Universiteit
Leiden
The Netherlands

Organs-on-chip: towards therapies for cardiovascular disease using human stem cells

Helden, R.W.J. van

Citation
Helden, R. W. J. van. (2024, June 19). *Organs-on-chip: towards therapies for cardiovascular disease using human stem cells*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/3763914

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/1887/3763914

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

APPENDICES

A

Nederlandse samenvatting

Curriculum vitae

List of publications

Dankwoord

SAMENVATTING

Het hart is het eerste orgaan dat gevormd wordt in het menselijke embryo: de eerste hartslag te horen is 12 weken na bevruchting. Dit benadrukt de essentiële rol die ons hart speelt in de ontwikkeling van ons lichaam, en in het behouden van de lichamelijke homeostase. Het gevolg hiervan is dat wanneer het hart een verminderde capaciteit heeft, of compleet faalt, dit directe en zware gevolgen heeft voor de rest van het menselijke lichaam. Hartfalen is daarmee een levensbedreigende ziekte die jaarlijks nog steeds tot de meeste doden leidt wereldwijd. Naast hartinfarcten zijn cardiomyopathiën een belangrijke oorzaak van hartfalen. Bij cardiomyopathiën is het functioneren van de hartspier verminderd met een verminderde pompfunctie en circulatie tot gevolg. Veel van deze cardiomyopathiën zijn erfelijk en worden veroorzaakt door mutaties in ons DNA. Een zeldzame vorm van deze ziektes treft ook kinderen, waarbij vaak de mitochondriën, de energiefabrieken van onze cellen, aangetast worden door deze mutaties.

Deze vorm van hartfalen, genaamd mitochondrial infantile cardiomyopathy, is erg moeilijk om te bestuderen, de patiëntengroep is klein en erg kwetsbaar, en de ziekte presenteert zich vaak pas wanneer deze al in een vergevorderd stadium is. Het is moeilijk om te achterhalen hoe de progressie van de ziekte is geweest en hier de juiste interventies voor te vinden. Ook is gebleken dat diermodellen de ziekte vaak niet goed kunnen nabootsen doordat de genen tussen muizen en mensen niet genoeg overeenkomen. Om deze redenen is er groeiende interesse in het gebruik van pluripotente stamcellen om menselijke ziektes na te bootsen. Deze cellen zijn in staat om te groeien en ontwikkelen naar elke cel in het menselijk lichaam, en kunnen worden gemaakt van ieder individu door het nemen van een klein huidbiopt, of wat bloed of urine. Met deze zogenoemde induced pluripotent stem cells (hiPSCs) kunnen hartcellen gemaakt worden van patiëntenpopulaties met zeldzame ziektes om zodoende het proces van de vorming van hartcellen naar het zieke hart te volgen. **Hoofdstuk 1** geeft een overzicht van de huidige stand van zaken in de literatuur en in **hoofdstuk 2 & 3** van deze thesis worden er hiPSCs gemaakt van twee kinderen met een zeldzame vorm van mitochondriële infantiele cardiomyopathie die heeft geleid tot hun dood binnen twee weken na geboorte, en hun moeder die dient als een gezonde controlepersoon. In deze hoofdstukken ligt de focus op het functioneren van deze hartcellen en de mitochondriële en metabole toestand van deze cellen. Er wordt gebruik gemaakt van een 2D *in vitro* systeem, waarbij de hartcellen die gemaakt zijn van de patiënt-stamcellen (hiPSC-CMs) gezamenlijk groeien in een vlakke plaat en hierop bestudeerd kunnen worden. Door middel van CRISPR/cas9 worden de mutaties die de ziekte veroorzaken in deze patiënten gecorrigeerd om vervolgens de door de mutatie aangedane hiPSC-CMs te kunnen vergelijken met de gecorrigeerde hiPSC-CMs. In **hoofdstuk 3** ligt de focus op het zoeken naar hoe de mutaties verandering tot stand brengen in de mitochondriën en in het functioneren van de hartspiercel zelf, van de generatie van het actiepotentiaal (het elektrische signaal van het hart) tot de samentrekking van de hartspiercellen.

De bestudeerde mutaties leiden in ons model tot een verminderde functie van de mitochondriën, waardoor de hartspiercellen minder energie tot hun beschikking hebben en er een tekort is van andere belangrijke metabole signaal moleculen. Dit heeft tot gevolg dat deze hiPSC-CMs slechter in staat zijn om samen te trekken als spiercel en ook spontane hartritmestoornis vertonen. Echter waren wij niet in staat om de ver gevorderde staat van deze ziekte aan te tonen, waarbij hypertrofie (een vergroting van het hart) een kenmerkend fenotype is. De reden dat pathologiën als hypertrofie nog slecht aantoonbaar zijn in deze 2D *in vitro* heeft ermee te maken dat hiPSC-CMs niet hetzelfde ontwikkelingsproces doorgemaakt hebben als de hartspiercellen in het hart; ze missen de juiste omgevingsfactoren om zich te ontwikkelen tot volwassen hartcellen.

In **Hoofdstuk 4** wordt een methode omschreven om de verdere maturatie van de hiPSC-CM's te bevorderen. In dit hoofdstuk benutten we het vermogen van cellen om zichzelf te organiseren en hun ontwikkeling te bevorderen wanneer ze in een 3D-organisatie worden geplaatst omringd door andere cellen die een ondersteunende functie in het hart spelen. We beschrijven de protocollen om zogenaamde microtissues (MTs) te maken van hiPSCs, bestaande uit de drie meest voorkomende cellen van het hart: de hartspiercellen zelf, cardiale endotheelcellen (cECs) en hartfibroblasten (cFBs). Het protocol beschrijft twee verschillende methoden voor het induceren van een "gemeenschappelijk" hartmesoderm, een precursor cel populatie waaruit deze drie celtypen af te leiden zijn. In dit hoofstuk beschrijven we ook verdere methodes om de structurele en functionele parameters van deze MTs te karakteriseren en te kunnen gebruiken als mogelijk ziekte model.

Naast het plaatsen van hiPSC-CMs in een 3D-omgeving, in een niche zoals we die ook in het hart tegenkomen, is er ook een andere recente ontwikkeling geweest voor het bevorderen van de maturatie van hiPSC-modellen, de zogenaamde Organ-on-Chips (OoCs). Hierbij worden cellen in een omgeving geplaatst die beter lijkt op de fysiologische toestand van een specifiek orgaan, waarbij er niet alleen gekeken wordt naar de andere celtypen, maar ook naar de functionele vorm en naar de mogelijkheden van perfusie. Veel van deze modellen maken gebruik van microfluïdische-kanalen en -perfusie en nieuwe meet- en detectie-methoden om continue te kunnen meten hoe het mini-orgaan zich gedraagt. In **Hoofdstuk 5** gebruiken wij een dergelijk model, waarbij de integratie van pH- en zuurstof-sensoren in een microfluïdisch kanaal gebruikt wordt om live de metabole staat van hiPSCs te volgen. Door het volgen van deze metabole staat kunnen de weefselkweekomstandigheden geoptimaliseerd worden. Dit is essentieel om ervoor te zorgen dat de cellen in dit soort OoC-modellen zich in de juiste toestand kunnen bevinden en zich daarbij het meest gedragen zoals ze dat ook zouden doen in het menselijke lichaam. Dit geeft meer vertrouwen in de wetenschappelijke resultaten die uit deze modellen behaald kunnen worden aangezien het waarschijnlijker is dat deze de daadwerkelijke toestand van de menselijke fysiologie juist nabootsen.

Tot slot zijn in **hoofdstuk 6** alle resultaten en perspectieven van deze thesis samengevat. De behaalde wetenschappelijke resultaten in deze thesis dragen enerzijds bij aan de kennis hoe mitochondriële infantiele cardiomyopathiën ontstaan en het doorontwikkelen van meer betrouwbare hartstamcelmodellen. Dit alles is deel van de weg die uiteindelijk moet leiden tot stamcelmodellen die de menselijke fysiologie zodanig kunnen nabootsen dat de ziekteprocessen nagebootst kunnen worden. Wanneer dit het geval is, kunnen deze modellen ingezet worden voor zogenaamde “clinical-trials-in-a-dish” en “personalised medicine”, waarbij deze stamcelmodellen, en niet dierproeven, de basis zullen vormen voor het testen van effectiviteit en specificiteit van nieuwe medicijnen.