

Body on a chip

*Sabrina Rotundo
Carolina Giustinoni
Nicole Guazzelli
Simona Moro
Paola Scarpino
Elisa Valenti*

Cosa sono gli «organ on a chip»

- Un organ-on-chip (OOC) è un « chip multifluidico tridimensionale per colture cellulari 3-D che simula le attività biochimiche, la meccanica e la risposta fisiologica di interi organi o sistemi di organi, rappresentando pertanto un modello in vitro di organo artificiale».
- Il termine organ on a chip è stato coniato dall'americano Michael Shuler nel 1990, il quale realizzò il primo prototipo allo scopo di valutare i principi della farmacocinetica, riducendo i costi in ambito della sperimentazione farmaceutica.[1]
- Nel 2010, un gruppo americano del Wyss Institute of di Harvard realizza con successo il primo vero prototipo di “polmone-on-a-chip” che simulava un'edema polmonare.[2]

[1]. Human-on-a-chip design strategies and principles for physiologically based pharmacokinetics/pharmacodynamics modeling

[Hasan Erbil Abaci](#) and [Michael L. Shuler](#)^a

[2]. A human disease model of drug toxicity-induced pulmonary edema in a lung-on-a-chip microdevice., [Huh D1](#), [Leslie DC](#), [Matthews BD](#), [Fraser JP](#), [Jurek S](#), [Hamilton GA](#), [Thorneloe KS](#), [McAlexander MA](#), [Ingber DE](#).

Scopo

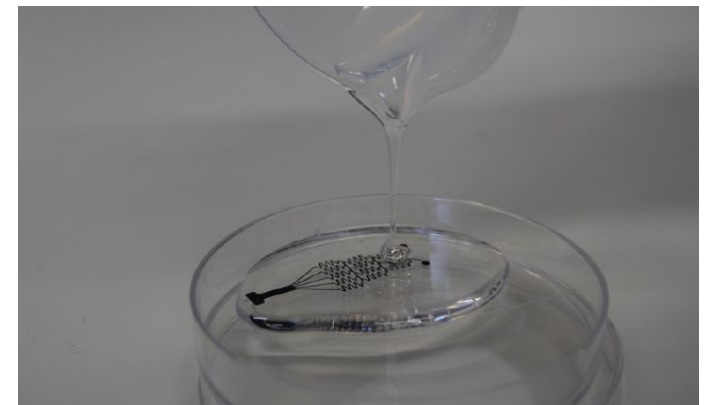
Integrare uno o più funzioni di un organo su un singolo chip, che gestisce il comportamento cellulare, riproducendo le proprietà strutturali, funzionali e meccaniche chiave dell'unità funzionale dell'organo riproducendo microambienti specializzati e opportunamente controllati.

Metodi di fabbricazione

- Soft lithography;
- Tecniche di 3D printing.

Materiale

PDMS: per le sue proprietà di trasparenza, bio-compatibilità e capacità di replicare fedelmente strutture micrometriche. Il dispositivo di PDMS viene poi posto su un vetrino o su una superficie di PDMS.



Vantaggi



- Ripetitività
- Variabilità
- Standardizzazione
- Customizzazione del dispositivo
- Riduzione dei costi
- Dimensione dispositivo

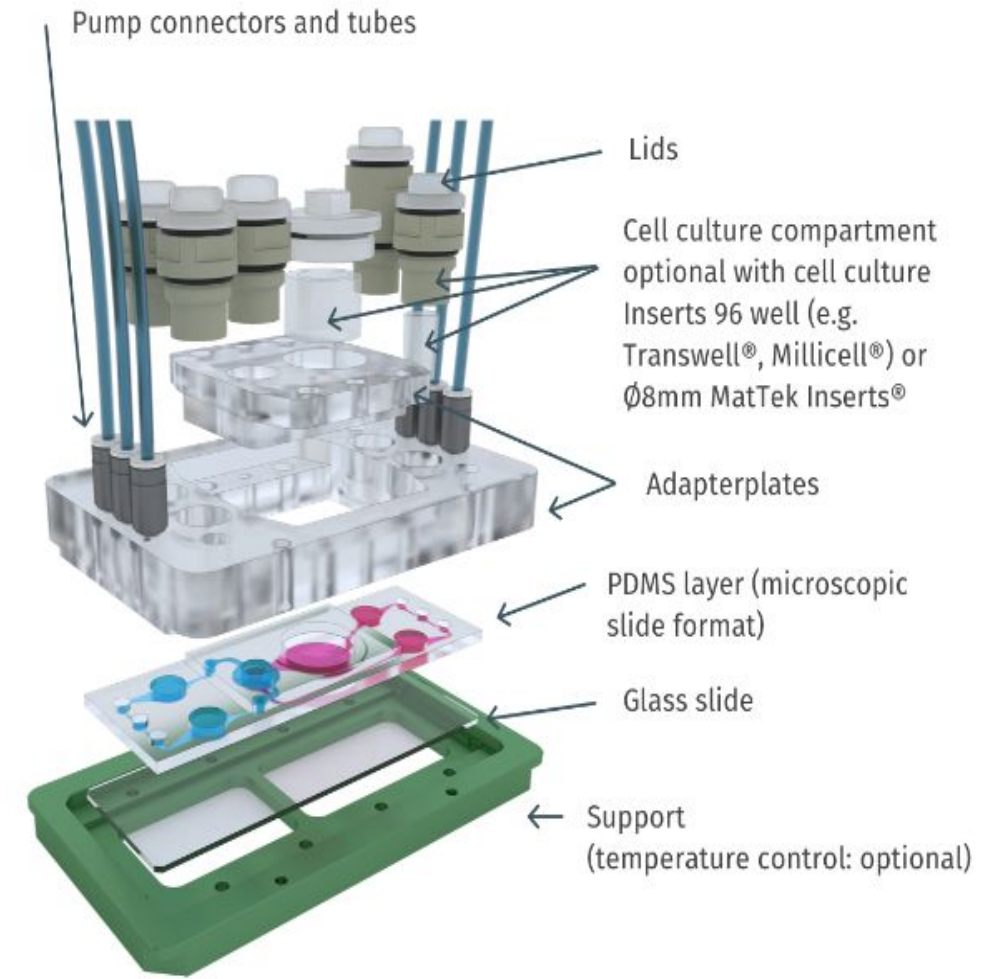
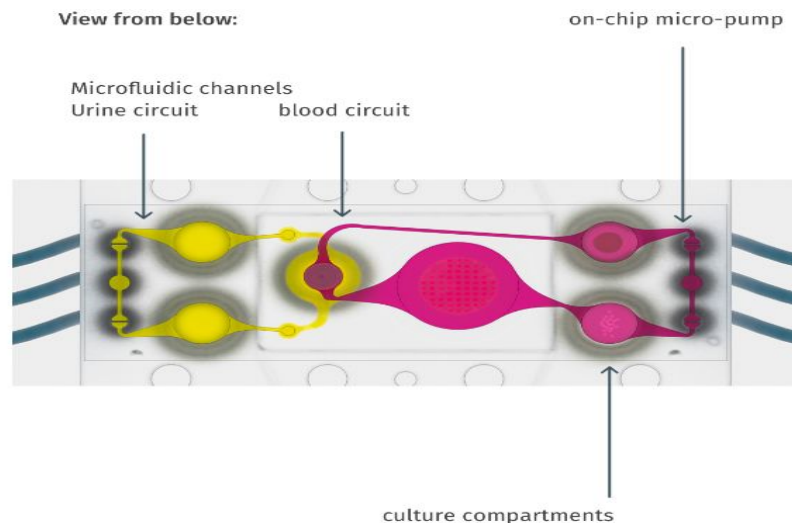
Svantaggi



- Difficile controllo delle funzioni cellulari
- Determinazione dei parametri iniziali di lavoro
- Competenza utente

Unità fondamentale chip

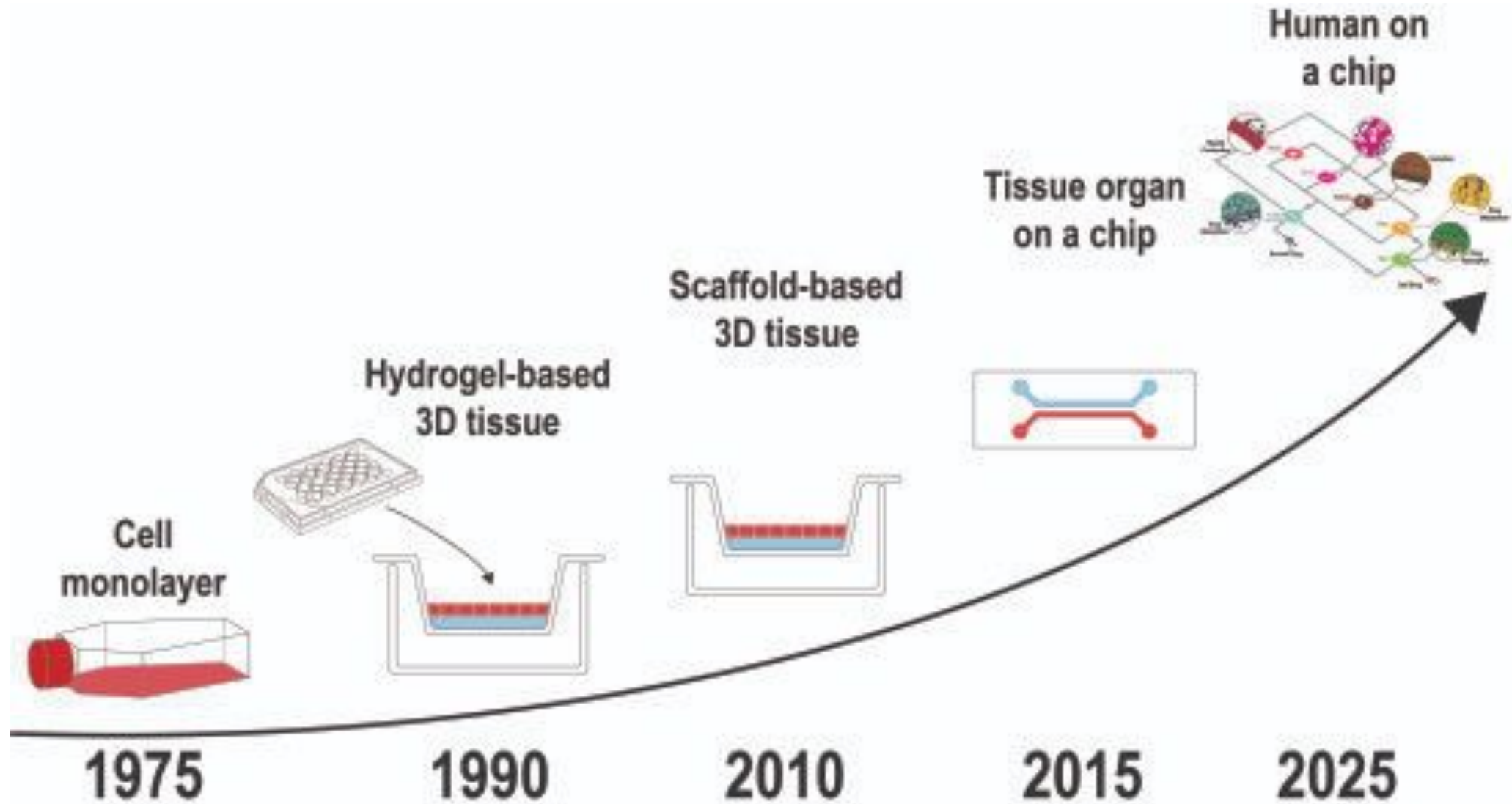
- Canali di connessione.
- Micro pompe pneumatiche con portata programmabile.
- Materiali biomimetici.
- Riproduzione di microarchitetture 3D di colture cellulari differenti.



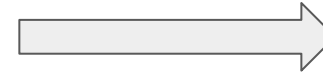
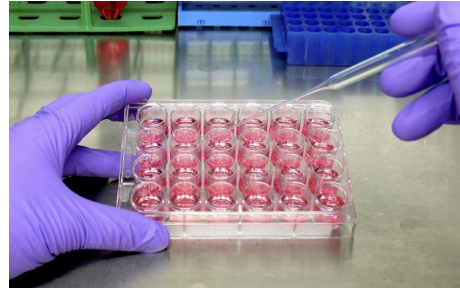
Esempio di dispositivo microfluidico.

Chip di PDMS su vetro di dimensioni (76x25x3 mm) che ospita un circuito di flusso sanguigno (in rosa) e un circuito di flusso di escrezione (blu).

Perché innovativi?



- 1. Superamento limiti di modelli 3d in vitro



Riescono ad imitare le proprietà cellulari di un organo sotto molti aspetti come:

- interfacce tessuto-tessuto;
- i gradienti spaziotemporali delle sostanze chimiche;
- i microambienti meccanicamente attivi.

L'applicazione della microfluidica e l'inserimento di sistemi di pompaggio a varie portate controllate negli organ-on-chip consente il trasporto e la distribuzione efficienti di sostanze nutritive e altri segnali solubili attraverso i costrutti vitali del tessuto 3D.

- 2. Permettono di riprodurre modelli del comportamento dei vari organi personalizzati sui singoli pazienti (customizzazione)

Questi sistemi permettono uno studio fisiopatologico ad hoc integrando sul chip specifiche cellule di un paziente, rendendo personalizzato lo studio di una terapia o patologia.

L'utilizzo di cellule specifiche ha un impatto significativo nello studio sui meccanismi della malattia, sulla tossicità dei composti e sull'efficacia dei prodotti farmaceutici, specialmente in particolari patologie che possono presentare dei meccanismi differenti in funzione al sesso, età e altre caratteristiche del paziente.

La ripetitività dei dispositivi permette ottenere dei risultati meno approssimativi e più specifici per un singolo paziente.

- 3. Studio del meccanismo di sintesi dei farmaci e della loro tossicità con test a dose ripetuta.

Gli organ on a chip sono sfruttati per lo studio della farmacocinetica, branca della farmacia che studia quantitativamente l'assorbimento, la distribuzione, il metabolismo e l'eliminazione (**ADME**) dei farmaci

Questa studia gli effetti dell'organismo sui farmaci allo scopo di determinare i processi che condizionano il raggiungimento ed il mantenimento di un'adeguata concentrazione dei farmaci nei vari compartimenti. Tale studio è possibile grazie alla capacità di tali chip di garantire un'autonomia di 28 giorni.

È possibile quindi effettuare test di tossicità a dose ripetuta e valutare lo stato dei vari sistemi anche successivamente il trattamento.



4. Potenziali sostituti della sperimentazione animale

Questi modelli supportano la strategia delle 3R, «*Reduction, Replacement, Refinement*», allo scopo di superare i limiti e la «crudeltà» della sperimentazione animale.

Scopo:

- realizzazione di una nuova piattaforma di test che permetta la sostituzione dell'uso degli animali nella ricerca.

Nel 2015, il team del professore Michael Shuler vince il premio “Lush Prize” presentando un modello animal free-testing, “Body on a chip”, per lo studio della risposta e dell'evoluzione ai farmaci dei vari organi.

Nel 2018, il tema della conferenza è stato proprio: “ *C'è una fine per i test sugli animali? Possono gli “organ on a chip sostituire l'uso dei test sugli animali usando approcci avanzati focalizzati sull'uomo?*”



Body-on-a-chip systems for animal-free toxicity testing [Mahler GJ1](#), [Esch MB2](#), [Stokol T3](#), [Hickman JJ4](#), [Shuler ML5](#).

Organi analizzati:



1. Polmone;
2. Fegato;
3. Intestino;
4. Rene





Lung on
a Chip

Lung on a chip

Al 2016, secondo statistiche dell'OMS, tra le prime dieci cause di mortalità al mondo quattro sono collegate a malattie dell'apparato respiratorio:

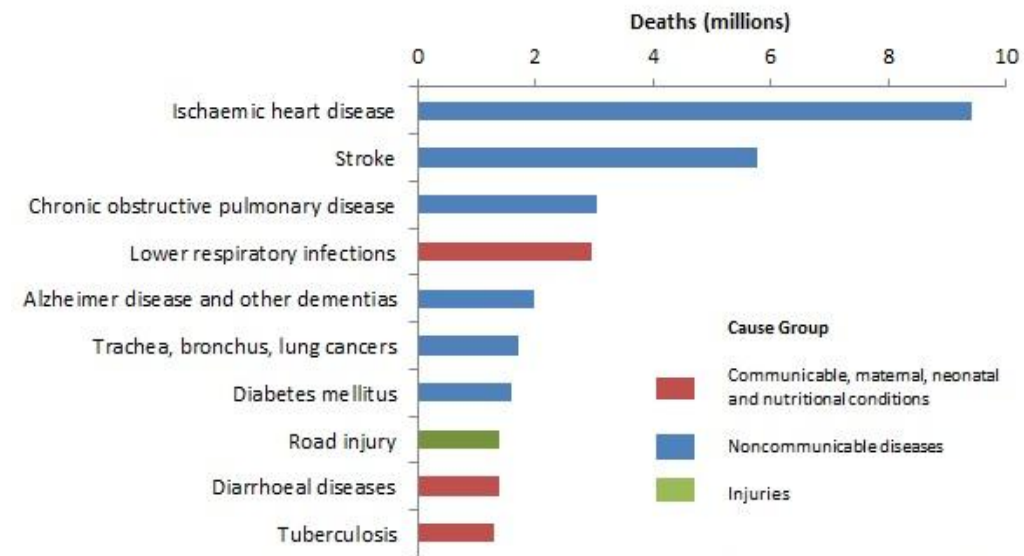
- broncopneumopatia cronica ostruttiva;
- infezioni delle basse vie respiratorie;
- tumori a trachea, bronchi e polmoni;
- tubercolosi

I modelli esistenti, animali e in vitro, hanno delle limitazioni.

Da ciò nasce la necessità di avere modelli più specifici dove ci possa essere un controllo sperimentale preciso a livello cellulare.

Per colmare la distanza tra condizioni in vivo (flusso di sangue che fornisce ossigeno e nutrienti, stimoli chimici e fisici) e condizioni in vitro (mancanza di funzioni fisiologiche, applicazione di composti avviene solo mediante diffusione) i ricercatori hanno applicato **dispositivi microfluidici ad applicazioni di coltura cellulare**, dando vita alla tecnologia **organ on a chip** che permette di replicare la funzione di un organo tramite approccio microfluidico.

Top 10 global causes of deaths, 2016

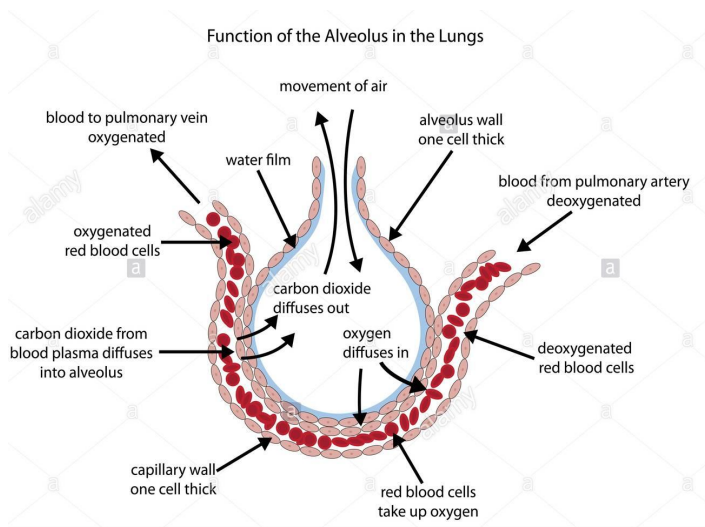


Source: Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva, World Health Organization; 2018.

I polmoni

Il **compito principale dei polmoni** è quello di **ricevere il sangue carico di anidride carbonica e prodotti di scarto** dalla circolazione periferica, **di ripulirlo e ossigenarlo**.

L'**unità più piccola** che replica le funzione del polmone è l'**alveolo**. Di particolare rilevanza è la **barriera alveolo-capillare**, sede degli scambi gassosi.



L'alveolo polmonare ha dunque la parete costituita da un epitelio sottile di rivestimento, l'epitelio alveolare, e da un sottostante strato di tessuto endoteliale vascolare appartenente ai capillari che lo circondano.

Lung on a chip

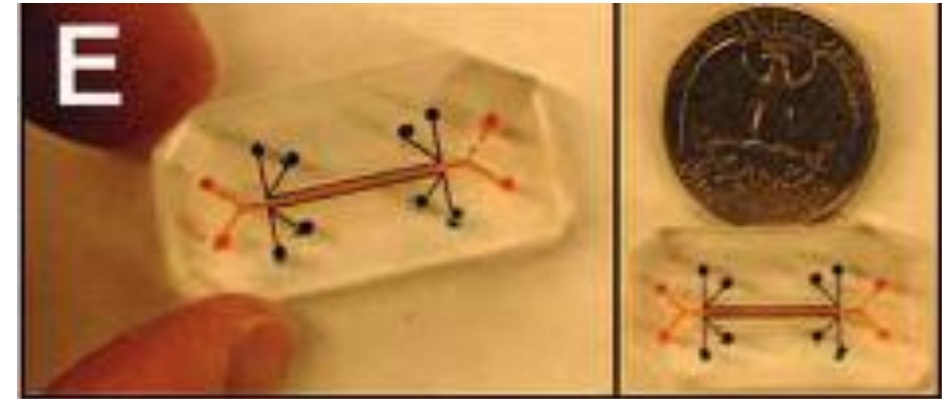
Il primo e più famoso tra gli organ on a chip è il polmone, meglio noto come “**Breathing Lung**”, sviluppato dal gruppo di ricerca di D. Ingber a Harvard.

Obiettivo del lung on a chip è quello di ricostruire:

- l'organizzazione strutturale,
- l'attività meccanica,
- la funzionalità fisiologica dell'interfaccia alveolo-capillare di un polmone umano;

Applicazioni:

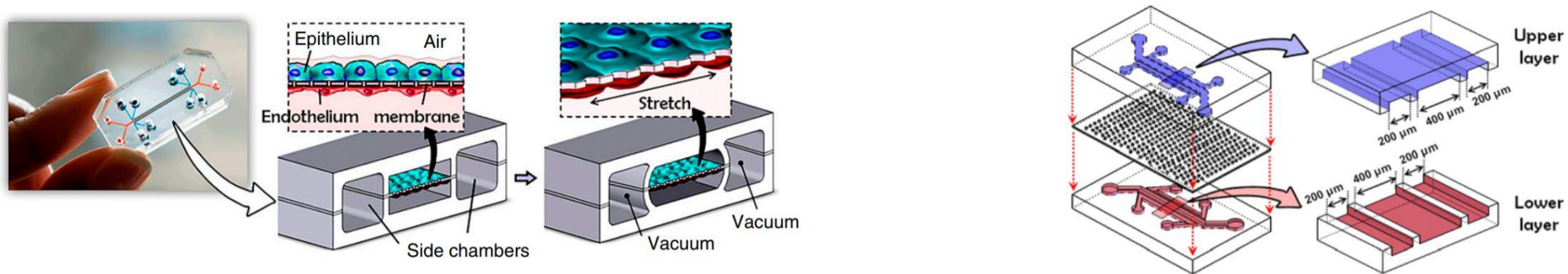
- testare nuovi farmaci
- valutazione dell'effetto di particelle inalate
- modelli patologici
- comprensione di processi fisiologici



In particolare è stato replicato il funzionamento della **barriera alveolo-capillare**, sede degli scambi gassosi.

Lung on a chip

Questo dispositivo ha una struttura a due strati, con canali separati da una membrana microporosa fatta di **PDMS** (polidimetilsilossano).

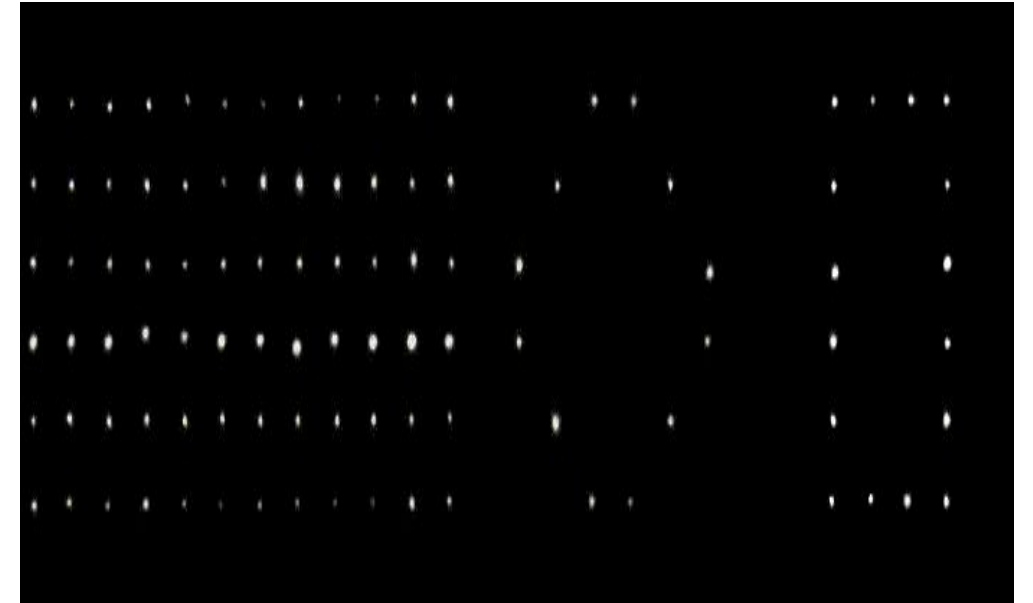
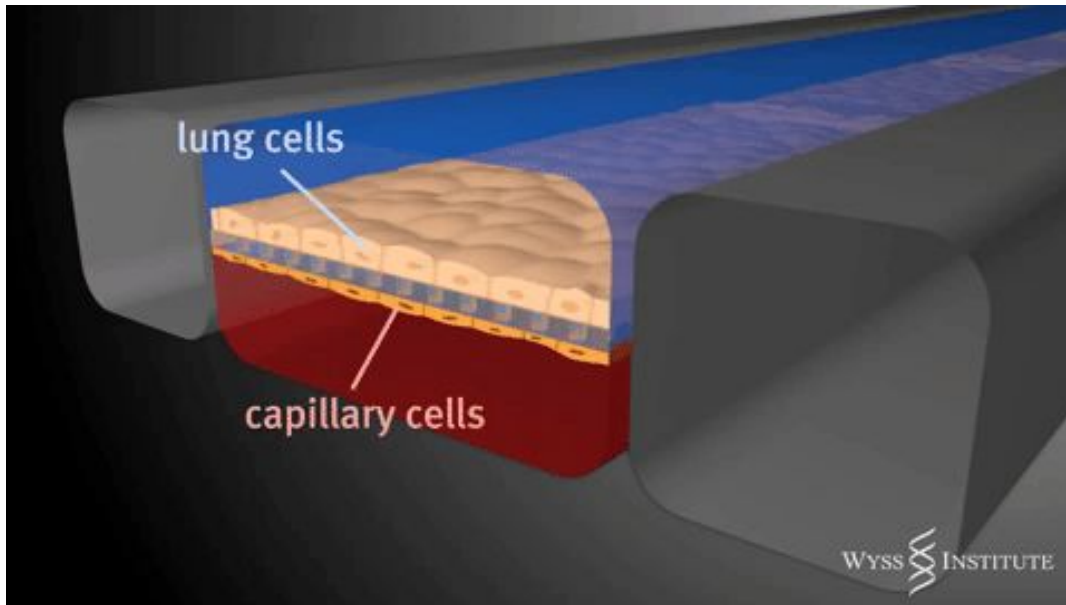


La **membrana** è stata **rivestita con ECM** (fibronectina o collagene). Nel compartimento superiore del canale di coltura sono state coltivate **cellule epiteliali alveolari** umane, mentre in quello inferiore **cellule endoteliali microvascolari polmonari**. Una volta che le cellule sono arrivate a confluenza, viene introdotta aria nel compartimento epiteliale per creare un'**interfaccia aria-liquido** che mimi il rivestimento dello spazio alveolare.

Lung on a chip

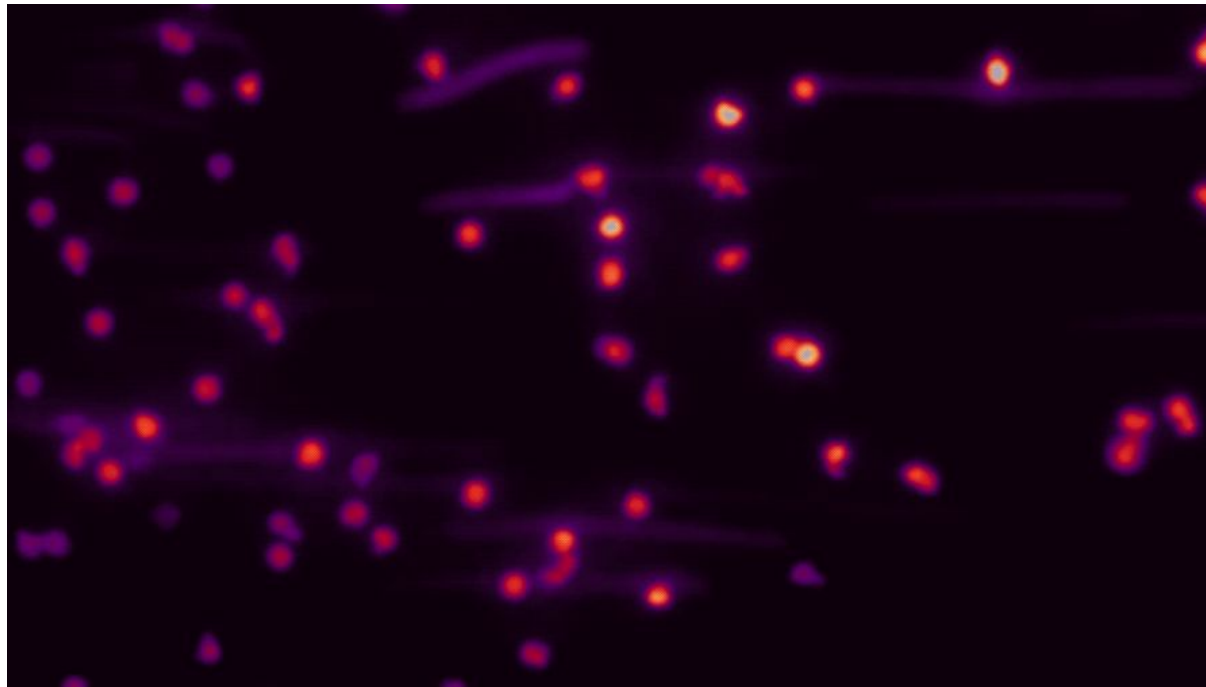
Durante l'inspirazione, la pressione intra-pleurale diminuisce, facendo espandere gli alveoli, in questo modo l'aria viene “tirata” dentro i polmoni, risultando in un allungamento dell'epitelio alveolare e dell'endotelio dei capillari adiacenti.

Quando viene **applicato il vuoto** a quest'ultime **si produce una deformazione elastica** nella parete sottile che separa i micro canali, contenenti cellule, dai lati della camera, questo provoca l'allungamento della membrana di PDMS e degli strati di tessuto circostanti. **Quando viene rilasciato il vuoto**, il ritorno elastico del PDMS provoca il **rilassamento della membrana e delle cellule aderenti** alla loro dimensione originale.



Lung on a chip

In particolare è stata **testata la risposta infiammatoria** a seguito dell'introduzione di un mezzo con un fattore pro-infiammazione come il $\text{TNF-}\alpha$ (tumor necrosis factor) nel canale alveolare in presenza di deformazione fisiologica. Facendo scorrere neutrofili nel canale vascolare, questi aderiscono all'endotelio, dopo di che **i neutrofili** si appiattiscono e **migrano** fino a che non trovano giunzioni cellulari e transmigrano attraverso i pori della membrana, questo è il comportamento che si ottiene in vivo.



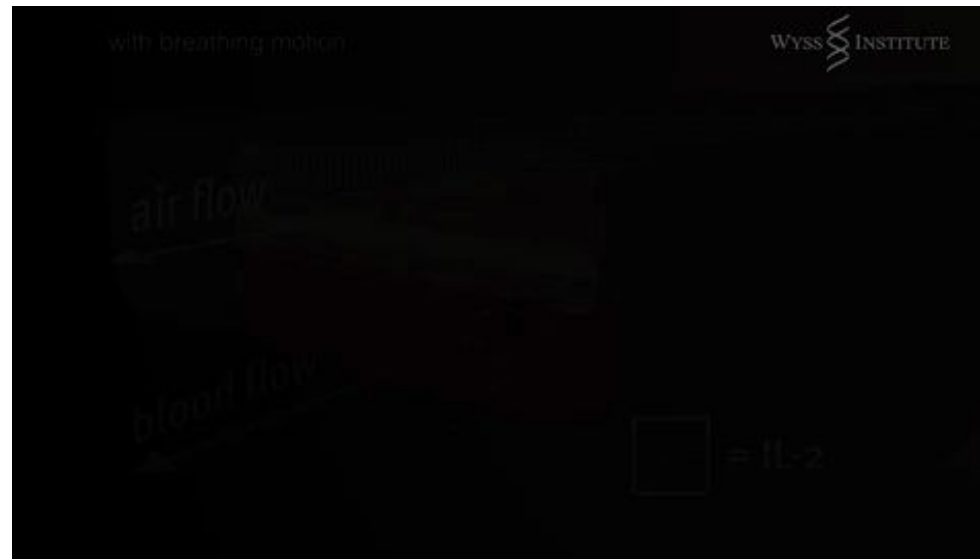
Lung on a chip

Edema polmonare indotto da farmaci

In particolare è stato verificato se il lung on a chip, in seguito a un trattamento con IL-2, sviluppava edema polmonare e se i movimenti respiratori influenzassero in qualche modo ciò.

Attraverso microscopia a contrasto di fase si è visto come, in assenza di movimenti respiratori, nel canale epiteliale alveolare si aveva un accumulo di fluido, fino al completo riempimento, in circa 4 giorni.

In presenza di movimenti respiratori questo invece accadeva in circa 8 ore.



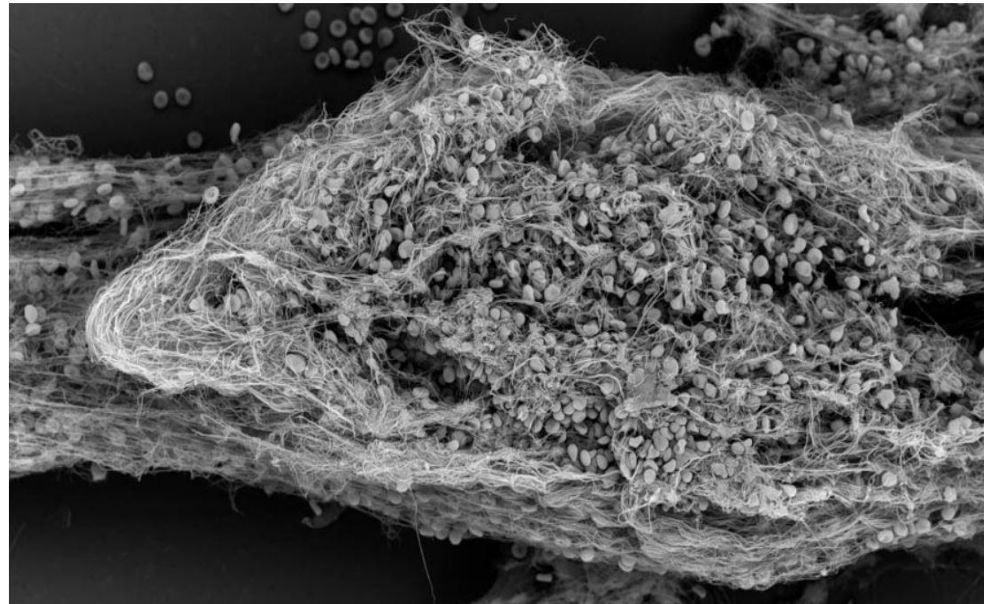
Lung on a chip

Trombosi polmonare

Ottenuta usando **cellule polmonari primarie** umane, inoltre sulle pareti della camera inferiore **cellule vascolari endoteliali del cordone ombelicale** (HUVEC) sono state aggiunte per formare uno strato endoteliale continuo che permetta la perfusione di **sangue umano** e non di un suo sostituto.

La copertura con HUVECs è stata fatta per prevenire appunto il contatto del sangue con le pareti circostanti protrombotiche, poiché ricoperte di ECM, così come avviene nei vasi “viventi”.

È stata dunque indotta trombosi a seguito di vari fattori, tra cui la produzione di lesioni, stimoli infiammatori e si è visto come il dispositivo mimi il processo in vivo, portando ad un aumento della formazione di trombi.

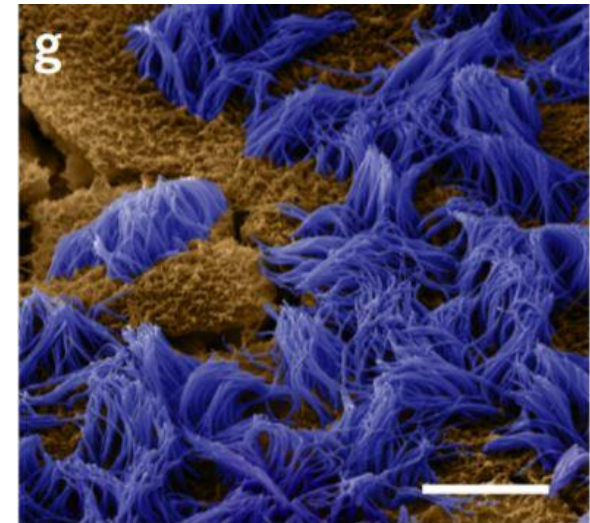
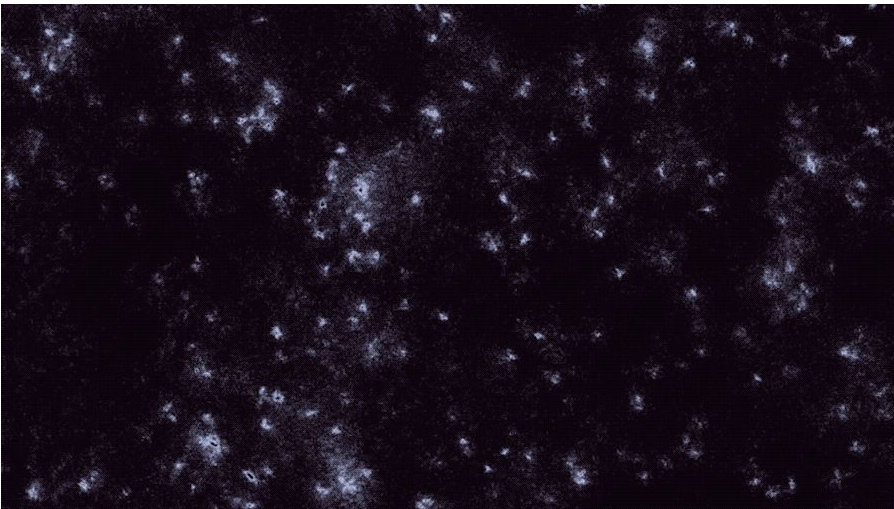


Lung on a chip

Piccola via aerea su un chip

É stato utilizzato un dispositivo simile al precedente, ma come dimensione quella del raggio del bronchiolo, che supporta una completa differenziazione di **epitelio bronchiolare, mucociliato, pseudostratificato**, composto da cellule isolate da individui sani o affetti da broncopneumopatia cronica ostruttiva e con un endotelio funzionale microvascolare.

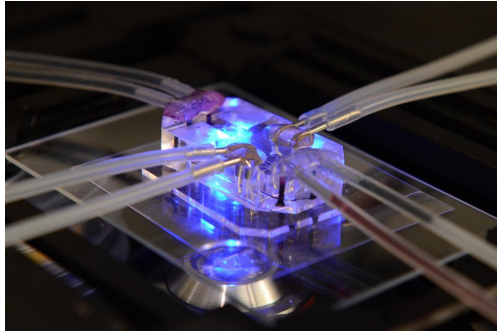
Su questo chip è stato provocato un aggravamento della broncopneumopatia cronica ostruttiva, utilizzando cellule epiteliali di pazienti con **COPD**, è stato visto come **i chip mantengono le caratteristiche dei polmoni del paziente** con tale malattia, tra cui un'aumentata propensione all'infiammazione quando esposti a patogeni.



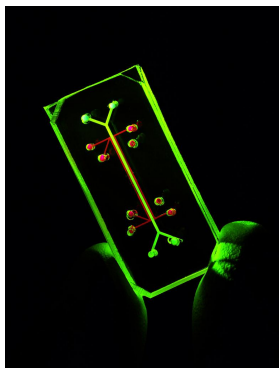
Lung on a chip

Ulteriori interessanti applicazioni del lung on a chip sono:

- verifica di come le **nanoparticelle** inducono infiammazione nel polmone e questa infiammazione sia accentuata a causa dei movimenti respiratori
- **l'esposizione al fumo di sigaretta**, non più l'esposizione ai soli vapori o solo ad alcuni componenti, ma l'esposizione totale con l'aiuto di una macchina che fumava la sigaretta e di un respiratore che mandava poi il fumo aspirato al chip.
- **modellare infezioni e infiammazioni polmonari in pazienti con fibrosi cistica**, in modo da poter sviluppare nuovi medicinali in grado di trattarle.



Da tutte queste applicazioni si evince come **il lung on a chip sia in grado di replicare le funzioni sia della barriera alveolo-capillare sia di una piccola via respiratoria, e come i risultati ottenuti con questo chip siano congruenti con cosa avviene in vivo**, e come questo permetta di avere risultati non ottenibili in vitro e con una facilità di replicabilità e di facilità di analisi e imaging cosa non spesso ottenibile con test su animali e in vitro. Il lung on a chip risulta quindi essere un valido sostituto a questo tipo di sperimentazione.

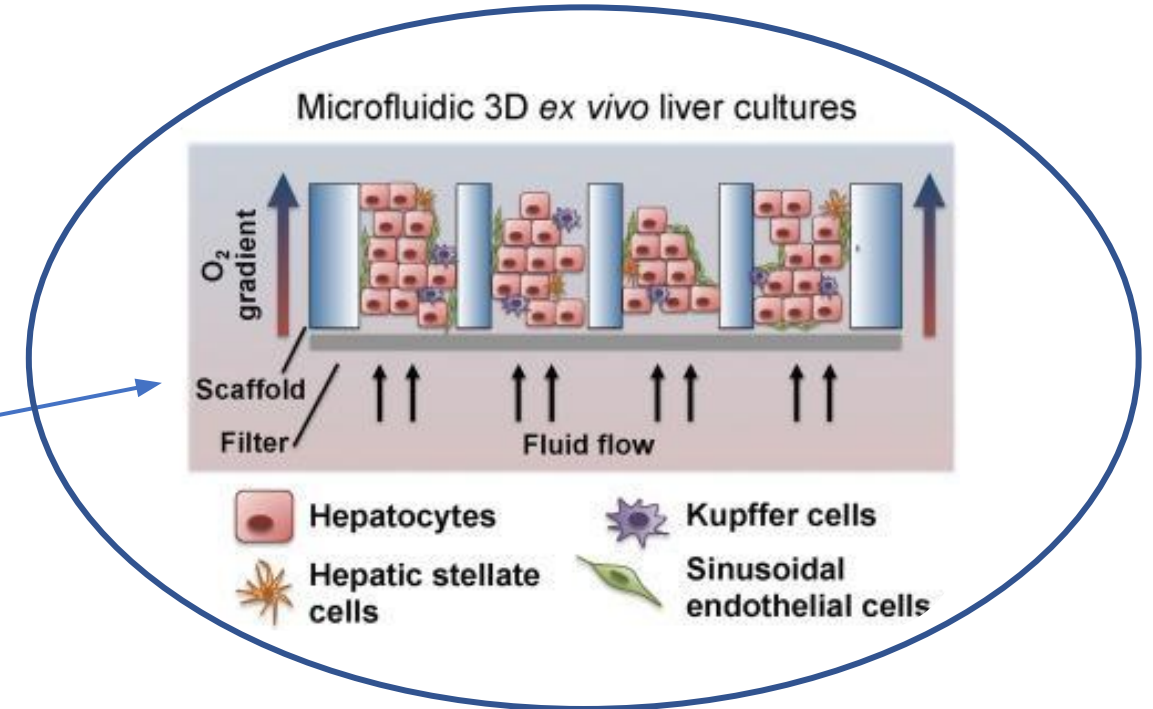
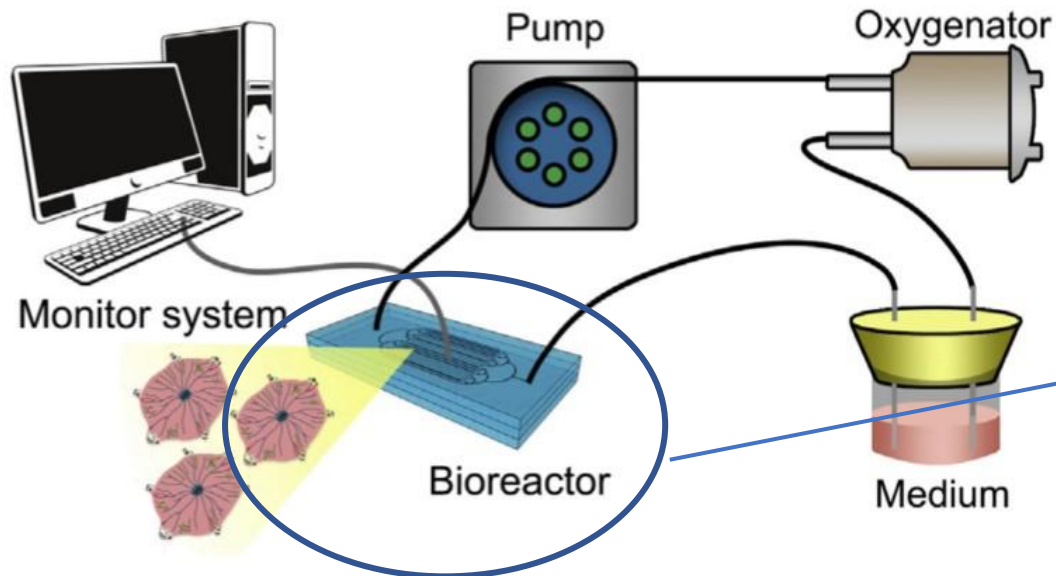




Liver on
a Chip

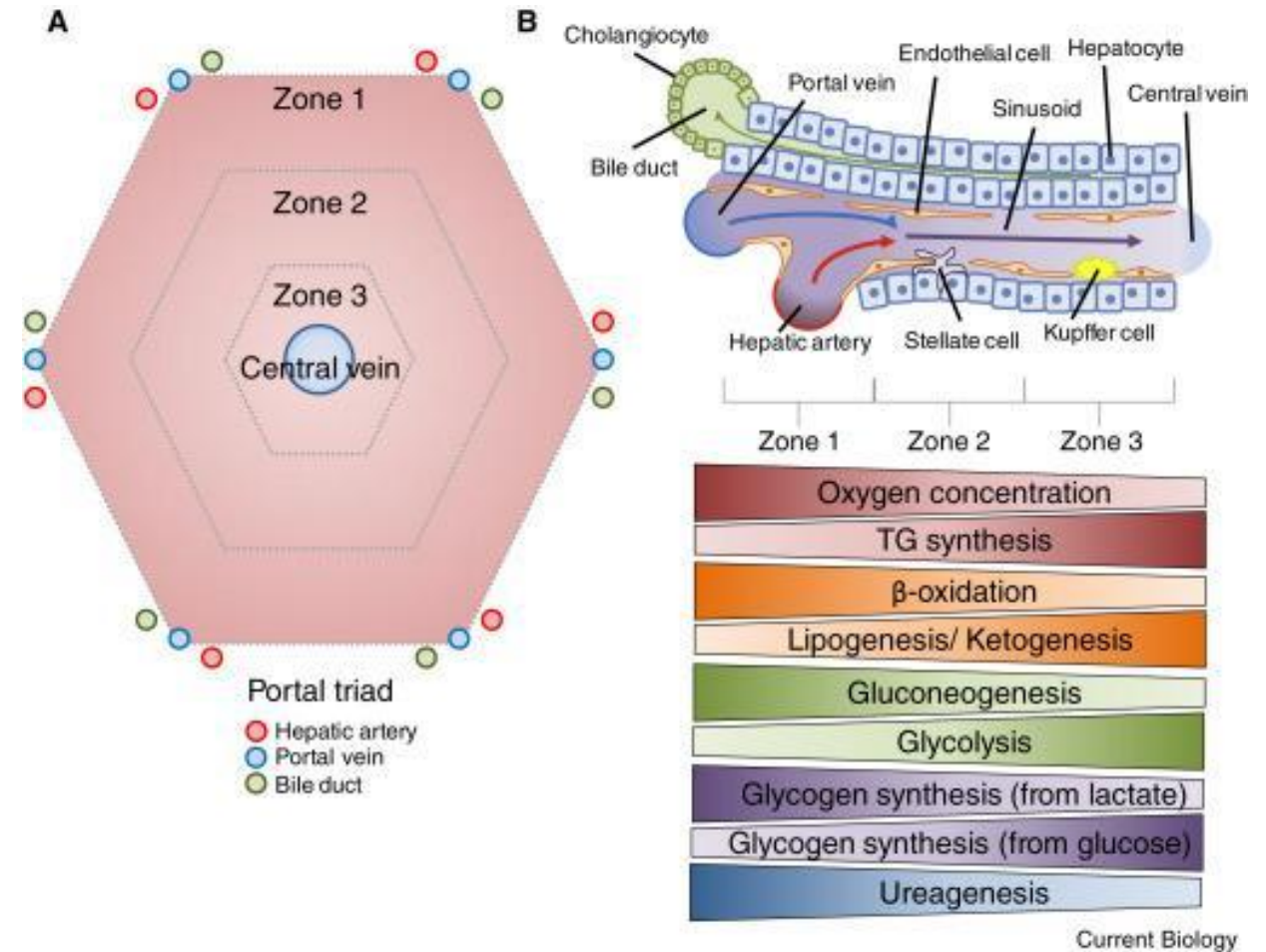
Liver On A Chip

- Il fegato è coinvolto in più di 300 funzioni vitali e la più importante è il **Metabolismo Di Nutrienti E Agenti Xenobiotici**.
- Negli studi tossicologici e farmacologici, la maggior causa di alterazione delle fasi cliniche è la tossicità del fegato (nota come **DILI, Drug Induced Liver Injury**): sfortunatamente, il comportamento nei modelli in vitro o animali, non sempre corrisponde esattamente a quello che accade nel corpo umano.
- Negli ultimi decenni, visti i fallimenti delle metodologie precedenti, è stato proposto il Liver on a Chip, per la generazione di modelli in vitro per lo screening di potenziali farmaci e lo studio di malattie epatiche allo scopo di prevenire i danni epatici che la rigenerazione del fegato non può riparare.



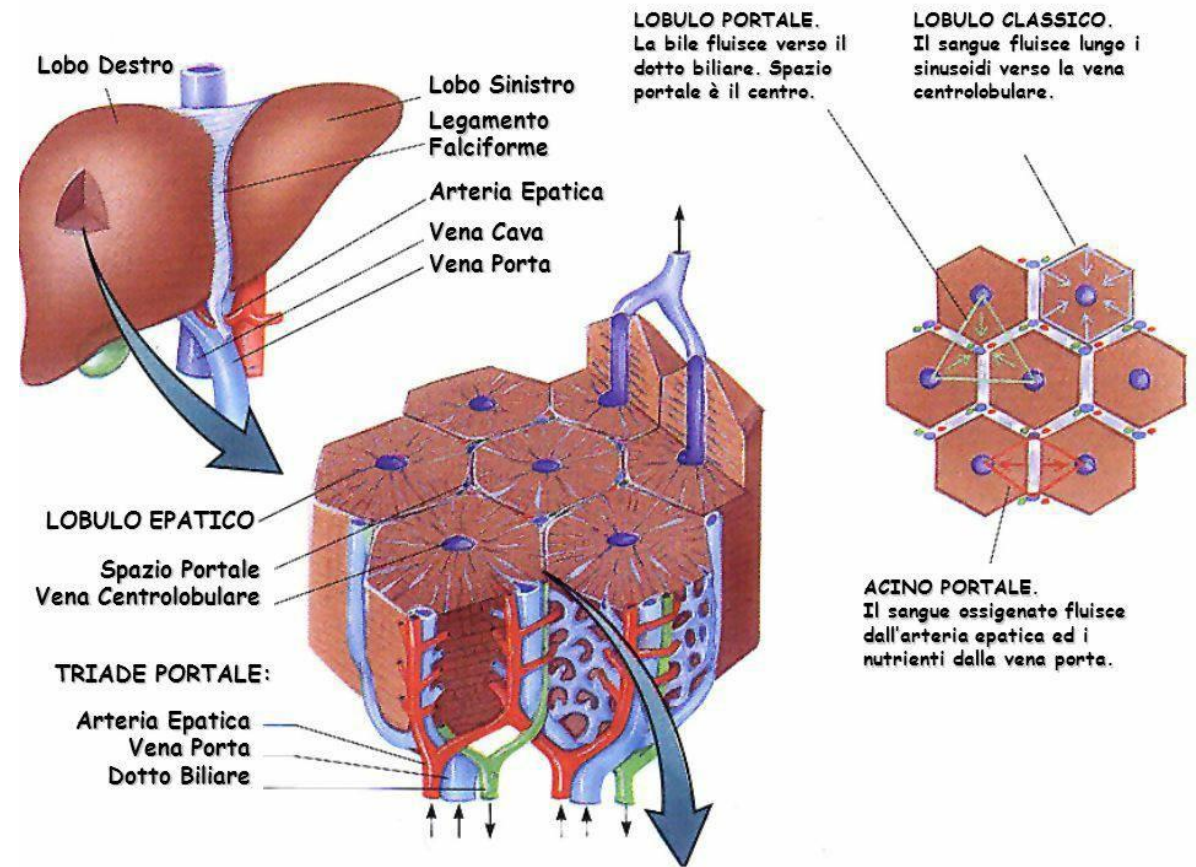
Liver On A Chip

- La maggior sfida dei dispositivi microfluidici risiede nella riproduzione e modellazione della complessa struttura del fegato.
- Le diverse funzioni del fegato, infatti, sono organizzate secondo il fenomeno della **Hepatic Zonation**.
 - Le cellule del fegato hanno funzioni specializzate in base a dove sono posizionate lungo la vena porta in direzione della vena centrale
 - Le sostanze vengono metabolizzate in porzioni epatiche differenti.
- La **chiave del LoC** è offrire un flusso dinamico in un ambiente 3D di coltura, associato al trasporto specifico di fattori solubili, inseriti secondo un ordine prestabilito.
- L'Hepatic Zonation è strettamente correlata al DILI.



Cellule fondamentali del fegato.

- Unità funzionale è costituita dal **Lobulo Epatico**: ha forma poligonale, ai cui angoli si identifica una struttura ripetitiva costituita dalla **triade portale** (ramo vena porta, ramo arteria epatica, dotto biliare).
- Le cellule parenchimali del fegato sono chiamate **epatociti** (disposti su cordoni cellulari) sono separate dai sinusoidi, dallo **Spazio Di Disse**.
- Il lobulo epatico contiene anche cellule non parenchimali:
 - Le **cellule stellate**, allo stato quiescente. Si attivano nei processi infiammatori producendo ECM e collagene.
 - Le cellule di rivestimento dei sinusoidi epatici:
 - **Cellule endoteliali**, con pori di diversa dimensione. La membrana basale è discontinua, consentendo al plasma (ma non al sangue ed alle piastrine).
 - **Cellule di Kupffer** (macrofagi).

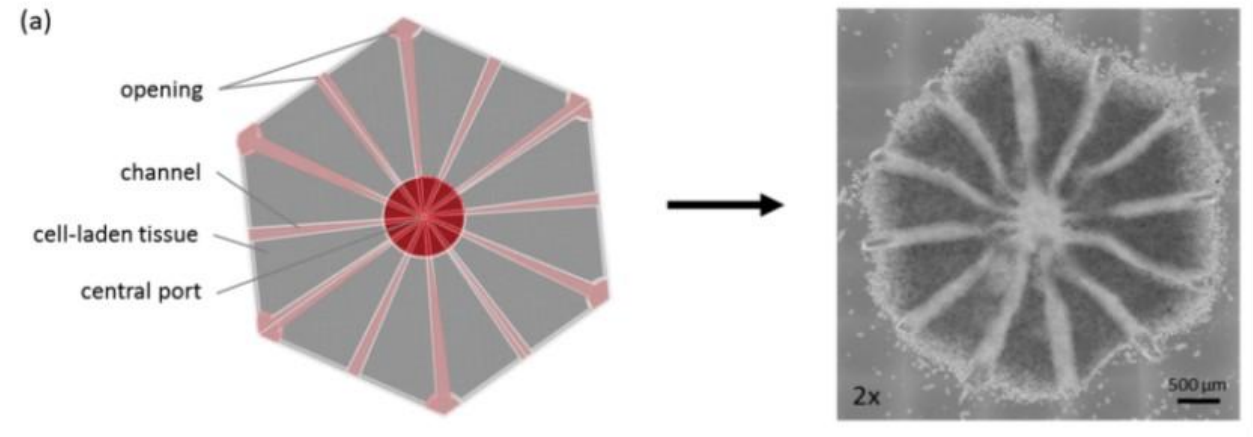
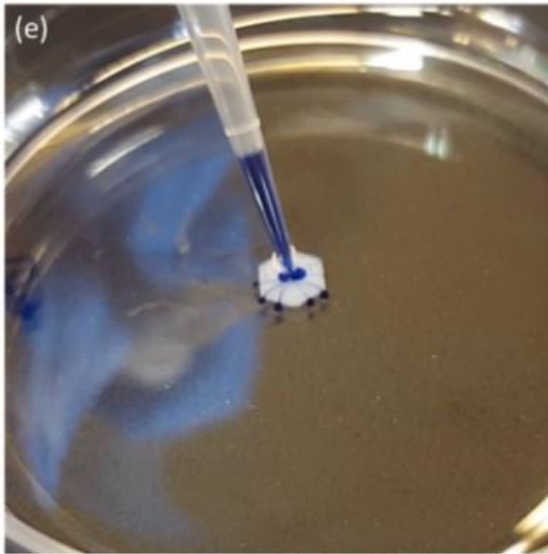
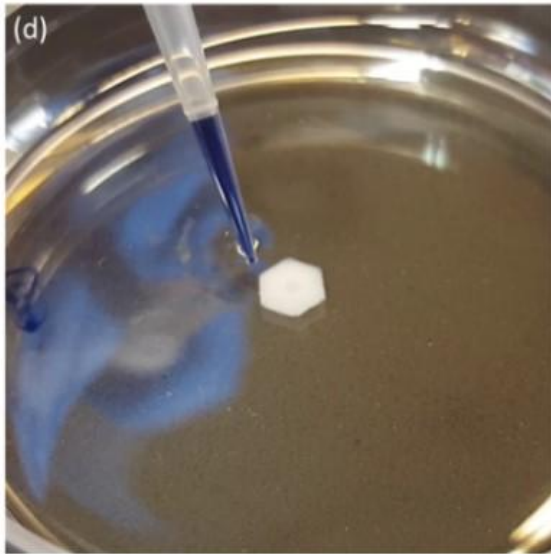


Risorse cellulari.

- La prima scelta ricade sugli **Epatociti Primari**:
 - isolati freschi,
 - Si sviluppano gli epatociti in due strutture 3D, gli **sferoidi e i sandwich con ECM**, che sembrano promettenti nel mantenimento della funzionalità epatiche fino ad 8 settimane.
 - Perdono gradualmente e molto rapidamente la loro morfologia e le loro funzioni specifiche dopo l'estrazione.
- Per avere un rifornimento illimitato di epatociti funzionanti, si sfruttano quindi le cellule staminali, come ad esempio le **ESC, le MSC e le iPCS**.
 - Continuo rinnovo,
 - Pluripotenza
 - Compatibilità immunologica.
- È necessario introdurre nei sistemi dei Fattori Solubili, che non solo stimolano la differenziazione ma hanno un elevato impatto sulla proliferazione e il mantenimento a lungo termine della coltura.
- Per risolvere la standardizzazione dei metodi di testing farmaceutico, si utilizzano anche linee cellulari come gli **Epatociti Upcyte, le cellule HepG2 e le cellule HepaRG**.
- Lo standard in ambito di drug testing epatico è raggiunto se le cellule rispettano 4 caratteristiche:
 - Redditività per periodi prolungati di tempo;
 - Conservazione del profilo metabolico rilevante a livello tossicologico;
 - Attività di trasporto dei farmaci;
 - Capacità di secrezione.

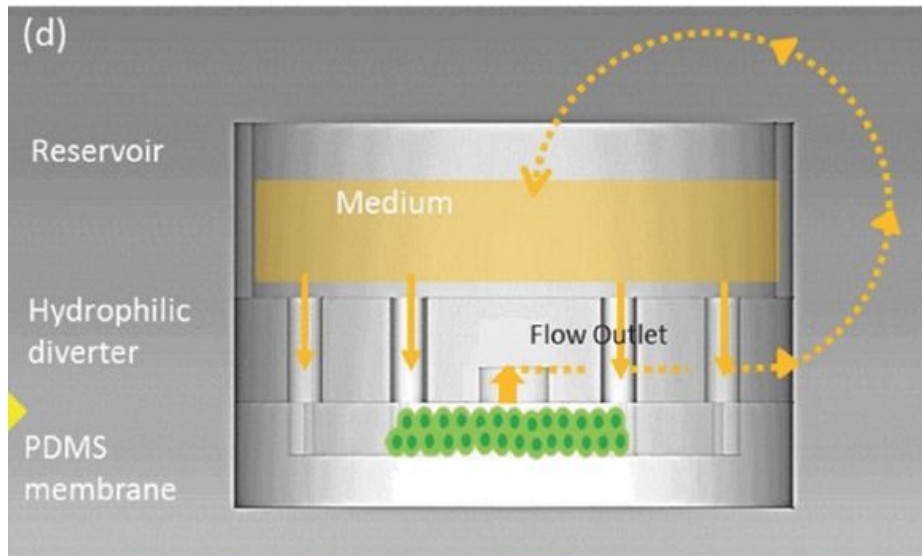
LoC Con Scaffold vs Senza scaffold

- Lo scopo dello scaffold è **garantire la formazione della struttura gerarchica** del tessuto nativo con specifici stimoli biomeccanici, biochimici e biofisici, così da permettere la differenziazione delle cellule in epatociti.
- Il gold standard è la **Coltura di Epatociti In Sferoidi 3D**. Essi permettono di aumentare la vitalità degli epatociti per un tempo più prolungato a seguito dell'estrazione.
- Le tecnologie basate sullo scaffold sono affette da **numerosi limitazioni** legate alla sua Intrinseca Stabilità, al Controllo Della **Rigidezza** e ai suoi **Effetti Impredicibili Sul Percorso Di Signalling**.

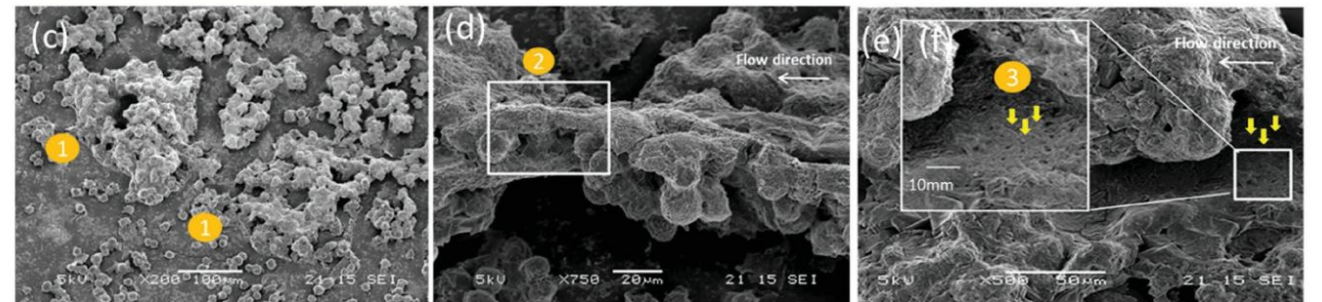
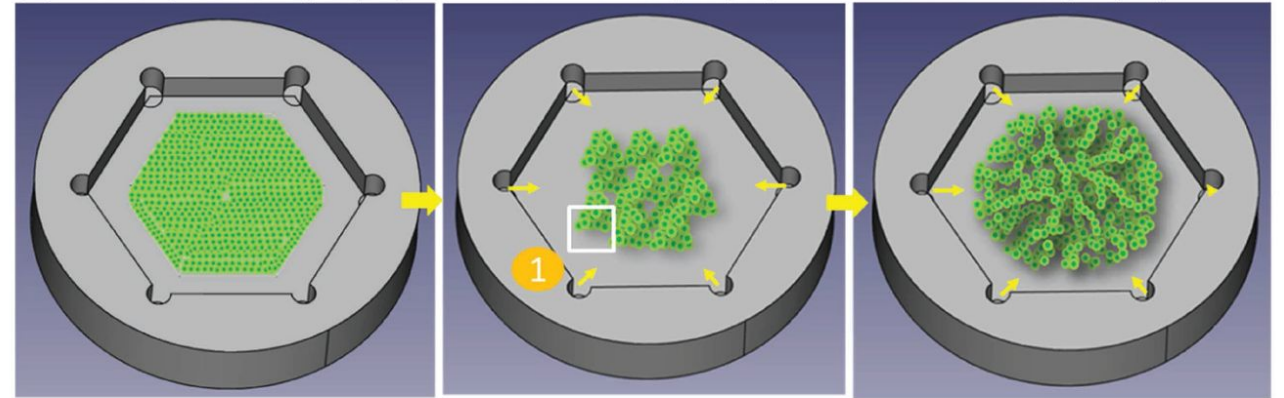


LoC Con Scaffold vs Senza scaffold

- Lo sviluppo in assenza Di Scaffold supera queste difficoltà anche se porta con sé notevoli difetti come la **mancanza dell'effetto di zonazione nelle colture a lungo termine**.
- Ad esempio, si può incorporare fisiologicamente la ECM tramite la co-coltura degli epatociti primari con le **Cellule Stellate (HSCs)**.
- La generazione di ECM è regolata dagli HSCs. In questa struttura restano quiescenti perché sono sottoposti allo stiffness naturale omeostatico.



(b) 3D Deposition (Day 1) → Radial flow (Day 3) → Radial flow (Day 7)



Riproduzione delle Barriere epatiche.

- La riproduzione delle barriere epatiche permette di aumentare la vita degli epatociti in vitro e ottenere risultati più accurati nell'ambito del drug testing.
- Queste barriere sono i **Sinusoidi Epatici**. Sono capillari sanguiferi a parete sottile costituiti da un endotelio molto fenestrato e tortuoso con pori dal diametro medio di 0.2 micron, che permettono il passaggio del plasma verso gli epatociti.

Biofabrication



RECEIVED
30 September 2017

REVISED
4 January 2018

ACCEPTED FOR PUBLICATION
22 January 2018

PUBLISHED
20 February 2018

PAPER

Construction of a liver sinusoid based on the laminar flow on chip and self-assembly of endothelial cells

Shengli Mi^{1,2,3,6}, Xiaoman Yi^{1,6}, Zhichang Du¹, Yuanyuan Xu⁴ and Wei Sun^{1,3,4,5}

¹ Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen, People's Republic of China

² Open FIESTA Center, Tsinghua University, Shenzhen 518055, People's Republic of China

³ Department of Mechanical Engineering and Mechanics, Tsinghua University, Beijing, People's Republic of China

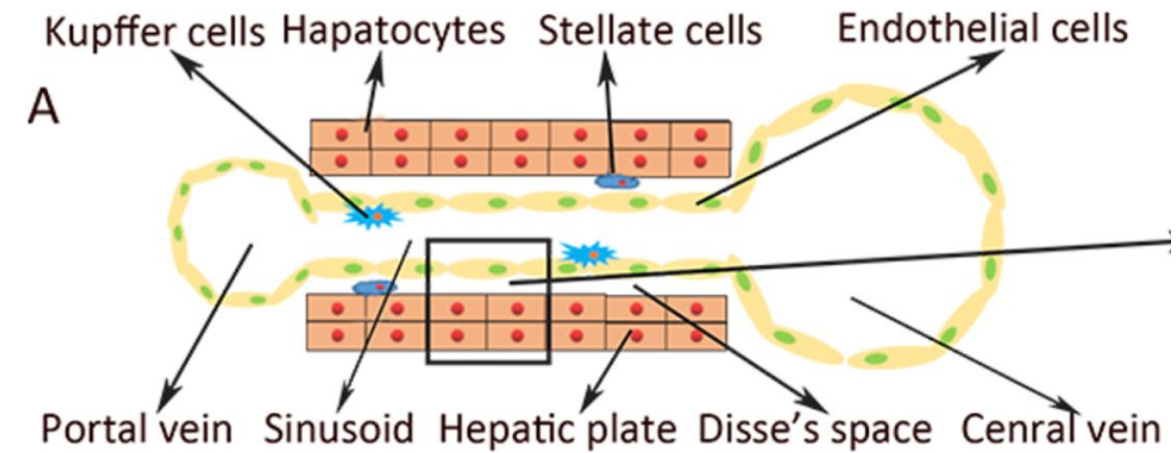
⁴ Tsinghua-Berkeley Shenzhen Institute, Shenzhen, People's Republic of China

⁵ Department of Mechanical Engineering, Drexel University, Philadelphia, PA, United States of America

⁶ These authors contributed equally to this work.

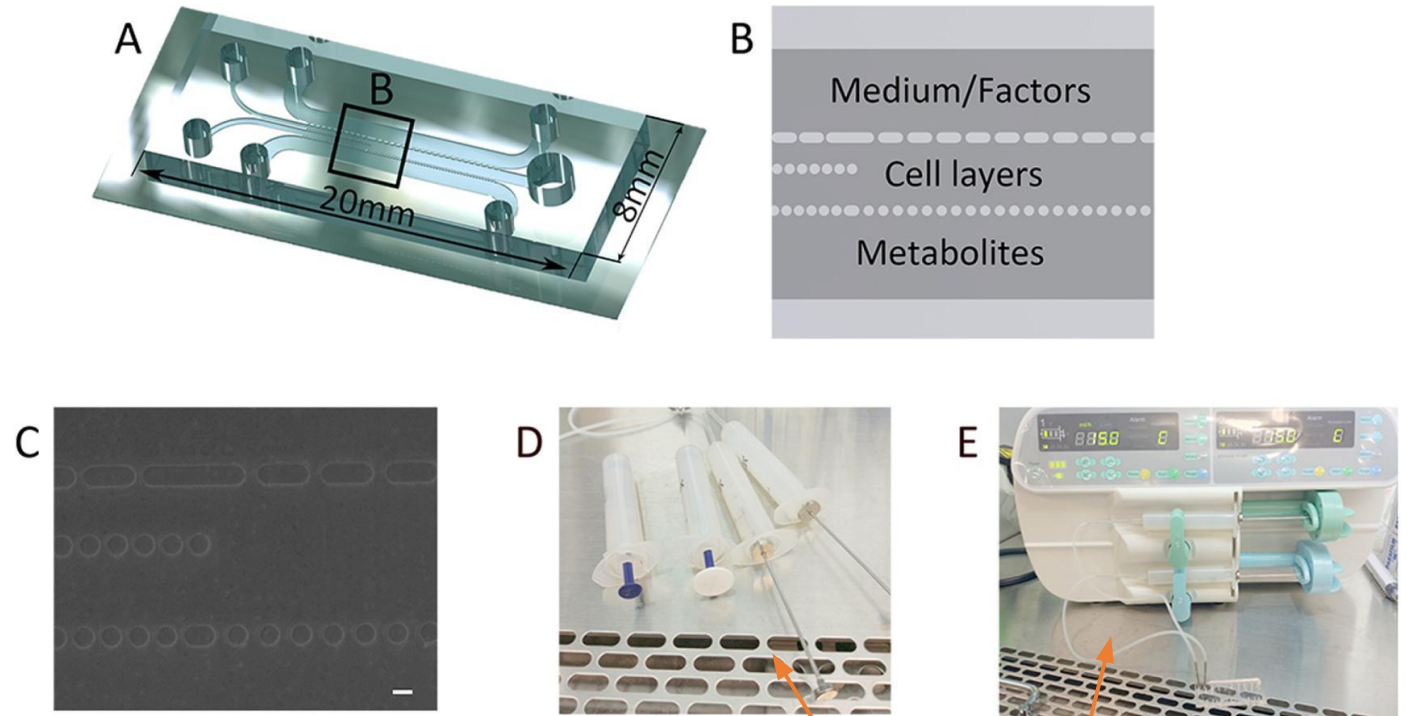
Riproduzione delle Barriere epatiche.

- Il sinusoidale epatico in vitro è costituito da un chip microfluidico su cui viene depositato del **collagene di tipo I** ricavato dalla coda di topo.
- Le cellule utilizzate sono epatociti della **linea HepG2** e cellule endoteliali di cordone ombelicale umano (**HUVEC**).
- Lo scopo è stimolare l'organizzazione delle HUVEC in un monostrato fenestrato controllando la densità e inserendo fattori di crescita specifici.
- Si ottiene un liver on a Chip più biomimetico perché fornisce una distribuzione omogenea delle cellule endoteliali.
- Lo strato di cellule endoteliali risulta **indispensabile** per proteggere gli epatociti dallo shear stress garantendo comunque la diffusione di nutrienti e metaboliti.
- Il problema delle tecniche già presenti in commercio è che i layer ottenuti **non sono biologici** perché non mimano il metabolismo, le interazioni cellula-cellula, né le interazioni con i farmaci.



Riproduzione delle Barriere epatiche.

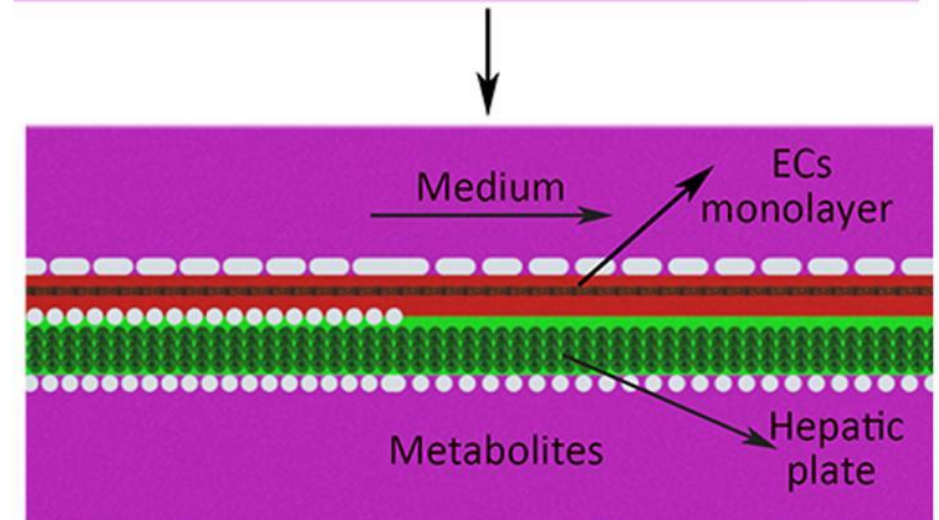
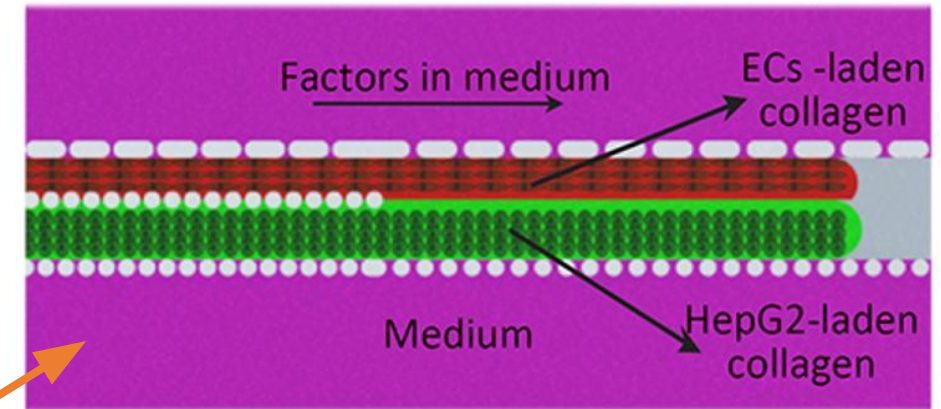
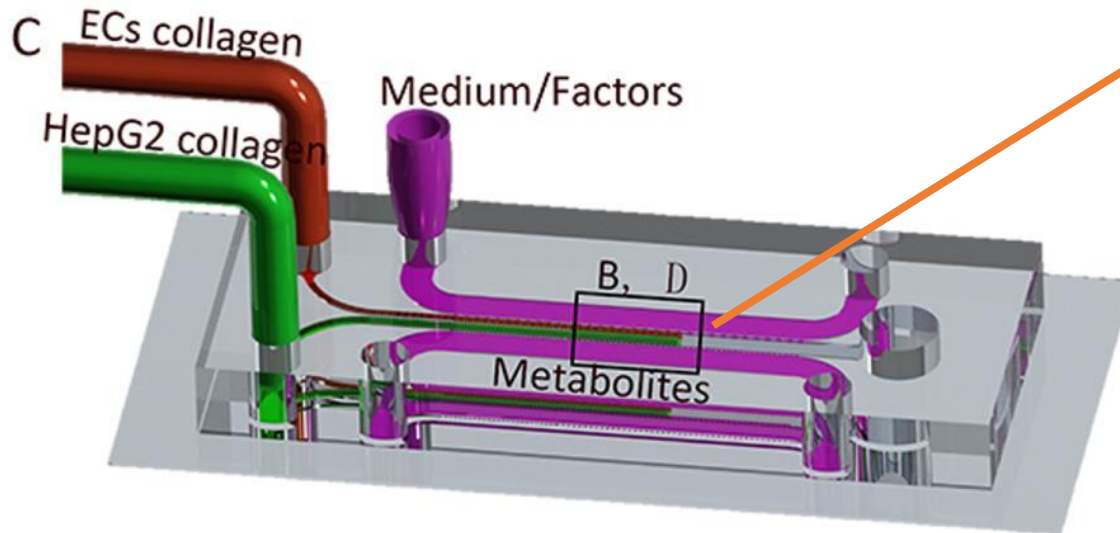
- La struttura del Sinusoide è costituita da:
 - **Strato superiore** spesso 3mm di PDMS fabbricato con soft stereolithography. Si incidono 3 camere separate da un array di micro-colonne (B,C).
 - La superiore per il flusso continuo di **medium e fattori di crescita**;
 - La centrale per la convezione di **collagene carico di HepG2 e HUVEC**;
 - L'inferiore per il raccoglimento dei **metaboliti**.
- **Strato inferiore** di vetro leggermente più largo dello strato di PDMS e spesso 100 μm e legato allo strato superiore con oxygen plasma.



Pompe di micro-infusione per l'inserimento simultaneo di HUVEC e HepaG2

Riproduzione delle Barriere epatiche.

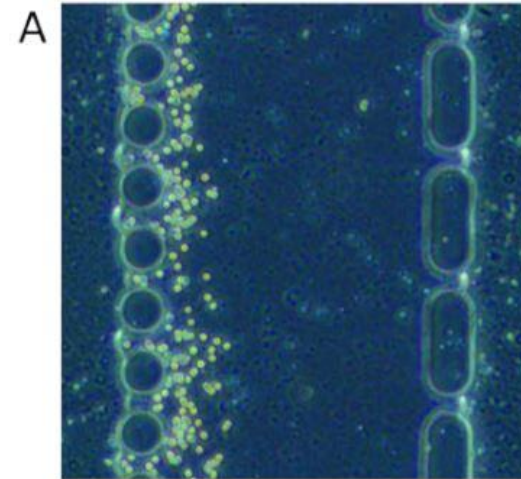
- Il collagene caricato di HepG2 e quello caricato di HUVEC vengono iniettati nella camera centrale in maniera **simultanea**.
- Si inserisce il medium (50% per HepG2 e 50% per HUVEC), nella camera inferiore per isolare gli epatociti dall'aria.
- Si inserisce il medium con i fattori di crescita nella camera superiore, che promuovono l'angiogenesi e l'auto-organizzazione delle cellule endoteliali.



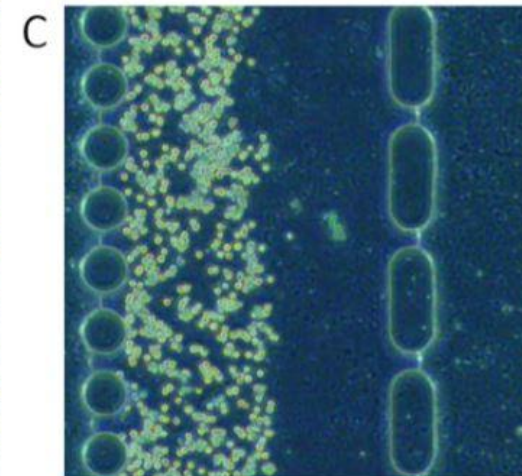
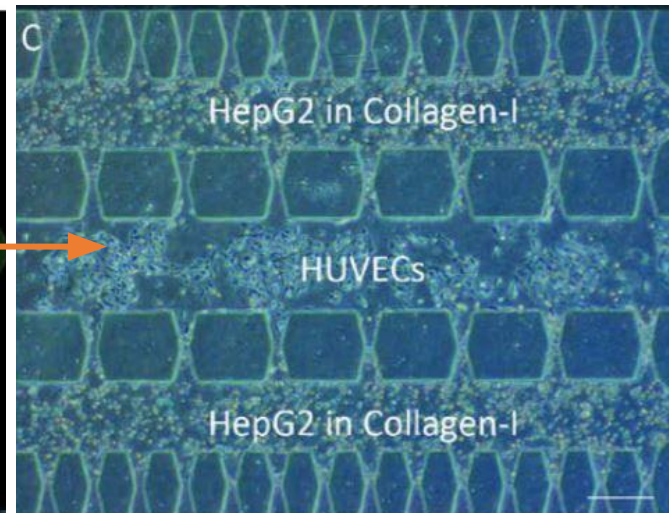
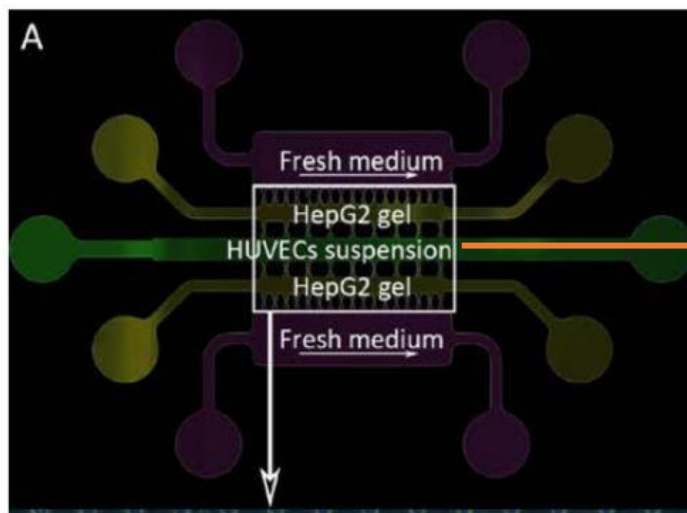
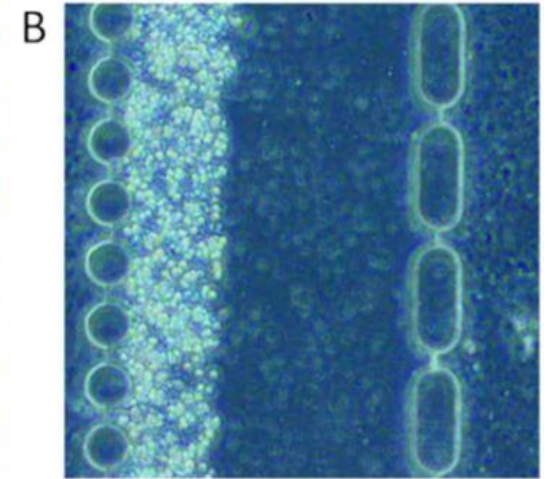
Riproduzione delle Barriere epatiche.

- Sotto la stimolazione dei fattori di crescita, gli HUVEC migrano gradualmente verso uno verso l'altro, in **direzione parallela al gradiente di concentrazione di fattori di crescita**.
- Dopo due giorni le cellule endoteliali formano un monostrato e dopo questo, i fattori di crescita vengono rimossi.
- Per mantenere la fenestrazione del monolayer di EC per garantire un'alta diffusione di nutrienti e alto tasso di raccolta dei metaboliti, **la densità di EC viene ottimizzata**.

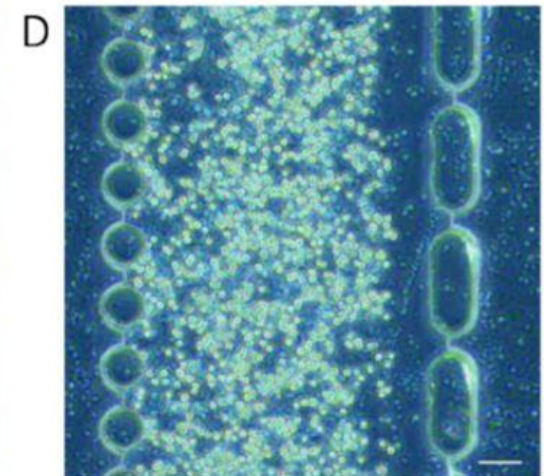
Injection ratio 1:4



Injection ratio 1:2



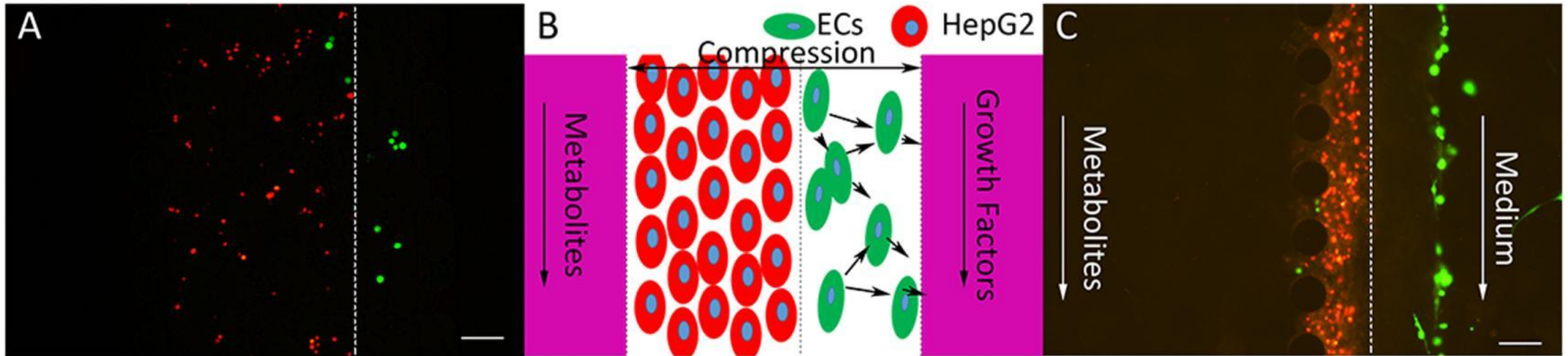
Injection ratio 1:1



Injection ratio 4:1

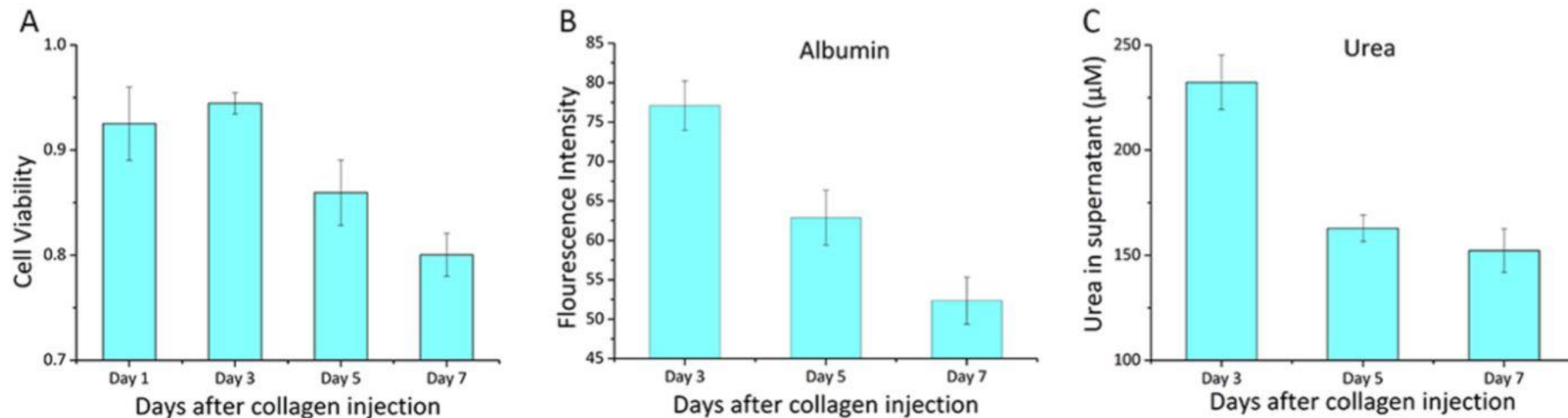
Riproduzione delle Barriere epatiche.

- Range del flusso ottimale di iniezione è **100-400 $\mu\text{l/h}$**
 - Se il rate è **più basso**, si ha interferenza della **tensione superficiale** del collagene (non più trascurabile) perché la potenza di iniezione non è più così prevalente. Questo comporta un borderline più ampio tra EC e HepaR2 creando **non omogeneità** nella struttura;
 - Se il rate è **troppo alto**, il collagene verrebbe **sovra-compresso** fermando l'iniezione.
- Si deve ottimizzare la densità di EC per promuovere la formazione del monostrato: è scelta pari a **$1 \cdot 10^5 \text{ml}^{-1}$**
 - Densità più bassa genera un'insufficienza di HUVEC, che quindi non si trovano e non si legano tra loro.
 - Densità troppo alta genera una barriera di EC troppo compatta, da impedire la diffusione di nutrienti.



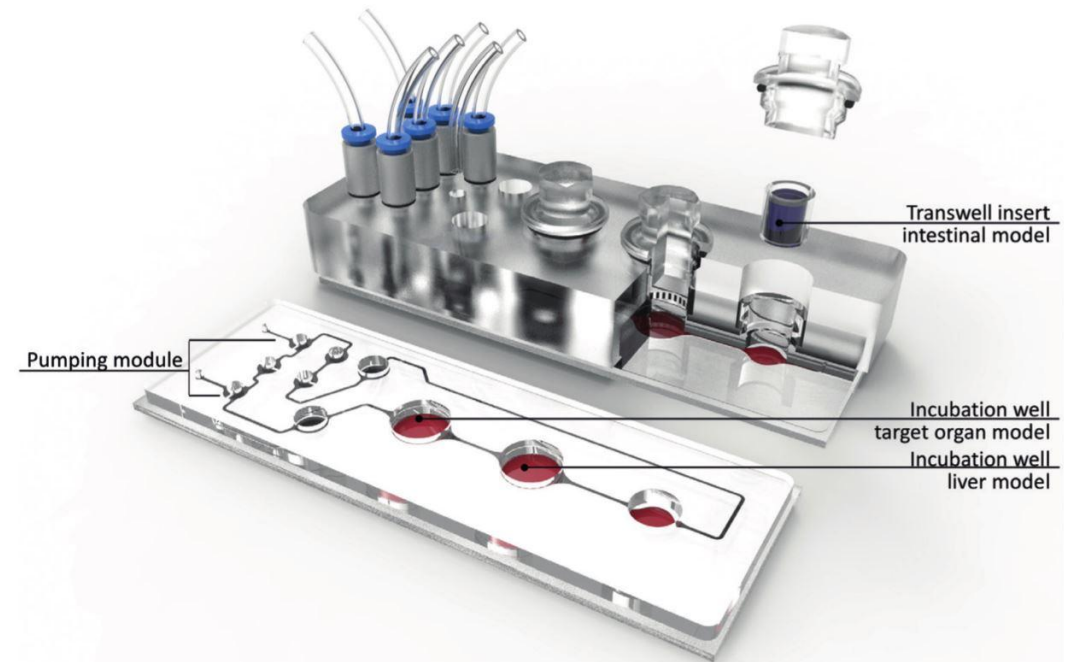
Riproduzione delle Barriere epatiche.

- Per valutare la funzionalità epatica, si analizza la **Secrezione di Albumina e di Urea**. La quantità di albumina secreta e di urea sintetizzata riflettono il grado di funzionalità normale degli epatociti.
- Per questo motivo, si analizzano albumina e urea nei giorni 3, 5 e 7 dopo l'iniezione del collagene caricato.
- Sia l'albumina che l'urea si riducono gradualmente con il tempo ma fino al giorno 7, il range di vitalità e di secrezione di queste sostanze rientra nella norma.
- Si può affermare che questo chip mantiene funzioni specifiche del fegato biomimetiche **fino a 7 giorni**, perciò non solo replica la struttura del sinusoidi ma anche la funzionalità.



Ostacoli da superare.

- Il Liver on a Chip fornisce un toolbox insostituibile per indagare la fisiologia epatocellulare umana sotto condizioni che si avvicinano fortemente all'ambiente fisiologico in vivo.
- Nonostante questo importante risultato, ci sono ancora **molti ostacoli da superare come ad esempio:**
 - **Densità cellulare e organizzazione fisiologicamente rilevante difficile da raggiungere in vitro;**
 - La fisiologia epatica a livello cellulare rimane molto **elusiva** quindi è difficile replicare fedelmente il microambiente dove epatociti e cellule non parenchimali risiedono.
 - È difficile **mantenere la funzionalità di questi sistemi a lungo tempo.**
 - La performance e i risultati di predizione dei test farmacologici sono dipendenti dalla scelta del materiale biologico, dal processo di realizzazione e dal mantenimento dei dispositivi.

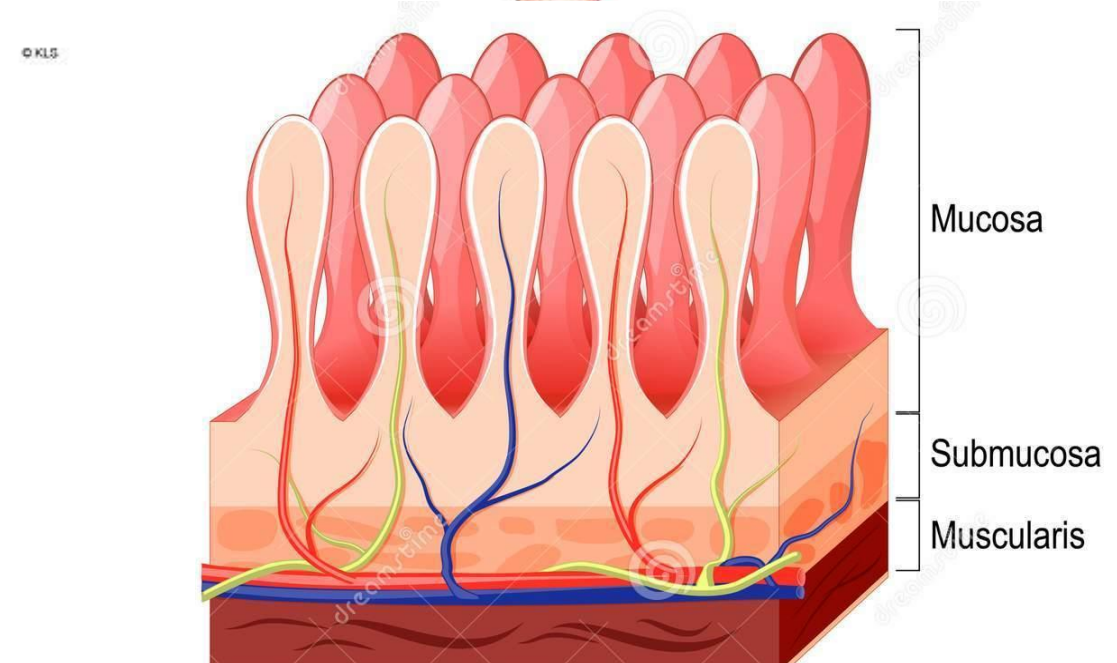
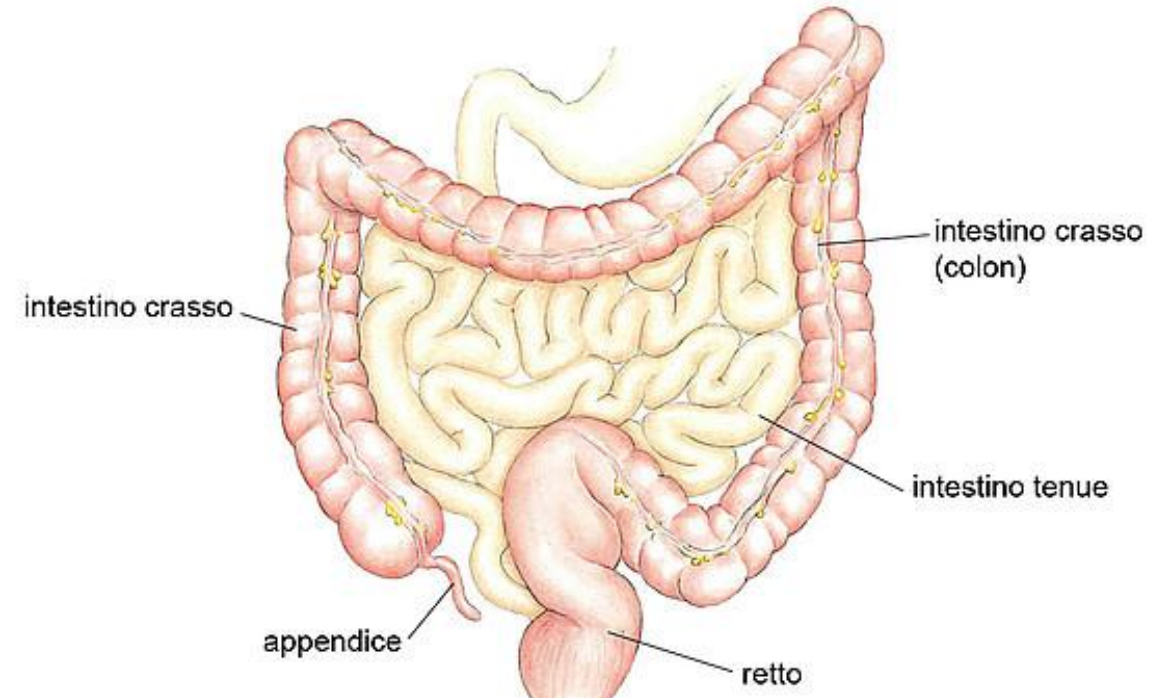




Gut on
a Chip

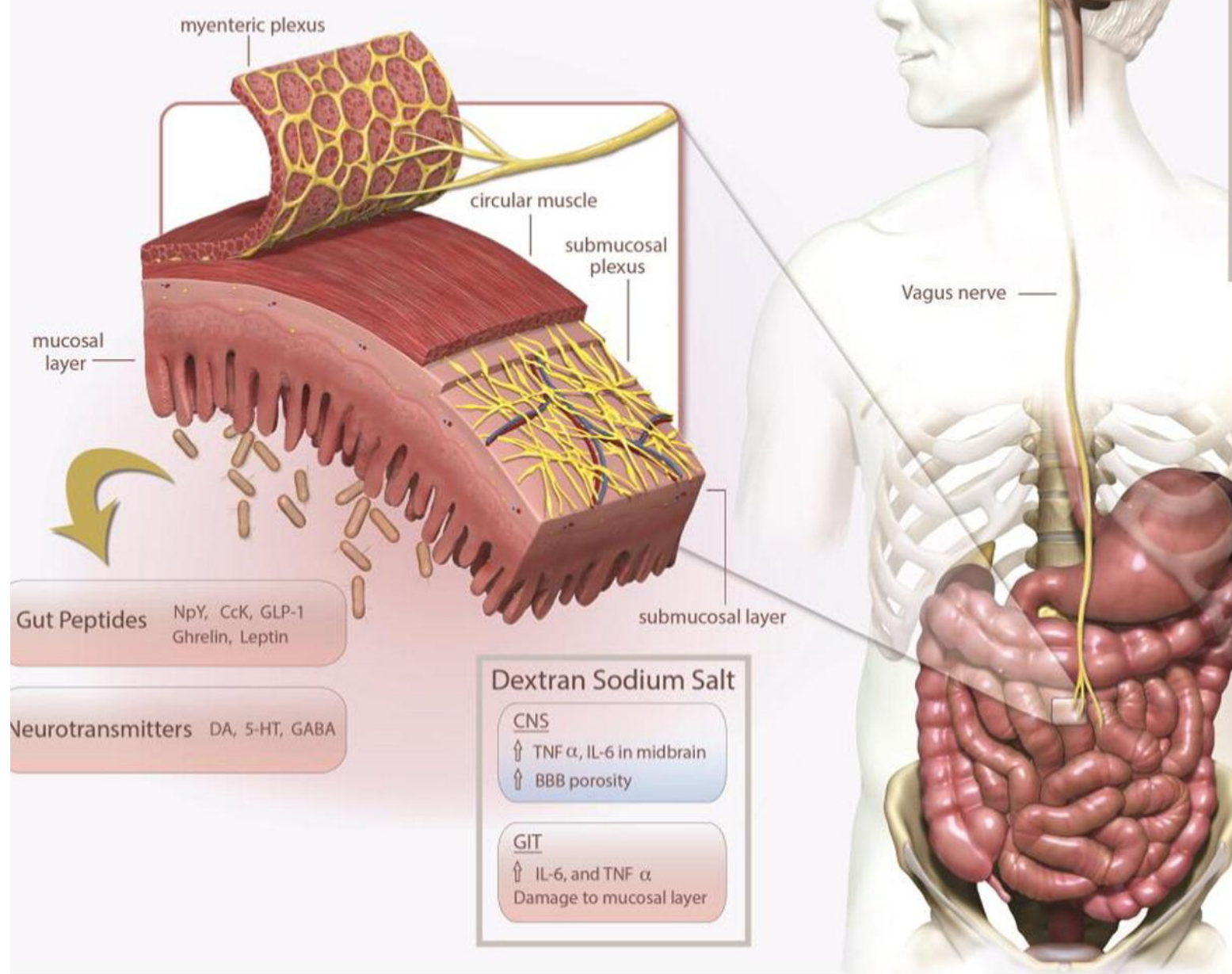
INTESTINO - Anatomia

- L'**intestino** è l'ultima parte dell'apparato digerente. Si presenta come un tubo di diametro variabile con pareti flessibili multi stratificate di muscolatura liscia, ripiegato più volte su se stesso.
- Sulla parete intestinale, nella mucosa, sono presenti delle estroflessioni: i **villi intestinali** (ripiegamenti verso l'esterno di un organo o di un tessuto) che consentono di aumentare la superficie dell'organo per avere una maggior area assorbente dei nutrienti.



INTESTINO - Funzione

- La sua funzione è quella di **assimilare i principi nutritivi** dei cibi provenienti dallo stomaco e di convogliarli nel sangue in modo che possano alimentare le cellule dei tessuti. Inoltre funge da barriera epiteliale tra l'apparato digerente e l'ambiente interno degli organi.
- L'intestino è il sito principale in cui i microbi del **microbioma** intestinale vivono e interagiscono con i tessuti linfoide intestinali e il sistema immunitario, che contribuisce significativamente all'omeostasi intestinale.



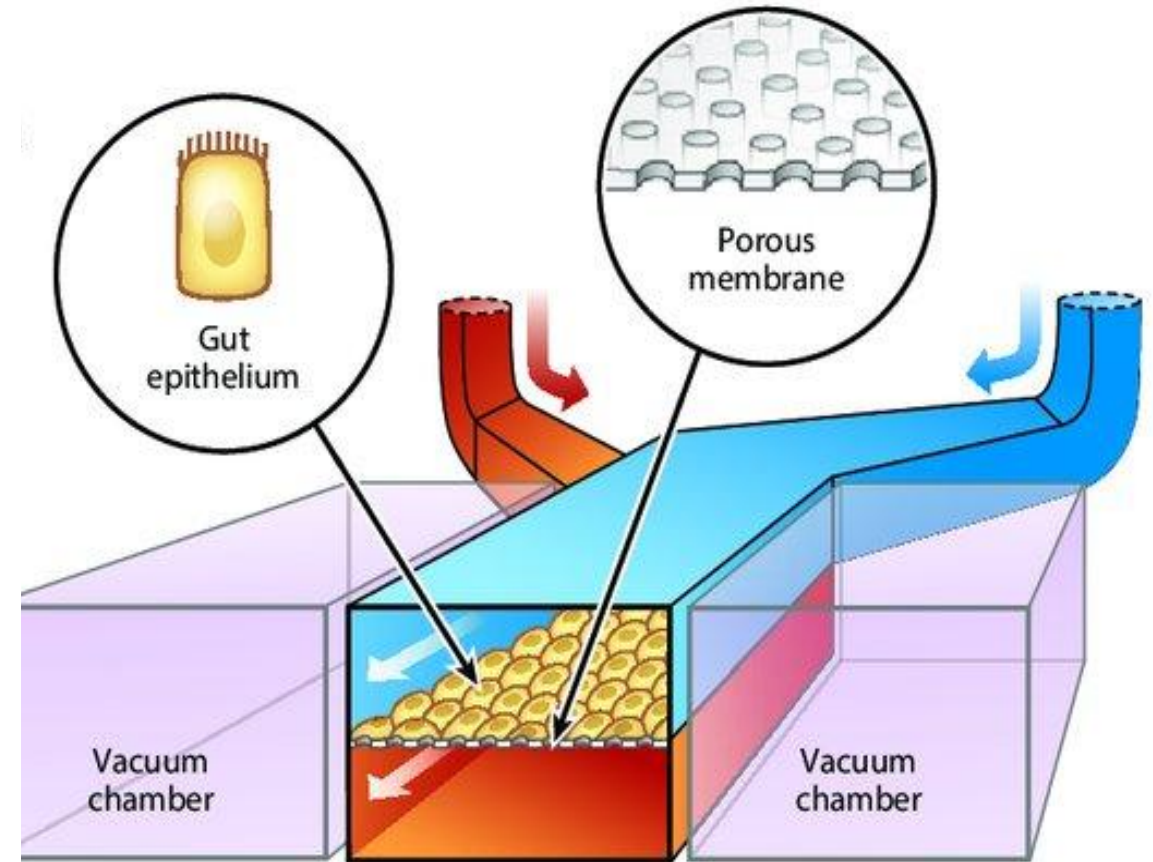
Modello meccanico del Gut chip

È un modello di intestino su **chip a due canali** più specifico in modo tale da far coesistere, crescere e far interagire

- l'epitelio intestinale
- l'endotelio delle cellule
- l'endotelio del sistema immunitario
- le cellule microbiche commensali
- flusso fisiologico della peristalsi

Per mimare in maniera ottimale la forma 3D dell'intestino attraverso le colture cellulari sono stati utilizzati alcuni metodi di stampaggio per creare degli **scaffold** :

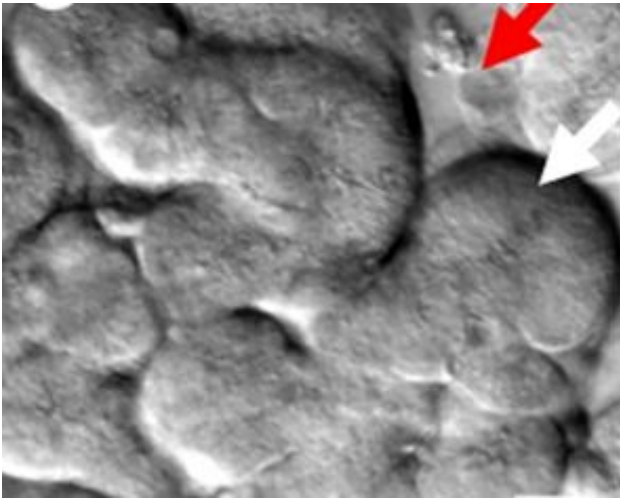
- **polimerici a base di Ca-Alginato**
- **gel di Collagene**
collagene di tipo I
idrossido di sodio
siero fetale bovino



[Microfluidics Expanding the Frontiers of Microbial Ecology Rusconi R., Garren M, Stocker R.]

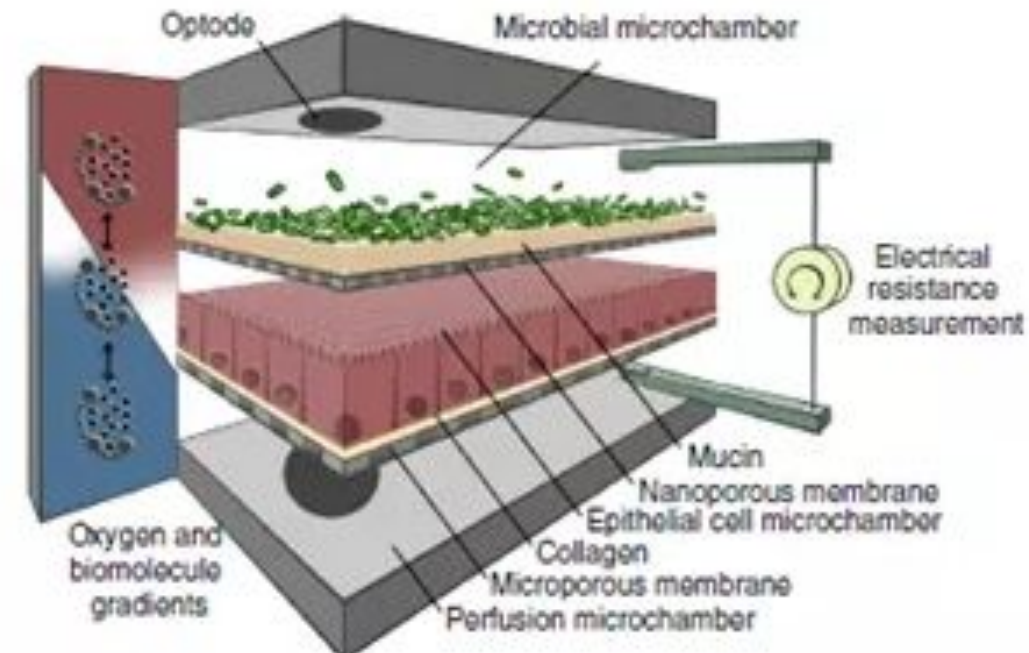
introducendo un determinato azionamento meccanico

Coltura cellulare senza azionamento meccanico



Nei chip è presente una coltura delle **cellule epiteliali umane di tipo Caco-2** (una linea di cellule di cancro al colon che si caratterizzano per la loro crescita a **forma piatta**) su delle superfici che hanno favorito la formazione di un **epitelio con la stessa forma**, poichè le cellule creavano gli stessi villi spontaneamente: questo ha portato anche ad un aumento dell'assorbimento dei composti dei farmaci e al miglioramento dell'attività metabolica di alcuni enzimi.

Un chip a multicanale, come **HuMiX**, è un esempio di chip microfluidico in cui è stato possibile coltivare contemporaneamente differenti specie batteriche (anaerobiche e non) all'interno di un intestino virtuale che ha permesso la separazione tra lo scomparto microbico luminale del Caco-2 e la membrana porosa, **senza alcun azionamento meccanico per settimane in vitro** e senza compromettere l'integrità della barriera o la funzione delle cellule intestinali.



[Contributions of microbiome and mechanical deformation to intestinal bacterial overgrowth and inflammation in a human gut-on-a-chip, Hyun Jung Kim, Hu Li, James J. Collins, and Donald E. Ingber PNAS January 5, 2016 113 (1) E7-E15; published ahead of print December 14, 2015]

[Mac, Marc & Eain, Marc & Baginska, Joanna & Greenhalgh, Kacy & Fritz, Joëlle & Zenhausern, Frederic & Wilmes, Paul. (2017). Engineering Solutions for Representative Models of the Gastrointestinal Human-Microbe Interface]

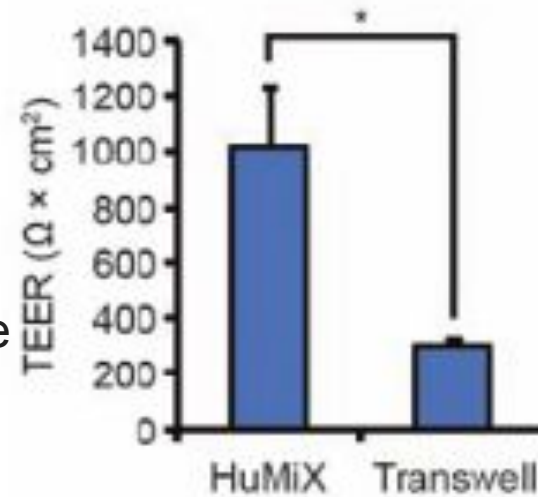
La piattaforma HuMiX

- **tre canali microfluidici** paralleli che rappresentano l'ambiente microbico, lo strato epiteliale e quello di perfusione, separati da membrane semipermeabili in polycarbonato
- Ogni camera ha i propri ingressi e uscite
- La **membrana** con i pori di dimensione di **50 nm** rivestita da mucina, separa le camere microbiche ed epiteliali e impedisce l'infiltrazione di microrganismi nella camera epiteliale
- La **membrana** con i pori di **1 μm** rivestita da collagene, separa la camera di perfusione dalla camera epiteliale e consente la diffusione del mezzo di crescita cellulare nella camera epiteliale

1. **Bacteroides caccae**

2. **CCD-18Co**

TEER (resistenza elettrica transepiteliale) dello strato di cellule epiteliali formate in HuMiX confrontate con le misure di un sistema Transwell standard per evidenziare la differenziazione delle cellule epiteliali



I canali (200 mm \times 4 mm \times 0,5 mm) sono tagliati al laser su basi polimeriche e seguono un modello a spirale che ottimizza l'ingombro del sistema.

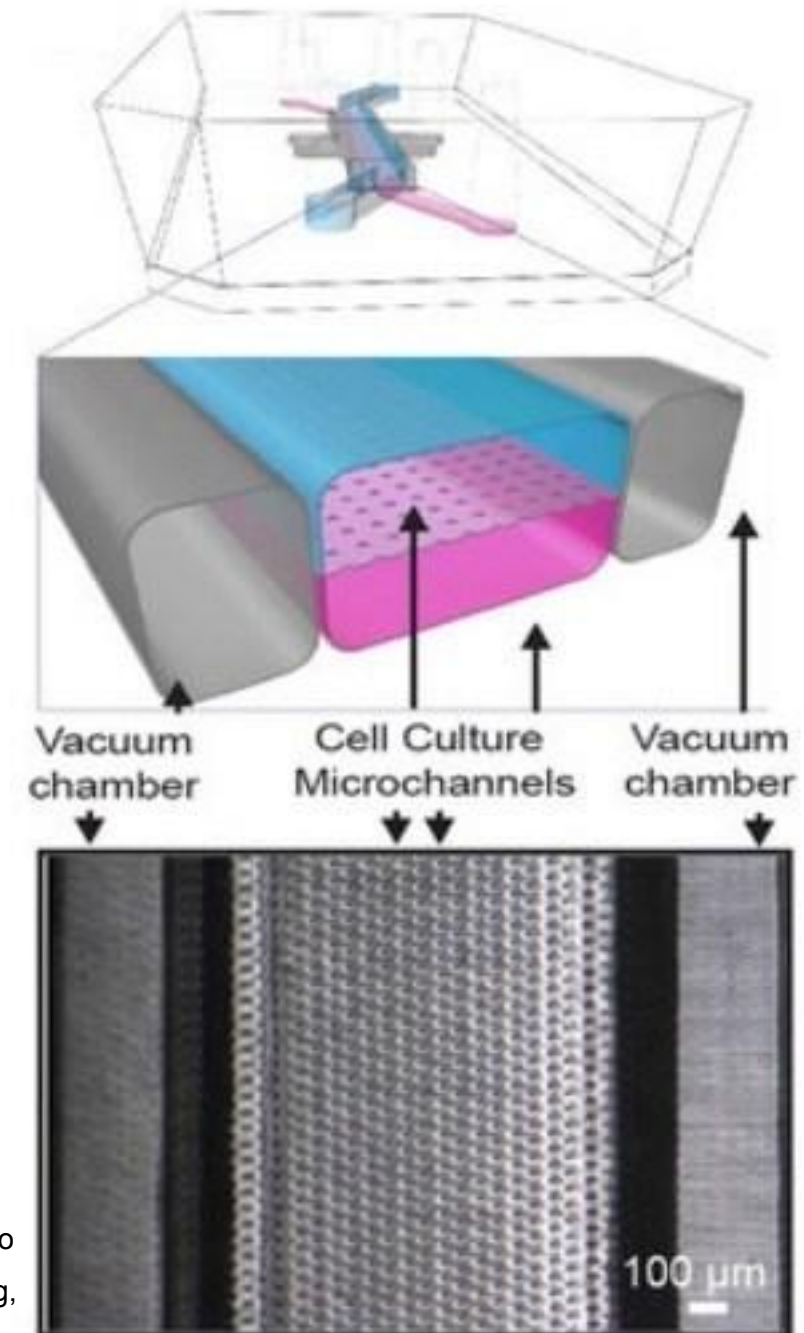


GUT CHIP

Il “gut chip” è fatto da un **polimero siliconico, gas permeabile PDMS (polidimetilsilossano)** che è trasparente, quindi è possibile avere un’alta risoluzione nell’utilizzo dei microscopi confocali.

I due canali paralleli sono di dimensioni inferiori a 1 mm separati da una membrana sottile di 20 μm , ricoperta da ECM (proteine di matrice extracellulare), flessibile e porosa, ed è circondato da camere vuote per tutta l’altezza.

[In figura una vista schematica in sezione trasversale e una micrografia a contrasto di fase del chip visto dall'alto che mostra i microcanali di coltura cellulare epiteliale superiore e la parte microvascolare inferiore separati da un rivestimento poroso, rivestito con ECM. La membrana è elastica e può essere estesa e retratta mediante l'applicazione del vuoto ciclico alle camere laterali cave. Questo azionamento provoca la deflessione verso l'esterno delle pareti laterali verticali e l'estensione laterale della membrana elastica porosa orizzontale.]



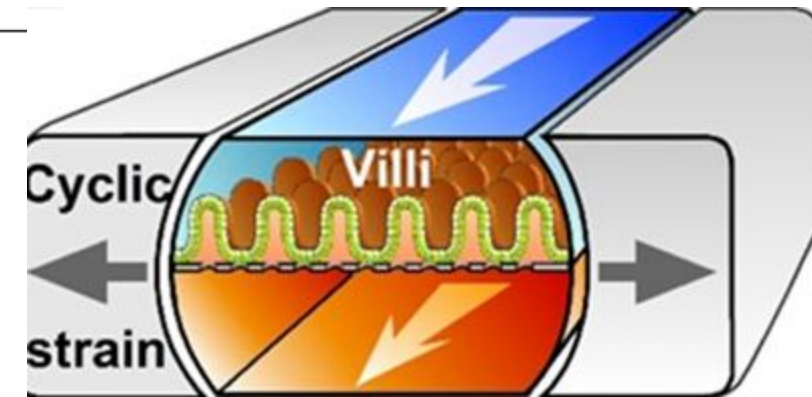
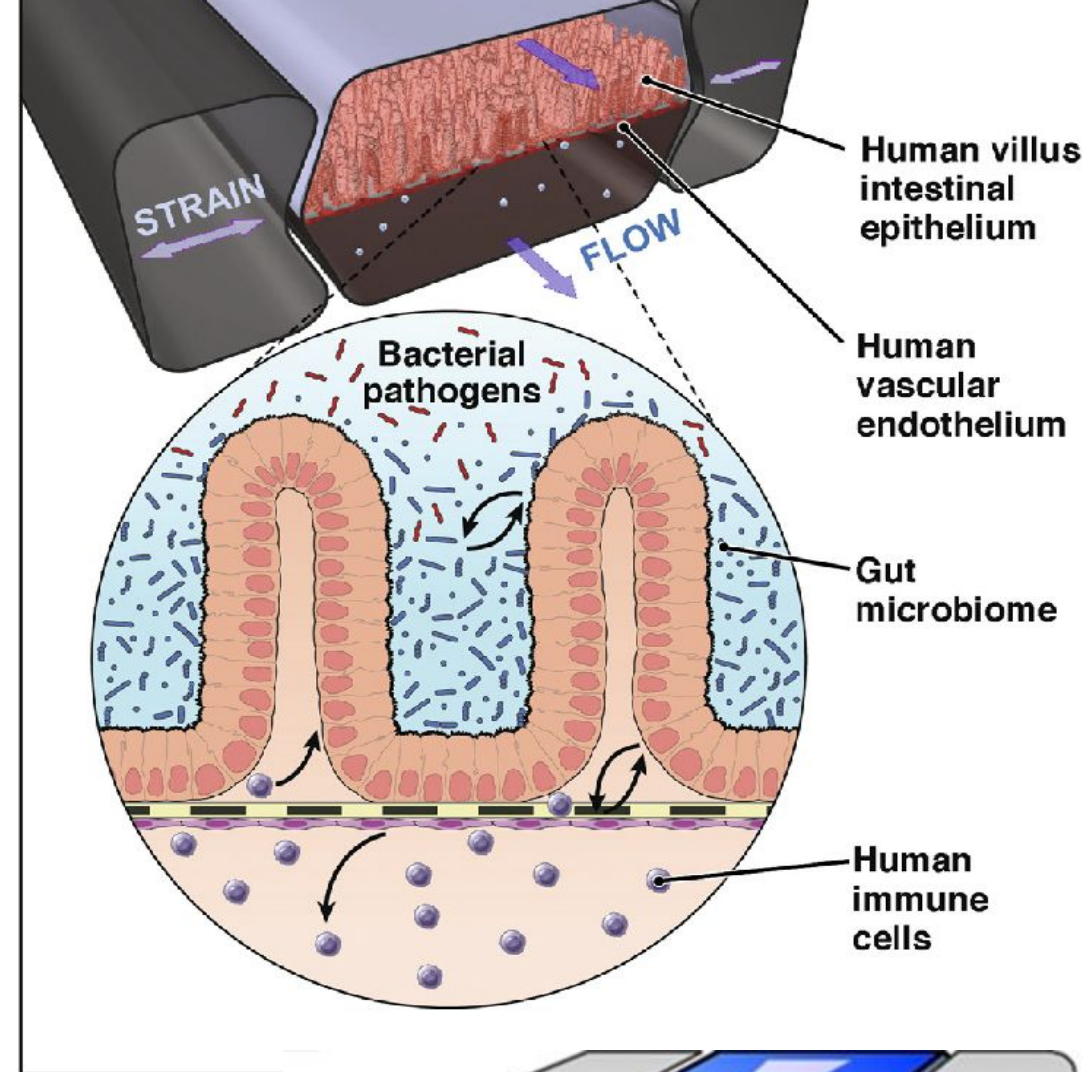
[Development of a primary human Small Intestine-on-a-Chip using biopsy-derived organoids, Magdalena Kasendra, Alessio Tovaglieri, Alexandra Sontheimer-Phelps, Sasan Jalili-Firoozinezhad, Amir Bein, Angeliki Chalkiadaki, William Scholl, Cheng Zhang, Hannah Rickner, Camilla A. Richmond, Hu Li, David T. Breault & Donald E. Ingber]

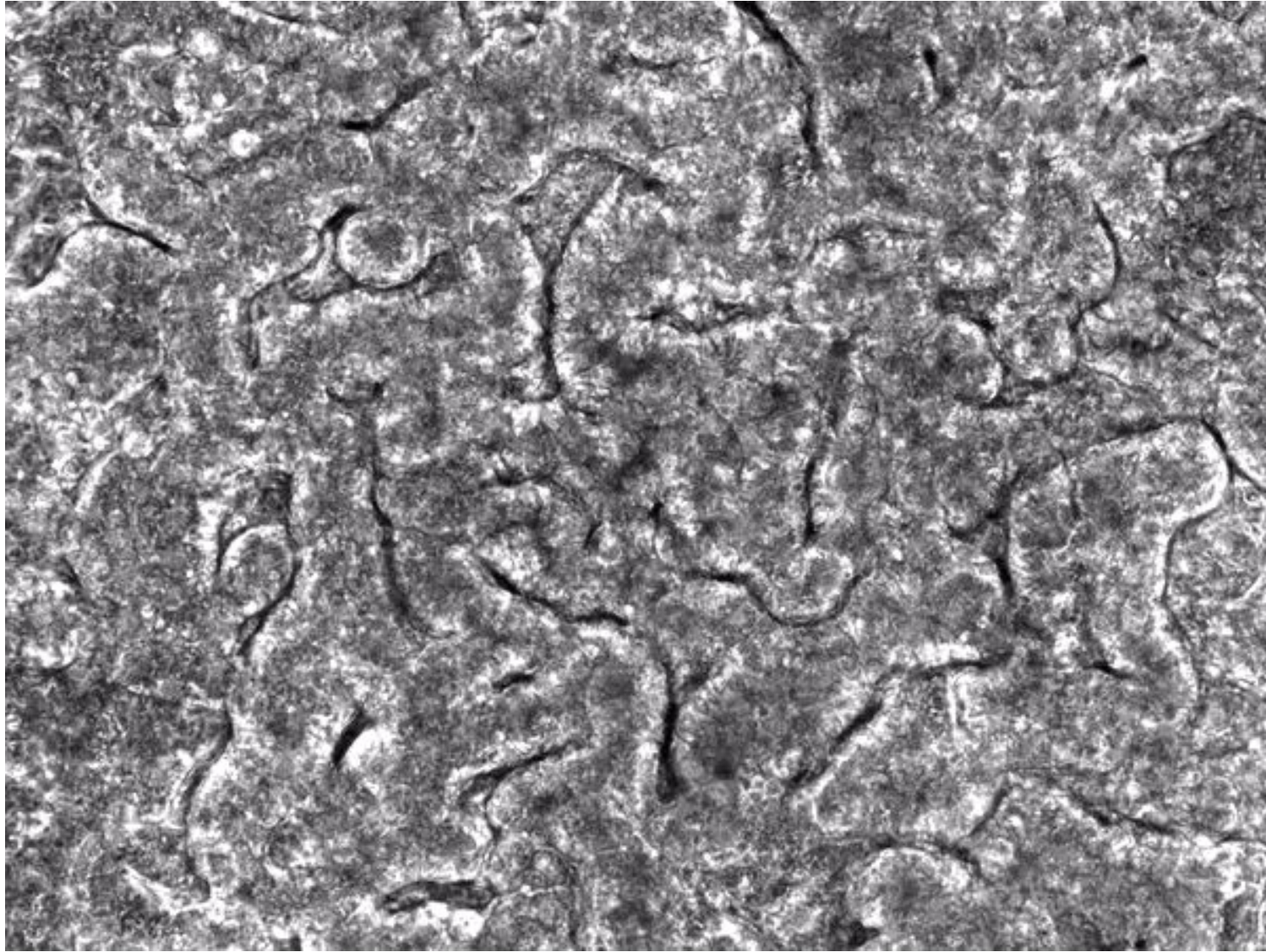
Funzionamento chip

- le cellule intestinali epiteliali sono coltivate nella parte apicale del dispositivo;
- le cellule endoteliali microvascolari crescono al di sotto della superficie della stessa membrana nella parte bassa dei canali vascolari per ricreare l'interfaccia tessuto-tessuto dell'intestino;
- alla base viene applicato un flusso di un sostituto del sangue, a contatto con l'endotelio vascolare;
- In uno studio dell'Harvard University (Boston, MA) le cellule sono esposte ad un flusso ciclico a coltura media a $30 \mu\text{L/h}$, come uno shear stress di 0.02 dyne/cm^2 tra il canale superiore e inferiore: è generata una deformazione meccanica del 10% (strain) con una frequenza di 0.15 Hz da un'aspirazione ciclica alle camere laterali, con attaccamento delle cellule di membrana

[Microfluidic Organ-on-a-Chip Models of Human Intestine

Amir Bein, Woojung Shin, Sasan Jalili-Firoozinezhad, Min Hee Park, Alexandra Sontheimer-Phelps, Alessio Tovaglieri, Angeliki Chalkiadaki, Hyun Jung Kim, and Donald E. Ingber]



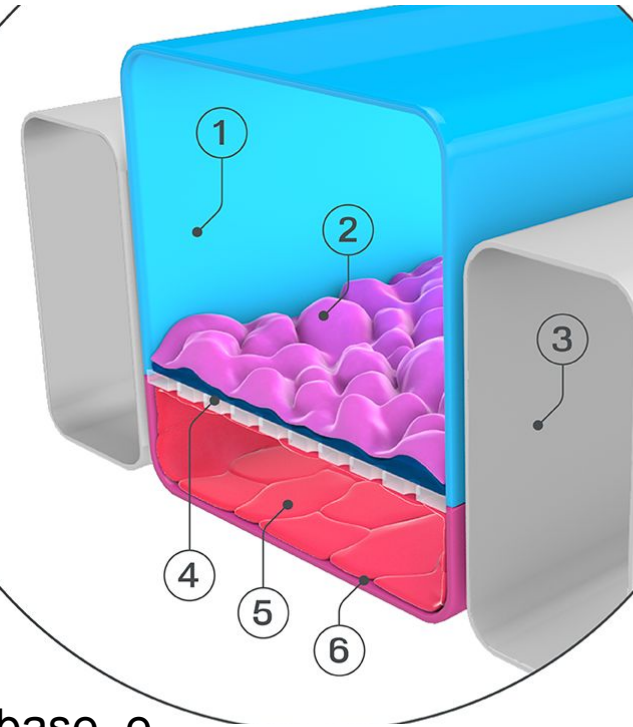
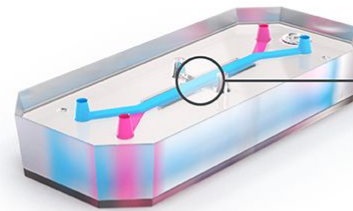


[Contributions of microbiome and mechanical deformation to intestinal bacterial overgrowth and inflammation in a human gut-on-a-chip; Hyun Jung Kim, Hu Li, James J. Collins and Donald E. Ingbera]

Perfusione e coltura cellulare

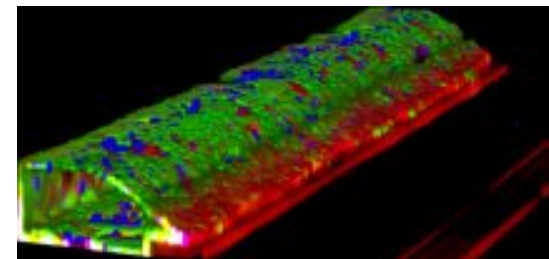
- con flusso laminare e controllo di volumi dai nanolitri ai microlitri
- tramite **siringa o una pompa peristaltica**, le colture possono essere perfuse a qualsiasi velocità di flusso;

1. Epithelial Channel
2. Human Intestine Epithelial Cells
3. Vacuum Channel
4. Membrane
5. Human Intestine Endothelial Cells
6. Vascular Channel



Lo strato **epiteliale** formato sul dispositivo può essere impostato sia all'apice (2.) che alla base, e questo permette di individuare la specifica funzione della **barriera** e di assorbire nutrienti e farmaci.

Le cellule vengono seminate a bassa densità e coltivate solo per tempi brevi (meno di cinque giorni), quindi si è valutata la capacità real-time dell'integrità della barriera in una coltura cellulare su **tubi epiteliali intestinali senza membrana** (Perfused tubular structures without artificial membranes)



Colture cellulari a partire dalle cellule del paziente: dopo il Gut chip

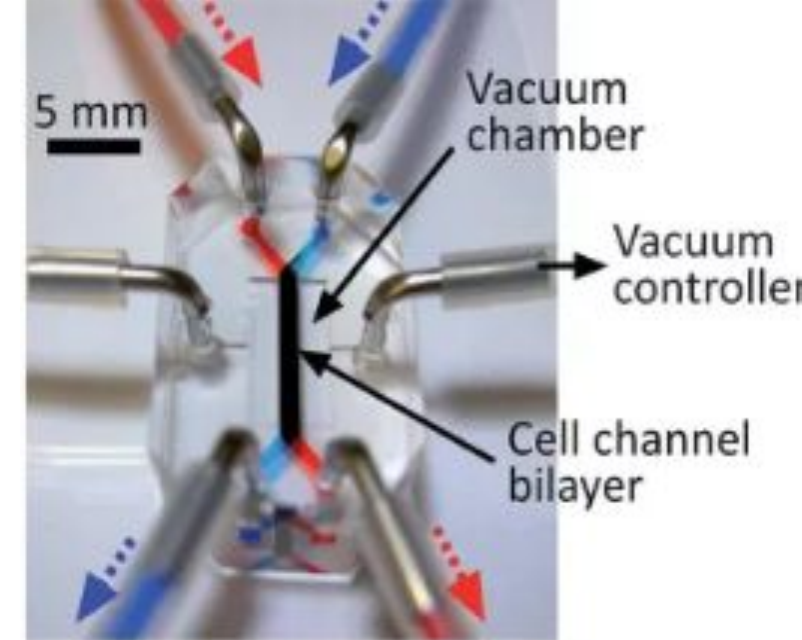
PRIMA: le cellule umane Caco-2 su un monostrato planare nelle convenzionali colture a due dimensioni

DOPO: Queste colture però hanno dei limiti: non possono essere usate in studi dove il genoma è importante, come ad esempio l'analisi della formazione del cancro intestinale; o ad esempio in alcuni studi si è usato il tessuto fetale intestinale umano, ma si deteriorava in 24h di coltura

-> Quindi per superare questi limiti sono stati frammentati tramite enzimi degli enteroidi (cellule staminali epiteliali intestinali umane dell'intestino tenue e del colon) provenienti da biopsie di duodeno di pazienti e messi sotto coltura su un dispositivo: una membrana porosa a due canali di PDMS ricoperta da ECM, con cellule micro vascolari endoteliali primarie umane posizionate sul lato opposto della membrana all'interno del canale parallelo.

Applicazioni

Questo soluzione di intestino su chip con cellule provenienti dal paziente può essere utile in molte applicazioni dove le normali funzioni intestinali sono fondamentali per studiare il metabolismo, la nutrizione e la progressione dei tumori, come anche l'assorbimento di farmaci.



- può essere usato come modello per la risposta dell'intestino alle esposizioni di radiazioni gamma (γ)
- per modellizzare le diverse risposte a seconda dei tipi di batteri a diversi livelli di virus.
- Si possono studiare diversi tipi di enteropatie che gli attuali modelli in vitro non sono in grado di riprodurre come quelle associate alle disfunzioni dell'ambiente enterico, ai tumori dell'apparato colon-rettale, alla fibrosi cistica, alcune malattie dovute a infezioni batteriche o la celiachia.

Vantaggi e svantaggi

- I chip di intestini modellizzati su patologie possono essere sfruttati per identificare nuovi target terapeutici, riproporre alcuni farmaci, testare nuove terapie e portare avanti test in vitro su PK e PD
- spesso peccano nel prevenire l'efficacia e la sicurezza di nuovi farmaci, ma può essere accoppiato ad un altro organo che contribuisce al metabolismo dei farmaci (liver chip) o alla clearance (kidney chip) in una configurazione intesa come **body on a chip**.
- Si possono creare dei modelli personalizzati con componenti addizionali: microbi, batteri patologici, ECM, cellule di tessuti connettivi, cellule neuronali, cellule specifiche immunitarie e alcuni segnali ormonali; sono combinazioni possibili grazie all'isolamento delle cellule dalle biopsie di pazienti con delle specifiche malattie, per facilitare la scelta specifica di farmaci

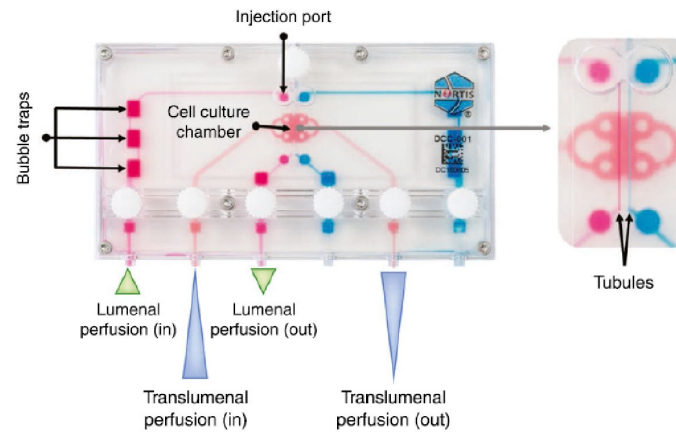


Kidney on a Chip

Kidneys on chip

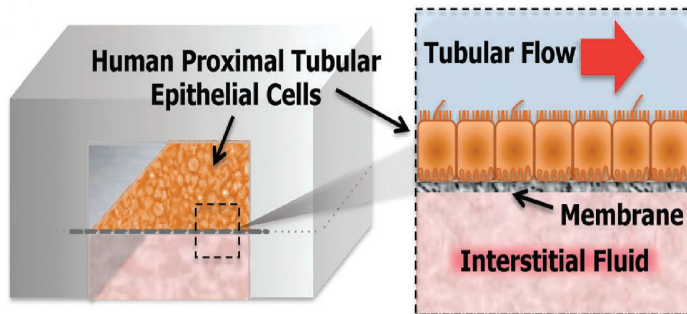
Solo il 12% dei farmaci candidati ai trials clinici raggiungerà effettivamente il mercato a causa degli svantaggi non previsti legati alla farmacocinetica, alla farmacodinamica, all'efficacia e alla tossicità. Le nuove tecniche, compresi gli organi su chip, sono fondamentali per accelerare lo sviluppo di farmaci e per prevederne meglio la natura, i comportamenti e la tossicità. Attualmente, un importante obiettivo della ricerca è la creazione di modelli fisiologici del **tubulo prossimale**.

I **sistemi microfluidici** del tubulo prossimale umano, più affidabili dei modelli preclinici standard (modelli animali *in vivo*, organi perfusi isolati *ex vivo*, coltura 2D), possono rivelarsi utili per valutare la secrezione tubulare renale, per la predizione delle interazioni farmaco-farmaco nel tubulo prossimale dei reni umani e per analizzare gli effetti dell'accumulo di inibitori endogeni nel caso di nefropatia cronica.



Human kidney proximal tubule-on-a-chip

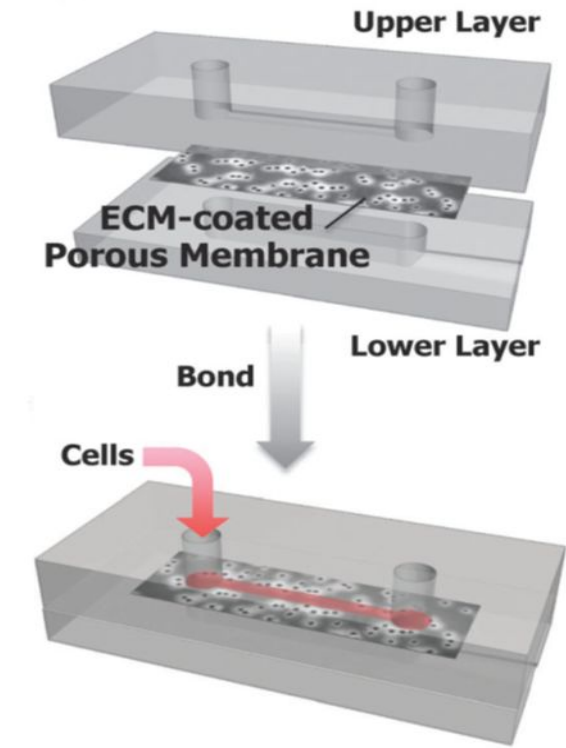
- **Farmaci:** possono indurre nefrotossicità e possono interferire in diversi meccanismi cellulari in maniera dannosa.
- **Tubulo prossimale:** sito primario nel nefrone per la clearance del farmaco; bersaglio principale della nefrotossicità indotta da farmaci.
- **Sforzo di taglio apicale:** influisce sul riarrangiamento dell'actina del citoscheletro delle cellule del tubulo prossimale. Questo aspetto non viene osservato in modelli basati su colture cellulari standard in quanto essi sono dei modelli di natura statica. Quindi, nei modelli "**organ on a chip**", si può simulare in maniera migliore il comportamento della *tight junction* del tubulo prossimale.



Nel 2013, **Jang et al.** hanno pubblicato lo sviluppo di un "rene su un chip". Le cellule impiegate sono state **cellule epiteliali renali isolate dal tubulo prossimale umano**, le quali sono state coltivate in un dispositivo microfluidico, precisamente sulla superficie superiore di una membrana porosa che divide il canale principale del sistema in due canali adiacenti, creando un **canale apicale luminale** e un **canale basale interstiziale**. Per ricreare su chip un microambiente che simulasse quello del tubulo prossimale umano, è stato microfabbricato un dispositivo microfluidico in **polidimetilsilossano** (PDMS) composto da un canale dedicato al flusso laminare e da un ulteriore canale atto a simulare la parte dedicata al flusso interstiziale. I 2 canali sono separati da una **membrana porosa** (pori dell'ordine dei decimi di micrometro) in **poliestere** precedentemente **rivestita di collagene di tipo IV**; questa membrana serve per simulare l'interfaccia tessuto-tessuto del tubulo prossimale renale.

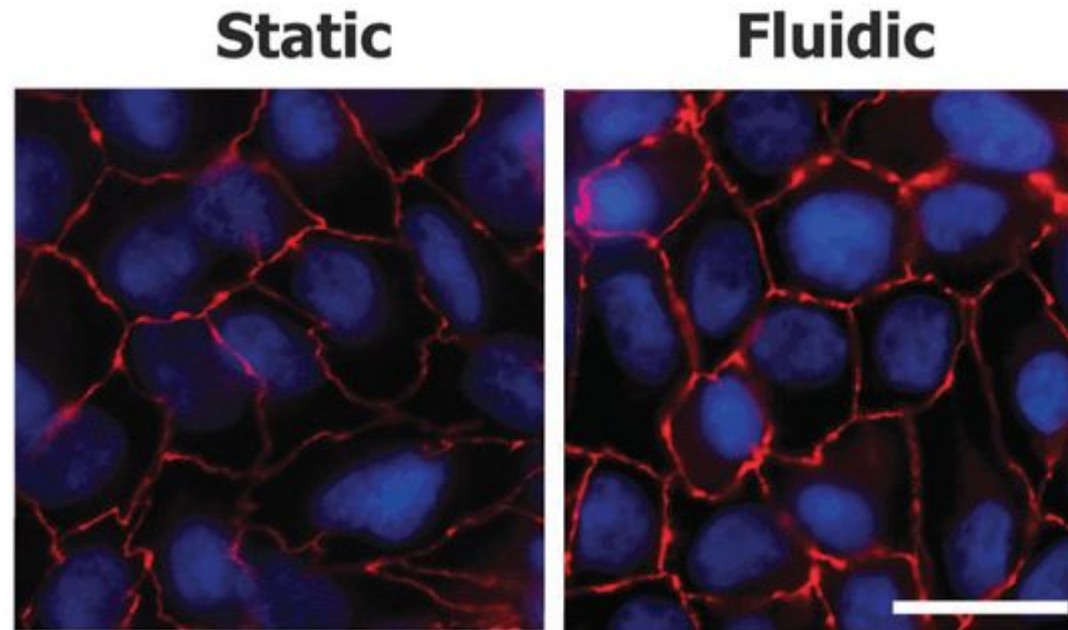
Human kidney proximal tubule-on-a-chip

- Sulla parte superiore della membrana sono state coltivate cellule epiteliali del tubulo (2×10^5 cells/cm²); esse sono state poste a condizioni statiche ed è stato permesso loro, dopo 3 giorni di coltura, di creare un singolo strato confluyente. Successivamente, il canale luminale apicale è stato **perfuso e sottoposto a bassi livelli di sforzo di taglio** (0.2 dyne/cm²). La parte inferiore è riempita con mezzo di coltura atto a simulare lo spazio interstiziale del rene per rendere possibile un'analisi del trasporto transepiteliale.
- Le cellule renali sono state impiantate alla stessa densità e coltivate **anche in assenza di flusso** su membrane simili a quella di poliestere poroso rivestita da materiale della ECM; all'interno di queste membrane sono stati inseriti dei supporti permeabili Transwell.



Human kidney proximal tubule-on-a-chip

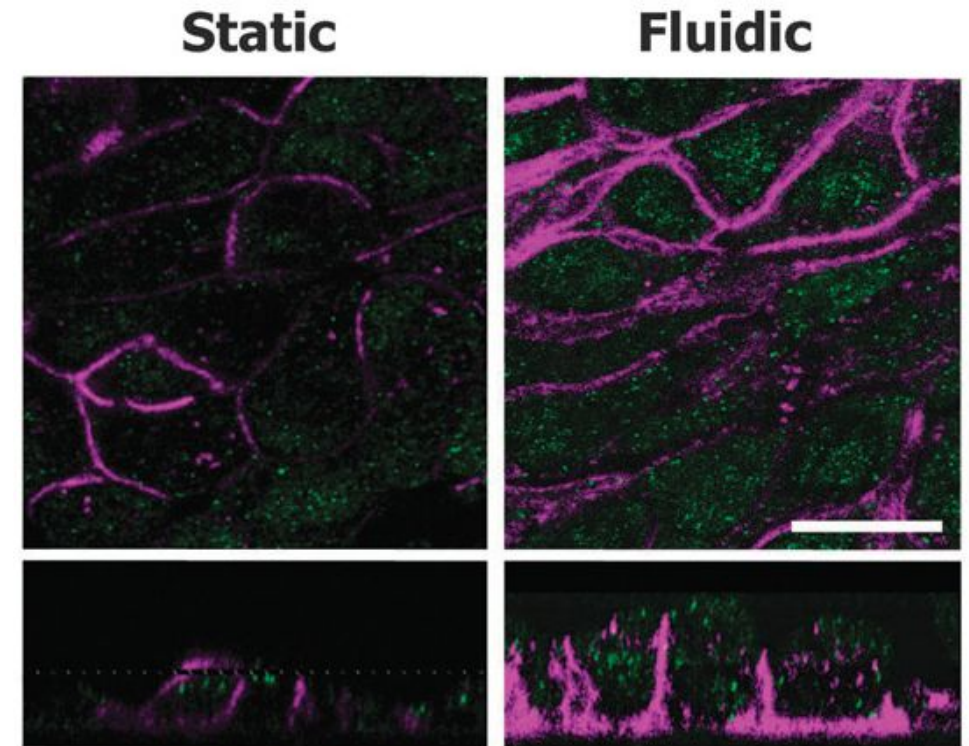
- **Proteina della *tight junction* ZO-1:** dopo 3 giorni di coltura, presenza di monolayers epiteliali confluenti delimitati da una distribuzione continua lineare della proteina considerata.



Human kidney proximal tubule-on-a-chip

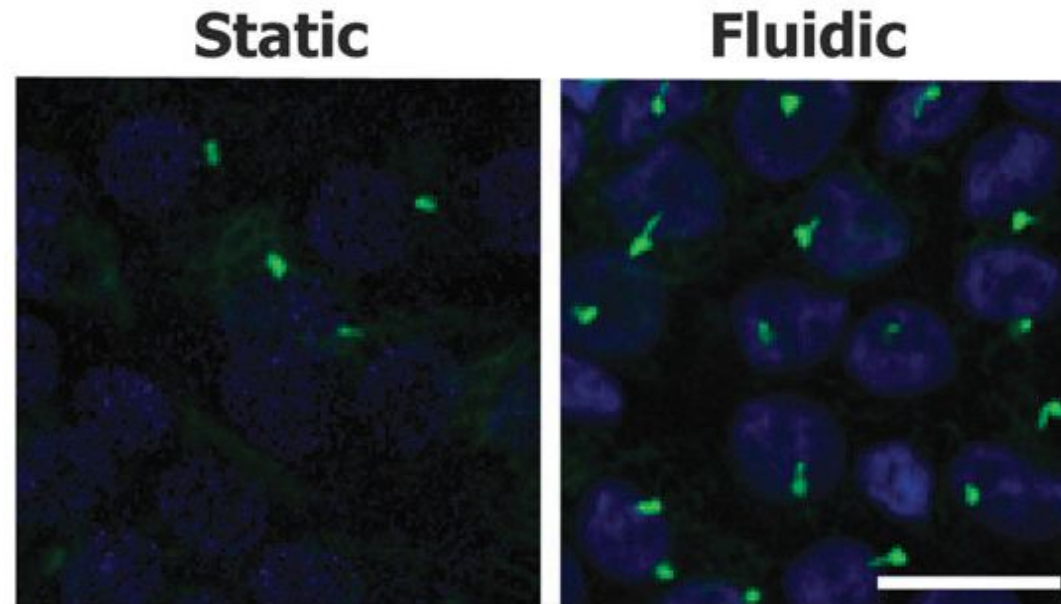
Nelle cellule esposte allo sforzo di taglio fisiologico si è osservata l'insorgenza dell'usuale **polarità delle cellule epiteliali renali**, esattamente come accade *in vivo*; ciò si è potuto notare grazie alla inibizione della Na/K-ATPasi nella membrana basolaterale.

- **Na/K-ATPasi e acquaporina 1:** Le cellule sottoposte ad un flusso mostrano un **aumento** dell'espressione della Na/K-ATPasi e dei canali dedicati all'acquaporina 1 dalle 2 alle 3 volte. Questo aspetto è fisiologicamente rilevante in quanto il tubulo prossimale è responsabile del riassorbimento della maggior parte del filtrato glomerulare e, quindi, una presenza elevata di questi canali transmembrana ha un ruolo cruciale per questa sua funzione.



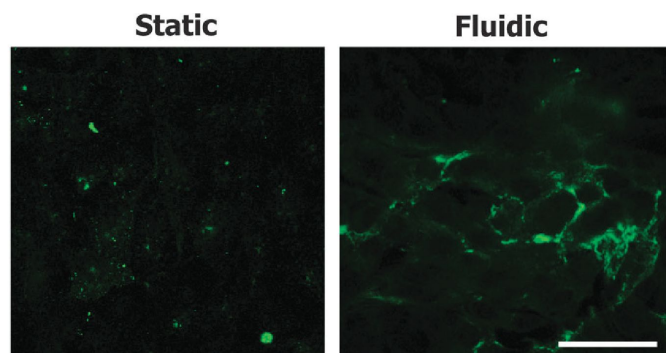
Human kidney proximal tubule-on-a-chip

- **Espressione di ciglia primarie:** l'esposizione delle cellule ad uno sforzo di taglio apicale all'interno del chip microfluidico ha indotto un **incremento** significativo nel numero di cellule dotate di ciglia primarie rispetto alla quantità espressa dalle cellule coltivate sotto condizioni statiche.



Ripristino funzioni delle hPTEC

- **Riassorbimento albumina:** tramite un **trasporto attivo secondario**. Si è quantificato l'assorbimento di albumina marcata con un fluoroforo (**FITC-albumin**, colore verde) da parte del mezzo apicale in condizioni statiche e fluidiche utilizzando la microscopia a fluorescenza. **L'assorbimento di albumina aumenta più del doppio in risposta al flusso.**



- **Glucosio:** aumento di quasi 3 volte del trasporto attivo secondario di glucosio sotto le condizioni di flusso; dipende dall'accrescimento della quantità di un cotrasportatore, noto come **SGLT2**. L'attività di trasporto manifestata dalle cellule sottoposte a condizioni fluidiche riflette un fenotipo simile a quello *in vivo*. Un aumento del glucosio presente nelle urine può essere un precoce segnale di disfunzione e tossicità tubulare farmaco-indotta,.

Nefrotossicità indotta da farmaci “on chip”

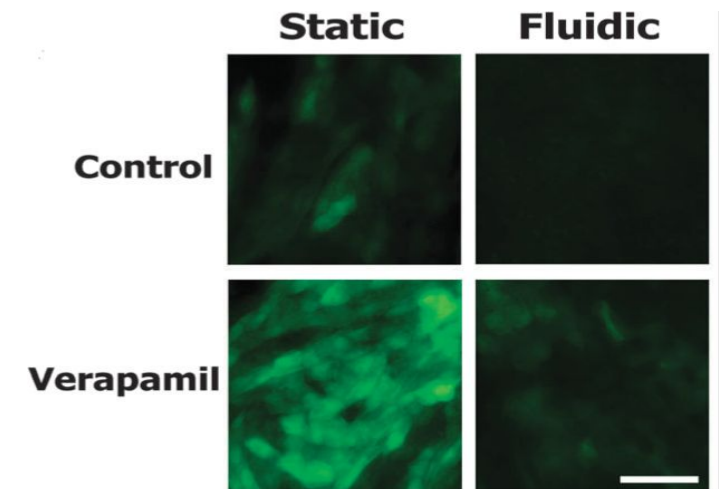
- **Utilizzo del cisplatino:** Quando il cisplatino (100 μ M) è stato iniettato nelle colture, le cellule coltivate in entrambe le condizioni mostravano:
 - incrementi dei danni cellulari misurati dal rilascio di LDH;
 - aumento dell'apoptosi.

In vivo, i **danni cellulari prodotti dal cisplatino possono essere quasi completamente prevenuti** modulando l'inibitore di OCT2 (trasportatore che media quantità cisplatino), la **cimetidina**. Le cellule coltivate sotto flusso, sono apparse più in salute (livelli di rilascio di LDH significativamente ridotti). L'effetto protettivo indotto dalla cimetidina è parso, quindi, più marcato nelle colture del modello microfluidico.

Quando le cellule sono state trattate con cisplatino per un solo giorno ed è stato consentito loro di riprendersi, **il grado di guarigione delle cellule danneggiate nelle colture on-a-chip era migliore rispetto alle cellule coltivate in condizioni statiche**, come è possibile notare dalla soppressione dell'apoptosi. Questo è simile a quanto avviene in molti pazienti che sviluppano insufficienza renale a causa della tossicità provocata dal cisplatino: alla fine, questi guariscono.

Nefrotossicità indotta da farmaci “on chip”

- **Attività della P-glicoproteina 1 (PGP):** misurata quantificando la presenza nelle cellule di **calceina AM**; una **diminuzione della fluorescenza della calceina** comporta un **aumento dell'attività della PGP**. Si può notare come, utilizzando il **verapamil**, (un inibitore della PGP), vi sia un accumulo della fluorescenza della calceina nel citoplasma delle cellule usate. Cellule sottoposte ad un flusso hanno, tuttavia, una fluorescenza citoplasmatica minore.



Kidney proximal tubule-on-chip - Conclusioni

- **Sistema microfluidico di tubulo prossimale (*Jang et al.*):** realizzato per simulare l'interfaccia tessuto-tessuto e l'ambiente meccanico dinamico di un tubulo. Il flusso ha indotto dei cambiamenti nella morfologia cellulare rispetto alle cellule coltivate in condizioni statiche.
- Rispetto alle colture standard (Transwell), le cellule del modello microfluidico mostrano **maggiore altezza, numero superiore di ciglia primarie, espressione maggiore di ATPasi sodio-potassio e di acquaporina 1, assorbimento di albumina e riassorbimento di glucosio**, anche se inferiore a quello in vivo.
- il tubulo prossimale on-a-chip può essere considerato come un utile modello *in vitro* per studiare la fisiologia del rene e le sue malattie, come anche le nefrotossicità. Ciò consente una visualizzazione diretta e un'analisi quantitativa dei diversi processi biologici di un tubulo renale intatto in modi che non sono concessi o che non sono possibili impiegando metodi standard.



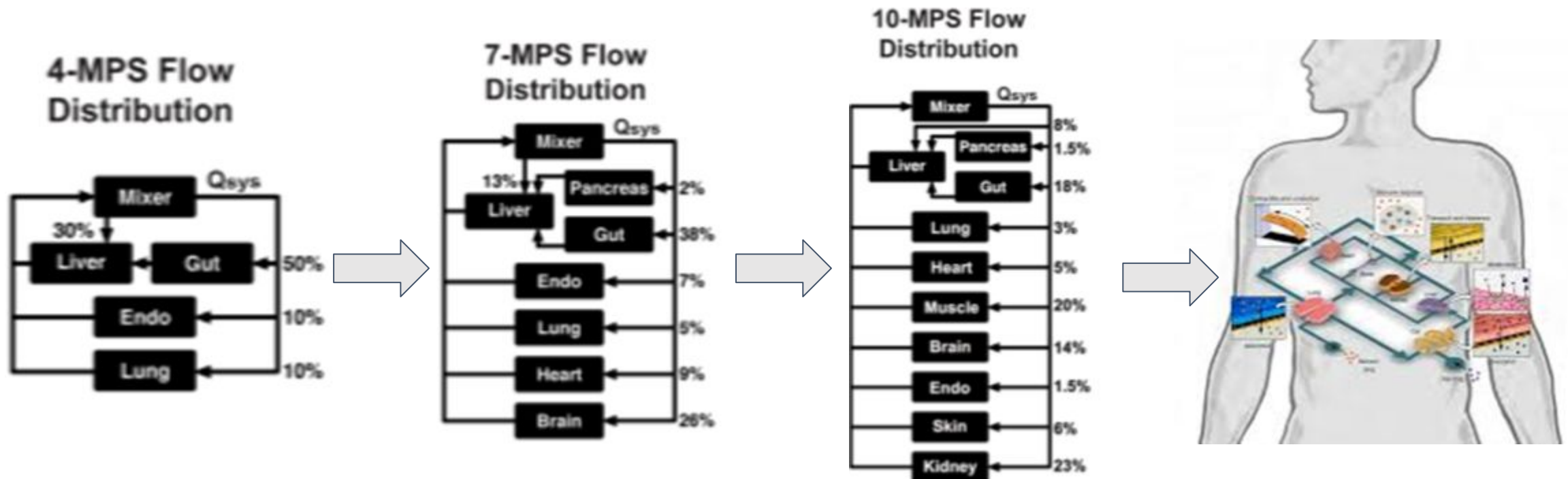
Body on a Chip

Body-on-a-chip

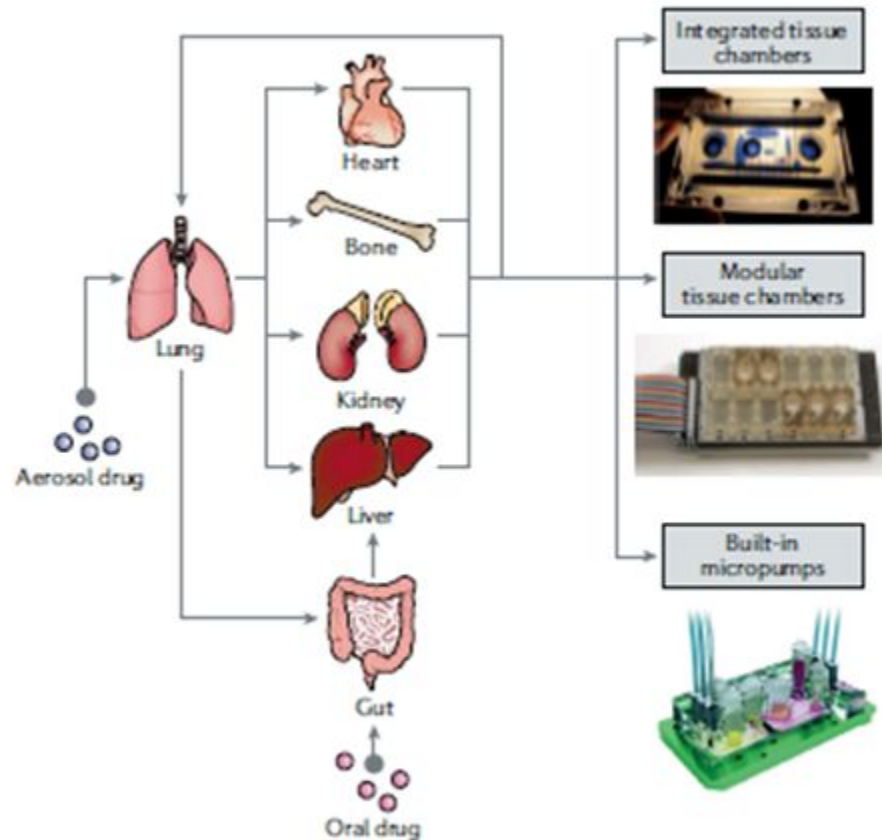
I dispositivi organ-on-a-chip modellano la funzione base di un singolo organo. L'integrazione di più unità può essere utilizzata per modellare le interazioni multiorgano complesse e funzioni sistemiche di livello superiore.

La realizzazione di "body-on-a-chip" rende possibile analizzare simultaneamente le reazioni di diversi tessuti quando sono a contatto con vari farmaci, valutandone la loro efficacia, oltre che loro tossicità, analizzando la distribuzione di questi ultimi nei vari distretti.

Questi sistemi permettono di valutare l'interconnessione dei vari organi o tessuti rendendo meno approssimativo lo studio di malattie che coinvolgono più distretti corporei.



Piattaforme di integrazione



Per stabilire interazioni organo-organo, spesso sono richiesti collegamenti fluidi tra i modelli degli organi, basati su come i vari organi o i modelli realizzati sono fluidicamente interconnessi. Si distinguono 4 tipologie di piattaforme di integrazione:

- piattaforme statica su microscala,
- piattaforme microfluidiche single-pass,
- piattaforme a micro-ricircolo,
- piattaforme microfluidiche ricircolanti pumless.

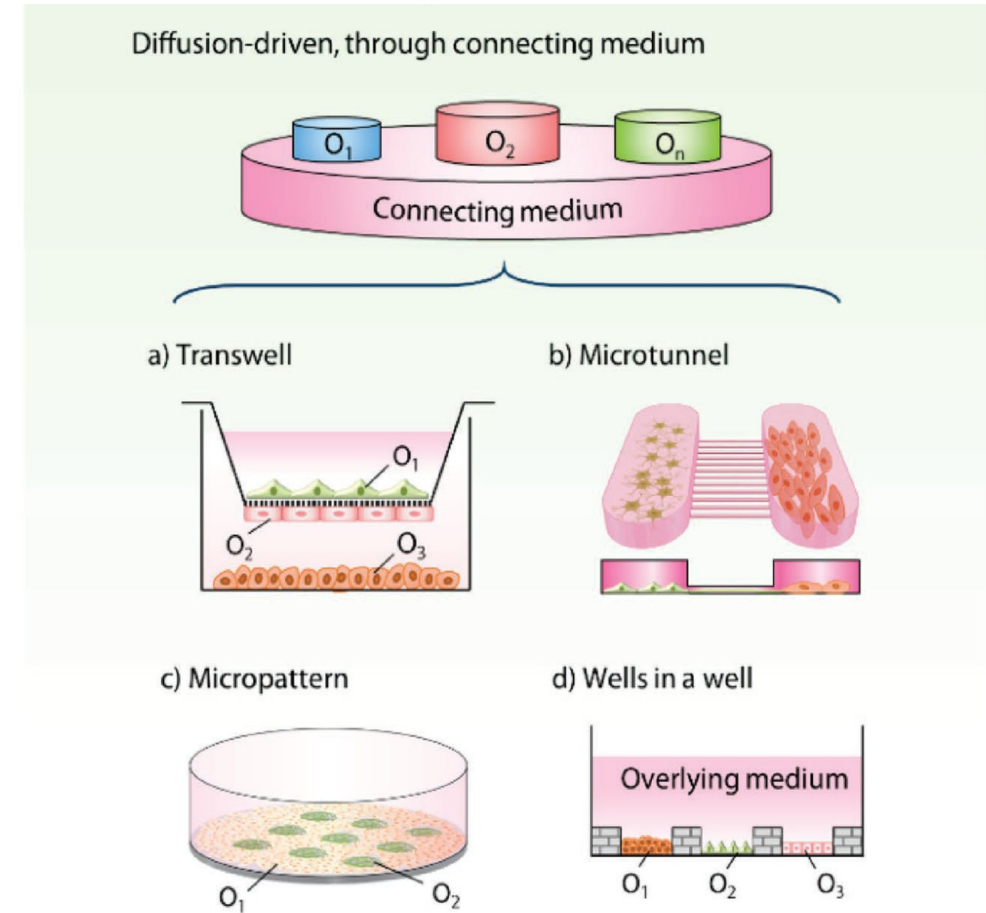
[Advances in organ-on-a-chip engineering. Boyang Zhang, Anastasia Korolj, Benjamin Fook Lun Lai and Milica Radisic]

[Multiorgan Microphysiological Systems for Drug Development: Strategies, Advances, and Challenges. Ying I. Wang, Carlos Carmona, James J. Hickman, and Michael L. Shuler]

Piattaforme statiche su microscala

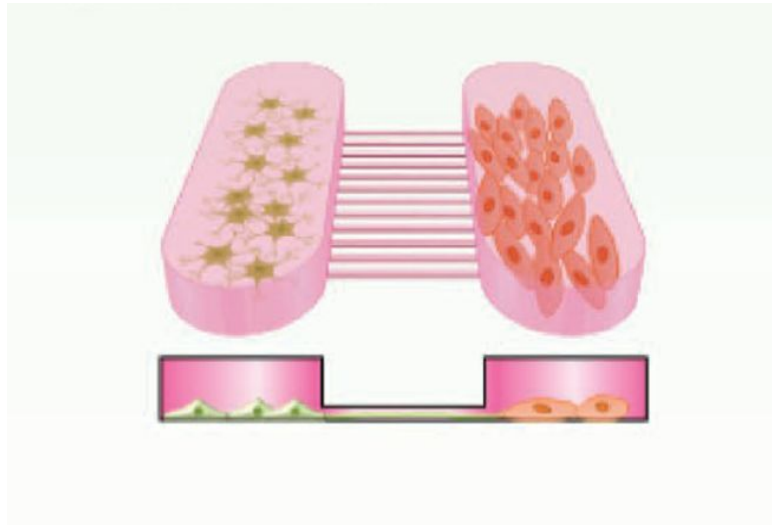
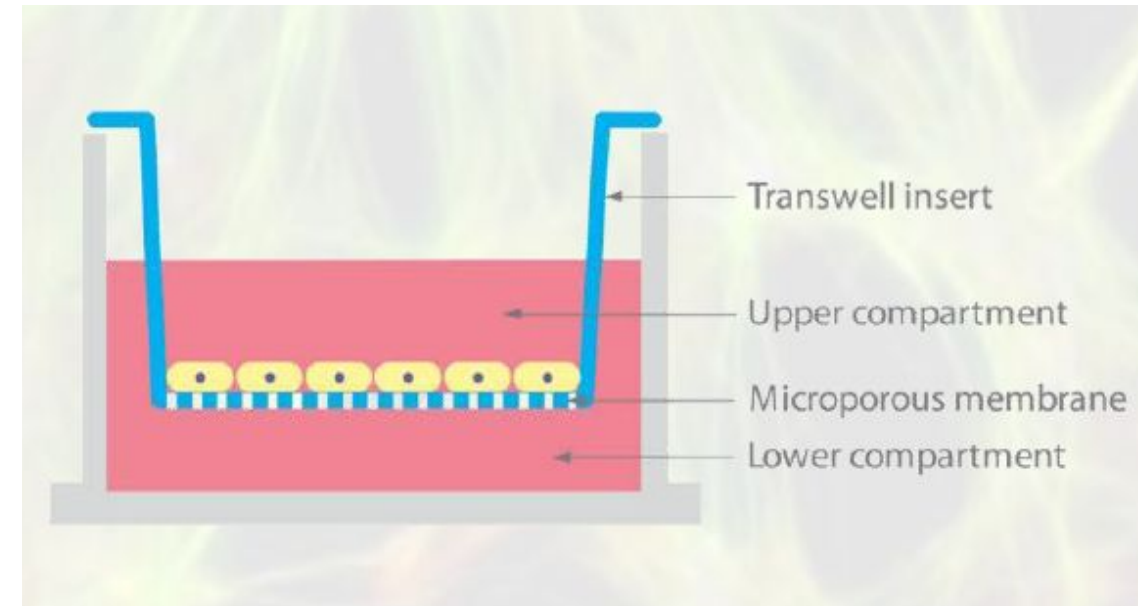
Queste raggiungono le interazioni organo-organo principalmente attraverso il contatto fisico diretto tra tessuti e/o diffusione passiva di ligandi solubili, metaboliti cellulari o componenti cellulari tramite un medium comune che collega tutti gli organi. Le piattaforme statiche su microscala si suddividono in 4 categorie:

- Transwell
- Microtunnel
- Micropattern
- Wells-in-a-well



Transwell

Il transwell è un inserto composto da un sottile strato di membrana polimerica porosa che viene posizionato in un tradizionale pozzo di coltura cellulare, dividendo il pozzo in un compartimento superiore e uno inferiore.

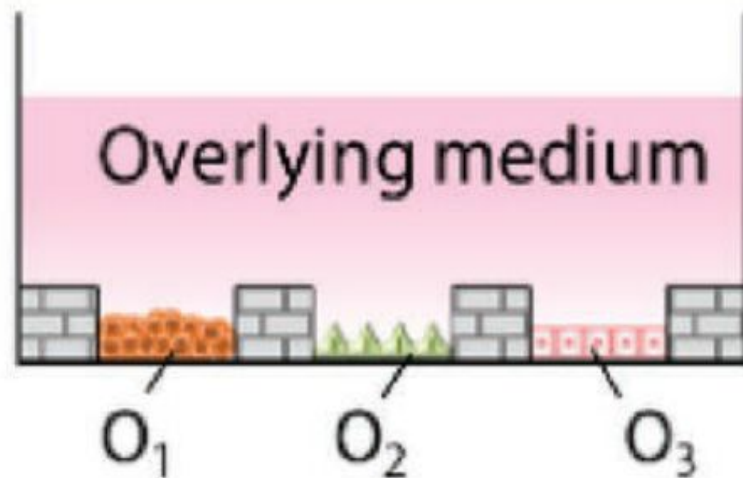
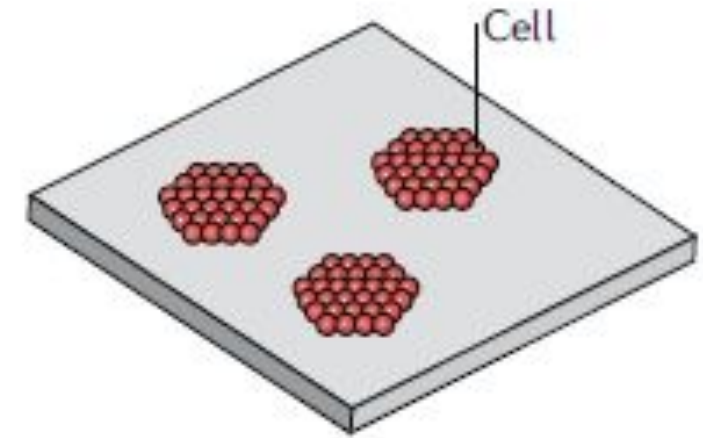


Microtunnel

I microtunnel permettono la creazione di legami orizzontali tra le camere d'organo con tunnel microfabbricati.

Micropattern

La piattaforma micropattern è utilizzata per colture multiorgano in uno scompartimento singolo con cellule organiche differenti separate spazialmente usando le tecniche di micropatterning della superficie.

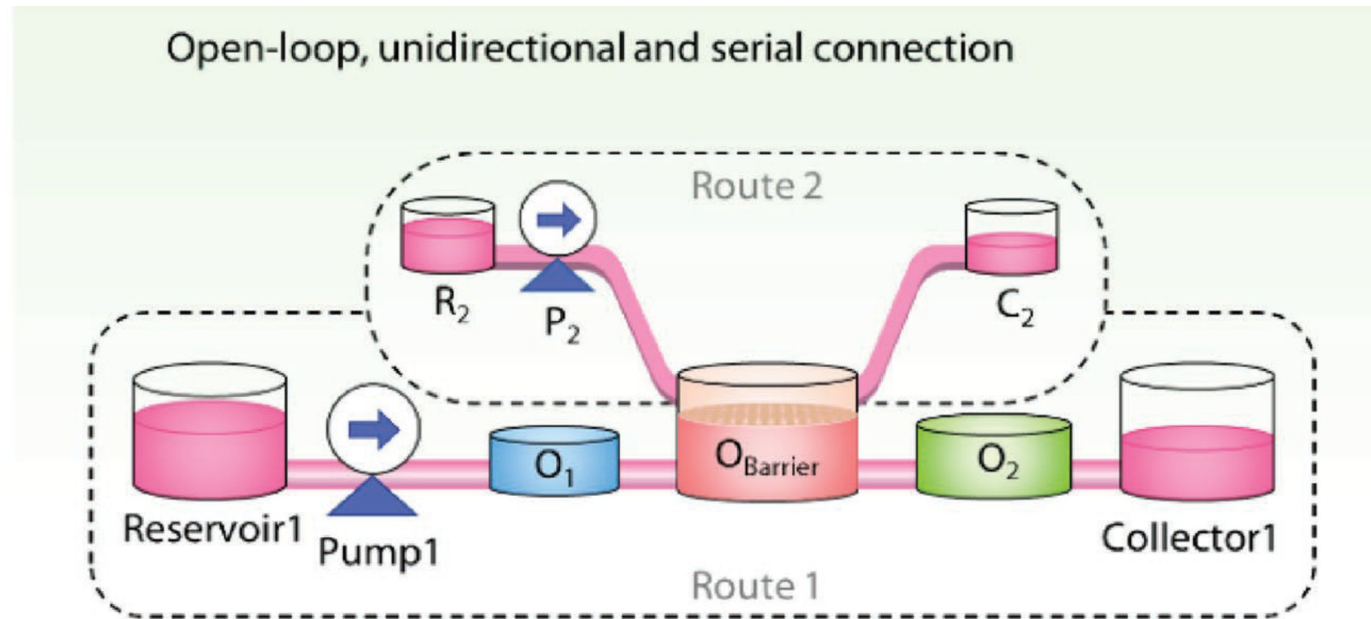


Wells-in-a-well

Il wells-in-a-well (letteralmente pozzi in un pozzo) modifica la piattaforma di micropattern usando barriere fisiche invece di superfici o micropatterning in 3D per separare le varie cellule di organi.

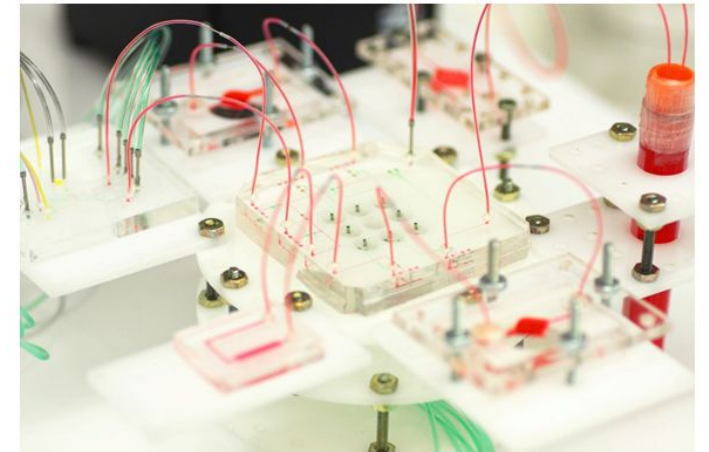
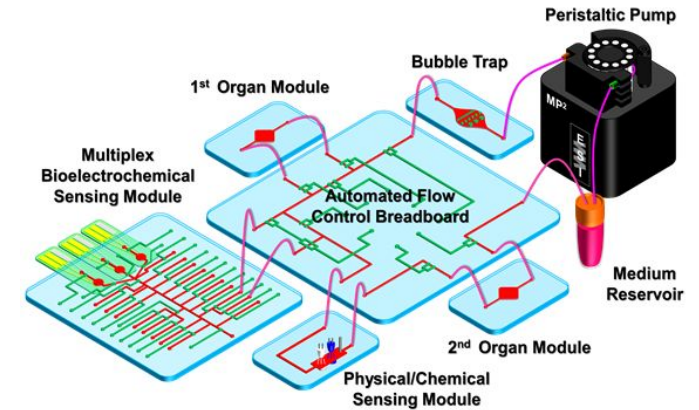
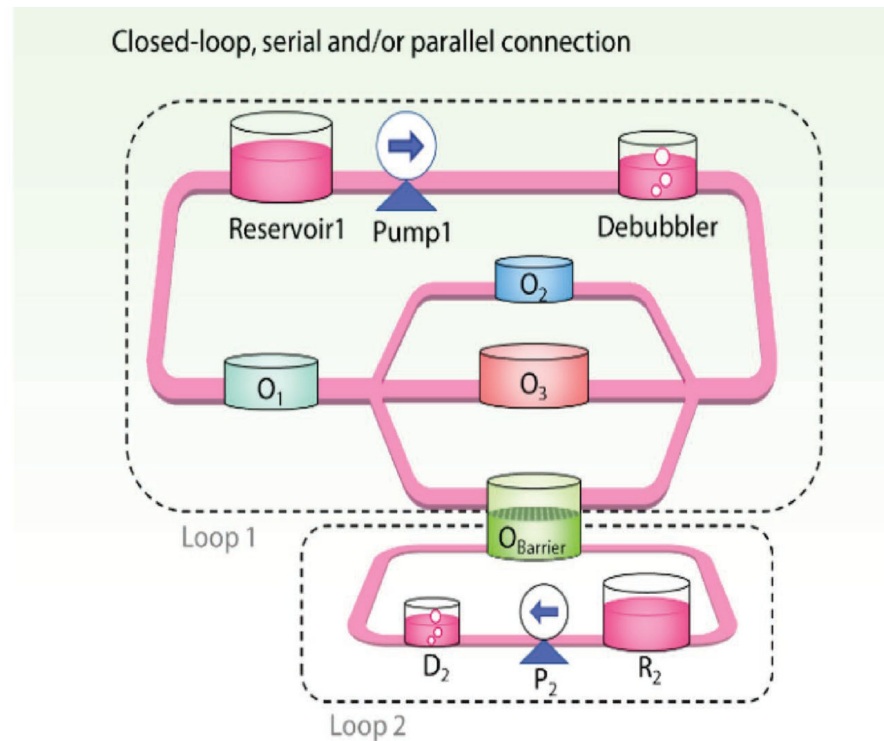
Piattaforme microfluidiche single-pass

Queste integrano modelli di organi diversi applicando la perfusione media sequenziale a circuito aperto attraverso tutte le unità di organi in una singola via fluida, o in più vie separate se sono inclusi i tessuti barriera. Le interazioni organo-organo in tali sistemi sono per lo più unidirezionali. I farmaci e i metaboliti dei farmaci vanno dai modelli di organi a monte verso quelli a valle e non esiste un percorso inverso per gli organi a monte. Questa mancanza di feedback elimina il rilevamento di informazioni potenzialmente importanti nelle interazioni inter-organiche.

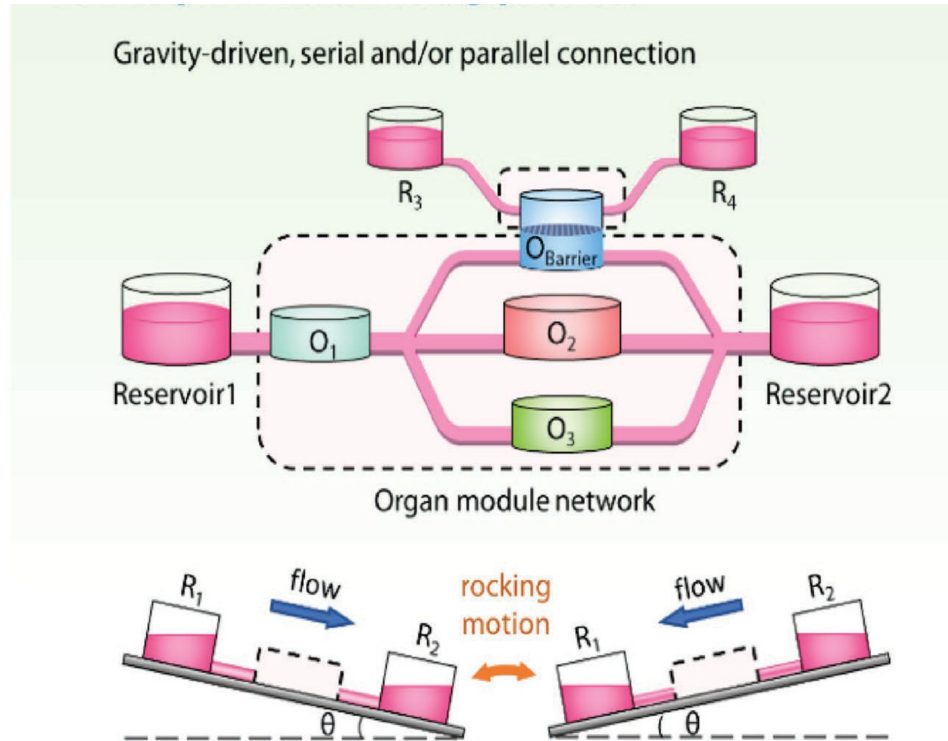


Piattaforme a micro-ricircolo

Queste collegano compartimenti di singoli organi con mezzi di coltura circolanti che imitano il flusso sanguigno nel corpo. Tale perfusione a circuito chiuso facilita le interazioni tra organi che di solito sono mancanti nei sistemi di perfusione a passaggio singolo.



Piattaforme ricircolanti pumpless



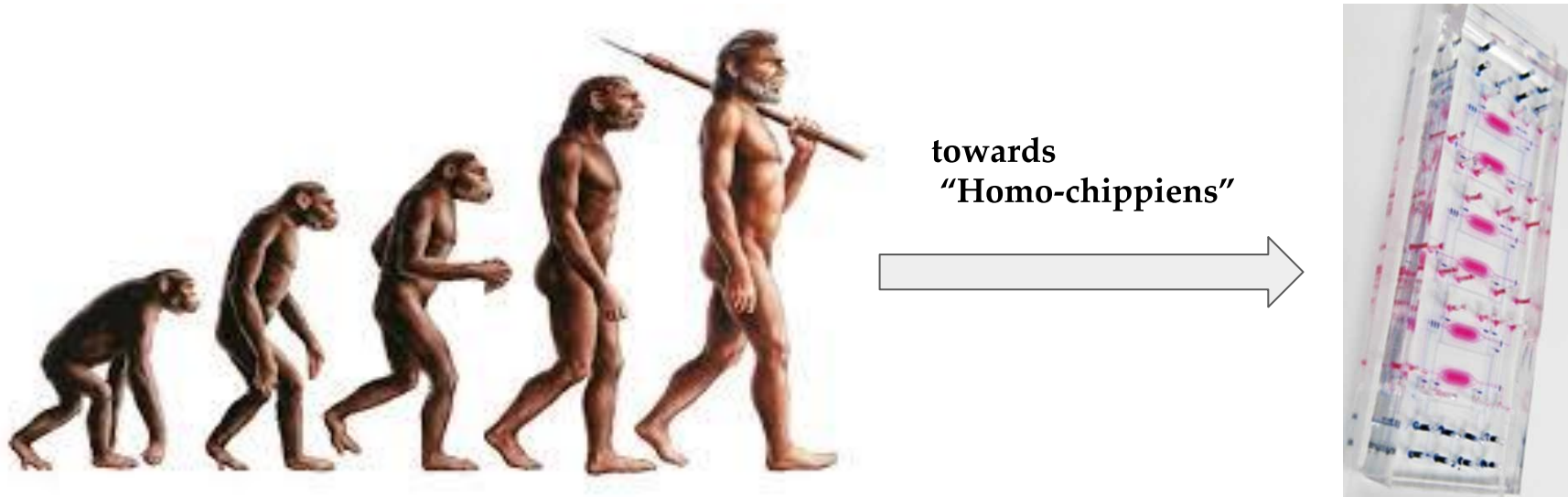
Queste, a differenza delle piattaforme multi-organo a ricircolazione discusse, che si basano sul pompaggio del fluido attivo per spostare il medium tra i modelli degli organi, combinano il flusso passivo gravitazionale e il movimento oscillatorio per far ricircolare il medium. Tale piattaforma fornisce una circolazione alternativa efficiente.

In conclusione

I test effettuati sui singoli modelli di organ-on-a-chip risultano validi e comparabili con i risultati ottenuti in vivo grazie all'utilizzo di cellule umane.

La ricerca si sta focalizzando sull'ottimizzazione della combinazione dei vari organi allo scopo di mimare il funzionamento del nostro organismo.

Nell'aprile del 2017, FDA ha iniziato il processo di valutazione degli organ-on-a-chip al fine di identificare modelli più precisi, rispetto a quelli disponibili oggi, per studiare gli effetti di potenziali rischi in cibo, cosmetici e integratori alimentari.





Grazie dell'attenzione

