

---

**Summary & Future Perspectives**

**Nederlandse samenvatting**

**Dankwoord**

**Curriculum Vitae**

**Lijst van publicaties**



---

## Summary

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is a genetic cardiac disease associated with over 100 mutations in genes encoding for the myocardial contractile apparatus. HCM is the most common cause of sudden cardiac death (SCD) in young adulthood, and a major cause of heart failure at any age. Next to asymmetrical left ventricular (LV) hypertrophy, preliminary studies in the early 90's showed that HCM is also characterized by alterations in myocardial perfusion and energy handling. These findings implied that the pathogenesis of HCM was not merely limited to hypertrophy and adverse cardiac remodeling. More recently, the development of positron emission tomography (PET) has introduced a new era of myocardial imaging in heart disease, by facilitating accurate, noninvasive quantification of myocardial perfusion and metabolism. However, although PET has provided tantalizing new insights, the pathophysiology of HCM is comprehensive and many aspects remain unelucidated. Hence, this thesis aimed to increase our knowledge of the disease mechanisms underlying HCM, by use of advanced noninvasive imaging techniques to investigate myocardial perfusion, metabolism and function in different stages of the disease process.

**PART I** of this thesis explored the presence and interrelations between microvascular dysfunction, impaired energetics and cardiac dysfunction on a global and regional level, in HCM patients and asymptomatic 'carriers'. In **Chapter 2**, the presence of microvascular dysfunction was found to be widespread, also affecting non-hypertrophied myocardial segments. Perfusion defects could be linked to the presence of contractile dysfunction and myocardial scarring, on a regional level. These findings suggest that microvascular dysfunction constitutes a primary component of the HCM phenotype, and may explain why the degree of dysfunction serves as such major predictor of clinical deterioration and death in these subjects. In addition, patients with severe perfusion defects had more myocardial fibrosis, possibly making these subjects more susceptible to cardiac arrhythmias. **Chapter 3** explored myocardial energy consumption and expenditure in HCM patients, and showed that the energy efficiency of the heart in HCM is significantly reduced, in comparison to healthy subjects. Furthermore, impaired energetics were not limited to the hypertrophied septum only, but also affected non-hypertrophied areas. Although an imbalance between oxidative metabolism and cardiac function is rather unspecific, it appears to be a sensitive marker of myocardial pathology. After all, a reduced energy efficiency of the heart is also seen in other cardiomyopathies, and is prognostically unfavourable. Major predictors of impaired myocardial efficiency were a high LV mass and small stroke volume (SV), suggesting a therapeutic potential for interventions aimed at reducing LV hypertrophy and

---

increasing SV. In **Chapter 4**, asymptomatic carriers (subjects without LV hypertrophy and clinical signs of HCM, yet carriers of a pathogenic HCM mutation) were studied with myocardial perfusion and metabolic imaging, to investigate the presence of microvascular dysfunction or impaired energetics as early markers of disease. It was found that myocardial perfusion was comparable to healthy subjects. However, the carriers already showed reduced generation of myocardial work in relation to oxygen consumption, suggesting that impairment of myocardial efficiency precedes the onset of the HCM phenotype, and may be a major determinant of HCM pathogenesis. Altogether, these findings in conjunction with previous studies, highlight the clinical relevance of early detection of myocardial perfusion and metabolic abnormalities in HCM for risk stratification and development and application of (new) therapeutics.

**PART II** discussed the effects of alcohol septal ablation (ASA) on myocardial perfusion and energy handling in HCM patients. ASA is thought to alleviate symptoms in symptomatic patients with LV outflow tract (LVOT) obstruction by restoring perfusion. Analysis of the exact mechanism of action, however, may improve the selection criteria for subjects that benefit from this intervention. **Chapter 5** specifically focused on endo- and epicardial microcirculatory function in HCM patients with LVOT obstruction, before and after ASA. It was found that myocardial perfusion is predominantly impaired in the subendocardial regions of the heart. Relief of LVOT obstruction was associated with a major improvement in perfusion, especially in these regions. Moreover, the reduction of the gradient across the LVOT directly related to the improvement in perfusion in absolute terms, altogether suggesting that LV strain and loading conditions are important determinants of myocardial perfusion in HCM. In addition, ASA improved myocardial energy efficiency, predominantly by reducing LV mass. **Chapter 6** revealed that the effects of ASA extend beyond the LV and favourably affect energetics of the right ventricle (RV) as well. These results suggest that increased RV energy consumption in HCM patients with LVOT obstruction is presumably mediated by increased RV afterload due to augmented LV loading conditions. Therefore, reducing RV workload by relief of LVOT obstruction could be an additional mode of action by which ASA may reduce symptoms in HCM patient, next to augmenting LV microvascular capacity.

**PART III** discussed several technical aspects of myocardial perfusion and metabolic imaging with PET. In **Chapter 7**, the potential of [<sup>11</sup>C]acetate, a substrate-based tracer primarily used for metabolic imaging, was explored for implementation as a perfusion tracer. Four previously described methods were analyzed and compared to the gold standard, being [<sup>15</sup>O]water. Myocardial perfusion could be determined in fairly good agreement with actual perfusion

---

values by use of [ $^{11}\text{C}$ ]acetate, over physiological flow ranges under baseline conditions. Of the four investigated methods, a single-tissue compartment model was most accurate. **Chapter 8** evaluated an alternative method for analyzing [ $^{11}\text{C}$ ]acetate PET scans to improve noninvasive estimates of oxygen consumption. It was shown that a single-tissue compartment model with model-based corrections for the effects of spillover, partial volume and recirculating  $^{11}\text{C}$  activity, yielded [ $^{11}\text{C}$ ]acetate clearance rates in better agreement with myocardial oxidative metabolism, as compared to standard monoexponential curve fitting. This suggested that the non-invasive estimation of  $\text{MVO}_2$  by use of [ $^{11}\text{C}$ ]acetate could be improved by employing a compartment model, and its use should routinely be considered in cardiac study protocols using [ $^{11}\text{C}$ ]acetate.

Finally, **Chapter 9** is a comprehensive review that discusses the findings of this thesis in combination with results in the literature regarding myocardial perfusion, metabolism and energy efficiency in HCM.

## Future Perspectives

To date, microvascular dysfunction and impaired myocardial energetics are considered major determinants of HCM. Our findings of reduced myocardial efficiency in phenotype-negative HCM carriers even suggest a causative role for energy deficiency in the pathophysiology of HCM. Clinical trials focussing on long-term outcome are needed to determine the incremental prognostic value of myocardial energetics in HCM. Nonetheless, studies regarding metabolic and contractile properties of isolated mutated sarcomeres may provide additional insights into the macro-phenotype of HCM, and aid in elucidating its etiology. More specifically, by comparing energy handling of cardiomyocytes on a microscopic and macroscopic level (i.e., in-vitro tension cost versus in-vivo efficiency) intraindividually, translational research in HCM may shed new light on the HCM paradigm.

Similarly, going from bedside-to-bench by focussing on the pathologic basis of disease may enhance our understanding of current pharmacological treatments, and stimulate the development of new experimental therapies. Therapeutic strategies specifically aimed at improving myocardial perfusion and energy handling are a promising new avenue in the treatment of HCM. Evaluation of new treatment strategies in a relatively small number of patients can provide important insight and is a step toward testing interventions in larger clinical trials.

Finally, tangible evidence suggests that the natural course of disease is linked to the type, number, and location of the underlying mutation. Hence, future

---

delineation of specific HCM subgroups according their in-vitro and in-vivo myocardial properties is essential. Consequently, this may affect the type and timing of intervention in different subgroups, according to the pathogenic substrate and prognosis.

---

## Nederlandse samenvatting

Hypertrofische cardiomyopathie (HCM) is een genetische hartziekte die is geassocieerd met meer dan 100 mutaties in genen coderend voor het cardiale contractiele apparaat. HCM is de meest voorkomende oorzaak van spontane hart dood op jonge leeftijd en een belangrijke oorzaak van hartfalen op elke leeftijd. Naast asymmetrische linker ventrikel (LV) hypertrofie, hebben studies begin jaren 90 aangetoond dat HCM ook wordt gekenmerkt door veranderingen in cardiale perfusie en energie huishouding. Deze bevindingen suggereerden dat de pathogenese van HCM zich niet alleen beperkte tot hypertrofie en ongunstige cardiale remodelering. Recentelijk heeft de ontwikkeling van positron emissie tomografie (PET) een nieuw tijdperk geïntroduceerd van cardiale beeldvorming in hartziekten, door middel van accurate, niet invasieve quantificatie van cardiale perfusie en metabolisme. Echter, hoewel PET interessante nieuwe inzichten heeft gebracht, blijft de pathogenese van HCM complex en zijn vele aspecten nog niet opgehelderd. Daarom heeft deze thesis als doel onze kennis te vergroten van de onderliggende ziekte mechanismen van HCM, door met behulp van geavanceerde niet invasieve beeldvormende technieken cardiale perfusie, metabolisme en functie in verschillende fasen van het ziekte proces in kaart te brengen.

**Deel I** van de thesis onderzocht de aanwezigheid en onderlinge relaties van microvasculaire dysfunctie, inefficiënte cardiale energiehuishouding en contractiele dysfunctie op een globaal en regionaal niveau, in HCM patiënten en 'dragere'. In **Hoofdstuk 2** werd gevonden dat microvasculaire dysfunctie een zeer uitgebreid fenomeen is in HCM en ook cardiale segmenten aantast zonder hypertrofie. Perfusiedefecten konden gerelateerd worden aan de aanwezigheid van contractiele dysfunctie en cardiale verlitteking op een regionaal niveau. Deze bevindingen suggereerden dat microvasculaire dysfunctie een belangrijke component is van het HCM fenotype, en zou tevens kunnen verklaren waarom de ernst van de dysfunctie een grote voorspeller is van klinische achteruitgang en dood in deze patiënten. Daarnaast hadden patiënten met ernstige perfusiedefecten ook meer cardiale verlittekening, wat hen mogelijk gevoeliger maakt voor hartritmestoornissen. **Hoofdstuk 3** onderzocht het verbruik en de productie van energie in HCM harten, en toonde aan dat de energie efficiëntie significant lager is in HCM patiënten vergeleken met gezonde controles. Bovendien werd er niet alleen een minder efficiënte energiehuishouding waargenomen in het gehypertrofieerde septum, maar ook in niet-gehypertrofieerde gebieden. Hoewel een onbalans tussen zuurstofconsumptie en hartfunctie nogal onspecifiek is, lijkt het wel een gevoelige marker te zijn van cardiale pathologie. Een inefficiënte cardiale energiehuishouding wordt immers

---

ook gezien bij andere cardiomyopathieën, en is prognostisch ongunstig. Belangrijke voorspellers van een inefficiënte cardiale energiehuishouding waren een grote LV massa en een klein slagvolume (SV), wat suggereert dat interventies gericht op het verkleinen van LV massa en vergroten van SV mogelijk therapeutische waarde hebben. In **Hoofdstuk 4** werden asymptomatische dragers (personen zonder LV hypertrofie en klinische symptomen van HCM, maar dragers van een pathogene HCM mutatie) onderzocht met behulp van cardiale beeldvorming om vast te stellen of de microvasculaire dysfunctie en inefficiënte cardiale energiehuishouding vroege ziektemarkers zijn. Er werd aangetoond dat de cardiale perfusie vergelijkbaar is met een gezonde controle populatie. Echter, de dragers leverden reeds minder cardiale arbeid in relatie tot zuurstofgebruik, wat betekent dat een inefficiënte cardiale energiehuishouding vooraf gaat aan fenotype van HCM, en mogelijk een belangrijke determinant is van de HCM pathogenese. Al met al benadrukken deze bevinden in samenhang met eerdere studies de klinische relevantie van een vroege opsporing van abnormale cardiale perfusie en metabolisme in HCM teneinde risicostratificatie en het ontwikkelen en toepassen van (nieuwe) therapieën.

**Deel II** besprak de effecten van alcohol septum ablatie (ASA) op cardiale perfusie en energie huishouding in HCM patiënten. ASA wordt verondersteld klachten te verminderen in symptomatische HCM patiënten met LV outflow traject (LVOT) obstructie door herstel van de cardiale perfusie. Onderzoek van het exacte werkingsmechanisme kan echter de selectiecriteria verbeteren voor patiënten die in aanmerking komen voor deze interventie. **Hoofdstuk 5** richtte zich specifiek op de endo- en epicardiale microcirculatie in HCM patiënten met LVOT obstructie, voor en na ASA. Er werd aangetoond dat de cardiale perfusie verminderd is met name in de subendocardiale regionen van het hart. Opheffing van LVOT obstructie leidde tot een grote toename van perfusie in absolute term, wat suggereert dat LV wandspanning en nabelasting belangrijke determinanten zijn van cardiale perfusie en HCM. Daarnaast werd gevonden dat ASA de cardiale energie huishouding verbeterde, met name door afname van de LV massa. **Hoofdstuk 6** toonde dat ASA ook gunstige effecten heeft op de energiehuishouding van de rechter ventrikel (RV). Deze resultaten suggereren dat de grotere RV zuurstofconsumptie in HCM patiënten met LVOT obstructie hoogstwaarschijnlijk gemedieerd is door toegenomen RV nabelasting als gevolg van een grote werkbelasting van het LV. Derhalve kan vermindering van RV nabelasting door opheffing van LVOT obstructie een additioneel werkingsmechanisme zijn op welke manier ASA symptomatologie kan verbeteren in HCM patiënten, naast verbetering van microvasculaire functie.



---

**Deel III** bespreekt verschillende technische aspecten van cardiale perfusie en metabole beeldvorming met PET. In **Hoofdstuk 7** werd de mogelijkheid van [<sup>11</sup>C]acetate, een substraat-gebaseerde tracer die primair gebruikt wordt voor metabole beeldvorming, geëxploreerd voor toepassing als perfusie tracer. Vier eerder beschreven methoden werden geanalyseerd en vergeleken met de gouden standaard, namelijk [<sup>15</sup>O]water. Cardiale perfusie kon berekend worden en redelijk goede overeenkomst met werkelijke perfusie met behulp van [<sup>11</sup>C]acetate. Van de vier onderzochte methoden was een 1-compartiment model het meest accuraat. **Hoofdstuk 8** evalueerde een alternatieve methode voor het analyseren van [<sup>11</sup>C]acetate PET scans teneinde de niet-invasieve bepaling van zuurstofconsumptie te verbeteren. Het bleek dat een 1-compartiment model met ingebouwde correcties voor scannerartefacten en recirculerende <sup>11</sup>C-activiteit meer accurate weergave gaf van het cardiale zuurstofmetabolisme, in vergelijking met standaard monoexponentiele curve fitting. Deze resultaten suggereren dat de niet-invasieve bepaling van cardiaal zuurstofconsumptie met [<sup>11</sup>C]acetate verbeterd kan worden door een compartimenten model te gebruiken, en zou routinematige overwogen moeten worden om toe te passen in cardiale studie protocollen met [<sup>11</sup>C]acetate.

Tenslotte, **Hoofdstuk 9** is een uitgebreide review die de bevindingen van deze thesis in combinatie met eerdere resultaten uit de literatuur beschrijft wat betreft cardiale perfusie, metabolisme en energiehuishouding in HCM.

## Toekomstige perspectieven

Op dit moment worden microvasculaire dysfunctie en inefficiëntie cardiale energiehuishouding beschouwd als belangrijke determinanten van HCM. Onze bevindingen van inefficiënte cardiale energiehuishouding in fenotype-negatieve HCM dragers suggereert zelfs een causale rol voor energie deficiëntie in de pathofysiologie van HCM. Klinische trials naar harde eindpunten zijn noodzakelijk om de voorspellende waarde van cardiale energiehuishouding te bepalen in deze patienten. Desalniettemin kunnen in-vitro studies naar metabole en contractiele eigenschappen nieuwe inzichten bieden in het macro-fenotype van HCM, en helpen om de oorzakele factoren te achterhalen. Door in het bijzonder de energiehuishouding te vergelijken op microscopisch en macroscopisch niveau in eenzelfde individu, kan translationeel onderzoek nieuw licht laten schijnen op het HCM paradigma.

Daarnaast kan het focussen op de pathologische basis van ziekte ons begrip van huidige farmacologische behandelingen vergroten, en de ontwikkeling van nieuwe experimentele therapieën stimuleren. Desalniettemin is het ontwikkelen van alternatieve therapeutische strategieën die gericht zijn op het verbeteren

---

van cardiale perfusie en energie huishouding een veelbelovende onderzoeksrichting in de behandeling van HCM. Het onderzoeken van nieuwe therapieën in een relatief kleine patientengroep kan belangrijke inzichten opleveren, en is een stap in de richting van het testen van interventies in grotere klinische trials.

Tot slot, tastbaar bewijs suggereert dat het natuurlijke beloop van de ziekte is gekoppeld aan het type, het aantal en de locatie van de onderliggende mutatie. Daarom is verdere afbakening van specifieke HCM subgroepen naar aanleiding van hun in-vitro en in vivo myocard eigenschappen essentieel. Dit kan namelijk gevolgen hebben voor het type en de timing van de interventie in verschillende subgroepen, afhankelijk van het pathogene substraat en geassocieerde prognose.

---

## Dankwoord

Het dankwoord. Een stukje tekst wat als laatste in het proefschrift gedrukt staat maar ironischerwijs meestal als eerste gelezen wordt. Aangezien het aantal pagina's dankwoord echter niet oneindig is, wil ik daarom als eerste mijn dank betuigen aan alle mensen die bijgedragen hebben aan het ontstaan van dit proefschrift.

Er zijn ook enkele mensen die ik in het bijzonder wil bedanken.

Mijn promotoren, Prof. dr. van Rossum en Prof. dr. Lammertsma, beste Bert en Adriaan. Jullie besloten enkele jaren geleden promotor te worden van een relatief onervaren student. Ik wil u bedanken voor het vertrouwen in mij.

Mijn 1<sup>e</sup> copromotor, dr. Knaapen, beste Paul, jij was de drijvende kracht achter dit proefschrift. Jij stond niet alleen aan de basis van het idee, maar ook van de uitvoering. Je bent een veelzijdig onderzoeker, en ik ben blij dat ik voor een deel 'mee heb kunnen liften' op jouw successen. Je vertelde me eens dat een goede promovendus zijn email binnen minimaal 2 uur moet beantwoorden. Ik schat onze 'response' tijd op gemiddeld 2 minuten, ook 's avonds en in het weekend. Dat hebben we ook deels te danken aan Steve J, je hebt het leven van vele promovendi in deze gemakkelijker gemaakt. Ik beschouw onze samenwerking als succesvol. Wat mij betreft houdt onze samenwerking hier dan ook niet op, en ik hoop in de toekomst nog veel projecten met je op te starten. Bedankt.

Mijn 2<sup>e</sup> copromotor, dr. Lubberink, beste Mark, bedankt voor al de uren die je hebt gestoken in het mij bijbrengen van de fysica achter PET. Gelukkig kon ik na jouw vertrek altijd aankloppen bij je opvolger, Hans Harms.

Dr. ten Cate, dr. ten Berg, en prof. dr. de Wilde wil ik bedanken voor het aanleveren van de patientenpopulatie. Tjeerd en Pieter, jullie waren verantwoordelijk voor een deel van de beeldvorming. Bedankt, tevens voor de nuttige feedback op de papers.

De 'oude' lichting promovendi, Jeroen S, Sebastiaan, Stefan, en Wessel. Ook al begon ik als een 'studentje', ik stel het op prijs dat jullie de moeite namen om soms met mij te sparren. Was het niet over literatuur, dan wel over de beurs of over het Zweedse vrouwelijke schoon. Ik kijk uit naar onze klinische samenwerking. Tac Tac! Ik wens de 'nieuwe' lichting promovendi, LeeNa, Laurens, Paul, Mischa, Flip, en Ahmed veel succes.

---

Dr. Gotte, beste Marco, mede door je vertrek ben je uiteindelijk niet veel betrokken geweest bij het ontstaan van dit proefschrift. Toch wil ik je bedanken voor het begin. Zo'n enthousiaste en toegewijde begeleider als jij heb ik zelden gezien.

Mijn ouders, zusje, zwager en neefjes. Lieve pa en ma, Lizet en Harold, Aaron en Dion. Voor jullie was het grotendeels on(be)grijpbaar wat ik allemaal uitvoerde in Amsterdam. Desondanks bleven jullie interesse tonen en steunden jullie me door dik en dun waarvoor ik jullie dankbaar ben.

Mijn paranimfen, Eugene en Frank. Jullie zijn niet alleen goede vrienden, maar allebei ook uitstekende doctors in spe. Ik hoop dat ik nog lang mag genieten van onze vriendschap.

Tot slot mijn meisje.. Lieve Lies, er is veel veranderd afgelopen jaar. Allebei aan de slag als arts. Samenwonen. Solliciteren voor de opleiding. Gelukkig kunnen we altijd op elkaar terugvallen. Ik ben blij dat jij in mijn leven bent gekomen.

---

## Curriculum Vitae

Stefan Timmer werd geboren op 14 januari 1985 in Deventer. In 2003 behaalde hij zijn gymnasium diploma aan het Carmel College Salland in Raalte, waarna hij Biomedische Wetenschappen ging studeren aan de Universiteit Utrecht. In 2005 werd hij ingeloot voor de studie Geneeskunde aan de Vrije Universiteit en werd het 'pittoreske' Utrecht verruild voor het 'grote' Amsterdam. Al vroeg in de opleiding was er interesse voor onderzoek en cardiologie. Dit leidde in 2009 tot de start van een promotietraject bij de afdeling cardiologie in het VU medisch centrum te Amsterdam, wat hij uitvoerde tijdens zijn geneeskunde studie.

Hij behaalde op 15 augustus 2011 het artsexamen, waarna hij per november als ANIOS cardiologie in het VU medisch centrum is gestart. Eén van zijn ambities is om een klinische carrière als cardioloog te combineren met onderzoek.



---

## List of publications

**Timmer SA, Germans T, Brouwer WP, Lubberink M, van der Velden J, Wilde AA, Christiaans I, Lammertsma AA, Knaapen P, van Rossum AC.** Carriers of the hypertrophic cardiomyopathy MYBPC3 mutation are characterized by reduced myocardial efficiency in the absence of hypertrophy and microvascular dysfunction. *Eur J Heart Fail.* 2011; 13:1283-9.

**Timmer SA, Knaapen P, Germans T, Lubberink M, Dijkmans PA, Vonk-Noordegraaf A, ten Berg JM, ten Cate FJ, Lammertsma AA, van Rossum AC.** Right Ventricular Energetics in Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy and The Effect of Alcohol Septal Ablation. *J Card Fail* 2011; 17:827-31.

**Timmer SA, Knaapen P, Germans T, Dijkmans PA, Lubberink M, Ten Berg JM, Ten Cate FJ, Russel IK, Gotte MJ, Lammertsma AA, van Rossum AC.** Effects of Alcohol Septal Ablation on Coronary Microvascular Function and Myocardial Energetics in Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011; 17:827-31.

**Timmer SA, Germans T, Gotte MJ, Russel IK, Lubberink M, Ten Berg JM, Ten Cate FJ, Lammertsma AA, Knaapen P, van Rossum AC.** Relation of coronary microvascular dysfunction in hypertrophic cardiomyopathy to contractile dysfunction independent from myocardial injury. *Am J Cardiol* 2011; 107:1522-8.

**Timmer SA, Lubberink M, van Rossum AC, Lammertsma AA, Knaapen P.** Reappraisal of a single-tissue compartment model for estimation of myocardial oxygen consumption by [<sup>11</sup>C]acetate PET: an alternative to conventional monoexponential curve fitting. *Nucl Med Commun* 2011; 32:59-62.

**Timmer SA, Germans T, Gotte MJ, Russel IK, Dijkmans PA, Lubberink M, ten Berg JM, ten Cate FJ, Lammertsma AA, Knaapen P, van Rossum AC.** Determinants of myocardial energetics and efficiency in symptomatic hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010; 37:779-88.

**Timmer SA, Lubberink M, Germans T, Gotte MJ, ten Berg JM, ten Cate FJ, van Rossum AC, Lammertsma AA, Knaapen P.** Potential of [<sup>11</sup>C]acetate for measuring myocardial blood flow: Studies in normal subjects and patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Nucl Cardiol* 2010; 17:264-75.

**Timmer SA, De Boer K, Knaapen P, Gotte MJ, van Rossum AC.** The potential role of erythropoietin in chronic heart failure: from the correction of anemia to improved perfusion and reduced apoptosis? *J Card Fail* 2009; 15:353-61.