

# Microfluídica inteligente: combinación del aprendizaje profundo y la microfluídica para predecir la evolución del glioblastoma.

Marina Pérez-Aliacar<sup>1</sup>, Mohamed H. Doweidar<sup>2</sup>, Manuel Doblaré<sup>1</sup>, Jacobo Ayensa-Jiménez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Tissue Microenvironment Lab (TMELab)

Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)

Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, Spain.

<sup>2</sup> Applied Mechanics and Bioengineering (AMB)

Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)

Universidad de Zaragoza, María de Luna s/n, Edificio Betancourt, 50018, Zaragoza, Spain

Tel. +34-976762707, \*e-mail: [marina.perez@unizar.es](mailto:marina.perez@unizar.es)

## Resumen

Las numerosas posibilidades que ofrece la microfluídica a nivel de obtención y monitorización de grandes cantidades de datos abren la puerta a la aplicación de técnicas de aprendizaje profundo al análisis de la evolución cultivos celulares, un campo poco explorado hasta la fecha. En este trabajo, se desarrolla una red neuronal para identificar, a partir de imágenes de cultivos celulares de glioblastoma en dispositivos microfluidicos, los parámetros que gobiernan el comportamiento de este tumor cerebral.

## Introducción

El glioblastoma (GBM) es el tumor cerebral maligno más común y desafortunadamente también el más letal, con una tasa de supervivencia a los 5 años de solo el 6.8% [1]. Es un tumor con alta capacidad invasiva, muy heterogéneo y de rápida progresión, características que contribuyen a convertirlo en uno de los tumores con peor pronóstico y difícil tratamiento.

La evolución del GBM es compleja, siendo la falta de oxígeno (hipoxia) uno de los factores clave para su progresión. Las células de GBM presentan un comportamiento dicotómico bautizado como “*go or grow*” [2]. Según este paradigma, las células consumen sus recursos en proliferar, cuando el nivel de oxígeno en el entorno es suficiente, o en migrar, cuando se encuentran en hipoxia. Esto es clave en la agresividad del tumor, en su capacidad invasiva y en su respuesta al tratamiento. Por consiguiente, entender y caracterizar correctamente los comportamientos migrativo y proliferativo de las células es clave para comprender la evolución del tumor y poder desarrollar nuevas estrategias en su tratamiento. Sin embargo, la variabilidad entre individuos inherente a cualquier proceso biológico hace imposible definir valores universales para los parámetros que describen estos procesos.

El desarrollo de plataformas experimentales capaces de reproducir la complejidad tridimensional del microentorno tumoral es crucial para entender la evolución del GBM. En esta línea, la microfluídica permite recrear tridimensionalmente el tumor y su evolución, consiguiendo reproducir sus principales características, la formación de pseudoempalizadas y núcleos necróticos [3,4]. Además, la microfluídica presenta características, como la miniaturización, automatización y reproducibilidad, que le otorgan potencial para generar grandes cantidades de datos sobre la evolución de los cultivos. Esto permite utilizar las técnicas de ciencia de datos, y en particular la inteligencia artificial, para analizar problemas biológicos complejos y no lineales. La combinación de microfluídica e inteligencia artificial se ha bautizado recientemente como Microfluídica Inteligente (“*Intelligent Microfluidics*”) y abre la puerta a una nueva forma de analizar y monitorizar cultivos celulares [5].

En este trabajo, se combinan el aprendizaje profundo y la microfluídica en una nueva metodología para identificar los parámetros que describen el comportamiento “*go or grow*” de las células de GBM a partir de imágenes de microscopía de fluorescencia de los cultivos.

## Metodología

El comportamiento “*go or grow*” se ha descrito en modelos previos de evolución del GBM [6] con dos funciones de activación en forma de ReLU y consta de tres parámetros, la tasa de proliferación  $G_N$ , el coeficiente de quimiotaxis (migración dirigida hacia el oxígeno)  $K_N$  y el umbral de hipoxia  $H$ , que marca la transición entre proliferación y migración.

Se ha desarrollado una red neuronal convolucional para predecir, a partir de una imagen del cultivo celular en un dispositivo microfluidico, el valor de

los tres parámetros  $G_N$ ,  $K_N$ ,  $H$ , caracterizando así el comportamiento del cultivo [7]. La red se entrenó previamente con datos sintéticos provenientes de un modelo matemático previamente validado con experimentos [6]. Una vez obtenidos los parámetros predichos por la red, estos pueden utilizarse para simular la evolución futura del tumor. Un esquema de la metodología se presenta en la Figura 1.

## Resultados

La red neuronal desarrollada proporciona predicciones exactas del valor de todos los parámetros, como se muestra en la Tabla 1. Además, se prueba que la red es robusta respecto a la inicialización de los pesos y se constata que es capaz de generalizar a través de una validación cruzada.

**Tabla 1. Coeficiente de correlación  $\rho$  y RMSE (Raíz del Error Cuadrático Medio) para los parámetros predichos por la red.**

| Parámetro | $G_N$  | $K_N$  | $H$    |
|-----------|--------|--------|--------|
| $\rho$    | 0.9976 | 0.9996 | 0.9987 |
| RMSE      | 0.0842 | 0.0270 | 0.0506 |

Por último, la red se ha validado con imágenes de experimentos reales, obteniéndose de nuevo buenos resultados, incluso para experimentos distintos al utilizado para generar los datos de entrenamiento.

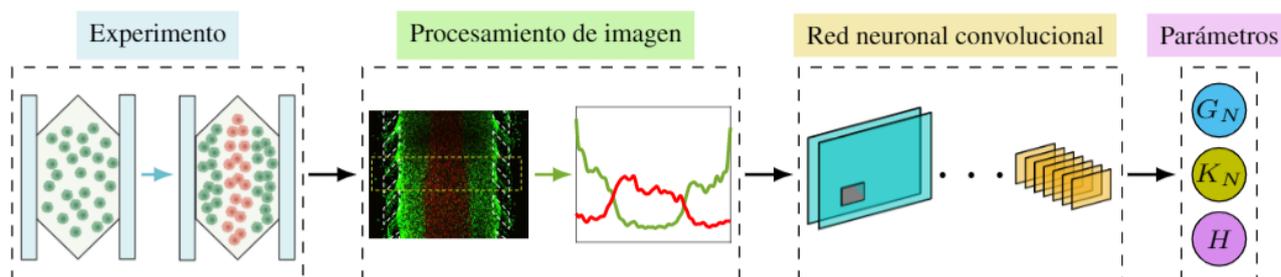
## Conclusiones

En este trabajo, se ha desarrollado una nueva metodología dentro del paradigma de Microfluídica Inteligente, combinando redes neuronales con experimentos microfluídicos para caracterizar el comportamiento de cultivos de GBM. Esta metodología constituye una primera piedra hacia la

obtención de modelos de paciente específico en los que, a partir de una muestra del paciente cultivada en un dispositivo microfluídico, se podría predecir los parámetros que gobiernan el comportamiento de ese tumor en particular y simular, con la ayuda de modelos matemáticos, su evolución futura. Esto podría, eventualmente, ayudar en la toma de decisiones clínicas.

## REFERENCIAS

- [1]. STANKOVIĆ, T. et al. In vitro biomimetic models for glioblastoma—a promising tool for drug response studies. *Drug Resistance Updates*, 2021, vol. 55, p. 100753.
- [2]. HATZIKIROU, H. et al. ‘Go or grow’: the key to the emergence of invasion in tumour progression? *Mathematical medicine and biology: a journal of the IMA*, 2012, vol. 29, no 1, p. 49-65.
- [3]. AYUSO, J.M. et al. Glioblastoma on a microfluidic chip: generating pseudopalisades and enhancing aggressiveness through blood vessel obstruction events. *Neuro-oncology*, 2017, vol. 19, no 4, p. 503-513.
- [4]. AYUSO, J.M., et al. Development and characterization of a microfluidic model of the tumour microenvironment. *Scientific reports*, 2016, vol. 6, no 1, p. 1-16.
- [5]. GALAN, E.A. et al. Intelligent microfluidics: The convergence of machine learning and microfluidics in materials science and biomedicine. *Matter*, 2020, vol. 3, no 6, p. 1893-1922.
- [6]. AYENSA-JIMÉNEZ, J. et al. Mathematical formulation and parametric analysis of in vitro cell models in microfluidic devices: application to different stages of glioblastoma evolution. *Scientific Reports*, 2020, vol. 10, no 1, p. 1-21.
- [7]. PÉREZ-ALIACAR, M. et al. Predicting cell behaviour parameters from glioblastoma on a chip images. A deep learning approach. *Computers in Biology and Medicine*, 2021, p. 104547.



**Figura 1. Esquema de la metodología propuesta.**