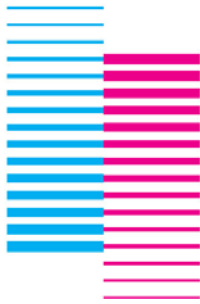


set



**Stiftung zur Förderung
der Erforschung von
Ersatz- und
Ergänzungsmethoden
zur Einschränkung von
Tierversuchen**

**Stiftung zur Förderung der Erforschung von Ersatz- und
Ergänzungsmethoden zur Einschränkung von Tierversuchen**

Mainzer Landstraße 55, 60329 Frankfurt am Main

www.stiftung-set.de

Abgeschlossenes Projekt

**Pharmakologisches Screening unter Verwendung von aus
humanen embryonalen Stammzellen abgeleiteten
Kardiomyocyten**

Dr. Michael Reppel, Institut für Neurophysiologie, Uni Köln

Juni 2006 – Mai 2008

Pharmakologisches Screening unter Verwendung von aus humanen embryonalen Stammzellen abgeleiteten Kardiomyocyten

Projektbeschreibung:

Gegenwärtig werden pharmakologische Testungen potentieller Nebenwirkungen kardial wirksamer Medikamente, wie z.B. Antiarrhythmika, meist in Form von Tierversuchen durchgeführt. Die wichtigste wissenschaftliche Limitation dieser Experimente ist darin zu sehen, dass sie in einer anderen Spezies und vor allem im gesunden Organismus durchgeführt werden. So ist hinlänglich bekannt, dass andere Spezies und vor allem das erkrankte menschliche Herz ganz andere biochemische und elektrophysiologische Eigenschaften aufweisen, als das gesunde menschliche Herz. Die Ergebnisse sowie eine mögliche Übertragbarkeit auf den erkrankten menschlichen Organismus, in dem die Medikamente letztlich zur Anwendung kommen sollen, sind besonders kritisch zu beurteilen. Das Ziel dieses Projektes war, ein auf menschlichem kardialen Gewebe basierendes *in-vitro*-Messsystem zu entwickeln, mit dem die elektrophysiologische Antwort von erkranktem oder diesem vergleichbarem Gewebe untersucht werden kann. Aufgrund eigener früherer Untersuchungen war anzunehmen, dass besonders frühe Entwicklungsstadien von aus hES-Zellen (humanen embryonalen Stammzellen) differenzierten Kardiomyozyten aufgrund der wie im erkrankten menschlichen Herz bestehenden reduzierten Repolarisationsreserve ein gutes und dem erkrankten kardialen Gewebe vergleichbares Modell darstellen könnten. In Kombination dieser Zellen mit einem zeitlich und räumlich hochauflösenden elektrophysiologischen Messsystem (MEA, Abb. 1) bestand die Hoffnung, dass ein sensitives und spezifisches pharmakologisches *in-vitro*-Screeningmodell entwickelt werden könnte. Zu diesem Zweck wurden basale elektrophysiologische Parameter zu unterschiedlichen kardialen Entwicklungsstufen sowie deren Beeinflussung durch Antiarrhythmika bestimmt (Abb. 2).

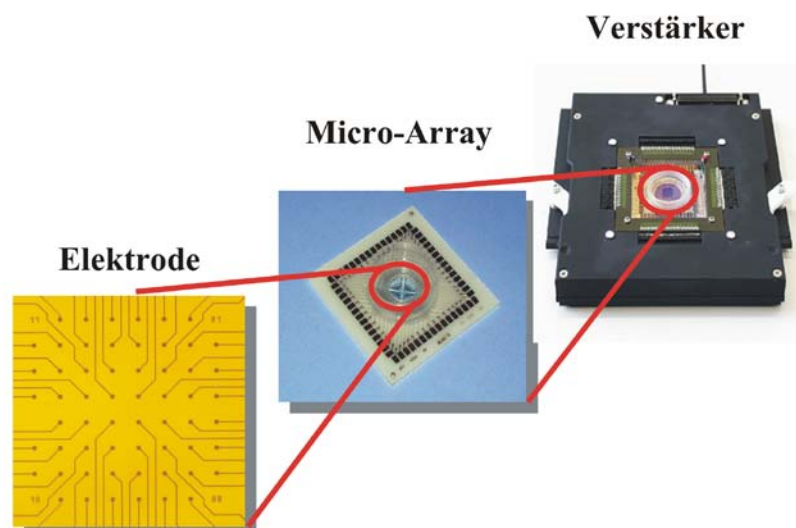


Abb. 1: MEA-Komponenten (Multichannelsystems, Germany): Das MEA-System umfasst die in das Micro-Array eingelassenen Elektrodengitter, mit einem Elektrodenabstand von 200 μm und einem Elektrodendurchmesser von 30 μm . Die Elektroden selbst bestehen aus TiNi. Diese MEAs werden nach Plattierung und Kultivierung des Herzgewebes in den Messverstärker eingesetzt, so dass die elektrophysiologische Antwort der lebenden Zellen online gemessen werden kann.

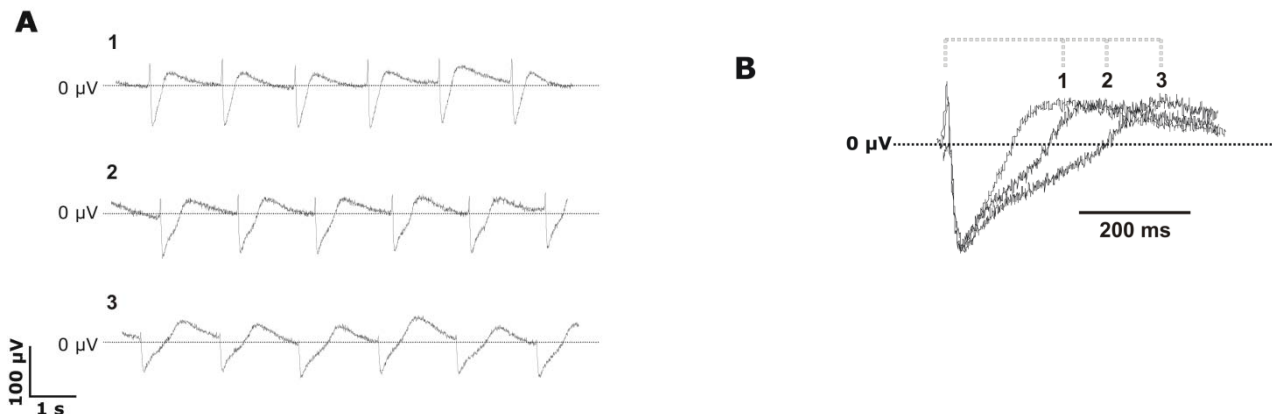


Abb. 2: Aus humanen embryonalen Stammzellen abgeleitete Kardiomyozyten werden als pharmakologisches Screening-Instrument eingesetzt: Messung der Repolarisationsphase unter Einfluß des antiarrhythmisch wirksamen Medikaments d-Sotalol.

A) Original-Messung mit 300 µM d-Sotalol unter 1) Kontrollbedingungen, 2) 2 min und 3) 3 min nach Sotalolgabe.

B) Normalisierte Überlagerung dieser drei Messungen.

Ergebnisse:

In Übereinstimmung mit klinischen Beobachtungen rufen Sotalol, E4031 und Quinidine eine deutliche Verlängerung der Feldpotentialdauer, somit der kardialen Repolarisationsphase, sowie eine negative Chronotropie hervor. Im Gegensatz hierzu bewirkt Verapamil als Kontrolle neben der negativen Chronotropie eine Verkürzung der Repolarisationsphase. Quinidine und Verapamil verringern die Reizleitungsgeschwindigkeiten, wohingegen Sotalol und E4031 diese negativ dromotrope Eigenschaft nicht aufweisen. Auch diese Ergebnisse entsprechen den aus *in-vivo*-Experimenten bzw. aus Patientenanwendungen bekannten Erwartungen.

Die jetzigen Ergebnisse belegen, dass die frühen hES-Entwicklungsstadien eine deutlich reduzierte Repolarisationsreserve besitzen, die mit dem MEA-System hochsensitiv gemessen werden kann. In diesem Punkt unterscheiden sie sich signifikant von späteren Entwicklungsstadien, so dass insbesondere die frühen Stadien der hES-Zellen aufgrund der Spezieszugehörigkeit und der Vergleichbarkeit mit erkranktem myokardialen Gewebe einen sinnvollen Ansatz für pharmakologisches Screening darstellen. Letzteres wird die durch die mit *in-vivo*-Daten vergleichbaren Ergebnisse der o.g. pharmakologischen Testungen und die damit bewiesene hohe Sensitivität und Spezifität des Messsystems belegt.

Publikation:

Liang H, Matzkies M, Schunkert H, Tang M, Bonnemeier H, Hescheler J, Reppel M. Human and murine embryonic stem cell-derived cardiomyocytes serve together as a valuable model for drug safety screening. *Cell Physiol Biochem*. 2010;25(4-5):459-66. Epub 2010 Mar 23.