



Universiteit
Leiden
The Netherlands

hiPSC-derived 3D cardiac microtissue models with integrated immune cells and vasculature

Arslan-van Bergen, U.

Citation

Arslan-van Bergen, U. (2024, September 24). *hiPSC-derived 3D cardiac microtissue models with integrated immune cells and vasculature*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4092667>

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/1887/4092667>

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

Samenvatting

Het hart is een van de belangrijkste en meest complexe organen met meerdere lagen en celtypen. De interactie tussen verschillende celtypen is cruciaal voor de structuur en functie van het hart. Bovendien is een goede doorbloeding van het orgaan essentieel om alle cellen gezond en functioneel te houden. Veel 3D cardiale *in vitro* modellen bevatten meerdere hartcel subsets om complexiteit en fysiologische relevantie te bereiken. Het ontbreken van functionele vasculatuur en immuuncomponenten beperkt echter mogelijk hun bruikbaarheid, vooral in toepassingen zoals het testen van medicijnen en het modelleren van ziekten. Functionele vasculatuur is belangrijk voor selectief transport van voedingsstoffen, medicijnen en cellen naar de andere celtypen. Immuuncellen spelen een cruciale rol in het handhaven van homeostase in gezondheid, en ontregeling van dit aangeboren inflammatoire celtype kan ziekten veroorzaken. Daarom is het modelleren van deze twee kritieke componenten van het hart – vasculatuur met bijbehorend microfluidisch stroming en immuuncomponenten - belangrijk om onderliggende mechanismen in gezondheid en ziekte te onthullen.

Dit proefschrift beschrijft manieren om humane geïnduceerde pluripotente stamcel (hiPSC)-afgeleide vasculaire- en immuuncomponenten te integreren in 3D hartmicroweefselplatforms om cellulaire interactie en het effect daarvan op de respons van het hart op chemische signalen te bestuderen.

Hoofdstuk 1 geeft een algemene inleiding over het hart en zijn micro-omgeving. Het gaat in op het belang van verschillende componenten in het hart met een specifieke nadruk op immuuncellen en vasculaire cellen. Het bespreekt verschillende opties voor het modelleren van het hart met een focus op *in vitro* alternatieven.

In **Hoofdstuk 2 en 3** worden de toepassingen, uitlezingen en beperkingen van bestaande 3D *in vitro* hartmodellen besproken. De implementatie van toekomstige perspectieven kan de complexiteit, en mogelijk de relevantie en waarde, van deze modellen vergroten.

Hoofdstuk 4 richt zich op de integratie van hiPSC-afgeleide macrofagen (IPSDM's) in 3D hartmicroweefsels bestaande uit cardiomyocyten, endotheelcellen en hartfibroblasten. Dit hoofdstuk beschrijft de optimalisatie van kweekcondities, zoals het type kweekplaat en mediumcomponenten, en onderzoekt het effect ervan op verschillende cellulaire subsets, waaronder IPSDM's, cardiomyocyten en endotheelcellen. Samenvattend kunnen hartmicroweefsels die IPSDM's bevatten het beste gekweekt worden in een ultra-laag hechtingsplaat, omdat dit ervoor zorgt dat IPSDM's in de weefsels blijven en zich in de buurt van vasculaire structuren lokaliseren. Het aantal IPSDM's in microweefsels neemt toe na toevoeging van macrofaagkoloniestimulerende factor in het medium in de vroege kweekperiode. We vonden echter dat het totale aantal IPSDM's significant afneemt tijdens de kweekperiode, wat te wijten kan zijn aan de incompatibiliteit van het kweekmedium met IPSDM's. IPSDM's hebben geen significante invloed op de contractietijd van cardiomyocyten en vasculaire dichtheidsparameters. Tot slot toonde het cytokineprofiel

van microweefsels met IPSDM's een mix van pro- (IL-6 en IP-10) en anti- (IL-10 en IL-1RA) ontstekingscytokinen, wat duidt op een heterogene populatie van IPSDM's in de weefsels. De hogere concentratie ontstekingsremmende cytokine (IL-1RA) zou er echter op kunnen wijzen dat de meerderheid van de IPSDM's een M2-achtig macrofaagfenotype krijgt, terwijl de kleinere populatie M1-achtig is.

Hoofdstuk 5 beschrijft een gevasculariseerd en perfuseerbaar hiPSC-afgeleid 3D hartmicroweefsel op een chipplatform (VMToC). Hier werden vooraf gevasculariseerde 3D hartmicroweefsels gekweekt samen met een extern vasculair netwerk dat zich vormt door zelforganisatie van hiPSC-ECs en murale cellen in een fibrine hydrogel. Contractiele microweefsels hadden geen nadelige invloed op de vorming van het vasculaire netwerk, zoals bleek uit de vergelijkbare vasculaire parameters in VMToC's en bloedvat-op-een-chip zonder microweefsels. Op korte termijn beginnen reeds bestaande microvasculaire netwerken in de microweefsels en het externe vasculaire netwerk eromheen zich met elkaar te verbinden/anastomoser en vormen ze continue gelumeniseerde vasculaire netwerken. Deze vasculaire netwerken kunnen worden geperfuseerd met kleine fluorescerend bolletjes waarbij hun oscillerende bewegingen is te zien die gesynchroniseerd zijn met het ritmische kloppen van de weefsels. Continue bidirectionele perfusie bevordert een toename van de vasculaire dichtheid in en rond de microweefsels.

In **hoofdstuk 6** worden VMToC's verder functioneel gekarakteriseerd en wordt het nut van het platform aangetoond. Vascularisatie veranderde de sarcomeerorganisatie van VMToC's niet significant. VMToC's vertoonden een langere contractieduur en piek-tot-piektijd in hun spontane en gestimuleerde contractie, wat duidt op een verbeterde interactie tussen endotheelcellen en cardiomyocyten. Wanneer deze interactie werd verstoord door stikstofoxidesynthaseremmer of pro-inflammatoir cytokine, vertoonden VMToC's significante veranderingen in hun contractieparameters. Deze resultaten geven aan dat de aanwezigheid van vaatcellen in VMToC's hun contractiedynamiek en respons op medicijnen reguleert.

Hoofdstuk 7 biedt een stapsgewijs protocol om VMToC's te genereren. Ondersteunende protocollen beschrijven functionele karakterisatie door perfusiemetingen en pacing; en structurele karakterisatie van VMToC's door fixatie en immunofluorescente kleuring.

Hoofdstuk 8 geeft een samenvatting van 3D hartmicroweefselmodellen die in dit proefschrift zijn ontwikkeld en benadrukt hun voordelen. Beperkingen en toekomstige perspectieven om deze modellen te verbeteren worden ook besproken aan het einde van dit hoofdstuk.