Stammzellen (vgl. Hare et al., 2012; Karantalis et al., 2014)

- Knochenmarkstammzellen (vgl. Strauer, Yousef & Schannwell, 2010; Mansour et al., 2010; Mansour et al., 2011; Zimmet et al., 2012; Jeevanantham, Butler, Saad, Abdel-Latif, Zuba- Surma und Dawn, 2012; de Jong, Houtgraaf, Samiei, Boersma und Duckers, 2014)

3.2.2 Anwendungen

Gegenwärtige Therapieansätze für kardiovaskuläre Erkrankungen verbessern Symptome, erhalten die verbleibende kardiale Pumpfunktion und erhöhen die Lebenserwartung der Patientinnen. Jedoch sind sie palliativ und lösen nicht das fundamentale Problem des irreversiblen Zelluntergangs der Kardiomyozyten. Stammzellbasierte Therapien haben das Potential kardiovaskuläre Therapien zu verändern. Weiters haben sie das Potential kurative Therapien zur Regeneration, sowie, den Ersatz der Herzmuskelzellen zu entwickeln (Sanganalmath & Bolli, 2013).

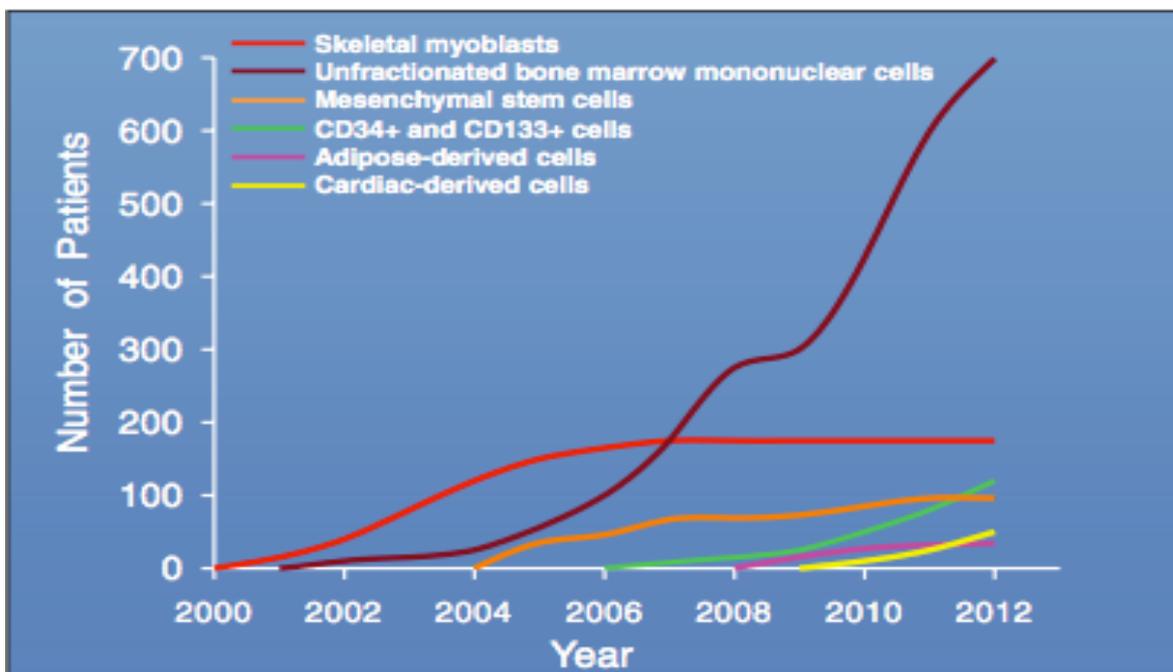


Abb. 10. Anwendung unterschiedlichen Stammzelltypen bei Patientinnen mit Kardiovaskulären Krankheiten. Illustration von Patientinnen Nummer mit 6 am häufigsten verwendeten Stammzelltypen von 2000 bis 2012 (vgl. Sanganalmath & Bolli, 2013)

Pluripotente Stammzellen

Aufgrund ihrer Pluripotenz sind Embryonale Stammzellen ein Gegenstand zahlreicher Forschungsarbeiten. Eine Studie von Kehat et al. (2001) belegte die Differenzierungsfähigkeit der humanen Embryonalen Stammzellen in funktionelle

Kardiomyozyten, sowohl *in vitro*, als auch *in vivo*. Drauffolgend wurden viele experimentellen Studien mit embryonalen Stammzellen durchgeführt.

Transplantationsstudien mit der Maus und der Ratte zeigten, dass Kardiomyozyten aus humanen embryonalen Stammzellen die Funktion des infarzierten Herzens verbessern, das Infarktgebiet verkleinern und die Vaskularisierung verbessern (Laflamme et al., 2007; van Laake et al., 2007). Shiba et al. (2012) belegten mit einem Meerschweinchenmodell, dass sich die Kardiomyozyten, gewonnen aus hESC, an das Empfängerherz elektromechanisch koppeln können und zur Remuskularisierung in der Infarktregion beitragen können. Chong et al. (2014) implizierte hESC-CMs⁵ in infarzierte Myokarde der nicht humanen Primaten. Alle Primaten, die hESC-CMs bekamen, entwickelten eine ventrikuläre Arrhythmie. Kontrolltiere dagegen blieben Arrhythmiefrei. Es wurde auch keine signifikante Reduktion der Infarktgröße dokumentiert. Zusätzlich weisen die Autoren auf lebenslange Einnahme der Immunsuppressiver zur Prävention der Abstoßungsreaktion hin.

Neuerer präklinischer Bericht der Autorengruppe Anderson et al. (2014) stellt das therapeutische Potenzial humaner embryonaler Stammzellen in Zweifel. Sie berichten, dass die embryonalen Stammzellen, aufgrund erheblicher Nebenwirkungen, für den klinischen Einsatz zur Herzregeneration noch nicht bereit sind. Allerdings konnte bei Tiermodellen bereits gezeigt werden, dass Transplantation embryonaler Stammzellen unsicher ist. Die Nebenwirkungen des embryonalen Stammzeleinsatzes in Applikationsverfahren sind mit möglichen tumorösen Entartungen, mit der Abstoßungsreaktion des Organismus und mit einer lebenslangen Immunsuppressionseinnahme verbunden. Sie können einen plötzlichen Herztod verursachen und es besteht die Unsicherheit darüber, ob die kardiale Funktion dadurch verbessert wird.

iPS- Zellen sind wie auch ESC pluripotent. Aber in Gegensatz zu ESC sind iPS- Zellen autolog bzw. können aus körpereigenen somatischen Zellen hergestellt werden. Somit stellen sie eine attraktive Zellquelle für kardiale Regeneration dar. Ieda et al. (2010) haben mittels drei kardialen Transkriptionsfaktoren (Gata4, Mef2 und Tbx5) die Fibroblasten direkt in differenzierte Kardiomyozyten reprogrammiert. Induzierte Kardiomyozyten zeigten Herzspezifische Marker. Sie hatten ähnlich wie Kardiomyozyten globale Genexpressionsprofile und sie kontrahierten spontan. Trotz geweckter Hoffnung ist iPS-Technologie in der klinische Anwendung nicht empfehlenswert. Die Gründe dafür sind, die unvorhersehbare Natur induzierter Zellen und die Reprogrammierungsmethode durch

⁵ human embryonic stem cell–derived cardiac myocytes

Integration viraler DNA (vgl. Pera, 2011). Bis dahin sollen Reprogramierungsmethoden noch verbessert werden. Die Anwendung der iPS- Zellen befindet sich derzeit in der biomedizinischen Grundlagerecherche bzw. in der Phase der Entwicklung personalisierter Medizin, der Krankheitsmodellierung in der Kulturschale, in der Arzneimittelentwicklung, sowie im pharmakologischen Toxizitätsscreening (vgl. Steckfuß- Bömeke & Cyganek, 2015).

Bevor ECS und iPS-Zellen in den klinischen Einsatz am Menschen integriert werden können, müssen noch viele Tests am Tiermodellen erfolgreich bewiesen werden und wenn möglich, nebenwirkungsfreie Verbesserungen der Herzfunktion dokumentieren werden.

Klinische Studien; Exogene Applikation von Stammzellen

In der klinischen Forschung, hinsichtlich kardialer regenerativer Therapien, wurden folgende Stammzelltypen in Menschen bereits appliziert:

Muskuläre Vorläuferzellen

Muskuläre Vorläuferzellen oder Skelett Myoblasten sind seit mehr als einem Jahrzehnt potentielle Quellen für die myokardiale Regeneration. Sie sind aufgrund ihrer einfachen Beschaffung aus Muskelbiopsie, aufgrund der schnellen Expansion *in vitro* und aufgrund ihrer Resistenz auf hypoxische und ischämische Bedingungen (vgl. Chachques et al., 2004, z.n. Sanganalmath & Bolli, 2013), die ersten Testzellen in präklinischen (Taylor et al., 2008, z.n. Sanganalmath & Bolli, 2013) und in klinischen Studien (Menasche et al., 2001).

Der erste erfolgreiche zelltherapeutische Ansatz mit applizierten Myoblasten in Menschen liegt in der Studie von Menasche et al. im Jahr 2001 für die Behandlung ischämischer Kardiomyopathie. Belegt wurden Durchführbarkeit und Sicherheit der Myoblastentransplantation. Die Nachuntersuchungsstudie von Menasche et al. im Jahr 2008 MAGIC Studie Phase II, war die erste multizentrische, randomisierte, placebokontrollierte, doppelblinde Studie, mit insgesamt 120 Patienten, zur Evaluation der Sicherheit und der Effektivität der autologen Myoblastentransplantation in der Post-Infarkt-Narbe. Nach 6 Monaten Beobachtung kam es zur keiner Verbesserung der globalen LVEF⁶. Nur die hochdosierte Gruppe hatte eine Reduzierung der LVESV⁷ und der

⁶ left ventricular ejection fraction

⁷ LV end-systolic volume

LVEDV⁸, sowie eine verbesserte LV Remodelierung. Ventrikuläre Arrhythmien traten in der früh postoperativen Phase häufiger auf.

Im Langzeitverlauf kam noch eine Singlecenterkohorte (vgl. Brickwedel, Gulbins & Reichenspurner, 2013) aus der MAGIC Studie. In die Studie wurden 7 Patienten involviert (2 in HDG⁹, 2 in LDG¹⁰ und 3 in Placebo Gruppe). Die LV Funktion zeigte keine Verbesserung und das LV- Volumen reduziert sich in der HDG. In der Follow-Up-Phase kamen keine weiteren arrhythmogenische Erscheinungen vor. Es kam heraus, dass CABG (Coronary artery bypass grafting) in Kombination mit autologen Myoblastentransplantation sicher sein könnte und langfristig vorteilhafte Therapeutische Effekte haben könnte. Eine kleine Kohorte limitierte den klinischen Impact.

Eine neuere doppelblinde, randomisierte, placebokontrollierte Studie zur Beurteilung der Sicherheit und der Machbarkeit der Applikation autologer Myoblasten in Myokard nach dem Herzinfarkt ist die MARVEL Studie von Povsic et al. (2011). Präliminäre Ergebnisse der 23 Patienten zeigten eine Verbesserung in 6- Minuten Walking Test nach 3 und 6 Monaten, aber auch ein Auftreten ventrikulärer Tachykardie (7 von 15 Patienten).

Ähnliche Ergebnisse brachte eine randomisierte, open-label Phase IIa Studie (SEISMIC) von Druckers et al. (2011). 40 Herzinsuffizienzpatienten mit Kardioverterdefibrillator bekamen Myoblasten-perkutan-intramyokardial transplantiert. Die Studie bestätigte die Durchführbarkeit und Sicherheit der Myoblastentransplantation, aber eine Verbesserung der LVEF nach 6 Monaten Nachuntersuchungszeit konnte nicht aufgezeigt werden. Die Myoblast-Gruppe erreichte nur eine Verbesserung des 6- Minuten Walking Tests. Skelettmyoblastentransplantation wurde weder mit ansteigender Inzidenz ventrikulärer Tachyarrhythmie noch mit absoluter Vorfällenanzahl in der Behandlungsgruppe assoziiert. Die myokardiale Myoblastentransplantation scheint eine sichere Behandlungsmethode zu sein.

Zellen aus Fettgewebe (Adipose tissue derived cells)

Fettgewebe beinhaltet einen Pool multipotenter Stammzellen, genannt ADMSCs¹¹. Sie sind in der Lage sich zu replizieren und als undifferenzierte Zellen reife Adipocyten zu entwickeln. Sie können sich aber auch in andere Zelltypen differenzieren (vgl. Sanganalmath & Bolli, 2013). Rangappa et al. (2003) demonstrierten, wie sich ADMSCs

⁸ LV end- diastolic volume

⁹ High Dosis Gruppe

¹⁰ Low Dosis Gruppe

¹¹ adipose tissue derived mesenchymal stem cells

chemisch in Kardomyozyten transformieren können.

Kürzlich veröffentlichte klinische Untersuchung von Perin et al. (2014) ist die erste randomisierte, placebokontrollierte, Doppelblindstudie zur Beurteilung der Sicherheit und der Machbarkeit von ADRCs in no-options Patienten mit ischämischer Kardiomyopathie. 21 ADRC-therapierte Patienten und 6 Kontrollpatienten waren in der Studie involviert. Metabolische Äquivalent (MET) und maximale Sauerstoffaufnahme (MVO₂) bei ADRC-behandelten Patienten blieben im Zeitverlauf erhalten, während sich bei der Kontrollgruppe ein signifikanter Abfall demonstrierte. ADRC-behandelte Gruppe zeigte eine signifikante Verbesserung in MVO₂ von Baseline zu 6 und zu 18 Monaten sowie eine ventrikuläre Funktion. Diese Studie belegte, dass ADRC-Therapie sicher und machbar ist, mit vorteilhaften Effekten an links ventrikulärer Kontraktilität, bei myokardialer Perfusion, bei der Narbengröße und bei körperlicher Belastbarkeit.

Kardiale Stammzellen

Bisher galt das Herz als ein Organ ohne ein beachtliches Regenerationspotenzial. Im letzten Jahrzehnt erschien eine neue Ansicht. Das Herz wird nicht mehr als ein postmitotisches, vollständig terminal ausdifferenziertes Organ angesehen, sondern als ein Organ, das sich auch selbst erneuern kann. Dabei helfen ihm residente Stammzellen, die sogenannten Kardomyozyten. Diese sind für Gewebemöostase und für intrinsische Herzreparaturprozesse nach der Verletzung verantwortlich (vgl. Anversa, Kajstura, Rota, und Leri, 2013). Der Prozess der Regeneration steht zurzeit in der Debatte und ist bislang nicht eindeutig geklärt.

Kürzlich veröffentlichte Arbeiten von Kajstura et al. (2010), Kajstura et al. (2012) und Mollova et al. (2013) berichten über endogene myokardiale Erneuerungsrate im menschlichen Herzen während postnataler Entwicklung. Mollova et al. (2013) belegen, dass Myokardwachstum bei Menschen auf zwei zellulären Mechanismen basiert: Kardomyozytenproliferation und Erweiterung. Im ersten Lebensjahr des Menschen befinden sich $0.016 \pm 0.003\%$ Kardomyozyten in Zellteilung und zwischen 2 und 10 Lebensjahr nehmen sie auf $0.01 \pm 0.002\%$ ab. Regenerative Fähigkeit des Herzens ist unmittelbar nach der Geburt ausgeprägt und nimmt im Laufe des Lebens ab.

Seit der Entdeckung residenter Herzstammzellen, fing eine Reihe grundlagewissenschaftlicher und klinischer Studien an, in denen das Potenzial kardialer Stammzellen zur Myokardregeneration untersucht wird.

Die erste randomisierte, Open-Label-Studie (SCIPIO) Phase I, mit 20 autolog CSC-behandelten Patienten und 13 Kontrollpatienten, präsentierte ermutigende Ergebnisse.

Demnach ist die Infusion von CSCs sicher, machbar und bringt Verbesserungen in der LVEF, in der NYHA¹²-Funktionelle-Klasse, in der Lebensqualität (MLHFQ¹³), eine Reduktion der Infarktgröße und Zuwachs der vitalen Myokardium bei Patienten mit ischämischen Kardiomyopathien (Bolli et al., 2011 und 2012).

Klinische Machbarkeit Studie Phase I (CADUCEUS) von Makkar et al. (2012) untersuchte die intrakoronare Infusion von CDCs (Cardiosphere- Derived Autologous Stem Cells) nach einem Myokardinfarkt. Demnach ist die CDC- Behandlung sicher und liefert frühe Beweise für therapeutische Regeneration. Nach einem Jahr Follow-up zeigte MR¹⁴ eine verringerte Narbengröße und Zunahme vitaler Maße bei behandelten Patienten in Vergleich zur Kontrollgruppe. CDC Therapie führte zur Verbesserung regionaler Funktion infarzierter Segmente (Malliaras et al., 2014).

Knochenmarkstammzellen

Knochenmarkstammzellen enthalten unterschiedliche Typen hämatopoetischer und nichthämatopoetischer Stammzellpopulation. Sie haben das Potenzial, sich in diverse Phänotypen zu differenzieren. Aufgrund relativ großer Konzentration der Stammzellen im Knochenmark und einfacher Beschaffung sind adulte Stammzellen aus dem Knochenmark die meist untersuchten Stammzelltypen für präklinische und klinische Herzinsuffizienzstudien (vgl. Sanganalmath & Bolli, 2013).

Die „STAR- heart- study“ ist eine der größten randomisierten Studien mit 191 Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz aufgrund chronisch ischämischer Kardiomyopathie (n 1/4 391 linksventrikulären Ejektionsfraktion ≤ 35 %) und mit 200 Patienten mit vergleichbaren LVEF in der Kontrollgruppe. 191 Patienten bekamen eine intrakoronare Knochenmarkzelltherapie (BMC¹⁵- Therapy).

Ergebnisse zeigten eine statistisch signifikante Verbesserung in der Hämodynamik (LVEF, Herzindex), bei der körperlichen Belastbarkeit, bei der Sauerstoffaufnahme und bei linksventrikulärer Kontraktilität, sowie auch eine reduzierte langfristige Sterblichkeitsrate bei Knochenmarkzelltherapiepatienten im Vergleich zu Kontroll-behandelten Patienten.

Interkoronare Knochenmarkzelltherapie hat ventrikuläre Arbeit, Lebensqualität und Überlebensrate bei Patienten mit Herzinsuffizienz insgesamt verbessert (vgl. Strauer,

¹² New York Heart Association

¹³ Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire

¹⁴ magnetic resonance imaging

¹⁵ Bone marrow cells

Yousef & Schannwell, 2010).

COMPARE- AMI Studie der Phase II (vgl. Mansour et al., 2010) zeigt mögliche erfolgreiche therapeutische Ansätze durch exogene Applikation von Stamm- und Vorläuferzellen aus dem Knochenmark (CD133+). Diese Studie wurde als randomisiert, doppelblind und placebokontrolliert durchgeführt und evaluiert Sicherheit und Effektivität intrakoronarer CD133+ angereicherter hämatopoetischer Knochenmarkszellen (10 Millionen autologe CD133+ Zellen), die bei Patienten mit akuten Myokardinfarkt und andauernder linksventrikulärer Dysfunktion appliziert wurden. Primärer Endpunkt der Studie zeigte Sicherheit und Wirksamkeit bei Veränderungen nach vier Monaten Beobachtungszeit in koronarer arteriosklerotischer Progression proximal und distal zur koronare Stent in verschlossener Arterie und Veränderungen in global LVEF verhältnismäßig zur Baseline. Gemessen wurde mit Magnetresonanztomographie.

Nach einem Jahr traten in der Follow-up Studie keine im Protokoll vorhersehende Komplikationen wie z.B. Todesfall, Myokardinfarkt, Schlaganfall oder anhaltende ventrikuläre Arrhythmie auf. Nach vier Monaten Beobachtungszeit wurde eine signifikante Zunahme linksventrikulärer Auswurfleistung (LVEF) in Vergleich zum Ausgangswert gezeigt. Diese blieb auch nach einem Jahr signifikant höher. Die Ergebnisse weisen auf Sicherheit und Realisierbarkeit diese Studie hin (vgl. Mansour et al., 2011).

Eine kürzlich veröffentlichte Metaanalyse von de Jong, Houtgraaf, Samiei, Boersma und Duckers (2014) evaluierte Effektivität mononukleärer Knochenmarkszellentherapie (BMMNC¹⁶) bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt und erforschte neuere Generierung der Stammzellen. Diese Metaanalyse stellt eine der größten Untersuchungen (30 RCTs¹⁷ mit 2037 Patienten) für Patienten mit akutem Myokardinfarkt, die mit einer Stammzelltherapie behandelt waren, dar. Ergebnisse zeigten, dass eine Knochenmarkstammzelltherapie sicher ist. Endpunkte waren: LVEF, LVES- und DV, Infarktgröße, MACCE¹⁸. Kombination aller Ergebnisse von 22 RCT ergibt eine Steigung der LVEF (+2,10 %, 95% CI, 0.68–3.52; $P=0.004$) in der BMMNC Gruppe in Vergleich zur Kontrollgruppe, hervorgerufen durch Erhaltung von LVESV (-4.05 mL; 95% CI, -6.91 to -1.18; $P=0.006$) und durch Reduktion der Infarktgröße (-2.69%; 95% CI, -4.83 to -0.56; $P=0.01$). Jedoch kommt es zu keiner vorteilhaften Funktionsverbesserung hinsichtlich der globalen LVEF wenn man das auf kardiale MRI einschränkt. Diese Verbesserung führt zu keine Reduktion der klinischen Ergebnissen. Neuere Generierung der Stammzellen mit einem besseren Profil für kardiale Reparatur sind cardiosphere- derived-cells (kurz:

¹⁶ Bone marrow-derived mononuclear cell

¹⁷ Randomized controlled trials

¹⁸ Major adverse cardiac and cerebrovascular events

CDCs) (vgl. Makkar et al., 2012). Ihre zukünftige Rolle soll, noch in der Studien Phase I und II definiert werden. Ein klinischer Nutzen, definiert als MACCE und Kardiale Funktion, wurde nicht gezeigt. Trotz über 1500 analysierten Patientinnen in dieser Metaanalyse, hat BMMNC Therapie die klinischen Ergebnisse beim akutem Myokardinfarkt PatientInnen nicht beeinflusst.

Diese Ergebnisse sind widersprüchlich zur Ergebnissen der Jeevanantham, Butler, Saad, Abdel-Latif, Zuba- Surma und Dawn (2012). Die Autoren untersuchten therapeutische Benefiz von adulten Knochenmarkzelltransplantation (BMC) bei der PatientInnen mit ischämischer Herzkrankheit. Diese Metaanalyse beinhaltet 50 Studien mit 2,625 Patienten. In Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten die BMC- behandelnden Patienten größere LVEF (3.96%, 95%, CI: 2.90, 5.02; $P < 0.00001$), kleinere Infarktgröße (-4.03%, CI: -5.47, -2.59; $P < 0.00001$), LVESV (-8.91 ml, CI: -11.57, -6.25; $P < 0.00001$), und LVEDV (-5.23 ml, CI: -7.60, -2.86; $P < 0.00001$). Die Autoren berichten über Reduktion der allgemeinen Sterblichkeit, kardiale Sterblichkeit, Rückfall der akuten Myokardinfarkte, Krankenhausaufenthalte wegen Herzinsuffizienz oder In-Stent Thrombosen nach BMMNC Transplantationen. Die Metaanalyse von de Joung et al. (2014) beinhaltet erstmals zwei Publikationen mit negativen Ergebnissen (SWISS-AMI und LateTIME Studien), welche wahrscheinlich die Erkenntnisse dieser Metaanalyse beeinflussen.

Eine weitere Metaanalyse 29 randomisierter Studien von Zimmet et al. (2012) zeigte bei der Gruppe von 1830 Patientinnen, die eine intrakoronare G-SCF (granulocyte colony stimulating facotr)-mobilisierte Konchenmarkzellen nach einem akutem Myokardinfarkt infundiert erhielten, eine signifikante Verbesserung der LVEF von 2,70% (95% CI 1.48-3.92; $P < 0.001$) im Kurzzeit- und 3,31 % (95% Ci 1.87-4.75; $P < 0.001$) im Langzeitverlauf in Vergleich zur Kontrollgruppe. Jedoch zeigte die G-CSF Behandlung keine signifikante therapeutische Benefiz ($P = 0.20$). Es gab keinen signifikanten Unterschied in zusammengefassten unerwünschten Ereignissen zwischen der Interventions- und der Kontrollgruppe. Revaskularisationrate war bei der Intrakoronare BMSC Gruppe niedriger (OR: 0.68, 95%CI 0.47-0.97; $P = 0.03$). Intrakoronare BMSC Therapie wurde als sicher und durchführbar erwiesen.

Mesenchymale Stammzellen

Mesencymale Stammzellen (MSCs), auch bekannt als Knochenmark Stroma Zellen, sind eine multipotente Teilgruppe nicht hämatopoetischer Stammzellen (vgl. Sanganalmath & Bolli, 2013).

POSEIDON Studie von Hare et al. (2012) vergleicht allogene vs. autologe MSC Transplantation und zeigt, dass sich die allogene MSC günstig, auch auf die funktionale Kapazität, auf die Lebensqualität und auf das ventrikuläre Remodeling der ICM¹⁹ Patienten auswirkt. Dazu dokumentierten die Autoren zum ersten Mal niedrige (3,7%) Alloimmunereaktion bei PatientInnen, die allogene MSCs bekommen haben. Es wurde klinische Verbesserung der NYHA- Klassifikation, des 6- Minuten Gehstest und des MLHFQ- Scores in der autologen Gruppe erreicht. Sowohl allogene, als auch autologe MSCs waren sicher und zeigten potentielle regenerative Bioaktivität bei PatientInnen mit ischämischer Kardiomyopathie, insbesondere durch Reduzierung der Infarktgröße und durch Verbesserung des ventrikulären Remodelings.

PROMETHEUS ist eine prospektive randomisierte Studie. Sie belegt Effekte einer intramyokardialer Injektion autologer MSC in nichtrevaskularisierter infarzierter Area im linken Ventrikel, bei Patienten mit links ventrikulärer Dysfunktion, während eine CABG OP. 6 Patienten wurden in 2 Gruppen randomisiert (2 erhielten eine kleinere und 4 eine höhere Dosis MSC). Gezeigt wurde eine erheblich signifikante Verbesserung bei der Narbenreduktion, eine Steigerung des vitalen Gewebes, eine Zunahme regionaler kontraktile Fähigkeit und eine globale LVEF, entstanden auf der Seite der MSC Injektion. Karantalis et al. (2014) schließen darauf dass, MSC einen Benefiz über die CABG bringen. Da die Placebogruppe nicht inkludiert war, sind die Ergebnisse eher nicht Beweiskräftig. Die Ergebnisse haben aber eine wichtige therapeutische und mechanische Hypothese- generierende Implikation (vgl. Karantalis et al., 2014).

¹⁹ ischemic cardiomyopathy

3.3 Leber

Da Lebererkrankungen, die zur Morbidität und zur Mortalität führen, kontinuierlich wachsen, steigt auch der Bedarf nach neuen Therapieansätzen. Lebertransplantation verursacht hohe Kosten für das Gesundheitssystem und ist mit lebenslangen Immunsuppressionen verbunden. Ein weiteres Problemfeld stellt die Spendeorganknappheit dar. Daher besteht ein dringender Bedarf autologe Stammzelltherapie als potentielle Behandlungsoption zu prüfen (vgl. Moore, Stutchfield & Forbes, 2014).

3.3.1 Stand des Wissens

In klinischen Untersuchungen wird bereits eine immer größere Anzahl an Stammzellppplikationsverfahren bei Lebererkrankungen unternommen. Forbes und Newsome (2012) identifizierten vier Schwerpunkten, wo die Stammzellen realistisch in zukünftigen Entwicklungen eingesetzt werden könnten: (1) Verbesserung der Regeneration und Reduzierung der Narbenbildung bei der Leberzirrhose, in dem lebereigene regenerative Prozesse moduliert werden; (2) Herunterregulierung immuner Leberschädigung; (3) Einsatz hepatozytenähnlicher Zellen in extrakorporale bioartifizielle Leber; (4) die Nutzung aus Stammzellen derivierter hepatozytenähnlicher Zellen für Zelltransplantation, Ersatz oder Ergänzung der Hepatozytenfunktion.

3.3.2 Anwendungen

Autologe Knochenmarkstammzellen

Lyra et al. (2010) haben eine erste, randomisierte, kontrollierte Pilotstudie zur Evaluierung des Effektes autologer Knochenmarkstammzellen bei Patienten mit Leberzirrhose durchgeführt. In diese Studie wurden 30 Patienten, die auf eine Lebertransplantation gewartet haben, eingeworben, randomisiert und ein Jahr lang beobachtet. Die Studie war keine Blindstudie. In die Leberarterie wurde eine autologe BMSC infundiert.

In den ersten 90 Tagen hat sich bei der Behandlungsgruppe das Albuminniveau verbessert. Bei der Kontrollgruppe dagegen, blieb das Albuminniveau stabil und das Bilirubinniveau fiel in den ersten 60 Tagen während der Therapie ab.

Autoren folgern, dass autologe Knochenmarkstammzelltherapie, infundiert in Leberarterie des Patienten im Spätstadium der Leberzirrhose, die Leberfunktion in den ersten 90

Tagen verbessert. Nach diese Periode kam die Leberfunktion wieder auf die Baseline zurück. Diese Studie zeigte auch keine Überlebenschancesteigerung, was ultimatives Ziel jeder Therapie ist. Allerdings wurde keine Leberfunktionsverschlechterung dokumentiert, sowie auch keine Bildung des hepatozellulären Karzinoms.

Autoren weisen auf die Notwendigkeit hin, zukünftig mehr umfangreiche randomisierte, kontrollierte, doppelblinde Studien durchzuführen, um die Rolle der Knochenmarkstammzelltherapie bei Patienten mit Lebererkrankung zu definieren und neue Protokolle zur Prolongierung der therapeutischen Effekte herzustellen (vgl. Lyra et al., 2010).

Ismail et al. (2010) haben ähnliche Ergebnisse publiziert. Sie legten die Vorteile der mononukleären Knochenmarkstammzelltherapie nach 3 monatiger Follow up dar. Die Leberzirrhosepatienten mit hepatozellulären Karzinom hatten bereits vor der Leberresektion eine Stammzelltherapie erhalten. 20 Patienten wurden in zwei Gruppen randomisiert. Verumgruppe erhielt 3 Wochen vor Behandlung autologe Knochenmarkstammzellen verabreicht. Nach 3 Wochen wurden alle Patienten einer Leberresektion unterzogen und 12 Wochen postoperativ beobachtet.

Gruppe die postoperativ Stammzelltherapie verabreicht erhielt, zeigte signifikante Verbesserung in allen Parametern der Leberfunktion (SGPT²⁰, SGOT²¹, Total Serum Bilirubin), sowie Verbesserung im Vergleich zu präoperativen Zustand. Es wurden auch keine postoperative Komplikationen dokumentiert. Hingegen hat die Kontrollgruppe signifikante Verschlechterung der Leberfunktionparameter gezeigt. Zugleich wurden postoperative Komplikationen und Tod dokumentiert.

Ismail et al. (2010) empfehlen autologe Stammzelltherapie, weil sie die Operationsergebnisse verbessern kann und als unterstützende Behandlung bedacht werden sollte. Diese Studie veranschaulicht die Durchführbarkeit und die Sicherheit bei der Verwendung der Stammzellen in Chirurgischer Praxis. Darüberhinaus wurde eine Verbesserung der Leberfunktion und eine Reduktion postoperativer Komplikationen dokumentiert.

Mesenchymalen Stammzellen des Knochenmarks

Aufgrund ihres mehrfachen Differenzierungspotentials und fast unlimitierter Verfügbarkeit, können mesenchymale Stammzellen als alternative Zellquelle für Hepatozytentransplantation eingesetzt werden. Sie haben die Fähigkeit, sich in

²⁰ serum glutamic-pyruvic transaminase

²¹ Serum glutamic oxaloacetic transaminase

hepatozytenähnliche Zelle *in vitro* zu differenzieren und spezifische Hepatozytenfunktion auch nach der Transplantation zu behalten. Sowohl bei entzündlichen, als auch bei degenerativen Lebererkrankungen sind sie gut einsetzbar und unterstützen die Leberregeneration durch ihre antiinflammatorische, immunmodulatorische, antiapoptotische und proproliferative Wirkung (vgl. Christ & Stock, 2012).

Peng et al. (2011) untersuchten die Kurzzeitwirksamkeit und die Langzeitprognose der Leberversagen bei Patienten mit Hepatitis B, nach einmaliger Transplantation der autologen mesenchymalen Stammzellen des Knochenmarks (MMSCs). Insgesamt wurden 527 Patienten in die Studie eingeworben, darunter bekamen 53 Patienten zusätzlich zur Standardtherapie die MMSCs transfundiert. Parameter wie Alaninaminotransferase (ALT), Albumin, Total Bilirubin (TBIL), Prothrombin, die Zeit (PT) und der Schweregrad einer Lebererkrankung (der Model for End-stage Liver Disease kurz: MELD-Score) wurden beobachtet. 2-3 Wochen nach der Transplantation wurden die gemessenen Parameter deutlich verbessert, im Vergleich zur Kontrollgruppe. Nun hielt sich diese Verbesserung nach 36 Wochen Beobachtungszeit nicht aufrecht. Zudem brachten, während der 192 Wochen Follow Up, die Ergebnisse keine bemerkenswerten Unterschiede in hepatozellulären Karzinom, in der Inzidenz oder in der Überlebensrate zwischen den zwei Gruppen.

Diese Ergebnisse implizieren, dass autologe MMSCs-Transplantation bei Patienten mit Leberversagen durch Hepatitis B keine Langzeitprognose steigern kann. Autoren folgern, dass autologe MMSCs Therapie sicher ist und die Kurzzeit-Wirksamkeit-Ergebnisse (von postoperative Woche 4 bis 36 Woche) günstig sind. Langzeitauswirkungen zeigten keine erhebliche Verbesserung.

Mesenchymalen Stammzellen aus Nabelschnurblut

Zhang et al (2012) haben 30 chronische Hepatitis B Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose mit mesenchymalen Stammzellen aus Nabelschnurblut (umbilical cord-derived mesenchymal stem cell, kurz: UC-MS) behandelt. Die Kontrollgruppe (15 Patienten) erhielt eine Kochsalzinfusion. Nach einem Jahr Follow Up wurden keine Nebenwirkungen und keine Komplikationen bei beiden Gruppen beobachtet.

Dieser neuartige therapeutische Ansatz ist klinisch sicher und durchführbar. UC-MS Therapie hat die Leberfunktion signifikant verbessert, und es wurde eine signifikante Reduktion in Aszites²²-Volumen bei UC-MS behandelte Gruppe ersichtlich.

²² Bauchwasser

Eine weitere klinische Studie mit mesenchymalen Stammzellen aus Nabelschnurblut, wurde mit insgesamt 43 Patienten mit Dekompensation einer chronischen Lebererkrankung bzw. akut auf chronisches Leberversagen (engl. acute-on-chronic liver failure, kurz: ACLF) durch die Autorengruppe Shi et al. (2012) in einer open Label kontrollierter Studie durchgeführt. 24 Patienten der Verumgruppe erhielten US-MSCs und 19 aus der Kontrollgruppe erhielten eine Kochsalzlösung verabreicht. US-MSC Therapie wurde 3 Mal im 4-wöchigen Intervall gegeben. Die Leberfunktion, unerwünschte Wirkungen und die Überlebensrate wurden während der 48 oder während der 72-Wochen der Follow Up evaluiert. Es traten keine signifikanten Nebenwirkungen auf, was potentielle therapeutische Effekte indiziert. UC-MSC-Transfusion hat signifikant die Überlebensrate der ACLF Patienten erhöht, die MELD-Punkte reduziert, Leberfunktionsparameter ALB, CHE und das PTA Niveau verbessert. Außerdem wurden keine hepatozelluläre Karzinome gefunden. Zugrundeliegende Mechanismen sind nicht ganz klar. Nach Meinung der Autoren, besteht die Möglichkeit der Differenzierung der US-MSC *in vivo* in hepatozyten.

Zusammenfassend, belegt diese die Studie Sicherheit und Durchführbarkeit der US-MSC-Transfusion als gut tolerierte und effektive Therapiemöglichkeit für ACLF Patienten. Vergleichend sind die US-MSC bessere therapeutische Auswahl für Leberkrankheiten als die BM-MSC (vgl. Shi et al., 2012).

Hämatopoetische Stammzellen des Knochenmarks (CD34+/CD133+)

Salama et al. (2010) evaluierten Effekte von CD34+ und CD133+ hämatopoetischer Stammzellen bei der Behandlung des Endstadiums der Lebererkrankung. 140 Patienten, 90 in der Verumgruppe und 50 in der Kontrollgruppe, wurden in die Studie eingeworben. Ergebnisse zeigen eine Normalisierung der Leberenzyme und eine Verbesserung der hepatisch synthetischen Funktion. Bei der Verumgruppe wurden keine Nebeneffekte und keine Steigerung der Aszites dokumentiert. Auch die diuretische Therapie war drastisch reduziert. CD34+ und CD133+ hämatopoetische Stammzellen wurden als zusätzliche Behandlungsmethoden im Endstadium der Lebererkrankung empfohlen.

Bislang zeigten die Daten aus klinischen Studien Sicherheit, Durchführbarkeit und unterstützende Rolle bei Lebererkrankungen auf.

Daraufbasierend wurde vor kurzem eine Studie von Zekri et al. (2015) veröffentlicht. Diese Studie stellt klinische und biochemische Effekte der wiederholten Knochenmarkstammzelleninfusion vor. Verumgruppe bekam eine Knochenmarkstammzelltherapie (CD34+ / CD133+ Zellen und Mesenchymale

Stammzellen). 50% der aus Knochenmark isolierten CD34+ / CD133+ Zellen wurden am 6. Tag nach dem Beginn, lokal in Pfortader infusiert. Am Tag 14 wurden anderen 50% der Zellen in mesenchymale Stammzellen differenziert und in die periphere Vene infusiert. Der Granulozyten- und Koloniestimulierende Faktor (G-CSF) wurde am ersten Tag in alle Patienten appliziert.

90 Patienten insgesamt wurden in drei Gruppen randomisiert.

1. Gruppe (G-I) bekam eine einmalige Behandlung.
2. Gruppe (G-II) bekam 2 Behandlungen, die erste am Anfang der Studie und die zweite 4 Monate nach danach.
3. Gruppe bekam G-CSF zur Beginn und Standardtherapie.

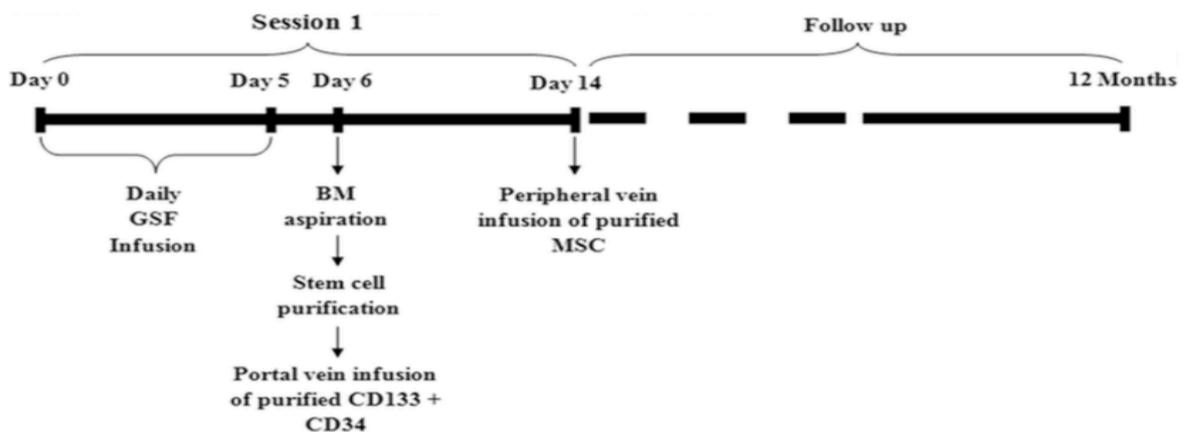


Fig. 1 Stem cell treatment schedule of patients who received one session. *BM* bone marrow, *G-CSF*, *MSC* mesenchymal stem cell

Abb. 11. Zeitplan der Stammzellbehandlung für Patienten der Gruppe 1 (G-I) (vgl. Zekeri et al., 2015)

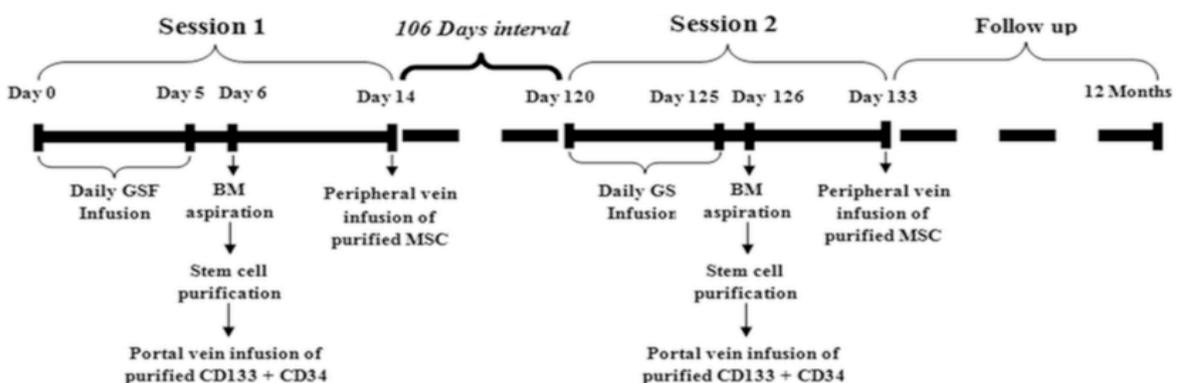


Fig. 2 Stem cell treatment schedule of patients who received two sessions. *BM* bone marrow, *G-CSF*, *MSC* mesenchymal stem cell

Abb. 12. Zeitplan der Stammzellbehandlung für Patienten der Gruppe 2 (G-II) (vgl. Zekeri et al., 2015)

Ergebnisse zeigen signifikante Verbesserung beider Verumgruppen. Erste Gruppe hat Nach 2 Wochen hatte die erste Gruppe eine Leberfunktionsparameterverbesserung und eine kontinuierliche Verbesserung blieb bis zum 6. Monat erhalten.

Bei der zweiten Gruppe wurde während der gesamten Follow Up Zeit (12 Monate) kontinuierliche Verbesserung dokumentiert. Diese Gruppe zeigte auch eine Reduktion in Aszitesvolumen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Sicherheit dieser Behandlungsmethode wurde durch niedrige Inzidenz der Komplikationen belegt.

Nützliche Wirkung der Leberfunktion hatten v.a. Patienten der Gruppe zwei. Wiederholte Infusion, aus Kombination der Infusion in Pfortader und periphere Vene, hat sich durch minimale unerwünschte Wirkungen und durch nachhaltige Verbesserung der klinischen Effizienz erwiesen.

Zwischen einmaliger Infusion- und wiederholter Infusionsgruppen wurden signifikante Unterschiede bzgl. Serum Albumin, Bilirubin und Child- Pugh Kriterien, International Normalized Ratio (INR) Level und Model für End-Stadium der Lebererkrankung (MELD), während Follow Up Zeit, gefunden. Maximale Verbesserung der Leberparameter Albumin, Bilirubin und Child-Pugh-Kriterien wurden bei der ersten Gruppe nach 6 Monaten Beobachtungszeit erreicht, und eine Verbesserung in INR und MELD nach 3 Monaten. Ab dann folgt der Abfall der guten Werte. Zweite Gruppe zeigte bis zur Ende der Beobachtungszeit stätige Verbesserung in Serum Albumin, Bilirubin, Child Pungh, INR und MELD und nach einem Jahr erreichten die Werte ihre Maximum.

Wiederholte hämatopoetische Stammzellinfusion bringt mehr nachhaltige klinische Effizienz und verbessert die Leberfunktion und die Lebensqualität während der 12 Monate Follow Up im Vergleich zu einmaligen Stammzellinfusion.

Dementsprechend wird wieder bestätigt, dass die Stammzelltherapie vielversprechende therapeutische Vorgehensweise bei Patienten mit Lebererkrankung in Endstadium darstellt. Diese Behandlung könnte zusätzlich, den Bedarf nach Organtrasplantationen reduzieren (vgl. Zekri et al., 2015).

Zur Zeit läuft die klinische Studie REALISTIC von King et al. (2015). Es wird die Effektivität und die Sicherheit, der autologen aus Knochenmark derivierten, hämatopoetischen Stammzellen (BM HSC) CD133+, die in Patienten mit Leberzirrhose appliziert wurden, evaluiert. Es geht um eine multizentrische, open-Label, randomisierte und kontrollierte Studie über zwei verschiedene Therapien. Die Kontrollgruppe bekommt eine Standardtherapie, nach lokalen, nationalen und internationalen Richtlinien. Die zweite Gruppe bekommt eine Verabreichung von G-CSF allein. Dritte gruppe bekommt G-CSF verabreicht und drei Mal isolierte CD133+ BM HSC appliziert (einmal anschließend zur Isolation und dann nach 30 und 60 Tagen). Ziel der Studie ist die Demonstration der

Verbesserung von Leberfunktion und die Reduktion der Leberfibrose bei Patienten, die Stammzelltherapie bekommen haben, im Vergleich zu der Kontrollgruppe.

In der systematischen Übersichtsarbeit und Metaanalyse von Pankaj et al. (2015) wird die Effizienz von autologen mononukleären Knochenmarkstammzellentransplantation bei der dekompensierten Lebererkrankung evaluiert. Sie erfassten Beweise, die Knochenmarkstammzelltransplantation als potenziellen therapeutischen Ansatz für Patienten mit dekompensierten Lebererkrankungen berücksichtigten.

Für quantitative Analyse wurden insgesamt acht Studien, vier randomisierte, kontrollierte Studien und vier retrospektive Studien, inkludiert.

Indikatoren für die Leberfunktion wurden Parameter wie z.B. Serum Albumin, total Bilirubin, Alanin- und der Aspartat Aminotransferase miteinbezogen. Das Endstadiummodell der Lebererkrankung und Child-Pugh-Socre wurden zur Evaluation von Effekten der Zelltransplantation verwendet.

Patienten die Zelltransplantation verabreicht erhielten, haben verbesserte Werte im Albumin Serum Niveau (1.96 g/L; 95%CI: 0.74-3.17; P = 0.002], 2.55 g/L (95%CI: 0.32-4.79; P = 0.03), und 3.65 g/L (95%CI: 0.76-6.54; P = 0.01) nach jeweils 1, 3 und 6 Monaten sowie total Bilirubinniveau (mean difference (MD): -1.37 mg/dL; 95%CI: -2.68-(-0.06); P = 0.04) nach 6 Monate gehabt, wobei diese Werte nach einem Jahr sanken im Vergleich zur Standard Therapie (MD: -1.26; 95%CI: -2.48-(-0.03); P = 0.04]. Vorübergehende Senkung in Alanin- und in der Aspartat- Aminotransferase war signifikant in der Zelltransplantationsgruppe. Dennoch, 6 Monate nach der Behandlung, hatte die Zelltransplantationsgruppe signifikant längere Prothrombinzeit (MD: 5.66 s, 95%CI: 0.04-11.28; P = 0.05). Änderungen im Endstadiummodell der Lebererkrankung und Child-Pugh-Socre waren statistisch nicht signifikant.

Autoren folgern, dass kurzzeitige Auswirkungen der autologen Knochenmarkstammzelltransplantation bei PatientInnen mit dekompensierter Lebererkrankung zufriedenstellend sind. Jedoch, müssen noch viele Bedenken in der zukünftigen Grundlagerecherche und bei umfangreicheren klinischen Studien gelöst werden, wie beispielsweise: der Zelltyp, der Applikationsweg (Hepatische Arterie oder Portalvene); die Vorbehandlung der Zellen, eine Einmalige oder wiederholte Zelltransplantation; Begleit- und Unterstützungstherapie. Solche Klärungen sind wichtig, um autologe Knochenmarkstammzelltherapie zu authentifizieren (vgl. Pankaj et al., 2015).

Autoren stellen die Zelltransplantation als innovative Intervention für das Endstadium der Lebererkrankung. Jedoch ist in klinischer Praxis Vorsicht geboten.

3.4 Gefäße

Der kritische Extremitäten Ischämie (critical limb ischemia, kurz: CLI) ist der am weitesten fortgeschrittenen Stadium der periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) mit schwerer Obstruktion der Arterien, welcher die Durchblutung der Extremitäten beeinträchtigt. Progression führt zum starken Ruheschmerz und /oder sogar zu Gewebeverlust (vgl. Compagana et al., 2015).

Diese Krankheit ist mit hoher Morbiditäts- und Mortalitätsrate assoziiert und stellt signifikante soziale und ökonomische Belastung dar. Dennoch resultiert diese bestehende Komorbidität vorwiegend aus distaler Gefäßerkrankung, die anschließenden mit Amputation endet. Deshalb besteht ein bedeutender medizinischer Behandlungsbedarf. Dazu gilt es neue Therapieansätze, inkl. Zelltherapie zur vermehrten Gefäßneubildung zu entwickeln (vgl. Liew, Bhattacharya, Shaw & Stansby, 2015).

3.4.1 Stand des Wissens

Neue therapeutische Strategien sind an der Wiederherstellung des Gewebeschwunds und der Regeneration des Gefäßsystems fokussiert. Diese basieren auf Stimulation der Angiogenese durch extrazelluläre und zelluläre Komponente (vgl. Compagna et al., 2015).

Applikation der Stammzellen bei Patienten mit klinischer Ischämie der Extremitäten ist vorteilhaft, da sie die Amputationsrate senkt und die Lebensqualität verbessert. Außerdem soll sie vaskuläre Zellularität erneuern. Neu gebildete Gefäße sollen Durchblutung verbessern und adäquate Sauerstoffzufuhr in kritischen ischämischen Arealen gewährleisten können (vgl. Compagna et al., 2015).

Bei PatientInnen mit obstruktiver arterieller Erkrankung, kommen zwei unterschiedliche Formen von kompensatorische Gefäßentwicklung vor: angiogenese und arteriogenese. Angiogenese ist eine Formation des kapillaren Netzwerks, durch Aktivierung und Proliferation der Endothelzellen im ischämischen Gefäß. Daher wird sie auch kapillare Erweiterung genannt. Arteriogenese, auch Kollateralenbildung genannt, stellt die Transformation der prä-existierenden kollateralen Arteriolen in funktionelle kollaterale Arterien dar (vgl. Lawall, Bramlage & Amann, 2011).

3.4.2 Anwendungen

Perin und Kollegen (2011) haben die Sicherheit und die Effizienz zweier Stammzelltherapien bei Patienten mit CLI, die nicht für eine perkutane oder chirurgische Revaskularisierung geeignet waren, verglichen. Eine Stammzelltherapie bestand aus intramuskulärer Injektion der *aldehyde dehydrogenase bright* (ALDH(br))- Zellen, die aus autologen mononukleären Knochenmarkszellen (ABMMNCs) isoliert waren. Andere Stammzelltherapie bestand aus unselektierter, ganzen autologer mononukleärer Knochenmarkszelltherapie (ABMMNCs). Eine ALDH(br)-Zellpopulation, die aus unterschiedlichen Gewebe isoliert werden kann, ist reich an Stamm- und Vorläuferzellen. Eine präklinische Studie von Capoccia et al. (2009) zeigte, dass ALDH(br)-Zellen, deriviert aus menschlichen Knochenmark, bei immundefizienter Maus die Angiogenese verbessern und den Blutfluss wiederherstellen kann.

Bei der Studie von Perin et al. (2011) handelt es sich um ein randomisiert kontrollierte, Doppelblindstudie Phase I. 11 Patienten erhielten eine ALDH(br)-Zelltherapie und 10 Patienten eine ABMMNCs.

Die Therapie war sicher. Es traten keine, mit Zelltherapie assoziierte, Nebenwirkungen oder unerwünschte Ereignisse auf. Patienten die mit ALDH(br)-Zellen behandelt waren, zeigten eine signifikante Verbesserung in der ABI und Rutherford-Klassifikation. Dagegen war bei der ABMMNCs Gruppe die Rutherford-Klassifikation nicht signifikant besser und die ABI Verbesserung wurde erst in der zwölften Woche nach der Behandlung erreicht. Die Bewertung der Lebensqualität stieg bei beiden Gruppen und der Ruheschmerz verbesserte sich nur bei der ABMMNC behandelte Gruppe.

Das ist die erste Studie an Menschen, welche die Effekte direkter intramuskulärer Injektion aus Knochenmark derivierter ALSH(br)-Zellen beschreibt. Zusammenfassend lässt sich schließen, dass diese Behandlungsmethode sicher ist und die Werte der ABI und Rutherford-Klassifikation bei Patienten mit CLI verbessert. Allerdings ist die Studie durch eine kleine Patientenzahl und durch eine keine Placebogruppe limitiert. Umfassende, randomisierte Placebokontrollierte Studien sind notwendig, um zu Zeigen, ob ALDH(br)-Zellen klinische Auswirkungen an die Extremitätenperfusion, die Wundheilung und an die amputationsfreie Überlebenszeiten, haben.

Walter et al. (2011) untersuchten in Ihrer PROVASA-Studie, die intraarterielle Applikation mononukleärer Zellen aus Knochenmark (BMMNC) bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit, mit dem Ziel, Neovaskularisierung zu induzieren,

Extremitätenperfusion zu verbessern, Knöchel- Arm- Index (ankle brachial index, kurz: ABI) zu steigern, ischämischen Ruheschmerz zu reduzieren und Gewebenekrose zu heilen.

40 Patienten mit CLI waren in die multizentrische, randomisierte, Doppelblindstudie Phase II eingeworben. 20 Patienten kamen in die Verumgruppe und 20 in die Kontrollgruppe, mit der anschließenden aktiven Behandlung mit BMMNC nach 3 Monate. Nach 3 Monaten erhielten, aus ethischen Gründen, beide Gruppen Knochenmarkstammzelltherapie, wobei die Verumgruppe zu repetitiver Behandlung wechselte.

Ergebnisse zeigen, dass die BMMNC-Applikation den primären Endpunkt, Knöchel- Arm- Index, nicht verändert und keinen Unterschied zwischen zwei Gruppen gezeigt hat. Nach 3 Monaten waren die sekundären Endpunkte, die Ulkus-Heilung und die Ruheschmerzempfindung, im Vergleich zur Kontrollgruppe, signifikant besser. Der Extremitätenerhalt und die amputationsfreie Überlebenszeiten waren zwischen den zwei Gruppen nicht unterschiedlich.

Autoren folgern, dass intraarterielle BMMNC-Applikation sicher und durchführbar ist. Bei PatientInnen ohne extensive Gangrän oder bevorstehende Amputation wird die Wundheilung beschleunigt. Ergebnisse aus dieser Pilotstudie sollen noch in umfangreichen randomisiert-kontrollierten Studien bestätigt werden.

Powell et al. (2011) führten eine prospektive, multizentrisch randomisierte, placebo - kontrollierte Doppelblindstudie (RESTORE- CLI) durch, um die Sicherheit und die klinische Effizienz intramuskulärer Injektion autologer Gewebereparaturzellen (tissue repair cells, kurz: TRCs) bei PatientInnen mit CLI, ohne chirurgische oder interventionelle Revaskularisierungsmöglichkeit, zu beurteilen.

33 Patienten haben 12 Monate und 46 Patienten haben zumindest 6 Monate Follow Up abgeschlossen. Zwischenanalyse beinhaltet beide Patientenpopulationen. Der primäre Endpunkt war die Sicherheit, die anhand unerwünschter Ereignisse oder schwerwiegender Zwischenfälle evaluiert wurde. Die Sicherheit wurde in verschiedenen Zeitpunkten des Follow Ups erfasst. Effizienz-Endpunkte sind amputationsfreie Überlebenszeiten und die Zeit vor Auftritt des Behandlungsmisserfolg (Therapieversagen wurden definiert als: Amputation, Tod, de novo Gangrän, Vergrößerung der Wundgröße).

Ergebnisse zeigen, dass es keine Unterschiede bei unerwünschten Ereignissen oder schwerwiegenden Zwischenfällen zwischen den zwei Gruppen gibt. Statistische Analysen zeigen signifikante Steigerung der Zeit vor dem Auftritt des Behandlungsmisserfolgs und

amputationsfreie Überlebenszeiten bei Patienten, die eine TRC Behandlung verabreicht bekommen haben. Patienten der Verumgruppe unterlagen in 19% der Fälle eine Amputation und die Patienten der Kontrollgruppe in 43% der Fälle. Wundheilung war in der Verumgruppe besser als bei der Kontrollgruppe.

Powell und Kollegen (2011) belegen, dass Intramuskuläre Injektion autologer, aus Knochenmark derivierter, Gewebereparaturzellen sicher ist. Die Applikation der Gewebereparaturzellen senkt, bei CLI PatientInnen ohne einer Option zur Revaskularisierung, das Vorkommen klinischer Ereignisse welche mit einer Krankheit Progression assoziiert sind.

Klinische Studie von Losordo et al. (2012) evaluiert die Sicherheit und die Effizienz intramuskulärer Injektion autologer CD34+ Zellen bei Patienten mit moderater bis schwerer CLI, ohne chirurgische oder perkutane Revaskularisierungsmöglichkeit.

28 CLI Patienten wurden randomisiert und getestet: 7 zur 1x10 (niedrig Dosierte Gruppe) und 9 zur 1x10 (höher Dosierte Gruppe) autologen CD34+ Zellen pro kgKG und 12 Patienten in der Placebogruppe. Intramuskuläre Injektion wurde in 8 Seiten der ischämisch betroffenen unteren Extremität appliziert.

6 Monate nach der Injektion unterlagen 67% der Kontrollpatienten einer Amputation im Vergleich zur 43% der Patienten aus niedrigdosierte Gruppe und 22% der hochdosierten Gruppe. Dies wurde in 12 Monate noch mal bestätigt, mit 75% der Kontrollpatienten, 43% und 22 % sind weiter geblieben. Im Vergleich zur Kontrollgruppe war die Amputationinzidenz in der Kombinierten Zelltherapie niedriger. Niedrig- und hochdosierte Gruppen zeigten individuellen Trend zur Verbesserung amputationsfreier Überlebenszeit im 6 und im 12 Monat. Mit der Applikation wurden keine unerwünschten Wirkungen assoziiert.

Diese Studie beweist, dass intramuskuläre Applikation der autologen CD34+ Zellen für CLI Patienten sicher ist. In der Reduktion der Amputationsrate in der zellbasierten Behandlung im Vergleich zur Kontrollgruppe, wurde ein positiver Trend beobachtet.

Kürzlich veröffentlichte Studie von Fujita et al. (2014) bietet, als erneuerte Bestätigung, zusätzlich wichtige Informationen, für bisherige Ergebnisse durch Demonstration der Sicherheit, durch Machbarkeit und durch potentielle Effizienz der G-CSF mobilisierte CD34+ Zelltherapie in „no option“ Patienten mit CLI.

Vorliegende Studie, zeigt signifikante Verbesserung der beiden Ruheschmerzparameterskalen und eine signifikante Verbesserung der Großteil-Funktionsparameter von der 2. bis zur 12. Woche.

Für die CD34+ Zelltherapie empfehlen die Autoren, dass Rutherford Kategorie und CLI *free ratio*, als geeignete Kandidaten, für primäre Endpunkte miteinbezogen werden und diese zwischen der Woche 36 und 52 evaluiert werden. Ruheschmerzskala und funktionelle Parameter sollen 2-4 Woche nach der CD34+ Zelltherapie erfasst werden.

Aufgrund dieser Ergebnisse bereitet die Autorengruppe Fujita et al. (2014) eine umfassendere, randomisiert- kontrollierte Studie Phase III vor, um die CD34+ im Vergleich zur Standardtherapie zu evaluieren.

SCRIPT-CLI Studie vom Ravel et al. (2014) ist eine Doppelblind randomisierte Pilotstudie, welche die Durchführbarkeit und die Sicherheit bilateraler intramuskulärer Applikation, durch Zytokine mobilisierte CD133+ Zellen, bei CLI PatientInnen geprüft hat. Sieben PatientInnen wurden in die Verumgruppe randomisiert und drei in die Placebogruppe. Es wurde kein Unterschied zwischen den beiden Gruppe bei schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen dokumentiert. Es wurde kein signifikanter Trend, zur Verbesserung amputationsfreier Überlebenszeit, des 6- Minuten- Gehtests und zur Verbesserung der Lebensqualität der Behandlungsgruppe belegt.

Aufgrund eines hohen Ausfalls bei der Mobilisierung einer ausreichenden Anzahl der CD133+ Zellen, wurde keine Durchführbarkeit ersichtlich. Vorbestimmte Minimaldosis mobilisierten Stammzellen wurde nicht erreicht.

In eine aktuellen Metaanalyse von Liew et al. (2015) wurden vorhandene randomisiert-kontrollierte Studien über die CLI-PatientInnen, die eine Zelltherapie (Verumgruppe) oder keine Zelltherapie (Kontrollgruppe) bekommen haben, untersucht. Eingeschlossen wurden 16 Randomisiert-kontrollierte Studien, mit 774 PatientInnen. In der Analyse wurden vier Zelltypen inkludiert und zwar: (1) aus peripherem Blut derivierte mononukleäre Zellen (PB-MNC); (2) aus derivierte mononukleäre Zellen (BM-MNCs); (3) aus Knochenmark derivierte mesenchymale Stroma-Zelle (BM-MSCs); (4) Konzentrate aus Knochenmark.

Im Vergleich zur Kontrollgruppen, die keine Zelltherapie erhalten haben, haben die Gruppen, die mit unterschiedlichen Stammzelltherapien behandelt waren, ein signifikant reduziertes Risiko der Major- Amputation (*odds ratio* (OR): 0.54; 95% CI: 0.34-0.87; $P <$

.01), sowie signifikante Verbesserung der Ulkus- Heilung (OR: 2.90; 95% *confidence interval* (CI): 1.44-5.82; $P < .01$) und des Knöchel- Arm- Index (ABI, OR: 5.91; 95% CI: 1.85-18.86; $P < .01$).

Aus peripherem Blut derivierte mononukleäre Zellen (PB-MNC) und Konzentrate aus Knochenmark, senken signifikant das Risiko der Majoramputation (PB-MNCs; OR: 0.29; 95% CI: 0.12-0.72; $P < .01$). PB-MNC steigern die Ulkusheilung (OR: 5.77; 95% CI: 1.77-18.87; $P < .01$). Die allgemeine Mortalität war bei beiden Gruppen ähnlich (OR: 0.78; 95% CI: 0.44-1.40; $P < .41$). Jedoch, waren alle Schätzungen bei der Reanalyse, unter dem Einsatz nur Placebo- randomisiert- kontrollierter Studien, nicht signifikant.

Zusammengefasst, weist diese Metaanalyse auf Sicherheit und Durchführbarkeit der Zelltherapie bei PatientInnen mit CLI hin. Vorprüfung der Wirksamkeit ist ermutigend. Zelltherapie könnte potentielle therapeutische Behandlungsmöglichkeit bei CLI sein, nun sind dafür umfassendere, sorgfältig konzipierte Doppelblindstudien, und placebokontrollierte Studien nötig. Um die Anforderungen für den Einsatz in der klinischen Routine zu erfüllen, muss ein klar definierter Zelltyp und eine Zellnummer angegeben werden. Weiters sind Langzeitsicherheitsprofile und exakte Aktionsmechanismen der Zelltherapie notwendig.

Die Metaanalyse von Compagna et al. (2015) zeigt auch, dass die Knochenmarkstammzellen, aus Knochenmark derivierte mesenchymale Stammzellen, und aus peripherem Blut derivierte mononukleare Zellen die meist getestete Zelltypen sind und dass es zwischen Knochenmarkstammzellen keinen übergeordneten Zelltypus gibt.

Derzeitiger Wissenstand unterstützt die Annahme, dass intramuskuläre Knochenmarkstammzellapplikation ein sichere, durchführbare und meistens eine effektive Therapie, für die Patienten mit CLI und ohne Revaskularisierungsmöglichkeit, darstellt.

Nach aktuellen Daten aus der Literaturrecherche sind behandlungsinduzierte Verbesserungen 2-3 Jahre nachhaltig. Eine definitive Etablierung der Langzeiteffizienz würde die Interessen nach Stammzelltherapien für schwere, inoperable PAOD deutlich steigern. Um standardisierte Therapie zu etablieren sind multizentrische, umfangreiche randomisiert-kontrollierte Studien, sowie die Bestimmung der Behandlungs- Kosten- Nutzen- Analyse geboten (vgl. Comagna et al., 2015).

4. Stammzellforschung in Zusammenhang mit der körperlichen Aktivität

Im folgenden Teil werden unterschiedliche Stamm- und Vorläuferzellen sowie ihre Herkunft dargestellt. Weiters werden Sportmechanismen dargestellt, die zu stammzellinduzierter Regeneration und die zu stammzellinduzierter Adaptation ausgewählter Organen beitragen.

Zahlreiche Publikationen beweisen, dass Sport und körperliche Aktivität Einfluss auf Aktivierung, Mobilisierung und Differenzierung verschiedener Stammzelltypen haben. Sport kann Gewebe- und Organregeneration, sowie Organfunktionen verbessern.

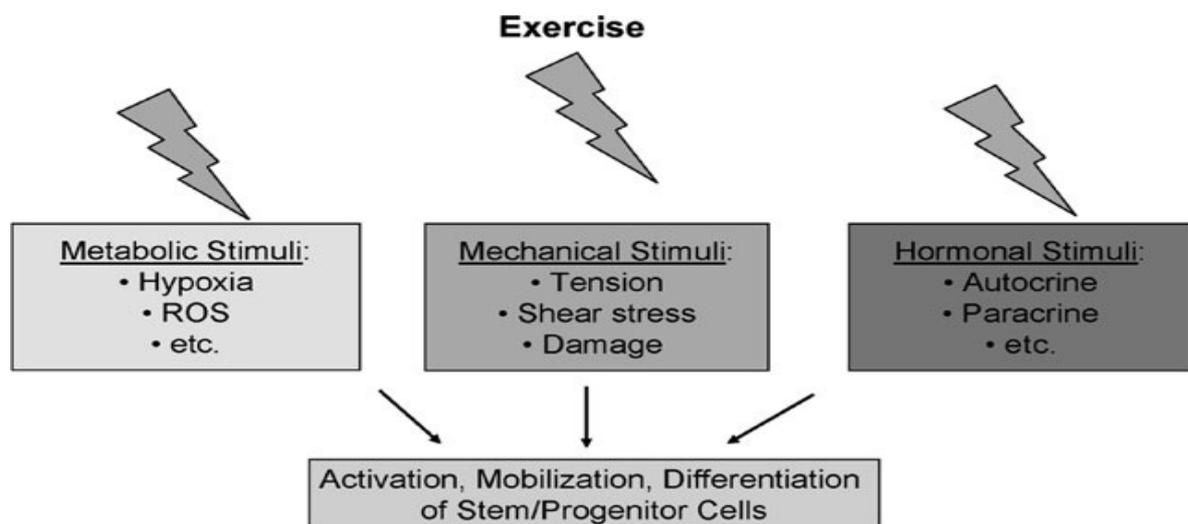


Abb. 13. Körperliche Aktivität ruft durch verschiedene Reize die Aktivierung, Mobilisierung und Differenzierung der Stamm- und Vorläuferzellen hervor (vgl. Wahl & Bloch, 2010)

Körperliche Aktivität ruft verschiedene Reize (metabolische, mechanische und hormonelle) hervor. Diese können für Aktivierung, Mobilisierung, Differenzierung und Homing von Stamm- und Vorläuferzellen verantwortlich sein. Ein weiterer wichtiger Faktor körperlicher Aktivität, welcher die Freisetzung der Stammzellen beeinflusst, kann ein Entzündungsprozess infolge einer Gewebeschädigung sein. Durch Aktivierung, Mobilisierung und Differenzierung der Stamm- und Vorläuferzellen könnten Adaptionen (Anpassungsprozesse) und regenerative Prozesse verbessert werden (vgl. Wahl und Bloch, 2010).

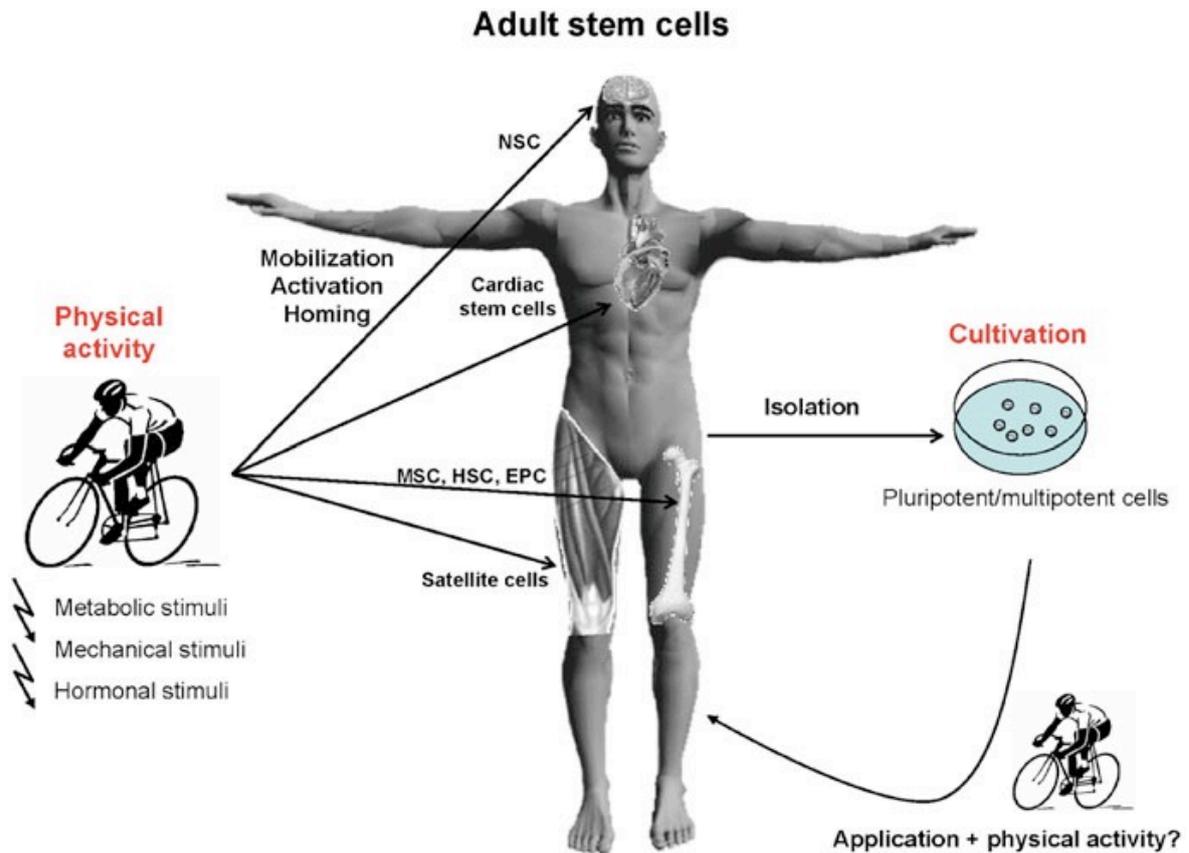


Abb. 14. Einfluss der körperlichen Aktivität auf unterschiedliche adulte Stammzellen. *NSC*-neural stem cells, *MSC*- mesenchymal stem cells, *HSC*- hematopoietic stem cells, *EPC*-endothelial progenitor cell (vgl. Wahl & Bloch, 2010).

Körperliche Aktivität beeinflusst bzw. aktiviert unterschiedliche adulte Stammzellen. Diese werden in der Zirkulation freigesetzt oder von ihrem Ursprungsorgan aktiviert. Für die Mobilisierung der Stammzellen können unterschiedliche Faktoren, wie metabolische Faktoren, mechanische Faktoren und hormonale Faktoren, verantwortlich sein. Zudem ruft die körperliche Aktivität, Freisetzung unterschiedlicher Wachstumsfaktoren, Zytokine und Hormone hervor. Mit Hilfe dieser Prozesse, führen unterschiedliche Mechanismen zur Aktivierung der Stamm- und Vorläuferzellen. Dadurch können sowohl Adaptationsprozesse als auch regenerative Prozesse verbessert werden. Trainingsbedingte molekulare Adaptation verbessert die Leistung, die Fitness und/oder die Gesundheit, egal ob in Hochleistungssport, Freizeitsport, Prävention oder Rehabilitation. Körperliche Aktivität könnte den Erfolg der Stammzellenapplikation in der Stammzelltherapie erhöhen (vgl. Wahl & Bloch, 2010).

Einfluss der körperlichen Aktivität auf Stammzellen gesunder ProbandInnen

Körperliche Aktivität ist einer der wirksamsten nicht-pharmakologischen Strategien, welche beinahe alle Zellen und Organe im Körper beeinflussen kann (vgl. Shalaby, Saad, Akar, Reda & Shalgham, 2012).

Endotheliale Vorläuferzellen

Hämatopoietische Stammzellen sind Knochenmarkzellen, die fähig sind, alle Blutzelltypen zu produzieren (Vorläuferzellen). Sie dienen als Quelle endothelialer Vorläuferzellen und exprimieren CD34+. Endotheliale Vorläuferzellen sind heterogene Gruppen von Zellen, die mit unterschiedlichen Zelloberflächen-Antigen-Expressionsprofilen assoziiert sind. Meist beschriebene Moleküle, die als Biomarker für Erkennung endothelialer Vorläuferzellpopulation dienen, sind CD34+, CD133+ und VEGFR2. Die Pionierstudie von Asahara et al. (1999, z.n. Shalaby et al., 2012) erkennt EPCs als CD34+ mononukleäre Zellen (MNCs).

Shalaby et al. (2012) untersuchten den Einfluss aerober und anaerober Trainingsprogramme auf die CD34+ Stammzellen und auf ausgewählte physiologische Variablen.

In diese Studie wurden 20 gesunde männliche Athleten, im Alter zwischen 18 und 24 Jahren und mit einer Trainingsgeschichte von 4 bis 9 Jahren eingeworben. Die Athleten wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe absolvierte einen aeroben Trainingsprogramm und die andere Gruppe einen anaeroben. Die Trainingsprogramme wurden 12 Wochen lang an 3-4 Tagen pro Woche durchgeführt. 10 gesunde, BMI angepasste Männer, im Alter zwischen 20 bis 22 Jahren, ohne eine neuere regelmäßige Trainingsgeschichte, wurden in die Kontrollgruppe eingeworben. Aerobe und anaerobe Testung erfolgte am Fahrradergometer bis zur Erschöpfung, unter ärztlicher Überwachung der Herzfrequenz und des Blutdrucks.

Herzfrequenz, rote und weiße Blutkörperchen, Hämoglobin- und Hämatokritwerte wurden durch Coulter Counter erhoben. Laktat wurde mittels Accusport Gerät und CD34+ Stammzellen mittels Durchflusszytometrie ermittelt.

Ergebnisse zeigten, dass VO₂max im Fall des aeroben Trainingsprogramms im Vergleich zum anaeroben Trainingsprogramm (62 ± 2.2 ml/kg/min vs. 54 ± 2.1 ml/kg/min) signifikant gestiegen war. Hämatologische Werte, wie Hämoglobin, Hämatokrit, rote- und weiße Blutkörperchen, stiegen im Fall des anaeroben Trainingsprogramms im Vergleich zum aeroben Trainingsprogramm.

Table (2): Haematopoietic stem cells for control, aerobic exercise training and anaerobic training courses of exercise for 12 weeks in the resting stages and Lactate

Variable	Control			Aerobic training			Anaerobic training		
CD ³⁴⁺ S cells	170.0	±	21.10	130	±	14.61	251.6	±	21,64
Lactate (mmol/L)	1.2	±	0.3	0.8	±	0.1	0.9	±	0.2

Abb. Signifikante Veränderungen der CD34+ HSCs nach dem anaeroben Trainingsprogramm (P<0.05) (vgl. Shalaby et al., 2012).

Durch das anaerobe Trainingsprogramm ist die CD34+ hämatopietische Stammzellenanzahl in peripheren Blut im Vergleich zum aeroben Trainingsprogramm signifikant gestiegen (251.6 ± 21.64 und 130 ± 14.61), sowie im Vergleich zur sitzenden Kontrollgruppe (170 ± 21.10). Diese Ergebnisse weisen drauf hin, dass anaerobes Trainingsprogramm bessere Adaptionen, sowie Modulation von Knochenmarkaktivität hervorruft.

Zirkulierende endotheliale Zellen

1997 haben Asahara et al. knochenmarkderivierte zirkulierende EPCs im Blutkreislauf identifiziert und ihr regeneratives Potenzial bzgl. Angiogenese und bezüglich vaskulärer Reparatur etabliert. Zirkulierende endotheliale Zellen sind sehr seltene Zellen, die im Blut im Bereich von 3 Zellen/ml zu finden sind. Sie sind bei vaskulären Verletzungen wie z.B. bei Herzkatheterisierung, Sichelzellenanämie, bakterieller Infektion, thrombotischer thrombozytopenischer Purpura und bei akutem Koronarsyndrom nachweisbar. Diese Zellen können als Surrogate, nicht- invasive Marker für die Untersuchung der Gefäßveränderung angewendet werden (vgl. Dignat- George, Sampol, Lip & Blann, 2003).

Ein Defizit in der Anzahl und in der Aktivität zirkulierender EPCs wird mit reduzierter arterieller Elastizität bei Menschen im fortschreitenden Alter assoziiert. Yang et al. (2011) gingen davon aus, dass körperliche Aktivität die Anzahl und die Aktivität zirkulierender EPCs in Menschen erhöhen kann.

Yang et al. (2011) untersuchten, in wie weit reguläre Trainingsinduzierte Erhöhung zirkulierender EPCs, die altersbedingte Abnahme arterieller Elastizität bei gesunden Männern verbessern kann.

In Ihrer Querschnittsstudie, erforschten Sie die Anzahl und die Aktivität zirkulierender EPCs, wie auch Knöchel- Arm- und Pulswellengeschwindigkeit (brachial-ankle pulse wave velocity, kurz: baPWV) von jüngeren und älteren Männern, die entweder ausdauertrainiert, oder untrainiert waren (überwiegend sitzende Tätigkeiten verrichten und sesshafte Lebensart führen). Beobachtet wurde der Effekt des regulären Trainings auf die

zirkulierende EPCs und baPWV von 10 älteren und 10 jüngeren sesshaften gesunden Männer.

Ergebnisse zeigten, dass in beiden, sowohl in der sesshaften, als auch in der ausdauertrainierten Gruppe, die Anzahl und die Aktivität zirkulierender EPCs bei älteren Männern, im Vergleich zu jüngeren Männern, signifikant niedriger war und der baPWV-Wert höher. 3 Monate reguläres Training erhöhte die Anzahl und die Aktivität zirkulierender EPCs und senkte den baPWV-Wert bei 10 jüngeren und 10 älteren Männer.

Es gab eine enge Korrelation zwischen zirkulierender EPCs und der baPWV. Multivariate Analyse identifizierte proliferative Aktivität zirkulierender EPCs als ein unabhängiger Prädiktor von baPWV.

Die vorliegende Studie demonstriert zum ersten Mal, dass reguläre körperliche Aktivität die Aktivität zirkulierender EPCs bei abgeschwächten, altersabhängigen die arterielle Elastizität bei gesunden Männern erhöht.

Studie von Yang et al. (2011) könnte für physiologische und klinische Implikationen in Bezug auf primäre und sekundäre Prävention der kardiovaskulären Erkrankungen wichtig sein. Viele kardiovaskuläre Komplikationen, welche mit einer sesshaften Lebensart assoziiert werden, wie bspw. Hypertension, koronare Herzkrankheiten und Thrombose, sind mit endothelialer Dysfunktion verbunden.

Aus der Perspektive primärer Prävention, suggerieren diese Daten, dass Training den Anstieg die Anzahl und die Aktivität zirkulierender EPCs induziert. Arterielle Elastizität ist ein neuer Index für die endotheliale Funktion. Erhalten der endothelialen Funktion kann zur niedrigeren Inzidenz kardiovaskulärer Erkrankungen führen. Das konnte bei älteren Männern, die regelmäßig trainieren, beobachtet werden.

Vorliegende Daten indizieren für sekundäre Prävention, dass reguläres Ausdauertraining eine effektive Lifestyle-Intervention, für eine Umkehrung der Abnahme endothelialer Funktion, bei älteren, untrainierten Männer, mit sesshaften Lebensstil, sein kann.

Eine dauerhafte Erhaltung verbesserter, endothelialer Funktion, kann das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen und damit verbundene thrombotische Ereignisse reduzieren. Diese Ergebnisse liefern neue Einblicke in die Schutzwirkung des Trainings auf altersbedingte vaskuläre Verletzung (Schädigung).

Limitierungen der Studie bzw. Empfehlungen für zukünftige Studien:

1. zugrundeliegende Mechanismen wurden durch diese Studie nicht erläutert/verdeutlicht.
2. Frauen und PatientInnen mit pathophysiologischen Konditionen können in ähnliche

Studie miteinbezogen werden.

3. Diese Studie zeigte, dass moderate Intensität einen Einfluss auf EPCs hat. Weitere Studien könnten die Auswirkung unterschiedlicher Intensität, unterschiedlicher Dauer und andere Trainingsarten untersuchen.
4. Zu kleine Stichprobenanzahl eingerollter Subjekte. Umfangreichere Stichprobepopulation wird empfohlen.

Eine weitere Studie, von Ross, Wekesa, Phelan und Harrison (2014), zeigte den Einfluss des einmaligen Kraftausdauer- Trainingsprogrammtypus auf zirkulierende EPCs und auf den angiogenen Faktor bei jungen, trainierten Männern. Bisher untersuchte keine Studie den Effekt des Krafttrainingprogramms auf die EPCs.

In das Gefäßwachstum und in die Reparatur wurden Knochenmark- derivierte endotheliale Vorläuferzellen (EPC) involviert. EPCs-Anzahl steigt bereits nach einmaliger, aerober körperlicher Belastung in der Zirkulation und ist potenziell mit Muskelischämie verbunden. Muscular endurance resistance exercise (MERE), bei entsprechender Strukturierung, hat das Potenzial Muskelischämie zu induzieren. MERE ist ein strukturiertes Krafttraining, mit leicht- bis moderaten Widerstand, hoher Wiederholungszahl und kurzen Pausen. Dieses Training könnte einen stärkeren ischämischen Reiz in breiterem Spektrum der Muskelgruppen hervorrufen, als das aerobe Training (vgl. Ross et al., 2014).

Bei der Untersuchung wurden der angiogene Faktor, die endotheliale Marker und die Matrix- Metalloproteinasen (kurz: MMP) erhoben. Der angiogene Wachstumsfaktor wurde als EPCs mobilisierender Faktor gemessen. Endotheliale Marker wurden gemessen, um auf endotheliale Aktivierung hinzuweisen. MMP-Enzyme wurden als potenzielle Indikatoren des ECM-Remodeling in trainierten Muskel und wegen der Assoziation mit VEGF-Freisetzung und wegen der Aktion, gemessen. Hypothese: Krafttraining kann einen signifikanten Anstieg zirkulierender EPC, 24 Stunden nach dem Training hervorrufen. Es kann auch einen Anstieg zirkulierender mobilisierender Faktoren hervorrufen.

13 trainierte Männer im Durchschnittsalter von 22,4 führten das MERE-Training durch. MERE beinhaltete 3 Serien, 6 Übungen (Beinpresse, sitzende Brustpresse, Leg Curl, Latzug, Knieextension und Trizeps-Pushdown) mit maximal 15 Wiederholungen. Das Wiederholungsmaximum von 15 Wiederholungen wurde für jede Übung und für jeden Volontär vor der Testung bestimmt. MERE-Übungen wurden morgens nüchtern durchgeführt. Blutstichproben wurden 10 min vor der Belastung, 2 und 24 Stunden nach der Belastung entnommen.

Ergebnisse zeigten, dass zirkulierende EPC und Serumkonzentration von VEGF-A, VEGF-C und VEGF-D (vascular endothelial growth factors, kurz: VEGF), der Granulozyten-Kolonie stimulierende Faktor (granulocyte colony stimulating factor, kurz: G-CSF,) lösliche Tie-2, lösliche fms-ähnliche Tyrosinkinase-1, und Matrix-Metalloproteinasen (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, und MMP-9) nach der MERE höher waren. Zirkulierendes EPC Niveau blieb 10 Minuten nach der MERE unverändert, stieg aber 2 Stunden nach der MERE signifikant. Die Konzentration meisten angiogener Faktoren und die Metalloprotease waren 10 Minuten nach der MERE höher (VEGF-A, +38%; VEGF-C, +40%; VEGF-D, +9%; lösliche Tie-2, +15%; lösliche fms-ähnliche Tyrosinkinase-1, +24%; MMP-1, +62%; MMP-2, +3%; MMP-3, +54%; und MMP-9, +45%). Lösliche E-Selektin war niedriger 2 und 24 Stunden nach der MERE, mit unveränderten endothelialen Mikropartikeln und Thrombomodulin.

Ross et al. (2014) zeigen, dass kurze und intensive MERE die Zunahme zirkulierender EPCs und angiogener Faktoren auslösen kann. Diese kann potenziell zur Gefäßadaptation und zum Gefäßschutz beitragen.

Unklar blieb, ob andere Kraftprotokolle, die schweres Heben und längere Pausen beinhalten, die gleiche Antwort auslösen würden. Trotzdem heben diese Ergebnisse, den potenziellen Wert des Krafttrainings für vaskuläre Adaptation hervor. Es bleibt an zukünftigen Studien, die Effekte dieses „Hybridtrainings“ auf zirkulierende EPC und auf die damit verbundene Signalwege zu berücksichtigen und diese Trainingsart zu heranzuziehen (vgl. Ross et al., 2014).

Satellitenzellen

In einer sehr frühen Regenerierungsphase z.B. nach einer Bettruhe aufgrund einer Krankheit oder einer Operation, ist insbesondere bei älteren Menschen oder gebrechlichen Personen ein schweres Krafttraining (heavy resistance training, kurz: HRT) nicht sehr sinnvoll oder auch physisch gar nicht möglich. Deswegen ist es wichtig zu wissen, ob eine sanfte muskuläre Belastung für die Stimulation des Satellitenzellpools ausreichend ist. Sanftes Krafttraining hat die Charakteristik, die Muskeln schneller für ein schweres Krafttraining zu adaptieren (vgl. Mackey et al., 2011).

Um diese Aussage zu untersuchen, prüften Mackey et al. (2011) den Effekt des Krafttrainings mit sehr niedriger Intensität, auf die Satellitenzellanzahl bei jungen gesunden Männern. 12 junge gesunde Männer (Alter: 25 ± 3 Jahren) nahmen in dieser Studie teil. Volontäre führten das sanfte Krafttraining mit einem Bein durch. Zur Kontrolle trainierten sie das andere Bein mit einer schweren muskulären Belastungsintensität. Es

wurden zwei unterschiedliche Trainingsmethoden gestaltet. Eine Trainingsmethode involvierte schwere eine Belastungsintensität und eine niedrige Wiederholungszahl. Die andere Trainingsmethode involvierte eine ganz niedrige Belastungsintensität und eine hohe Wiederholungszahl. Die Trainingsmethode wurde so adjustiert, dass die gesamte erbrachte Arbeit beider Beine gleich war. Eine Muskelbiopsie des M. vastus lateralis beider Beine, wurde vor und nach dem Training entnommen. Unilaterale Beinextension wurde 12 Wochen lang, 3X / Woche durchgeführt. Ein Bein wurde mit hohen Belastung (H- für heavy load) und ein Bein mit schwache Belastung (L- für lighter load) trainiert. H war so kalkuliert, dass die Teilnehmer 10 Serien mit 8 Wiederholungen (70% der 1RM²³) und L mit 36 Wiederholungen (15.5% der 1 RM) durchführten. 1RM wurde beim 10ten, 20sten und beim 30sten Training ermittelt und die Gewichte wurden entsprechend adjustiert.

Zahlreiche Studien zeigten eine Erhöhung der Satellitenzellanzahl nach einem schweren Krafttraining. Diese Studie bestätigt vorherige Ergebnisse. Neue Erkenntnis dazu ist die Erhöhung der Satellitenzellanzahl (CD56+) um 18% mit einer sanften muskulären Belastungsintensität (15.5% 1RM) während des Krafttrainings (vgl. Mackey et al., 2011).

Myogenin ist ein myoregulatorischer Faktor, der in die Zelldifferenzierung involviert ist. Hypothese war, dass die Steigerung der Myogeninexpression eine Differenzierung neuer Satellitenzellen induziert. Aber es wurde keine Veränderung in der Myogenin+ Zellanzahl erkannt. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass die Wahrscheinlichkeit eher gering ist, diese Veränderungen bei einer Single-Biopsie nach 12-Wochen-Training zu finden. Fehlende Veränderung lässt sich auch wie folgt erklären: entweder war die Trainingsbelastung nicht ausreichend, eine Differenzierung der Satellitenzellen in 12 Wochen zu induzieren, oder neue gefundene Satellitenzellen sind programmiert Satellitenzellen zu bleiben.

Im Hinblick auf H- und L- Krafttraining konnten die Autoren keine statistische signifikante Interaktion zwischen Trainingsmodus und Veränderung in der Satellitenzellanzahl entdecken. Sie weisen darauf hin, dass der Satellitenzellpool auf beide Trainingstypen ähnlich reagiert. Gesteigerte Satellitenzellanzahl mit L-Krafttraining liefert einen neuen Einblick in potenzielle Reize (Stimuli), die in die Expansion des residierenden myogenen Vorläuferzellpool involviert sind.

Ergebnisse dieser Studien zeigen, dass 12 Wochen des Krafttrainings, bei wiederholter muskulärer Kontraktion, auch mit niedrige Intensität, die Zunahme der Satellitenzellanzahl

²³ one repetition maximum

induzieren kann. Unklar blieb, ob Stammzellpoolvergrößerung durch Hypertrophie initiiert wurde, durch die Remodelierung der Satellitenzellnische, oder als Response zur Muskelarbeit. Es gilt weiterhin funktionelle Konsequenzen der Aktivierung festzustellen. Diese Erkenntnis könnte für Trainingsprogramme hilfreich sein, wo nur eine Vergrößerung der Satellitenzellanzahl wichtig ist bzw. wo schweres Krafttraining nicht möglich ist (vgl. Mackey et al., 2011).

Aus physiologischer Perspektive, weisen diese Daten darauf hin, dass die Rolle der Satellitenzellen in der Adaptation der Skelettmuskulatur auf Belastungsänderung von ihrer traditionellen Funktion in die Muskelhypertrophie und in die Reparatur erweitert werden kann. Sie inkludiert die Möglichkeit zur Aufrechthaltung und zur Erneuerung des Satellitenzellpools an die Registrierung schwacher physiologischer Reize.

Darüberhinaus unterstützen diese Daten die Hypothese, dass eine Expansion des Satellitenzellpools eine grundlegende physiologische Adaptation zum Training präsentiert.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass 12-Wochen-Training, sogar mit einer schwachen Belastung, eine Zunahme der Satellitenzellanzahl induzieren kann. 12-Wochen-Training stellt Aspekte myogener Vorläuferzellaktivierung fest und suggeriert, dass sie Satellitenzellen eine Rolle, bei der Skelettmuskeladaptation im breiteren physiologischen Spektrum, spielt (vgl. Mackey et al., 2011).

Snijders et al. (2012) ermittelten die Auswirkung eines einmaligen Trainings auf den muskelfaserspezifischen Satellitenzellegehalt und auf den Aktivierungsstatus nach anschließender Übernächterholung.

8 gesunden Männer (Alter: 20 ± 1 Jahren) führten ein einmalig kombiniertes Ausdauer-Kraft-Training durch. Nach 10 Minuten Aufwärmzeit am Radergometer (50% W_{max}), fuhren (proslo vreme od fahren) Sie 4 x 5 Minuten mit 65% W_{max} , abwechselnd mit 2.5 Minuten am 45% W_{max} . Nach 5 Minuten Erholung, führten sie ein Krafttrainingsprotokoll für Oberkörper und für Unterkörper an Trainingsgeräten durch. Das ganze Trainingsprotokoll dauerte insgesamt ca. 120 Minuten. Muskelbiopsie wurde vor, sofort nach dem Training und 9 Stunden nach dem Training entnommen.

Für die Aktivierung des Satellitenzellenstatus benutzten sie, mittels immunhistologischer Analysen des menschlichen Skelettmuskelgewebes, unterschiedliche Marker. Mitglied epidermaler Wachstumsfaktor- Superfamilie, Delta-like homologue 1 (kurz: DLK1), zeigte eine wichtige Rolle in der Skelettmuskelentwicklung. Neuliche *in vitro* und Tierstudien weisen darauf hin, dass DLK1 die Satellitenzell-Schicksalsentscheidung zwischen Selbsterneuerung und Differenzierung beeinflusst

(Waddell et al., 2010 z.n. Snijders et al., 2012). Als Weitere Charakterisierung der Satellitenzellaktivität in Response auf das Training wurde die Präsenz der Ki-67 in Satellitenzellen ermittelt. Ki-67 ist in Zellen während aktiver Phase der Zellzyklus selektiv exprimiert (Gerdes et al., 1984, z.n. Snijders et al., 2012).

Ergebnisse am Baseline zeigen keinen prozentuellen Unterschied zwischen Fasertypen in der Satellitenzellenfärbung welcher positiv für DLK1 und /oder Ki67 sein könnte. Es wurde auch keine signifikante Veränderung in der Satellitenzellanzahl innerhalb von 9 Stunden beobachtet. Jedoch steigt während der Übernachtung der prozentuelle Ansatz der DLK1 positiven Satellitenzellen signifikant von 22 ± 5 auf 41 ± 5 % und von 24 ± 6 auf 51 ± 9 % jeweils in Muskelfaser Typ I und II. In Ki-67 positiven Satellitenzellen wurde keine Veränderung beobachtet. Obwohl die Autoren keine messbare Erhöhung des Satellitenzellengehalts innerhalb der 9 Stunden erwartet haben, konnte eine Tendenz zur Erhöhung der Satellitenzellanzahl festgestellt werden. Eine Tendenz für die Erhöhung des Satellitenzellgehaltes in der Übernacht-Regeneration impliziert, dass Satellitenzellaktivierung und/oder Proliferation bereits innerhalb von 9 Stunden nach der Trainingsregeneration auftreten musste.

Snijders et al. (2012) stellen fest, dass einmalig kombinierter Kraft- und Ausdauerart des Trainings in beide Muskelfasertypen die Satellitenzellen während anschließender Übernacht-Regeneration aktiviert. Diese Aktivierung tritt vor messbarer Steigerung des Satellitenzellgehaltes auf.

Optimale Reparatur und optimale Adaptation der Skelettmuskulatur wird durch residente Satellitenzellen ermöglicht. Um zu verstehen, wie unterschiedliche Kontraktionsformen beim Training die Satellitenzellendynamik beeinflussen, wurde die Satellitenzellaktivität in Konjunktion (Verbindung) mit Markers für Muskelschädigung und Muskelentzündung bei menschlichen Muskeln, nach einmaliger Intensität angepasster, exzentrischer (ECC) oder konzentrischer (CON) Kontraktionsform gemessen (vgl. Hyldahl, Olson, Welling, Groscost, & Parcell, 2014).

Insgesamt wurden 14 Teilnehmer eingeworben. 7 Teilnehmer haben einmalige exzentrische und 7 Teilnehmer einmalige konzentrische Kontraktionsform des Knieextensionstrainings absolviert. Muskelbiopsie wurde vor dem Training und 24 Stunden nach dem Training entnommen. Subjekte führten einmalige exzentrische oder konzentrische Kontraktion der Muskulatur durch. Das primäre Ziel der Studie ist die Ermittlung der Frage, wie die Kontraktionsform die Muskelschädigung und die Satellitenzellaktivität bei Menschen indiziert.

Ergebnisse zeigen, dass sich Satellitenzellgehalt um 27% nach der ECC erhöht hat (0.10 ± 0.031 vs. 0.127 ± 0.041 , jeweils; $p < 0.05$). Es wurden keine Veränderungen im Satellitenzellanzahl nach CON gefunden (0.099 ± 0.027 vs. 0.102 ± 0.029 , jeweils). Es gab keine faserspezifische Satellitenzellantwort. Weder nach der ECC noch nach der CON. Aus der ECC, aber nicht aus der CON, resultiert eine Erhöhung der MyoD positive Nuklei pro Myofibrillen vor und nach dem Training. In beiden Fällen der MyoD DANN-Bindungsaktivität konnte kein Unterschied erkannt werden.

Primärer Endpunkt der Studie war die Ermittlung funktioneller und histologischer Marker der Muskelschädigung, Ermittlung des Satellitenzellgehalts und des Aktivierungsstatus vor und 24 Stunden nach anschließender ECC oder CON.

Die ersten Ergebnisse zeigen, dass einmalige maximale exzentrische Kontraktion eine Muskelschädigung und Evidenz extrazellulärer Matrix de- Adhäsion induziert und eine akute Erhöhung der Aktivität und der Quantität gemischter Muskelfaser-Satellitenzellen 24 Stunden nach der Belastung. Diese Studie zeigt, dass ECC Kontraktionsmodus Satellitenzellproliferation in der menschlichen Skelettmuskulatur schon nach einmaliger Belastung beeinflusst.

Hyldahl et al. (2014) haben gezeigt, dass exzentrische Kontraktionsform funktionelle und histologische Muskelschädigung induziert, sowie Aktivierung und Proliferation der Satellitenzellen 24 Stunden nach der Belastung hervorruft. Zudem zeigten Sie, dass die ECC extrazelluläre Matrix de- Adhäsion beeinflusst. Autoren nehmen an, dass dieses Ergebnis für die Regulierung, für die Aktivierung und für die Proliferation der Satellitenzellen von Bedeutung sein kann.

Einfluss körperlicher Aktivität auf Stammzellen der PatientInnen mit chronischer Herzinsuffizienz

Zirkulierende angiogene Zellen (CAC) und endotheliale Vorläuferzellen (EPC) tragen zur Reparatur der Endothel bei. Körperliches Training verbessert die endotheliale Funktion. Darüberhinaus kann ein trainingsinduziertes vaskuläres Remodeling, die akute Reaktion der EPC und CAC nach einer einmaligen Trainingseinheit beeinflussen (vgl. Van Craenenbroeck et al., 2010).

Van Craenenbroeck et al. (2010) untersuchten die Auswirkungen, auf die CAC Funktion und auf die Anzahl der CD34+/KDR+ EPCs bei PatientInnen mit chronischer Herzinsuffizienz, vor dem körperlichen Training und 6 Monaten nach dem körperlichen

Training. Dazu wurde der Effekt des akuten Trainings auf CAC und auf EPC trainierter und untrainierter Patienten verglichen.

21 untrainierte CHF PatientInnen führten 6 Monaten lang ein körperliches Training durch und wurden mit einer untrainierten Kontrollgruppe (N= 17) und zusätzlich mit 10 gesunden altersangepassten Kontrollsubjekten verglichen. Ausdauertraining wurde 3 Mal pro Woche (60 Minuten) im Krankenhaus ausgeführt. Je nach Art der PatientInnen, wie z.B. PatientInnen mit schweren Muskelschwund, wurde zusätzlich ein dynamisches Krafttraining in das Training integriert. Auf der Baseline und im Follow Up wurde eine flussabhängige Vasodilatation (flow mediated dilatation, kurz: FMD) bestimmt und es wurde ein Stufentest (graded exercise testin, kurz: GXT) durchgeführt. Vor und unmittelbar nach der GXT wurde die CAC Migrationsfähigkeit *in vitro* ermittelt und es wurden zirkulierende CD34+/KDR-EPC mittels Durchflusszytometrie quantifiziert. Die Trainingsgruppe trainierte in einem Krankenhaus 6 Monate lang 3 Mal pro Woche (60 Minuten).

Auf der Baseline war die CAC Migration bei sesshaften PatientInnen stark beeinträchtigt aber sie wurde akut nach der GXT normalisiert. Das Training korrigierte die endotheliale Dysfunktion (77% Zunahme der CAC Migration) und korrigierte die CAC Funktion auf das Niveau gesunder Kontrollsubjekte.

Zusammenfassend demonstrieren diese Ergebnisse, zum ersten Mal, dass körperliches Training bei CHF PatientInnen die CAC Dysfunktion umkehren und die Zunahme der CD34+/KDR+ EPC-Anzahl bewirken kann. Dadurch wird die periphere endotheliale Funktion verbessert. Akute trainingsinduzierte Veränderung in der CAC Funktion nimmt mit körperlichen Training ab und zeigt auf, dass wiederholtes Training zur Endothelialreparatur und zur Funktionswiederherstellung führt.

Gatte et al. (2012) untersuchten den Effekt eines kurzzeitigen (3-wöchigen) Trainingsprogramms auf die Anzahl zirkulierender CD34+/KDR+ endothelialer Vorläuferzellen (EPCs) und auf den Serumspiegel der Matrix- Metalloproteinasen (MMPs) bei chronischer Herzinsuffizienz. Zudem wurde der Einfluss des 3-wöchigen Trainingsprogramms auf die Serumkapazität fördernder Koloniebildungseinheiten endothelialer Zellen *in vitro* (CFU-ECs) untersucht.

Nach dem Training (6 Minuten Gehstest) wurde die Distanz und die Anzahl zirkulierender CD34/KDR+ Zellen erhöht. Neue Erkenntnisse dieser Studie zeigen, dass selbst relativ kurzzeitiges aerobes Training das Serumniveau der MMP1 und TIMP-1 signifikant reduzieren kann. Als Folge der TIMP-1 Reduktion wurde die Aktivität der MMP-2 und der

MMP-9 Gelatinasen erhöht und dadurch die Kollagenakkumulation und die Herzsteifigkeit reduziert. Zudem wurde aus der Serumprobe in der Zellkultur, die nach dem Training entnommen wurde, eine Zunahme der CFU-EC Proliferation ersichtlich.

Sowohl die EPCs als auch die MMP spielen eine Rolle in der vaskulären Remodelierung. Angestiegene EPCs-Anzahl und MMP-Aktivität belegen, dass selektierte kurzzeitige Trainingsprogramme potenzielle therapeutische Behandlungsmethoden für den Erhalt der Herzfunktion bei CHF PatientInnen sein kann.

Bei PatientInnen mit chronischen Herzinsuffizienz (CHF) kann die körperliche Aktivität Symptome und die Lebensqualität verbessern. Die körperliche Aktivität verringert die Morbidität und die Mortalität. Körperliches Training stellt heutzutage eines der Hauptkomponente des Herzinsuffizienzmanagements dar (vgl. Gatte et al., 2012).

Eine kürzlich veröffentlichte Studie (LEICA) von Sandri et al. (2015) untersuchte den Effekt der Alterung bei endothelialer Funktion und endothelialer Regeneration bei PatientInnen mit chronischer Herzinsuffizienz. Sie wollte herausfinden, ob Trainingsintervention unterschiedliche Effekte auf unterschiedliche Altersstrata bei chronisch herzinsuffizienten PatientInnen hat.

PatientInnen mit stabiler Herzinsuffizienz (chronic Heart Failure, kurz: CHF) und gesunde TeilnehmerInnen (Referenz Kontrollgruppe, kurz: RC²⁴) wurden in zwei Altersstrata (≤ 55 und ≥ 65 Jahre) unterteilt. Anschließend wurden PatientInnen und KontrollteilnehmerInnen in 4 Gruppe aufgeteilt (RC- referenz controls: ≤ 55 Jahren, RC ≥ 65 Jahren; CHF ≤ 55 Jahren und CHF ≥ 65 Jahren). Die 4 Gruppen wurden jeweils in ein 4 Wochen langes überwachtes körperliches Training bzw. in reguläre Behandlung randomisiert. 60 PatientInnen mit stabiler Herzinsuffizienz wurden in die Trainingsgruppe und 60 in die Referenz- Kontrollgruppe aufgeteilt.

PatientInnen in der Trainingsgruppe trainierten am Fahrradergometer 4 Mal pro Woche 15-20 Minuten (exklusiv 5 Min. Auf- und Abwärmen) mit 60-70 % ihrer VO₂max, 4 Wochen lang unter Supervision. Zusätzlich nahmen die CHF-PatientInnen und die KontrollteilnehmerInnen an einem 60-minütigen Gruppentraining ein Mal pro Woche gemeinsam teil. Dabei machten sie Geh- Frei- und Ballübungen. Auf der Baseline und nach der Intervention wurde die Anzahl und die Funktion der EPCs ermittelt.

Im Vergleich zu jüngeren TeilnehmerInnen der Kontrollgruppe, zeigten ältere TeilnehmerInnen der auf der Baseline-Untersuchung niedrigere EPC Anzahl und niedrigere Funktion. Bei Jüngeren und bei Älteren CHF PatientInnen, war die EPC-

²⁴ referenz controls

Anzahl und die EPC-Funktion beeinträchtigt. Das Resultat des Trainings zeigte, dass EPC Funktion um 24% bei älteren KontrollteilnehmerInnen signifikant verbessert wurde, während sie bei der jüngeren Trainingsgruppe und bei der Kontrollgruppe unverändert blieb. Sowohl bei jüngeren als auch bei älteren PatientInnen mit chronischer Herzinsuffizienz, resultierten die 4 Wochen körperlicher Belastung mit signifikanter Verbesserung der EPC-Anzahl und der Funktion (jüngeren: Anzahl +66% Funktion +43%; $p < 0.05$; Älteren: Anzahl +69% Funktion +36%; $p < 0.05$).

Studie von Sandri et al. (2015) demonstrierte, dass 4 Wochen körperlicher Belastung signifikante Erhöhung der Werte zirkulierender VEGF, SDF-1 und EPC und eine signifikant höhere Migrationsfähigkeit kultivierter mononukleärer Zellen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Wichtige Erkenntnis dieser Studie ist der Beweis altersunabhängiger signifikanter Verbesserung der Variablen endothelialer Funktion, der EPC Anzahl und der Funktion bei jüngeren und bei älteren CHF Patientinnen. Da die Trainingseffekte auch bei älteren PatientInnen bemerkbar waren, hebt sich dadurch das Potenzial für die Behandlungsintervention in der Gruppe, die durch zunehmende Prävalenz gekennzeichnet ist, hervor.

Einfluss körperlicher Aktivität auf Stammzellen der PatientInnen mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit

Überwachtes Trainingsprogramm (Supervised exercise training, kurz: SET) wird als Erstbehandlung zur Verbesserung der Gehleistungsfähigkeit der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (peripheral arterial disease, kurz: PAD), bzw. wird es PatientInnen mit Schaufensterkrankheit empfohlen. Prospektive, randomisiert- kontrollierte Studie von Schlager et al. (2011) untersuchte den Einfluss von SET auf die Angiogenese-Marker und auf die endotheliale Funktion bei PAD PatientInnen.

40 PAD PatientInnen wurden in zwei Gruppen randomisiert. SET Gruppe erhielt ein überwachtes Trainingsprogramm in Kombination mit best möglicher medizinischer Versorgung (best medical treatment, kurz: BMT) und die Kontrollgruppe erhielt allein die BMT.

PatientInnen, die in der SET Gruppe randomisiert waren, absolvierten innerhalb von 6 Monaten, ein standardisiertes Trainingsprogramm, zwei Mal wöchentlich. Nach 5-10 Minuten Aufwärmzeit gingen sie anfangs 35 Minuten intermittierend. Nach jeder Einheit verlängerten sie die Gehzeit um 5 Minuten, bis sie 50 Minuten intermittierender Gehzeit erreichten.

Endotheliale Vorläuferzellen (EPC) wurden mittels *whole-blood flow cytometry* (Co-Expression von CD34+ CD133+ KDR+) ermittelt und Zellkultur Assays (endotheliale Zellen-koloniebildene Einheiten, zirkulierende angiogene Zellen, Migration- assay) auf der Baseline, dann im 3., im 6. und im 12. Monate nach der Inklusion gemessen. Veränderungen im Plasmaniveau der asymmetric dimethylarginine (ADMA), des vascular endothelial growth factor (VEGF), des stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) und die maximale Gehstrecke wurden bestimmt.

Ergebnisse zeigten, dass im Vergleich zur BMT Gruppe die Anzahl der EPC in der SET Gruppe nach 3 und nach 6 Monaten signifikant gestiegen war und die ADMA signifikant gesunken war. 6 Monate nach Trainingsbeendigung, fiel die positive Wirkung der SET an EPC ab, aber die maximale Gehstrecke war, im Vergleich zur Baseline und zu der Kontrollgruppe (BMT allein), weiterhin signifikant erhöht. Trainingsinduzierte Zunahme der EPC-Anzahl erhielt sich 6 Monate nach der Trainingsbeendigung nicht, während das ADMA Niveau weiterhin abfiel. Abfall der EPC Anzahl lässt sich dadurch erklären, dass die tägliche körperliche Aktivität, ohne Überwachung, die notwendige Intensität nicht erreichte. Geringe Intensität kann nicht die nötige Ischämische Reize auslösen und die Scherkraft erhöhen, was aber die Voraussetzung für die EPC Mobilisation ist. Jedoch könnte ein kontinuierlicher Abfall der ADMA, welcher ein Marker für die endotheliale Dysfunktion ist, auf nachhaltige Verbesserung der vaskulären Funktion hinweisen.

Mit dieser Studie wurden klare und positive Auswirkungen des überwachten Trainings auf die PAD PatientInnen gezeigt. Schlager et al. (2011) konkludieren, dass SET in der klinischen Routine für die PAD PatientInnen angeboten werden kann, als eine Behandlungsmethode, die Anzahl der zirkulierenden EPC erhöht und parallel dazu ADMA Niveau reduziert. Somit wird Angiogenese und endotheliale Funktion verbessert und Kardiovaskuläres Risiko reduziert.

Einfluss körperlicher Aktivität auf Stammzellen der PatientInnen mit koronarer Herzkrankheit

Luk et al. (2012) untersuchten den Trainingseffekt auf die endotheliale Funktion und auf die Belastungsfähigkeit bei PatientInnen mit koronarer Herzkrankheit. Dabei führten Sie eine randomisiert- kontrollierte Studie durch und erforschten den Effekt eines 8-Wöchigen Trainingsprogramms (n=32) vs. Kontrollgruppe (n=32) auf die brachial flow-mediated dilation (FMD) bei PatientInnen mit stabiler koronarer Herzkrankheit (coronary artery disease, kurz: CAD). Das Trainingsprogramm beinhaltete eine Kombination aus Ausdauer- und Krafttraining. Das Ausdauertraining beinhaltete Laufband-, Ruder,-

Stepper-, Ergometer und Armegometertraining. Das Krafttraining beinhaltete entweder ein Kurzhanteltraining oder ein Gewichtstraining.

In Vergleich zur Kontrollgruppe waren die Endotheliumabhängige FMD und die Belastungsfähigkeit nach 8 Wochen Follow-Up bei der Trainingsgruppe signifikant verbessert. Veränderungen in der FMD korrelierten invers mit der Baseline und eindeutig mit der Zunahme körperlicher Belastungsfähigkeit. Darüberhinaus hatten die PatientInnen in der Trainingsgruppe eine signifikante Steigerung des HDL-Cholesterins und einen reduzierten diastolischen Blutdruck, sowie ein Ruhe-Herzfrequenz in Vergleich zur Kontrollgruppe. Jedoch veränderte das Training nicht das *high sensitivity C-reactive protein* (kurz: hsCRP), den oxidativen Stress und die CD34/KDR endotheliale Vorläuferzellanzahl. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Verbesserung endothelialer Funktion mit körperlichen Training von der Entzündung und von oxidativen Stress unabhängig war. Besonders PatientInnen mit niedrigem Baseline- Fitnessniveau haben auffällige Verbesserung in EC, FMD und HDL-C. Belegt wurde auch, dass EC Verbesserung mit FMD- Erhöhung korreliert bzw. ein Zusammenhang zwischen körperlicher Trainingsintensität und vaskulärer Funktion besteht.

Luk et al. (2012) folgern, dass ein 8-wöchiges körperliches Trainingsprogramm die endotheliale Funktion und die körperliche Belastungsfähigkeit bei PatientInnen mit stabiler koronarer Herzkrankheit, verbessert hat.

Ein wichtiges Thema der Cesari et al. (2013) Studie ist die Identifikation der „non-Responder“ Population bzw. PatientInnen, die auf körperliches Trainingsprogramm nicht mit einer Erhöhung der EPC-Anzahl reagieren. Autoren wollten die Eigenschaften dieser PatientInnen herausfinden. 112 PatientInnen mit akutem Koronaren Syndrom (acute coronary syndrome, kurz: ACS) wurden in ein kardiales Rehabilitationsprogramm eingeworben. Anfangs (erste Zeitpunkt- T1) wurden das *high sensitivity C-reactive protein* (kurz: hsCRP) und das NT-ProBNP-Niveau bestimmt und am Ende des kardialen Rehabilitationsprogramms (zweite Zeitpunkt T2) wieder ermittelt. Alle PatientInnen führten einen kardiopulmonalen körperlichen Belastungstest am T1 und am T2 durch. EPCs wurden als CD34+KDR+, CD133+KDR+ und CD34+CD133+KDR+ definiert.

Am T2 wurde eine signifikante Erhöhung der EPCs, VO₂max, Watt und HDL-C ermittelt, sowie eine Reduzierung der hsCRP und NT-ProBNP, der Triglyzeride, des HbA1c, des systolischen Blutdrucks und des Teilerumfangs. Variation on VO₂max korreliert signifikant mit Variation der EPCs. PatientInnen mit einer angestiegenen EPCs Anzahl zeigten ein signifikant niedrigeres Baselinenniveau von CRP und ein höheres basales

Watt-max. Trainingsprogramm wurde unter Aufsicht 3 Mal pro Woche am Radergometer (5 Minuten Aufwärmen, 30 Minuten 60-70% der VO₂max Trainingsbelastung, 5 Minuten Abwärmen) ausgeführt.

Cesari et al. (2013) konkludieren, dass kardiales Rehabilitationsprogramm eine Erhöhung der EPCs Anzahl und eine Reduzierung der CRP und der NT-ProBNP bewirkt. Non-Responder zeigten eine signifikant niedrigere körperliche Leistungsfähigkeit und ein signifikant höheres Niveau von hsCRP, sowie eine höhere Prävalenz. Rauchgewohnheiten und Hypertension waren nicht signifikant. Alle diese Risikofaktoren waren mit einer Depletion zirkulierender EPC verbunden. Daraus schließen die Autoren, dass alle diese Faktoren unterschiedliche Reaktionen auf körperliche Aktivität beeinflussen können. Laut Cesari et al. (2013) ist die originelle und interessante Feststellung dieser Studie, dass die Baseline hsCRP als signifikanter Prädiktor der EPC-Niveaunahme am Ende des Programms dienen kann. Diese Erkenntnis könnte für die Identifizierung der PatientInnen relevant sein, die keine Vorteile von der EPC-Anzahlerhöhung haben würden.

5. Möglichkeiten zur Manipulation und Leistungssteigerung im Sport

Die neuesten Entwicklungen in der molekularen Biologie bieten neue Ansätze für Behandlungen einiger Krankheiten. Gleichzeitig eröffnen sie Möglichkeiten für den Missbrauch und Betrug im Sport. Hauptzielsetzung der Verwendung des Gendopings ist die Sportleistungssteigerung (vgl. Oliveira, Collares, Smith, Collares & Seixas, 2011).

Nach Diel (2012) sind folgende im Sport wesentliche Faktoren Leistungslimitierend: Skelettmuskulatur, Sauerstoffversorgung des Gewebes und Energiebereitstellung. Skelettmuskulatur weist hohe Plastizität auf, sowie Adaptationsmöglichkeiten auf neuronaler und morphologischer Ebene, als Reaktion auf zahlreiche Trainingsreize. Derzeitige Untersuchungen beschäftigen sich mit molekularen Mechanismen der Regulation im Zusammenhang mit Anpassung, Regeneration und Entwicklung der Skelettmuskulatur. Die Erkenntnisse dieser Untersuchung können einerseits genutzt werden, neue Therapieansätze für muskuläre Erkrankungen, wie z.B. Muskeldystrophie, zu entwickeln, andererseits können diese Erkenntnisse auch missbraucht werden, um Angriffsziele für Manipulation (genetisch und pharmakologisch) zu identifizieren, die zur Leistungssteigerung verwendet werden können (vgl. Diel, 2012, S. 30).

Muskelstammzellen (MuSCs) bzw. Satellitenzellen sind für die Skelettmuskelregeneration essentiell. Während des Alterungsprozesses vermindert sich die Fähigkeit der Satellitenzellen, die Skelettmuskelmasse und Kraft nach akuter Verletzung zu regenerieren. Dadurch verschlechtert sich auch die Lebensqualität. Forscherteam Blau, Cosgrove und Gilbert (2012) haben sich in ihrem Laboratorium darauf konzentriert, Mechanismen zu identifizieren, die für die Regenerative Dysfunktion von alten Muskelstammzellen (muscle stem cells, kurz: MuSCs) grundlegend sind. Immer mehr Hinweise belegen, dass der altersbedingte Abfall muskulärer, regenerativer Kapazität, größtenteils, durch Veränderungen in systemischer und in lokaler Mikroumgebung, hervorgerufen wird.

Blau et al. (2012) haben die Methode zur Steigerung, der Regenerationsfähigkeit alter Stammzellen, patentiert. Hemmung der p38 Signalweg ist Effektiv, um Verjüngung und Proliferation gezielter Zellen zu stimulieren. Inhibitoren von Interesse sind kleine Moleküle: Polynukleotiden, Antikörper, Antagonist Proteine, kleinmolekularen Hemmstoffen von α und β Isoformen der p38-MAPK z.B. SB202190, SB203580, usw.

Blau et al. (2012) beweisen, dass Muskelstammzellen einer alten Maus für die Regeneration inhärent Defekt sind, im Vergleich zur jungen Maus. Sie zeigen intrinsische altersbedingte Defekte die Bewältigt werden können, durch transiente ex vivo Exposition gegenüber (to) p38 Inhibitor in Kombination mit Softhydrogelkultur. Dadurch ist die Proportion und die absolute Anzahl funktioneller Stammzellen gestiegen. Schließlich ist das eindrucksvollste Ergebnis, dass die Kraft der alten Muskel deutlich erhöht wird, durch die anschließende lokale Transplantation der ex vivo- behandelten alten MuSCs. Diese Ergebnisse indizieren, dass ex vivo Exposition der MuSCs an Solfthydrogel to p38 Inhibitor oder in vivo Exposition der p38 Inhibitor, lokalisierte Stammzelltherapie für Muskelatrophie bei alten Individuen, nach eine Verletzung, sein kann.

Skelettmuskelalterung führt zum sukzessiven Verlust der Muskelmasse, der Skelettmuskelfunktion und regenerativer Kapazität. Diese Verluste führen weiterhin zur Sarkopenie und zur gesteigerten Mortalität. Forschergruppe Bernet, Doles, Hall, Tanaka, Carter und Olwin (2014) untersuchten die Skelettmuskelalterung und versuchten die Signalwege, die Satellitenzellfunktion während der Alterung zu beeinflussen und zu identifizieren.

Fibroblastenwachstumsfaktor- Rezeptor Tyrosinkinase (Fibroblast growth factor receptor, kurz: FGFR) hat eine wichtige Rolle in der Koordination extrazellulärer Signale mit intrinsischen Satellitenzellregulatorischen Netzwerken. FGFRs fordert mittelbar die Proliferation durch die Hemmung der Myoblastdifferenzierung. Satellitenzellen exprimieren FGFR1, welche terminale Differenzierung verhindern (Hannon et al., 1996, z.n. Bernet et al. 2014) und FGFR4 (Kästner et al., 2000, z.n. ebd.) welche in der Zellschicksalsentscheidung während embryonaler Muskelentwicklung eine Rolle spielen (Lagha et al., 2008, z.n. ebd.). Intrazelluläre Signale, die durch FGFR1 aktiviert sind, inkludieren beide extrazelluläre signalregulierte Kinasen, sowie p38 α und p38 β - mitogenaktivierte Proteinkinasen (MAPK) Signalisierung. Diese intrazelluläre Signale regulieren die Satellitenzellproliferation und die asymmetrische Teilung. Mitglieder der MAPK Familie haben unterschiedlich komplizierte Rollen in der Aufrechthaltung, in der Proliferation, in der asymmetrischen Teilung und in der Differenzierung der Satellitenzellen (vgl. Bernet et al., 2014).

Die Autoren dieser Studie zeigen, dass die Satellitenzellen der alten Maus einen zellautonomen Defekt in der Selbsterneuerung haben. Sie demonstrierten, dass dieser zellintrinsische Defizit aus beeinträchtigt Antwort auf FGF Liganden und aus erhöhter p38 α / β MAPK- Aktivität entsteht. Wird dieser Defekt korrigiert, wird die Selbsterneuerungskapazität der Satellitenzellen in der alten Maus gerettet. Diese Daten identifizieren Zellautonome FGF- p38 α / β MAPK Signalisierung als kritischen Signalweg,

der in Satellitenzellen der alten Maus dereguliert ist. Sie zeigen dadurch auch die einzigartige therapeutische Möglichkeit für klinisches Management altersbedingter Sarkopenie.

Diese Studie wollte zwei ungelöste Hauptthemen behandeln: (1.) ob die Satellitenzellen der alten Maus die zellintrinsische Veränderung in der Selbsterneuerung aufweisen (2.) wie ist das Langzeitverhalten der Satellitenzellen der alten Maus, wenn sie in junge Umgebung transplantiert werden. Bernet et al. (2014) zeigten, dass die Satellitenzellen der alten Maus nicht in der Lage sind, sich selbst zu erneuern, auch wenn sie in Junge Hostumgebung transplantiert werden. Dieser Misserfolg führte zur Identifikation eines Zellautonomen Defizits in diesen Zellen. Veränderung in FGF- p38 α / β MAPK Signalweg tritt im altersassoziierten Defizit auf.

Frisch isolierte Satellitenzellen aus alten Mäusen zeigen erhöhte p38 α / β MAPK- Aktivität in Vergleich zu jungen Mäusen. Autoren gehen davon aus, dass die alte Umgebung dazu beiträgt. Weiters verhindert die Hyperaktivität der p38 α / β MAPK asymmetrische p38 α / β MAPK Signalisierung und somit unterbricht sie die asymmetrische Teilung und Generierung ruhender Tochterzellen (vgl. Bernet et al., 2014).

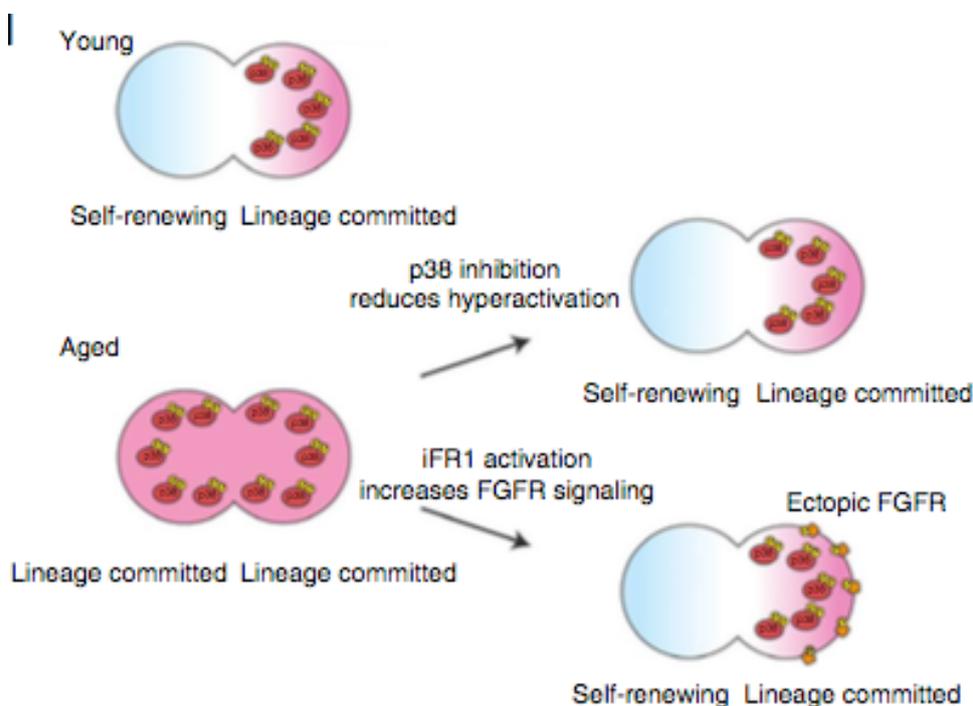


Abb. 15. partielle Hemmung der p38 α / β MAPK rettet Engraftment der Satellitenzellen aus alten Maus (vgl. Bernet et al., 2014).

Asymmetrische p38 α / β MAPK Aktivierung fordert die Satellitenzellselbsterneuerung in einer jungen Maus durch Generierung ruhender Tochterzellen und durch Zellfolgefestgestellte (lineage committed) Tochterzellen. Erhöhte Phospho- p38, in Zellen einer

alten Maus, verhindert asymmetrische p38 α / β MAPK Signalübertragung und generiert zwei lineage committed Tochterzellen. Partielle Hemmung der p38 α / β MAPK lässt asymmetrische p38 α / β MAPK Aktivierung zu und stellt Satellitenzellselbsterneuerung wieder. Ektopische Aktivierung von konstitutiv exprimierten iFR1²⁵ relokalisiert iFR1 in asymmetrischen Signalkomplex, welcher die asymmetrische Lokalisierung aktiver iFR1 fördert. Dies resultiert in asymmetrische Aktivierung der p38 α / β MAPK und in die Selbsterneuerung.

Autoren zeigen, dass partielle Hemmung der p38 α / β MAPK in Satellitenzellen aus einer alten Maus Generierung der Pax7+ Zellen wiederherstellt, Satellitenzellanzahl mit asymmetrischen Phospho- p38 α / β MAPK steigert, die Satellitenzellselbsterneuerung der alten Maus dreifach steigert und Engraftment rettet, sowie die Zellen in jungen Hostmuskeln aufrecht hält.

Hier wurde gezeigt, dass ektopische ligandenunabhängige Aktivierung der FGFR1 Signaling asymmetrische Phospho- p38 α / β MAPK- Aktivierung wiederherstellt. Diese ist im Einklang mit Rettung der Selbsterneuerung in der Satellitenzellkultur der alten Maus. Darüberhinaus, fördert die Aktivierung ektopischer exprimierte iFR1 asymmetrische Kolo-kalisation der iFR1 und der Phospho- p38 α / β MAPK und unterstützt somit die Rolle für FGFR1 Signaling in der asymmetrischen Satellitenzellteilung und in der Selbsterneuerung.

Attenuation der FGFR1 Aktivierung durch FGF Ligands in Satellitenzellen der alten Maus verhindert asymmetrische Division, welche die *Lineage Commitment* in beiden Tochterzellen fordert, die Selbsterneuerung und somit auch die Stammzellpopulation reduziert.

Ligadenunabhängige Aktivierung der FGFR1 stellt die Satellitenzellerneuerung wieder. Es ist wahrscheinlich, dass Herunterregulierung FGFR1 Signalisierung, funktions- und reaktionsfähig in Satellitenzellen der alten Maus, bleibt.

Zusammenfassend lässt sich schließen, dass der zellautonome Verlust in der Selbsterneuerung durch Änderung in Fibroblast Wachstumsfaktorrezeptor 1, p38 α und p38 β mitogenaktivierte Proteinkinase Signalisierung in Satellitenzellen von alternden Mäusen erfolgt. Sie demonstrierten, wie pharmakologische Manipulation diesen Bahnen, alter-assoziierte Selbsterneuerungsdefekte, verbessern kann. Präzise Mechanismen der FGFR1 Involvierung in asymmetrische Aktivierung der p38 α / β MAPK ist unklar. Diesen Bereich gilt es in Zukunft mehr zu erforschen.

²⁵ Interim Feature Release

Manipulation der Stammzellselbsterneuerung durch Steigerung der FGFR1 Signaling und durch Reduzierung der p38 α/β MAPK Aktivierung um Satellitenzellselbsterneuerung zu steigern/ erhöhen, repräsentiert potentiell neue therapeutische Strategie für Verbesserung der Sekeletmuskelregeneration und für Aufrechthaltung älterer Population (vgl. Bernet et al., 2014).

Cosgrove et al. (2014) zeigen auch, dass Muskelregeneration im fortschreitenden Alter durch zellautonomen Funktionsabfall in Muskelstammzellen (muscle stem cells, kurz: MuSCs) beeinträchtigt wird. Ergebnisse der Untersuchung zeigen, dass MuSCs der alten Maus autonome Regenerationsdefekte haben. Zwei Drittel der MuSCs der alten Maus sind, im Vergleich zum MuSCs der jungen Maus, intrinsisch fehlerhaft. Alte MuSCs haben reduzierte Kapazität, um Myofibrillen zu reparieren und Stammzellreservoir *in vivo* zu erneuern. Dieses Defizit korreliert mit höherer Inzidenz der Zellen, die Seneszenz Marker exprimieren und durch p38 α/β MAPK Signalweg bedingt sind. Das Defizit konnte auch nach der Transplantation in Mikroumgebung junger Hostmuskel, nicht überwunden werden. Im Gegenteil, das Unterziehen der MuSCs Population der transiente Inhibition der p38 α/β der alten Maus in Konjunktion mit Hydrogel Kultursubstrat, expandiert die restliche MuSC Population schnell aus der alten Maus, verjüngt ihr Potential für Regeneration und Serial-transplantation, sowie die Kräftigung verletzter Muskeln der alten Maus.

Ergebnisse der Studie zeigen:

- Molekulare- und zelluläre Veränderungen in MuSCs einer alter Maus
- p38 α/β Hemmung steigert die MuSC Proliferation

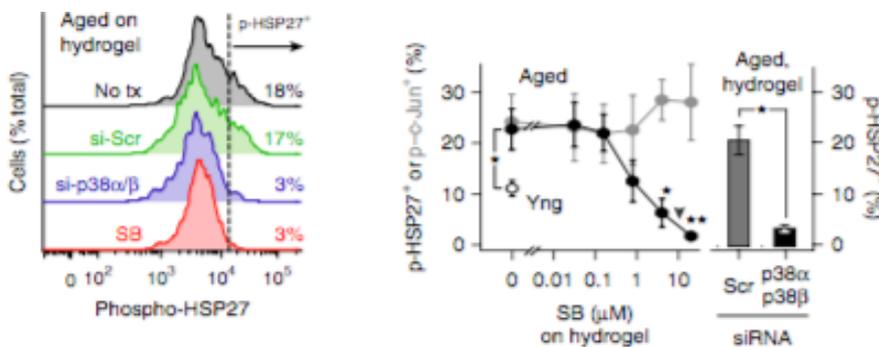


Abb. 16. a) Representative Phospho-HSP27 Histogramm aus n=3 Wiederholungen; b) Zellfraktionen positiv auf Phospho- HSP27 (gefüllte und ungefüllte schwarze Kreise) oder phospho- c- Jun (graue Kreise) (vgl. Cosgrove et al., 2014).

p38 α/β Hemmung während der Kultivierung der MuSCs einer alten Maus am Softhydrogel Substrat könnte die Stammzellfunktion verbessern. Nach einer Woche an Softhydrogel

Substrat, war die p38 α / β - Signalaktivität in kultivierter MuSCs der alten Maus höher als in kultivierten MuSCs der jungen Maus. Das indiziert den Unterschied in gleichen Kultur-Environment. Behandlung der MuSC Kultur der alten Maus mit SB202190 (kurz: SB), an imidazolbasierten ATP kompetitiver Inhibitor und isoformen der p38- MAPK, verringert p38 α / β Signaling wesentlich, bis zum Niveau unter diesem von kultivierter MuSCs der jungen Maus (Abb b). Mit der Zufuhr von zwei isoform-spezifischen siRNA, konnten die Forscher effizient *Mapk14* (Kodierung p38 α) und *Mapk11* (Kodierung p38 β) Expression herunterregulieren. Kombinierte p38 α / β siRNA - Behandlung zeigte Abfall der phospho-HSP27+ Zellfrequenz in der MuSC Kultur der alten Maus, was eine weitere Bestätigung des SB-Target war.

Transient (1 Woche) SB-Behandlung mildert den proliferativen Defekt in der MuSC Kultur der alten Maus in konzentrationsabhängiger Weise. Eine Woche SB- Behandlung der MuSCs der alten Maus ergab eine 35-fache Erhöhung in kumulativer Zellanzahl in Relation zur Anfangspopulation.

- SB- Hydrogel reguliert synergistisch Schicksal der MuSCs der alten Maus

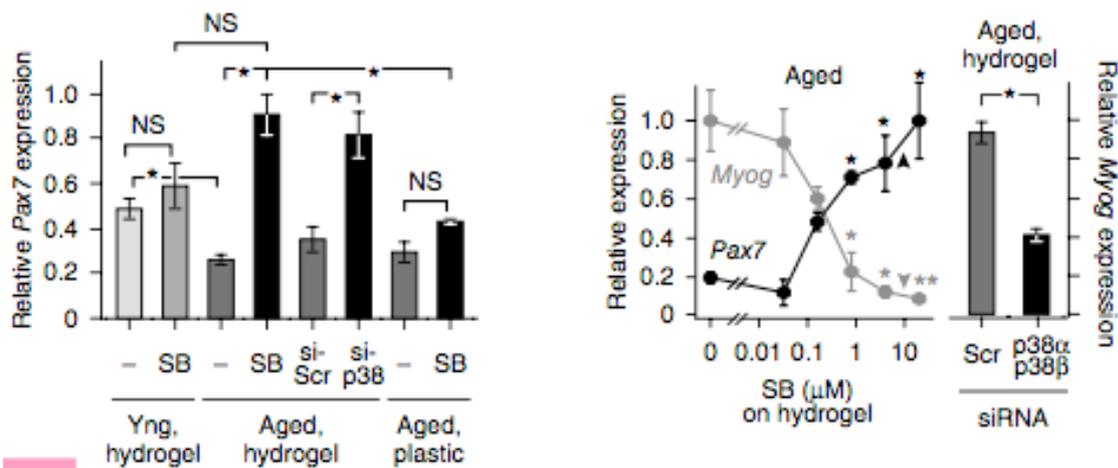


Abb. 17. p38 α / β MAPK Hemmung induziert Proliferation und vergrößert die Stammzellgenexpression in MuSCs der alten Maus in Softhydrogel Kultur. RT-qPCR analyse der Pax und Myog expression (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Behandlung der MuSCs der alten Maus mit entweder SB Inhibitor oder kombinierter p38 α / β siRNAs, liefert gesteigerte Expression der Muskelstammzell- Gene *Pax7* und vermindert die Expression der *Myog*, aber nur wenn die Zellen an Sopfhydrogel bewahrt waren.

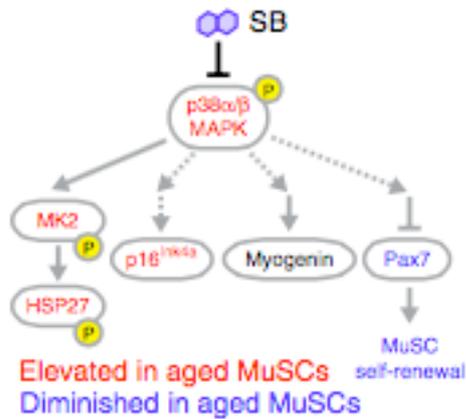


Abb. 18. Zusammenfassung der SB-Effekte an MuSCs der alten Maus in der Hydrogelkultur (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Diese Beobachtungen zeigen, dass MuSCs der alten Maus synergistisch biophysische (Hydrogel Substrate) und biochemische (p38α/β Inhibitor) Signale brauchen, um Stammzellgenexpression zu erweitern.

- Regeneratives Potential der MuSCs der alten Maus ist wiederhergestellt

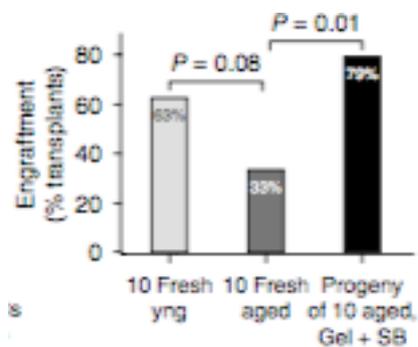


Abb. 19. Anteil/Prozentzahl der Transplantate über Engraftment Grenzwert/Schwelle (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Kombination biophysischer und biochemischer Signale hebt die Proportion der MuSCs mit regenerativer Funktion innerhalb der Population der alten Maus, so dass sie äquivalent ist, mit der aus der jungen Maus isolierten MuSC Population.

- Erhöhung der funktionalen MuSCs der alter Maus

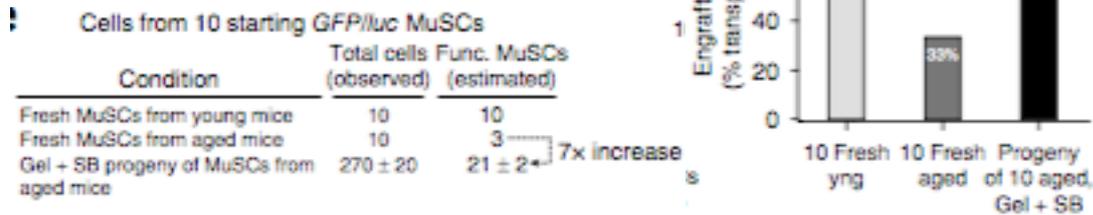


Abb. 20. p38 α / β Hemmung und Softhydrogel Substrate wirken steigend auf den Gesamtertrag funktionaler alternder Stammzellen (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Transplantation frisch isolierter MuSCs der alten Maus resultiert in 33% Engraftmentsfrequenz. Während Transplantation der SB-Hydrogel kultivierter Abkömmlinge (Gewinn der 270 gesamten Zellen) in Engraftment (79%) resultiert, ähnlich zu frisch isolierten MuSCs der jungen Maus (63%). Verbesserte Transplantat-Engraftmentfrequenz der SB-Hydrogel Abkömmlinge liefert die Beweise einer schnellen Expansion funktionaler Zellpopulation der alten Maus.

- Langzeitfunktion der alten MuSC Population ist verjüngt

Histologische Analysen bestätigten, dass MuSCs der alten Myf5-lacZ Maus, *ex vivo* in SB-Hydrogel in die native Nische, einen Monat nach anschließender Transplantation expandierten, um den Langzeit Stammzellreservoir aufzufrischen.

Im Vergleich zu frisch isolierten MuSC der alten Maus, welche verminderte ein Kapazität, die Muskel nach serielle Transplantation zu regenerieren hat, können die Abkömmlinge der MuSCs der alten Maus, die in SB-Hydrogel kultiviert waren, seriell transplantiert werden. Sie können robuste und stabile Engraftment und GFP+ Myofibrillen bei sekundären Rezipienten hervorbringen. Diese MuSCs Population bewältigt den Defekt der Langzeit Zellrepopulation und unterstützt die weitere Beweise der *ex vivo* Expansion funktioneller Stammzellpopulation.

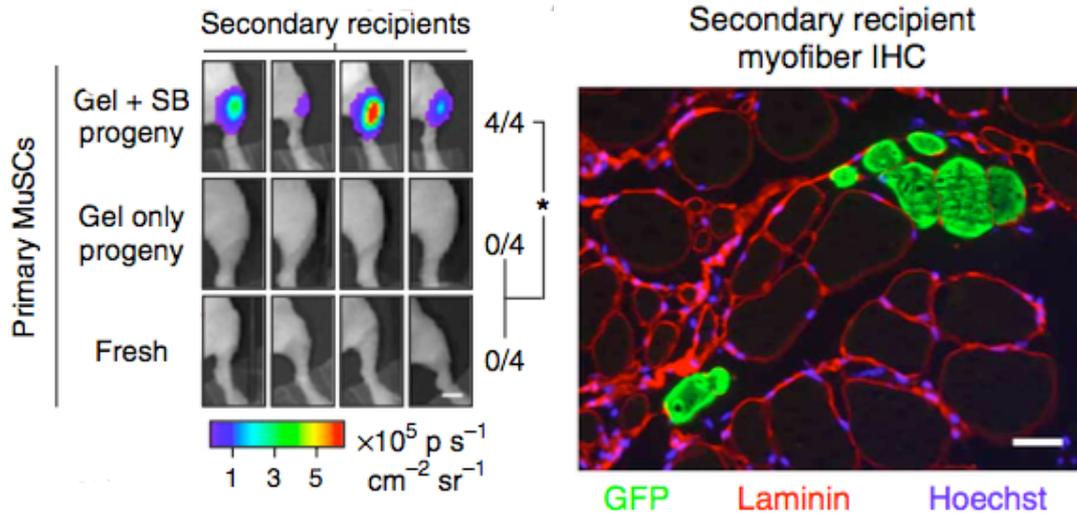


Abb. 21. *Ex vivo*-expandierte Abkömmlinge der MuSCs der alten Maus, stellen die Stammzellreserven *in vivo* dar und könnten seriell Transplantiert werden (vgl. Cosgrove et al., 2014).

- verjüngte MuSC Population stärkt alten Muskel

Diese Daten zeigen, dass expandierte MuSC Population der alten Maus zu der Anzahl gestiegen ist, sodass effektive Reparatur meiste Myofibrillen der verletzten Muskel der alten Maus möglich war.

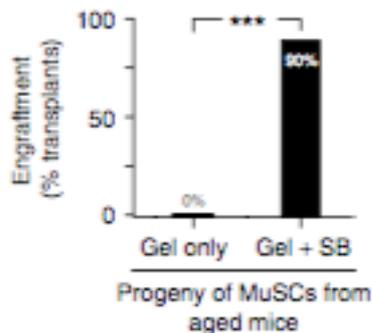


Abb. 22. Transplantat- Engraftmentfrequenz aus BLI (n=10 Empfänger aus 2 Experimenten) (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Autoren bestätigten, dass durch *ex vivo* SB- behandelten Abkömmlingen der MuSCs der alten Maus, die funktionellen Regeneration möglich ist. Muskelkraft wurde bei der verletzten alten Maus, nach Transplantation der *ex vivo* Abkömmlinge der MuSCs der alten Maus, wiederhergestellt.

Diese Ergebnisse unterstützen Beweise potentiell reparierender Funktion der expandierten MuSC Population, auch bei verletzten syngenen und bei immunkompetenten Empfänger, welche aus alter Maus hervorgeht (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Vorliegende Ergebnisse zeigen ein Zusammenspiel zwischen biophysikalischen und biochemischen Signalen, die Paradigma für Lokalisierung autologer Muskelstammzelltherapie für ältere Menschen fördert.

Zusammenfassend lässt sich schließen, dass MuSC Population der alten Maus inhärent in ihrer essenziellen Funktion, Regeneration verletzter Myofibrillen und Repopulation der Stammzellreserve, defekt ist. Es wurde demonstriert, dass Reduktion der Funktion der MuSCs der alten Maus in vitro Kultur bewältigt werden kann. Dies durch kombinierten Effekt kleinmolekularer Hemmstoffe p38 α / β MAPK und poröser Hydrogel Substrat- mit biophysischen Eigenschaften, welche die Elastizität junger Muskeln besitzen. Synergistische Kombination dieser biochemischer und biophysischer Signaler stimuliert schnelle Expansion funktionaler Stammzellen. Die Abkömmlingen der MuSCs der alten Maus generieren die Stammzellpopulation mit verjüngender Funktion, welche Kraft in beeinträchtigte Muskeln der alten Maus wiederherstellen kann (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Regeneration der Skelettmuskulatur hängt von der adulten Stammzellpopulation (Satellitenzellen) ab. Funktion der Satellitenzellen fällt im Alterungsprozess ab. Untere Abbildung zeigt regenerative Kapazität der Muskulatur nach eine Muskelverletzung (vgl. Li & Belmonte, 2014):

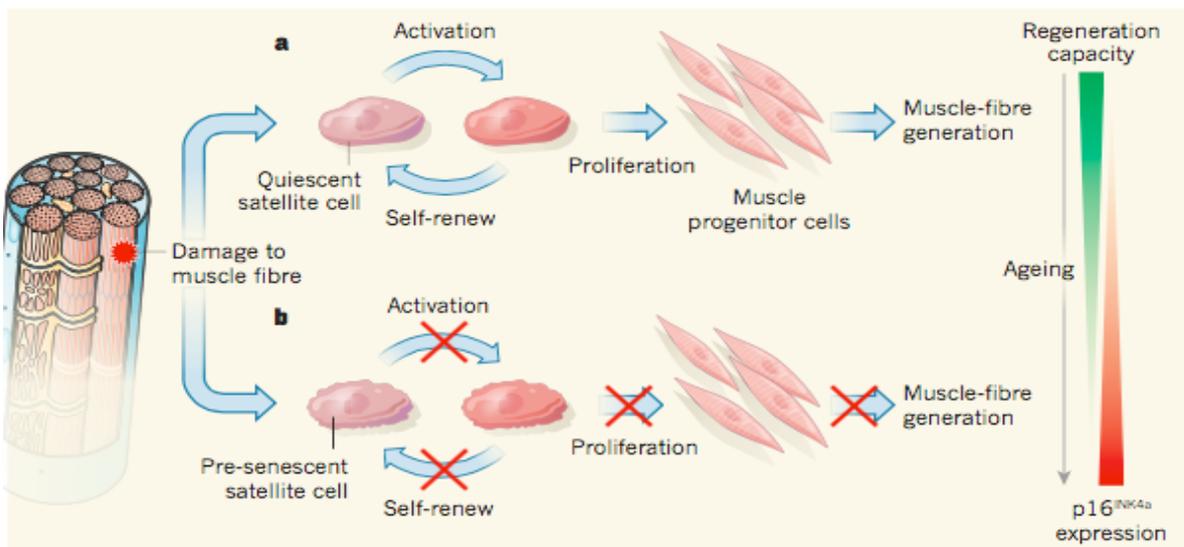


Abb. 23. Muskelregeneration während des Alterungsprozesses (vgl. Li & Belmonte, 2014)

Oberer Teil der Abbildung zeigt junge, funktionsfähige Satellitenzellen, die unter normalen Bedingungen im Ruhezustand bleiben. Bei einer Muskelfasererletzung werden die Satellitenzellen aktiviert und treten wieder in den Zellzyklus ein. Einerseits proliferieren sie und produzieren Muskelvorläuferzellen, die neue Muskelfasern generieren. Andererseits fühlen sie ihre eigene Population, durch die Selbsterneuerung, auf (vgl. Li & Belmonte, 2014).

Unterer Teil der Abbildung zeigt, nach Sausa-Victor et al. (2014), geriatrische Satellitenzellen. Diese Zellen verlieren ihren reversiblen Ruhezustand aufgrund von Gen p16INK4a. Dieser Gen ist der Regulator zellulärer Seneszenz. Aktivierung des p16INK4a Gens beeinträchtigt den Regenerationsprozess, inklusiv Aktivierung, Proliferation und Selbsterneuerung (z.n. Li & Belmonte, 2014).

Um den Zeitraum des maximalen altersbedingten Muskelverlustes *in vivo* abzugrenzen, untersuchte die Forschergruppe Sausa-Victor et al. (2014) die Muskeleigenschaften der Wildtyp-Mäuse von 2-3 Monaten (jungen Maus), 5-6 Monaten (adulten Maus), 20-24 Monaten (alten Maus) und 28-32 Monaten (geriatrischen Maus).

Weiters analysierten sie die regenerative Kapazität der Satellitenzellen physiologisch alternder Mäuse, mit oder ohne Sarkopenie, nach Muskelverletzung mit Cardiotoxin (CTX) Injektion. Im Vergleich zur adulten Maus war die Regenerationseffizienz der alten Maus reduziert, aber bei geriatrischer Maus deutlich verringert.

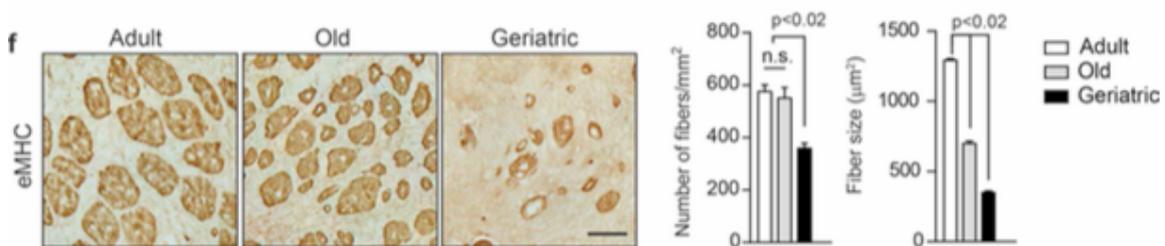


Abb. 24. eMHC Färbung in Kyroschnitten regenerierender M. tibialis anterior bei erwachsenen, alten und geriatrischen Mäusen, eine Woche nach der CTX-induzierten Verletzung. Histogramm stellt die Quantifizierung der Anzahl von eMHC²⁶ Muskelfasern. Histogramm stellt die Quantifizierung der Anzahl der eMHC Muskelfaser und Muskelfasergröße, evaluiert durch Querschnittsfläche (vgl. Sausa-Victor et al., 2014).

Anschließend, evaluierten sie, ob die Satellitenzellintrinsic Veränderung, den regenerativen Abfall bei geriatrischer Maus verursacht. Die Ergebnisse zeigten, dass das geriatrische Alter die intrinsic Veränderung der regenerativen Funktion der Muskelstammzellen induziert. Diese konnten in junger Hostumgebung nicht verjüngt werden.

²⁶ Embryonale schwere Kette von Myosin (engl. *embryonic myosin heavy chain*, kurz:eMHC)

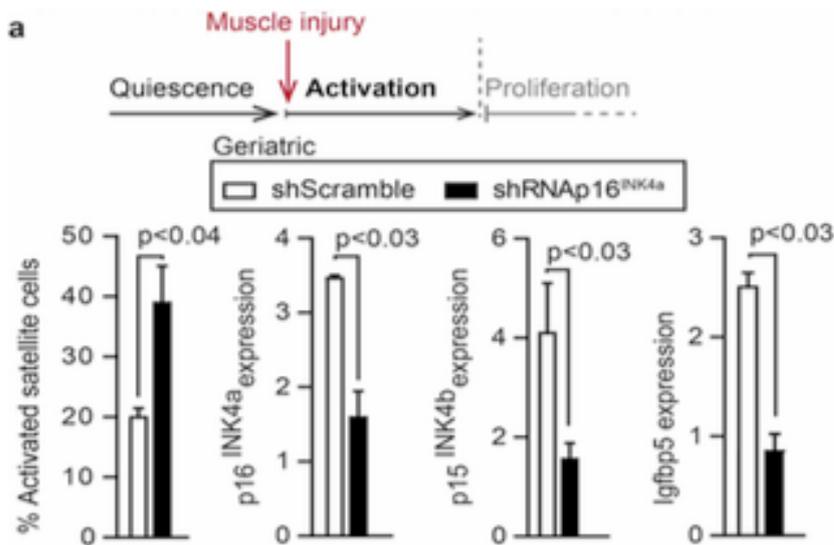


Abb. 25. p16INK4a Stilllegung stellt den reversiblen Ruhezustand in geriatrischen und progerischen Satellitenzellen wieder her. Anzahl aktivierter (pax7 MyoD) Satellitenzellen, und p16INK4a und Igfbp5 Expression durch RT-qPCR in M. tibialis anterior aus geriatrischen Maus transduziert mit Ad-shRNAp16INK4a oder Ad-shScramble, 14h nach CTX-Verletzung. Expression dieser Werte steht in Referenz zu Erwachsenen (vgl. Sausa-Victor et al., 2014).

Autoren demonstrierten, dass p16INK4a kausaler Verlust des reversiblen Ruhezustandes die geriatrischen Satellitenzellen zur Folge hat. Nach genetischer Stilllegung von p16INK4a zeigten geriatrische Satellitenzellen die Aktivierungskapazität. Die Zuführung der short hairpin RNA (shRNA) zielt auf p16INK4a shRNA ab, kontrolliert aber nicht die Verschlüsselung der shRNA (shScramble). In stillen geriatrischen Satellitenzellen reguliert der p16INK4a die Expression herunter und stellt signifikant die Aktivierung baldig nach der Verletzung wieder her, während die Expression der Seneszenz- assoziierten Gene reduziert wird.

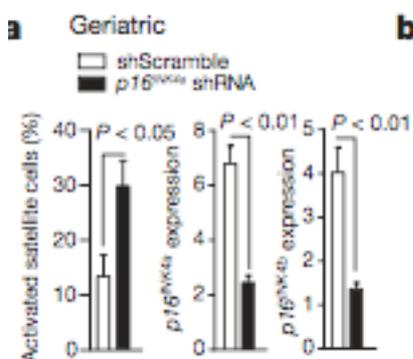


Abb. 26. p16INK4a Stilllegung (vgl. Sausa-Victor et al., 2014).

Die Stilllegung des p16INK4a rettet den permanente Zellzyklus-Arrest und erlaubt geriatrischen Satellitenzellen die Aktivierung in der Kultur.

Rückkehr in den Ruhezustand (Selbsterneuerung) ist entscheidend für die

Wiederherstellung des Stammzellpools nach der Gewebeerletzung. Um zu testen, ob Wechsel des Ruhezustands zur Seneszenz die Selbsterneuerungskapazität der Satellitenzellen beeinflusst, haben die Forscher aufeinanderfolgende Runden der Muskelverletzung durchgeführt.

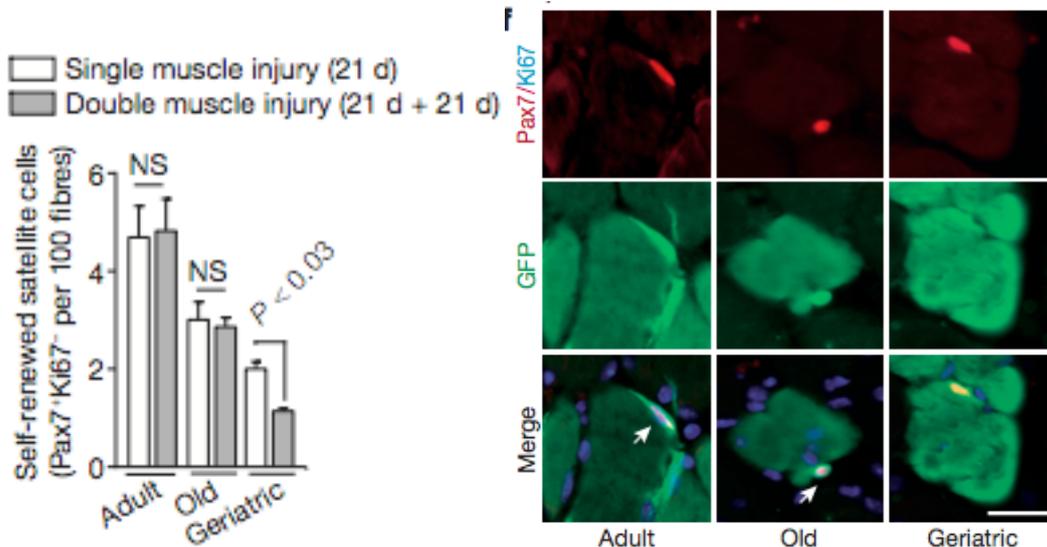


Abb. 27. a) Selbsterneuerte Satellitenzellen (Pax7, Ki67) bei einmaliger und doppelter CTX-verletzten Muskel (am 21 Tag und am 21+21, jeweils); b) 21-Tag selbsterneuerte Satellitenzellen aus (a) mit/ohne p16INK4a Stilllegung (vgl. Sousa-Victor et al., 2014).

P16INK4a Expression hemmt die Satellitenzellaktivierung und die Selbsterneuerung im verletzten Gewebe, was im Laufe der Zeit die Stammzelldepletion der Sarkopenie verursacht.

Sousa-Victor et al. (2014) zeigten, dass geriatrische Satellitenzellen nicht mehr die Fähigkeit besitzen, ihren Ruhezustand unter normalen homöostatischen Bedingungen zu erhalten. Das wirkt sich auch auf intrinsische Regenerativ- und Selbsterneuerungskapazität aus. Bei der geriatrischen Maus, verlieren ruhende Satellitenzellen ihren reversiblen Ruhezustand in dem sie zu irreversiblen Prä-seneszenz Zustand wechseln. Dieser Wechsel wird durch Aktivierung (engl. *depression*) des Gens p16INK4a verursacht. Tritt eine Verletzung auf, sind diese Zellen nicht mehr in der Lage sich zu aktivieren und zu proliferieren. Stattdessen erfahren sie beschleunigten Eintritt in vollständigen Seneszenzzustand (engl. *geroconversion*) auch nach Transplantation in junge Umgebung. P16INK4a Stilllegung in geriatrischen Satellitenzellen kann den Ruhezustand und die Muskelregenerationskapazität wiederherstellen.

Ergebnisse der Sousa-Victor et al. (2014) zeigen, dass die Aufrechterhaltung des Ruhezustandes im adulten Leben von aktiver Repression der Seneszenz der Signalwege abhängt. Fehlregulation des p16INK4a Gens bei menschlichen geriatrischen Satellitenzellen stellt die Basis für die Stammzellverjüngung dar.

6. Diskussion der Studien Ergebnisse

Das Ziel vorliegender Masterarbeit war es, den aktuellen Forschungsstand der Stammzellforschung in ausgewählten Bereichen aufzuzeigen. Die Arbeit gliedert sich in vier große Bereiche: theoretischer Teil, Applikationsteil, Auswirkung der körperlichen Aktivität auf Stammzellverhalten und Möglichkeiten zur Manipulation mit Stammzellen.

Im Rahmen des ersten Kapitels wurden die für die Arbeit relevanten Grundbegriffe vorgestellt und die Stammzellen wurden definiert. Weiters wurden die Entwicklungs- und Differenzierungsmöglichkeiten der Stammzellen, die Arten der Stammzellen, und die Anwendungsfelder aufgezählt.

Stammzellen finden ihren Einsatz im intradisziplinären Bereich des Tissue engineering und regenerativer Medizin (TERM). Dazu gehören u.a. Zelltherapie und Transplantation *autologer* (Körpereigener) Stammzellen und *allogener* (Körperfremden) Stammzellen. Nachteil bei der Verwendung allogener bzw. körperfremder Zellen ist die Abstoßreaktion und die unkontrollierte Immunreaktion gegen das Empfängergewebe, sowie eine lebenslange Einnahme der Immunsuppressiva. Aufgrund der Problematik der Organspenderknappheit v.a. im hochentwickelten Industrieländern wo die Anzahl älterer PatientInnen ansteigt, könnte es sinnvoll sein, alternative Behandlungsmöglichkeit, wie z.B. TERM zu etablieren (vgl. Jungebluth et al., 2014).

IPS-Zellen stellen eine denkbare Alternative in der Zelltherapie, wegen ihre autologer Herkunft und der Pluripotenz, dar. Sie sind in der Lage patientenspezifische Zellen zu generieren, und somit werden sie nicht vom eigenen Immunsystem abgestoßen. Sie eignen sich gut für die Erforschung der Krankheitsverläufe, sowohl bei *in vitro* Modellen, als auch bei *in vivo* Modellen. Die wichtigsten Einsatzmöglichkeiten der IPS-Zellen liegen bei Zellkulturmodellen, bei Medikamentenscreening und bei der Produktion von Krankheitsphänotypen für die Krankheitsmodellierung (vgl. Fujimaki et al., 2013.; Wu und Hochedlinger, 2011). Bevor die iPS-Zellen im klinischen Alltag Einsatz finden, ist es wichtig herauszufinden, ob man relevante Krankheitsphänotypen vertrauensvoll *in vitro* reproduzieren kann, und wenn das funktioniert, ob diese Krankheitsmodelle *in vivo* Krankheitsverhalten exakt vorhersehen können (vgl. Fujimaki et al., 2013). Daher ist es wichtig, mithilfe der Grundlagenforschung und mithilfe präklinischer Studien, die zugrunde liegende Mechanismen zu erforschen und bestehende Konzepte zu optimieren (vgl. Jungebluth, et al., 2014).

Das zweite große Themengebiet war die Applikation der Stammzellen in ausgewählten Organen und Organsystemen. Untersucht wurden Muskeln (Skelettmuskeln und Herzmuskel), Gefäße und Leber.

Zustände des Muskelabbaus, wie muskuläre Dystropie, Kachexie und Sarkopenie, können von stammzellbasierten Therapieansätzen, welche die Skelettmuskeln regenerieren, Nutzen ziehen. Mehrere, sowohl Tierversuche, als auch klinische Studien konnten bereits die Durchführbarkeit von Zelltransplantationen bei Muskeldystrophie nachweisen. Ein Großteil der Studien befinden sich, noch immer im Grundlagereforschungsbereich. Bei den Applikationsverfahren wurden bereits unterschiedliche Stammzellen erprobt.

Zurzeit stellen die Myoblasten der Satellitenzellen eine nicht ganz geeignete Stammzellquelle für die Behandlung muskulärer Erkrankungen dar (vgl. Tadesco et al., 2010; Bajek, et al., 2015). Die meisten Studien wurden in den 90er Jahren durchgeführt. Sie zeigten, dass die Myoblasten-Transplantation sicher ist und dass es zu keinen unerwarteten Nebeneffekten kam. Sie sind aber aufgrund der Abstoßungsreaktion der Spenderzellen und der damit verbundenen Einnahme der Immunsuppressiva für die Transplantation eher ungeeignet. Zudem zeigte ein Großteil der Studien keine funktionelle oder klinische Verbesserung bei PatientInnen (vgl. Bajek, et al., 2015). Es mangelt noch immer an relevanten Lösungsansätzen für die erfolgreiche Expansion der Satellitenzellen *in vitro*. Es gilt weiterhin die Signalwege, welche die Satellitenzellenselbsterneuerung regulieren, weiter zu erforschen (vgl. Rinaldi & Pellingiro, 2014). Laufende klinische Studien mit Mesoangioblasten (vgl. Tedesco et al., 2011; Tadesco et al., 2012) und Perizyten (vgl. Dellavalle et al., 2011) zeigen keine Nebenwirkungen, aber die Effizienz wurde noch immer nicht nachgewiesen. Weitere tierexperimentellen Studien wurden mit menschlichen CD133+ Zellen (vgl. Meng et al. 2014) und Muskel-abgeleiteten Stammzellen (vgl. Ota et al., 2011) durchgeführt. Beide Studien zeigten bei der Maus verbesserte Muskelregeneration. IPS- Zelltechnologie (vgl. Kazuki et al., 2010; Tedesco et al., 2011; Tadesco et al., 2012; Darabi et al., 2012) stellt eine spannende Möglichkeit für zellbasierte Therapien dar. Allerdings gilt es noch einige Sicherheitsbedenken zu untersuchen, bevor sie klinisch eingesetzt werden könnten. Z. B. die Entwicklung effizienter Methoden für die Generierung und Derivierung skelettmyogener Vorläuferzellen, sowie sichere Genkorrektur und Reinigung der iPS-Zellen zur Eliminierung der Tumormutationen (vgl. Rinaldi & Pellingiro, 2014).

Klinische Studie von Sharma et al. (2013) zeigte bei 150 Patienten Effizienz und Sicherheit der Therapie mit autologen mononukleären Knochenmarkzellen. Zudem wurde eine funktionelle Verbesserungen nachgewiesen und die Steigerung der Lebensqualität

des Patienten mit Muskeldystrophie. Da es sich hier um eine monozentrische Studie handelt, ohne eine Kontrollgruppe, empfehlen die Autoren mehrere große multizentrische klinische Studien für zukünftige Analysen und für fundierte Effizienz.

Eine weitere wichtige Aufgabe bzgl. der Stammzelltransplantation bei muskulären Erkrankungen ist die Entwicklung durchführbarer Strategie für den Applikationsweg. Da der Skelettmuskel das größte Organ des menschlichen Körpers darstellt, und meistens mehrere Muskelgruppen durch die Erkrankung betroffen sind, stellt die lokale intramuskuläre Stammzellinjektion nicht die geeignete Heilmethode dar (vgl. Rinaldi & Pellingeiro, 2014).

Trotz zahlreicher laufender Studien, ist die stammzellbasierte Therapie weiterhin in der Phase vorläufiger Testung und erfordert weitere Experimente (vgl. Bajek et al., 2015).

Ajibade, Vance, Hare, Kaplan und Lesnjak weisen in ihrer Übersichtsarbeit (2014) auf die Bedeutung der Applikation der Stammzellen in Bezug auf Sportverletzungen hin. Es besteht ein immer größeres Interesse der LeistungssportlerInnen, ihre sportlichen Verletzungen mittels Stammzelltherapie zu behandeln. Klinische Applikationen wurden bereits am Gelenkknorpel, an Ligamenten, an Sehnen, an Muskeln und an Knochen durchgeführt. Sportverletzungen ziehen eine Reihe negativer Konsequenzen mit sich und zwar nicht nur bei LeistungssportlerInnen, sondern auch bei der FreizeitsportlerInnen wie beispielsweise Ausfall bei der Arbeit, weniger Entlohnung, Veränderung emotionaler und sozialer Gesundheit wegen Beeinträchtigung der Funktion und der Mobilität. Leistungssportler haben ein besonderes Interesse ihre Topform wieder zu erreichen, daher hat die Qualität der Geweberegeneration für sie einen besonders hohen Stellenwert. Anhand einer Reihe durchgeführter Studien konkludieren Ajibade et al. (2014), dass stammzellbasierte Therapien und regenerative Medizin sichere und potenziell effiziente Behandlung für sportlich induzierte muskuloskelettale Verletzungen darstellen.

Kardioregenerative Medizin ist ein vielversprechendes Forschungsfeld und stellt einen aussichtreichen Ansatz für innovative, kurative und palliative Behandlung dar. Stammzellbasierte Therapien stellen eine ernsthafte therapeutische Alternative für die Verbesserung der Lebensqualität der Patienten dar, sowie die Möglichkeit bedeutender Kosteneinsparungen für das Gesundheitssystem. Unterschiedliche Stammzellquellen wurden bereits erprobt (vgl. Jungebluth et al., 2014).

In der Singelcenterkohorten Studie (Follow-Up von der große MAGIC Studie) zeigte eine Skelett- Myoblastentransplantation langfristige vorteilhafte therapeutische Effekte für die Behandlung ischämischer Kardiomyopathie. Jedoch limitierte eine kleine Kohorte den

klinischen Impact (vgl. Brickwedel et al., 2013). MARVEL Studie von Povsic et al. 2011 zeigten eine Verbesserung beim 6- Minuten Gehstest nach 3 und nach 6 Monaten, nach einer Applikation autologer Myoblasten in infarzierten Myokard, aber eine ventrikuläre Tachykardie trat häufiger in der Myoblastgruppe auf. Die Studie SEISMIC von Druckers et al. (2011) bestätigte die Durchführbarkeit und Sicherheit der Myoblastentransplantation, aber eine Verbesserung der LVEF nach 6 Monaten Follow-Up wurde nicht aufgezeigt. Die Myoblast-Gruppe erreichte nur eine Verbesserung des 6- Minuten Gehstest. Gegenüber der MARVEL Studie wurde ein häufigeres Auftreten der Tachyarrhythmie in der Behandlungsgruppe bei der SEISMIC Studie nicht gezeigt.

Weiters wurde die Sicherheit und die Machbarkeit myokardialer Behandlung mit Zellen aus Fettgewebe gezeigt (vgl. Perin et al., 2014). Diese Zellen können die ventrikuläre Funktion, myokardiale Perfusion und körperliche Belastungsfähigkeit bei PatientInnen mit ischämischer Kardiomyopathie bewahren (engl. glagol: preserve).

Kardiale Stammzellen wurden in der SCIPIO Studie von Bolli et al. (2011) und Bolli et al. (2012) und in der CADUCEUS Studie von Makkar et al. (2012) und Malliaras et al. (2014) untersucht. Behandlung mit kardialen Stammzellen belegt Sicherheit und liefert ermutigende Ergebnisse für therapeutische Regeneration. In diesen Studien wurde eine Zunahme des vitalen Myokardiums und der Reduzierung der Infarktgröße dokumentiert.

Zahlreiche klinische Studien haben Knochenmarkstammzelltherapie (BMMNC- Therapie) untersucht. Studien, die in der vorliegenden Arbeit inkludiert waren, sind: STAR- heart-study (vgl. Strauer et al., 2010), COMPARE- AMI Studie (vgl. Mansour et al., 2010; Mansour et al., 2011), Metaanalyse von Jong et al. (2014), Jeevananthaam et al. (2012) und Zimmet et al. (2012). Knochenmarkstammzelltherapie hat sich als sicher und durchführbar erwiesen. Kürzlich veröffentlichte Metaanalyse von Jong et al. (2014) konnte bei akuten MyokardinfarktpatientInnen weder vorteilhafte kardiale Funktionsverbesserung, hinsichtlich MRI Parameter, noch Verbesserung der klinischen Ergebnissen zeigen. Dies basierend auf zwei Studien mit negativen Ergebnissen (SWISS-AMI und LateTIME Studien). Frühere Studien von Jeevanantham et al. (2012) und Zimmet et al. (2012) zeigten therapeutische Benefiz von Knochenmarkzelltransplantation v.a. die Verbesserung der LVEF, der LVESV und der LVEDV, weiters eine Reduktion der Infarktgröße, sowie allgemeiner und kardialer Sterblichkeit, Verminderung des Rückfalls der akuten Myokardinfarkte und der Krankenhausaufenthalte wegen Herzinsuffizienz oder wegen In-Stent Thrombosen nach BMMNC Transplantationen.

Mesenchymale Stammzellen (MSCs) wurden in der POSEIDON Studie von Hare et al. (2012) und in der PROMETHEUS Studie von Karantalis et al. (2014) untersucht. Beide

Studien belegen die Sicherheit bei der Verwendung der MSCs. Hare et al. (2012) testeten neben autologer MSCs, auch allogene MSCs. Sowohl allogene, als auch autologe MSCs zeigten potentielle regenerative Bioaktivität bei PatientInnen mit ischämischer Kardiomyopathie. Infarktgrößererduzierung und Verbesserung des ventrikulären Remodelings wurden in beide Studien erwiesen.

Es bleibt weiterhin sehr wichtig in der Grundlagenforschung und in präklinischen Studien, zugrunde liegende Mechanismen zu erforschen, bevor eine routinemäßige Anwendung in der Klinik stattfinden kann. Potentielle Gefahrenpunkte der stammzellbasierten Therapien sind die Abstoßungsreaktionen und unkontrollierte *In vivo* Differenzierung, sowie mögliche Tumorbildungen (vgl. Jungebluth et al., 2014). In der Zukunft sollen noch einige ungeklärte Fragen in Bezug auf optimalen Zelltyp, optimalen Zeitpunkt, optimale Dosierung, optimale Applikationsmethode für effektive klinische Anwendung beantwortet werden. Um Studien adäquat verglichen zu können ist es wichtig standardisierte Verfahrensprotokolle zu entwickeln. Für effektivere Behandlungsentwicklung ist der Fokus auf bessere Verständnismechanismen der zellulären Therapien wichtig (vgl. Puliafico, Penn & Silver, 2013).

Studien zur Evaluierung der Sicherheit und der Machbarkeit zellbasierter myokardialer Behandlung scheinen ein sicherer Therapieansatz zu sein, obwohl die Benefiz dieser Therapien noch nicht abschließend geklärt ist. Bevor endgültige Rückschlüsse gezogen werden können, ist es wichtig, dass noch weitere klinische Studien mit Langzeitdaten und einem ausreichend großen Patientenkollektiv, durchgeführt werden.

Auch für die Behandlung unterschiedlicher Lebererkrankungsarten findet der therapeutische Einsatz von Stammzellen ein großes Interesse.

Lyra et al. (2010) evaluierte Effekte autologer Knochenmarkstammzellen bei Patienten mit Leberzirrhose und zeigte, dass die Leberfunktion sich in den ersten 90 Tagen verbessert hat. Nun, nach 3 Monaten kam die Leberfunktion wieder auf die Baseline zurück. Daher wurde die Überlebenschancesteigerung nicht belegt. Hingegen konnte keine Leberfunktionsverschlechterung und auch keine Bildung des hepatozellulären Karzinoms erwiesen werden. Eine signifikante Verbesserung in allen Parametern der Leberfunktion, sowie eine Verbesserung im Vergleich zu Baseline haben Autorengruppe Ismail et al. (2010) dokumentiert. Autologe Knochenmarkstammzelltherapie verbesserte die Operationsergebnisse und reduzierte postoperative Komplikationen. Demnach empfehlen die Autoren diese Therapie als unterstützende Behandlung bei Leberzirrhosepatienten mit hepatozellulärem Karzinom.

Mesenchymale Stammzellen des Knochenmarks (MMSCs) haben Peng et al. (2011) einmalig bei Patienten mit Hepatitis B transplantiert. MMSCs Therapie ist sicher und die Kurzzeit-Wirksamkeits-Ergebnisse (von postoperative Woche 4 bis 36 Woche) zeigen eine deutliche Verbesserung. Langzeitauswirkungen (über 36 Wochen) zeigten keine erhebliche Verbesserung mehr. Autoren konkludieren, dass autologe MMSCs-Transplantation bei Patienten mit Leberversagen durch Hepatitis B kurzzeitig wirksam ist, aber keine Langzeitprognose steigern kann.

Viel versprechende Ergebnisse liefern die Studien mit mesenchymalen Stammzellen aus Nabelschnurblut (US-MSC). Zhang et al. (2012) zeigten nach einem Jahr Follow-Up signifikante Verbesserung der Leberfunktion und Shi et al. (2012) nach 72- Wochen. Dieser Zelltyp erwies sich als sicher, gut toleriert und effektiv für die Behandlung der Lebererkrankungen.

Effekte der CD34+ und der CD133+ hämatopoetischer Stammzellen bei der Behandlung des Endstadiums der Lebererkrankung wurden von Salama et al. (2010) evaluiert. Es wurde eine Normalisierung der Leberenzyme und eine Verbesserung der hepatischen synthetischen Funktion dokumentiert. Salama et al. (2010) empfahlen CD34+ und CD133+ hämatopoetische Stammzellen als zusätzliche Behandlungsmethoden im Endstadium der Lebererkrankung.

Eine neuere Studie von Zekri et al. (2015) hat einmalige und wiederholte Knochenmarkstammzelltherapien (CD34+ / CD133+ Zellen und Mesenchymale Stammzellen) mit Standardtherapien verglichen. Im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde eine Leberfunktionsparameterverbesserung bei beiden Verumgruppen gezeigt. Eine wiederholte Stammzellinfusion hat aber, mehr nachhaltige klinische Effizienz, im Vergleich zu einmaligen Stammzellinfusion bei Patienten mit Lebererkrankung in Endstadium, gezeigt.

Metaanalyse von Pankaj et al. (2015) evaluierte autologen mononukleäre Knochenmarkstammzellentransplantation bei der dekompensierten Lebererkrankung. Vorteilhaftes Auswirkungen wurden bereits durch viele Studien nachgewiesen. Es bleibt bei weiterführenden Studien, ihre Rolle in klinischer Behandlung zu verifizieren. Es besteht weiterhin Bedarf an experimentellen Studien, welche die Wirkmechanismen unterschiedlichster Stammzellarten verdeutlichen. Es bleibt an der Grundlagenforschung, biologische Prozesse zu verstehen, anschließend geeignete Methode zu finden und zu fördern. Weiters bleibt es an klinischen Forschern, weitere Parameter für eine umfassende Evaluation klinischer Verbesserung zu nutzen. In der zukünftigen Grundlagenforschung und bei klinischen Studien in großvolumigeren Zentren sind noch

viele Fragen ungelöst (Zelltyp, Anzahl transplanteder Zellen, der geeignetste Applikationsweg (vgl. Pankaj et al., 2015).

Künftige Studien sollen gut konzipierte, adäquat gepowerte, randomisierte, kontrollierte Studien sein. Sie sollen klare statistisch signifikante Verbesserungen mit relevanten klinischen Ergebnissen und Wirkungsmechanismen beinhalten (vgl. Moore et al., 2014)

In Hinblick auf den Einsatz der Stammzelltherapie bei Gefäßerkrankungen, ist die periphere arterielle Verschlusskrankheit, insbesondere kritische Extremitäten Ischämie (CLI), nach derzeitigem Forschungsstand die meist untersuchte Erkrankung.

Die meisten Studien belegen eine Senkung der Amputationsrate und eine Verbesserung der Lebensqualität der PatientInnen. Bei der Behandlung der PatientInnen mit CLI wurden auch unterschiedliche Stammzellequellen untersucht. Studie von Perin et al. (2011) untersuchte *aldehyde dehydrogenase brighth* (ALDH(br))- Zellen, die aus autologen mononukleären Knochenmarkzellen (ABMMNCs) isoliert waren im Vergleich zu unselektierten, ganzen autologen mononukleären Knochenmarkzelltherapie (ABMMNCs). Beide Therapien erwiesen sich als sicher und zeigten keine unerwünschte Nebenwirkungen. Die Werte der ABI und Rutherford-Klassifikation bei Patienten mit CLI wurden mit ALSH(br)-Zellen Transplantation verbessert. Lebensqualität stieg bei beiden Gruppen an. Der Ruheschmerz verbesserte sich nur bei der ABMMNC behandelte Gruppe. Um weitere klinische Auswirkungen zu beweisen, fordern die Autoren weitere randomisierte Placebokontrollierte Studien.

PROVASA-Studie von Walter et al. (2011) untersuchte die Auswirkung mononukleärer Zellen aus Knochenmark (BMMNC) an PatientInnen mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit. Ergebnisse belegen Sicherheit und Durchführbarkeit der Behandlung. Sie zeigen eine signifikante Verbesserung der sekundären Endpunkte, der Wundheilung und der Ruheschmerzempfindung. Der primäre Endpunkt und der Knöchel-Arm- Index hat sich nicht verändert und die amputationsfreie Überlebenszeiten waren zwischen den zwei Gruppen nicht unterschiedlich.

RESTORE- CLI von Powell et al. (2011) untersuchte autologe Gewebereparaturzellen (TRCs) bei PatientInnen mit CLI ohne Revaskularisierungsmöglichkeit. Durch die Behandlung wurde das Vorkommen klinischer Ereignisse, welche mit einer Krankheitsprogression assoziiert sind, gesenkt. Amputationsfreie Überlebenszeiten und Wundheilung waren in der Verumgruppe besser als in der Kontrollgruppe.

Eine Reduktion der Amputationsrate in der Verumgruppe, im Vergleich zur Kontrollgruppe, konnten auch Losordo et al. (2012) mit verabreichen autologer CD34+ Zellen bei CLI PatientInnen bestätigen. Fujita et al. (2014) mobilisierten CD34+ Zellen mit

G-CSF bei „no option“ Patienten mit CLI. Es wurde eine signifikante Verbesserung der Ruheschmerzparameterskalen und der Großteilstationsparameter von der 2. bis zur 12. Woche gezeigt.

SCRIPT-CLI Studie vom Ravel et al. (2014) untersuchte, durch Zytokine mobilisierte CD133+ Zellen, die bei CLI PatientInnen appliziert wurden. Die Studie zeigte keine signifikanten Verbesserungen zwischen zwei Gruppen, aufgrund des hohen Ausfalls bei der Mobilisierung einer ausreichenden Anzahl der CD133+ Zellen.

Metaanalyse von Liew et al. (2015) weist auf Sicherheit und Durchführbarkeit der unterschiedlichen Stammzelltherapien bei PatientInnen mit CLI hin. Ergebnisse zeigen ein signifikant reduziertes Risiko der Major- Amputation, sowie signifikante Verbesserung der Wundheilung und des Knöchel- Arm- Index. Die Metaanalyse von Comagna et al. (2015) bestätigt die Annahme, dass intramuskuläre Konchenmarkstammzellapplikation vorteilhafte Rolle in der Reduzierung der Major- Amputation bei PatientInnen mit CLI spielt, sowie bei der Verbesserung ihren Lebensqualität. Zudem zeigen die Autoren Comagna et al. (2015), dass es zwischen zwei meist untersuchten Zelltypen, aus Knochenmark derivierten mesenchymalen Stammzellen und aus peripherem Blut derivierten mononuklearen Zellen, keinen übergeordneten Zelltypus gibt. Autoren schließen, dass die Zelltherapie eine potentielle therapeutische Behandlungsmöglichkeit bei CLI sein könnte. Es fehlen weitere, umfassendere, sorgfältig konzipierte Doppelblindstudien und placebokontrollierte Studien.

Die Arbeit widmete sich im weiteren einem neuen Forschungszweig in der letzten Dekade. Dieser fokussiert sich auf den Einfluss der körperlichen Aktivität auf die adulten Stammzellen. Körperliche Reaktion auf Trainingsbelastung zeigt Veränderungen im Verhalten adulter Stammzellen. Veränderungen des Stammzellverhaltens in unterschiedlichen Körperregionen, inklusive Skelettmuskel und Kardiovaskuläres System, wurde bereits als Reaktion auf das Training nachgewiesen (vgl. Shalaby et al., 2012).

Die Effekte des körperlichen Trainings auf die Endothelfunktion lassen sich auch klinisch nachweisen. Dies wurde bereits durch Arbeitsgruppen bestätigt. Generell wurde festgestellt, dass sowohl akutes, als auch systematisches Training einen Anstieg zirkulierender EPCs bei gesunden und bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankung stimuliert (vgl. Shalaby et al., 2012).

Viele Studien belegen eindeutige Erhöhung der Anzahl zirkulierender, endothelialer, durch körperliche Aktivität induzierter Vorläuferzellen, bei folgenden PatientInnen mit

- koronarer Herzkrankheit (coronary artery disease, kurz: CAD) (vgl. Luk et al., 2012; Cesari et al., 2013)

- peripherer arterieller Verschlusskrankheit (peripheral arterial disease, kurz: PAD) (vgl. Schlager et al., 2011)
- oder chronischer Herzinsuffizienz (chronic Heart Failure, kurz: CHF) (vgl. Van Craenenbroeck et al., 2010, Gatta et al., 2012, Sandri et al., 2015)

Durch ein 8- wöchiges körperliches Trainingsprogramm konnten Luk et al. (2012) eine Verbesserung endothelialer Funktion und körperliche Belastungsfähigkeit bei PatientInnen mit einer stabilen koronaren Herzkrankheit belegen. Cesari et al. (2013) bestätigen, dass körperliches Training eine Erhöhung der EPCs Anzahl bei PatientInnen mit koronarer Herzkrankheit bewirkt. Zudem untersuchten die Autoren „non- Responder“ PatientInnen, die auf körperliches Trainingsprogramm nicht mit eine Erhöhung der EPC- Anzahl reagieren. Sie fanden heraus, dass non- Responder eine signifikant niedrigere körperliche Leistungsfähigkeit und ein signifikant höheres Niveau von hsCRP²⁷, sowie eine höhere Prävalenz zeigten. Eine wichtige Erkenntnis dieser Studie stellt der Baseline Wert d. hsCRP (der die das Protein) dar. HsCRP konnte als signifikanter Prädiktor der EPC-Niveaunahme am Ende des Programms dienen, sowie für die Identifizierung der PatientInnen, die keine Vorteile von der EPC Anzahlerhöhung haben würden.

Bei PatientInnen mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit (PAD) wird ein überwachtes Trainingsprogramm (SET) für die Verbesserung der Gehleistungsfähigkeit empfohlen. Dieses Trainingsprogramm erhöht die Anzahl zirkulierender EPC und reduziert das ADMA Niveau. Demzufolge wird Angiogenese und endotheliale Funktion verbessert und kardiovaskuläres Risiko wird reduziert (Schlager et al., 2011).

Studien von Van Craenenbroeck et al. (2010), Gatta et al. (2012), Sandri et al. (2015) zeigen, dass körperliche Aktivität einen positiven Einfluss auf die PatientInnen mit chronischer Herzinsuffizienz hat. Alle drei Studien demonstrierten Erhöhung zirkulierender endothelialer Vorläuferzellen nach 6 Monaten d. körperlichen Trainings (Van, Craenenbroeck et al., 2010), nach 3-wöchigem Trainingsprogramm (Gatte et al. 2012) und nach 4-wöchigem Trainingsprogramm (Sandri et al., 2015). Körperliches Training führt zur Endothelialreparatur- und zur Funktionswiederherstellung, sowohl bei jüngeren als auch bei älteren CHF PatientInnen (Sandri et al., 2015).

Weiterhin bleibt es, durch weitere Studien, endgültige Ergebnisse über die Effekte unterschiedlicher Trainings (Intensität, Frequenz, Dauer, Methode) auf die Mobilisierung endothelialer Vorläuferzellen hervorbringen. Trotz der Heterogenität der Trainingsprotokolle, liefern derzeitige Untersuchungen verlässliche Nachweise, dass körperliches Training eine effektive therapeutische Möglichkeit darstellt, zirkulierende

²⁷ high sensitivity C-reactive protein

EPCs-Anzahl und Funktion bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen zu verbessern. Allerdings, gilt es weiterhin, um eine solide Grundlage für zukünftige Forschung zu unterstützen, die geeignetsten Trainingsprotokolle zu finden. Weiters gilt es auch die Methoden zur Bestimmung und zur Quantifizierung der EPCs zu standardisieren (vgl. Ribeiro et al., 2013).

Körperliche Aktivität beeinflusst bei gesunden Menschen die endotheliale Vorläuferzellen (vgl. Shalaby et al., 2012), die zirkulierenden endothelialen Vorläuferzellen (vgl. Yang et al., 2011; Ross et al., 2014) und die Satellitenzellen (vgl. Mackey et al., 2011; Snijders et al., 2012; Hyldahl et al., 2014).

Shalaby et al. 2012 demonstrierten, dass anaerobes Trainingsprogramm einen signifikanten Anstieg endothelialer Vorläuferzellen hervorruft. Im Vergleich zum aeroben Trainingsprogramm bewirkt anaerobes Trainingsprogramm bessere Adaptionen und Modulationen der Knochenmarkaktivität.

Yang et al. (2011) zeigten, dass körperliche Aktivität die Anzahl und die Aktivität zirkulierender EPCs bei Menschen erhöhen kann, sowie altersbedingte Abnahme arterieller Elastizität bei gesunden Männern verbessern kann. Regelmäßiges Ausdauertraining verbessert die endotheliale Funktion. Wenn diese dauerhaft erhalten wird, reduziert sich das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen und damit verbundener thrombotischer Ereignisse. Neben dem Ausdauertraining verzeichnet auch das Krafttraining einer Erhöhung zirkulierender EPCs. Die Zunahme zirkulierender EPCs und angiogener Faktoren wird auch durch kurze und intensive MERE (Muscular endurance resistance exercise), wenn diese entsprechend strukturiert ist, stimuliert. Solches „Hybridtraining“ kann potenziell zur Gefäßadaptation- und zum Schutz beitragen (vgl. Ross et al., 2014).

Aktivierung der Satellitenzellen wurde durch einmalig kombinierte Kraft- und Ausdauerarten des Trainings in der Studie von Snijders et al. (2012) belegt. Hingegen zeigten Hyldahl et al. (2014), dass exzentrische Kontraktionsform funktionelle und histologische Muskelschädigung induzieren sowie Aktivierung und Proliferation der Satellitenzellen, 24 Stunden nach der Belastung, hervorrufen. Mackey et al. (2011) zeigten, dass 12 Wochen sanftes Krafttraining, sogar mit sehr niedriger Intensität zur Steigerung der Satellitenzellanzahl führt.

Klinische Untersuchungen haben positive Effekte des körperlichen Trainings auf endotheliale Vorläuferzellen, auf zirkulierende endotheliale Vorläuferzellen und auf

Satellitenzellen, sowohl bei Herz-Kreislauf PatientInnen, als auch bei gesunden ProbandInnen nachgewiesen.

In letzten Jahren wurden in der Grundlagerecherche Methoden entwickelt, die Muskelmasse von alten Mäusen verjüngen und vermehren. Diesen Forschungen liegt der Therapiezweck für alte gebrechliche Menschen zugrunde. Es kann aber die Vermutung nicht ausgeschlossen werden, dass diese Methoden für eine unerlaubte Leistungssteigerung im Sport missbraucht werden könnten.

Das Forscherteam Blau, Cosgrove und Gilbert (2012) entdeckte, dass gewebespezifische Stammzellen alter Tiere verjüngt und vermehrt werden können. Dieses geschieht durch Hemmung der p38 mitogenaktivierter Proteinkinase. P38- MAPK hat das Potential die Gewebefunktion durch *ex vivo* Zelltherapie oder durch direkte Verabreichung in Gewebe *in vivo* wiederherzustellen. Zusätzlich können mit dieser Methode kultivierte Stammzellen für Arzneimittelwirksamkeit und Toxizität-Screening getestet werden. Verjüngtes Muskelgewebe könnte anhand dieser Techniken für die Behandlung der PatientInnen mit beispielsweise Sarkopenie, Kachexie, muskulärer Dystrophie oder Myopathie verwendet werden.

Alterung führt zur Veränderung der Stammzellnische, welche sich auf die Satellitenzellen negativ auswirken kann (vgl. Bentzinger und Rudnicki, 2014).

In der *Nature Medicine* Ausgabe, zeigen kürzlich erschienene Studien von Bernet et al. (2014) und Cosgrove et al. (2014), dass körpereigene Muskelstammzellen, durch Manipulation der Signalwege, vermehrt und verjüngt werden können. Zellautonome Steigerung der Aktivität der p38 mitogenaktivierter Proteinkinase- Pathway führt zur Beeinträchtigung der Selbsterneuerungskapazität der alten Muskelstammzellen. Vorliegende Studien zeigen, dass es intrinsische Unterschiede zwischen jungen, adulten und gealterten Satellitenzellen gibt. Durch Eingriff in Signalwege haben die Forscher Bernet et al. (2014) und Cosgrove et al. (2014) den alten Muskeln wieder verjüngt. Zudem konnte die Funktionalität gealterter Satellitenzellen wiederhergestellt werden. Cosgrove et al. (2014) zeigten zusätzlich, dass durch synergistische Kombination biochemischer und biophysischer Signale die Abkömmlinge der MuSCs aus der alten Maus nicht nur die Stammzellpopulation mit verjüngender Funktion hervorbringen können, sondern auch Kraft in beeinträchtigten Muskel einer alten Maus wiederherstellen könnten.

Nicht nur die Manipulation der Signalwege führt zur Verjüngung der Satellitenzellen. Geriatrische Zellen haben, nach Sausa-Victor et al. (2014), einen genetischen Defekt. Gen p16INK4s ist normalerweise abgeschaltet. Aktivierung dieses Gens löst die Zellalterung aus, sodass sich die Satellitenzellen nicht mehr selbsterneuern und

vermehren können. Wird dieses Gen pharmakologisch ausgeschaltet, könnten sich die geriatrischen Satellitenzellen signifikant vermehren. Blockierung dieses Gens wäre als Therapie für Muskelkrankheiten denkbar.

Diese Erkenntnisse über molekulare Mechanismen können als Therapieansatz für die Behandlung der Muskelkrankheiten und zur Regeneration der Muskeln dienen. Weiters können sie bei der Wiederherstellung der Homöostase der Satellitenzellen eingesetzt werden. Andererseits ist im Leistungssport die Regeneration der beanspruchten Muskulatur von genauso enormer Bedeutung und können somit diese Erkenntnisse als Angriffsziele für pharmakologische und genetische Manipulation zur Leistungssteigerung genutzt werden.

7. Ausblick

Die Ergebnisse zeigen, dass in derzeitiger Forschung der Einsatz von Stammzellen zur Verbesserung der Regenerationsfähigkeit unterschiedlicher Organe und Organsysteme ein vielseitig untersuchtes Themengebiet ist. Präklinische Studien und erste klinische Anwendungen zeigen bemerkenswerte Behandlungserfolge.

Stammzelltherapeutische Ansätze für die Regeneration, in vorliegender Arbeit untersuchter Organe, sowie stammzelltherapeutische Behandlungen verschiedenster Erkrankungen demonstrieren vielversprechende Ergebnisse. Jedoch, macht die Heterogenität zugrundeliegender Studien die Aussagen ungewiss. Die Datenlage ist derzeit uneinheitlich. Die geringe Aussagekraft erfolgt aus uneinheitlichen nichtstandardisierten Protokollen, aus teilweise fehlenden Kontrollgruppen und aus zu geringer Anzahl teilnehmender Patientinnen.

Bevor endgültige Schlüsse gezogen werden können, über die Fragen, ob und wann die Stammzelltherapie im klinischen Alltag eingesetzt werden kann, besteht weiterhin ein dringender Forschungsbedarf bei folgenden Themen (vgl. Hayashi & Hosoda, 2013; Jungebluth et al. 2014, Lawall et al. 2011; Pankaj et al., 2015, Puliafico et al. 2013; Sanganalmath & Bolli, 2013):

- Einheitliches Studiendesign und Standardisierung der Methoden zur Gewährleistung der Qualität therapeutischer Anwendungen
- Techniken zur Isolierung- und Kultivierungseigenschaften der Stammzellen
- Die Wahl klinisch relevanter Stammzellpopulationen zur effektiven klinischen Anwendung
- Der günstigste Behandlungszeitpunkt für die Zellapplikation
- Die Methode der Applikation
- Die Häufigkeit der Applikation
- Die Langzeitwirkungen
- Die Erhöhung der Sicherheit
- Die Vermeidung potenzieller Gefahr der Tumorbildung und der Nebenwirkungen

Aus derzeitiger Perspektive gilt es zu beantworten, welche Art, Intensität, Dauer und welcher Umfang des körperlichen Trainings sich am besten für die Verbesserung der Regeneration und der Funktion bestimmter Organen und Organsystemen eignet.

Für eine bessere Vergleichbarkeit der Studien und Bewertung der Ergebnisse ist eine Standardisierung der Trainingsprotokolle sehr empfehlenswert.

Da eine potentielle Gefahr besteht, im Sport genterapeutische Verfahren zur Leistungsmanipulation einzusetzen, ist es wichtig, die neuesten Erkenntnisse aus genterapeutischen Studien zu beobachten und rechtzeitig entsprechende Nachweisverfahren zu entwickeln.

Literaturverzeichnis

Ajibade, D. A., Vance, D. D., Hare, J. M., Kaplan, L. D., & Lesniak, B. P. (2014). Emerging Applications of Stem Cell and Regenerative Medicine to Sports Injuries. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 2 (2), 2325967113519935.

Alberts B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. und Walter, P. (2011). *Molekularbiologie der Zelle*. 5. Auflage. Weinheim: WILEY-VCH

Anderson, M. E., Goldhaber, J., Houser, S. R., Puceat, M., & Sussman, M. A. (2014). Embryonic stem cell–derived cardiac myocytes are not ready for human trials. *Circulation research*, 115(3), 335-338.

Anversa, P., Kajstura, J., Rota, M., & Leri, A. (2013). Regenerating new heart with stem cells. *The Journal of clinical investigation*, 123(123 (1)), 62-70.

Asahara, T., Murohara, T., Sullivan, A., Silver, M., van der Zee, R., Li, T., ... & Isner, J. M. (1997). Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 275(5302), 964-966.

Bajek, A., Porowinska, D., Kloskowski, T., Brzoska, E., Ciemerych, M. A., & Drewa, T. (2015). Cell Therapy in Duchenne Muscular Dystrophy Treatment: Clinical Trials Overview. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*, 25 (1).

Bernet, J. D., Doles, J. D., Hall, J. K., Tanaka, K. K., Carter, T. A., & Olwin, B. B. (2014). p38 MAPK signaling underlies a cell-autonomous loss of stem cell self-renewal in skeletal muscle of aged mice. *Nature medicine*, 20(3), 265-271.

Blau, H. M., Cosgrove, B. D., & Gilbert, P. M. (2012). Methods and compositions for rejuvenation and expansion of stem cells. *U.S. Patent Application 13/440,534*.

Bolli, R., Chugh, A. R., D'Amario, D., Loughran, J. H., Stoddard, M. F., Ikram, S., ... & Anversa, P. (2012). Effect of cardiac stem cells in patients with ischemic cardiomyopathy: interim results of the SCIPIO trial up to 2 years after therapy. *Circulation*, 126(23), 2784.

Bolli, R., Chugh, A. R., D'Amario, D., Loughran, J. H., Stoddard, M. F., Ikram, S., ... & Anversa, P. (2011). Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. *The Lancet*, 378 (9806), 1847-1857.

BurrIDGE, P. W., Keller, G., Gold, J. D., & Wu, J. C. (2012). Production of de novo cardiomyocytes: human pluripotent stem cell differentiation and direct reprogramming. *Cell stem cell*, 10(1), 16-28.

Capoccia, B. J., Robson, D. L., Levac, K. D., Maxwell, D. J., Hohm, S. A., Neelamkavil, M. J., ... & Hess, D. A. (2009). Revascularization of ischemic limbs after transplantation of human bone marrow cells with high aldehyde dehydrogenase activity. *Blood*, 113(21), 5340-5351.

Cesari, F., Marcucci, R., Gori, A. M., Burgisser, C., Francini, S., Sofi, F., ... & Fattiroli, F. (2013). Impact of a cardiac rehabilitation program and inflammatory state on endothelial progenitor cells in acute coronary syndrome patients. *International journal of cardiology*, 167(5), 1854-1859.

Chachques JC, Acar C, Herreros J, Trainini JC, Prosper F, D'Attellis N, Fabiani JN, Carpentier AF. Cellular cardiomyoplasty: clinical applica- tion. *Ann Thorac Surg*. 2004;77:1121–1130.

Christ, B., & Stock, P. (2012). Mesenchymal Stem Cell-Derived Hepatocytes for Functional Liver Replacement. *Frontiers in Immunology*, 3, 168. doi:10.3389/fimmu.2012.00168

Compagna, R., Amato, B., Massa, S., Amato, M., Grande, R., Butrico, L., ... Serra, R. (2015). Cell Therapy in Patients with Critical Limb Ischemia. *Stem Cells International*, 2015, 931420. <http://doi.org/10.1155/2015/931420>

- Darabi, R., Arpke, R. W., Irion, S., Dimos, J. T., Grskovic, M., Kyba, M., & Perlingeiro, R. C. (2012). Human ES-and iPS-derived myogenic progenitors restore DYSTROPHIN and improve contractility upon transplantation in dystrophic mice. *Cell stem cell*, 10(5), 610-619.
- de Jong, R., Houtgraaf, J. H., Samiei, S., Boersma, E., & Duckers, H. J. (2014). Intracoronary Stem Cell Infusion After Acute Myocardial Infarction A Meta-Analysis and Update on Clinical Trials. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 7 (2), 156-167.
- Dellavalle, A., Maroli, G., Covarello, D., Azzoni, E., Innocenzi, A., Perani, L., ... & Cossu, G. (2011). Pericytes resident in postnatal skeletal muscle differentiate into muscle fibres and generate satellite cells. *Nature communications*, 2, 499.
- Derrich, M. (2010). Die gedopte Gesellschaft. Greiz: König
- Diel, P. (2012). Gendoping- Mythen und Fakten. In Körner, S. & Schardien, S. Hrsg. *Höher>Schneller> Weiter. Gentechnologisches Enhancement im Spitzensport. Ethische, rechtliche und soziale Perspektivierungen* (S.29-41.). Münster: Mentis.
- Dignat-George F, Sampol J, Lip G, Blann AD. Circulating endothelial cells: realities and promises in vascular disorders. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2003;33:495–499.
- Farini, A., Razini, P., Erratico, S., Torrente, Y., & Meregalli, M. (2009). Cell based therapy for Duchenne muscular dystrophy. *Journal of cellular physiology*, 221(3), 526-534.
- Forbes, S. J., & Newsome, P. N. (2012). New horizons for stem cell therapy in liver disease. *Journal of hepatology*, 56(2), 496-499.
- Fujimaki, S., Machida, M., Hidaka, R., Asashima, M., Takemasa, T., & Kuwabara, T. (2013). Intrinsic Ability of Adult Stem Cell in Skeletal Muscle: An Effective and Replenishable Resource to the Establishment of Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells International*, 2013, 420164. doi:10.1155/2013/420164
- Fujita, Y., Kinoshita, M., Furukawa, Y., Nagano, T., Hashimoto, H., Hirami, Y., ... & Kawamoto, A. (2014). Phase II clinical trial of CD34+ cell therapy to explore endpoint selection and timing in patients with critical limb ischemia. *Circulation Journal*, 78(2), 490-501.
- Garbade, J., Barten, M. J., Bittner, H. B., & Mohr, F. W. (2013). Heart Transplantation and Left Ventricular Assist Device Therapy: Two Comparable Options in End-Stage Heart Failure?. *Clinical cardiology*, 36 (7), 378-382.
- Gatta, L., Armani, A., Iellamo, F., Consoli, C., Molinari, F., Caminiti, G., ... & Rosano, G. M. (2012). Effects of a short-term exercise training on serum factors involved in ventricular remodelling in chronic heart failure patients. *International journal of cardiology*, 155(3), 409-413.
- Gstraunthaler, G., & Lindl, T. (2013). Stammzellen und Tissue Engineering. In *Zell-und Gewebekultur* (pp. 243-261). Springer Berlin Heidelberg.
- Gould, D. (2013). Gene doping: gene delivery for olympic victory. *British journal of clinical pharmacology*, 76 (2), 292-298.
- Hare, J. M., Fishman, J. E., Gerstenblith, G., Velazquez, D. L. D., Zambrano, J. P., Suncion, V. Y., ... & Heldman, A. W. (2012). Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: the POSEIDON randomized trial. *Jama*, 308(22), 2369-2379.
- Heldman, A. W., DiFede, D. L., Fishman, J. E., Zambrano, J. P., Trachtenberg, B. H., Karantalis, V., ... & Hare, J. M. (2014). Transendocardial mesenchymal stem cells and mononuclear bone marrow cells for ischemic cardiomyopathy: the TAC-HFT randomized trial. *Jama*, 311(1), 62-73.

Houtgraaf, J. H., Wijnand, K., van Dalen, B. M., Springeling, T., de Jong, R., van Geuns, R. J., ... & Duckers, H. J. (2012). First experience in humans using adipose tissue-derived regenerative cells in the treatment of patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, *59*(5), 539-540.

Huang, J., Lin, X., Shi, Y., & Liu, W. (2015). Tissue Engineering and Regenerative Medicine in Basic Research: A Year in Review of 2014. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*. doi:10.1089/ten.TEB.2014.0626

Hyldahl, R. D., Olson, T., Welling, T., Groscost, L., & Parcell, A. C. (2014). Satellite cell activity is differentially affected by contraction mode in human muscle following a work-matched bout of exercise. *Frontiers in physiology*, *5*.

Ieda, M., Fu, J. D., Delgado-Olguin, P., Vedantham, V., Hayashi, Y., Bruneau, B. G., & Srivastava, D. (2010). Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*, *142*(3), 375-386.

Inaba, M., & Yamashita, Y. M. (2012). Asymmetric stem cell division: precision for robustness. *Cell stem cell*, *11* (4), 461-469.

Ismail, A., Fouad, O., Abdelnasser, A., Chowdhury, A., & Selim, A. (2010). Stem cell therapy improves the outcome of liver resection in cirrhotics. *Journal of gastrointestinal cancer*, *41* (1), 17-23.

Jeevanantham V, Butler M, Saad A, Abdel-Latif A, Zuba-Surma EK, Dawn B (2012). Adult bone marrow cell therapy improves survival and induces long-term improvement in cardiac parameters: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*, *126* :551–568.

Jungebluth, P., Haag, J. C., & Macchiarini, P. (2014). Regenerative Medizin. *Zeitschrift für Herz-, Thorax-und Gefäßchirurgie*, 1-8.

Kajstura, J., Rota, M., Cappelletta, D., Ogórek, B., Arranto, C., Bai, Y., ... & Anversa, P. (2012). Cardiomyogenesis in the aging and failing human heart. *Circulation*, CIRCULATIONAHA-112.

Kajstura, J., Urbanek, K., Perl, S., Hosoda, T., Zheng, H., Ogórek, B., ... & Anversa, P. (2010). Cardiomyogenesis in the adult human heart. *Circulation research*, *107* (2), 305-315.

Karantalís, V., DiFede, D. L., Gerstenblith, G., Pham, S., Symes, J., Zambrano, J. P., ... & Hare, J. M. (2014). Autologous Mesenchymal Stem Cells Produce Concordant Improvements in Regional Function, Tissue Perfusion, and Fibrotic Burden When Administered to Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Grafting The Prospective Randomized Study of Mesenchymal Stem Cell Therapy in Patients Undergoing Cardiac Surgery (PROMETHEUS) Trial. *Circulation research*, *114* (8), 1302-1310.

Kazuki, Y., Hiratsuka, M., Takiguchi, M., Osaki, M., Kajitani, N., Hoshiya, H., ... & Oshimura, M. (2010). Complete genetic correction of ipS cells from Duchenne muscular dystrophy. *Molecular Therapy*, *18* (2), 386-393.

King, A., Barton, D., Beard, H. A., Than, N., Moore, J., Corbett, C., ... Newsome, P. N. (2015). REpeated AutoLogous Infusions of STem cells In Cirrhosis (REALISTIC): a multicentre, phase II, open-label, randomised controlled trial of repeated autologous infusions of granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) mobilised CD133+ bone marrow stem cells in patients with cirrhosis. A study protocol for a randomised controlled trial. *BMJ Open*, *5* (3), e007700. doi:10.1136/bmjopen-2015-007700

Kühl, S. & Kühl, M. (2012). *Stammzellbiologie*. Stuttgart: Eugen Ulmer KG.

Laflamme, M. A., Chen, K. Y., Naumova, A. V., Muskheli, V., Fugate, J. A., Dupras, S. K., ... & Murry, C. E. (2007). Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro-survival factors enhance function of infarcted rat hearts. *Nature biotechnology*, *25* (9), 1015-1024.

- Lawall, H., Bramlage, P., & Amann, B. (2011). Treatment of peripheral arterial disease using stem and progenitor cell therapy. *Journal of vascular surgery*, 53 (2), 445-453.
- Li, M., & Belmonte, J. C. I. (2014). Ageing: Genetic rejuvenation of old muscle. *Nature*, 506 (7488), 304-305.
- Liebau, P. D. S., Stockmann, M., Illing, A., Seufferlein, T., & Kleger, P. D. A. (2014). Induzierte pluripotente Stammzellen. *Der Internist*, 55 (4), 460-469.
- Liew, A., Bhattacharya, V., Shaw, J., & Stansby, G. (2015). Cell Therapy for Critical Limb Ischemia A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Angiology*, 0003319715595172.
- Löser, P., Hanke, B., & Wobus, A. M. (2011). Humane pluripotente Stammzellen. *Naturwissenschaftliche Rundschau*, 64. Jahrgang, Heft 9, 453-464.
- Losordo, D. W., Kibbe, M. R., Mendelsohn, F., Marston, W., Driver, V. R., Sharafuddin, M., ... Schainfeld, R. (2012). A Randomized, Controlled Pilot Study of Autologous CD34+ Cell Therapy for Critical Limb Ischemia. *Circulation. Cardiovascular Interventions*, 5 (6), 821-830. <http://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.112.968321>
- Luk, T. H., Dai, Y. L., Siu, C. W., Yiu, K. H., Chan, H. T., Lee, S. W., ... & Tse, H. F. (2012). Effect of exercise training on vascular endothelial function in patients with stable coronary artery disease: a randomized controlled trial. *European journal of preventive cardiology*, 19 (4), 830-839.
- Lyra, A. C., Soares, M. B. P., da Silva, L. F. M., Braga, E. L., Oliveira, S. A., Fortes, M. F., ... & Lyra, L. G. C. (2010). Infusion of autologous bone marrow mononuclear cells through hepatic artery results in a short-term improvement of liver function in patients with chronic liver disease: a pilot randomized controlled study. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 22 (1), 33-42.
- Makkar, R. R., Smith, R. R., Cheng, K. E., Malliaras, K., Thomson, L. E., Berman, D., ... & Marbán, E. (2012). Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *The Lancet*, 379(9819), 895-904.
- Malliaras, K., Makkar, R. R., Smith, R. R., Cheng, K., Wu, E., Bonow, R. O., ... & Marbán, E. (2014). Intracoronary cardiosphere-derived cells after myocardial infarction: evidence of therapeutic regeneration in the final 1-year results of the CADUCEUS trial (CARDiosphere-Derived aUtologous stem CElls to reverse ventricUlar dySfunction). *Journal of the American College of Cardiology*, 63 (2), 110-122.
- Mansour, S., Roy, D. C., Bouchard, V., Nguyen, B. K., Stevens, L. M., Gobeil, F., ... & Noiseux, N. (2010). COMPARE-AMI trial: comparison of intracoronary injection of CD133+ bone marrow stem cells to placebo in patients after acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction: study rationale and design. *Journal of cardiovascular translational research*, 3 (2), 153-159.
- Mansour, S., Roy, D. C., Bouchard, V., Stevens, L. M., Gobeil, F., Rivard, A., ... & Noiseux, N. (2011). One-Year Safety Analysis of the COMPARE-AMI Trial: Comparison of Intracoronary Injection of CD133< sup>. *Bone marrow research*, 2011.
- Menasché, P., Alfieri, O., Janssens, S., McKenna, W., Reichenspurner, H., Trinquart, L., ... & Hagège, A. A. (2008). The myoblast autologous grafting in ischemic cardiomyopathy (MAGIC) trial first randomized Placebo-controlled study of myoblast transplantation. *circulation*, 117 (9), 1189-1200.
- Menasché P., Hagège A. A., Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, Schwartz K, Vilquin JT, Marolleau JP. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet*. 2001;357:279-280.

Meng, J., Chun, S., Asfahani, R., Lochmüller, H., Muntoni, F., & Morgan, J. (2014). Human Skeletal Muscle-derived CD133+ Cells Form Functional Satellite Cells After Intramuscular Transplantation in Immunodeficient Host Mice. *Molecular Therapy*, 22 (5), 1008-1017.

Minuth, W. W., Strehl, R., & Schumacher, K. (2012). *Zukunftstechnologie Tissue engineering: von der Zellbiologie zum künstlichen Gewebe*. John Wiley & Sons.

Mollova, M., Bersell, K., Walsh, S., Savla, J., Das, L. T., Park, S. Y., ... & Kühn, B. (2013). Cardiomyocyte proliferation contributes to heart growth in young humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110 (4), 1446-1451.

Moore, J. K., Stutchfield, B. M., & Forbes, S. J. (2014). Systematic review: the effects of autologous stem cell therapy for patients with liver disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 39 (7), 673-685.

Müller, W. A., & Hassel, M. (2012). Stammzellen, Regeneration, regenerative Medizin. In *Entwicklungsbiologie und Reproduktionsbiologie des Menschen und bedeutender Modellorganismen* (pp. 457-492). Springer Berlin Heidelberg

Müller-Platz C. & Wolfarth B. (2003). Zur Einführung: Gentechnik in der Dopingbekämpfung- ein drohendes Problem? In W. Hartmann, (Red.). *Gendoping. Die Dopingbekämpfung rüstet sich*. (Ergebnisse der 8. Dopingkonferenz am 10 Juli 2002 im Bundesinstitut für Sportwissenschaft) Bonn: Sport und Buch Strauß

Nebel, K. (2015). Embryonale Stammzellforschung. In *Moralpolitik in Deutschland* (pp. 89-106). Springer Fachmedien Wiesbaden.

Oh, Y., Wei, H., Ma, D., Sun, X., & Liew, R. (2012). Clinical applications of patient-specific induced pluripotent stem cells in cardiovascular medicine. *Heart*, 98 (6), 443-449.

Oliveira, R. S., Collares, T. F., Smith, K. R., Collares, T. V., & Seixas, F. K. (2011). The use of genes for performance enhancement: doping or therapy?. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 44 (12), 1194-1201.

Okano, T., & Dezawa, M. (2014). A new age of regenerative medicine: Fusion of tissue engineering and stem cell research. *The Anatomical Record*, 297 (1), 4-5.

Ota, S., Uehara, K., Nozaki, M., Kobayashi, T., Terada, S., Tobita, K., ... & Huard, J. (2011). Intramuscular transplantation of muscle-derived stem cells accelerates skeletal muscle healing after contusion injury via enhancement of angiogenesis. *The American journal of sports medicine*, 39 (9), 1912-1922.

Pankaj, P., Zhang, Q., Bai, X. L., & Liang, T. B. (2015). Autologous bone marrow transplantation in decompensated liver: Systematic review and meta-analysis. *World journal of gastroenterology: WJG*, 21 (28), 8697.

Partridge, T. A., Morgan, J. E., Coulton, G. R., Hoffman, E. P., & Kunkel, L. M. (1989). Conversion of mdx myofibres from dystrophin-negative to-positive by injection of normal myoblasts. *Nature*. 337:176-9.

Peng, L., Xie, D. Y., Lin, B. L., Liu, J., Zhu, H. P., Xie, C., ... & Gao, Z. L. (2011). Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: Short-term and long-term outcomes. *Hepatology*, 54 (3), 820-828.

Pera, M. F. (2011). Stem cells: The dark side of induced pluripotency. *Nature*, 471 (7336), 46-47.

Perin, E. C., Sanz-Ruiz, R., Sánchez, P. L., Lasso, J., Pérez-Cano, R., Alonso-Farto, J. C., ... & Fernández-Avilés, F. (2014). Adipose-derived regenerative cells in patients with ischemic cardiomyopathy: The PRECISE Trial. *American heart journal*, 168 (1), 88-95.

- Perin, E. C., Silva, G., Gahremanpour, A., Canales, J., Zheng, Y., Cabreira-Hansen, M. G., ... & Annex, B. H. (2011). A randomized, controlled study of autologous therapy with bone marrow-derived aldehyde dehydrogenase bright cells in patients with critical limb ischemia. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 78 (7), 1060-1067.
- Plowright, A. T., Engkvist, O., Gill, A., Knerr, L., & Wang, Q. D. (2014). Herzregeneration: Chancen und Aufgaben für die Wirkstoff-Forschung mit neuartigen chemischen und therapeutischen Methoden oder Agentien. *Angewandte Chemie*, 126 (16), 4138-4159.
- Povsic, T. J., O'Connor, C. M., Henry, T., Taussig, A., Kereiakes, D. J., Fortuin, F. D., ... & Sherman, W. (2011). A double-blind, randomized, controlled, multicenter study to assess the safety and cardiovascular effects of skeletal myoblast implantation by catheter delivery in patients with chronic heart failure after myocardial infarction. *American heart journal*, 162(4), 654-662.
- Powell, R. J., Comerota, A. J., Berceci, S. A., Guzman, R., Henry, T. D., Tzeng, E., ... & Watling, S. (2011). Interim analysis results from the RESTORE-CLI, a randomized, double-blind multicenter phase II trial comparing expanded autologous bone marrow-derived tissue repair cells and placebo in patients with critical limb ischemia. *Journal of vascular surgery*, 54 (4), 1032-1041.
- Puliafico, S. B., Penn, M. S., & Silver, K. H. (2013). Stem cell therapy for heart disease. *Journal of general internal medicine*, 28 (10), 1353-1363.
- Raval, A. N., Schmuck, E. G., Tefera, G., Leitzke, C., Vander Ark, C., Hei, D., ... & Hematti, P. (2014). Bilateral administration of autologous CD133+ cells in ambulatory patients with refractory critical limb ischemia: lessons learned from a pilot randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Cytotherapy*, 16 (12), 1720-1732.
- Ribeiro, F., Ribeiro, I. P., Alves, A. J., do Céu Monteiro, M., Oliveira, N. L., Oliveira, J., ... & Duarte, J. A. (2013). Effects of exercise training on endothelial progenitor cells in cardiovascular disease: a systematic review. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 92(11), 1020-1030.
- Rinaldi, F., & Perlingeiro, R. C. R. (2014). Stem Cells for Skeletal Muscle Regeneration: Therapeutic Potential and Roadblocks. *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 163 (4), 409-417. doi:10.1016/j.trsl.2013.11.006
- Roger, V. L., Go, A. S., Lloyd-Jones, D. M., Benjamin, E. J., Berry, J. D., Borden, W. B., ... & Turner, M. B. (2012). Heart disease and stroke statistics—2012 update a report from the American heart association. *Circulation*, 125 (1), e2-e220.
- Ross, M. D., Wekesa, A. L., Phelan, J. P., & Harrison, M. (2014). Resistance exercise increases endothelial progenitor cells and angiogenic factors. *Medicine and science in sports and exercise*, 46 (1), 16-23.
- Salama, H., Zekri, A.-R. N., Bahnassy, A. A., Medhat, E., Halim, H. A., Ahmed, O. S., ... Sherif, G. M. (2010). Autologous CD34⁺ and CD133⁺ stem cells transplantation in patients with end stage liver disease. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 16 (42), 5297-5305. doi:10.3748/wjg.v16.i42.5297
- Sandri, M., Viehmann, M., Adams, V., Rabald, K., Mangner, N., Höllriegel, R., ... & Gielen, S. (2015). Chronic heart failure and aging—effects of exercise training on endothelial function and mechanisms of endothelial regeneration: Results from the Leipzig Exercise Intervention in Chronic heart failure and Aging (LEICA) study. *European journal of preventive cardiology*, 2047487315588391.
- Sanganalmath, S. K., & Bolli, R. (2013). Cell therapy for heart failure a comprehensive overview of experimental and clinical studies, current challenges, and future directions. *Circulation research*, 113 (6), 810-834.
- Schlager, O., Giurgea, A., Schuhfried, O., Seidinger, D., Hammer, A., Gröger, M., ... & Steiner, S. (2011). Exercise training increases endothelial progenitor cells and decreases asymmetric

dimethylarginine in peripheral arterial disease: a randomized controlled trial. *Atherosclerosis*, 217 (1), 240-248.

Schrezenmeier, H. (2014). Stammzellforschung. *Handbuch Ethik und Recht der Forschung am Menschen*, 475-479.

Sell, S. (2004). *Stem Cells. Handbook*. Totowa, New Jersey: Humana Press

Shalaby, M. N., Saad, M., Akar, S., Reda, M. A. A., & Shalgham, A. (2012). The Role of Aerobic and Anaerobic Training Programs on CD34+ Stem Cells and Chosen Physiological Variables. *Journal of human kinetics*, 35 (1), 69-79.

Sharma, A., Sane, H., Badhe, P., Gokulchandran, N., Kulkarni, P., Lohiya, M., ... & Jacob, V. C. (2013). A clinical study shows safety and efficacy of autologous bone marrow mononuclear cell therapy to improve quality of life in muscular dystrophy patients. *Cell transplantation*, 22 (Supplement 1), S127-S138.

Shi, M., Zhang, Z., Xu, R., Lin, H., Fu, J., Zou, Z., ... & Wang, F. S. (2012). Human mesenchymal stem cell transfusion is safe and improves liver function in acute-on-chronic liver failure patients. *Stem cells translational medicine*, 1 (10), 725.

Shiba, Y., Fernandes, S., Zhu, W. Z., Filice, D., Muskheli, V., Kim, J., ... & Laflamme, M. A. (2012). Human ES-cell-derived cardiomyocytes electrically couple and suppress arrhythmias in injured hearts. *Nature*, 489(7415), 322-325.

Snijders, T., Verdijk, L. B., Beelen, M., McKay, B. R., Parise, G., Kadi, F., & van Loon, L. J. (2012). A single bout of exercise activates skeletal muscle satellite cells during subsequent overnight recovery. *Experimental physiology*, 9(6), 762-773.

Sousa-Victor, P., Gutarra, S., García-Prat, L., Rodriguez-Ubreva, J., Ortet, L., Ruiz-Bonilla, V., ... & Muñoz-Cánoves, P. (2014). Geriatric muscle stem cells switch reversible quiescence into senescence. *Nature*, 506 (7488), 316-321.

Strauer BE, Yousef M, Schannwell CM: The acute and long-term effects of intracoronary stem cell transplantation in 191 patients with chronic heart failure: The STAR-heart study. *Eur J Heart Fail* 2010; 12: 721–72

Streckfuß-Bömeke, K., & Cyganek, L. (2015). Patientenspezifische iPSC-Zellen und deren Anwendung in der Herzforschung. *BIOspektrum*, 21 (4), 406-410.

Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *cell*, 126(4), 663-676.

Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *cell*, 131 (5), 861-872

Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcheson KA, Glower DD, Kraus WE. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med*. 1998;4:929–933.

Tedesco, F. S., Dellavalle, A., Diaz-Manera, J., Messina, G., & Cossu, G. (2010). Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 120 (1), 11–19. doi:10.1172/JCI40373

Tedesco, F. S., Hoshiya, H., D'Antona, G., Gerli, M. F., Messina, G., Antonini, S., ... & Cossu, G. (2011). Stem cell-mediated transfer of a human artificial chromosome ameliorates muscular dystrophy. *Science translational medicine*, 3(96), 96ra78-96ra78.

- Van Craenenbroeck, E. M., Hoymans, V. Y., Beckers, P. J., Possemiers, N. M., Wuyts, K., Paelinck, B. P., ... & Conraads, V. M. (2010). Exercise training improves function of circulating angiogenic cells in patients with chronic heart failure. *Basic research in cardiology*, 105 (5), 665-676.
- van Laake, L. W., Passier, R., Monshouwer-Kloots, J., Verkleij, A. J., Lips, D. J., Freund, C., ... & Mummery, C. L. (2007). Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes survive and mature in the mouse heart and transiently improve function after myocardial infarction. *Stem Cell Research*, 1 (1), 9-24.
- Vishwakarma, A., Sharpe, P., Shi, S., & Ramalingam, M. (Eds.). (2014). *Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences*. Academic Press.
- Wahl, P., & Bloch, W. (2010). Mobilization of Stem Cells/Progenitor Cells by Physical Activity. In *Stem Cells in the Respiratory System* (pp. 97-119). Humana Press.
- Walter, D. H., Krankenberg, H., Balzer, J. O., Kalka, C., Baumgartner, I., Schlüter, M., ... & Zeiher, A. M. (2011). Intraarterial administration of bone marrow mononuclear cells in patients with critical limb ischemia a randomized-start, placebo-controlled pilot trial (PROVASA). *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 4(1), 26-37.
- Wormer, E. J. (2003). *Mehr Wissen über Stammzellen*. Köln: Lingen.
- Wu, S. M., & Hochedlinger, K. (2011). Harnessing the potential of induced pluripotent stem cells for regenerative medicine. *Nature cell biology*, 13(5), 497-505
- Yang, Z., Xia, W. H., Su, C., Wu, F., Zhang, Y. Y., Xu, S. Y., ... & Tao, J. (2013). Regular exercise-induced increased number and activity of circulating endothelial progenitor cells attenuates age-related decline in arterial elasticity in healthy men. *International journal of cardiology*, 165(2), 247-254.
- Yin, H., Price, F., & Rudnicki, M. A. (2013). Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiological reviews*, 93 (1), 23-67.
- Zekri, A. R. N., Salama, H., Medhat, E., Musa, S., Abdel-Haleem, H., Ahmed, O. S., ... & Bahnassy, A. A. (2015). The impact of repeated autologous infusion of haematopoietic stem cells in patients with liver insufficiency. *Stem cell research & therapy*, 6 (1), 118.
- Zhang, Z., Lin, H., Shi, M., Xu, R., Fu, J., Lv, J., ... & Wang, F. S. (2012). Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve liver function and ascites in decompensated liver cirrhosis patients. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 27 (s2), 112-120.
- Zimmermann, W. H. (2014). Individualisierte Therapie mit Stammzellen. *Herz* 39: 201–205. DOI 10.1007/s00059-014-4073-6
- Zimmet, H., Porapakham, P., Porapakham, P., Sata, Y., Haas, S. J., Itescu, S., ... & Krum, H. (2012). Short-and long-term outcomes of intracoronary and endogenously mobilized bone marrow stem cells in the treatment of ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized control trials. *European journal of heart failure*, 14 (1), 91-105.

Abbildungsverzeichnis

Abb 1. Angriffsziele für die Manipulation der körperlichen Leistungsfähigkeit (vgl. Diel, 2012)

Abb. 2: Die Definition einer Stammzelle. (Alberts et al., 2011, S. 1623)

Abb. 3. Einige Stadien des Differenzierungspotentials während der Organismusentwicklung nach Liebau, Stockmann, Illing, Seufferlein und Kleger (2014, S. 460)

Abb. 4. TE Bereiche (Vishwakarma, Sharpe, Shi & Ramalingam, 2014)

Abb. 5. Potentielle Nutzen und Risiken von iPS-Zelltechnologie in regenerative Medizin schematisch dargestellt nach Wu und Hochedlinger (2011)

Abb. 6. Zielorgane wo Gendoping eingesetzt werden könnte. Grüne Wörter stellen die Genterapieansatz und rote Wörter potentielle Gendoping (vgl. Goud, 2013)

Abb. 7. Mögliche myogene Stammzellquellen aus Blut und Muskel (vgl. Farini et al., 2009)

Abb. 8. Klinische Studien von myoblast Transplantation in DMD Patienten (vgl. Tadesco, Dallavalle, Diaz-Manera, Messina & Cossu, 2010)

Abb. 9. Unterschiedliche Stammzellquellen für kardiale Reparatur: Skelettmyoblasten; Knochenmarkzellen (*MSC* mesenchymale, *HSC* hämatopoetische, Side- Population Zellen,); Fettgewebstammzellen; Endotheliale Vorläuferzellen; *CSC* Kardiale Stammzellen (vgl. Sanganalmath & Bolli, 2013)

Abb. 10. Anwendung unterschiedlichen Stammzelltypen bei Patientinnen mit Kardiovaskulären Krankheiten. Illustration von Patientinnen Nummer mit 6 am häufigsten verwendeten Stammzelltypen von 2000 bis 2012 (vgl. Sanganalmath & Bolli, 2013)

Abb. 11. Zeitplan der Stammzellbehandlung für Patienten der Gruppe 1 (G-I) (vgl. Zekeri et al, 2015)

Abb. 12. Zeitplan der Stammzellbehandlung für Patienten der Gruppe 2 (G-II) (vgl. Zekeri et al, 2015)

Abb. 13. Körperliche Aktivität ruft durch verschiedene Reize die Aktivierung, Mobilisierung und Differenzierung der Stamm- und Vorläuferzellen hervor (vgl. Wahl & Bloch, 2010)

Abb. 14. Einfluss der körperlichen Aktivität auf unterschiedliche adulte Stammzellen. *NSC*-neural stem cells, *MSC*- mesenchymal stem cells, *HSC*- hematopoietic stem cells, *EPC*-endothelial progenitor cell (vgl. Wahl & Bloch, 2010).

Abb. 15. partielle Hemmung der p38 α / β MAPK rettet Engraftment der Satellitenzellen aus alten Maus (vgl. Bernet et al., 2014).

Abb. 16. a) Representative Phospho-HSP27 Histogram aus n=3 Wiederholungen; b) Zellfraktionen positiv auf Phospho- HSP27 (gefüllte und ungefüllte schwarze Kreise) oder phospho- c- Jun (graue Kreise) (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Abb. 17. p38 α / β MAPK Hemmung induziert Proliferation und vergrößert die Stammzellgenexpression in MuSCs aus alten Maus in Softhydrogel Kultur. RT-qPCR analyse der Pax und Myog expression (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Abb. 18. Zusammenfassung der SB-Effekte an MuSCs aus alten Maus in Hydrogelkultur (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Abb. 19. p38 α / β Hemmung und Softhydrogel Substrate wirken steigend auf Gesamtertrag /

Gesamtrendite funktionale alternde Stammzellen (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Abb. 20. *Ex vivo*-expandierte Abkömmlinge der MuSCs aus alten Maus, stellen die Stammzellreserven *in vivo* und könnte seriell Transplantiert werden (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Abb. 21. Transplantat- Engraftmentfrequenz aus BLI (n=10 Empfänger aus 2 Experimenten) (vgl. Cosgrove et al., 2014).

Abb. 22. Muskelregeneration während des Alterungsprozess (vgl. Li & Belmonte, 2014)

Abb. 23. eMHC Färbung in Kyroschnitten von regenerierenden M. tibialis anterior aus erwachsenen, alten und geriatrischen Mäusen, eine Woche nach der CTX-induzierte Verletzung. Histogramm stellt die Quantifizierung der Anzahl von eMHC²⁸ Muskelfasern. Histogramm stellt die Quantifizierung der Anzahl der eMHC Muskelfaser und Muskelfasergröße, evaluiert durch Querschnittsfläche (vgl. Sausa-Victor et al., 2014).

Abb. 24. p16INK4a Stilllegung wiederherstellt reversible Ruhezustand in geriatrischen und progerischen Satellitenzellen. Anzahl der aktivierten (pax7 MyoD) Satellitenzellen, und p16INK4a und Igfbp5 Expression durch RT-qPCR in M. tibialis anterior aus geriatrischen Maus transduziert mit Ad-shRNAp16INK4a oder Ad-shScramble, 14h nach CTX-Verletzung. Expression dieser Werte sind referenziert zur Erwachsene (vgl. Sausa-Victor et al. 2014).

Abb. 25. p16INK4a Stilllegung (vgl. Sausa-Victor et al., 2014).

Abb. 26. a) Selbsterneuert Satellitenzellen (Pax7, Ki67) in einmalige und doppelte CTX-verletzten Muskel (am 21 Tag und am 21+21, jeweils); b) 21-Tag Selbsterneuert Satellitenzellen aus (a) mit/ohne p16INK4a Stilllegung (vgl. Sausa-Victor et al., 2014).

Abb. 27. Erhöhte p38 Signal(isierung) beeinträchtigt Selbsterneuerung der alternden Satellitenzellen (vgl. Bentzinger & Rudnicki, 2014).

Abkürzungsverzeichnis

ABI	ankle brachial index
ABMMNCs	autologen Bone marrow–derived mononuclear cells
ACLF	acute-on-chronic liver failure
ACS	acute coronary syndrome
ADMA	asymmetric dimethylarginine
ADMSCs	adipose tissue derived mesenchymal stem cells
ADRCs	adipose tissue- detived regenerative cells
ALB	albumin
ALDH(br)	adehyde dehydrogenase brigth
ALT	alanine aminotransferase
AP	alkaline phosphatase
baPWV	brachial-ankle pulse wave velocity
BMMNC	Bone marrow–derived mononuclear cell mononukleären
BMT	best medical treatment,
CABG	Coronary arthey baypass grafting
CAC	circulating angiogenic cells
CAD	coronary artery disease,
CDCs	cardiosphere-derived cells
CFU-ECs	colony-forming units of endothelial-like cells
CHF	chronic Heart Failure
CI	confidence interval
CLI	critical limb ischemia
CTX	Cardiotoxin
DLK1	Delta-like homolouge 1
DMD	Duchenne muscular dystrophie
eMHC	embryonic myosin heavy chain
EPCs	Endotheliale Vorläuferzellen
FGF	Fibroblast growth factor
FGFR	Fibroblast growth factor receptor
FMD	brachial flow-mediated dilation
FMD	flow mediated dilitation
G-SCF	granulocyte colony stumulating facotr
GXT	graded exercise testin
HAC	human artificial chromosome
hES	human embryonic stem cells
hiPS	human induced pluripotent stem cells
HRT	heavy resistance training

hsCRP	high sensitivity C-reactive protein
iFR1	Interim Feature Release
INR	International Normalized Ratio
iPS	induced pluripotent stem cells
LGMD2D	limb-girdle muscular dystrophy 2D
LVEF	left ventricular ejection fraction
LVESV/DV	LV end-systolic/ diastolic volume
MACCE	major adverse cardiac and cerebrovascular events
MAPK	mitogen-activated protein kinases
MDSCs	muscle derived stem cells
MELD	model for End-stage Liver Disease
MERE	muscular endurance resistance exercise
MET	metabolic equivalent
MLHFQ	Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire
MMP	matrix metalloproteinases
MRI	magnetic resonance imaging
MSCs	mesenchymal stem cells
MuSCs	muscle stem cells
MyoD, Myog	myogenic regulatory factors
NYHA	New York Heart Association
OR	odds ratio
PAD	peripheral arterial disease
PAOD	peripheral arterial occlusive disease
SGOT	serum glutamic oxaloacetic transaminase
SGPT	serum glutamic-pyruvic transaminase
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
Pax7	paired box
PB-MNC	peripheral blood mononuclear cells
PTA	prothrombin activity
RCT	randomized controlled trials
SDF-1	stromal cell-derived factor-1
SET	supervised exercise training
shRNA	short hairpin RNA
siRNA	small interfering RNA
TE	tissue Engineering
TERM	tissue Engineering and regenerative medicine
TRCs	tissue repair cells
UC-MSC	umbilical cord-derived mesenchymal stem cell
VEGF	vascular endothelial growth factor
VEGFR2	vascular endothelial growth factor receptor 2

Anhang

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Andrea Orlic, Bakk.rer.nat

E-Mail-Adresse: andrea023@gmail.com

Staatsangehörigkeit: Serbisch

Ausbildung

1991- 1999 Grundschule „Petar Petrovic Njegos“ in Zrenjanin

1999 - 2003 Gimnasium „Zrenjaninska Gimnazija“

2012 Bakkalauratsstudium Sportwissenschaft (Bakk.rer.nat) an der Uni Wien

Seit 2012 Masterstudium Sportwissenschaft mit der Pflichtmodulgruppe
„Trainingstherapie“ (MTT) an der Uni Wien

Berufserfahrung

Seit 2012 Schwimmtrainerin, Administrative Tätigkeiten im organisatorischen
Bereich und Diagnostik im Sportunternehmen FLOWSPORTS ,

2012-2014 Schwimmtrainerin bei „Swim4fun“

2012-2014 Schwimmtrainerin bei AIS und VIS (American International School und
Vienna International School)

2011-2014 Schwimmtrainerin bei der SPORTUNION

2007-2012 Rettungsschwimmlehrerin beim Österreichischen Jugendrotkreuz (ÖJRK)

2005-2012 Au- Pair Mädchen

Praktikum

Oktober 2014 Trainingstherapie-Praktikum im Zentrum für ambulante Rehabilitation
Wien (innere Erkrankungen)

Juli/Aug. 2014 Trainingstherapie-Praktikum im Kur- und Rehabilitationszentrum Klinik
Pirawarth (Sonderkrankenanstalt für Neurologische und Orthopädische
Erkrankungen, Psychosomatik)

Februar 2014 Diagnostik beim Sportunternehmen PROFEX (Stufentest am Laufband
und Ergometer, BIA, Kalipermetrie, Somatotyping, Haltungsanalysen
und Muskelfunktionstest)

SS 2011 EMG Studie beim Institut für Sportwissenschaften (100 Arbeitsstunden)

Aus-und Fortbildung

Juli 2015 Symposium ISEI 2015, „Sport and Immunology“
Seit 2012 Interne Schulungen und Workshops im FLOWSPORTS (Online Personal Coaching, MediMouse Spine- check, Back-check by Dr. Wolff, MFT S3 Check)
Nov. 2014 „Get Professional“ Zertifizierung by PROFEX
2010 Dance Edukation (USI)
2007 Aerobic und Fitnesslehrerausbildung (USI)
2007 Rettungsschwimmlehrerausbildung (ÖJRK)

Sprachkenntnisse

BKS – (Bosnisch-Kroatisch-Serbisch) Muttersprache
Deutsch Bildungssprache
Englisch verhandlungssicher

Erklärung

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe und nur die ausgewiesenen Hilfsmittel verwendet habe. Diese Arbeit wurde weder an einer anderen Stelle eingereicht (z. B. für andere Lehrveranstaltungen) noch von anderen Personen (z. B. Arbeiten von anderen Personen aus dem Internet) vorgelegt.

Wien, im November 2015

Andrea Orlic