



Kandidaatintutkielma

In vitro -keuhkomallialustojen rakenne ja käyttö COVID-
19:n ja muiden tautien tutkimisessa

Noora Salmela

Oulun yliopisto
Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta
2022

Sisällysluettelo

1	Johdanto	5
2	Keuhkomallialusta	6
2.1	Rakenne ja toiminta	6
2.1.1	<i>Alveolin ja hiussuonen rajapintaa mallintava keuhkomallialusta</i>	7
2.1.2	<i>Hengitysteitä mallintava keuhkomallialusta</i>	8
2.2	Keuhkomallialusta vs. tavalliset soluviljelmät ja eläinkokeet	9
2.3	Sairauksien tutkinta keuhkomallialustalla	11
2.3.1	<i>Keuhkopöhö</i>	11
2.3.2	<i>Keuhkosityöpä</i>	12
2.3.3	<i>Keuhkoveritulppa</i>	13
2.3.4	<i>Astma ja keuhkohtaumatauti (COPD)</i>	14
3	SARS-CoV-2	15
3.1	Ominaisuudet	16
3.2	COVID-19	16
4	SARS-CoV-2 keuhkomallialustalla	17
5	Lääkekehitys kudospallialustoilla	20
6	Kirjallisuusviitteet	21

Käytetyt lyhenteet

ACE2 = angiotensiinikonvertaasi 2

ALI = ilman ja nesteen rajapinta

Ang-1 = angiopoietiini-1

Ang-2 = angiopoietiini-2

ARDS = äkillinen hengitysvajausoireyhtymä

COPD = keuhkohtaumatauti

COVID-19 = corona virus disease 2019

DAD = diffuusi alveolivaurio

IL-2 = interleukiini-2

IL-6 = interleukiini-6

IL-8 = interleukiini-8

IL-13 = interleukiini-13

LPS = lipopolysakkaridi

MERS-CoV = Middle East respiratory syndrome coronavirus

NRP1 = neuropiliini 1

PDMS = polydimetyylisiloksaani

Poly I:C = polyinosiininen-polysytidyylihapolle

SARS-CoV = severe acute respiratory syndrome coronavirus

SARS-CoV-2 = severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

1 Johdanto

Hengityselimistön päätarkoitus on tuoda happea ulkoilmasta kudoksiin ja viedä solujen metabolian tuottamaa hiilidioksidia ulos. Hengityselimistö osallistuu lisäksi kehon happoemästatapainon ylläpitämiseen, metaboliaan, puolustukseen sekä bioaktiivisten materiaalien käsittelyyn. Hengityselimistön ilmatiet jaetaan ylä- ja alahengitysteihin. Ylähengitysteihin kuuluvat kaikki rakenteet nenästä äänihuuliin. Alahengitystiet koostuvat henkitorvesta ja keuhkoputkista. Keuhkoputket haarautuvat yhä pienemmiksi rakenteiksi mitä pidemmälle keuhkojen kudoksissa edetään. Keuhkoputkien loppupäässä olevat alveolit muodostavat kapillaarien kanssa verkoston, jossa kaasujen vaihto tapahtuu. Aikuisella ihmisellä on noin 300 miljoonaa alveolia, jotka ovat täysin kapillaarien ympäröimiä. Pinta-ala, jolla kaasujenvaihto tapahtuu, onkin noin 50–100 m² ja se tapahtuu vain viiden millimetrin pituisella alueella (Cloutier M, 2018).

Hengitysteiden virusinfektiot aiheuttavat eniten sairauksia maailmanlaajuisesti. Virusten aiheuttamat sairaudet vaihtelevat oireettomista tai lievista ylähengitysteiden infektiosta vakaviin alahengitysteiden sairauksiin, kuten keuhkokuumeeseen ja keuhkoputken tulehdukseen. Yleisiä hengitysteiden sairauksia aiheuttavia viruksia ovat enterovirus, adenovirus, rinovirus, influenssavirus, RS-virus (parainfluenza and respiratory syncytial virus) sekä koronavirus. RS-virus aiheuttaa eniten sairaalahoitoa vaativia tulehduksia hengitysteissä pienillä lapsilla, rinovirus suurimman osan flunssista ja se voi laukaista astman pahenemisen, kun taas influenssavirus aiheuttaa kehittyneissä maissa eniten kuolemaan johtavia keuhkokuumeita (Troy & Bosco 2016). Koronavirukset, kuten MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome coronavirus), SARS-CoV (severe acute respiratory syndrome coronavirus) ja viimeisimpänä SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome 2), joka aiheuttaa COVID-19 sairauden (corona virus disease 2019), ovat aiheuttaneet vakavan vaaran kansanterveydelle (Saygili et al., 2021). COVID-19 voi aiheuttaa laajan kirjon erilaisia oireita, pahimmillaan äkillisen hengitysvajausoireyhtymän (ARDS) (Kiener et al., 2021). Virukset infektoivat ja replikoituvat pääasiassa hengitysteiden epiteelisolukossa, jonne päästäkseen niiden täytyy läpäistä suojaava limakerros. Mikäli tämä onnistuu, immuunipuolustus aktivoituu (Troy & Bosco 2016). Muita keuhkoihin vaikuttavia sairauksia ovat esimerkiksi astma, keuhkohtaumatauti (COPD) ja keuhkopöhö (Bennet et al., 2021; Cui et al., 2021).

Kudosmallialusta (organ-on-a-chip) on kehitetty mallintamaan elinten fysiologiaa, koska sairauksien tutkimiseen käytetyt eläinmallit eivät vastaa täysin ihmisessä tapahtuvia vasteita. Eläinmalleilla on saatu muodostettua hypoteesi diagnoosista ja hoidosta, mutta monien sairauksien hoitoon kehitetyt lääkkeet eivät ole olleet toimivia ihmisillä, vaikka ne olisivat olleet eläinkokeissa. Tästä syystä tutkijat ovat kehittäneet *in vitro* -kudosmallialustoja. Keuhkomallialustan (lung-on-a-chip) on havaittu jäljittelevän monia keuhkojen toimintoja ja niiden monimutkaista mikroympäristöä. Sillä voidaan tutkia keuhkoja, kun ne altistetaan niitä uhkaaville tekijöille, kuten lääkkeille, ilmansaasteille tai nanopartikkeleille. Keuhkomallialustaa hyödyntämällä voidaan myös saada parempi käsitys luonnollisista tai patogeenien aiheuttamista häiriöistä keuhkoissa (Saygili et al. 2021).

2 Keuhkomallialusta

Useita erilaisia keuhkomallialustoja on jo kehitetty, mutta suurin osa niistä keskittyy mallintamaan alveolin toimintaa. On edelleen kysyntää erilaisille malleille, jotka sisältäisivät soluja, joita on limakalvon alaisissa kudoksissa, jotta niiden osien biologiaa ja tautien patologiaa pystyttäisiin tutkimaan paremmin. Tällaisilla malleilla pystyttäisiin myös tutkimaan tarkemmin mitä tapahtuu hengityselimistön rakenteissa ennen alveoleita, kun taudinaiheuttajia hengitetään (Bennet et al., 2021).

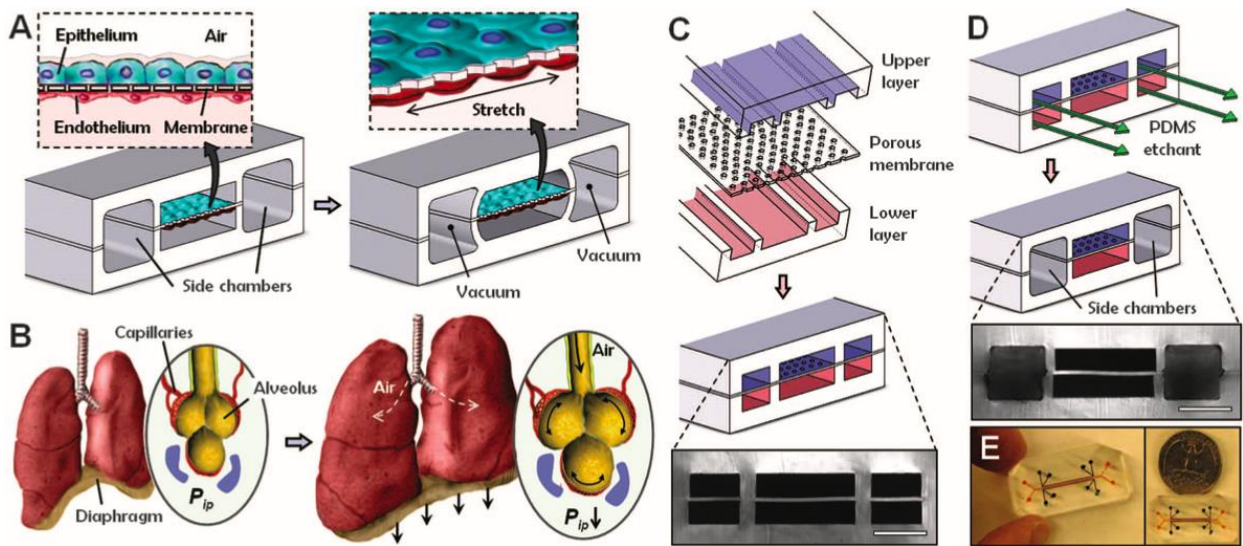
2.1 Rakenne ja toiminta

Keuhkomallialusta, kuten muutkin kudossmallialustat, rakentuvat mikrosiruista ja mikrofluidiikasta (Bennet et al., 2021). Tärkein etu, mikä monimutkaisen biologian ja mikrofluidiikan yhdistämisellä saavutetaan, on mikrofluidististen järjestelmien luontainen kyky hallita kudosspesifisiä parametrejä, kuten lämpötilaa, virtausnopeuksia, gradientteja sekä biomekaanisia ärsykeitä (Rothbauer et al., 2021). Mikrofluidiikkaa hyödyntämällä voidaan käyttää alhaisia ja helposti hallittavia tilavuuksia. Mikrokanavien avulla käsitellään yleensä 10^{-9} – 10^{-18} litran tilavuuksia (Bennet et al., 2021).

2.1.1 Alveolin ja hiussuonen rajapintaa mallintava keuhkomallialusta

Huh et al. (2010) kehittivät alveolin ja hiussuonen yhtymäkohtaa mallintavan keuhkomallialustan. Kehitetty laite on kokonaisuudessaan noin 1–2 cm pitkä ja siinä olevat mikrokanavat ovat vain millimetrejä leveitä. Se koostuu kahdesta lähekkäin asetetusta mikrokanavasta, joita erottaa ohut (10 μm), joustava, huokoinen kalvo. Kalvo tehtiin polydimetyylisiloksaanista (PDMS), joka päällystettiin fibronektiinillä tai kollageenilla (kuva 1A). Toiselle puolelle kalvoa viljeltiin ihmisen alveolien epiteelisoluja ja vastakkaiselle puolelle kalvoa ihmisen hiussuonten endoteelisoluja (Huh et al., 2010). Keuhkomallialustat, joissa on käytetty primaarisia hengitysteiden epiteelisoluja, on havaittu mallintavan solun fysiologista koostumusta, sisältäen limaa tuottavia pikarisoluja ja värekarvallisia soluja (Bennet et al., 2021). Kun solut olivat kasvaneet riittävästi, ilmaa päästettiin epiteelisolujen puolelle, jotta ilman ja nesteen rajapinta (ALI) saatiin muodostettua. Solut kytkeytyvät toisiinsa liitosproteiineilla. Epiteelisolut alkoivat tuottaa surfaktanttia, kun ilmaa tuotiin kanavaan. Surfaktantti stabiloi ohutta nestekerrosta *in vitro* ja *in vivo*. Rajapinta ilmentää alveolin ilmatilan päällystettä (Huh et al., 2010).

Sisäänhengityksen aikana keuhkojen alveolit laajenevat, kun keuhkopussinontelon paine pienenee (kuva 1B). Alveolien epiteeli ja hiussuonten endoteeli venyvät. Huh et al. (2010) loivat tällaiset olosuhteet keuhkomallialustalle kahdella suuremmalla kanavalla, jotka sijoituivat soluja sisältävien kanavien sivuille (kuva 1D). Sivuille oleviin kanaviin kohdistettiin imua, jotta syklistä venytystä saatiin luotua kudosten yhtymäkohtaan. Rasmus, joka kanaviin kohdistettiin imulla, vastasi keuhkojen alveoleihin kohdistuvaa rasmus. Seurauksena PDMS-kalvo ja siinä olevat solut venyivät (kuva 1A). Kun imu lopetettiin, kalvo ja solut palautuivat alkuperäiseen kokoonsa. Näin pystyttiin mallintamaan hengityksen aiheuttamia liikkeitä alveoleissa. Ontot tyhjiökanavat valmistettiin yhdistämällä pehmeää litografiaa menetelmään, jossa PDMS syövytetään kemiallisesti. Ensin kohdistettiin ja liitettiin yhteen 10 μm :n paksuinen huokoinen PDMS kalvo ja kaksi PDMS kerrosta, joissa oli upotettuja mikrokanavia (kuva 1C). Kanaviin syötettiin PDMS-kalvoa syövyttävää liuosta, jolloin PDMS hävisi ja jäljelle jäi kaksi kanavaa, jotka ovat suorassa yhteydessä soluja sisältävän PDMS-membraanin kanssa (kuva 1D) (Huh et al., 2010).



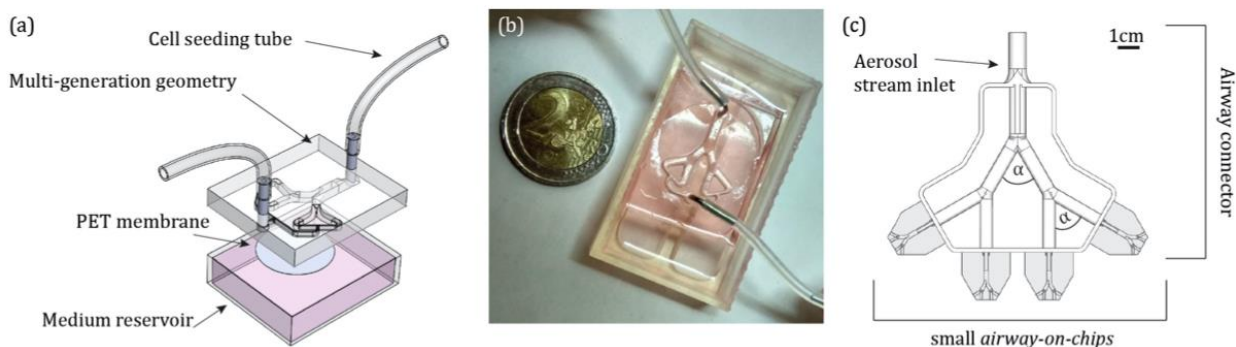
Kuva 1. Keuhkojen alveolia ja hengitysvaihteluita mallintava keuhkomallialusta. A) Malli koostuu osiin jaettuista mikrokanavista, jotka on erotettu toisistaan PDMS-kalvolla. Kalvo on päällystetty soluväliaineella. Hengitysvaihteluita luodaan kohdistamalla imua sivukanaviin, mikä aiheuttaa PDMS-kalvon mekaanista venymistä muodostaen alveoli-kapillaari esteen. B) Sisäänhengityksessä pallean supistuminen aiheuttaa keuhkopussin sisäisen paineen laskun, mikä johtaa alveolien venytykseen. C) Kolme PDMS-kalvoa muodostaa kaksi kolmen rinnakkaisen mikrokanavan sarjaa, joita erottaa 10 µm:n paksuinen PDMS-kalvo, jossa on läpimeneviä reikiä. D) Sivukanaviin syötetään PDMS:ää syövyttävää ainetta, jolloin jäljelle jää kaksi suurempaa sivukanavaa. E) Kuva oikeasta keuhkomallialustasta. (Kuva ja teksti Huh et al. 2010).

2.1.2 Hengitysteitä mallintava keuhkomallialusta

Elias-Kirma et al. (2020) kehittivät alustan, jolla he mallinsivat ihmisen keuhkoputkien epiteeliä ja kriittisiä solukerroksen toimintoja ilman ja nesteen rajapinnassa. Tällaisella keuhkomallialustalla he pystyivät simuloimaan *in situ* -kaltaista keuhkojen altistumista pienhiukkasille ALI olosuhteissa. Pienhiukkasia syötettiin alustalle fysiologisessa ilmavirrassa. Käyttämällä kokeessaan *in vitro* ja *in silico* -strategioita, he korostivat, kuinka tärkeä pienten hengitysteiden anatomia ja niiden orientaatio painovoimaan nähden on, kun määritetään mekaanisesti ajettua partikkeleiden laskeumaa (deposition) keuhkoissa.

Keuhkomallialustan muotoilu koostui kahdesta litteästä, symmetrisesti kolmeen jakautuvasta hengitystiekanavasta. Muotoilu on samankaltainen kuin keskiverto ihmisen pienen hengitystien anatomia. Mallissa oli kolme kerrosta, jotka ovat PDMS:stä tehdyt hengitystiet (apikaalinen

puoli), PET-kalvo ja elatusainevarasto (basaalinen puoli). PDMS-kerrokseen oli puhkaistu kaksi reikää. Rei'istä laitettiin ihmisen keuhkoputkien soluja kollageenilla päällystetyn PET-kalvon päälle, joka oli liitetty alempaan lokeroon ja sinetöity hengitysteiden yläpuolelta. Kuvaus laitteesta ja kerroksista kuvassa 2A ja kuva todellisesta laitteesta kuvassa 2B. Lämpäisevä PDMS-kalvo mahdollistaa ravintoaineiden saamisen elatusaineesta, mutta estää solujen valumisen elatusainetta sisältävälle puolelle. Kokonaisuudessaan mallissa oli neljä kanavaa. Kokeissa neljä keuhkomallialustaa asetettiin horisontaalisesti painovoimaan nähden ja yhdistettiin tiukasti neljään kanavaan. Painovoiman vaikutus ja sen myötä hiukkasten laskeumaa voidaan muunnella tällaisella muotoilulla muuttamalla laitteen asemaa liittimen ulosmenokanavaan nähden (Elias-Kirma et al., 2020).



Kuva 2. Hengitystietä mallintava keuhkomallialusta (airway-on-a-chip) ja sen hyödyntäminen aerosolien inhalaatiomäärityksessä. a) Tietokoneohjelmalla (CAD) tehty kuvaus laitteesta, jossa näkyvät kolme kerrosta: hengitystiekerros, PET-kalvo ja elatusainesäiliö. b) Valokuva kootusta laitteesta. c) CAD kuva kustomoidusta 3D laitteesta, joka yhdistää ja mahdollistaa samanaikaisen kokeiden tekemisen neljässä eri airway-on-a-chip:ssä ja kontrolloi painovoiman orientaatiota altistumäärityksessä, kun kahden haaran välinen kulma on $\alpha = 60^\circ$. (Kuva ja teksti Elias-Kirma et al., 2020).

2.2 Keuhkomallialusta vs. tavalliset soluviljelmät ja eläinkokeet

Solut vuorovaikuttavat toistensa kanssa kolmiulotteisissa (3D) rakenteissa muodostaakseen kudoksia ja elimiä. Kuitenkin monet *in vitro* -mallit, joilla soluja tutkitaan, ovat kaksiulotteisia (2D), minkä vuoksi ne eivät vastaa kudosten ja elinten luontaisesti monimutkaisia rakenteita. Usein käytetty 2D malli, jossa vain yhtä solutyyppeä kasvatetaan petrialjassa, ei heijasta oikeita olosuhteita, sillä useat eri solut vaikuttavat toistensa solunjakautumiseen, morfologiaan, fysiologisiin toimintoihin sekä erityykseen. Myöskään solusignaalointi ei toteudu normaalilla tavalla, koska solun polaarisuus menetetään. Petrialjassa kasvatetut solut eivät joudu alttiiksi

fysiologisille mekaanisille signaaleille, kuten nesteen leikkausjännitykselle (fluid shear stress), paineelle tai rasitukselle, jotka osallistuvat solujen lisääntymiseen, supistumiskykyyn, liikkuvuuteen, morfogeneesiin sekä elinten muodostumiseen (Shrestha et al., 2020).

Tautikohtaisia tutkimuksia, lääkkeiden kehitystä ja testaamista tehdään eläimillä. Niitä käytetään niin ikään *in vitro* -soluviljelymalleina (Shrestha et al., 2020). Eläinten käyttö on kuitenkin kallista ja tulokset vaihtelevia, mikä on hidastanut lääketieteellistä kehitystä ja altistanut potilaat vähemmän tehokkaille hoitomuodoille (Huh et al., 2012; Shrestha et al., 2020). Eläimillä saadut tulokset hoidosta voivat olla lupaavia, mutta ne eivät takaa samanlaisia tuloksia ihmisillä. Tämä johtuu ympäristöstä, jossa koe-eläimiä pidetään, eläinlajien välisistä eroavaisuuksista fysiologisissa prosesseissa, geneeistä sekä erilaisista menettelytavoista laboratoriotutkimuksissa. Eläimet voivat myös olla stressaantuneita keinotekoisesta ympäristöstä, jossa niitä pidetään, mikä voi saada ne käyttäytymään poikkeavasti (Shrestha et al., 2020). Esimerkiksi, astman ja keuhkohtaumataudin eläinmalleja on kehitetty, mutta niiden kliininen merkitys on kyseenalainen. Hiirten ja rottien immuunijärjestelmä ja keuhkojen tulehdusvaste eroavat merkittävästi ihmisestä. Astman kehittämisessä keskeisessä roolissa olevia musisiinia tuottavia soluja on vähemmän hiirillä ja rotilla kuin ihmisillä. Keuhkohtaumataudissa ja astmassa ihmisillä myös neutrofiilien määrä kasvaa merkittävästi. Kiertävistä leukosyyteistä neutrofiileja ihmisillä on 50–70 %, kun taas hiirillä vastaava määrä on 10–25 % (Benam et al., 2016).

Keuhkomallialustalla voidaan jäljitellä keuhkojen monisoluisia rakennetta sekä ilman ja nesteen rajapintaa (Saygili et al., 2021). Keuhkomallialusta on jaettu kanaviin, mikä mahdollistaa nestevirtauksen hallinnan sekä solujen ja ravintoaineiden kuljetuksen epiteeli- ja endoteelisoluille erikseen (Huh et al., 2010). Toisin kuin tavanomaisissa solumalleissa, keuhkomallialustalla soluja voidaan altistaa ilma- ja nestevirtaukselle sekä mekaaniselle rasitukselle ja näin imitoida normaalissa hengityksessä tapahtuvaa liikettä (Huh et al., 2012). Saygili et al. (2021) todistivat artikkelissaan, että alustalla on myös mahdollisuus saada lisää tietoa virusten aiheuttamien infektioiden mekanismeista.

2.3 Sairauksien tutkinta keuhkomallialustalla

2.3.1 Keuhkopöhö

Keuhkopöhö on sairaus, jonka aiheuttaa epätasapaino keuhkokudoksessa muodostuvan nesteen ja sen takaisinvirtauksen välillä. Nestettä tihkuu ja kerääntyy keuhkojen interstitiumiin, lopulta saavuttaen alveolaarit keuhkojen kapillaarien kautta aiheuttaen merkittäviä keuhkojen ilmanvaihto- ja kaasunvaihto-ongelmia (Cui et al., 2021). Sairauden voi aiheuttaa erilaiset sydän-, hengitys-, munuais- ja neurologiset sairaudet sekä lääketoksisuus (Huh et al., 2012). Myös COVID-19 voi aiheuttaa keuhkopöhön (Cui et al., 2021).

Huh et al. (2012) tutkivat artikkelissaan keuhkomallialustalla lääketoksisuuden aiheuttamaa keuhkopöhön. He laittoivat interleukiini-2:a (IL-2) kanavaan, joka mallinsi hiussuonta, ja havaitsivat, että kirkasta nestettä alkoi vuotaa alveolikanavan puolelle. Vuotamisen seurauksena kanavan ilmatila pieneni progressiivisesti, kunnes se oli kokonaan nesteen täyttämä. Kun he lisäsivät IL-2:n lisäksi fysiologisen konsentraation ihmisen veren plasman proteiineja, protrombiinia ja fibrinogeenia hiussuonikanavaan, he havaitsivat fibriinihiyytymiä alveolikanavan epiteelin apikaalisella puolella. Hyytymät olivat järjestäytyneet huokoisiksi, sidekudosmaisiksi rakenteiksi, mikä vahvisti, että ne mallinsivat luonnollisia fibriinihiyytymiä. Hyytymien muodostumisen laukaisevana tekijänä on todennäköisesti tulehtuneiden solujen aikaansaama kudostekijän ekspressio ja sen aiheuttama tekijä X:n aktivoituminen X_a:ksi. Tämä aiheuttaa protrombiinin muuttumisen trombiiniksi, joka toimii hyytymistä edistävänä tekijänä ja saa fibrinogeenin muuttumaan fibriiniksi. IL-2:n havaittiin yhdessä mekaanisen hengityselimen kanssa myös aiheuttavan solujen välisten aukkojen määrän ja koon kasvamisen niin keuhkojen epiteelissä kuin endoteelissä.

Seuraavaksi artikkelissaan Huh et al. (2012) tarkastelivat, voidaanko keuhkomallialustaa hyödyntäen tunnistaa aineita, jotka estävät IL-2:n aiheuttaman nesteen vuotamisen. Ensimmäinen aine, jota he kokeilivat, oli angiopoietiini-1 (Ang-1). Sen on havaittu stabiloivan endoteelisolujen välisiä liitoskohtia. Ang-1:n käyttö yhdessä IL-2:n kanssa hiussuonikanavassa esti nesteen valumisen täysin. Se myös esti aukkojen muodostumisen solujen liitoskohtiin jopa 10 %:n syklisessä mekaanisessa rasituksessa. Angiopoietiini-2 (Ang-2) on Ang-1:sen antagonisti ja sen on havaittu horjuttavan alveolin ja hiussuonen välistä rajapintaa sekä edistävän keuhkopöhön muodostumista IL-2-hoidon tai sepsiksen aikana. Näiden tietojen kanssa linjassa olivat Huh et al.

(2012) tekemät havainnot, että Ang-2 aiheutti keuhkomallialustalla nesteen vuotamisen hiussuonikanavasta. Tämäkin pystyttiin estämään lisäämällä Ang-2:n lisäksi Ang-1:tä hiussuonikanavaan.

TRPV4 ionikanavia aktivoi mekaaninen rasitus ja niiden stimulaatio lisää alveoli-kapillaarin läpäisevyyttä, joka aiheuttaa hiussuonesta nesteen vuotamisen keuhkoon (Huh et al., 2012). Huh et al. (2012) kokeilivat uutta TRPV4 kanavan salpaajaa lisäämällä sitä hiussuonikanavaan. Lääke esti kokonaan hiussuonten läpäisevyyden nousun, jonka IL-2 ja 10 %:n syklinen mekaaninen rasitus aiheuttivat. Löydökset olivat samankaltaisia verrattuna tuloksiin, joita oli saatu keuhkopöhön jyrjijä- ja koiramalleilla (Huh et al., 2012).

2.3.2 Keuhkosityöpä

Kasvaimilla voi olla vaihtelevaa kasvua ja erilaistumista, kun ne kasvavat ihmisen elimissä *in vivo*, joten *in vitro* -syöpämallien kehittämisen haaste on, että 2D viljelmät edistävät ensisijaisesti syöpäsolujen määrän kasvua. Kasvuominaisuudet ja lääkevasteet voivat vaihdella merkittävästi elinkohtaisen mikroympäristön mukaan. Näin ollen, monien lääkkeiden kehitys perustuu kasvun ehkäisemiseen. Lääkkeitä, jotka tappavat lepotilassa olevan syövän soluja tai kasvaimia eri erilaistumisen ja kasvun vaiheissa, on vaikea testata. Monimutkaisempia *in vitro* -malleja on kehitetty, joilla voi tutkia useita kasvaimien vasteita, kuten kasvua, angiogeneesiä, migraatiota sekä lääkevastetta, mutta mikään niistä ei mallinna potilaissa havaittuja elinten vasteita syövän kasvuun ja hoitoon. (Hassell et al., 2017).

Ei-pienisoluisista adenokarsinoma keuhkosityöpää keuhkomallialustalla tutkivat Hassell et al. (2017). Artikkelissaan he osoittivat, että kun ihmisen keuhkosityöpäsoluja kasvatetaan keuhkomallialustalla, syöpäsolut ilmentävät samanlaista kasvaimen kasvua ja hyökkäämistä sekä hoitovasteita, joita havaitaan myös potilailla. He saivat myös selville, että näihin vasteisiin vaikuttaa myös hengityksen liikkeet. Tutkimuksessa keuhkosityöpäsoluja kasvatettiin hengitystietä ja alveolia mallintavalla keuhkomallialustalla. Syöpäsolut näyttäytyivät eristäytyneiltä GFP-positiivisilta soluilta epiteelikerroksessa kudoksen erilaistumisen päätyttyä. Näissä olosuhteissa syöpäsolut pysyivät lepotilassa 12 päivää, kunnes ne alkoivat lisääntyä logaritmisesti, noin 40 tunnin kahdentumisajalla. Alveolialustalla syöpäsolut lisääntyivät paljon nopeammin, kuin hengitystiealustalla, eikä syklisellä mekaanisella rasituksella eli hengitysliikkeiden

mallinnuksella ei ollut vaikutusta siihen. Tällaisia havaintoja on tehty myös adenokarsinooma keuhkosityöpää sairastavilla potilailla.

Syöpäsolujen kasvussa oli kuitenkin eroja, kun alveolialustaa tutkittiin hengitysliikkeillä ja ilman. Ilman hengitysliikettä syöpäsolut levisivät ja korvasivat suuria epiteelialueita. Ne kasvoivat epiteelikerroksen ylä- ja alapuolella. Kun mallia altistettiin hengitysliikkeille, syöpäsolut pysyivät pienemmällä alueella epiteelillä. Nämä havainnot voivat tarkoittaa, että keuhkon liikkeiden menetys syöpäsolujen kasvun aiheuttaman alveolitalan täyttymisen seurauksena voi tuottaa takaisinkytkentäsilmiön, joka edistää solujen lisääntymistä sairauden edetessä (Hassell et al., 2017).

Syöpäsoluilla, joita Hassell et al. (2017) käyttivät, on EGFR pistemutaatio. Mutaation vuoksi potilailla on aluksi hyvä vaste ensimmäisen sukupolven tyrosiinkininaasin inhibiittoriin (TKI), kuten erlotinibiin. Potilailla, joille kehittyy uusi EGFR mutaatio, sairaus etenee jälleen noin 9–14 kuukauden kuluttua hoidon aloittamisesta, koska mutaatio ei ole yhtä herkkä erlotinibille. Tällaisissa tapauksissa suositellaan rosilitenebihoitoa, joka on kolmannen sukupolven TKI. Kun syöpäsoluja kasvatettiin perinteisissä staattisissa olosuhteissa, inhibitoriset vaikutukset olivat parempia rosiletinibillä kuin erlotinibillä. Samanlaisia tuloksia saatiin, kun rosiletinibiä testattiin keuhkomallialustalla staattisissa olosuhteissa ja havaittiin kasvaimen kasvun täydellistä supressiota. Hengitysliikkeiden läsnä ollessa, syöpäsolut olivat lähes täysin resistenttejä samalle lääkkeelle (Hassell et al., 2017).

2.3.3 Keuhkoveritulppa

Keuhkojen verisuonissa muodostuva verisuonitukos on merkittävä syy sille, että potilaita sairastuu ja kuolee moniin keuhkosairauksiin. Keskeinen syy monien keuhkosairauksien kuolleisuudelle ja sairastuvuudelle on veritulppa, joka muodostuu keuhkojen verisuoneen verihyutaleiden aktivaation ja keuhkojen verisuonten endoteelin tulehduksen stimuloinnin seurauksena (Jain et al., 2018).

Jain et al. (2018) tutkivat tulehduksen aiheuttaman keuhkojen verisuonitukoksen syntymistä uudella keuhkomallialustalla. Käytettyä keuhkomallialustaa oli muokattu huomattavasti alkuperäisestä. Alkuperäisessä keuhkomallialustassa alveolikanavan epiteelisolut oli eristetty keuhkojen kasvaimesta, mutta nyt ne korvattiin ihmisen primaarisilla epiteelisoluilla. Myös toista

kanavaa muokattiin vuoraamalla koko kanava ihmisen verisuonen endoteelisoluilla, jotta saatiin muodostettua putki, jonka läpi voitiin valuttaa verta elatusaineen sijaan. Näiden muokkausten ansiosta kanavaan voitiin syöttää verta ilman, että syntyi tukoksia. Samalla voitiin tarkkailla verisolujen ja endoteelisolujen välistä vuorovaikutusta. Kun endoteeliä stimuloitiin TNF- α :lla, joka on tulehduksellinen sytokiini, ennen kuin verta syötettiin kanavaan, tulehtunut endoteeli edisti nopeaa verihitaleiden kasaantumista ja tukoksen muodostumista. Näin tapahtuu myös tulehtuneissa hiussuonissa *in vivo*. Tällaisia tuloksia ei havaittu soluväliaineella päällystetyissä keuhkomallialustoissa, joita yleensä käytetään keuhkoveritulppien muodostumisen analysointiin *in vitro*. Kun tukoksen muodostumista testattiin lipopolysakkaridi (LPS) endotoksiinilla, havaittiin että se aktivoi sytokiini-kaskadin alveolin epiteelisoluissa. Tämä taas aktivoi endoteelisoluja, mikä edistää tukoksen muodostumista verisuonessa (Shrestha et al., 2020). Tulokset osoittivat, että epiteelisoluilla on merkittävä vaikutus tulehduksen aiheuttamassa verisuonitukoksessa LPS:n aikaansaaman ARDS:n aikana (Jain et al., 2018).

Verisuonitukosten eläinmallit epäonnistuvat mallintamaan ihmisen keuhkojen muuttunutta homeostaasia ja hemodynaamista monimutkaisuutta. Niillä ei myöskään voi erotella minkälainen vaikutus verihitaleiden ja endoteelin vuorovaikutuksella on tukoksen muodostumisessa verrattuna epiteelin ja endoteelin vuorovaikutukseen osuuteen (Shrestha et al., 2020).

2.3.4 Astma ja keuhkohtaumatauti (COPD)

Interleukiini-13:lla (IL-13) on keskeinen rooli astmassa. Sen on todettu olevan välttämätön ja riittävä aiheuttamaan eläinmalleissa kaikki astman ominaispiirteet. IL-13:lla on suora vaikutus ihmisen hengitysteiden epiteelisoluihin ja se osallistuu hengitysteiden tulehdukseen ja liman liikaeritykseen, kuten myös epiteelin alaiseen fibroosiin ja hengitysteiden liialliseen reagointiin. Aלהengitysteitä mallintavalle keuhkomallialustalle syötettiin IL-13:a, jolloin havaittiin selkeää pikarisolujen määrän kasvua, sytokiiniinien G-CSF ja GM-CSF tuotannon ja erityksen kasvua sekä värekarvasolujen liikefrekvenssin pienenemistä. Samanlaisia havaintoja on tehty astmaa sairastavien hengitysteiden limakalvoilla. (Benam et al., 2016).

Viruksen aiheuttama limakalvon tulehdus ja sen paheneminen ovat tärkeitä tekijöitä niin astmassa kuin COPD:ssä. Keuhkomallialustan epiteelisolukkoa altistettiin virusta jäljittelevälle polyinosiinin-polysytydylihapolle (Poly I:C). Tämä johti tulehdusreaktioon, johon liittyi

sytokiinien liiallista erittymistä sekä niiden kertymistä hengitystieviruksille infektoituneisiin keuhkoihin (Benam et al., 2016).

Mallinnettaessa COPD:tä keuhkomallialustalla, Benam et al. (2016) stimuloivat terveeltä potilaalta sekä COPD:tä sairastavalta potilaalta saatuja alahengitystien epiteelisoluja lipopolysakkaridi endotoksiinilla tai Poly I:C:llä. Tällöin COPD mallissa havaittiin suurempaa sytokiinien M-CSF:n ja interleukiini-8:n (IL-8) eritystä kuin terveitä soluja sisältävässä mallissa. M-CSF:n suurentuneet tasot voivat osittain selittää makrofagien kerääntymisen, jota havaitaan COPD:tä sairastavien potilaiden keuhkoissa. Poly I:C aiheutti IP-10 ja RANTES sytokiinien erityksen lisääntymisen niin terveissä kuin COPD mallin soluissa, mikä osoittaa, että IP-10 on erinomainen kliininen merkkiaine akuutin viruksen aiheuttaman COPD:n pahenemisen havaitsemisessa (Benam et al., 2016). M-CSF edistää makrofagien selviytymistä sekä erilaistumista, kun taas IL-8 houkuttelee neutrofiilejä. Makrofagit ja neutrofiilit ovat COPD potilailla ensisijaisia immuunisoluja. Poly I:C:n aikaansaama M-CSF:n erityksen kasvu osoittaa, että M-CSF voisi olla uusi merkkiaine COPD potilaiden akuutin viruksen aiheuttaman pahenemisen havaitsemisessa (Shrestha et al., 2020).

3 SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 on eläimestä ihmiseen tarttunut virus, joka aiheuttaa COVID-19 sairauden. SARS-CoV-2 on seitsemäs koronavirus, joka on tarttunut ihmiseen. Viisi niistä aiheuttaa lieviä flunssan oireita, kun taas SARS-CoV ja MERS-CoV voivat aiheuttaa myös vakavia tauteja, kuten keuhkokuumetta, jossa on korkea kuolleisuus. Vertailtaessa SARS-CoV:ta ja MERS-CoV:ta SARS-CoV-2:een, SARS-CoV-2 tarttuu helpommin ihmisestä toiseen, minkä vuoksi siitä on kehittynyt maailmanlaajuinen pandemia. *In vitro* -tutkimuksissa on havaittu, että SARS-CoV on virulentimpi replikaation ja soluvaurioiden näkökulmasta, mutta SARS-CoV-2 on ainutlaatuinen siltä osin, että se aiheuttaa endoteliittiä (Kiener et al., 2021). Viruksen leviämisen uskotaan tapahtuvan pääasiallisesti hengityselimistöstä peräisin olevien pisaroiden kautta, kun hengitetään, puhutaan, yskitään tai aivastetaan. Korkea riski tartunnalle on etenkin lähietäisyydellä. Virus tunkeutuu elimistöön hengitysteiden kautta sitoutumalla piikkiproteiinilla virukselle herkkien epiteelisolujen ACE2 reseptoreihin. Piikkiproteiineja muokataan proteolyttisesti esimerkiksi solun TMPRSS2:lla, mikä mahdollistaa viruksen vaipan yhdistymisen solukalvoon ja viruksen genomin vapauttamisen solun sisään. Virus lisääntyy ja leviää hengitysteihin ja alveoleihin (Heinen et al., 2021).

3.1 Ominaisuudet

Coronaviridae-heimoon kuuluvat koronavirukset ovat vaipallisia, yksijuosteisia RNA viruksia. SARS-CoV-2 on Beetakoronavirus sukuun kuuluva, erittäin patogeeninen virus (Harrison et al., 2020). Geneettisesti SARS-CoV-2 on 80 prosenttisesti identtinen SARS-CoV:n ja 50 prosenttisesti MERS-CoV:n kanssa (Tsang et al., 2021).

Viruspartikkelit koostuvat rakenteellisesti neljästä proteiinista: piikki (S), pieni vaippa (E), membraani (M) ja nukeokapsidi (N). Nämä glykoproteiinit osallistuvat isäntäsolun solureseptorien tunnistukseen, viruksen kokoamiseen ja ulos menoon, viruksen muokkaukseen ja virus-RNA:n kapseloimiseen. Lisäksi viruksessa on 16 ei-rakenteellista proteiinia sekä lajitelma muita proteiineja, jotka osallistuvat RNA:n replikointiin, prosessointiin ja selviytymiseen isäntäsolussa (Heinen et al., 2021).

3.2 COVID-19

Ensimmäinen COVID-19 tapaus havaittiin Wuhanissa, Kiinassa joulukuussa 2019 (Tsang et al., 2021). Maailman terveysjärjestö WHO julisti viruksen aiheuttaman pandemian joulukuussa 2020. Siitä lähtien terveysviranomaiset ovat yrittäneet löytää keinoja tartuntalukujen pienentämiseksi (Saygılı, 2021). Sairaalaan joutuneista potilaista neljäsosalle kehittyi vakavia komplikaatioita, jotka vaativat tehohoitoa kymmenen päivän ajan tai pitempään. Tämä aiheutti globaalin riskin terveydenhuoltojärjestelmän romahtamiselle (Kiener et al., 2021).

COVID-19 ilmenee ensin infektiona ylähengitysteissä. Vakavissa tapauksissa tauti etenee alahengitysteihin ja alveoleihin (Thacker et al., 2021). COVID-19 voi myös vakavissa tapauksissa aiheuttaa äkillisen hengitysvajausoireyhtymän (ARDS). Infektio keuhkoissa äkillisen hengitysvajausoireyhtymän aikana saa aikaan diffuusin alveolivaurion (DAD), jota joillain potilailla seuraa fibroottinen uudelleen muodostuminen (fibroottinen remodeling) ja jatkuva alentunut happipitoisuus (Kiener et al., 2021). Vakava sairauden eteneminen on joillain yksilöillä yhdistetty niin sanottuun sytokiinimyrskyyn, jonka nopea viruksen lisääntyminen ja hallitsematon tulehdus saavat aikaan (Heinen et al., 2021). Ruumiinavausraporteissa on havaittu useita keuhkojen hiusuonten tukoksia sekä todisteita viruksen läsnäolosta keuhkojen verisuonten soluissa. Nämä havainnot viittaavat siihen, että tulehdus ja muutokset keuhkojen hiusuonissa ovat keskeisessä roolissa COVID-19 taudin patogeneesissä. Löydöksiä tukevat myös *ante mortem*

-tutkimuksissa tehdyt havainnot endoteelisolujen vaurioista, mikrotukosten muodostumisesta ja verihiutaleiden kerääntymisestä (Thacker et al., 2021).

COVID-19 taudin kehittyminen voidaan jakaa kolmeen vaiheeseen. Infektion aikaisessa vaiheessa virus replikoituu ja oireet ovat lieviä. Virus tunkeutuu keuhkojen peruskudokseen ja alkaa lisääntyä solukalvolla. Toisessa vaiheessa keuhkojen adaptiivinen immunitetti aktivoituu ja hengitysoireet ovat vallitsevia. Tässä vaiheessa havaitaan kudosisvaurioita ja hengityksen vajaatoimintaa. Kolmas vaihe on hyperinflammatorinen vaihe, johon liittyy hyperinflammatorisia tiloja, kuten ARDS. Tässä vaiheessa havaitaan systeemistä tulehdusta ja vaurioita muissakin elimissä (Tsang et al., 2021).

4 SARS-CoV-2 keuhkomallialustalla

Useimmissa *in vitro* -tutkimuksissa on keskitytty ylähengitysteiden solujen yksinkertaisiin monokulttuureihin. Alveolaarisilla epiteelisoluilla tehdyissä tutkimuksissa SARS-CoV-2:n on osoitettu monistuvan huonosti keuhkojen adenokarsinoomasolulinjalla (A549) sekä primaarisilla alveolaarisilla epiteelisoluilla *ex vivo*. Toisin kuin lääketieteellisessä kirjallisuudessa kerrotaan, SARS-CoV-2:n ei myöskään ole havaittu pystyvän infektoimaan keuhkojen primaarisia hiussuonten endoteelisoluja (Thacker et al., 2021).

Keuhkomallialusta mahdollistaa solujen dynamiikan, tartunnan tropismin ja fysiologisten tekijöiden roolin tutkimisen natiiviolosuhteissa. Tämä on erityisen olennaista hengitysteiden tartuntataudeissa, sillä suoria kokeellisia havaintoja on haastava tehdä, koska alveolien pinta-ala on niin laaja. Keuhkomallialusta sopii SARS-CoV-2:n ihmisen alveolien patogeenisuuden tutkimiseen, koska siinä on verisuonikanava, jossa ylläpidetään virtausta ja infektiio voi tapahtua ilman ja nesteen rajapinnassa. Nämä kaksi keskeistä ominaisuutta puuttuvat organoidimalleista (Thacker et al., 2021).

Thacker *et al.* (2021) tutkivat SARS-CoV-2 infektiota keuhkomallialustalla. He havaitsivat, että infektiio muuttaa niiden tekijöiden ilmentymistä, joiden avulla virus pääsee solun sisään. ACE2 (angiotensiinikonvertaasi 2) on solukalvoreseptori, jonka kautta SARS-CoV-2 pääsee tunkeutumaan solun sisään (Cai et al., 2020). Neuropiliini 1 (NRP1) on integriinejä sitova proteiini, jota esiintyy erityisesti keuhkojen hiussuonten soluissa. Matala infektiokerroin aiheutti keuhkomallialustan alveolaarisissa epiteelisoluissa ACE2:n ekspression vähenemisen ja

endoteelisoluissa NRP1 reseptoreiden ekspression vähenemisen. Infektio taas lisäsi TMPRSS2 proteaasin ekspressiota, jota tarvitaan viruksen piikkiproteiinin pilkkomiseen, jotta virus voi tunkeutua solun sisään. Vaikka ACE2:n ekspressio ja infektiokerroin olivat alhaiset, SARS-CoV-2 infektio aiheutti fysiologisia muutoksia keuhkomallialustalla, mikä voi johtua NRP1:n korkeasta määrästä sekä lisääntyneestä TMPRSS2:sta (Thacker et al., 2021).

Thacker et al. (2021) mukaan alveolaaritalan infektiolle on ominaista tarttuminen endoteelikerrokseen, tuottavan infektion puute sekä hidas solunsisäinen replikaatio. Heidän tutkimuksessaan, alveolaarisen epiteelisolukerroksen infektio ei johtanut suureen virionien määrän lisääntymiseen, mutta mikroskopialla havaittiin pieni määrä alveolaarisia epiteelisoluja, joissa oli korkea määrä piikkiproteiinia tai viruksen genomista RNA:ta. Solunsisäisen virus-RNA taakka määritettiin apikaalisen ja vaskulaarisen kanavan soluista, joista saatiin selville, että virustranskriptioita oli merkittävä määrä niin alveolaarisissa epiteelisoluissa kuin endoteelisoluissa. Myös qRT-PCR testi osoitti, että molemmissa solukerroksissa on viruksen perimää. Tämä voi johtua alveolaaristen epiteelisolujen infektion luonteesta tai yleisemmin solujen infektiosta, jossa tuottava infektio on epätavallinen. Sen mukaan nopea leviäminen alveolaarisesta epiteelikerroksesta endoteelikerrokseen tapahtuu basolateraalisen siirtymisen kautta.

SARS-CoV-2 infektio muutti keuhkomallialustan solujen morfologiaa kahdella merkittävällä tavalla vaskulaarikanavassa. Mitä korkeammaksi virustaakkaa mallissa nostettiin, sitä enemmän muutoksia havaittiin endoteelisoluissa. Ensimmäiseksi, infektoidut endoteelisolut menettivät solujen väliset tiiviit liitokset, mikä osoittaa, että verisuonten läpäisevyys nousee ja voi johtaa alveolien vaurioihin. Tällaisia vaurioita on havaittu ruumiinavausraporteissa. Altistunut kollageenikerros subendoteelissä sai todennäköisesti aikaan kosketusaktivoinnin tai luontaisen hyytymisreitin, johon liittyi myös hyytymistä edistävät muutokset ulkopuolisella reitillä. Muutokset ovat osittain linjassa COVID-19 potilailta saatujen raporttien kanssa, joissa kerrotaan hyytymistekijöiden ilmentymisen muuttumisesta. Toinen havaittu muutos oli endoteelisolujen CD31:n ekspression menetys ja muuttuneen morfologian omaksuminen, joka koostuu solurykelmistä. Solurykelmien muodostumisen voi aiheuttaa solujen uudelleen ryhmittäminen (migration) tai solujen tehostunut lisääntyminen. CD31:n ekspression menetyksellä voi olla monia seurauksia, koska CD31 vaikuttaa leukosyyttien leviämiseen, tukosten ehkäisemiseen, verisuonten kehittymiseen sekä endoteelisolujen kuoleman ehkäisemiseen soluvälitteisessä tulehduksessa. Pienentynyt CD31:n ekspressio aiheuttaa todennäköisesti myös muutoksia

endoteelisolujen vuorovaikutuksessa neutrofiilien ja verihiutaleiden kanssa, jotka myös ekspressoivat CD31:tä. Tämä mahdollisesti edistää COVID-19 potilailla raportoituja neutrofiilien solunulkoisten loukkujen muodostumista sekä verisolujen hyperaktiivisuutta. Alveolaarikanavan epiteelisoluissa taas ei tapahtunut merkittäviä muutoksia, ainoastaan joitain merkkejä solukuolemasta havaittiin. Tuloksia verrattiin kumpienkin solujen monokulttuureihin ja havaittiin, että ne säilyttivät morfologiansa sekä konfluenssinsa. Tulokset viittaavat siihen, että paikalla, jossa virus pääsee kontaktiin solujen kanssa (apikaalinen vai basolateraalinen), voi olla merkitystä. Tällainen fysiologinen tekijä voidaan toistaa keuhkomallialustassa, mutta ei yksinkertaisemmissa malleissa.

Keuhkomallialustan avulla voitiin myös tarkkailla SARS-CoV-2:n aiheuttamaa sytokiinien eritystä. Useat tulehdusta edistävät vasteet, jotka liittyvät NF- κ B:hen nousivat, kun taas antiviralinen IFN vasteet vaimenivat. Infektoidut endoteelisolut erittivät interleukiini-6:a (IL-6) myös immuunisolujen puuttuessa. SARS-CoV-2-välitteinen soluvaurio tapahtuu ilman sytokiinimyrskyä.

Havaittu IL-6:n signaaloinnin aktivointi antoi ymmärtää, että trans-IL-6 signaali voisi olla mahdollinen kohde verisuonten tulehduksen lievittämiseksi. Useissa kliinisissä kokeissa on testattu COVID-19 taudin hoitoon tosilitsumabia, joka on anti-IL-6R vasta-aine. Keuhkomallialustalla tosilitsumabi ei poistanut IL-6:n erittymistä, mutta endoteelisolujen konfluenssi oli säilynyt paremmin niillä alustoilla, joihin lääkettä oli laitettu. Vasta-aine ei kuitenkaan estänyt endoteelisoluklustereiden muodostumista. IL-6:n inhibointi tosilitsumabilla voisi siis lievittää joitakin verisuonivaurioita, mutta ei kaikkia. Nämä havainnot auttavat ymmärtämään, miksi kliinisissä kokeissa tulokset lääkkeellä ovat olleet vaatimattomia tai joskus ristiriitaisia. Tosilitsumabin tehosta kuolleisuuden vähentämisessä ei ole myöskään riittävästi näyttöä. Keuhkomallialustan hyödyllisyyttä korostaa, että näiden tietojen valossa sillä voidaan tehdä kliinisesti testattavia ennustuksia (Thacker et al., 2021).

Zhang et al. (2020) tutkivat remdesiviriä SARS-CoV-2:n hoitomuotona. Lääkettä lisättiin keuhkomallialustan vaskulaarikanavaan ja havaittiin, että se pystyi palauttamaan jossain määrin sekä epiteeli- että endoteelikerroksen vaurioita. Tulokset indikoivat, että remdesivirillä voi olla merkitystä SARS-CoV-2:n replikaation ehkäisemisessä sekä viruksen aiheuttaman alveoli-kapillaari rajapinnan vaurioiden lievittämisessä (Zhang et al., 2020).

SARS-CoV-2:sta mallintavat eläinmallit eivät pysty mallintamaan kaikkia COVID-19 taudin ihmisillä aiheuttamia oireita tai ne johtavat liioiteltuihin tuloksiin. Keuhkomallialusta voikin toimia ikään kuin välimallina eläinmallien ja kliinisten kokeiden välissä. Keuhkomallialustan käytössä on selkeitä rajoitteita, joita ovat muun muassa synnynnäisen immunitietin yhteensovittaminen sekä adaptiivisen immunitietin puuttuminen. Myös muita täydelliseen verisuonten toimintaan tarpeellisia solutyyppejä, kuten fibroblasteja ja perisyyttejä ei keuhkomallialustalle ole vielä saatu. Se kuitenkin tarjoaa alustan, jonka kompleksisuutta voidaan muokata tarpeiden mukaan (Thacker et al., 2021).

5 Lääkekehitys kudosomalialustoilla

Uusien lääkeaineiden kehitys on rahaa ja aikaa vievää. Jotta kustannuksia saataisiin laskettua, uusille prekliinisille, ihmisen kudosten ja elinten vasteita ennustavalle lääkkeiden testausmalleille on tarvetta. Vaikka edistystä on tapahtunut ja lääkekandidaatteja seulotaan perinteisillä solukulttuureilla, tietokonemalleilla, eläinmalleilla ja humanisoiduilla eläimillä, kyvyssä ennustaa lääkevasteita potilasryhmissä on edelleen haasteita. Alle 10 % lääkkeiden kliinisistä tutkimuksista etenee vaiheesta yksi vaiheeseen neljä. Suuri epäonnistumisaste voi johtua ihmisen ja eläinten kehityseroista, mikä johtaa ihmisen kudosten ja elimien suurempaan biologiseen ja rakenteelliseen monimutkaisuuteen. Lajien välisiä eroja voidaan vähentää käyttämällä geneettisesti muunneltuja eläimiä, jotta voidaan saavuttaa kliinisesti relevantimpia malleja.

Lääkkeiden kehitystä vaikeuttaa muun muassa yksilöiden geneettiset eroavaisuudet, joiden huomioiminen kehitystyössä on melko uusi ilmiö. Epigeneettiset ja ympäristön vaikutukset potilaan hoitovasteeseen voivat olla valtavat, mutta silti niitä ei ole juurikaan tutkittu. Monimutkaisuutta lisää lääkeaineiden yhteisvaikutukset, joita ei yleensä oteta uusien lääkkeiden kehitysvaiheessa huomioon, vaan niitä mietitään vasta, kun potilaalla huomataan haittavaikutuksia.

Kudosomalialustat hyödyntävät tekniikoita, joiden on todettu tarjoavan vakautta ja joustavuutta lääkkeiden kehitykseen ja seulontaan. Viime vuosina on erityisesti tutkittu personalisoitujen kudosis- ja elinmallien kehitystä, joissa hyödynnetään ihmisen pluripotentteja kantasoluja. Kudosomalialustoja, joissa on yhdistetty useita elinmallialustoja, osoittavat suurta potentiaalia paremmalle lääkkeiden tehokkuuden ja turvallisuuden ennustamiselle, koska ne tarjoavat pitkälle kehittynyttä mallinnusta metaboliasta, absorptiosta, erityksestä, leviämisestä sekä

myrkyllisyydestä. Personalisoitua kudosta tai tautimalleja voidaan rakentaa käyttämällä potilaalta saatuja pluripotentteja kantasoluja, jotka ovat peräisin ihokudoksesta tai ne on kerätty suoraan patogeenisina soluina. Tällaiset kudostallialustat, jotka matkivat ihmisen fysiologiaa räätälöitynä tietyille potilasryhmälle tai yksilölle, tarjoavat hyödyllisen työkalun yksilöityjen lääkkeiden testaamiseen. Ihmisen pluripotenttien kantasolujen rajoittamaton mahdollisuus uudistua ja erilaistua pääsolutyypeiksi useiden kudostyyppien luomiseksi mahdollistavat kudostallialustojen käytön lääkkeiden vuorovaikutusten havainnoimiseen useiden elinten systeemeissä (Jodat et al., 2019).

6 Kirjallisuusviitteet

- Benam, K. H., Villenave, R., Lucchesi, C., Varone, A., Hubeau, C., Lee, H. H., Alves, S. E., Salmon, M., Ferrante, T. C., Weaver, J. C., Bahinski, A., Hamilton, G. A., & Ingber, D. E. (2016). Small airway-on-a-chip enables analysis of human lung inflammation and drug responses in vitro. *Nature Methods*, *13*(2), 151–157. <https://doi.org/10.1038/NMETH.3697>
- Bennet, T. J., Randhawa, A., Hua, J., Cheung, K. C., Bennet, T. J. ;, Randhawa, A. ;, Hua, J. ;, Cheung, K. C., Hackett, T.-L., & Osei, E. T. (2021). *Airway-On-A-Chip: Designs and Applications for Lung Repair and Disease*. <https://doi.org/10.3390/cells10071602>
- Cai, G., Bossé, Y., Xiao, F., Kheradmand, F., & Amos, C. I. (2020). Tobacco Smoking Increases the Lung Gene Expression of ACE2, the Receptor of SARS-CoV-2. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *201*(12), 1557–1559. <https://doi.org/10.1164/RCCM.202003-0693LE>
- Cloutier M. (2018). *Respiratory Physiology* (Second). [Viitattu 11.3.2022] [Saatavilla: <https://www-clinicalkey-com.pc124152.oulu.fi:9443/student/content/book/3-s2.0-B9780323595780000014>].
- Cui, X., Chen, W., Zhou, H., Gong, Y., Zhu, B., Lv, X., Guo, H., Duan, J., Zhou, J., Marcon, E., & Ma, H. (2021). Pulmonary Edema in COVID-19 Patients: Mechanisms and Treatment Potential. *Frontiers in Pharmacology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.664349>
- Elias-Kirma, S., Artzy-Schnirman, A., Das, P., Heller-Algazi, M., Korin, N., & Sznitman, J. (2020). In situ-Like Aerosol Inhalation Exposure for Cytotoxicity Assessment Using Airway-on-Chips Platforms. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00091>

- Harrison, A. G., Lin, T., & Wang, P. (2020). Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends in Immunology*, *41*(12), 1100–1115. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2020.10.004>
- Hassell, B. A., Goyal, G., Lee, E., Sontheimer-Phelps, A., Levy, O., Chen, C. S., & Ingber, D. E. (2017). Human Organ Chip Models Recapitulate Orthotopic Lung Cancer Growth, Therapeutic Responses, and Tumor Dormancy In Vitro. *Cell Reports*, *21*(2), 508–516. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2017.09.043>
- Heinen, N., Klöhn, M., Steinmann, E., & Pfaender, S. (2021). In vitro lung models and their application to study sars-cov-2 pathogenesis and disease. *Viruses*, *13*(5). <https://doi.org/10.3390/V13050792>
- Huh, D., Leslie, D. C., Matthews, B. D., Fraser, J. P., Jurek, S., Hamilton, G. A., Thorneloe, K. S., McAlexander, M. A., & Ingber, D. E. (2012). A human disease model of drug toxicity-induced pulmonary edema in a lung-on-a-chip microdevice. *Science Translational Medicine*, *4*(159). <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.3004249>
- Huh, D., Matthews, B. D., Mammoto, A., Montoya-Zavala, M., Yuan Hsin, H., & Ingber, D. E. (2010). Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science (New York, N.Y.)*, *328*(5986), 1662–1668. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1188302>
- Jain, A., Barrile, R., van der Meer, A. D., Mammoto, A., Mammoto, T., de Ceunynck, K., Aisiku, O., Otieno, M. A., Loudon, C. S., Hamilton, G. A., Flaumenhaft, R., & Ingber, D. E. (2018). Primary Human Lung Alveolus-on-a-chip Model of Intravascular Thrombosis for Assessment of Therapeutics. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, *103*(2), 332–340. <https://doi.org/10.1002/CPT.742>
- Jodat, Y. A., Kang, M. G., Kiaee, K., Kim, G. J., Martinez, A. F. H., Rosenkranz, A., Bae, H., & Shin, S. R. (2019). Human-Derived Organ-on-a-Chip for Personalized Drug Development. *Current Pharmaceutical Design*, *24*(45), 5471–5486. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190308150055>
- Kiener, M., Roldan, N., Machahua, C., Sengupta, A., Geiser, T., Guenat, O. T., Funke-Chambour, M., Hobi, N., & Kruithof-de Julio, M. (2021). Human-Based Advanced in vitro Approaches to Investigate Lung Fibrosis and Pulmonary Effects of COVID-19. *Frontiers in Medicine*, *8*. <https://doi.org/10.3389/FMED.2021.644678>
- Rothbauer, M., Bachmann, B. E. M., Eilenberger, C., Kratz, S. R. A., Spitz, S., Höll, G., & Ertl, P. (2021). A decade of organs-on-a-chip emulating human physiology at the microscale: A critical status report on progress in toxicology and pharmacology. In *Micromachines* (Vol. 12, Issue 5). <https://doi.org/10.3390/mi12050470>

- Saygili, E., Yildiz-Ozturk, E., Green, M. J., Ghaemmaghami, A. M., & Yesil-Celiktas, O. (2021). Human lung-on-chips: Advanced systems for respiratory virus models and assessment of immune response. *Biomicrofluidics*, *15*(2). <https://doi.org/10.1063/5.0038924>
- Saygili, A. (2021). A new approach for computer-aided detection of coronavirus (COVID-19) from CT and X-ray images using machine learning methods. *Applied Soft Computing*, *105*. <https://doi.org/10.1016/J.ASOC.2021.107323>
- Shrestha, J., Razavi Bazaz, S., Aboulkheyr Es, H., Yaghobian Azari, D., Thierry, B., Ebrahimi Warkiani, M., & Ghadiri, M. (2020). Lung-on-a-chip: the future of respiratory disease models and pharmacological studies. *Critical Reviews in Biotechnology*, *40*(2), 213–230. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1710458>
- Thacker, V. v, Sharma, K., Dhar, N., Mancini, G., Sordet-Dessimoz, J., & McKinney, J. D. (2021). Rapid endotheliitis and vascular damage characterize SARS-CoV-2 infection in a human lung-on-chip model. *EMBO Reports*, *22*(6). <https://doi.org/10.15252/EMBR.202152744>
- Troy, N. M., & Bosco, A. (n.d.). *Respiratory viral infections and host responses; insights from genomics*. <https://doi.org/10.1186/s12931-016-0474-9>
- Tsang, H. F., Chan, L. W. C., Cho, W. C. S., Yu, A. C. S., Yim, A. K. Y., Chan, A. K. C., Ng, L. P. W., Wong, Y. K. E., Pei, X. M., Li, M. J. W., & Wong, S. C. C. (2021). An update on COVID-19 pandemic: the epidemiology, pathogenesis, prevention and treatment strategies. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, *19*(7), 877–888. <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1863146>
- Zhang, M., Wang, P., Luo, R., Wang, Y., Li, Z., Guo, Y., Yao, Y., Li, M., Tao, T., Chen, W., Han, J., Liu, H., Cui, K., Zhang, X., Zheng, Y., & Qin, J. (2020). Biomimetic Human Disease Model of SARS-CoV-2 Induced Lung Injury and Immune Responses on Organ Chip System. *Advanced Science (Weinheim, Baden-Wuerttemberg, Germany)*, *8*(3). <https://doi.org/10.1002/ADVS.202002928>