



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Advancing cardiac safety and drug discovery screening using human stem cell-derived cardiomyocytes

Korte, T. de

Citation

Korte, T. de. (2025, June 24). *Advancing cardiac safety and drug discovery screening using human stem cell-derived cardiomyocytes*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4250905>

Version: 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/1887/4250905>

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

Appendices

Nederlandse samenvatting

Curriculum Vitae

List of publications

Acknowledgements

Nederlandse Samenvatting

Het ontwikkelen van nieuwe medicijnen is een langdurig en kostbaar proces. Ondanks succesvolle resultaten in de preklinische fase faalt maar liefst 90% van de kandidaat-geneesmiddelen alsnog tijdens klinische studies. Deze hoge uitval door onvoldoende klinische werkzaamheid of onverwachte (cardio)toxiciteit onderstreept de beperkte voorspellende waarde van huidige preklinische testmethoden. Traditioneel worden deze testen veelal uitgevoerd op proefdieren. Hoewel diermodellen waardevolle inzichten hebben opgeleverd in ziektebegrip en medicijnontwikkeling, zijn er belangrijke ethische bezwaren én vertonen deze modellen vaak onvoldoende overeenkomsten met de menselijke fysiologie.

Dit geldt in het bijzonder voor het hart. Zo verschillen hartspiercellen van proefdieren aanzienlijk van die van mensen. De rusthartslag van een muis ligt bijvoorbeeld tussen de 500 en 700 slagen per minuut – ongeveer tien keer zo hoog als die van een mens. Bovendien kan de menselijke hartslag tijdens inspanning met wel 300% toenemen, terwijl dit bij muizen beperkt blijft tot een stijging van maximaal 50%. Er zijn dan ook geneesmiddelen bekend die geen effect vertoonden in dierstudies, maar later bij mensen ernstige of zelfs fatale hartritmestoornissen veroorzaakten.

Deze beperkingen hebben geleid tot een groeiende belangstelling voor proefdiervrije (*in vitro*) modellen die zijn gebaseerd op humane cellen. In 2007 werd een baanbrekende ontdekking gedaan: de ontwikkeling van humane geïnduceerde pluripotente stamcellen (hiPSC), een doorbraak die later werd bekroond met de Nobelprijs. Pluripotente stamcellen hebben het vermogen om onbeperkt te delen en te differentiëren naar elk celtype in het menselijk lichaam. Tegenwoordig kunnen hiPSCs relatief eenvoudig worden verkregen uit bijvoorbeeld bloed- of urinemonsters, en zijn er robuuste protocollen beschikbaar om deze stamcellen te differentiëren naar orgaanspecifieke celtypes – waaronder hartspiercellen.

Hartspiercellen verkregen uit (patiënt-specifieke) hiPSCs (hiPSC-CMs) spelen een steeds grotere rol in het biomedisch en farmacologisch onderzoek. Met behulp van deze cellen kunnen we zowel de (patho)fysiologie van het hart bestuderen als in een zeer vroeg stadium inschatten of een geneesmiddel veilig en effectief is voor het hart. Bovendien maken geavanceerde technieken voor genetische modificatie het mogelijk om gericht onderzoek te doen naar erfelijke mutaties die ten grondslag liggen aan hartaandoeningen, zoals cathecholaminerge polymorfe ventriculaire tachycardie (CPVT). Of hiPSC-CM-gebaseerde modellen en technologieën daadwerkelijk beter in staat zijn om medicijnveiligheid en -effectiviteit te voorspellen, en tegelijkertijd kunnen bijdragen aan het verlagen van sociaaleconomische kosten, wordt uitgebreid besproken in **hoofdstuk 2**.

Humane iPSC-CMs bieden een onuitputtelijke bron van menselijke hartspiercellen die de belangrijkste structurele eiwitten en ionkanalen tot expressie brengen, vergelijkbaar met het menselijk hart. Hierdoor kunnen ze worden ingezet om moleculaire, farmacologische

en elektrofysiologische eigenschappen van het hart te bestuderen. Diverse technieken zijn beschikbaar om de elektrofysiologie van hiPSC-CMs te analyseren, waaronder *patch-clamp*, *multi-electrode array* (MEA) en het gebruik van voltage-gevoelige kleurstoffen die fluoresceren afhankelijk van de elektrische spanning in een cel. Elke techniek heeft zijn specifieke voor- en nadelen en komen terug in de verschillende hoofdstukken van dit proefschrift.

In **hoofdstuk 3** wordt gebruik gemaakt van zowel *patch-clamp*- als MEA-technieken om de elektrofysiologische eigenschappen van hiPSC-CMs gedetailleerd te karakteriseren. De nadruk ligt op het detecteren van repolarisatie-instabiliteit, een relatief nieuwe maar veelbelovende parameter voor het voorspellen van hartritmestoornissen, zoals *Torsade de Pointes* (TdP), die kunnen worden veroorzaakt door medicijnen. Hoewel TdP in sommige gevallen spontaan verdwijnt, kan het ook leiden tot plotselinge hartstilstand. Daarom is het testen van het TdP-risico een belangrijk aandachtspunt voor de farmaceutische industrie en regelgevende instanties, zoals de *Food and Drug Administration* (FDA) en de *European Medicines Agency* (EMA).

De internationale erkenning van het potentieel van hiPSC-CMs heeft geleid tot de oprichting van het *Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay* (CiPA), een initiatief van het *Cardiac Safety Research Consortium* (CSRC), het *Health and Environmental Sciences Institute* (HESI) en de FDA. Het doel van CiPA is het verbeteren van de voorspelling van geneesmiddel-geïnduceerde hartritmestoornissen (zoals TdP) door gebruik te maken van geavanceerde *in vitro*- en *in silico*-methoden. In het kader van dit initiatief werd een internationale studie uitgevoerd waarin werd aangetoond dat hiPSC-CMs in 82-87% van de gevallen hartritmestoornissen veroorzaakt door medicatie accuraat kunnen voorspellen. Naast hun voorspellende waarde hebben hiPSC-CM-modellen als belangrijk voordeel dat ze snel inzetbaar zijn en snel resultaten opleveren. **Hoofdstuk 4** benadrukt dit voordeel bij het *screenen* van recreatieve drugs op cardiotoxiciteit. De markt wordt overspoeld door potentieel schadelijke nieuwe psychoactieve stoffen (NPS), waarvan de veiligheid vaak onbekend is. Humane iPSC-CMs maken het mogelijk om snel een groot aantal van deze stoffen te testen op bijwerkingen op het hart, wat betrouwbare inzichten oplevert die met conventionele preklinische modellen moeilijk of zelfs onhaalbaar te verkrijgen zouden zijn.

Hoofdstuk 5 bouwt voort op de bevindingen van CiPA en beschrijft een geïntegreerde aanpak waarbij hiPSC-CM-gegevens worden gecombineerd met *in silico*-modellering en *machine learning* (ML). Met deze aanpak kunnen zowel het risico op TdP als de onderliggende effecten op ionkanalen nauwkeurig worden voorspeld. Naarmate steeds meer en complexere datasets beschikbaar komen uit initiatieven zoals CiPA, zal de rol van ML in de risicobeoordeling alleen maar toenemen.

Hoewel CiPA een belangrijke stap voorwaarts betekent in de risicobeoordeling van acute hartritmestoornissen, bestaat er ook een duidelijke behoefte aan methoden die de langetermijneffecten van geneesmiddelen op het hart kunnen evalueren. Sommige middelen,

zoals bepaalde chemotherapeutica of antivirale middelen, veroorzaken pas na verloop van tijd schade, of beïnvloeden niet primair de elektrofysiologie, maar juist de contractiliteit of het metabolisme van hartspiercellen. In **hoofdstuk 6** wordt een geïntegreerde *in vitro/in silico*-aanpak beschreven om zowel acute effecten als langetermijneffecten van antivirale middelen te testen op het gebied van elektrofysiologie, contractiliteit en metabolisme. Het belang van snelle en betrouwbare testmethoden voor antivirale middelen werd onderstreept tijdens de COVID-19-pandemie, waarin verschillende middelen versneld beschikbaar kwamen via een *emergency use authorization* (EUA), soms zonder dat hun veiligheid volledig bekend was. Geïntegreerde benaderingen zoals beschreven in hoofdstuk 6 kunnen bijdragen aan een snellere én veiligere vertaalslag naar de kliniek.

Toch blijven er uitdagingen bestaan bij de vertaling van *in vitro* hiPSC-CM uitkomsten naar klinische en industriële toepassingen. Humane iPSC-CMs zijn vaak minder ‘volwassen’ dan hartspiercellen in het volwassen hart en vertonen aanzienlijke variabiliteit. Deze eigenschappen maken hun implementatie in de farmaceutische industrie complex. Om deze barrières te overwinnen, zijn in de afgelopen jaren diverse strategieën ontwikkeld om de maturiteit van hiPSC-CMs te verbeteren. **Hoofdstuk 7** belicht één van deze strategieën: de ontwikkeling van driedimensionale (3D) *cardiac microtissues* (cMTs), waarin hiPSC-CMs in 3D worden gekweekt samen met twee andere celtypes die van nature in het hart voorkomen – endotheelcellen en fibroblasten. De focus ligt hierbij op het optimaliseren en opschalen van cMTs, met nadruk op maturiteit, reproduceerbaarheid, schaalbaarheid en gebruiksvriendelijkheid. Een belangrijke mijlpaal in dit project is het succesvol modelleren van het CPVT-fenotype in deze cMTs. Dankzij een gestandaardiseerde aanpak kon deze erfelijke hartritmestoornis betrouwbaar worden nagebootst, en met behulp van een *high-throughput screen* (HTS) werden geneesmiddelen geïdentificeerd die dit pathologische fenotype onderdrukten – potentiële kandidaten voor de behandeling van patiënten met CPVT.

Tot slot werpt **hoofdstuk 8** een blik op de toekomst van hiPSC-CM-technologieën binnen het geneesmiddelenonderzoek. Door te investeren in standaardisatie, automatisering en robotisering kan de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van deze modellen aanzienlijk worden vergroot. De recente goedkeuring van de FDA *Modernization Act 2.0* biedt hierbij belangrijke ondersteuning. Deze wetgeving erkent de waarde van alternatieve testmodellen en maakt het mogelijk om data uit celmodellen in te dienen als vervanging voor dierproeven. Daarmee draagt deze niet alleen bij aan het verminderen van dierstudies, maar opent deze ook de deur naar de volgende generatie stamcelmodellen die kunnen zorgen voor veiligere, effectievere en meer gepersonaliseerde geneesmiddelontwikkeling.