

Stamceltherapie voor het beschadigde hart

Stem cell therapy for the damaged heart

drs. M. van der Naald^{1*}, drs. C.C.S. Tseng^{1*}, prof. dr. P.A. Doevendans² en prof. dr. S.A.J. Chamuleau³

Samenvatting

Huidige therapieën voor ischemisch hartfalen zijn niet toereikend. Regeneratieve therapie is een veelbelovende strategie die zich snel heeft ontwikkeld en nu in een klinisch experimentele fase zit. Hoewel het exacte werkingsmechanisme nog niet volledig bekend is, worden reeds statistisch significante effecten gezien van stamcellen bij ischemische hartziekten. Over de klinische relevantie is echter nog geen consensus bereikt. In dit overzichtsartikel bespreken wij de rationale voor stamceltherapie. Wij richten ons op autologe beenmergcellen in de klinische setting. Tot slot geven wij een overzicht van nieuwe ontwikkelingen die in de toekomst kunnen leiden tot optimalisatie van celtherapie.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2016;13:95-100)

Summary

Current therapies for ischemic heart failure are not sufficient. Regenerative therapy is a promising strategy that has rapidly developed into a clinical phase. Although the exact mechanism of action is not entirely understood, clinical results show a statistically significant effect of stem cells in ischemic heart diseases. At this moment there is no consensus on the clinical relevance of stem cell therapy. In this review we discuss the rationale for stem cell therapy. We will focus on autologous bone marrow cells in clinical setting. Finally, we will give an overview of new developments that will optimize future cell therapy.

Inleiding

Ischemisch hartlijden is een van de meest voorkomende doodsoorzaken in Nederland. In 2014 zijn er ruim 5.000 mensen in Nederland overleden aan een acuut myocardinfarct (AMI) en nog eens ruim 3.500 mensen aan andere ziekten van de coronairen, zoals ischemisch hartfalen (IHF) en angina pectoris (AP). De mortaliteit van een AMI is de afgelopen decennia afgenomen.¹ Deze trend wordt internationaal waargenomen en is te verklaren door betere preventie en behandeling, mede dankzij de introductie van primaire percutane coronaire interventies (PCI) en stents.² De populatie met hartfalen groeit echter progressief.³ De enige curatieve behandeling voor eindstadium hartfalen is een harttransplantatie, maar er is een tekort aan donoren om aan de vraag te

kunnen voldoen. Het is daarom van belang nieuwe therapieën te ontwikkelen. Het stimuleren van cardiale regeneratie is een potentiële strategie. In dit overzichtsartikel bespreken wij de onderbouwing voor celtherapie voor het beschadigde hart en de klinische ervaring met de focus op uit beenmerg afkomstige cellen.

Rationale voor stamceltherapie

In de jaren 90 van de vorige eeuw is veelvuldig aangetoond dat gespecialiseerde cellen differentiërende plasticiteit hebben. Deze onderzoeken betreffen met name beenmergcellen. Initieel werd aangetoond dat beenmergcellen kunnen migreren naar het brein en daar in het parenchym verblijven.⁴ Ook werd gedemonstreerd dat extrahepatisch circulerende stamcellen, waarschijnlijk

¹arts-onderzoeker cardiologie, ²cardioloog, hoofd afdeling Cardiologie, ³cardioloog, afdeling Cardiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht.

*Beide auteurs hebben een evenredige bijdrage geleverd en zijn gedeeld eerste auteur. Correspondentie graag richten aan prof. dr. S.A.J. Chamuleau, cardioloog, afdeling Cardiologie, huispostnummer E.03.511, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Postbus 85500, 3508 GA Utrecht, e-mailadres: s.a.j.chamuleau@umcutrecht.nl

Belangenconflict en financiële ondersteuning: dit onderzoek maakt deel uit van het CVON, een initiatief van de Hartstichting, NFO, KNAW en NWO/ZonMW.

Trefwoorden: ischemische cardiomyopathie, ischemische hartziekte, myocardinfarct, stamceltherapie

Keywords: ischemic cardiomyopathy, ischemic heart disease, myocardial infarction, stem cell therapy

Tabel 1. Klinische studies in Nederland.

Studie	Cel	Patiënt	Toediening	Primair eindpunt	Status
Registry	BM-MNC	AP	IM	Perfusie	Incluserend
AMICI	Allogene MSC	AMI	IC	Veiligheid en 'feasibility'	Incluserend
BAMI	BM-MNC	AMI	IC	Mortaliteit	Start 2016
REPEAT	BM-MNC	IHF	IC	Mortaliteit	Start 2016
SCIENCE	Allogene MSC	IHF	IM	LV systolisch volume	Verwacht 2016

BM-MNC=beenmerg mononucleaire cel, MSC=mesenchymale stromacel, AMI=acuut myocardinfarct, HF=hartfalen, IHF=ischemisch hartfalen, AP=angina pectoris, IC=intracoronair, IM=intramycardiaal, LV=linkerventrikel.

afkomstig uit het beenmerg, kunnen leiden tot de novo hepato- en cholangiocyten.⁵ Uit het beenmerg afkomstige voorlopercellen kunnen tevens migreren naar spiercellen en aldaar gespecialiseerde spiervezels produceren.⁶ Hierop werd de hypothese gevormd dat beenmergcellen zouden kunnen migreren naar het myocard om daar tot nieuwe cardiomyocyten te differentieren. Voor dit onderzoek werden Lin⁻ c-kit⁺-beenmergcellen van transgene muizen in de rand van het infarct geïnjecteerd. Het onderzoek toonde 50% nieuw gevormd myocard bij 40% van de muizen. Er werd geconcludeerd dat dit het gevolg was van transdifferentiatie van beenmergcellen naar nieuw gevormd myocard.⁷ Andere onderzoeksgroepen hebben echter geen transdifferentiatie van getransplanteerde beenmergcellen kunnen aantonen in een ischemisch muismodel.^{8,9} In het humane hart werd proliferatie van cardiomyocyten onmogelijk geacht, omdat het hart als een postmitotisch orgaan werd beschouwd. Dit concept werd recentelijk door interessante onderzoeken in twijfel getrokken. In het hart van een zebrafish is na resectie van 20% van het ventrikel volledige regeneratie gezien op basis van een toename in proliferatie van cardiomyocyten (van 3% in het gezonde hart naar maximaal 34% na schade).¹⁰ In een ander onderzoek werd regeneratie in het hart aangetoond door het bepalen van de leeftijd van cardiomyocyten. Dit kon aan de hand van integratie van ¹⁴C in het DNA, omdat de concentratie van ¹⁴C uit de atmosfeer door het testen van nucleaire atoombommen tijdens de koude oorlog plots toenam en exponentieel daalde. Er werd aangetoond dat er celdeling plaatsvindt in het hart van 1% per jaar op 25-jarige leeftijd en 0,45% per jaar op 75-jarige leeftijd.¹¹ Of deze celdeling het

gevolg was van proliferatie van cardiomyocyten of transdifferentiatie van stamcellen naar cardiomyocyten is niet bekend.

Een alternatief werkingsmechanisme van stamcellen is de paracrine hypothese. Stamcellen produceren cytokinen en groeifactoren, die aanleiding kunnen geven tot neovascularisatie, verminderde apoptose en inflammatie, een verbeterd metabolisme, toegenomen contractiliteit en verminderde remodelering. Deze hypothese wordt onderbouwd door het overeenkomende functionele effect van geconditioneerd medium van stamcellen vergeleken met celtherapie.¹²

Translationele studies

De veelbelovende hypothese van regeneratie van het hart heeft geleid tot een snelle translatie naar de kliniek. Veel van de ontwikkelingen in het preklinische veld zijn gelijk vertaald naar klinische studies. In 2001 werd de novo cardiomyocytvorming in een muismodel beschreven en in 2002 werd het eerste klinische onderzoek met mononucleaire beenmergcellen gepubliceerd.^{7,13} Intussen zijn vanuit de prekliniek al verscheidene celtypen getest op hun herstellende en regeneratieve vermogen in het beschadigde hart. Het merendeel van grote proefdieronderzoeken is gedaan met varkens vanwege de grootste anatomische overeenkomst met de humane coronairarterieën. Er wordt een significant effect gezien van celtherapie bij grote proefdieren (n=1.415).¹⁴ De linker-ventrikel-ejectiefractie (LVEF) (het percentage bloed dat per hartslag wordt uitgedompt) stijgt met 8,3%. Dit is een functionele parameter voor de pompfunctie van het hart, die in de klinische zorg veelal wordt toegepast en een belangrijke prognostische waarde heeft.

Humane studies

Er zijn zeker al 50 klinische studies verricht, waarin meer dan 2.600 patiënten zijn behandeld. Vele studies hadden onvoldoende 'power' om als eindpunt een reductie in mortaliteit aan te tonen. In meta-analyses wordt geen overtuigende reductie van mortaliteit gezien.¹⁵ Een frequenter gebruikte uitkomstmaat is de LVEF. De meest recente systematische beoordeling en analyse van gerandomiseerde klinische studies met beenmergcellen voor ischemische hartziekten toont een stijging in ejectionfracctie (2,92%), een afname in infarctgrootte (2,25%) en een verkleining in linkerventrikel eind-systolisch volume (LVESV) (6,37 ml) vergeleken met de standaardtherapie.¹⁶ Hoewel dit statistisch significante verschillen zijn, is de klinische relevantie wisselend. Zo zijn er studies die een relevante verbetering van inspanningsmogelijkheden en kwaliteit van leven laten zien, terwijl dat in andere studies niet wordt bevestigd. Derhalve is er nog geen consensus over de waarde van stamceltherapie.

Er is veel variatie in de effectgrootte van de primaire studies. Dit kan niet worden verklaard door de verschillende patiëntpopulaties (AMI, chronisch IHF en AP). Een mogelijke uitleg voor de variatie is het verschil in celtype, celbehandelingsprotocol en toedieningsroute. Er is nog geen consensus over de beste strategie. Een overzicht van klinische studies die in Nederland worden verricht staat in *Tabel 1*.

Celtype

Beenmerg

De meest toegepaste cellen in de kliniek zijn de ongelecteerde mononucleaire beenmergcellen (BM-MNC's), bestaande uit onder andere hematopoëtische, mesenchymale en endotheliale stam- en voorlopercellen. Tevens zijn er klinische studies gedaan met door flowcytometrie geselecteerde CD34⁺ (hematopoëtische) en CD133⁺ (hematopoëtische en endotheliale) celpopulaties.¹⁷ Mesenchymale stromacellen (MSC's), die (door hechting aan plastic) uit de mononucleaire fractie worden geselecteerd en vervolgens gekweekt, zijn in mindere mate in de klinische setting getest.^{17,18} MSC's zijn interessant vanwege de sterke paracrine effecten.¹⁹ Een toename in LVEF van 6,2% is beschreven in een klinische studie met MSC's bij hartfalenpatiënten.¹⁸ G-CSF ('granulocyte colony stimulating factor') is een gangbaar middel voor stamcelmobilisatie bij stamceltransplantatie uit perifere bloed. Er wordt echter geen significante functionele verbetering gezien na G-CSF-behandeling bij patiënten met een AMI.²⁰

Vetweefsel

Stamcellen kunnen ook uit andere weefsels worden geïsoleerd. Met uit vetweefsel afkomstige cellen (ADC's) zijn beperkte resultaten beschikbaar, waarbij geen verbetering in de LVEF, maar wel een verbetering in wandbewegingen wordt gezien.²¹

Hart

De ontdekking van het bestaan van endogene cardiale stamcellen, die wel kunnen differentiëren tot cardiomyocyten, heeft voor een nieuw therapeutisch doel gezorgd, namelijk het stimuleren van regeneratie via deze reeds aanwezige cardiale stamcellen.²² In de SCIPIO-studie zijn deze c-KIT⁺ endogene stamcellen uit de rechter atriale appendix geïsoleerd en na expansie als autologe therapie toegediend.²³ In de CADUCEUS-studie wordt gebruikgemaakt van cellen afkomstig van cardiosferen (CDC).²⁴ Beide studies zijn als fase 1/2a-studies opgezet en tonen veiligheid en haalbaarheid van deze methoden aan.

Autoloog versus allogeen

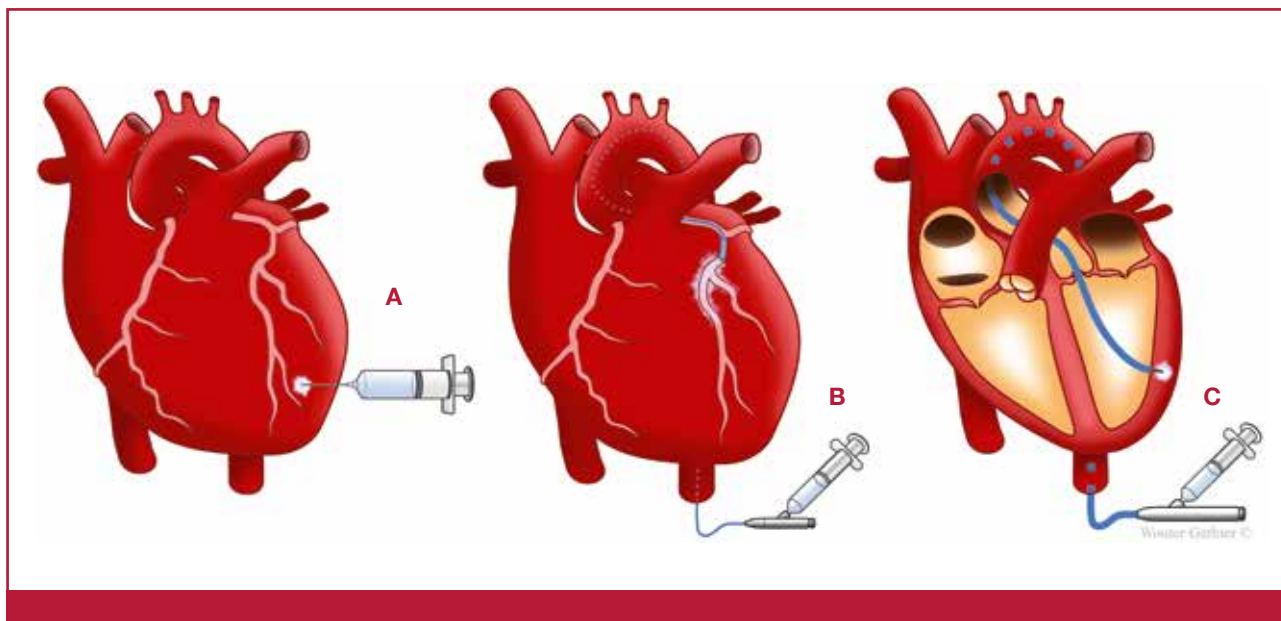
Een hypothese is dat de kwaliteit van de stamcellen wordt beïnvloed door cardiovasculaire risicofactoren en door chronische ziekte. Behandeling met allogene stamcellen kan uitkomst bieden. Bovendien kunnen deze 'off-the-shelf' worden gegeven in een acute situatie. MSC's kunnen als allogeen product worden gebruikt zonder immunoreactie. Het verschil van allogene versus autologe cellen is klinisch nog niet adequaat onderzocht.²⁵ Er wordt bij grote proefdieren geen verschil in effectiviteit gezien.¹⁴

Celbehandeling

Bij de verschillende klinische studies worden diverse methoden van celbehandeling toegepast. Zo wordt er voor het afdraaien van cellen gebruikgemaakt van Lymphoprep of Ficoll. Tevens zijn er verschillende media waarmee de cellen worden gewassen, bijvoorbeeld NaCl-heparine-plasma of een fosfaatbuffer. Een aantal onderzoeksgroepen heeft verschillende protocollen toegepast op dezelfde celpopulatie. Het is onbekend welk protocol het meest optimale resultaat geeft.²⁶

Toedieningsmethoden

Er zijn meerdere technieken om cellen in het hart te transplanteren. In deze paragraaf worden de klinisch meest relevante methoden toegelicht (zie *Figuur 1*, pagina 98).



Figuur 1. Epicardiale injectie (A), intracoronaire infusie (B) en intramyocardiale injectie (C).

Epicardiale injectie

De epicardiale strategie (Figuur 1A) vormt de referentiemethode voor celtoediening, omdat de cellen hierbij onder directe visualisatie in het gebied van interesse worden geïnjecteerd. Aangezien een open thorax nodig is voor de epicardiale route, wordt deze benadering klinisch alleen in combinatie met een andere hartoperatie toegepast.

Intracoronaire infusie

Tijdens een hartkatheterisatie kunnen cellen via het centrale lumen van een ballonkatheter in een coronairvat worden toegediend (Figuur 1B). Dit is bij uitstek een geschikte methode voor celtherapie na een AMI, die direct na de dotterprocedure kan worden uitgevoerd. Een ander voordeel van deze methode is dat het een voor interventiecardiologen welbekende techniek betreft. Het grootste nadeel is dat deze methode niet uitvoerbaar is bij geoccludeerde coronairen.²⁷

Intramyocardiale injectie

Voor deze percutane injectiemethode (Figuur 1C) wordt het meest frequent een elektromechanisch 'mapping'-systeem gebruikt (NOGA, Biosense Webster), dat wil zeggen dat zowel de elektrische als de mechanische activiteit van de linkerventrikel endocardiaal wordt gemeten met een speciale katheter en er een 3D-model wordt opgebouwd van het endocard. Met behulp van dit systeem kan zorgvuldig het doelgebied voor de injecties worden bepaald en hier kan vervolgens met een injectie-

katheter naartoe worden genavigeerd en worden geïnjecteerd. Deze toedieningsroute kan ook worden gebruikt bij geoccludeerde kransslagvaten. Het is daarentegen wel een tijdsintensieve en kostbare procedure die specifieke expertise vereist.²⁷

Aanwijzingen voor de toekomst

Potentiële cellen

Zoals eerder beschreven zijn multipotente cellen (BM- en cardiaal-afkomstig) tot nu toe nog niet in staat geweest om bij de mens echte regeneratie te bewerkstelligen. Voor daadwerkelijke regeneratie van het hart bieden pluripotente stamcellen een theoretisch betere mogelijkheid dan de tot nu toe gebruikte multipotente stamcellen (zie Tabel 2). Pluripotente stamcellen hebben de eigenschap om zich te kunnen differentiëren tot cellen uit alle kiemlagen (ecto-, meso- en endoderm). Daarmee hebben ze zowel de potentie tot regeneratie van het hart, als ook de mogelijke bijwerking teratoomvorming. Verder zijn de functionele eigenschappen van gevormde cardiomyocyten klinisch onbekend.²⁸ Een nieuwe strategie om het effect van celtherapie te verbeteren is het combineren van verschillende celtypen (NCT02501811, NCT02503280). Ook wordt onderzoek gedaan naar het herhaald toedienen van cellen (NCT01693042).

Celloze therapie

In combinatie met de paracrine hypothese, zijn verschillende experimentele regeneratieve strategieën denkbaar waarbij enkel cytokinen worden toegediend; 'celloze

Tabel 2. Overzicht voor- en nadelen van verschillende celtypen.

	Celtype	Voordelen	Nadelen
Multipotent	BM, 'adipose derived' (HSC, MSC, EPS)	Veilig Veel klinische ervaring	Geen regeneratie
	CSC	Potentie tot regeneratie	Effectiviteit onbekend
Pluripotent	ES	Potentie tot regeneratie	Ethisch bezwaarlijk Effectiviteit en veiligheid (teratoomvorming) onbekend
	iPS	Potentie tot regeneratie Autoloog verkrijgbaar	Effectiviteit en veiligheid (teratoomvorming) onbekend

BM=beenmergcellen, HSC=hematopoëtische stamcel, MSC=mesenchymale stromacel, EPC=endotheliale voorlopercel, CSC=cardiale stamcel, CDC='cardiosphere derived cell', ES=embryonale stamcel, iPS=geïnduceerde pluripotente stamcel.

therapie'. Denk hierbij aan groeifactoren (IGF-1/HGF) en exosomen. Bij het streven naar daadwerkelijke regeneratie wordt onderzoek gedaan naar gentherapieën die cardiogene activiteit beïnvloeden. Voorbeelden hiervan zijn micro-RNA en follistatin-like 1 (FSTL-1). In pre-klinisch onderzoek zijn deze therapieën veelbelovend, maar klinisch nog niet toepasbaar vanwege de onbekende systemische effecten.^{29,30}

Optimalisatie van celretentie

Hoewel de epicardiale injectiemethode de referentie is voor celtransplantatie, varieert de efficiëntie bij deze methode aanzienlijk. De intramyocardiale en intracoronaire toedieningsstrategieën zijn vergelijkbaar als het gaat om retentie van cellen.³¹ Nog geen 4% van de cellen wordt een uur na toediening teruggevonden in het hart.³² Het succes van cardiale celtherapie (en andere regeneratieve therapieën) wordt dus voor een belangrijk deel gelimiteerd door onvoldoende retentie en overleving van de toegediende cellen. Een methode om de retentie van cellen te bevorderen is het gebruiken van biomaterialen, in het bijzonder hydrogels. Hoewel de translatie naar een klinische toepassing nog gaande is, zijn de resultaten met diverse hydrogels (fibrine, gelatine, hyaluronzuur, polyethyleenglycol (PEG)) bij kleine en grote proefdieren veelbelovend.^{33,34} Zo werd bijvoorbeeld in een groot proefdiermodel met een chronisch myocardinfarct een beter functioneel effect gezien na behandeling met gecombineerde groeifactoren in een (UPy) PEG-gel ten opzichte van groeifactoren alleen.³⁴ Behalve toename van retentie en celoverleving, kunnen bio-

materialen ook worden gebruikt voor het verstevigen van de verdunde hartwand (na infarct of bij gedilateerde cardiomyopathie), of beter nog ter preventie van remodelering post-infarct. Dit werd recentelijk aangetoond in een muisstudie, waarbij na een myocardinfarct een 3D-geprinte patch, bestaande uit hyaluronzuur/gelatine en humane cardiale voorlopercellen (hCMPC's), werd getransplanteerd.³³

Conclusie

Er zijn aanwijzingen voor proliferatie in het hart en transdifferentiatie van stamcellen naar cardiomyocyten. Deze theorie heeft geleid tot een snelle ontwikkeling van cardiale celtherapie met als resultaat jarenlange klinische ervaring, waarbij veiligheid van de therapie is aangetoond. Tot op heden is het nog niet gelukt om in de kliniek daadwerkelijk regeneratie aan te tonen. Er wordt een significante maar beperkte functionele verbetering gezien, waarschijnlijk op basis van paracrine effecten. Tot nu toe laten de veelbelovende resultaten uit proefdiermodellen zich nog niet vertalen naar een klinisch relevant effect. Om het resultaat van celtherapie te verbeteren zijn innovaties op het basale en technische vlak essentieel. Niet alleen andere celtypen en celproducten, maar ook biomaterialen kunnen hierin een belangrijke rol spelen. Optimalisatie van de huidige toedieningsstrategieën is tevens van belang. Het uiteindelijke doel, echte regeneratie, wordt gezocht in de combinatie van cel(loze)therapieën. Het is een dynamisch veld van onderzoek in een grote patiëntenpopulatie voor wie nieuwe therapieën noodzakelijk zijn.

Referenties

1. Centraal Bureau voor de Statistiek. Te raadplegen via www.cbs.nl/nl-nl/menu/themas/gezondheid-welzijn/cijfers/default.htm.
2. Keeley EC, Boura JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet* 2003;361(9351):13-20.
3. Koopman C, Van Dis I, Bots M, et al. Feiten en cijfers Hartfalen. Nederlandse Hartstichting. 2012.
4. Eglitis MA, Mezey E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(8):4080-5.
5. Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000;32(1):11-6.
6. Ferrari G, De Angelis GC, Coletta M, et al. Muscle regeneration by bone marrow – derived myogenic progenitors. *Science* 1998;279(6):1-4.
7. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow stem cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
8. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, et al. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004;428:668-73.
9. Murry CE, Soonpa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004;428(6983):664-8.
10. Poss KD, Wilson LG, Keating MT. Heart regeneration in zebrafish. *Science* 2002;298(5601):2188-90.
11. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009;324(5923):98-102.
12. Gneocchi M, Zhang Z, Ni A, et al. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res* 2008;103(11):1204-19.
13. Strauer BE. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002;106(15):1913-8.
14. Jansen of Lorkeers SJ, Eding JE, Vesterinen HM, et al. Similar effect of autologous and allogeneic cell therapy for ischemic heart disease: systematic review and meta-analysis of large animal studies. *Circ Res* 2015;116:80-6.
15. Martin-Rendon E, Brunskill S, Dorée C, et al. Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(4):CD006536.
16. Afzal MR, Samanta A, Shah ZI, et al. Adult bone marrow cell therapy for ischemic heart disease: evidence and insights from randomized controlled trials. *Circ Res* 2015;117(6):558-75.
17. Chavakis E, Koyanagi M, Dimmeler S. Enhancing the outcome of cell therapy for cardiac repair: Progress from bench to bedside and back. *Circulation* 2010;121(2):325-35.
18. Mathiasen AB, Qayyum AA, Jørgensen E, et al. Bone-marrow derived mesenchymal stromal cell treatment in patients with severe ischemic heart failure: a randomised placebo-controlled trial (MSC-HF trial). *Eur Heart J* 2015;36:1744-53.
19. Hatzistergos KE, Quevedo H, Oskoueï BN, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells stimulate cardiac stem cell proliferation and differentiation. *Circ Res* 2010;107:913-22.
20. Abdel-Latif A, Bolli R, Zuba-Surma EK, et al. Granulocyte colony-stimulating factor therapy for cardiac repair after acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am Heart J* 2008;156(2):218-26.e9.
21. Perin EC, Sanz-Ruiz R, Sánchez PL, et al. Adipose-derived regenerative cells in patients with ischemic cardiomyopathy: the PRECISE trial. *Am Heart J* 2014;168(1):88-95.e2.
22. Senyo S, Wang M, Wu T, et al. Mammalian heart renewal by preexisting cardiomyocytes. *Nature* 2013;493(7432):433-6.
23. Chugh AR, Beache GM, Loughran JH, et al. Administration of cardiac stem cells in patients with ischemic cardiomyopathy: the SCIPIO trial: surgical aspects and interim analysis of myocardial function and viability by magnetic resonance. *Circulation* 2012;126(11 Suppl 1):S54-64.
24. Malliaras K, Makkar RR, Smith RR, et al. Intracoronary cardiosphere-derived cells after myocardial infarction: evidence of therapeutic regeneration in the final 1-year results of the CADUCEUS trial (CARDiosphere-Derived aUtologous stem CElls to reverse ventricular dySfunction). *J Am Coll Cardiol* 2014;63(2):110-22.
25. Hare JM, Fishman JE, Gerstenblith G, et al. Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow–derived mesenchymal stem cells delivered by trans-endocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: the POSEIDON randomized trial. *JAMA* 2012;308(22):2369-79.
26. Yeo C, Saunders N, Locca D, et al. Ficoll-Paque™ versus Lymphoprep™: a comparative study of two density gradient media for therapeutic bone marrow mononuclear cell preparations. *Regen Med* 2009;4(5):689-96.
27. Van der Spoel TI, Lee JC-T, Vrijnsen K, et al. Non-surgical stem cell delivery strategies and in vivo cell tracking to injured myocardium. *Int J Cardiovasc Imaging* 2011;27(3):367-83.
28. Du Pré BC, Doevendans PA, Van Laake LW. Stem cells for cardiac repair: an introduction. *J Geriatr Cardiol* 2013;10(2):186-97.
29. Van Rooij E, Olson EN. MicroRNA therapeutics for cardiovascular disease: opportunities and obstacles. *Nat Rev Drug Discov* 2012;11(11):860-72.
30. Wei K, Serpooshan V, Hurtado C, et al. Epicardial FSTL1 reconstitution regenerates the adult mammalian heart. *Nature* 2015;525(7570):479-85.
31. Van der Spoel TI, Vrijnsen KR, Koudstaal S, et al. Transendocardial cell injection is not superior to intracoronary infusion in a porcine model of ischaemic cardiomyopathy: a study on delivery efficiency. *J Cell Mol Med* 2012;16(11):2768-76.
32. Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, et al. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: Implications for current clinical trials. *Circulation* 2005;112(9 Suppl):150-7.
33. Gaetani R, Feyen DA, Verhage V, et al. Epicardial application of cardiac progenitor cells in a 3D-printed gelatin/hyaluronic acid patch preserves cardiac function after myocardial infarction. *Biomaterials* 2015;61:339-48.
34. Koudstaal S, Bastings MM, Feyen DA, et al. Sustained delivery of insulin-like growth factor-1/hepatocyte growth factor stimulates endogenous cardiac repair in the chronic infarcted pig heart. *J Cardiovasc Transl Res* 2014;7(2):232-41.

Ontvangen 3 oktober 2015, geaccepteerd 15 maart 2016.