

## **Mikrosystemy przepływowe do badania modelu tkanki mięśnia sercowego**

### STRESZCZENIE

W rozprawie doktorskiej *Mikrosystemy przepływowe do badania modelu tkanki mięśnia sercowego* przedstawiono zaprojektowane mikrosystemy, w których możliwe było przeprowadzenie hodowli komórek mięśnia sercowego. W celu zapewnienia komórkom sercowym warunków możliwie najbardziej zbliżonych do *in vivo*, prowadzono hodowlę trójwymiarową z wykorzystaniem hydrożeli oraz hodowlę z wykorzystaniem nanowłókien polimerowych jako podłoża hodowlanego umożliwiającego orientowanie się komórek równoległe względem siebie. Opracowane mikroukłady posłużyły jako modele tkanki mięśnia sercowego w ocenie cytotoksycznego wpływu dwóch wybranych leków.

W części literaturowej pracy przedstawiono zagadnienia dotyczące budowy i chorób serca oraz leków stosowanych w ich leczeniu. Następnie opisano podłoża i rusztowania stosowane do hodowli *in vitro* komórek serca, które pozwalają lepiej odwzorować warunki panujące w żywym organizmie niż tradycyjne hodowle. Skupiono się głównie na hydrożelach i nanowłóknach polimerowych oraz ich zastosowaniu do hodowli komórek sercowych. Zaprezentowano także przegląd przykładowego wykorzystania mikrosystemów przepływowych do hodowli komórek mięśnia sercowego i analizy cytotoksyczności leków. Na podstawie badań literaturowych wykazano, że istnieje potrzeba poszukiwania rozwiązań pozwalających opracować nowe, udoskonalone modele hodowli komórek mięśnia sercowego.

Część doświadczalna została podzielona na trzy główne rozdziały. W pierwszym z nich opisano technologię wytwarzania mikrosystemów oraz metodykę prowadzenia hodowli komórkowych. Drugi przedstawia wykorzystanie hydrożeli do przestrzennej hodowli komórek mięśnia sercowego w mikroukładzie. Na początku opisano badania związane z optymalizacją hodowli przestrzennej komórek z wykorzystaniem hydrożelu w skali makro. Na ich podstawie dokonano wyboru linii komórek sercowych, które wykorzystano do badań w mikroukładzie do przestrzennej hodowli komórek mięśnia sercowego. Następnie opisano trzy mikrosystemy do przestrzennej hodowli komórek. Badania nad tymi mikrosystemami przedstawiały kolejne etapy udoskonalania geometrii mikroukładów i optymalizacji ich działania. Geometria pierwszego z zaprojektowanych mikrosystemów (mikrosystem I) oraz

zastosowanie odpowiednich wartości przepływów zapewniały żelowanie mieszaniny hydrożelu-komórek w mikrosystemie. Wykazano jednak, że mikrosystem ten nie zapewniał utrzymania przez komórki wysokiej żywotności. W związku z tym wprowadzono modyfikację w geometrii mikrosystemu. Kolejne dwa przedstawione w pracy mikrosystemy (mikrosystem II i III) o zmodyfikowanej geometrii mikrokanałów porównano ze sobą za pomocą numerycznych symulacji. Na ich podstawie wykazano, że mikrosystem III zdecydowanie lepiej nadaje się do hodowli komórek i z jego wykorzystaniem prowadzono kolejne badania. W opracowanym mikrosystemie III przeprowadzono z powodzeniem 4-dniową hodowlę przestrzenną i w monowarstwie ludzkich kardiomiocytów. Mikrosystem ten został zaprojektowany w taki sposób, aby umożliwić monitorowanie proliferacji komórek każdego dnia hodowli za pomocą komercyjnie dostępnego testu fluorescencyjnego z wykorzystaniem z czytnikiem płytek wielodołkowych. Na tak otrzymanym modelu hodowli komórek sercowych zbadano cytotoksyczny wpływ izoproterenolu oraz 5-fluorouracylu. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić, że mikrosystem III może posłużyć jako model hodowli komórek mięśnia sercowego do oceny wpływu różnych leków. W trzecim głównym rozdziale części doświadczalnej pracy opisano wykorzystanie nanowłókien polimerowych do hodowli mięśnia sercowego w mikrosystemie przepływowym. W pierwszym etapie badań przeprowadzono w makroskali hodowlę trzech linii komórek sercowych różniących się wiekiem i pochodzeniem z wykorzystaniem nanowłókien poli-L-laktydowych i poliuretanowych wytworzonych za pomocą metody rozdmuchu roztworu polimeru. Badania te miały na celu dokonanie wyboru do testów w mikrosystemie komórek, które będą najlepiej proliferowały na danym typie nanowłókien. Wykazano, że na analizowanych nanowłóknach najlepiej proliferowały szczurze kardiomioblasty. Najwyższą proliferację tych komórek zaobserwowano na nanowłóknach poliuretanowych modyfikowanych fibronektyną i właśnie te nanowłókna wykorzystano do hodowli szczurzych kardiomioblastów w mikrosystemie IV. W zaprojektowanym mikroukładzie IV z powodzeniem przeprowadzono 4-dniową hodowlę szczurzych kardiomioblastów. Oceniono także cytotoksyczny wpływ izoproterenolu i 5-fluorouracylu na żywotność komórek. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić, że zaprojektowany mikrosystem również może posłużyć jako narzędzie w ocenie skuteczności działania różnych leków. Przedstawione w niniejszej pracy badania wskazują, że opracowane mikrosystemy mogą zostać wykorzystane do hodowli komórek mięśnia sercowego oraz do oceny cytotoksycznego wpływu czy skuteczności działania różnych leków.

**Słowa kluczowe:** mikrosystemy przepływowe, hodowla komórek mięśnia sercowego, hydrożele, nanowłókna polimerowe