



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Experimental therapeutic strategies in restenosis and critical limb ischemia

Tongeren, B. van

### Citation

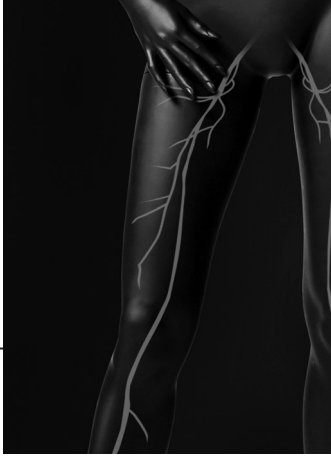
Tongeren, B. van. (2010, April 22). *Experimental therapeutic strategies in restenosis and critical limb ischemia*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/15290>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/15290>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).



**Chapter**

# 10

## Nederlandse samenvatting

---

## Nederlandse samenvatting

146

Ondanks substantiële technische vooruitgang binnen de vaatchirurgie de laatste decennia blijft een aantal klinische problemen bestaan. Dit proefschrift behelst twee van deze problemen en is gebaseerd op klinisch onderzoek naar experimentele invasieve behandeling. De studies in het eerste deel concentreren zich op de mogelijkheid om door middel van radiotherapie (re)stenose vorming, veroorzaakt door intima hyperplasie, tegen te gaan. Dit wordt onderzocht bij patiënten met perifeer vaatlijden die een percutane transluminale angioplastiek (PTA of ballondilatatie) van het been hebben ondergaan en bij patiënten bij wie een kunststof arterio-veneuze (AV) fistel ten behoeve van hemodialyse is aangelegd. Het tweede deel van dit proefschrift focust op de experimentele behandeling met “stamcellen” (celtherapie) van patiënten met ernstig perifeer vaatlijden bij wie een reguliere chirurgische of endovasculaire behandeloptie niet mogelijk is.

In hoofdstuk 1 wordt de achtergrond uiteen gezet van de bovengenoemde klinische problemen. Het geeft een overzicht van de mechanismen die aanleiding geven tot (re)stenose na chirurgische of endovasculaire interventies. Daarnaast worden de verschillende toegepaste strategieën samengevat waarmee getracht is om dit proces tegen te gaan. Vervolgens wordt in dit hoofdstuk de ratio achter celtherapie binnen de vaatchirurgie kort uiteen gezet. Dit onderdeel van de zogenoemde regeneratieve vasculaire geneeskunde is sterk in ontwikkeling en is gericht op groei van (nieuwe) bloedvaten in het ischemische been.

### **Straling ter preventie van restenose: de verdwijning van de vasculaire radiotherapie**

Hoofdstuk 2 beschrijft het concept van radiotherapie om intima hyperplasie en “remodeling” van bloedvaten tegen te gaan. Het effect van ioniserende straling op prolifererende cellen de afgelopen 40 jaar is uitvoerig geanalyseerd. Wanneer straling levend weefsel treft, kan het rechtstreeks het celmateriaal beschadigen (direct effect) of via interactie met andere moleculen vrije radicalen genereren die vervolgens schade toebrengen aan de cellen (indirect effect). DNA is het kritische materiaal dat door de directe en indirecte effecten van straling wordt beschadigd. Aangezien bestraling ook bewezen effectief is gebleken bij niet-maligne aandoeningen, bijvoorbeeld in de behandeling van litteken hypertrofie, rees de hypothese om straling te gebruiken om vasculaire restenosen te verminderen. Algemeen gesteld kan bestraling uitwendig maar ook inwendig worden toegepast. Het grootste verschil tussen uitwendige en inwendige vasculaire bestraling zit in de dosis distributie. Endovasculaire bestraling resulteert in een zeer hoge dosis op de vaatwand met een vrij snelle afname hiervan in relatie tot de afstand van de stralingsbron. Bij uitwendige radiotherapie is de dosis gelijk over het gehele bestraalde volume. In het geval van endovasculaire bestraling zijn zowel  $\beta$  als  $\gamma$  stralingsbronnen gebruikt. Gezien het minder doordringende vermogen van  $\beta$  straling en daardoor een meer heterogene

dosisverdeling werd het gebruik hiervan beperkt tot bloedvaten met een wat kleinere diameter, zoals coronairvaten. Aan de andere kant vereisten de procedures met  $\gamma$  straling (coronairen en perifere vaten) vanwege stralingshygiëne strikte veiligheidsmaatregelen en waren daardoor bijzonder bewerkelijk. Daar straling bloedvaten kan beschadigen was het essentieel om het effect te beperken tot het afremmen van intima hyperplasie maar om onherstelbare schade te voorkomen.

De resultaten van onze eerste klinische studie, de VARA trial, worden beschreven in hoofdstuk 3. Zestig patiënten met symptomatische stenotische of occluderende laesies in de femoropopliteale arterie werden na randomisatie behandeld met PTA plus aanvullende endovasculaire brachytherapie (EBT) of door middel van alleen PTA. In geval van EBT werd een dosis van 14 Gray op de vaatwand gegeven met een Iridium<sup>192</sup> bron. Uiteindelijk konden de resultaten van 53 patiënten geanalyseerd worden. Na 12 maanden was het restenose percentage, gemeten met duplex onderzoek, 44% (12/27) in de PTA groep versus 35% (8/23) in PTA + EBT groep ( $\chi^2$  test,  $P=0.51$ ). Er was geen verschil in het aantal reïnterventies tussen beide groepen. Rekening houdend met het type laesie resulteerde EBT in een absolute risico reductie van slechts 9% bij patiënten met een stenose, maar in geval van occlusie bedroeg de reductie 32%.

In hoofdstuk 4 werd het effect van uitwendige bestraling (EBI) op de doorgankelijkheid van kunststof dialyse fistels onderzocht (AVF trial). De meest voorkomende oorzaak van het falen van deze fistels is occlusie ten gevolge van intima hyperplasie ter hoogte van de veneuze anastomose. Deze zijde werd derhalve experimenteel behandeld. Vijftig patiënten werden door middel van loting al dan niet aanvullend uitwendig bestraald (18 Gy in 2 fracties) na het aanleggen van een kunststof loopfistel. Hoewel er geen stralingsgerelateerde bijwerkingen werden waargenomen na 12 maanden follow up, resulteerde de bestraling niet in minder stenosen of reïnterventies. De patency werd mogelijk zelfs nadelig beïnvloed. Gemeten met duplex was het stenose percentage op basis van het intention to treat principe na 12 maanden 56% in de EBT groep versus 37% in de controle groep (log-rank test,  $p = 0.58$ ). In de per protocol analyse bedroegen deze percentages respectievelijk 66% en 37% (log-rank test,  $P=0.05$ ). De primaire patency ratio, dit is de fractie functionerende AV fistels zonder reïnterventie, was 36% in de EBT groep en 51% in de controle groep na 12 maanden follow up (log-rank test,  $P=0.29$ ). Per protocol analyse toonde een 1-jaars primaire patency van respectievelijk 20% en 54% (log-rank test,  $P=0.04$ ).

De resultaten van de VARA trial komen redelijk overeen met bevindingen van anderen. Het aantal restenosen in de controle groep viel wel lager uit, waarschijnlijk ten gevolge van een substantieel aantal patiënten met laagcomplexie laesies in onze studie. In deze gevallen lijkt het gunstige effect van EBT minder uitgesproken. In de AVF trial konden

we geen positief effect van aanvullende radiotherapie aantonen. Een vergelijk van onze resultaten in deze studie met het werk van anderen was lastig daar dit voornamelijk diërexperimentele studies en pilotstudy's betrof.

De VARA en AVF trial zijn gepubliceerd in 2003 en 2005. In het veld van de vasculaire radiotherapie heeft een significante ommezwaai plaats gevonden de afgelopen jaren en het is om die reden relevant om het lot van vasculaire radiotherapie te bespiegelen. Dit dient niet alleen binnen de scope van het perifeer vaatlijden te gebeuren daar veruit de meeste ontwikkelingen zich hebben afgespeeld op het vlak van de coronairarterieën. Percutane transluminale coronair angioplastiek (PTCA) is tegenwoordig de meest uitgevoerde methode voor revascularisatie van het hart. Het gebruik van niet-gecoate stents tijdens deze procedures heeft de incidentie acute complicaties gunstig beïnvloed. Echter, de ontwikkeling van in-stent restenosen (ISR) hebben een nadelig effect op de lange-termijn uitkomst.<sup>1</sup> Het gunstige effect van EBT in de behandeling van ISR werd eind jaren '90 in grote placebo-gecontroleerde studies aangetoond voor zowel intra-coronair  $\beta$  als  $\gamma$  straling.<sup>2-8</sup> Al deze onderzoeken lieten een scherpe reductie zien in het aantal reïnterventies na adjuvante EBT. De zogenaamde "target vessel revascularisation" van ISR-laesies daalde van 30-60% naar 15-30%. Na 2000 was endovasculaire brachytherapie een gevestigde behandelmethode geworden voor deze indicatie.

Tegelijkertijd werd ook de rol van bestraling na ballon dilatatie van perifere slagaders bevestigd, grotendeels naar aanleiding van de Vienna 1-5 trials.<sup>9-13</sup> Na een pilot studie demonstreerde de Vienna-2 trial een significante reductie van het aantal restenosen met een dosis van 12 Gy na PTA van het femoropopliteale traject na 6 maanden in 113 patiënten (zie ook tabel IV in hoofdstuk 2).<sup>10,14</sup> Vergelijkbare resultaten werden verkregen na 12 maanden follow up en een dosis van 18 G in Vienna-3.<sup>11</sup> Nadat beide studies werden gestratificeerd voor de-novo en recidief stenosen, bleek dat EBT alleen een significant effect te hebben na PTA van recidief laesies.

Op dat moment was een aantal vragen nog onbeantwoord. Welke cellen in de vaatwand vormden nu precies het doelwit van de radiotherapie: de cellen in de intima, media of adventitia? Was  $\beta$ -straling, met het duidelijke voordeel zeer beperkte stralenprotectie en daarmee met de implementatie in de klinische praktijk, even effectief als de  $\gamma$ -straling van de eerste trials? Wat was de optimale dosis? Hoe waren de "edge-failures" (zie hoofdstuk 2) te verklaren: was dit een probleem van dosisverdeling of van doelvolume? Of bestond er een stimulerend effect van straling in lage dosis op intima hyperplasie?

Met name binnen de interventiecardiologie bestond het voordeel van grote patiënten aantallen en investeringen vanuit de industrie. Na ongeveer een decade van gestage groei volgde een nogal abrupt verval rond 2005. Dit werd veroorzaakt door de klaarblijkelijke beperkingen van EBT zoals hierboven genoemd (alleen effectief bij recidief stenosen) en de zeer bewerkelijke aard van de procedure. De gebleken bescheiden lange-termijn resultaten vormden echter de genadeslag. Follow up data van de eerste prospectief

gerandomiseerde studie (Vienna-2), die een gunstige korte-termijn uitkomst kende, toonden een inhaaleffect: na 5 jaar bleek het recidief stenose percentage in beide groepen vergelijkbaar.<sup>15</sup> De initieel positieve effecten van EBT in andere studies bleken met de tijd eveneens af te vlakken.<sup>16</sup> (Studies samengevat in tabel IV, hoofdstuk 2).

Ook in de cardiale setting bleek het lange-termijn resultaat van EBT niet gunstig<sup>17</sup> en een nieuw, wellicht meer veelbelovend instrument diende zich aan. In een kort tijdsbestek werd het veld overgenomen door de drug-eluting stents. Met twee belangrijke gerandomiseerde multicenter studies werd aangetoond dat de behandeling van in-stent restenosen met drug-eluting stents in vergelijking met PTA gevolgd door brachytherapie resulteerde in significant minder klinische en angiografische restenosen na 1 jaar follow up. Ook werd een verbetering gevonden van de complicatievrije overleving van de patienten.<sup>18,19</sup>

Huidige trials met drug-eluting stents bij perifeer vaatlijden zijn veelal nog niet afgerond. Tot die tijd moet het gebruik voor deze indicatie als experimenteel beschouwd worden. De eerste rapportages geven aan dat deze stents technisch goed en veilig kunnen worden toegepast, de effectiviteit is in vergelijking met de "bare-metal"stents nog niet overtuigend.<sup>20</sup>

In-stent restenose vormde destijds de enige door de Amerikaanse FDA goedgekeurde indicatie voor vasculaire radiotherapie. Het is daardoor niet verrassend dat andere mogelijke indicaties, zoals AV-fistels, werden meegetrokken in de sterke terugval. Echter, daar er nog steeds geen duurzame oplossing is voor de preventie van restenosen bij AV-fistels, is voortgaand onderzoek, zoals gesuggereerd in hoofdstuk 4, niet geheel uitgesloten.

### **Celtherapie bij perifeer vaatlijden: experiment tussen hype en hoop**

Ondanks alle technische vooruitgang van de laatste decennia binnen de vaatchirurgie blijft een significante groep patiënten bestaan met ernstig invaliderende claudicatie klachten of kritieke ischemie, bij wie er geen mogelijkheden zijn voor chirurgische of endovasculaire reconstructie. Met name deze patiënten zouden gebaat kunnen zijn bij de ontwikkeling van "biologische" revascularisatie die gericht is op de groei van nieuwe bloedvaten. Dit veld maakt een bijzondere ontwikkeling door en de huidige inzichten in het mechanisme van vaatgroei bij volwassenen worden uiteengezet in hoofdstuk 5. De rol van angiogene factoren, het immuun systeem en beenmerg wordt toegelicht, evenals de mogelijkheid van therapeutische stimulatie hiervan plus de resultaten van recente klinische trials.

Samengevat zijn er drie concepten van vaatgroei: angiogenese, vasculogenese en arteriogenese. Alle vormen een onderdeel van een geïntegreerd proces.

*Angiogenese* heeft betrekking op de vorming van nieuwe capillair-achtige structuren vanuit bestaande bloedvaten. De term *vasculogenese* wordt tegenwoordig gebruikt voor de vorming van bloedvaten uit stamcellen en *arteriogenese* is het ontwikkelen van collaterale arteriën vanuit een pre-existent netwerk van arteriolen. Al deze drie concepten van vaatvorming spelen waarschijnlijk een rol in neovascularisatie bij volwassenen en

vinden wellicht tegelijkertijd plaats op verschillende niveaus. Stimulatie van vaatgroei lijkt technisch mogelijk. VEGF is op dit moment een cruciale en de meest bestudeerde pro-angiogene groeifactor. In diermodellen met geïnduceerde ischemie werd vaatgroei succesvol bevorderd met VEGF. Klinische studies echter bleken minder succesvol. Recent is transplantatie van autologe beenmergcellen toegepast met enig klinisch succes hoewel het exacte werkingsmechanisme hiervan nog grotendeels onbegrepen is.

Wij hebben een studie verricht naar de toepasbaarheid, de veiligheid en effectiviteit van beenmerg cellen bij patiënten met ernstig perifere vaatlijden, beschreven in hoofdstuk 6. Bij 27 patiënten bij wie reguliere behandeling door middel van bypass chirurgie of endovasculaire interventie was uitgesloten, werd een 40 ml concentraat van  $1,23 \pm 0,49 \times 10^9$  autologe beenmerg cellen (BMCs) toegediend. De cellen werden intramusculair (n=15) danwel gecombineerd intramusculair / intra-arterieel (n=12) toegediend. Er waren geen procedure gerelateerde complicaties. Drie patiënten overleden binnen een jaar tengevolge van een niet-gerelateerde oorzaak. Twee patiënten in de gecombineerde toedieningsgroep ondergingen een amputatie van het been vanwege aanhoudende ischemie tegenover zeven patiënten in de intramusculaire groep (P=0,17). Behandeling met BMCs resulteerde in de overige patiënten in een significante en aanhoudende (> 12 maanden) verbetering. De pijnvrije loopafstand nam toe van  $81 \pm 56$  meter naar  $257 \pm 126$  meter na 6 maanden (P=0,0002). De gemiddelde enkel-arm index na 6 maanden steeg 23% (P=0,01) en de pijnscores, weergegeven door de Brief Pain Inventory, lieten een reductie van 50% zien (P=0,001).

De angiografische resultaten van deze studie en de klinische bruikbaarheid van digitale subtractie angiografie (DSA) om het effect van celtherapie te beoordelen worden apart toegelicht in hoofdstuk 7. Tot dusver heeft de nadruk in de meeste patiënten studies gelegen op de verbetering van klinische parameters en niet zozeer op de evaluatie van de veranderingen in de bloetoevoer. De studie in hoofdstuk 7 omvat de angiografieën van 16 patiënten, daar 9 van de 27 eerder genoemde patiënten een amputatie van het been diende te ondergaan en twee patiënten overleden binnen de eerste 6 maanden. Allen werden unilateraal behandeld met BMCs. DSA werd verricht voor de behandeling en na 6 maanden follow up. Deze angiografieën werden vervolgens twee maal geblindeerd beoordeeld en vergeleken door een panel van zeven vaatchirurgen en interventie radiologen. De inter- en intraobserver variabiliteit werd bepaald na kwalitatieve (weinig/gemiddeld/veel) en semi-kwantitatieve (toename/onveranderd/afname) beoordeling van het aantal collateralen. De mate van overeenstemming werd uitgedrukt als inter- en intraclass coëfficiënt (CC). De inter- en intraobserver variabiliteit voor de kwalitatieve beoordeling van de mate van collateraalvorming was matig (respectievelijk CC=0,46 en 0,60). De overeenstemming was matig (inter-CC=0,60) tot goed (intra-CC=0,73) voor het vergelijken van de DSA's voor- en na de behandeling met beenmergcellen. Er kon geen verschil worden aangetoond tussen de mate van collateraalvorming wanneer beide DSA's werden vergeleken na aparte analyse van de klinische responders en non-responders (P=0,92).



Angiografie is de gouden standaard voor het visualiseren van afwijkingen bij patiënten met perifeer arterieel vaatlijden (PAOD). Het meten van de enkel-arm drukindex (EAI) geldt op dit moment niettemin als de standaard bij de initiële evaluatie van patiënten met verdenking op PAOD. Diabeten echter hebben veelal wat minder compliante of zelfs volledig verkalkte slagaders die daardoor minder goed comprimeerbaar zijn. Dit resulteert in vals-hoge enkeldrukken van weinig diagnostische waarde. In hoofdstuk 8 wordt de maximale systolische acceleratie ( $ACC_{max}$ ) als een nieuwe functionele test geëvalueerd om PAOD bij patiënten met diabetes vast te stellen.

De  $ACC_{max}$  werd aan de hand van de Doppler curve gemeten aan de enkel bij 163 opeenvolgende patiënten die werden verwezen naar het vaatlaboratorium voor een initiële beoordeling van perifeer vaatlijden. De EAI gold als referentie standaard om de  $ACC_{max}$  waarde mee te vergelijken. De patiënten werden geclassificeerd naar de aanwezigheid van diabetes mellitus. Bij de niet-diabeten werd PAOD gedefinieerd als een EAI waarde  $\leq 0.90$ . Deze groep werd gebruikt om in een lineair regressie model de associatie te bepalen tussen  $ACC_{max}$  en EAI. De uitkomst hiervan werd vervolgens benut om de mate van PAOD te voorspellen bij de patiënten met diabetes. In totaal werden 301 ledematen onderzocht: 166 benen van patiënten zonder diabetes en 135 benen van patiënten met diabetes. Volgens de druk-index waarden was sprake van PAOD in 52% in de niet-diabeten versus 59% in de diabetes-groep (EAI  $\leq 0.90$ , of in geval van niet-comprimeerbare vaten teen-arm index (TAI)  $\leq 0.70$ ). Bij een  $ACC_{max}$  waarde  $> 10 \text{ m/s}^2$  bleek de kans op PAOD vrijwel uitgesloten (negatief voorspellende waarde 95%). Voorts bleek bij een afkapwaarde van  $< 6,5 \text{ m/s}^2$  de kans dat bij een persoon sprake was van PAOD nagenoeg zeker (positief voorspellende waarde 99%). In de niet-diabetische groep werd het verband tussen  $ACC_{max}$  en EAI het sterkst bevonden bij een kwadratische associatie ( $r^2=0.85$ ). Bij de patiënten met diabetes bedroegen de  $r^2$  waarden 0,81 en 0,79 na respectievelijk EAI en TAI meting. Wij kwamen dan ook tot de conclusie dat  $ACC_{max}$  als een accurate marker kan dienen voor perifeer vaatlijden wanneer de EAI meting onbetrouwbaar is.

### Tot slot

Het concept van celtherapie kwam voort uit de gedachte dat het toedienen van een cocktail van cytokines, groeifactoren en cellen aanleiding geeft tot een meer fysiologische en effectieve methode om tot vaatgroei te komen in ischemisch weefsel. In de meeste studies is gebruik gemaakt van mononucleaire cellen uit het beenmerg. Hoewel deze benadering technisch goed mogelijk is gebleken in dierexperimentele- en enkele klinische studies, weten we nog relatief weinig van het werkingsmechanisme en de klinische effectiviteit. Veel is gebaseerd op hypothesen. Toekomstig basaal onderzoek zal zich moeten richten op het mechanisme en klinisch onderzoek op de effectiviteit, duurzaamheid, veiligheid en optimale toedieningsweg. In deze context zijn de huidige topics als volgt:

### *Het ideale celtype*

Stamcellen worden gedefinieerd als onvolledig gedifferentieerde cellen die het vermogen hebben om te prolifereren en zichzelf te vernieuwen. Daarnaast zijn ze in staat tot regeneratie van verschillende celtypen en weefsel. Embryonale stamcellen kunnen uitgroeien tot iedere gedifferentieerde cel in het lichaam. Stamcellen in een volwassene zijn onderdeel van de weefsel-specifieke cellen van een organisme en zullen alleen tot weefseltype uitgroeien.<sup>21</sup> Dit type stamcel kan worden geïsoleerd uit bijvoorbeeld beenmerg, perifere bloed, de navelstreng, het centraal zenuwstelsel en de lever.

Samenvattend zou de ideale celpopulatie om vaatgroei te stimuleren:

- moeten kunnen uitgroeien tot rijpe stadia van verschillende weefseltypen en moeten kunnen regenereren zonder hun potentie tot differentiatie te verliezen
- nieuwe vaten kunnen formeren. Bij voorkeur collateralen met een voldoende diameter en daardoor een lage weerstand. Capillairen daarentegen hebben een hoge weerstand en zijn niet geschikt om de doorbloeding van het weefsel significant te verbeteren
- resistent moeten zijn voor ischemie en apoptose
- van autologe origine zijn
- in grote aantallen eenvoudig beschikbaar zijn

### *Ideale toedieningsweg*

Tot op heden bestaat er geen optimale strategie voor de toediening van de cellen; intramusculair, rechtstreeks in de arterie, of een combinatie van beide? De ratio achter de gecombineerde techniek werd toegelicht in hoofdstuk 6. Onze studie liet geen verschil zien tussen intramusculaire en een gecombineerde toediening, echter, de studie was ook niet primair ontworpen met dit doel.<sup>22</sup>

Een belangrijk aspect is de retractie van de cellen in het juiste weefsel. Dit proces wordt "homing" genoemd en is afhankelijk van het lokale weefselmilieu en "homing signals" variëren in verschillende klinische omstandigheden. Bij chronische ischemie van het been blijkt de expressie van dit soort signalen minder uitgesproken.<sup>23</sup> Onderzoek naar de verdeling van de geïnjecteerde beenmerg cellen in de verschillende weefsels toonde dat, afhankelijk van de toedieningsweg, maar een paar procent getraceerd kon worden in het ischemische weefsel. Bij diermodellen werd het overgrote deel van de cellen teruggevonden in de lever en de milt.<sup>24</sup> Toekomstige research zal zich ook moeten richten op nieuwe strategieën om tot een verbeterde homing te komen.

### *Ideale celfunctie*

Patiënt factoren als leeftijd, diabetes en hypercholesterolemie zijn geassocieerd met een verstoorde respons van het lichaam op ischemie en met een verminderd aantal circulerende stamcellen.<sup>25</sup> In het algemeen bevinden de patiënten die in aanmerking komen voor celtherapie zich in een eindstadium van vaatziekte bij wie eerdere conventionele revascularisatie uiteindelijk niet succesvol waren. Deze specifieke categorie patiënten zou

wel eens minder geschikt kunnen zijn voor pro-angiogene therapie. Daarnaast ondergaat een aanzienlijk deel van de getransplanteerde cellen apoptosis binnen enkele dagen na toediening.<sup>26</sup> In de toekomst zullen verschillende benaderingen van therapeutische angiogenese wellicht gecombineerd worden. Genetische modulatie van stamcellen zal overexpressie van groeifactoren kunnen geven en daarmee de signaalactiviteit bevorderen, of de levensduur van de getransplanteerde cellen verbeteren.

#### *Mogelijke ongewenste effecten*

Bij de discussie omtrent de mogelijke positieve effecten van celtherapie bij perifeer vaatlijden dienen uiteraard mogelijke schadelijke neveneffecten van angiogenese bezien te worden. Van VEGF is bekend dat het een rol speelt bij tumor vascularisatie.<sup>27</sup> Zo zouden ook stamcellen kunnen incorporeren in de tumorvaten en aanleiding kunnen geven tot uitgroei hiervan. Theoretisch kan op dezelfde wijze retinopathie en bestaande atherosclerose bevorderd worden.<sup>29</sup> Dus worden er ook zorgelijke geluiden gehoord van mensen die de inductie van ongewenste pathologische vaatgroei vrezen. Aan de andere kant bestaat er een groeiende hoeveelheid bewijs dat circulerende stamcellen een belangrijke rol spelen bij de regeneratie van endotheel en het verminderen van de atherosclerotische plaque, meer dan bij het bevorderen van atherosclerose.<sup>30</sup> Tot nu toe is er in de verschillende klinische studies naar perifere en cardiale celtherapie geen verhoogde incidentie van maligniteiten, retinopathie of versnelde atherosclerose gebleken.

#### *Mechanisme*

Gezien de delingsmogelijkheden van de verschillende populaties beenmerg cellen (Hoofdstuk 5, figuur 2) is het verleidelijk te suggereren dat celtherapie neovascularisatie stimuleert door directe incorporatie in de vaatwand.<sup>31,32</sup> Echter, de data over transdifferentiatie van deze cellen naar nieuwe endotheelcellen zijn controversieel. Anderen trekken deze theorie in twijfel en leveren aannemelijk bewijs voor de theorie dat beenmergcellen niet of nauwelijks in de vaatwand worden geïncorporeerd. Zij stellen dat de toename van de vascularisatie het gevolg is van een paracrien effect van deze cellen. De celpopulatie van het beenmerg bevat feitelijk maar een zeer beperkt aantal stamcellen, minder dan 0,01% van het totale aantal cellen. En daar veel celpopulaties uit het beenmerg een bron zijn van groeifactoren, cytokines en chemokines is een complementaire hypothese dat deze cellen een meer ondersteunende rol spelen.<sup>33,34</sup> Momenteel is de algemene gedachte dat het potentiële gunstige effect meer is gerelateerd aan een paracrien effect dan aan transdifferentiatie.

Het uiteindelijke succes van celtherapie zal echter afhangen van het aantonen van klinische effectiviteit, veel meer dan van het volledig ontrafelen van een complex mechanisme. Dit geldt en gold voor wel meer behandelingen in de geneeskunde. Uiteraard is identificatie van de werkzame (cel)componenten van belang, evenals de vraag of het effect direct

wordt bewerkstelligd door de getransplanteerde cellen of indirect door de betrokkenheid van genoemde factoren. Zo kan doelgerichte toediening van essentiële componenten mogelijk worden. Dit is waarschijnlijk een kritieke stap in de verdere realisatie van deze experimentele benadering. Gezien dit alles mag men op korte termijn niet te veel verwachten en lijkt de daadwerkelijke klinische toepassing van celtherapie misschien wel verder weg dan 5 jaar geleden.

