



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Intramyocardial Bone Marrow Cell Injection: Clinical and Functional Effects in Ischemic Heart Disease

Ramshorst, J. van

Citation

Ramshorst, J. van. (2014, April 2). *Intramyocardial Bone Marrow Cell Injection: Clinical and Functional Effects in Ischemic Heart Disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/25002>

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/1887/25002>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/25002> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Ramshorst, Jan van

Title: Intramyocardial bone marrow cell injection : clinical and functional effects in ischemic heart disease

Issue Date: 2014-04-02

Chapter 9

Samenvatting



In de introductie van dit proefschrift (**hoofdstuk 1**) wordt een overzicht gegeven van de huidige stand van zaken met betrekking tot celtherapie voor de behandeling van hartziekten. De beschikbare celtypen worden beschreven, en de mechanismen volgens welke deze cellen verbeteringen van myocardperfusie en –functie kunnen induceren. Daarnaast worden de verschillende technieken voor het toedienen van cellen beschreven en met elkaar vergeleken. Tenslotte worden de resultaten beschreven van experimentele en klinische studies die de veiligheid, uitvoerbaarheid en de werkzaamheid van cardiale celtherapie onderzocht hebben.

De eerste patiëntgebonden onderzoeken naar cardiale celtherapie waren voornamelijk gericht op het behandelen van patiënten die een acuut myocardinfarct hadden doorgemaakt. Omdat verondersteld werd dat beenmergcellen de hartfunctie voornamelijk konden verbeteren door het stimuleren van de angiogenese, werd intramyocardiale injectie van beenmergcellen geïntroduceerd als nieuwe behandeloptie voor patiënten met chronische myocardischemie ten gevolge van ernstig coronairlijden. Initiële, niet-gerandomiseerde studies toonden hierbij dat intramyocardiale beenmergcelinjectie veilig was, en suggereerden verbeteringen in klachten, myocardperfusie en linkerventrikelfunctie.

In dit proefschrift werd de werkzaamheid van intramyocardiale beenmergcelinjectie verder onderzocht in een dubbelblind gerandomiseerde studie en een lange termijn follow-up studie. Daarnaast werden de effecten op de hartfunctie verder onderzocht met behulp van beeldvormende technieken als myocard innervatie scintigrafie, cardiale MRI en echocardiografische technieken zoals als strain analyse.

In **hoofdstuk 2** worden de resultaten beschreven van een gerandomiseerde, placebo gecontroleerde, dubbelblinde studie waarin het effect van intramyocardiale beenmergcelinjectie in patiënten met chronische myocardischemie wordt onderzocht. Deze studie werd gestart nadat uit meerdere niet-gerandomiseerde studies, waarvan er één was verricht in het Leids Universitair Medisch Centrum, was gebleken dat deze behandeling veilig en uitvoerbaar was en mogelijk een gunstig effect had op de cardiale perfusie en functie. In deze gerandomiseerde studie werden 50 patiënten geïncludeerd met ernstige klachten van angina pectoris ondanks maximale medicamenteuze therapie en daarnaast stress-induceerbare ischemie op de perfusiescan. Deze patiënten werden gerandomiseerd voor beenmergcelinjectie of placebobehandeling. Primair eindpunt was de ‘summed stress score’, een score welke afgeleid wordt uit beoordelen van de stress-perfusie volgens een 17-segmenten model op de myocardperfusiescan (Tc-99m

tetrofosmin SPECT). Secundaire eindpunten waren linkerventrikel (LV) ejectiefractie, Canadian Cardiovascular Society (CCS) klasse voor angineuze klachten, and Seattle Angina Questionnaire score voor de kwaliteit van leven. Na 3 maanden follow-up was de summed stress score verbeterd van 23.5 ± 4.7 naar 20.1 ± 4.6 ($P < 0.001$) in patiënten behandeld met beenmergcellen, vergeleken met een verbetering van 24.8 ± 5.5 to 23.7 ± 5.4 , ($P = 0.004$) in placebo behandelde patiënten. De verbetering in de met cellen behandelde groep was significant groter dan de verbetering in de met placebo behandelde groep (behandel effect, -2.44 ; 95% CI, -3.58 to -1.30 ; $P < 0.001$). Daarnaast was de verbetering in LV ejectiefractie groter in de cel groep in vergelijking met de placebo groep ($3 \pm 5\%$ vs. $-1 \pm 3\%$, $P = 0.03$). Met betrekking tot de klachten was er ook sprake van een grotere verbetering in CCS klasse en kwaliteit van leven score in de patiënten die met cellen behandeld waren ten opzichte van de patiënten die met placebo behandeld waren ($P = 0.03$ and $P = 0.04$, respectievelijk). Er kan dus geconcludeerd worden dat intramyocardiale beenmergcelinfectie geassocieerd is met significante verbeteringen in myocardperfusie ten opzichte van placebo behandeling. Daarnaast was er sprake van verbeteringen in linkerventrikelfunctie, angineuze klachten en kwaliteit van leven na beenmergcelinfectie.

Na het voltooiën van de gerandomiseerde studie werd aan patiënten die met placebo behandeld waren aangeboden om in de cross-over fase van de studie alsnog een behandeling met beenmergcellen te ondergaan. De resultaten van deze cross-over fase worden beschreven in **hoofdstuk 3**. Net als in de eerdere fase van de studie werd het effect van de beenmergcelinfectie op myocardperfusie en -functie geëvalueerd middels SPECT en MRI bij aanvang van de studie en na 3 maanden follow-up. Verder werden ook Canadian Cardiovascular Society (CCS) angina score en kwaliteit van leven gemeten bij aanvang van de studie en na 3 en 6 maanden follow-up. Met SPECT werd een verbetering in summed stress score gemeten van 24.7 ± 4.5 naar 21.9 ± 3.9 ($P < 0.01$) na beenmergcelinfectie, terwijl summed stress score van 24.6 ± 4.8 naar 23.8 ± 5.0 ($P = 0.02$) verbeterde na placebo behandeling. De verbetering was significant groter na beenmergcelinfectie vergeleken met de placebobehandeling ($P = 0.03$). Linkerventrikelejectiefractie toonde geen significante veranderingen na beide behandelingen. CCS score en kwaliteit van leven werden significant beter na beenmergcelinfectie ten opzichte van placebobehandeling ($P = 0.01$ and $P = 0.02$, respectievelijk). Deze studie laat dus verbeteringen zien in myocardperfusie en angineuze klachten na intramyocardiale beenmergcelinfectie in vergelijking met placebobehandeling welke beiden plaatsvonden in dezelfde patiënten. Zodoende

bevestigt deze studie de resultaten van de eerder beschreven gerandomiseerde studie met gebruik van een intra-patiënt vergelijking.

Diastolische dysfunctie is vaak aanwezig in patiënten met coronairlijden en is een belangrijke prognostische factor. Daarom worden in **hoofdstuk 4** de effecten van intramyocardiale beenmergcelinjectie op diastolische functie beschreven in patiënten met chronische myocardischemie. In een substudie van de eerder beschreven gerandomiseerde studie werd diastolische functie onderzocht in 50 patiënten met chronische myocardischemie. Bij aanvang van de studie en 3 maanden na behandeling werd diastolische functie geëvalueerd met gebruik van gangbare echocardiografie parameters, strain analyse en transmitrale flowmetingen op MRI.

Na beenmergcelbehandeling werd een verbetering in vullingsdrukafgeleide E/E' waargenomen van 14 ± 5 bij aanvang naar 12 ± 4 na 3 maanden, wat significant verschillend was ten opzichte van de placebo behandeling, waarna geen verbetering werd gezien (13 ± 4 vs. 13 ± 5 , $P=0.008$ tussen beide groepen). Daarnaast was er een duidelijke stijging van de E/A piekflow ratio gemeten met MRI in de beenmergcel groep in vergelijking met de placebo groep ($+0.16 \pm 0.25$ vs. -0.04 ± 0.21 , $P=0.01$), welke duidelijk gerelateerd was aan een verbetering in de vroege (E) peak flow in de beenmergcel groep (van 407 ± 96 mL/sec naar 468 ± 110 mL/sec, $P=0.009$ ten opzichte van de placebo groep). De bevindingen van deze studie tonen daarom aan dat intramyocardiale beenmergcelinjectie geassocieerd is met gunstige effecten op de myocardrelaxatie en vullingdrukken in patiënten met chronische myocardiale ischemie. Mogelijk zijn deze verbeteringen in diastolische functie het gevolg van verbeterde myocardperfusie.

In **hoofdstuk 5** worden de resultaten beschreven van een studie waarin de effecten worden onderzocht van intramyocardiale beenmergcelinjectie op de functie van de sympathische zenuwen in het hart. Experimentele studies hebben laten zien dat injectie van beenmergcellen de functie van zenuwen kan verbeteren door verbeterde doorbloeding van de zenuwen. Omdat gebleken is dat de sympathische zenuwfunctie in het hart een belangrijke prognostische factor is, werd de invloed van beenmergcelinjectie op deze zenuwfunctie onderzocht in een substudie van de gerandomiseerde studie. In deze studie werden 16 patiënten geïncludeerd (64 ± 8 years, 13 men), die naast het gebruikelijke studieprotocol een vroege en late iodine-123 metaiodobenzylguanidine (MIBG) scan ondergingen vóór aanvang van de behandeling en 3 maanden na

de behandeling. Ten opzichte van placebobehandeling toonde behandeling met beenmergcellen geen verbetering in globale parameters van sympathische zenuwfunctie zoals vroege hart/mediastium (H/M) ratio ($P=0.40$), late H/M ratio ($P=0.43$) en de outwash ratio ($P=0.98$). Niettemin was een trend naar verbetering zichtbaar in parameters van regionale sympathische zenuwfunctie zoals late 123-I MIBG defect score, die verbeterde van 31.0 ± 7.1 voor de behandeling tot 28.1 ± 14.9 3 maanden na behandeling met beenmergcellen, ten opzichte van een verslechtering van 33.6 ± 8.5 naar 34.5 ± 9.8 na placebobehandeling ($P=0.055$ tussen beide groepen). Deze trend werd voornamelijk bepaald door een substantiële verbetering (>5 punten) in 3 met cellen behandelde patiënten. Deze verbeteringen bleken niet gerelateerd aan veranderingen in perfusie en ook niet aan de plaats van injectie, wel viel op dat deze 3 patiënten allen diabetes hadden. De uitkomsten van deze studie suggereren daarom dat beenmergcellen een therapeutisch effect zouden kunnen hebben op diabetische cardiale autonome neuropathie.

Om de effecten van intramyocardiale beenmergcel injectie verder in kaart te brengen, werd in **hoofdstuk 6** de werking van beenmergcelinjectie op LV dyssynchronie en globale strain onderzocht in patiënten met hartfalen na een doorgemaakt hartinfarct. In 15 patiënten werden gemiddeld 10.1 ± 1.1 intramyocardiale injecties toegediend in de rand van het infarctgebied. Linkerventrikel ejectiefractie werd gemeten met Tc-99m tetrofosmin gated SPECT bij aanvang van de studie en 3 maanden na de injectieprocedure. Daarnaast werden met behulp van echografische technieken metingen verricht van de globale strain (automated function imaging) en LV dyssynchronie (speckle tracking strain analysis). Na 3 maanden was de LV ejectiefractie toegenomen van $23 \pm 8\%$ tot $27 \pm 9\%$ ($P=0.02$). In patiënten met een belangrijke verbetering in LV ejectiefractie ($>5\%$), nam de LV dyssynchronie af van 173 ± 64 ms tot 116 ± 64 ms ($P=0.01$). In patiënten zonder een belangrijke verbetering van de LV ejectiefractie werd geen verandering van de LV dyssynchronie gezien (155 ± 67 ms vs. 177 ± 81 ms; $P=NS$). Er was een duidelijke correlatie tussen de verbetering in LV ejectiefractie en de vermindering van LV dyssynchronie ($r=-0.77$; $P<0.01$). Op vergelijkbare wijze werd een verbetering gezien in global strain van $-8.7 \pm 4.6\%$ naar $-10.6 \pm 4.5\%$ ($P<0.01$) in patiënten met een belangrijke verbetering in LV ejectiefractie ($>5\%$), terwijl geen verbetering werd gezien in patiënten zonder belangrijke verbetering in LV ejectiefractie ($-6.6 \pm 4.9\%$ vs. $-6.4 \pm 4.5\%$; $P=NS$). Ook hier was er een relatie tussen de toename in LV ejectiefractie en de verbetering in global strain ($r=0.84$; $P<0.01$). Daarom werd geconcludeerd dat intramyocardiale beenmergcelinjectie geassocieerd is

met een verbetering van systolische LV functie in patiënten met ischemisch hartfalen, waarbij de verbetering in LV ejectiefractie gerelateerd was aan een afname van LV dyssynchronie en een toename van global strain.

In **hoofdstuk 7** worden de bevindingen beschreven van een studie waarin de lange termijn effecten van intramyocardiale beenmergcelinjectie onderzocht worden, zowel wat betreft veiligheid als effectiviteit. In 25 patiënten met chronische myocardiëemie werd kwaliteit van leven en Canadian Cardiovascular Society (CCS) klasse gemeten bij aanvang van de studie, na 3, 6 en 12 maanden en na 4 jaar. Daarnaast werden de data van klinische events verkregen door middel van mondelinge en telefonische vragenlijken en statusonderzoek.

Vier jaar na behandeling was de mortaliteit 12% (3/25 patiënten). Er werden geen ventriculaire ritmestoornissen of plotse hartdood geregistreerd. Twee patiënten overleden door een niet-cardiale oorzaak en een derde patiënt overleed door progressief hartfalen 3.7 jaar na de behandeling. Deze patiënt was voor overlijden reeds 3 maal opgenomen geweest in verband met hartfalen. Daarnaast werden 8 andere ziekenhuisopnames geregistreerd vanwege acuut coronair syndroom. Er vond een percutane revascularisatieprocedure plaats en een patiënt onderging een biventriculaire ICD implantatie. Na een initiële verbetering na 3, 6 en 12 maanden, waren de kwaliteit van leven en CCS klasse 4 jaar na behandeling nog steeds significant beter dan bij aanvang ($P=0.045$ and $P=0.030$, respectievelijk). Individueel gezien hadden nog 7 van de 22 patiënten een verbeterde CCS klasse 4 jaar na behandeling, terwijl de andere 15 patiënten dezelfde ($n=13$) of slechtere ($n=2$) CCS klasse hadden. Dit betekent dat na de duidelijke klinische verbetering in de eerste 12 maanden, 2 van de 3 patiënten na 4 jaar weer een toename van klachten ervaart. Daarom kan overwogen worden om een herhaalde beenmerginjectie te overwegen in geselecteerde patiënten, met het doel de neovascularisatie te stimuleren en de myocardperfusie te verbeteren.

CONCLUSIES

- Hoewel de mechanismen volgens welke beenmergcellen de perfusie en functie van het hart kunnen verbeteren niet volledig bekend zijn, hebben experimentele studies aangetoond dat beenmergcellen myocardperfusie en cardiale functie kunnen verbeteren door differentiatie in vasculaire en cardiale celtypen, secretie van paracrine factoren die angiogenese stimuleren, cytoprotectieve effecten, het recruterend van cardiale stamcellen en het veranderen van de mechanische eigenschappen van het cardiaal (litteken)weefsel.
- De uitkomsten van een gerandomiseerde, placebo gecontroleerde, dubbelblinde studie tonen aan dat intramyocardiale injectie van autologe mononucleaire beenmergcellen geassocieerd is met gunstige effecten op angineuze klachten, myocardperfusie en systolische linkerventrikelfunctie.
- Intramyocardiale beenmergcelinjectie in patiënten met chronische myocardischemie leidt tot verbeterde diastolische functie, wat af te lezen is uit verbeteringen in parameters van myocardrelaxatie en vullingsdrukken. Mogelijk zijn deze verbeteringen het gevolg van een verbeterde myocardperfusie.
- In patiënten met chronische myocardischemie leidt intramyocardiale beenmergcelinjectie niet tot veranderingen in globale parameters van cardiale sympathetische zenuwfunctie. Wel werd een verbetering in regionale sympathische zenuwfunctie gezien in 3 patiënten met diabetes, suggestief voor een therapeutisch effect van beenmergcelinjectie op diabetische autonome neuropathie.
- In patiënten met hartfalen na een groot hartinfarct is intramyocardiale beenmergcelinjectie in de rand van het infarctgebied geassocieerd met verbetering van LV ejectiefractie. Deze verbetering in LV ejectiefractie is gerelateerd aan een vermindering in LV dyssynchronie en een toename in global strain.

- Na een initiële verbetering gedurende de eerste 12 maanden na behandeling, ervaart een belangrijk deel van de patiënten op de lange termijn weer een toename van angineuze klachten, welke waarschijnlijk het gevolg zijn van progressie van atherosclerose. In deze patiënten kan daarom overwogen worden een herhaalde beenmergcelinjectie te verrichten, met het doel angiogenese te stimuleren en zodoende myocardperfusie te verbeteren.

TOEKOMSTPERSPECTIEVEN

Intramyocardiale beenmergcelinjectie heeft zich ontwikkeld als een veelbelovende nieuwe therapie voor de behandeling van patiënten met chronische myocardiale ischemie. Niet-gerandomiseerde klinische studies hebben aangetoond dat deze behandeling veilig en uitvoerbaar is, en suggereerden daarnaast dat er een gunstig effect bestond op klinische en functionele parameters. Op dit moment zijn 3 kleine tot middelgrote gerandomiseerde studies verricht die deze bevindingen bevestigden door significante verbeteringen in klachten en kwaliteit van leven aan te tonen, hoewel wisselende effecten op myocardiale perfusie en LV systolische functie werden gerapporteerd. Parallel hieraan hebben 2 gerandomiseerde studies die het effect van beenmergcelinjectie bij ischemisch hartfalen onderzochten, discrepante resultaten laten zien. Hierbij toonde 1 studie duidelijk verbeteringen aan in myocardperfusie, LV functie en klinische parameters, terwijl de multicenter FOCUS-studie slechts verbeteringen in LV systolische functie toonde zonder verbetering in myocardperfusie of klinische parameters. De verschillende resultaten van deze studies zouden verklaard kunnen worden door een scala aan factoren zoals studie opzet, gebruik van beeldvormende technieken, celtype, celaantal en isolatiemethoden. Daarom is het nodig dat in toekomstige studies een aantal fundamentele en praktische vragen beantwoord zullen worden.

Fundamentele Vragen voor Toekomstig Onderzoek

Hoewel cardiale celtherapie al meer dan 10 jaar in de klinische praktijk wordt toegepast, zijn een aantal fundamentele vragen nog steeds onbeantwoord gebleven. Ten eerste zijn de mechanismen waardoor beenmergcellen verbeteringen in myocardperfusie en LV functie kunnen bewerkstelligen nog niet volledig bekend. Ten tweede werden celdosis, celtype en isolatiemethoden tot nu toe steeds pragmatisch gekozen per studie, omdat vergelijkende studies op deze punten er nauwelijks zijn. Ten derde hebben studies die

verschillende toedieningswegen met elkaar vergeleken tegenstrijdige resultaten getoond, waardoor de optimale toedieningsmethode in het midden blijft.

Daarom is het van belang dat toekomstige studies de precieze mechanismen zullen ontrafelen waardoor beenmergcellen de doorbloeding en functie van het hart verbeteren. Daarnaast zijn meer vergelijkende studies noodzakelijk om voor iedere categorie patiënten het meest passende celtype, de optimale celdosis en de meest effectieve isolatiemethode vast te stellen. Tenslotte zullen meer vergelijkende studies nodig zijn om voor iedere situatie de beste toedieningsmethode te bepalen, afhankelijk van onder andere het gebruikte celtype, de anatomische locatie van het doelgebied en de aan- of afwezigheid van zogeheten 'homing factoren'.

Onderwerpen voor Verder Onderzoek

In de toekomst zal het effect van beenmergcelinjectie verder in kaart gebracht moeten worden in grotere fase III studies. Naast het vaststellen van het optimale celtype, celdosis en isolatiemethode voor iedere situatie, zal de effectiviteit van beenmergcelinjectie verder onderzocht moeten worden. Zo zullen toekomstige studies moeten onderzoeken in hoeverre de waargenomen verbeteringen op lange termijn stand houden. Verder zal getracht moeten worden voorspellers te identificeren voor het effect van de behandeling, omdat deze richting kunnen geven aan aanvullend experimenteel onderzoek, en daarnaast uiteraard ook bij kan dragen aan een goede patiëntselectie. Tenslotte zullen studies in de toekomst moeten uitwijzen of de verbeteringen in myocardiale perfusie en functie die tot nu waargenomen zijn ook resulteren in verbeterde overleving en/of een verminderd aantal ziekenhuisopnames, omdat deze gegevens van cruciaal belang zijn om uiteindelijk ook de kosteneffectiviteit van de behandelmethode te bepalen.

Innovaties in Cardiale Celtherapie

Momenteel worden innovatieve technieken ontwikkeld welke mogelijk aangewend kunnen worden om de effectiviteit van cardiale celtherapie te vergroten. Naast identificatie van veelbelovende celtypen worden methodes ontwikkeld om celretentie en celfunctie te verbeteren, zoals ischemische preconditionering of farmacologische stimulatie. Daarnaast heeft de combinatie van celtherapie met gentherapie een groot aantal mogelijkheden. Transductie van genen in therapeutische cellen zou bijvoorbeeld de overleving, retentie en angiogene functie van de cellen verbeteren. Aan de andere kant kunnen cellen juist ook gebruikt worden als vectoren voor de lokale toediening van

medicijnen of cytokinen. Tenslotte is het gebruik van biomaterialen een veelbelovende techniek om celretentie en –overleving te verbeteren, en daarmee mogelijk de effectiviteit van de celtoediening te vergroten. Al deze vernieuwingen kunnen bijdragen aan het ontwikkelen van effectieve celbehandelingen voor een scala aan ziektebeelden, leidend tot nieuwe mogelijkheden voor patiënten die bij gangbare therapieën geen baat meer hebben.

