

GLIOBLASTOMUL- MODEL MICROFLUIDIC CEREBRAL PENTRU STUDIAREA ACȚIUNII SUBSTANȚELOR ANTINEOPLAZICE ȘI MONITORIZAREA DIGITALĂ A ACESTUIA

Glioblastomul este cea mai frecventă tumoră cerebrală malignă ce prezintă anumite caracteristici histopatologice precum necroza și proliferarea endotelială (1). Acest tip de tumoră provine din celule stem (celule progenitoare), iar aproximativ 90% sunt tumori de tip *wild type* pentru izocitrat dehidrogenază (IDH) (2). Glioblastoamele sunt de două tipuri: primare și secundare, și diferă din punct de vedere histologic prin profilurile lor genetice și epigenetice. Astfel, la glioblastomul secundar apar mutațiile IDH1, care sunt absente la cel primar, iar această modificare genetică este un marker molecular de diagnostic (3).

Ca și tratament se folosesc: intervenția chirurgicală, radioterapia și chimioterapia, dar în unele situații ce țin de localizarea tumorii, intervenția chirurgicală nu se poate realiza (4). În ciuda disponibilității terapiilor farmacologice care au rolul de a combate glioblastomul, prognosticul rămâne aproape universal fatal pentru pacienți, iar supraviețuirea medie globală este de 14 până la 20 de luni, în prezent neexistând terapii eficiente pentru acesta (5).

Principalul obstacol care trebuie trecut de moleculele antineoplazice administrate împotriva gliomelor maligne este bariera hematoencefalică (BHE). Aceasta reprezintă o barieră fizică formată din celule endoteliale specializate care sunt interconectate prin joncțiuni strânse multiproteice formate din claudine (claudin -1, -3 și -5), ocludine și molecule de adeziune joncțională (6). În strânsă asociere cu aceste celule endoteliale există astrocite, pericite și terminații neuronale, care, împreună formează unitatea neurovasculară cu rol în menținerea homeostaziei biochimice și fizice în creierul sănătos (7). Această barieră permite trecerea moleculelor mici (<500 Da și <400 nm) și lipofile care difuzează pasiv, iar alte molecule o traversează prin pinocitoză, transcitoză mediată de receptor sau purtător și mecanisme de proteină-purtător (8).

Integritatea barierei hematoencefalice și echilibrul homeostatic sunt susținute de transportorii care leagă ATP, cum ar fi MDR1, glicoproteina P și numeroase alte proteine rezistente la medicamente. Acești transportori mediază activ efluxul xenobioticelor din parenchimul creierului (5).

În vederea îmbunătățirii abordărilor terapeutice farmacologice există o preocupare intensă pentru dezvoltarea unor sisteme inteligente de *drug delivery* care livrează medicamente într-un mod controlat și țintit (9). Pentru a studia aceste sisteme de *drug delivery* cu potențial de penetrare a BHE este nevoie de reconstituirea *in vitro* a condițiilor și a micromediului fiziologic și tumoral *in vivo*. Acest lucru este posibil prin dezvoltarea unor sisteme de culturi tridimensionale (3D) ce mimează BHE și fluxul sanguin prin modelarea unui sistem microfluidic perfuzat care permite simularea unei microvasculaturi endoteliale formată din celule endoteliale microvasculare și a unui micro-țesut neuronal format din celule stem diferențiate.

În vederea unei bune modelări a acestui micromediu cerebral trebuie să fie luate în considerare anumite proprietăți de natură fizică precum forțele de forfecare, forțele de compresiune, rigiditatea substratului și contactul celulă-celulă. În modelele microfluidice Brain-on-a-chip (BoC) forțele de forfecare exercitate asupra celulelor endoteliale microvasculare ale creierului au rol în reglarea aderențelor și a proteinelor de joncțiune strânsă și modularea expresiei markerilor BHE. Rigiditatea substratului are un rol important în integritatea joncțiunii strânse și în adoptarea morfologiei tipice a astrocitelor și neuronilor. Contactul celulă-celulă are și el un rol crucial asupra BHE, fapt demonstrat de mai multe studii

științifice care au arătat că o co-cultură a celulelor endoteliale microvasculare ale creierului cu astrocitele și pericitele poate crește rezistența electrică trans-endotelială (10, 11).

Crearea unui sistem microfluidic, ca model al micromediului cerebral, ar fi foarte utilă în evidențierea modului de comportare al celulelor sub acțiunea substanțelor antineoplazice. Mai mult, acest model ar putea servi și pentru studierea penetrabilității medicamentelor prin BHE, ceea ce nu poate fi realizat folosind modele convenționale de cultură.

Dezvoltarea unui sistem microfluidic de tipul Brain-on-a-chip în care micromediul cerebral este recreat împreună cu microvasculatura endotelială, micro-țesutul nervos format din pericite, astrocite și microglia, BHE și celule modificate (celule de glioblastom) ar putea servi ca sursa de date imagistice pentru un soft de analiză și predicție antrenat prin algoritmi de inteligență artificială (IA). Monitorizarea sistemului microfluidic perfuzat cu ajutorul unor echipamente de *live imaging* ar putea furniza o serie de date imagistice și numerice ce ar putea fi ulterior analizate și interpretate printr-o aplicație IA care ar putea oferi predicții cu privire la comportamentul celulelor, eficacitatea tratamentului, etc.

În concluzie, modelarea *in vitro* a micromediului cerebral ar putea aborda cu succes problema penetrabilității BHE de către compușii antineoplazici și astfel, ar putea avea un impact major predicția răspunsului la terapie sau chiar în descoperirea unor tratamente eficiente împotriva glioblastomului.

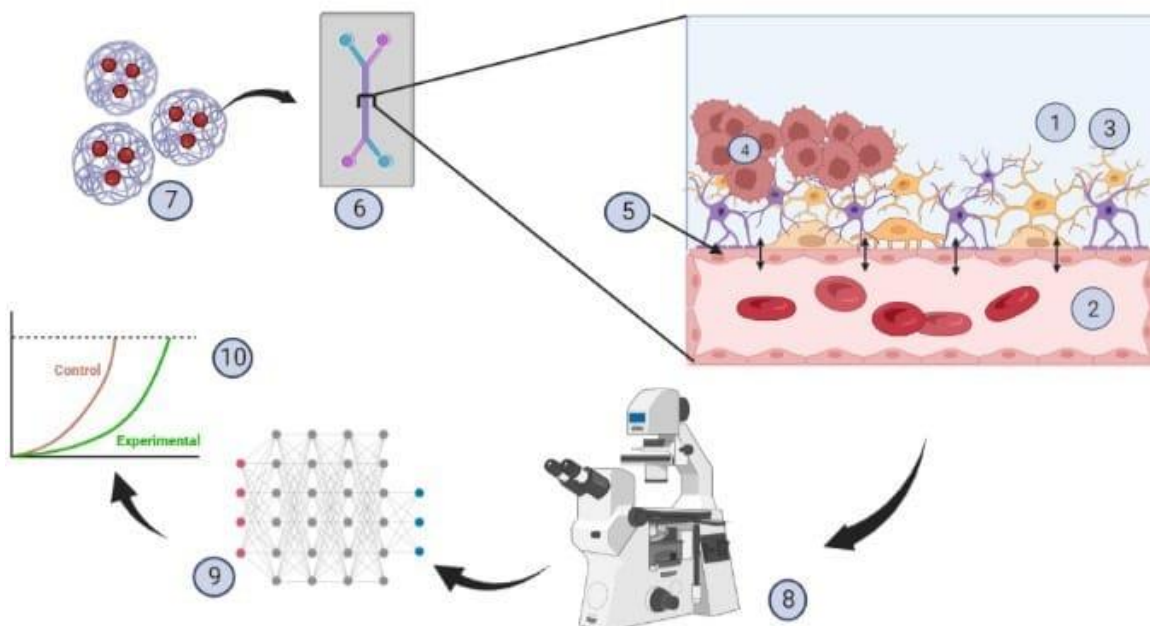


Figura 1: Micromediul cerebral. 1) Micro-țesut nervos, 2) Microvasculatura endotelială, 3) Cultură celulară de astrocite, pericite și microglia, 4) Celule de glioblastom, 5) Bariera hematoencefalică formată din celule endoteliale, astrocite și pericite, 6) Sistem microfluidic, 7) Nanoparticule cu medicament, 8) Microscop optic, 9) Inteligență artificială- soft de analiză de date, 10) Interpretarea grafică a datelor imagistice și numerice

Referințe bibliografice

1. H. G. Wirsching, E. Galanis, M. Weller. Glioblastoma. *Handb Clin Neurol*. 2016;134:381-97. doi: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00023-2.
2. E. L. Rhun, M. Preusser, P. Roth, et al. Molecular targeted therapy of glioblastoma. *Cancer Treat Rev*. 2019 Nov;80:101896. doi: 10.1016/j.ctrv.2019.101896. Epub 2019 Sep 11.
3. H. Ohgaki, P. Kleihues. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin Cancer Res*. 2013 Feb 15;19(4):764-72. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3002. Epub 2012 Dec 3.
4. H. Duffau. Glioblastoma in 2017. *Rev Infirm*. 2017 Feb;66(228):16-18. doi: 10.1016/j.revinf.2016.12.002.
5. A. Ou, W K A. Yung, N. Majd. Molecular Mechanisms of Treatment Resistance in Glioblastoma. *Int J Mol Sci*. 2020 Dec 31;22(1):351. doi: 10.3390/ijms22010351.
6. P. Ballabh, A. Braun, M. Nedergaard. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol Dis*. 2004 Jun;16(1):1-13. doi: 10.1016/j.nbd.2003.12.016.
7. R. Daneman, A. Prat. The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015 Jan 5;7(1):a020412. doi: 10.1101/cshperspect.a020412.
8. J. R. Pappenheimer, E. M. Renkin, and L. M. Borrero. Filtration, Diffusion and Molecular Sieving Through Peripheral Capillary Membranes; a contribution to the pore theory of capillary permeability. *Am. J. Physiol. Content*. 30 SEP 1951<https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1951.167.1.13>
9. G. Unsoy, U. Gunduz. Smart Drug Delivery Systems in Cancer Therapy. *Curr Drug Targets*. 2018 Feb 8;19(3):202-212. doi: 10.2174/1389450117666160401124624.
10. T. Cameron, T. Bennet, E. M. Rowe, et al. Review of Design Considerations for Brain-on-a-Chip Models. *Micromachines* 2021, 12(4), 441; <https://doi.org/10.3390/mi12040441>
11. S. G. Canfield, M. J. Stebbins, M. G. Faubion, et al. An isogenic neurovascular unit model comprised of human induced pluripotent stem cell-derived brain microvascular endothelial cells, pericytes, astrocytes, and neurons. *Fluids and Barriers of the CNS* 2019. volume 16. Article number: 25. DOI: [10.1186/s12987-019-0145-6](https://doi.org/10.1186/s12987-019-0145-6)