



**TURUN  
YLIOPISTO**

## **Aivotutkimusta elinsirulla**

Veriaivoesteen ja Alzheimerin taudin mallinnusta

LuK-tutkielma  
Turun yliopisto  
Bioteknologian laitos  
Biokemian tutkinto-ohjelma

02/2024

*Taru Heinaro*

Taru Heinaro

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä

TURUN YLIOPISTO

Bioteknologian laitos

HEINARO TARU

Aivotutkimusta elinsirulla - Veriaivoesteen ja Alzheimerin taudin mallinnusta

Kandidatutkielma, 23 s.

Biokemia

Helmikuu 2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä

---

Alzheimerin tauti on miljoonia ihmisiä koskettava hermorappeuma- eli neurodegeneratiivinen sairaus. Ymmärrys tämän etenevän muistisairauden aiheuttavasta perimmäisestä syystä on vielä vajaa, mutta tiedossa on sairaudelle tunnusomaisia muutoksia, jotka liittyvät hermoston tukisolujen tai molekyylien epänormaaliin toimintaan ja niistä johtuviin tulehdusreaktioihin ja rappeumiin. Näiden muutosten myötä erityisesti veriaivoeste vaurioituu, jolloin aivojen ja veren välinen aineenvaihdunta häiriintyy. Amyloidi- $\beta$ -peptidin ja hyperfosforyloituneen tau-proteiinin muodostamat kasaantumukset lisäävät niin veriaivoesteen rappeutumista kuin Alzheimerin taudin etenemistä merkittävästi.

Veriaivoesteen tiiviit liitokset estävät suurimolekyylisten rasvaliukoisten aineiden kulkeutumista verestä aivoihin. Tämä vaikeuttaa uusien lääkkeiden kehittämistä neurodegeneratiivisiin sairauksiin, minkä vuoksi tarvitaan toimivia *in vitro* -malleja. Soluista tai kudoksista valmistetut kolmiulotteiset elinsirut pystyvät jäljentämään kudosten toimintaa ja fysiologisia vasteita lääkkeisiin, hormoneihin, biokemiallisiin stressitekijöihin ja signaalinvälitysmolekyyliin. Elinsiruilla tapahtuva ihmisen solujen viljely yhdessä mikrofluidistiikan kanssa mahdollistaa täsmennetyn tutkimuksen veriaivoesteen rakenteellisista ja fysiologisista ominaisuuksista, kuten läpäisevyydestä, makromolekyylien kulkeutumisesta ja kantajaproteiineista. Aivosiruilla tapahtuva tutkimus tuo tärkeää tietoa myös amyloidi- $\beta$ -peptidin ja apolipoproteiini E:n polymorfian aiheuttamasta Alzheimerin taudin riskitekijästä.

Avainsanat: Alzheimerin tauti, veriaivoeste, elinsiru, mikrofluidistiikka

## Sisällys

<b>1</b>	<b>Johdanto .....</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Alzheimerin tauti ja veriaivoeste.....</b>	<b>3</b>
2.1	Patologiset muutokset Alzheimerin taudissa .....	3
2.2	Veriaivoeste aineiden kulkeutumisen rajoittajana.....	4
<b>3</b>	<b>Elinsirut.....</b>	<b>7</b>
3.1	Elinten fysiologiset ominaisuudet elinsirulla.....	8
3.2	Aivosirujen monipuolisuus aivotutkimuksessa.....	9
<b>4</b>	<b>Veriaivoeste ja Alzheimerin tauti sirulla.....</b>	<b>11</b>
4.1	Veriaivoestesiru .....	11
4.2	Siru potentiaalisen hoidon löytämiseen .....	12
<b>5</b>	<b>Aivotutkimuksen ja elinsirujen tulevaisuus.....</b>	<b>15</b>
5.1	Tekniikka luo haasteita.....	15
5.2	Elinsiruteknologian edut ja mahdollisuudet .....	16
	<b>Kirjallisuus.....</b>	<b>18</b>

# 1 Johdanto

Hemorappeuma- eli neurodegeneratiiviset sairaudet, kuten Alzheimerin tauti, koskettavat miljoonia ihmisiä ympäri maailmaa. Lukuisista tutkimuksista huolimatta parantavaa keinoa ei ole keksitty, sillä ymmärrys tautimekanismeista on vajaa. Verenkierroon ja keskushermoston välisen valikoivasti läpäisevän, dynaamisen veriaivoesteen toimintahäiriöiden on todistettu liittyvän keskushermoston patologiisiin muutoksiin. Koska este rajoittaa molekyylien ja yhdisteiden kulkua aivoihin, on lääkkeiden kehittäminen neurodegeneratiivisiin sairauksiin hyvin haastavaa. Tämän vuoksi veriaivoesteen säätelymekanismien ja fysiologian ymmärtäminen on tärkeä osa-alue aivotutkimuksessa. Alzheimerin taudin kannalta on myös tärkeää keskittyä hermoston solujen ja kuljettajamolekyylien toimintaan. (Li ja muut 2023; Sweeney ja muut 2018.)

Eläinmallit auttavat ymmärtämään sairauksien patologiaa ja fysiologisia muutoksia *in vivo*, mutta ihmisen ja koeläimen välillä on lajikohtaisia eroja, joten eläinmallit eivät vastaa ihmissairauksia täsmällisesti. Eläinkokeille halutaan myös löytää eettisempiä vaihtoehtoisia *in vitro* -tutkimusmalleja. Kolmiulotteiset *in vitro* -soluviljelmämallit toimivat paremmin kuin kaksiulotteiset, sillä ne jäljentävät paremmin monimutkaisia ympäristöjä, kuten keskushermostoa. Perinteiset 3D-mallit kuitenkin toimivat rajoitetusti, koska ne eivät mallinna ihmisen fysiologiaa puutteellisten soluviljelmiin liittyvien biokemiallisten vaikutusten, dynaamisten stressitekijöiden tai esimerkiksi neuroverkoston ja verisuoniston fyysisen erottelun vuoksi. (Osaki ja muut 2018.) Näiden rajoitteiden ratkaisemiseksi on kehitetty elinsiruja (engl. *organ-on-chip*), jotka jäljittelevät toimintaa, mekaniikkaa ja fysiologisia vasteita kudoksen- ja elintasolla. Elinsiruilla pystytään tekemään elinspesifistä soluviljelyä, lääkeseulontaa, toksikologista testausta, spesifistä tautimallinnusta ja lääkkeiden kehittämistä. (Zheng ja muut 2016.) Siruja on sovellettu veriaivoestemalleiksi, joiden avulla löytää hoitokeinoja ja toimivia lääkkeitä myös Alzheimerin tautiin (Peng ja muut 2022). Elinsiruja voidaan kutsua myös kudossiruiksi (engl. *tissue chip*).

Tässä tutkielmassa pohditaan elinsiruilla tapahtuvaa aivotutkimusta ja tarkastellaan veriaivoesteen ja Alzheimerin taudin välisen yhteyden tutkimista elinsiruilla. Alzheimerin taudin ja veriaivoesteen esittelyn jälkeen tutkielmassa syvennytään elinsiruteknologiaan ja etenkin mikrofluidistisiin aivosiruihin. Lopuksi keskitytään aivosirututkimuksen tulevaisuuteen, teknologian asettamiin haasteisiin ja mahdollisuuksiin Alzheimerin taudin hoidon löytämisessä.

## 2 Alzheimerin tauti ja veriaivoeste

### 2.1 Patologiset muutokset Alzheimerin taudissa

55 miljoonaa ihmistä sairastaa dementiaa, joka on aivojen toimintaan vaikuttava oireyhtymä ja seitsemänneksi yleisin kuolinsyy maailmassa. Alzheimerin tauti on yleisin demention muoto, joka kattaa oireyhtymän tapauksista 60–70 %. (World Health Organization 2023.) Sairauden oireisiin kuuluvat muistin heikkeneminen, kognitiiviset vaikeudet ja käytöksen muutos. Alzheimerin taudin aiheuttavaa perimmäistä syytä ei vielä tunneta, mutta tiedossa on erilaisia riskitekijöitä – sekä elämäntapaan liittyviä että geneettisiä – jotka lisäävät sairauden todennäköisyyttä. Sairauteen liittyy tunnusomaisia patologisia piirteitä, jotka liittyvät hermoston tukisolujen tai molekyylien epänormaaliin toimintaan ja niistä johtuviin tulehdusreaktioihin ja rappeumiin. (Sweeney ja muut 2018.)

Pieni osa (< 1 %) Alzheimerin taudin tapauksista kehittyy ennen 65 vuoden ikää varhaisiän Alzheimerin tautina. Varhaiseen sairauden puhkeamiseen liittyy amyloidi- $\beta$ -peptidin ( $A\beta$ ) ylituotanto, joka johtuu mutaatioista amyloidiesiasteproteiinin geenissä tai geeneissä, jotka koodaavat  $A\beta$ :n tuottoa säätelevän  $\gamma$ -sekretaasikompleksin komponentteja. Sekretaasi pilkkoo amyloidiesiasteproteiinin, jolloin muodostuu  $A\beta$ -peptidi. Suurin osa Alzheimerin taudin tapauksista esiintyy kuitenkin 65. ikävuoden jälkeen, jolloin  $A\beta$ :n heikentynyt poistaminen aivoista on yksi sairauden merkittävimpiä tekijöitä.  $A\beta$  kulkeutuu veriaivoesteen läpi veren ja aivojen välillä kuljetusmolekyylien avulla. Esimerkiksi P-glykoproteiinin LDL-reseptoriproteiini-1 ja apolipoproteiini E (apoE) osallistuvat  $A\beta$ :n poistamiseen aivoista ja siten muutokset niiden toiminnassa ovat yhteydessä peptidin kasaantumiseen. Kasaantunut  $A\beta$  muodostaa amyloidiplakkeja ja liukoisia oligomeerisia rakenteita, jotka vaurioittavat muun muassa keskushermoston synapseja ja aiheuttavat rappeumia aivoissa lopulta johtaen dementiaan.  $A\beta$ :n toksisuus liittyy vahvasti tau-proteiiniin, joka hyperfosforyloituneena muodostaa neurosärkeiden ”sotkuja” (engl. *neurofibrillary tangle*) hermosolujen sisälle. (Liu ja muut 2013.)

Merkittävä Alzheimerin taudin geneettinen riskitekijä liittyy apoE:n geneettisiin variantteihin *APOE2*, *APOE3* ja *APOE4*, joista resessiivisen *APOE4*-alleelin on homotsygoottina näytetty lisäävän Alzheimerin taudin riskiä huomattavasti, vaikka muut alleelit näyttävät jopa vähentävän riskiä. ApoE osallistuu normaaliin  $A\beta$ :n kuljettamiseen, mutta apoE4:n epänormaali kuljetustoiminta lisää  $A\beta$ -kasaantumien muodostumista ja tau-proteiinin fosforylaatiota. (Blanchard ja muut 2020; Liu ja muut 2013.) Kuoleman jälkeen (engl. *post mortem*) tehdyissä tutkimuksissa on perisytytimarkkerina käytetty

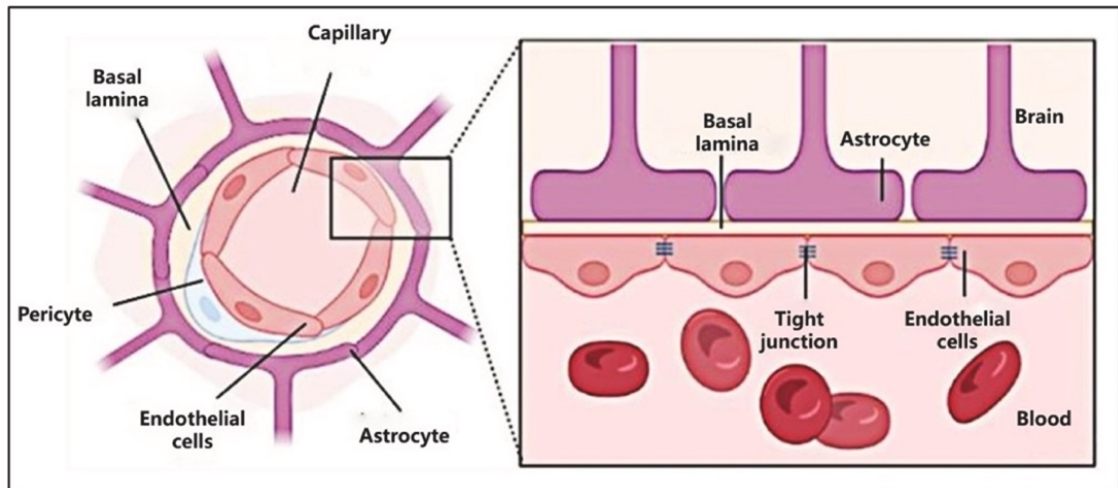
verihäiriötekijän reseptoria PDGFR $\beta$ , jonka avulla on havaittu vähentynyttä perisytytien peittävyyttä ja lukumäärää, mikä oli geneettisesti yhteydessä APOE4-alleeliin. Perisytyt ylläpitävät veriaivoesteen eheyttä ja siten niiden vähentynyt määrä johtaa veriaivoesteen rappeutumiseen. Perisytyt lisäksi poistavat A $\beta$ :aa aivoista, joten niiden degeneraatio lisää kasaantumien muodostumista. (Sweeney ja muut 2018.)

Alzheimerin tautiin liittyy myös hermoston tulehdustila. On todistettu, että A $\beta$  vaikuttaa hermostotulehduksiin aktivoimalla komplementin klassisen reaktiotien, mikä voi lisätä peptidin neurotoksisuutta vaikuttaen hermoston rappeutumiseen. (Rogers ja muut 1992.) Myös mikroglia-solut aktivoivat tulehdusreaktioita. Neurodegeneraation aikana mikroglia-solut aktivoituvat ja niiden määrä kasvaa, mikä lisää niiden liikatoimintaa. Hyperaktivoituneet mikroglia-solut aktivoivat komplementin, mikä johtaa tulehdusreaktioiden lisäksi neuroneiden ja astrozyttien katoon. (Heneka ja muut 2010; Park ja muut 2018.)

## 2.2 Veriaivoeste aineiden kulkeutumisen rajoittajana

Aivojen runsas verisuonisto kuljettaa soluille tärkeitä aineita, kuten happea ja ravinteita. Lisäksi verisuonia pitkin kulkeutuvat aivoista poistettavat aineet, kuten hiilidioksidi ja aineenvaihdunnan jätteet. Veren ja aivojen välillä on valikoivasti läpäisevä, dynaaminen veriaivoeste, joka osallistuu aivojen homeostasian ja aineenvaihdunnan säätelyyn. Veriaivoeste suojelee aivoja ja keskushermostoa neurotoksiineilta, taudinaiheuttajilta ja tulehduksilta. Tiukasti säädelty läpäisevyys kuitenkin rajoittaa lääkemolekyylien kulkeutumisesta aivoihin. Veriaivoesteen vajaatoiminta puolestaan johtaa läpäisevyyden lisääntymiseen, jolloin esimerkiksi tulehduksia aiheuttavia molekyylejä pääsee aivoihin. (Daneman ja Prat 2015.)

Veriaivoeste muodostuu soluista, jotka ovat vahvasti vuorovaikutuksessa toistensa kanssa. Este rakentuu aivojen hiussuonten endoteelisoluista (engl. *brain microvascular endothelial cells*, BME-solut), glia-soluihin kuuluvien astrozyttien päätehaarakkeista ja mikroglia-soluista, sileisiin lihassoluihin kuuluvista perisytyteistä sekä tyvikalvosta (Kuva 1). Astrozyttien tehtävänä on hankkia hermostolle energiaa ja metaboliatuotteita sekä säädellä aivoverisuoniston aineenvaihduntaa. Perisytytien vuorovaikutus endoteelisolujen kanssa on välttämätöntä tiiviiden liitosten muodostamisessa ja aineiden kuljetuksen säätelyssä. Mikroglia-solut ylläpitävät keskushermoston immuunipuolustusta ja kudostasapainoa muun muassa fagosytoimalla aivoista vanhoja soluja. (Segarra ja muut 2021; Sweeney ja muut 2018.)



**Kuva 1. Veriaivoesteen rakenne.** Veriaivoeste on aivojen hiussuonten (engl. *capillary*) ympärille rakentunut dynaaminen este, joka rajoittaa keskushermoston ja verenkierron välistä aineenvaihduntaa. Veriaivoesteeseen kuuluvat endoteelisolut (engl. *endothelial cells*), joiden välissä ovat tiiviit liitokset (engl. *tight junction*). Endoteelin ja aivojen välillä on tyvikalvo (engl. *basal lamina*), astroosyyttejä (engl. *astrocyte*) ja perisytyttejä (engl. *pericyte*). Kuvan lähde: Liu ja muut (2022).

Vaikka happi, hiilidioksidi ja pienet, alle 500 Da:n kokoiset rasvaliukoiset molekyylit kulkeutuvat passiivisella diffuusiolla veriaivoesteen läpi, monien muiden aineiden kulkeutuminen on hyvin rajoitettua. Veriaivoesteen läpäisevyyttä rajoittavat endoteelisoluissa kiinni olevat tiiviit liitokset. Ne muodostuvat okludiinista, klaudiiniproteiineista, rakennusproteiineista ZO-1, ZO-2 ja ZO-3 sekä BME-solujen JAM-risteysadheesiomolekyyleistä. Liitosten muodostama este on niin vahva, että pienimpienkin ionien, kuten  $\text{Na}^+$ - ja  $\text{Cl}^-$ -ionien kulkeutuminen on rajoitettua, eli vapaata passiivista diffuusiota ei juuri tapahdu. Tämän vuoksi veriaivoesteen transendoteelinen sähköinen resistenssi (engl. *transendothelial electrical resistance*, TEER) on hyvin vahvaa. (Sweeney ja muut 2018.)

Parasellulaarisen eli solujen väleistä tapahtuvan kulkeutumisen vähäisyys pystyisi eristämään aivot monilta välttämättömiltä rasvaliukoisilta ravintoaineilta, kuten glukoosilta ja aminohapoilta, jos lukuisat erikoistuneet kuljettajat eivät toisi ravintoaineita aivoihin. Kuljettajia ovat esimerkiksi glukoosia kuljettava GLUT1 ja monet aminohappoja, hiilihydraatteja, hormoneja, vitamiineja ja orgaanisia kationeja ja anioneja kuljettavat kantajaproteiinit. Proteiineja ja peptidejä kuljetetaan reseptorivälitteisellä transsytoosilla verestä aivoihin ja esimerkiksi apolipoproteiinien avulla sieltä pois. Hiussuonten endoteelin ATP:tä sitovat kasettikuljettajat eli effluksiproteiinit käyttävät ATP:ta kuljettaakseen rasvaliukoisia yhdisteitä ulos aivoista ja keskushermostosta. Aineiden



kuljettaminen pois aivoista on tärkeää esimerkiksi oligomeerisen A $\beta$ :n kasaantumisen ehkäisemiseksi. (Sweeney ja muut 2018.)

Veriaivoesteen toimintahäiriöiden on todistettu liittyvän Alzheimerin taudin patologiin muutoksiin. Endoteelisolujen, astrozyttien ja perisyyttien vauriot, tiiviiden liitosten proteiinien vähentyminen, P-glykoproteiinien heikentynyt kuljetustehokkuus ja ilmentyminen sekä aivojen amyloidiangiopatia ovat yhteydessä veriaivoesteen muutoksiin. Veriaivoesteen eheyden rikkoutuminen lisää läpäisevyyttä, jolloin verestä kulkeutuu toksisia molekyylejä ja soluja aivoihin, mikä yhdessä tulehduksen ja immuunivasteiden kanssa voi johtaa hermoston solujen rappeumiin. (Sweeney ja muut 2018.) Ei kuitenkaan olla varmoja, johtuvatko veriaivoesteen häiriöt itse Alzheimerin taudista vai johtuuko sairaus häiriöistä, minkä vuoksi patologisten ja fysiologisten mekanismien tutkiminen on hyvin tärkeää toimivien hoitokeinojen kehittämisessä. Toisin kuin muihin sairauksiin, neurodegeneratiivisiin sairauksiin on hyvin haastavaa kehittää lääkkeitä. Veriaivoesteen tiiviit liitokset rajoittavat suurimolekyylisten ja rasvaliukoisten keskushermostolääkkeiden kulkeutumista verestä aivoihin. Jotta voidaan maksimoida tehokkaiden ja potentiaalisten lääkkeiden kehitys, on toimivien ja tehokkaiden veriaivoesteen *in vitro* -mallien kehittäminen ensiarvoisen tärkeää. (Li ja muut 2023.)

### 3 Elinsirut

Elinsirut ovat soluista tai kudoksista valmistettuja kolmiulotteisia *in vitro* -malleja, jotka pystyvät jäljentämään kudosten toimintaa ja fysiologisia vasteita lääkkeisiin, hormoneihin, biokemiallisiin stressitekijöihin ja signaalinvälitysmolekyyleihin. Niillä voidaan säädellä tärkeitä parametreja, kuten konsentraatiogradienttia, leikkausjännitystä ja kudoksen elin-vuorovaikutuksia. Elinsiruja on erilaisia: toisissa järjestelmissä solut järjestäytyvät itse elintä muistuttaviksi rakenteiksi ja toisissa solut kasvavat hallittuihin rakenteisiin. Sirut voivat olla preskriptiivisiä eli ohjaavia malleja, joissa tietyt solutyypit on sijoitettu tarkasti tiettyihin paikkoihin tai aitioihin, joilla jäljennetään esimerkiksi elinten toiminnallisia osia, kuten munuaisen proksimaalista kiemuratiehyettä tai maksan hiussuonipoukamaa. Erilaisten mallien lisäksi elinsirujen koot vaihtelevat muutaman sadan mikrometrin kokoisista mikroskooppimalleista kokonaiseen, muutaman senttimetrin kokoiseen monielinsiruihin. Kaikille elinsiruille on yhteistä miniatyyristen ihmiselimestön toiminnallisten osien jäljentäminen, eri solujen järjestäytyminen kolmiulotteisesti ja virtaavien nesteiden hallinta. (Low ja Tagle 2017.)

Mikrofluidistiikka on tekniikkaa, jolla tarkasti säädellään ja käsitellään nesteitä mikromittakaavassa. Elinsiruilla mikrofluidistiikan avulla kontrolloidaan nesteitä nano- tai pikolitran tilavuuksissa hyödyntäen kanavia, joiden koko vaihtelee kymmenistä satoihin mikroneihin. (Wu ja muut 2020.) Mikrofluidistisille laitteille voidaan rakentaa solutason ja solunsisäisen tason rakenteita, joita voidaan käyttää solujen ohjaamiseen tai järjestämiseen. Tämä mahdollistaa muun muassa solujen välisten vuorovaikutusten ja parakriinisen signaloinnin tutkimisen sekä biomolekulaarisen analyysin. Koska mikrofluidististen laitteiden dynaaminen ympäristö nestevirtauksineen mukailee *in vivo* -olosuhteita paremmin kuin staattinen viljely-ympäristö, mikrofluidistiikka mahdollistaa täsmällisemmän tutkimuksen sairauksista ja lääkekuljetusmekanismeista esimerkiksi aivojen eri alueille. (Holloway ja muut 2021; Jarrah ja muut 2023.)

Elinsirut valmistetaan mikromittakaavan tuotannolla, jolla pyritään tarkan suunnittelun avulla saavuttamaan kontrolloidut solukasvut ja -vuorovaikutukset, nestevirtausnopeudet sekä lääke- ja yhdistealtistukset. Sirut voidaan rakentaa käyttötarkoituksen mukaan eri materiaaleista: silikonista, lasista, elastomeerista, kertakäyttömuovista, kestumuovista, hydrogeelistä, paperista tai materiaalien hybrideistä. Tutkimustarkoituksiin valitaan usein silikoni, lasi tai elastomeeri, kun taas kaupallisiin tarkoituksiin paperi tai muovit. (Low ja Tagle 2017.) Pehmeä litografia on sirujen yleinen muotoilutapa, jossa käytetään elastomeerisia materiaaleja, kuten polydimetyylisiloksaania (PDMS). Tämä muotoilutapa mahdollistaa toistettavuuden,

mikä on tärkeä ominaisuus elinsiruteknologiassa. PDMS on biologisesti inertti, kaasut läpäisevä ja myrkytön materiaali, joka estää solujen adheesion pinnallaan. (Amirifar ja muut 2022.)

### 3.1 Elinten fysiologiset ominaisuudet elinsirulla

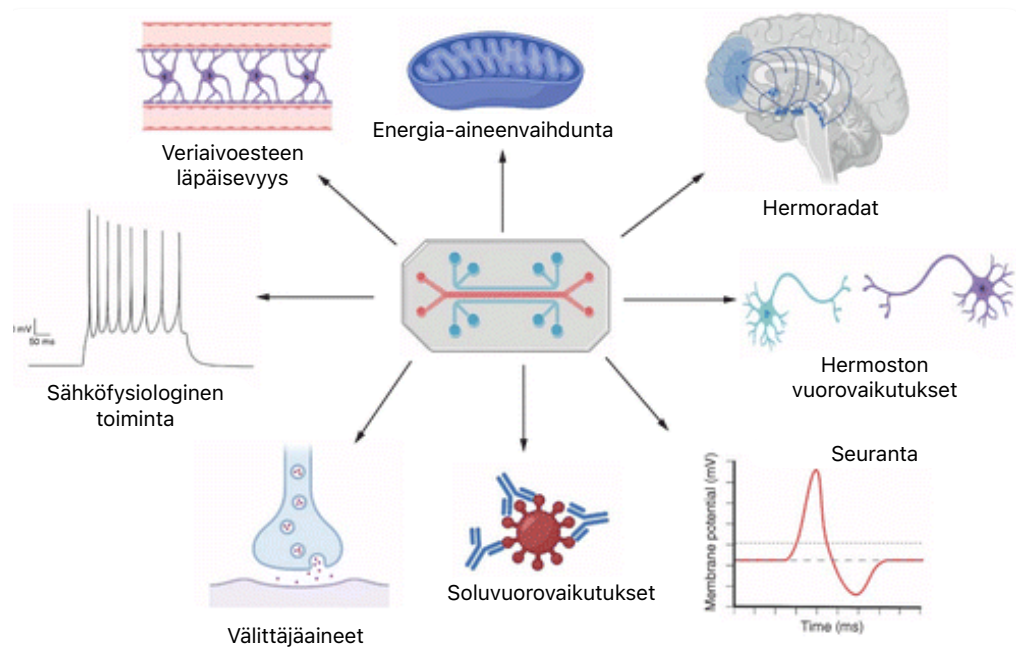
Elinsirut ovat työkaluja, joissa voidaan viljellä elinspesifisiä eläviä soluja, hallita ärsykeitä ja havaita muutoksia. Yksilölliset, kudosspesifiset elinsirut mahdollistavat täsmennetyt ja reaaliaikaisen patofysiologisten olosuhteiden tutkimisen esimerkiksi sairauksissa, joissa muutokset johtavat erilaisiin oireisiin. Elinspesifiä siruja on luotu muun muassa maksalle, sydämelle, keuhkoille, munuaisille ja aivoille. Mikrofluidistiset elinsirut ovat tärkeitä työkaluja etenkin keskushermoston patofysiologisten olosuhteiden tutkimiseen. (Jarrah ja muut 2023; Wu ja muut 2020.)

Elinsirujen yksi tärkeimmistä parametreista on biologisen kudoksen lähde. Siruilla käytettäviä soluja saadaan monesta eri lähteestä: *ex vivo* -kudoksesta, primäärisoluista, solulinjoista, alkion kantasoluista, aikuisen kantasoluista tai indusoiduista pluripotentteista kantasoluista (engl. *induced pluripotent stem cells*, iPS-solut). Pluripotenttien kantasolujen kyvystä erilaistua useiksi eri soluiksi on hyötyä elinsirututkimuksessa, sillä se mahdollistaa kudosspesifisten solujen, kudoksiin vaikuttavien geneettisesti periytyvien sairauksien ja neuro-, sydän- ja verisuonisairauksien tutkimisen. (Zheng ja muut 2016.) Esimerkiksi Vatine työryhmineen (2019) osoitti, että iPS-soluista erilaistuneet indusoidut BME-solut jäljensivät veriaivoestemallissa molekulaarisia ja toiminnallisia ominaisuuksia ja TEER-arvoja aivan kuten ihmisen aivojen hiusuonisto *in vivo*. Tutkimuksessa päädyttiin käyttämään iPS-soluja, sillä muilla solulähteillä on rajoitteita: esimerkiksi primääri-BME-solujen saanto on vähäistä ja luovuttajien välillä esiintyy vaihtelevuutta. iPS-soluja on valmiiksi saatavilla ja indusoiduilla BME-soluilla on samoja molekulaarisia ominaisuuksia kuin BME-soluilla *in vivo*, kuten tutkimuksessa todistettiin. (Vatine ja muut 2019.)

Elinsiruja rakentaessa tulee ottaa huomioon kudoksen tai elimen geometriset, mekaaniset ja biokemialliset ominaisuudet *in vivo*. Esimerkiksi solunsisäisten ja solunulkoisten tilojen välisten järjestäytyneiden kanavien jäljentämiseksi sirulle rakennetaan kalvopohjaisia monitasoisia osioita, joiden avulla esimerkiksi veriaivoesteen mallintaminen on mahdollista. (Zheng ja muut 2016.) Tärkeintä on pyrkiä mallintamaan haluttua elintä mahdollisimman samankaltaisesti *in vitro*, jotta tutkimustulokset jäljentäisivät tuloksia, joita saataisiin *in vivo*.

### 3.2 Aivosirujen monipuolisuus aivotutkimuksessa

Aivosirut (engl. *brain-on-chip*) ovat elinsiruteknologiaan perustuvia järjestelmiä, jotka mahdollistavat monipuolisen aivotutkimuksen *in vitro*. Siruilla voidaan tutkia hermoston vuorovaikutuksia, hermoratoja, sähköfysiologisia vasteita, veriaivoestettä ja aivojen energia-aineenvaihduntaa (Kuva 2). Koska aivosiruilla voidaan viljellä ihmisen soluja, jäljentää nestekiertoa ja tutkia solujen vuorovaikutuksia, Alzheimerin tautiin liittyvällä aivosirututkimuksella saadaan tietoa esimerkiksi A $\beta$ :n ja tau-proteiinin vaikutuksista sairaudessa. Aivosirut ovat myös merkittävä työkalu lääkekehityksessä. (Jarrah ja muut 2023.)



**Kuva 2. Aivosirujen käyttökohteita.** Aivosirut ovat elinsiruteknologiaan perustuvia järjestelmiä, jotka mahdollistavat aivotutkimuksen *in vitro*. Siruilla voidaan tutkia viljeltyjä aivojen soluja ja niiden vuorovaikutuksia, hermoratoja, sähköfysiologisia vasteita, veriaivoestettä ja aivojen energia-aineenvaihduntaa. Kuva muokattu lähteestä: Jarrah ja muut (2023).

Siruilla voidaan tutkia aivosoluja molekyylitasolla ja solu-, kudus- tai elintasolla. Molekyylitasolla tutkitaan esimerkiksi biologisten molekyylien ja mekaanisen ja sähköisen ärsyksen vaikutusta hermosoluihin. (Li ja muut 2023.) Solutasolla tutkitaan usein hermoston solujen välisiä vuorovaikutuksia. Aivosirulla voidaan mallintaa esimerkiksi neuroneiden vuorovaikutuksia synaptisella tasolla, neuroneiden ja gliasolujen vuorovaikutuksia sekä oligodendrosyyttien muutoksia. Jotta voidaan

rakentaa ja mallintaa käytöstä ja patologisia muutoksia, täytyy hermoverkoston olla vuorovaikutuksineen toiminnallinen. (Amirifar ja muut 2022.) Park ja muut (2018) rakensivat mikrofluidistisen mallin, jossa mallinnettiin neuroneiden, gliasolujen ja astrozyttien välisiä vuorovaikutuksia Alzheimerin taudissa. Tämän aivosirun avulla pystyttiin toistamaan muun muuassa A $\beta$ :n aggregaatiota ja fosforyloituneen tau-proteiinin muodostumista, ja siksi järjestelmää voitaisiin soveltaa aivosirulle ja hyödyntää neurotulehdusreaktioiden tutkimiseen Alzheimerin taudin patologiassa ja uusien hoitavien lääkkeiden kehittämisessä. Aivosiruilla voidaan myös ohjelmoida erilaistuneita soluja. Kilic ja muut (2016) saivat ihmisen pluripotentit kantasolut erilaistumaan neurosoluiksi ja astrozyteiksi monitasoisella PDMS-sirullaan. Heidän luomaansa aivosirua voidaan hyödyntää aivosolujen liikkeiden vaikutusten tutkimisen lisäksi hermoston kehityksen ja neurotoksikologian tutkimuksen työkaluna.

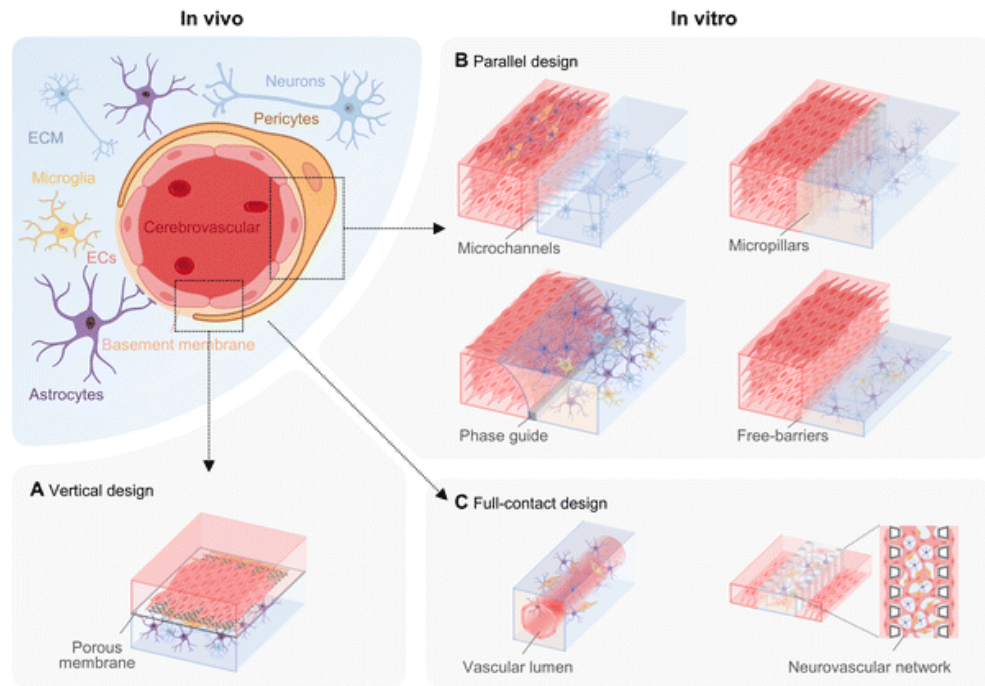
Aivosiruja suunniteltaessa ja valmistaessa on tärkeää kiinnittää huomiota eri tekniikoihin ja materiaaleihin, jotta sirulla olevat olosuhteet mukailisivat olosuhteita *in vivo*. Dynaamisille mikrofluidistisille siruille rakennettujen mikrokanavien nestevirtauksen säätely on tärkeää, sillä liika viljeltäviin hermoston soluihin kohdistuva leikkausjännitys voi jopa heikentää niiden kasvua ja kehitystä sirulla. Tämän vuoksi sirujen nestevirtausnopeudet mukailevat aivojen kudoksen virtausnopeuksia *in vivo* (0,1–0,3  $\mu$ l/min), mikä myös nopeuttaa sirulla viljeltyjen kantasolujen erilaistumista. Aivosiruilta suoritettava tiedonkerääminen on perinteisesti tehty mikroskopoimalla ja analysoimalla sirulta poistuvia nesteitä. Siruille on kehitetty hiilipohjaisia nanomateriaaleista valmistettuja sensoreita mittaamaan biokemiallisia, fysikaalisia ja kemiallisia vasteita, mikä myös mahdollistaa reaaliaikaisen tiedonkeruun. TEER-arvojen mittaaminen elektrodien avulla antaa tietoa veriaivoesteen läpäisevyydestä ja tiiviiden liitosten toiminnasta. Mikroelektrodiryhmiä käytetään hermoston solujen reaaliaikaiseen mittaamiseen ja sähköiseen ärsyttämiseen, sillä ne antavat tietoa hermoverkkojen sähköfysiologisesta toiminnasta. (Amirifar ja muut 2022.) Mikroelektrodiryhmiä hyödyntäen voidaan esimerkiksi tutkia Alzheimerin taudin potentiaalisten lääkkeiden vaikutusta oligomeeriseen amyloidi- $\beta$ -peptidiin (Charkhkar ja muut 2015).

## 4 Veriaivoeste ja Alzheimerin tauti sirulla

### 4.1 Veriaivoestesiru

Veriaivoeste ylläpitää aivojen mikroympäristöjen homeostasiaa ja rajoittaa aineiden kulkeutumista keskushermostoon. Monet keskushermostolääkkeet ovat suuria rasvaliukoisia molekyyliä, jotka eivät kykene passiivisesti diffundoitumaan tiiviiden liitosten välistä verestä aivoihin. Tämä vaikeuttaa uusien lääkkeiden kehittämistä neurodegeneratiivisiin sairauksiin, minkä vuoksi aivosirut ovat *in vitro* -malleina hyvin merkittäviä ja tärkeitä lääkekuljetusmekanismien selvittämisessä. (Li ja muut 2023.) Elinsirut mahdollistavat muita 3D-*in vitro* -malleja paremmat olosuhteet tutkia veriaivoesteen rakenteellisia ja fysiologisia ominaisuuksia, kuten läpäisevyyttä, makromolekyylien kulkeutumista, signaalinvälitysreittejä, kantajaproteiineja ja immuunisoluja. (Li ja muut 2023; Shin ja muut 2019.)

Veriaivoestesiru ( $\mu$ BBB) rakennetaan yleensä monitasoisena mallina, jossa huokoinen materiaali tai mikropilarit eristävät tasot toisistaan. Siruja rakennettaessa tulee ottaa huomioon materiaalin huokoisuus, aukkojen koko, vesiliukoisuus ja diffuusion vaikuttavat tekijät. (Amirifar ja muut 2022.) Monitasoisia malleja ovat pystysuora ja rinnakkainen malli sekä täyskontaktimalli. Erityisesti pystysuoraa mallia käytetään Alzheimerin taudin patofysiologisissa elinsirututkimuksissa. Pystysuorassa mallissa pystytään viljelemään perisytyttejä ja astrosytyttejä lähellä huokoisen kalvon erottaman verisuonikanavan BME-soluja (Kuva 3A). Veriaivoesteen vajaatoiminnan ja Alzheimerin tautia sairastavien aivojen amyloidiangiopatian jäljentäminen on mahdollista pystysuorassa mallissa. Rinnakkaismallissa veriaivoeste yhdistetään hermosoluihin mikrokanavilla tai -pilareilla, jotka voidaan täyttää soluväliainetta mukailevalla aineella (Kuva 3B). Pystysuoran ja rinnakkaisen mallin kanavissa nesteen leikkausjännitys jakautuu epätasaisesti sirulle rakennetun verisuoniston endoteelissä, minkä vuoksi täyskontaktimallissa suorakulmaisuus on korvattu ympyrän muotoisella mallilla (Kuva 3C). Tässä mallissa BME-solut ovat kontaktissa muihin aivojen soluihin jokaisessa suunnassa. (Li ja muut 2023; Peng ja muut 2022.) Täyskontaktimallissa jäljennetään aivojen hiussuonia, mikä on tärkeää passiivisen diffuusion kautta tapahtuvan molekyylien kulkeutumisen tutkimisessa (Linville ja muut 2019).



**Kuva 3. Veriaivoesteen mallinnus *in vitro*.** Veriaivoesteen *in vivo* -rakenteesta mallinnetut veriaivoestesirut toimivat *in vitro* -tutkimustyökaluna esimerkiksi patologisten muutosten tutkimisessa. **A)** Pystysuorassa mallissa huokoinen kalvo (engl. *porous membrane*) erottaa ylä- ja alatason. Alatasolla viljellyt perisytyt (engl. *pericytes*) ja astrozyytit (engl. *astrocytes*) ovat lähellä ylätason verisuonikanavan muodostamia endoteelisoluja. **B)** Rinnakkaismallissa aivosoluja viljellään rinnakkain verisuonikanavan kanssa. Mikrokanavat tai mikropilarit osioiden välillä voidaan täyttää soluväliainetta muistuttavalla aineella. **C)** Putkimaisessa täyskontaktimallissa vaskulaariset endoteelisolut ovat joka puolelta kosketuksissa aivosoluihin, jolloin malli jäljentää aivojen hiussuonten rakennetta ja veriaivoesteen läpäisevyyttä. Kuvan lähde: Peng ja muut (2022).

## 4.2 Siru potentiaalisen hoidon löytämiseen

Alzheimerin taudin patologiaa voidaan tutkia eri näkökulmista, sillä sairauteen liittyy monia eri muutoksia esimerkiksi veriaivoesteen toiminnassa ja rakenteessa. Veriaivoestesiru mahdollistaa tautispesifisten ympäristöjen luomisen ja soluvuorovaikutusten jäljentämisen. (Li ja muut 2023.) Hoidon löytämiseksi tulisi veriaivoesteen ja aivojen solujen lisäksi keskittyä tutkimaan veriaivoesteen fysiologisia ominaisuuksia ja Alzheimerin taudin vaikutuksesta tapahtuvia muutoksia. Alzheimerin taudin hoitamiseksi tulisi hoitaa veriaivoestettä. Mahdollisia kohteita hoitaa veriaivoestettä ja samalla Alzheimerin tautia on tutkia P-glykoproteiinin LDL-reseptoriproteiini-1:n hapettumista ja  $A\beta$ :n huuhteluun vaikuttavia tekijöitä, kuten reseptorivälitteistä transsytoosia ja glymfaattista järjestelmää eli glianestekiertoa. (Banks 2016.)

Monet tutkimukset keskittyvät A $\beta$ :n kuljetusmekanismeihin ja kasaantumisen vaikutuksiin, koska peptidin muodostamat plakit ovat merkittävä tekijä Alzheimerin taudissa. (Sweeney ja muut 2018.) On myös tutkittu, että A $\beta$ :n oligomeerinen järjestäytyminen aiheuttaa sähköfysiologisia ja toksisia muutoksia hermostossa vaikuttaen Alzheimerin tautiin (Cho ja muut 2013). Blanchard ja muut (2020) tutkivat apoE:n polymorfiaa, veriaivoestettä ja A $\beta$ :n kasaantumista. Tutkimuksessa käytettiin Alzheimerin tautia sairastavien potilaiden veriaivoesteestä johdettuja iP $S$ -soluja, joiden avulla näytettiin *APOE4*-alleelia kantavilla potilailla lisääntyneitä A $\beta$ :n plakkeutumista. Koska tiedetään, että apoE4 lisää A $\beta$ :n ja tau-proteiinin neurosärkeiden kasaantumista, olisi näiden tekijöiden tutkiminen veriaivoestesirulla mahdollisuuksien mukaan hyvin tarpeellista.

Veriaivoesteen läpäisevyyden tutkiminen on tärkeää Alzheimerin tautiin kehitettävien lääkkeiden kannalta. Shin ja muut (2019) kehittivät aiemmin tutkimaansa aivosiruaan malliaan tekemällä mikrofluidistisen alustan kokonaiselle verisuoniseinämälle. He pystyivät sirullaan tutkimaan aivoverisuoniston rajapintaa eli veriaivoesteen BME-solujen muodostamaa veriaivoestettä. Tämä  $\mu$ BBB jäljensi Alzheimer-potilailla havaittua lisääntyneitä veriaivoesteen läpäisevyyttä, joka johtuu esimerkiksi tiiviiden liitosten klaudiini-1- ja klaudiini-5-proteiinien vähentyneestä ekspressiosta, reaktiivisten happiyhdisteiden lisääntymisestä ja endoteelin abluminaaliin eli hiussuonen aivojen puoleiseen endoteeliin kasaantuneesta A $\beta$ :sta. (Shin ja muut 2019.)

Läpäisevyyttä voidaan tutkia myös mittaamalla TEER-arvoja esimerkiksi elektrodien avulla. Resistenssin mittaaminen antaa tietoa tiiviiden liitosten toiminnallisuudesta. (Amirifar ja muut 2022.) Palma-Forez työryhmineen (2023) viljeli BME-soluja, jotka muodostivat väleihinsä tiiviitä liitoksia. Mitatut läpäisevyyteen vaikuttavat TEER-arvot varmistivat kyseisen  $\mu$ BBB:n soveltuvuuden tutkia potentiaalista hoitoa Alzheimerin tautiin. TEER-arvoja käytettiin tiedettävästi ensimmäistä kertaa tutkimukseen, jossa tutkittiin kultasauvojen läpäisevyyttä ja soveltuvuutta potentiaalisena hoitona Alzheimerin tautiin. (Palma-Florez ja muut 2023.) Booth ja Kim (2014) puolestaan vertasivat dynaamisella pystysuoran mallin veriaivoestesirulla ja staattisella mallilla seitsemän eri keskushermostolääkkeen läpäisevyyttä. Jokainen lääke injektoidiin veren puoleista endoteelia jäljittelevälle puolelle ja kerättiin aivojen puoleista endoteelia jäljittelevältä puolelta. Laskennallista läpäisevyyttä verrattiin tunnettuihin tuloksiin. Dynaamisella sirulla saavutettiin staattista mallia matalammat tulokset läpäisevyydestä ja korkeammat



TEER-arvot, jotka olivat suoraan verrannolliset tunnettuihin *in vivo* -tuloksiin. (Booth ja Kim 2014.)

Kuten todettu, itse A $\beta$  tai sen kuljettajaproteiinien epänormaali toiminta vaikuttavat veriaivoesteen vajaatoimintaan ja muutokset liittyvät Alzheimerin tautiin. Aivojen toiminnalliseen kudokseen eli parenkyymiin kertynyttä A $\beta$ :ta tulisi pystyä poistamaan farmakologisesti, jotta veriaivoesteen läpäisevyys palautuisi. Tätä varten tulehdusreaktoita ja niiden vaikutuksia hermoston soluihin tutkittiin neurotoksisen trombiinin avulla. Huomattiin, että tulehduskipulääkkeenä käytetty *etodolac*-lääkeyhdiste vaikutti veriaivoesteen eheyteen vähentämällä trombiinin aiheuttamaa solukuolemaa, joten vastaava lääke tai sen kuljetusmekanismi voisi mahdollisesti toimia hoitavasti Alzheimerin tautiin. (Shin ja muut 2019.) Täyskontaktimalliin ja iPS-soluihin perustuvalla  $\mu$ BBB:lla tutkittiin solujen väleistä tapahtuvan parasellulaarisen ja solujen läpi tapahtuvan transsellulaarisen diffuusion muutosta mannitolin ja P-glykoproteiinin inhibiittorin tariquidarin vaikutuksesta. Tulokset osoittivat, että tariquidar lisäsi transsellulaarista ja mannitoli parasellulaarista läpäisevyyttä. (Linville ja muut 2019.) Maoz ja muut (2018) mallinsivat neurovaskulaarista yksikköä yhdistämällä kolme elinsirua, jotka mallinsivat veriaivoesteen läpi- ja ulosvirtausta ja aivojen parenkyymiä. Tällä järjestelyllä tutkittiin metamfetamiinin vaikutuksia aivoverisuonistossa sekä veriaivoesteen ja hermosolujen aikaisemmin tuntemattomia aineenvaihdunnallisia kytköksiä. Mallia voidaan siten hyödyntää neuroaktiivisten lääkkeiden kuljetuksen, tehokkuuden ja toiminnallisuuden tutkimiseen. (Maoz ja muut 2018.)

Jos Alzheimerin tautiin halutaan löytää lääkkeellinen hoitomuoto, on lääkemolekyylien oltava rasvaliukoisempia, sisältää enemmän vetysidoksia ja olla nykyistä pienempikokoisia, jotta ne voivat kulkeutua veriaivoesteen läpi. Fysiologisten toimintojen ja kuljetusmekanismien ymmärtäminen auttaa uusien lääkekuljetusmekanismien löytämisessä. Esimerkiksi kuljetusproteiineille voitaisiin kehittää lääkettä kuljettavia analogeja ja lääkkeiden pysyvyyttä aivoissa voitaisiin parantaa soveltamalla kilpailevia inhibiittoreita tai pienmolekyylejä. (Banks 2016.) Täten elinsirulla tapahtuvan tutkimuksen tulee ottaa eri näkökulmia huomioon. Kun elinsirulla pystytään lähes täydellisesti mallintamaan ja jäljentämään veriaivoesteen toimintaa ja fysiologia ominaisuuksia, on kuljetusmolekyylien ja -mekanismien, toimintaan liittyvien proteiinien, aivojen solujen ja geneettisten tekijöiden tutkiminen mahdollista. Monet jo olemassa olevat veriaivoestesirut soveltuvat niin veriaivoesteen läpäisevyyden, hoitavien lääkkeiden kuin lääkekuljetusmekanismien tutkimiseen. Kun teknologia kehittyy, voi Alzheimerin tautiinkin löytyä parantava hoitokeino.

## 5 Aivotutkimuksen ja elinsirujen tulevaisuus

### 5.1 Tekniikka luo haasteita

Vaikka elinsirut ovat lupaava tulevaisuuden tutkimustyökalu, teknologiaan liittyy haasteita esimerkiksi yhtenäistämisen suhteen. Sirujen valmistajilla on omat menettelytapansa ja materiaalit solujen viljelyyn, ja elinsirujen valmistus pohjautuu toisistaan eroavaan laadunhallintaan ja periaatteisiin. On siis lähes mahdotonta vaihtaa osia sirujen välillä, joten sirut ovat lähes poikkeuksetta räätälöityjä käyttäjälleen. Jos valmistusprosessit eivät ole yhteneviä, ne eivät ole kestäviä kehityksen kannalta eivätkä mahdollista sirujen valmistamista suuremmissa mittakaavassa. Tekniikka vaatii yhteensopivia materiaaleja, jotka toimivat täsmällisesti tuottaen luotettavia tuloksia. Mikrofluidistiikan sovellukset vaativat myös asiantuntemusta niin itse tekniikasta kuin käytettävistä materiaaleista. Haasteita tuottavat myös elinsirulle tehtävät elinten mittakaavan muutokset, jotka kuitenkin sisältäisivät esimerkiksi immunologiset tekijät ja kudosten verisuonitukset. Muita biologisia haasteita mikroskooppisilla elinsiruilla ovat esimerkiksi makroskooppisiin soluviljelmiin verrattuna suurempi ravintoaineiden ja kasvatustilanteen vaihtuvuuden tarve, voimakkaat muutokset osmolariteetissa nesteen haihtuessa ja suuri nesteen leikkausjännitys. (Jarrah ja muut 2023.)

Elinsiruilla käytettävien ihmisen solujen käyttöön ja soluviljelyyn liittyy teknisiä haasteita, sillä fysiologisesti mukailevien biokemiallisten, mekaanisten ja rakenteellisten ärsykkeiden hallinnan täytyy ohjata alkion kantasolujen tai iPS-solujen erilaistumista ja kypsymistä. Eri lähteistä saaduilla soluilla voi olla rajoitteita, kuten lyhyt selviytymisaika *ex vivo*, geneettinen homologisuus, mutatoituminen ja eristettyjen solujen saatavuus. Soluviljelyalustoilla käytetyt materiaalit ovat usein synteettisiä, jotka eivät tarpeeksi hyvin jäljennä soluväliainetta. Esimerkiksi yleisesti käytettyyn PDMS-materiaaliin liittyy haaste hydrofobisten molekyylien, kuten seerumin komponenttien, hermoston välitysaineiden ja farmakologisten yhdisteiden kiinnittymisestä materiaalin pintaan, minkä takia kemiallisten alustojen käyttö olisi tarpeellista. PDMS:n käyttö ei myöskään ole toteutettavissa suuren mittakaavan elinsirutuotannossa. Jotta lääkekehitys ja hoitomuotojen löytäminen olisi mahdollisimman tehokasta, täytyy elinsiruja kehittää tulevaisuudessa suuremman mittakaavan tutkimustyökaluiksi. (Zheng ja muut 2016.)

## 5.2 Elinsiruteknologian edut ja mahdollisuudet

Aivoja tutkitaan usein kuvantamalla noninvasiivisilla *in vivo* -menetelmillä esimerkiksi käyttämällä positroniemissiotomografiaa, magneettikuvausta ja elektroenkefalografiaa. Aivotutkimusta tehdään myös eläinmalleilla *in vivo*, mutta eläinkokeille halutaan kuitenkin löytää nopeampia, edullisempia ja eettisempiä menetelmiä, jotka vastaisivat kliinisiä tuloksia paremmin. Esimerkiksi hiiren ja ihmisen välillä on lajikohtaisia eroja veriaivoesteen tiiviissä liitoksissa, effluksiproteiineissa ja BME-soluissa, minkä vuoksi aivotutkimuksissa ihmisen solujen tutkiminen on yhä tärkeämpää. (Holloway ja muut 2021).

Verrattuna perinteisiin maljoihin ja pulloihin, kolmiulotteisilla mikrofluidistisilla soluviljelmämalleilla on paljon etuja. Soluviljelmissä voidaan käyttää vähemmän soluja, mikä on myös vähemmän aikaa vievää ja edullisempää. Esimerkiksi PDMS on materiaali, joka mahdollistaa muovautumisen sopivaksi erilaisiin solurakenteisiin ja kudosten muodostaviin ympäristöihin. Nestevirtauksen kontrollointi mahdollistaa läpivirtauksen lisäämisen aivosirulle, mikä jäljentää verisuonen fysiologista virtaus- ja leikkausjännitystä. Mikrofluidistiset aivosirut mallintavat hermokudoksien toimintaa tarkasti ja niillä voidaan tutkia hermosolujen toimintaa ja vuorovaikutuksia biokemiallisia ja mekaanisia ärsykeitä halliten. (Osaki ja muut 2018.) Mikrofluidistiset aivosirut ovat tärkeitä työkaluja Alzheimerin taudin tutkimuksissa, sillä ne jäljentävät aivojen verisuoniston fysiologisia ominaisuuksia lähes täsmällisesti. Siruilla tehty tutkimus tuo tietoa A $\beta$ :n ja tau-proteiinin kasaantumisesta ja vaikutuksista hermoston tukisolujen ja endoteelisolujen toimintaan sekä aivojen amyloidiangiopatiaan. Aivosirut mahdollistavat myös veriaivoesteen *in vivo* -tyyppisen mallintamisen, jolloin voidaan tutkia tiiviitä liitoksia, läpäisevyyttä, kuljetusmekanismeja ja Alzheimerin tautiin liittyvää vajaatoimintaa. (Holloway ja muut 2021.)

Soveltamalla eri tekniikoita, mikrofluidistiikkaa, nanomateriaaleja ja reaaliaikaista monitorointia, elinsiruteknologia on lupaava tutkimusmenetelmä niin prekliinisiin tutkimuksiin kuin lääkekehitykseen. Elinsirujen käyttö aivotutkimuksissa avartaa ymmärrystä neurodegeneratiivisten sairauksien patofysiologiasta, mikä puolestaan johdattaa kohti tehoavien hoitokeinojen ja lääkkeiden kehitystä. Veriaivoeste, aivojen verisuonisto ja aineenvaihdunta ovat tekijöitä Alzheimerin taudissa, joita tulisi keskeisesti tutkia. (Holloway ja muut 2021.) Koska Alzheimerin tauti on ainakin osittain periytyvää ja patologia ja oireet yksilökohtaisia, kantasolutekniikan avulla voidaan valmistaa potilaskohtaisia siruja. Erityisesti iPS-solupohjaisella veriaivoestesirulla voidaan tutkia ja ennustaa reseptorivälitteiseen transsytoosiin perustuvien neuroiläkkeiden läpäisevyys,

mikä mahdollistaa räätälöityjen sirujen käytön hoitokeinojen löytämiseen. Kun aivosirut ovat kestäviä ja tehokkaita, monia molekyyliä voidaan tutkia siruilla samaan aikaan, joka mahdollistaa eri kuljetusmekanismeihin perustuvien molekyylien liikkumisen tutkimisen. Tulevaisuudessa hermoston soluja voidaan viljellä veriaivoesteympäristössä, jossa molekyylien kulkeutumista rajoitetaan veren ja aivojen välillä kuten *in vivo*. Kuljettajaproteiineihin perustuvan farmakokinetiikan tutkimisen mahdollistavat ohjelmoidut BME-solut, jotka muodostavat verisuonisympäristöjä aivosirulle. (Vatine ja muut 2019.)

Kun elinsiruteknologian haasteet on saatu selvitettyä, valmistus ja materiaalit yhtenäistettyä sekä toimivat mekanismit löydettyä, aivosirut voivat mahdollistaa täsmähoidon ja -lääkityksen, veriaivoesteen vajaatoiminnan korjaamisen ja geneettisten riskitekijöiden huomioonottamisen neurodegeneratiivisten sairauksien hoidossa.

## Kirjallisuus

- Amirifar, L., Shamloo, A., Nasiri, R., de Barros, N. R., Wang, Z. Z., Unluturk, B. D., ... Ashammakhi, N. (2022) Brain-on-a-chip: Recent advances in design and techniques for microfluidic models of the brain in health and disease. *Biomaterials* **285**:121531.
- Banks, W. A. (2016) From blood–brain barrier to blood–brain interface: New opportunities for CNS drug delivery. *Nat Rev Drug Discov* **15**:275–292.
- Blanchard, J. W., Bula, M., Davila-Velderrain, J., Akay, L. A., Zhu, L., Frank, A., ... Tsai, L.-H. (2020) Reconstruction of the human blood-brain barrier in vitro reveals a pathogenic mechanism of APOE4 in pericytes. *Nat Med* **26**:952–963.
- Bonakdar, M., Graybill, P. M. & Davalos, R. V. (2017) A microfluidic model of the blood–brain barrier to study permeabilization by pulsed electric fields. *RSC Adv* **7**:42811–42818.
- Booth, R. & Kim, H. (2014) Permeability Analysis of Neuroactive Drugs Through a Dynamic Microfluidic In Vitro Blood-Brain Barrier Model. *Ann Biomed Eng* **42**:2379–2391.
- Charkhkar, H., Meyyappan, S., Matveeva, E., Moll, J. R., McHail, D. G., Peixoto, N., ... Pancrazio, J. J. (2015) Amyloid beta modulation of neuronal network activity in vitro. *Brain Res* **1629**:1–9.
- Cho, H., Hashimoto, T., Wong, E., Hori, Y., Wood, L. B., Zhao, L., ... Irimia, D. (2013) Microfluidic Chemotaxis Platform for Differentiating the Roles of Soluble and Bound Amyloid- $\beta$  on Microglial Accumulation. *Sci Rep* **3**:1823.
- Daneman, R. & Prat, A. (2015) The Blood–Brain Barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **7**:a020412.
- Heneka, M. T., O'Banion, M. K., Terwel, D. & Kummer, M. P. (2010) Neuroinflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neural Transm Vienna Austria 1996* **117**:919–947.

- Holloway, P. M., Willaime-Morawek, S., Siow, R., Barber, M., Owens, R. M., Sharma, A. D., ... Zagnoni, M. (2021) Advances in microfluidic in vitro systems for neurological disease modeling. *J Neurosci Res* **99**:1276–1307.
- Jarrah, R., Nathani, K. R., Bhandarkar, S., Ezeudu, C. S., Nguyen, R. T., Amare, A., ... Fiani, B. (2023) Microfluidic "brain-on chip" systems to supplement neurological practice: Development, applications and considerations. *Regen Med*.
- Li, M., Zhu, M., Huang, R., Wang, K., Zeng, Z., Xiao, L., ... Liu, D. (2023) Blood–brain barrier microfluidic chips and their applications. *Organs---Chip* **5**:100027.
- Linville, R. M., DeStefano, J. G., Sklar, M. B., Xu, Z., Farrell, A. M., Bogorad, M. I., ... Searson, P. C. (2019) Human iPSC-derived blood-brain barrier microvessels: Validation of barrier function and endothelial cell behavior. *Biomaterials* **190–191**:24–37.
- Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H. & Bu, G. (2013) Apolipoprotein E and Alzheimer disease: Risk, mechanisms, and therapy. *Nat Rev Neurol* **9**:106–118.
- Low, L. A. & Tagle, D. A. (2017) Tissue chips – innovative tools for drug development and disease modeling. *Lab Chip* **17**:3026–3036.
- Maoz, B. M., Herland, A., FitzGerald, E. A., Grevesse, T., Vidoudez, C., Pacheco, A. R., ... Parker, K. K. (2018) A linked organ-on-chip model of the human neurovascular unit reveals the metabolic coupling of endothelial and neuronal cells. *Nat Biotechnol* **36**:865–874.
- Osaki, T., Shin, Y., Sivathanu, V., Campisi, M. & Kamm, R. D. (2018) In Vitro Microfluidic Models for Neurodegenerative Disorders. *Adv Healthc Mater* **7**:1700489.
- Palma-Florez, S., López-Canosa, A., Moralez-Zavala, F., Castaño, O., Kogan, M. J., Samitier, J., ... Mir, M. (2023) BBB-on-a-chip with integrated micro-TEER for permeability evaluation of multi-functionalized gold nanorods against Alzheimer's disease. *J Nanobiotechnology* **21**:115.
- Park, J., Wetzel, I., Marriott, I., Dréau, D., D'Avanzo, C., Kim, D. Y., ... Cho, H. (2018) A 3D human triculture system modeling neurodegeneration and neuroinflammation

- in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* **21**:941–951.
- Peng, B., Hao, S., Tong, Z., Bai, H., Pan, S., Lim, K.-L., ... Huang, W. (2022) Blood–brain barrier (BBB)-on-a-chip: A promising breakthrough in brain disease research. *Lab Chip* **22**:3579–3602.
- Rogers, J., Cooper, N. R., Webster, S., Schultz, J., McGeer, P. L., Styren, S. D., ... Ward, P. (1992) Complement activation by beta-amyloid in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci* **89**:10016–10020.
- Segarra, M., Aburto, M. R. & Acker-Palmer, A. (2021) Blood–Brain Barrier Dynamics to Maintain Brain Homeostasis. *Trends Neurosci* **44**:393–405.
- Shin, Y., Choi, S. H., Kim, E., Bylykbashi, E., Kim, J. A., Chung, S., ... Tanzi, R. E. (2019) Blood–Brain Barrier Dysfunction in a 3D In Vitro Model of Alzheimer's Disease. *Adv Sci* **6**:1900962.
- Sweeney, M. D., Sagare, A. P. & Zlokovic, B. V. (2018) Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol* **14**:133–150.
- Vatine, G. D., Barrile, R., Workman, M. J., Sances, S., Barriga, B. K., Rahnama, M., ... Svendsen, C. N. (2019) Human iPSC-Derived Blood-Brain Barrier Chips Enable Disease Modeling and Personalized Medicine Applications. *Cell Stem Cell* **24**:995-1005.e6.
- World Health Organization (2023) Dementia. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia> (Luettu 5.12.2023)
- Wu, Q., Liu, J., Wang, X., Feng, L., Wu, J., Zhu, X., ... Gong, X. (2020) Organ-on-a-chip: Recent breakthroughs and future prospects. *Biomed Eng OnLine* **19**:9.
- Zheng, F., Fu, F., Cheng, Y., Wang, C., Zhao, Y. & Gu, Z. (2016) Organ-on-a-Chip Systems: Microengineering to Biomimic Living Systems. *Small* **12**:2253–2282.