



Das menschliche Herz ist in Bau und Funktion eine Meisterleistung der Natur, als Zentrum des Kreislaufs reagiert es auf jede Anforderung selbst aus den verstecktesten Winkeln unseres Körpers. Die größeren Blutgefäße, Schlagadern und Venen, sind dabei reine Transportwege, während die Haargefäße oder Kapillaren die eigentlichen Versorgungswege darstellen. Die Gesamtlänge der Blutgefäße wird auf 130.000 Kilometer geschätzt. Zusammen mit dem Herz bilden sie das erste funktionelle Organsystem, das im Embryo angelegt wird. Bereits in der

Ohne Zweifel kommt den Signalmolekülen auch im Rahmen der **Geweberegeneration** eine entscheidende Rolle zu.

ENGPASS IM BLUTFLUSS

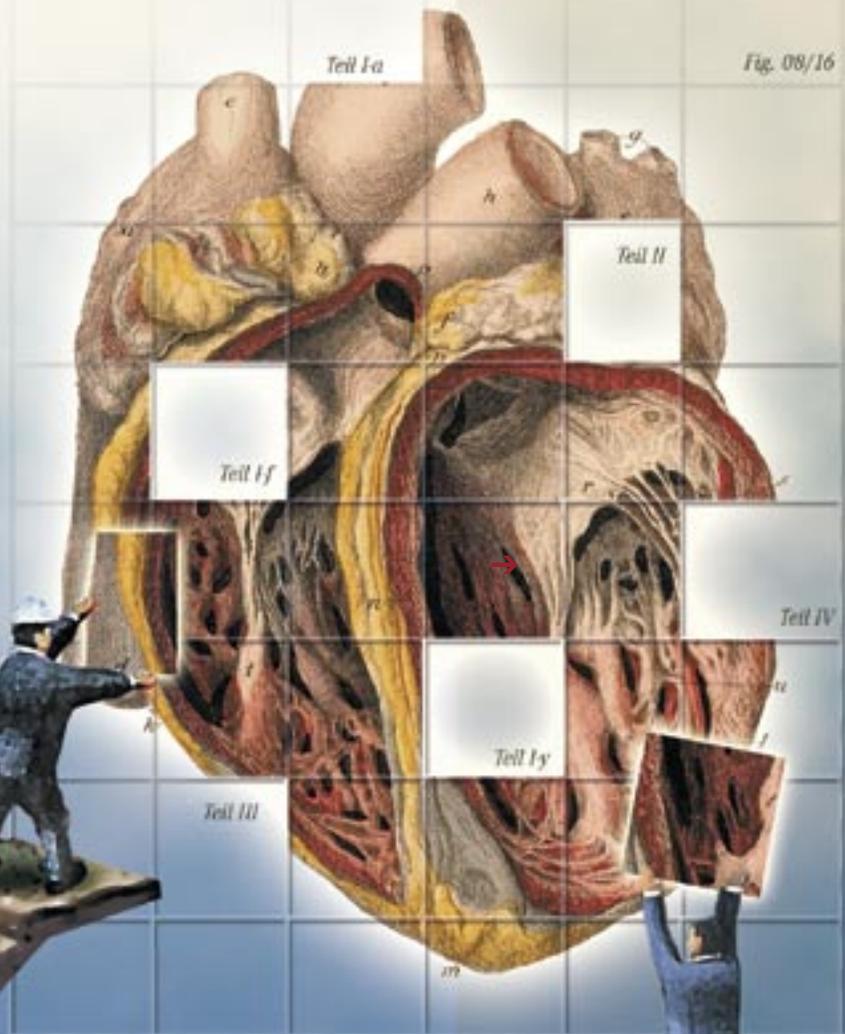
Mehr als die Hälfte aller Todesfälle in Deutschland geht auf Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems zurück, ausgelöst u.a. durch einen Herzinfarkt. Ein solcher ist auf eine mangelnde Durchblutung des Herzmuskels zurückzuführen. Die Ursache liegt in einem Verschluss oder einer Verengung der Herzkranzgefäße. Infolge des



Organe aus dem Zelllabor – wie Bioingenieure künstliche Gewebe schaffen

vierten Schwangerschaftswoche beginnt das kleine Herz zu schlagen, insgesamt etwa zweieinhalb Milliarden Mal während eines normalen Lebens.

Die wichtigsten zellulären Bestandteile sind Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten), die für die Pumpfunktion des Herzens zuständig sind, Endothelzellen, die Herzkammer und Vorhöfe sowie die Herzkranzgefäße in ihrem Inneren auskleiden, und glatte Muskelzellen, welche die Gefäßdurchmesser regulieren. Sie alle entstehen aus dem Mesoderm, dem mittleren Keimblatt des frühen Embryos. Der Prozess der Differenzierung und Spezialisierung in einen bestimmten Gewebetyp ist äußerst komplex und in den Details immer noch nicht vollständig verstanden. Gesteuert wird er durch eine Vielzahl von Signalmolekülen. Diese binden an Rezeptoren, Empfangsantennen auf der Oberfläche der Zielzellen, und stoßen im Zellinneren eine Kaskade von biochemischen Reaktionen an. Das bewirkt vielfältige Veränderungen – im Stoffwechsel der Zelle, in ihrer Bewegungsaktivität oder ihren Kontaktstellen zu Nachbarzellen.





▲ Am Tiermodell studieren die Wissenschaftler die Bildung von Kollateralgefäßen. Die mit einem speziellen bildgebenden Verfahren aufgenommenen Bilder zeigen die Durchblutung der Hinterbeine einer Maus vor Verschluss einer zentralen Arterie im linken Bein (a) sowie direkt nach dem experimentell ausgelösten Verschluss der Arterie (b). Durch die Bildung von Kollateralgefäßen nimmt die Durchblutung des Beines 7 Tage (c) bzw. 21 Tage (d) danach erkennbar wieder zu.

→ Nährstoff- und Sauerstoffmangels stirbt der betroffene Herzmuskelbezirk ab. Das zugrunde gegangene Herzmuskelgewebe bildet sich bindegewebsartig um; es entsteht eine Herzinfarkt-Narbe, die keinerlei Beitrag mehr zur Pumpleistung des Herzens liefert. Das Gewebe ist dauerhaft geschädigt, da die Herzmuskulatur nicht nachgebildet werden kann. Die Wissenschaftler gehen davon aus, dass die Herzmuskelzellen ihren Teilungszyklus beenden, wenn das Herz im Laufe seiner Entwicklung seine definitive Größe erreicht hat. Schon seit geraumer Zeit suchen sie daher nach neuen Ansätzen für eine wirkungsvolle Herzinfarkt-Therapie.

Am Max-Planck-Institut in Bad Nauheim befassen sich Wolfgang Schaper und seine Mitarbeiter u.a. mit der Regulation der **Blutgefäßneubildung**. Prinzipiell könnten die negativen Folgen eines Gefäßverschlusses

vom Körper durch die Bildung von Umgehungskreisläufen, so genannten Kollateralgefäßen, verhindert werden. Dabei bilden sich um den Verschluss herum aus einem bereits existierenden Netzwerk aus Mikro-Arterien durch Zellteilung und Gewebsumbau echte funktionelle Arterien, die unter günstigen Bedingungen die verschlossene Arterie vollständig ersetzen können (Abb. B). In der Realität erfolgt das Wachstum solcher „natürlichen Bypässe“ in den meisten Fällen viel zu langsam, um eine Schädigung des Herzens zu verhindern. Die Nauheimer Forscher konnten jedoch zeigen, dass bestimmte biologische Faktoren das Gefäßwachstum stark beschleunigen und den Aufbau eines effizienten Ersatzkreislaufs ermöglichen, der im Idealfall die Durchblutungsstörungen vollständig kompensiert (Abb. A) – und das gilt nicht nur für den Herzkreislauf und periphere Gefäßerkrankungen (z. B. Raucherbein), sondern, wie jüngste Untersuchungen von Max-Planck-Forschern aus Köln zeigen, auch für das Gehirn.

GEN-TAXI INS ZELLINNERE

Solche **Wachstumsfaktoren** können zu therapeutischen Zwecken direkt in das Gewebe gespritzt oder aber durch Einschleusen des entsprechenden Gens in die Zellen vor Ort produziert werden; man spricht dann von einer **Genherapie**. Dabei nutzen die Wissenschaftler unterschiedliche Transportvehikel: Eine Möglichkeit besteht darin, das Gen in ein bakterielles **Plasmid** einzubauen und dieses in das betreffende Gewebe, beispielsweise den Herzmuskel, zu injizieren. Muskelzellen nehmen, im Gegensatz zu Nervenzellen, reine Plasmid-DNA aus der Umgebung auf. Die Transferrate lässt sich noch erhöhen, wenn man das Genmaterial in winzige Fettkügelchen, so genannte Liposomen, einschließt. Diese Transportbehälter können dank ihrer chemischen Beschaffenheit leicht mit der lipidhaltigen Zellmembran verschmelzen und dabei ihren Inhalt ins Zellinnere entlassen.

Einen Teil des aufgenommenen Genmaterials wird die Empfängerzelle, wenn alles gut geht, in ihren Kern transportieren. Dort verbleibt das Plasmid außerhalb des Chromosoms und wird als Synthesevorschrift für das therapeutische Protein genutzt; in der Regel über einen Zeitraum von 1-2 Wochen.

Sehr viel bessere Genfähren sind **Viren**, denn sie verfügen bereits natürlicherweise über Mechanismen, um ihr genetisches Material in den Wirtszellen abzuladen. Auf gentechnischem Wege haben Wissenschaftler die viralen Erreger entschärft und so umgebaut, dass sie – ohne die spezifischen Krankheitssymptome auszulösen – ein bestimmtes Gen in die Zielzellen einbringen können. Retroviren infizieren in der Regel nur teilungsaktive Zellen. Eine Ausnahme unter ihnen bilden die Lentiviren, zu denen auch das AIDS-Virus gehört. Sie vermögen Zellen zu befallen, die sich nicht teilen. Auch die adeno-assoziierte Viren (AAV) bieten sich als Transportvehikel an. Da sie sehr viel kleiner sind, können sie sehr effektiv genetisches Material in die Zellen einschleusen. Das Herpes-Virus, das typische Lippenbläschen hervorruft, ist besonders geeignet, Gene in Nervenzellen zu transportieren. Alle diese Viren werden in das Genom der Wirtszelle eingebaut, was zu einer lang andauernden Expression des Gens führt. Diese Integration in das Genom birgt aber auch ein Risiko: Das Virus kann sich nämlich in ein aktives Gen einfügen und dieses dadurch zerstören oder, wenn es sich um ein Krebsgen (Onkogen) handelt, dieses aktivieren. Das kann bei einer von 10.000 genetisch veränderten Zellen passieren. Auch wenn diese Schätzungen durch klinische Daten erst bestätigt werden müssen, so steht doch fest, dass das Risiko mit der Zahl der veränderten Zellen steigt.

In vielen Untersuchungen zur therapeutischen Angiogenese, also der Blutgefäßbildung, werden vor allem Adenoviren eingesetzt. Sie



▲ Nach dem künstlichen Verschluss einer Hauptarterie bilden sich zahlreiche kleinere Kollateralgefäße, die das Blut weiterleiten.

sind bekannt als Erreger von Atemwegserkrankungen. Wie Plasmide verbleiben sie außerhalb des Chromosoms und sorgen über einen Zeitraum von 1-2 Wochen für eine Expression des Gens in den Wirtszellen. Zahlreiche klinische Studien belegen mittlerweile hinreichend die Sicherheit des Einsatzes von Adenoviren. Seit Januar 2004 ist eine von chinesischen Wissenschaftlern entwickelte Gentherapie basierend auf Adenoviren am Markt zugelassen. Sie zielt auf die Heilung einer bestimmten Form von Kopf-Hals-Tumoren. Was die Blutgefäßbildung angeht, zweifeln die Wissenschaftler aus Bad Nauheim jedoch am schnellen Erfolg einer Gentherapie. Jahrelange Grundlagenforschung hat gezeigt, dass nicht ein einziger, sondern zig Faktoren am Blutgefäßwachstum beteiligt sind. Man wäre also gut beraten, gleich eine ganze „Proteinfabrik“ einzusetzen, zum Beispiel **Leukozyten**. Schaper und seine Mitarbeiter konnten zeigen, dass eine bestimmte Sorte weißer Blutkörperchen, die **Monozyten**, tatsächlich das Wachstum von Kollateralgefäßen, die Arteriogenese, stimuliert.

AUS EINS MACH ZWEI

Noch interessanter wäre es, wenn man das Regenerationspotenzial des Menschen ausweiten könnte. So gelingt es uns zwar, einen gebrochenen Knochen wieder zusammenzuwachsen zu lassen oder die Haut zu erneuern, vor allem nach einem Sonnenbrand; aber ganze Gliedmaßen oder Organe nachwachsen zu lassen, ist eine Fähigkeit, die wir nicht besitzen. Dabei gibt es eine Reihe vielzelliger Organismen, die zu solch erstaunlichen Regenerationsleistungen fähig sind: Bereits 1742 fand der Schweizer Naturforscher Abraham Trembley bei seinen Experimenten an dem kleinen Süßwasserpolypen Hydra, dass zerschnittene Tiere am Leben bleiben und sich die einzelnen Teile wieder zu vollständigen

DAS STAMMZELLENGESETZ

Das „Gesetz zur Sicherstellung des Embryonenschutzes im Zusammenhang mit Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen“ wurde am 25. April 2002 vom Bundestag beschlossen. Es verbietet die Gewinnung von embryonalen Stammzellen in Deutschland, erlaubt aber die Einfuhr unter bestimmten Bedingungen: Die Zelllinien müssen schon vor dem 1. Januar 2002 bestanden haben (Stichtagsregelung); sie dürfen nur Forschungszwecken dienen, die hochrangig und auf anderem Wege voraussichtlich nicht zu erreichen sind; die Ei- und Samenspende dürfen für das Überlassen der Keimbläschen in keiner Weise einen geldwerten Vorteil erlangt haben; und schließlich muss jede Einfuhr vom Robert-Koch-Institut genehmigt werden.

REGENERATIONSKÜNSTLER

Menschen haben nur sehr eingeschränkte Fähigkeiten zur Regeneration. Andere Organismen, wie Molche oder Plattwürmer, können Gliedmaßen nachwachsen oder aus Teilstücken neue Individuen entstehen lassen. Dabei lassen sie jene Mechanismen wieder aufleben, die bei der Embryonalentwicklung von Bedeutung sind. So sind 20 Prozent der Zellen bei Plattwürmern Stammzellen, die noch jeden beliebigen Gewebetyp bilden können. Bei einem Gewebeschaden sammeln sie sich an der verletzten Stelle und formen eine kleine Kugel unspezialisierter Zellen, aus der sich Organe und Gewebe regenerieren. Mit modernen molekularbiologischen Methoden versuchen die Wissenschaftler, die Signale zu identifizieren, die bei der Steuerung dieser Vorgänge eine Rolle spielen – und die möglicherweise auch eingesetzt werden könnten, um die Regenerationsfähigkeit beim Menschen zu steigern. Denn obwohl zwischen diesen Organismen und dem Menschen eine evolutionäre Lücke von mehreren Millionen Jahren klafft, zeigen sich doch ganz erstaunliche molekulare Parallelen: So ist ein aus den verheilenden Gliedmaßenstümpfen von Salamandern gewonnener molekularer Cocktail, der so genannte „regeneration extract“, in der



Lage, die als nicht teilungs- und differenzierungsfähig geltenden Herzzellen eines Säugerherzens zu dedifferenzieren und damit in eine neue Zellteilung zu schicken.

© MPG

Tieren regenerieren können. 1768 beschrieb der Italiener Lazzaro Spallanzani erstmals das Neuauswachsen ganzer Gliedmaßen beim Salamander (siehe Kasten oben). Dieser kann sogar, ebenso wie der Zebrafisch, Teile des Herzens regenerieren.

Um unsere körpereigene Regenerationsfähigkeit durch Implantation lebender Zellen zu aktivieren oder beschädigte Gewebe durch Gewebekonstrukte zu ersetzen, arbeiten Forscher aus den unterschiedlichsten Wissenschaftszweigen zusammen – von der Biomedizin, der Biomaterialforschung, den Ingenieurwissenschaften und der Zellbiologie bis hin zu den einzelnen Disziplinen in der Chirurgie. Eine entscheidende Grundlage für diese **Tissue Engineering** genannte Technologie ist die erfolgreiche Züchtung von Zellen: 1907 war es dem Amerikaner Ross G. Harrison erstmals gelungen, Nervenzellen unter Kulturbedingungen wachsen zu lassen. In den 1960er-Jahren konnten Wissenschaftler dann aus Einzelzellen, die dem Körper entnommen worden waren, erste Zellschichten produzieren. 1975 gelang es ihnen, menschliche Hautzellen außerhalb des Körpers zu vermehren – sechs Jahre später erhielten schwer verbrannte Patienten erstmals Hauttransplantate, die aus autologen, also patienteneigenen Zellen gezüchtet

worden waren. Inzwischen gibt es kaum noch einen Zelltyp, dessen Vermehrung außerhalb des Organismus nicht versucht wurde.

ZELLEN MIT POTENZIAL

Diese Zellen können in erkrankte, degenerative oder teilweise zerstörte Organe und Gewebe eingespritzt werden und dort zur Verringerung des Defekts, Verbesserung der Funktion oder sogar zur kompletten Heilung führen – ein hoffnungsvoller Ansatz, auch bei der Herztherapie. Leider ist es jedoch vergleichsweise schwierig, Herzgewebe wachsen zu lassen, da sich adulte (ausdifferenzierte) Herzmuskelzellen in der Regel nicht mehr teilen. Alternativ könnten unter Umständen Stammzellen verwendet werden. **Embryonale Stammzellen** (ES-Zellen) sind pluripotent, d.h. sie besitzen die Fähigkeit, noch alle Gewebe bilden zu können, aber keinen vollständigen Organismus mehr. Sie werden aus der inneren Zellmasse eines Keimbläschens, der Blastozyste, entnommen und in vorbereitete Kulturschalen übertragen, die mit einer Lage Bindegewebszellen beschichtet und einer speziellen Nährlösung gefüllt sind. Hier vermehren sie sich zu etwa hundert Zellen, die wiederum in neue Kulturschalen überführt werden, sodass aus wenigen embryonalen Stammzellen schließlich Abermillionen entstehen – allesamt mit →

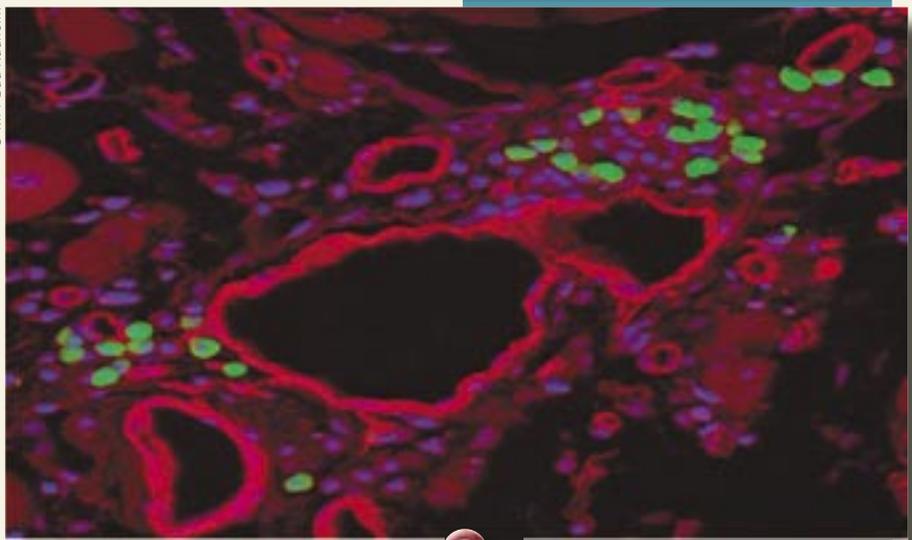
→ dem Potenzial ausgestattet, sich bei geeigneter Stimulierung in jeden nur erdenklichen Zelltyp zu differenzieren. Neurophysiologen der Universität Köln ist es bei der Maus gelungen, Teile einer Herzinfarkt Narbe durch gezielt differenzierte embryonale Stammzellen zu ersetzen. Sie konnten zeigen, dass sich die neuen Herzzellen tatsächlich funktionell an das bereits vorhandene Herzmuskelgewebe ankoppeln, sich in den Gewebeverband integrieren und nachweisbar einen Kraftzuwachs im kleinen Mäuseherz erreichen. Im Gegensatz dazu verbesserten implantierte Myoblasten (noch nicht ausdifferenzierte Muskelzellen) in klinischen Untersuchungen zwar die Herzfunktion, aber die Patienten litten unter Herzrhythmusstörungen. Offensichtlich konnten die implantierten Zellen keine Verbindung zu den Nachbarzellen herstellen, um eine Impulsweiterleitung während des Herzschlags und damit eine koordinierte Kontraktion des Herzmuskels zu ermöglichen.

GRÜN LEUCHTENDE MÄUSE

Die Gewinnung embryonaler Stammzellen ist ethisch umstritten (**siehe Kasten S. 3**), die Verfahren zur Herstellung **adulter Stammzellen** weitaus unbedenklicher. Doch die Frage, ob diese tatsächlich eine Alternative darstellen, lässt sich nach wie vor nicht beantworten – zu widersprüchlich sind die experimentellen Daten. Noch vor wenigen Jahren behaupteten einige Forscher, dass sich Knochenmarkszellen nach Transplantation in eine Vielzahl von Zelltypen differenzieren können (**siehe BIOMAX, Ausgabe 10**). Inzwischen werden Zweifel laut; nach jüngsten Untersuchungen entwickeln sich adulte Stammzellen aus dem Knochenmark im Herzen nicht zu Herzmuskelzellen, sondern lediglich in verschiedene Blutzell-Typen.

Die Wissenschaftler am Max-Planck-Institut in Bad Nauheim haben sich intensiv mit der Rolle der Knochenmarkstammzellen beim Wachstum von Blutgefäßen beschäftigt. Um sie im Gewebe aufspüren zu können, transplantierten die Forscher „grün leuchtende“ Knochenmarkstammzellen in die Versuchstiere und lösten künstlich die Bildung von Kollateralgefäßen aus. Das modifizierte Knochenmark entnahmen die Mediziner transgenen Mäusen, denen zuvor ein aus Korallen stammendes Gen für ein grün fluoreszierendes Protein übertragen wurde. Die Frage war, ob diese Stammzellen in die Kollateralgefäßwand eingebaut werden. Unter dem Mikroskop durchsuchten die For-

© MPI Bad Nauheim



C

Grün fluoreszierende Knochenmarkstammzellen sammeln sich um eine wachsende Kollateralarterie – sie werden nicht in das Gefäß eingebaut.

scher mehr als dreitausend Gewebeschnitte. Sie fanden nicht eine einzige grün leuchtende Gefäßwandzelle, die aus den im Blut zirkulierenden Stammzellen hervorgegangen wäre. Stattdessen entdeckten sie im näheren Umfeld der Kollateralgefäßwand vor allem Monozyten und T-Lymphozyten, die durch ihr grünes Leuchten das Knochenmark als Ursprung verrieten (**Abb. C**). Die Monozyten – so die Erkenntnis der Experten – stimulieren aber zumindest das Gefäßwachstum.

ERSATZTEILE AUS DEM BIOREAKTOR

Bei der Herstellung künstlicher Gefäße eröffnet das Tissue Engineering ungeahnte Möglichkeiten. Aus einer kleinen Gefäßbiopsie des Patienten werden die entsprechenden Zellen gewonnen und in Kultur genommen, wo sie sich unter Zugabe von Wachstumsfaktoren vermehren. In einer flachen Biomatrix (Wachstumsunterlage) ziehen die Bioingenieure dann ein dreidimensionales Geflecht aus Bindegewebszellen heran und formen dieses Konstrukt zu einem Röhrchen. Anschließend wird es außen mit glatten Muskelzellen und innen mit Endothelzellen besiedelt. In einem speziell entwickelten Bioreaktor, der Nährstoffe und Sauerstoff bereitstellt, beginnen die Zellen mit der Ausbildung eines funktionellen Gewebes. Um das Gewebe an die physiologischen Stressbedingungen des fließenden Blutes zu gewöhnen, wird es einem pulsierenden Fluss des Kulturmediums ausgesetzt. Die neu konstruierten Gefäße halten einem experimentell erzeugten internen hydrostatischen Druck von 1000 mm Hg stand, was dem 6-8fachen des natürlichen systolischen Blutdruckes entspricht – ein Ergebnis, das die Hunderttausenden Patienten, die einen Bypass benötigen, zuversichtlich stimmen dürfte.

Ganze Organe, so komplex wie beispielsweise ein Herz, wachsen zu lassen, ist allerdings eine ungleich größere Herausforderung. Dabei ist der klinische Bedarf groß – derzeit warten Patienten, die ein Herztransplantat benötigen, teilweise mehrere Jahre auf ein Spenderorgan. Und selbst wenn ein Organ vorliegt, müssen noch zahlreiche immunologische Hürden genommen werden: Da das Immunsystem körperfremde Organe nicht akzeptiert und abstößt, müssen die Abstoßungsreaktionen ein Leben lang medikamentös unterdrückt werden, unter Inkaufnahme teils erheblicher Nebenwirkungen. In der Regel arbeitet ein solches Spenderorgan dann nicht länger als ein Jahrzehnt. Um diesen Patienten neue Perspektiven eröffnen zu können, müssen noch große Forschungsanstrengungen im Bereich des Tissue Engineering unternommen werden.

Schlagwörter: Geweberegeneration, Wachstumsfaktoren, Gentherapie, Plasmide, Viren, Leukozyten/Monozyten, Stammzellen, Tissue Engineering

Lesetipps: W. W. Minuth, R. Strehl, K. Schumacher, Von der Zellkultur zum Tissue engineering, Pabst Verlag 2002; Moderne Medizin, Spektrum der Wissenschaft, Sonderheft 2/2004; Michael Feld und Jürgen Hescheler, Potente Zellen, Spektrum der Wissenschaft, Mai 2003

Internet: <http://www.i-s-b.org/fokus/tissue/te.htm>

DIE „MAX“-REIHE

auch unter www.max-reihe.mpg.de

BIOMAX, GEOMAX und TECHMAX erscheinen jeweils zweimal im Jahr und berichten über aktuelle Forschungsergebnisse aus den Max-Planck-Instituten vor allem für Lehrer und Schüler. Weitere Exemplare können unter folgender Adresse kostenlos bestellt werden: