

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ**

***PERSPECTIVE EXPERIMENTALE ÎN  
TRATAMENTUL GLIOAMELOR DE GRAD ÎNALT  
UTILIZÂND BIOMATERIALE INOVATIVE***

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducători de doctorat:**

**Acad. Prof. Univ. Dr. Alexandru Vlad CIUREA**

**Prof. Univ. Dr. Ing. Ileana RĂU**

**Student-doctorand:**

**Andreea-Anamaria IDU**

## MULȚUMIRI

Cu profund respect și admirație, doresc să îi aduc sincere mulțumiri Profesorului Neurochirurg Alexandru Vlad CIUREA, MD, PhD, MSc, Dr. h.c. Mult, Membru de Onoare al Academiei Române - Secția de Științe Medicale, Profesor Emerit al Universității de Medicină și Farmacie "Carol Davila" din București, și Director Științific al Spitalului Clinic Sanador din București. Dedicarea și expertiza sa excepțională în domeniul neurochirurgiei au fost esențiale pentru formarea și dezvoltarea mea profesională.

Cu profundă grațitudine doresc să mulțumesc Dnei Prof. Dr. Inginer Ileana RĂU, Director al Școlii doctorale „Inginerie Chimică și Biotehnologii” din Universității Naționale de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București, Facultatea de Inginerie Chimică și Biotehnologii, pentru contribuțiile sale neprețuite și îndrumarea mea în domeniul biomaterialelor. Sub îndrumarea dânzei am reușit să deschidem un nou orizont în domeniul nanotehnologiilor și sa consolidăm conexiunea cu domeniul neurochirurgical prin amploarea cercetării de față.

Cu recunoștință doresc să mulțumesc Dnei. Prof. Univ. Dr. Cristina-Elena DINU-PIRVU, Director al Consiliului pentru Studii Universitare de Doctorat (CSUD) și Director la Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", Facultatea de Farmacie, pentru sprijinul constant și contribuția valoroasă în dezvoltarea academică.

Mulțumesc cu apreciere Dnei Prof. Dr. Mihaela Violeta GHICA, Profesor farmacist la Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" din București, pentru îndrumarea sa admirabilă și pentru că mi-a inspirat pasiunea pentru științele medicale.

Aș dori să îi mulțumesc și Dnei Dr. Mădălina Georgiana ALBU KAYA de la Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Textile și Pielărie (INCDTP) București, pentru colaborarea sa valoroasă și pentru aportul său în domeniul cercetării.

O mențiune specială merită și Dna Dr. Nicoleta RADU, care activează în domeniul Biotehnologiei și Științelor Vieții, atât la Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară din București, cât și la Institutul Național de Chimie și Petrochimie, pentru sprijinul constant, profesionalism și dedicare. Aprecierea și eforturile sale au fost esențiale în realizarea proiectelor noastre.

Cu respect și prețuire doresc să mulțumesc colegilor care au participat alături de mine în cadrul operațiilor și studiilor clinice, atât din România, cât și din Franța, pentru colaborarea remarcabilă și angajamentul față de excelență.

Nu în ultimul rând, îmi exprim recunoștința profundă părinților mei și fratelui meu, pentru susținerea necondiționată și dragostea oferită de-a lungul drumului meu academic și profesional. Dedicarea și sprijinul lor inestimabil m-au motivat să îmi urmez visurile și să aspir la excelență în acest domeniu incredibil de complex și provocator.

Cu stimă și apreciere tuturor celor menționați, vă mulțumesc că ați fost alături de mine în acest parcurs!

## Lista lucrărilor științifice publicate

1. **Idu, A.-A.**; Albu Kaya, M.G.; Rău, I.; Radu, N.; Dinu-Pîrvu, C.-E.; Ghica, M.V. **Novel Collagen Membrane Formulations with Irinotecan or Minocycline for Potential Application in Brain Cancer.** *Materials* 2024, 17, 3510. <https://doi.org/10.3390/ma17143510>  
<https://www.mdpi.com/2871496>  
Indexat PubMed, Factor de impact 3.1
2. **Idu AA**, Eva L, Covache-Busuioc RA, Glavan LA, Ciurea AV. **Progressive Paraparesis and Spinal Glioblastoma in a Young Female.** *Cureus*. 2024 Apr 4;16(4):e57593. doi: 10.7759/cureus.57593. PMID: 38707088; PMCID: PMC11069329.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38707088/>  
Indexat PubMed, Factor de impact 1.1
3. Onciul R, Toader C, Glavan LA, Covache-Busuioc RA, Bratu BG, Costin HP, Corlatescu AD, Ciurea AV, Grama M, **Idu AA. Retrospective Analysis of Glioblastoma Outcomes.** *Cureus*. 2024 Jun 16;16(6):e62462. doi: 10.7759/cureus.62462. PMID: 38882229; PMCID: PMC11180423.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38882229/>  
Indexat PubMed, Factor de impact 1.1
4. **Idu AA**, Bogaciu NS, Ciurea AV. **Brain imaging and morphological plasticity in glioblastoma: a literature review.** *J Med Life*. 2023 Mar;16(3):344-347. doi: 10.25122/jml-2022-0201. PMID: 37168303; PMCID: PMC10165525.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37168303/>  
Indexat PubMed, Scopus

## Cuprins

Lista lucrărilor științifice publicate	4
Lista de abrevieri și simboluri	5
Introducere	9
<b>I. Partea generală</b>	<b>12</b>
1. Descrierea patologiei	13
1.1. Aspectul anatomo-patologic și biologia moleculară	13
1.2. Tiparul de dezvoltare și manifestările clinice	16
1.3. Prognostic și supraviețuire	17
2. Tehnici de diagnostic imagistic	18
2.1. Computer Tomograf (CT, PET, SPECT)	18
2.2. Rezonanță Magnetică Funcțională (RMN, fRMN, dMRI, DTI).	18
2.3. Spectroscopie Optică (OS)	19
2.4. Imagistica prin Ultrasunete Intraoperatorie (IOUS)	19
3. Strategii de management al tumorilor gliale de grad înalt	20
3.1. Rezecția chirurgicală	20
3.2. Radioterapia	20
3.3. Chimioterapie	21
3.4. Tratamente complementare	21
<b>II. Contribuții Personale</b>	<b>22</b>
4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	22
5. Metodologia generală a cercetării	23
6. Imagistica prin Rezonanță Magnetică Funcțională în Managementul și monitorizarea neuroplasticității în Gliomele de Grad Înalt	24
6.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice	24
6.2. Metodologie	25
6.3. Rezultate	28
6.4. Discuții	29
6.5. Concluzii parțiale	34
7. Managementul gliomelor de grad înalt la nivel spinal	36
7.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice	36
7.2. Metodologie	38
7.3. Rezultate	40
7.4. Discuții	44
7.5. Concluzii parțiale	46
8. Tratamentul gliomelor de grad înalt la nivel spinal	47
8.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice	47
8.2. Pacienți și metode	48
8.3. Rezultate	52
8.4. Discuții	52
8.5. Concluzii parțiale	59

9. Biomembrane inovative cu aplicații în tratamentul gliomelor de grad înalt	61
9.1 Biomembrane pe bază de colagen, Irinotecan și Minociclină	61
9.1.1. Noțiuni generale	63
9.1.2. Materiale și metode	64
9.1.2.1. Materiale utilizate	64
9.1.2.2. Metode de lucru	64
9.1.2.3. Obținerea de biomembrane	66
9.1.3. Rezultate și discuții	68
9.1.3.1. Capacitatea de absorbție a apei	68
9.1.3.2. Degradarea enzimatică	70
9.1.3.3. Eliberarea de medicament	72
9.1.3.4. Activitatea antimicrobiană	73
9.1.4. Concluzii parțiale	99
9.2. Biomembrane pe baza de colagen și nanoparticule cu Irinotecan	80
9.2.1. Noțiuni generale	81
9.2.2. Materiale și metode	83
9.2.2.1. Materiale	83
9.2.2.2. Obținerea de nanoparticule	83
9.2.2.3. Obținerea de biomembrane	84
9.2.2.4. Metode de caracterizare	84
9.2.5. Rezultate și discuții	88
9.2.5.1. Caracterizarea nanoparticulelor	88
9.2.5.2. Teste de absorbție de apă	89
9.2.5.3. Teste de degradare enzimatică	90
9.2.5.4. Activitatea antimicrobiană	92
9.2.5.5. Studii de eliberare a medicamentelor	94
9.2.6. Concluzii parțiale	95
10. Concluzii generale și contribuții personale	97
Bibliografie	102
Anexa 1 Statusul de performanță KARNOFSKY - Criterii	117
Anexa 2 Clasificarea Organizației Mondiale a Sănătății a tumorilor Sistemului Nervos Central, 2021, ediția a V-a	118
Anexa 3 Protocolul Stupp	122

## Introducere

Glioblastomul reprezintă una dintre entitățile neoplazice cele mai agresive la nivelul sistemului nervos central, caracterizată printr-o rată de supraviețuire medie generală de aproximativ 15 luni post-diagnostic, chiar și în contextul aplicării protocoalelor terapeutice avansate. Tratamentul standard actual, cunoscut sub denumirea de protocolul Stupp, include o abordare multimodală care cuprinde rezecția chirurgicală extensivă a masei tumorale în limite de siguranță, urmată de utilizarea sinergică a radioterapiei și chimioterapiei cu temozolomidă. Acest regim terapeutic urmărește maximizarea speranței de viață [1].

Cu toate acestea, glioblastomul se distinge prin capacitatea sa de infiltrare profundă în țesuturile adiacente, ceea ce are drept consecință o dificultate mărită a rezecției complete, și implicit un risc crescut de recidivă neoplazică. Această caracteristică patologică esențială subliniază limitările acestei abordări terapeutice [17].

Dezvoltarea de noi protocoale terapeutice este îngreunată de numeroși factori, printre care se numără heterogenitatea celulară și moleculară a tumorilor, mecanismele de rezistență la agenții alchilanți, precum și diversele bariere fiziologice și anatomice care limitează eficacitatea terapiilor sistemice. În acest context, opțiunile terapeutice inovatoare disponibile pe piață sunt limitate. Un exemplu notabil îl constituie utilizarea implanturilor biodegradabile, cum ar fi membranele biodegradabile numite Gliadel®, care se aplică direct în situsul tumoral post-rezecție. Această metodă propune o abordare locală, minim invazivă, care se aliniază cu principiile terapiei standard. Cu toate acestea, în ciuda potențialului său promițător, eficacitatea clinică a acestor implanturi rămâne controversată, datorită efectelor secundare semnificative [18].

Prezenta teză își propune să exploreze și să dezvolte strategii terapeutice inovatoare pentru tratamentul glioblastomului, cu un accent deosebit pe utilizarea implanturilor biodegradabile impregnate cu agenți alchilanți. Această abordare vizează optimizarea livrării locale a agenților terapeutici alchilanți în scopul de a maximiza eficacitatea tratamentului la nivelul țesutului tumoral, minimizând efectele sistemice. Integrarea acestei strategii de tratament local alături de Protocolul STUPP reprezintă o direcție promițătoare [19].

În acest rezumat atât paginația din cuprins, cât și numerotarea capitolelor, a subcapitolelor, a figurilor, a tabelelor și a referințelor bibliografice sunt aceleași din teza.

### 4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Această lucrare de doctorat pleacă de la faptul că tratamentele actuale pentru glioblastoame nu sunt curative, ci au ca scop controlul progresiei lor naturale prin rezecție chirurgicală, radioterapie sau chimioterapie; sau prin prelungirea supraviețuirii generale, menținând în același timp o calitate ridicată a vieții.

Astfel obiectivul principal al acestei teze a fost:

- analiza și îmbunătățirea tratamentului multimodal al gliomelor de grad înalt.

Pentru îndeplinirea obiectivului principal s-au avut în vedere următoarele obiective specifice:

- Evaluarea limitelor protocoalelor actuale utilizate în tratamentul pacienților cu gliome de grad înalt
- Propunerea unei variante de tratament de chimioterapie locală pentru pacienții cu gliome de grad înalt
- Realizarea și caracterizarea de noi membrane biodegradabile din colagen cu activitate antineoplazică și antimicrobiană
- Testarea biochimică a membranelor în scopul identificării concentrației optime de irinotecan și/sau minociclina
- Obținerea și caracterizarea de membrane pe baza de colagen și nanoparticule de irinotecan

Lucrarea actuală începe de la analiza aprofundată a literaturii de specialitate. Se analizează factorii clinici și paraclinici privind prognosticul pacientului pentru a identifica elementele din evaluarea inițială care pot prezice progresia bolii. Se evaluează opțiunile existente și combinațiile terapeutice pentru a estima impactul acestora asupra supraviețuirii, stării funcționale și progresiei bolii. Se practică analize riguroase asupra metodelor de diagnostic existente pentru a stabili eficiența și fiabilitatea acestora atunci când sunt aplicate în mod specific glioblastomelor de grad înalt.

Teza se concentrează pe examinarea aprofundată a tratamentelor deja utilizate clinic, pentru a identifica eventualele lacune și potențiale îmbunătățiri potențiale și a putea oferi un management mai optim. Un subiect aprofundat este acela al membranelor biodegradabile, unde se urmărește dezvoltarea de noi tipuri de membrane care au ca scop combaterea glioblastomului cerebral sau medular.

## **6. Imagistica prin Rezonanță Magnetică Funcțională în Managementul și monitorizarea neuroplasticității în Gliomele de Grad Înalt**

### **6.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice**

Glioblastomul este cea mai răspândită tumoră primară a sistemului nervos central cu o evoluție agresivă și un prognostic rezervat. Majoritatea pacienților diagnosticați cu glioblastom au o prevalență mai mare în intervalul de vârstă 65-75 de ani, iar cotele de predominanță masculină sunt de 1,5:1 [71].

Imagistica glioblastomului la RMN dezvăluie de obicei semnale hipo- până la izointense pe imaginile T1, în timp ce pe secvențele T2 și FLAIR apare hiperintens cu edem perilezional vizibil. Secvențele DWI/ADC demonstrează difuzia limitată a componentei tumorale solide [44].

RMN funcțional (fMRI) poate identifica zonele creierului activate sub stimulare specifică folosind mecanismul BOLD (dependent de nivelul de oxigen din sânge). Mai exact, secvențele T2\* evidențiază zonele cu activitate celulară crescută datorită creșterii aportului de oxigen. Din păcate, fMRI oferă doar dovezi indirecte ale activității neuronale și are câteva limitări care îi îngreșesc aplicativitatea, limitări care includ eterogenitatea câmpului la interfețele tisulare, cum ar fi osul, țesutul moale și aerul, interferența venelor mari și susceptibilitatea la artefacte metalice [72, 73].

Neuroplasticitatea se referă la capacitatea creierului de adaptabilitate ca răspuns la diverse forme de agresiune. Această abilitate este activată de organizarea sa asemănătoare

rețelei cu noduri conectate; iar neurogeneza a fost identificată în mai multe zone, inclusiv în girusul dințat al hipocampului și zona subventriculară laterală [74].

Electroencefalografia (EEG), modalitățile imagistice cum ar fi tomografia computerizată (CT), PET-CT și imagistica prin rezonanță magnetică (RMN), în special RMN funcțional (fMRI), imagistica cu tensorului de difuzie (DTI) și stimularea electrică directă (DES), sunt unele dintre instrumentele dezvoltate pentru a studia aspectele structurale și funcționale ale creierului [75].

William R. Gibb și colab. au efectuat un studiu utilizând stimularea corticală directă și au comparat efectele acesteia între două intervenții chirurgicale. Pentru a stabili neuroplasticitatea, dovezile au inclus observații precum progres sau pierdere funcțională atunci când se stimulează aceeași zonă corticală fără modificarea examenului neurologic. Dacă nu s-a observat niciun răspuns din zonele corticale specifice în timpul ambelor intervenții chirurgicale, aceasta a fost văzută ca un indicator al reorganizării preexistente care a avut loc înainte de intervenția chirurgicală inițială [76].

Neuroplasticitatea poate fi observată pe RMN funcțional (fMRI) prin diferențele de activare corticală atunci când se efectuează acțiuni identice pre și postoperator, precum și activări neașteptate ale regiunilor în timpul detectării tumorii. [77].

## **6.2. Metodologie**

O căutare, în limba engleză, pe platforma PubMed, folosind termenii „glioblastom”, „plasticitate” și „RMN”, a oferit 33 de articole. După analizarea titlurilor și a rezumatelor fiecăruia dintre acestea, cinci articole legate de tema de cercetare au fost selectate.

## **6.4. Discuții**

Cu toate acestea în literatura de specialitate am identificat câteva articole care abordează tumorile de grad înalt, iar acestea includ atât serii eterogene, cât și serii patologice unice care raportează cazuri de glioblastoame (tabelul 6.2).

Studiile asupra modificărilor funcționale ale creierului în diferite regiuni utilizează diverse tehnici, cum ar fi metode de imagistică, tehnici de stimulare/ înregistrare neinvazivă și tehnici de stimulare/înregistrare invazivă. Stimularea corticală directă rămâne însă „standardul de aur”.

Lipsa literaturii de specialitate privind neuroplasticitatea asociată cu glioblastomul subliniază necesitatea urgentă a unor studii suplimentare în acest domeniu. Înțelegerea modului în care structurile cerebrale răspund la tumori agresive, precum glioblastomul, este esențială pentru optimizarea strategiilor de tratament și îmbunătățirea rezultatelor pentru pacienți.



**Tabelul 6.2.** Un rezumat al cazurilor de glioblastom folosind diferite tehnici de evaluare a plasticității și interpretarea [78 – 82]

Nr. crt.	Tehnica folosita	Nr. pacienți	Rezultate	Referința bibliografică
1	fMRI + PET scan + TMS	1	Activarea cortexului fronto-mezial pentru membrul inferior și a zonei motorie suplimentare pentru mână	[78]
2	fMRI	7	Aria Broca – fără activare pe fMRI în cazurile studiate	[77]
3	nrTMS	1	Activarea emisferei contralaterale după rezecția chirurgicală a unui glioblastom și activarea zonelor post-centrale și temporale neactivate anterior	[79]
4	DES, fMRI, potențiale induse	1	Activarea emisferei controlaterale în cadrul unei leziuni a lobulului parietal superior stâng, confirmată prin DES și descrisă și pe fMRI	[81]
5	DES	6	Dovezi de plasticitate în toate cazurile	[76]
6	fMRI	16	Activarea zonei motorie suplimentare (12 cazuri) și a zonei premotorie (8 cazuri) contralaterală leziunii, așa cum este vizualizată pe fMRI	[82]

### 6.5. Concluzii parțiale

În timp ce tehnicile de stimulare corticală directă sunt mai invazive și mai solicitante din punct de vedere tehnic, RMN-ul funcțional reprezintă o soluție neinvazivă accesibilă pe scară largă. Orice dispozitiv de 3 Tesla sau 1,5 Tesla poate efectua RMN funcțional, ceea ce face din aceasta o metodă ușor de utilizat pentru neurochirurgi, permițând interpretarea imaginilor anatomice de înaltă rezoluție cu contrast ridicat. Cu toate acestea, RMN-ul funcțional are unele dezavantaje, așa cum s-a discutat anterior.

RMN-ul funcțional s-a dovedit util în numeroase studii, oferind o multitudine de informații. Imagistica funcțională permite cartografierea și predicția modificărilor funcționale în nodurile specifice ale rețelelor neuronale, deplasările anatomice ale funcției și modelele de activare observate la pacienți [85]. Numeroase studii au confirmat utilitatea și eficacitatea acestei tehnici [72, 86].

Imagistica funcțională poate fi deosebit de valoroasă pentru planificarea preoperatorie în chirurgia de rezecție a glioblastomului, deși nu ar trebui să servească drept bază unică a deciziilor chirurgicale. Se poate afirma că urmărirea cu imagistică funcțională la pacienții diagnosticați cu glioblastom este foarte avantajoasă, compararea modificărilor

zonei de activare preoperatorie cu evaluările imediate postoperatorii, efectuate la 48-72 de ore după operație, precum și evaluările pe termen mai lung, fiind componente cruciale.

Deoarece stimularea corticală directă nu poate fi efectuată suficient de regulat ci doar în vizitele la clinică, imagistica funcțională reprezintă un mijloc neprețuit de evaluare continuă.

Tehnicile de imagistică funcțională, precum fMRI și nrTMS, oferă informații valoroase și pot ajuta la planificarea preoperatorie pentru tratarea glioblastoamelor. Cu toate acestea, limitările lor necesită utilizare de metodelor complementare pentru a asigura o evaluare cuprinzătoare și rezultate chirurgicale sigure în tratament.

RMN-ul funcțional reprezintă așadar un instrument accesibil pentru evaluarea funcționalității creierului, care ar putea fi integrat în planurile preoperatorii ale glioblastoamelor oferind în același timp numeroase avantaje față de omologii săi neinvazivi, inclusiv disponibilitatea largă, generarea de imagini anatomice de înaltă rezoluție și examinări repetate fără efecte adverse. În plus, utilizarea lui în scopuri de urmărire pentru a monitoriza dezvoltarea plasticității cerebrale poate fi deosebit de avantajoasă.

Deși RMN-ul funcțional are beneficiile sale, există și dezavantaje notabile cum ar fi decuplarea neurovasculară și lipsa de fiabilitate atunci când se iau decizii chirurgicale definitive. Utilizarea combinată a RMN-ului funcțional și a stimulării transcorticale oferă cartografierii cerebrale preoperatorii mai precise.

Există un potențial și o oportunitate mare cu aceste tehnici și trebuie să continuăm să le explorăm și să le rafinăm pentru a crește înțelegerea și a îmbunătăți gestionarea glioblastomului, îmbunătățind în cele din urmă rezultatele pacientului.

## **7. Managementul gliomelor de grad înalt la nivel spinal**

Tumorile primare ale măduvei spinării reprezintă 2 până la 4% din tumorile sistemului nervos central și sunt cel mai adesea benigne, tumorile maligne fiind extrem de rare. Tumorile intradurale ale coloanei vertebrale reprezintă 5-10% din tumorile coloanei vertebrale la adulți, și 35-37% din tumorile intramedulare la copii [87].

### **7.2. Metodologie**

Cercetarea bibliografică pentru această investigație a constat într-o căutare pe PubMed pe perioada ultimilor cinci ani folosind termenii „glioblastom” și „măduva spinării”. Pentru criteriile noastre de includere s-au luat în considerare articolele scrise în limba engleză cu diagnostice confirmate de glioblastom prin analiză histopatologică, iar criteriile de excludere au inclus alte neoplasme, cazuri secundare datorate diseminării din glioblastoame cerebrale sau informații incomplete. Articolele care au îndeplinit criteriile de excludere și, astfel, s-au calificat pentru revizuire sunt prezentate în Tabelul 7. 1 [96 – 107].

**Tabelul 7.1.** Articolele care au stat la baza cercetării acestui caz

Nr. crt.	Autori	Titlu	An publicare	Referința bibliografică
1	A. Chanchotisation, J. Xiong, J. Yu, S. Chu	Exophytic Primary Intramedullary Spinal Cord Glioblastoma: Case Report and Critical Review of Literature	2018	[95]
2	K. Yang, W. Man, L. Jing, Z. Sun, P. Liang, J. Wang, G. Wang	Clinical Features and Outcomes of Primary Spinal Cord Glioblastoma: A Single-Center Experience and Literature Review	2020	[96]
3	U. Alok, K. K. Subhas, B. N. Nandeesh, S. Dhaval	H3K27M-Positive Primary Spinal Glioblastoma Presenting with Hemorrhage-A Rare Clinical Entity	2019	[97]
4	C.-X. Shen, J.-F. Wu, W. Zhao, Z.-W. Cai, R.-Z. Cai, C.-M. Chen	Primary spinal glioblastoma multiforme: A case report and review of the literature	2017	[98]
5	A. Cacchione, A. Mastronuzzi, M. G. Cefalo, G. S. Colafati, F. Diomedi-Camassei, M. Rizzi, A. De Benedictis, A. Carai	Pediatric spinal glioblastoma of the conus medullaris: a case report of long survival	2016	[99]
6	K. Peters, D. Pratt, C. Koschmann, D. Leung	Prolonged survival in a patient with a cervical spine H3K27M-mutant diffuse midline glioma	2019	[100]
7	A. Nunn, S. Polyzoidis, B. Piechowski-Jozwiak, L. Brazil, K. Ashkan	Primary glioblastoma multiforme of the conus medullaris with leptomeningeal metastasis	2017	[101]
8	E. Caro-Osorio, J. C. Herrera-Castro, A. Barbosa-Quintana, M. Benvenuti-Regato	Primary Spinal Cord Small-Cell Glioblastoma: Case Report and Literature Review	2018	[102]
9	E. E. Cabrera-Aldana, R. De la Garza Ramos, R. Pichardo-Bahena	Multicentric Spinal Cord Glioblastoma	2017	[103]
10	L Dormegny, S Chibbaro, M Ganau, Mdn Santin, L Kremer, F Proust	Biopsying a spinal cord lesion: A diagnostic dilemma. Case report and review of literature	2018	[104]
11	B: J: Delgado, L. Moosavi, E. Rangel, W. Stull, R. Dev Polineni, J. Chen, E. Cobos	An Unusual Presentation of Spinal Giant Cell Glioblastoma in a 21-Year-Old Female	2019	[105]
12	K. Yang, J. Wang, G. Wang	Multicentric Exophytic Primary Spinal Cord Glioblastoma Mimicking Teratoma	2020	[106]

### **7.3. Rezultate**

Pacienții incluși în studiu au fost analizați în funcție de sex: F – feminin, M – masculin; de nivelul lezional: c – cervical, t – toracic, l – lombar; de tipul de chirurgie: b – biopsie, str – rezecție subtotală, pr – rezecție partielle, gtr – rezecție macroscopică totală; cât și de indicele KPS – Karnofsky performance status [108].

În această serie, vârsta medie la diagnostic a fost de 27 de ani, cu un raport bărbat-femeie de 1:1,5.

Deși debutul simptomelor a fost în medie la 10,6 luni, marea majoritate a cazurilor au prezentat simptome într-un interval mai scurt, de aproximativ 3 luni, existând doar câteva excepții cu simptome inițiale la intervale foarte mari de timp.

Datele obținute arată că din 20 de pacienți urmăriți, 11 au suferit rezecție subtotală, 3 biopsii, 1 a avut rezecție totală macroscopică, 4 au avut rezecții parțiale.

Scorul de performanță Karnofsky (KPS) pentru acești pacienți a fost de 64.

9 pacienți au suferit ambele tratamente adjuvante - radioterapie și chimioterapie (temozolomidă), iar alți 4 au primit numai chimioterapie adjuvantă.

Durata medie a supraviețuirii fără progres (PFS) a fost de 8,8 luni, cu o majoritate centrată la 5,5 luni.

Supraviețuirea medie globală (SG) a prezentat o medie de 12,85 luni, cu o majoritate centrată la 9 luni.

### **7.5. Concluzii parțiale**

Curbele de supraviețuire Kaplan-Meier din lucrarea aceasta au evidențiat o corelație între gradul de rezecție și supraviețuirea globală deși aceasta nu a atins semnificație statistică. Pe de altă parte, chimioterapia, fie singură, fie combinată cu radioterapia, pare să acționeze ca un factor preventiv împotriva progresiei tumorii și, de asemenea, să contribuie la prelungirea supraviețuirii globale.

Glioblastomul măduvei spinării este o formă extrem de rară de cancer cu un prognostic prost, limitată în prezent de resursele terapeutice disponibile pentru a opri progresia sa agresivă. Au existat unele cazuri în literatură în care tratamente mai agresive au dus la o supraviețuire mai lungă decât se aștepta.

Diagnosticul radiologic al acestei forme de tumoră depinde în mare măsură de imagistica prin rezonanță magnetică, deoarece alte modalități de imagistică nu pot diferenția eficient țesutul tumoral de țesutul normal.

Pot exista anumiți indicatori de prognostic care indică un prognostic mai bun pentru pacienții cu glioblastoame măduvei spinării; cu toate acestea, în general, prognosticul lor rămâne sumbru. Cercetările au arătat că radiochimioterapia a extins semnificativ atât supraviețuirea fără progres, cât și supraviețuirea globală în rândul pacienților diagnosticați cu această formă de cancer; chiar și așa, abordările terapeutice mai eficiente rămân cruciale pentru succesul tratamentului. Concluzii similare s-au obținut și în cazul pacienților cu GBM cerebral [109].

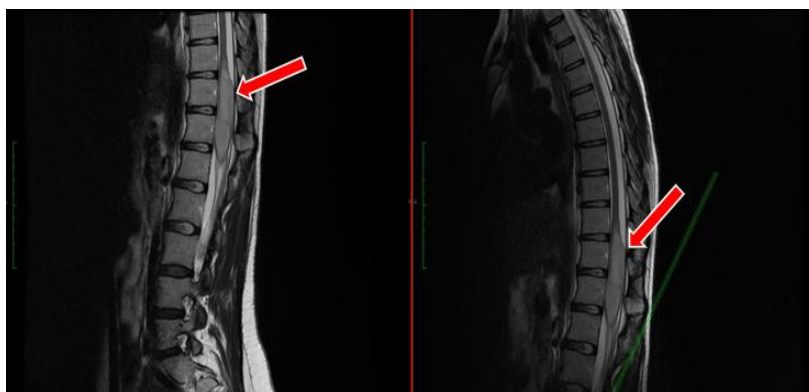
## **8. Tratamentul gliomelor de grad înalt la nivel spinal**

Incidența anuală a gliomelor este cuantificată la o rată estimată de 5,26 cazuri la 100.000 de oameni. În spectrul de neoplasme maligne primare ale sistemului nervos central la adulți, astrocitoamele maligne apar ca cel mai frecvent tip, iar glioblastoamele,

reprezintă aproximativ 60-70% din toate cazurile de gliome maligne. Pe de altă parte, glioblastoamele primare ale măduvei spinării se manifestă ca entități extrem de rare.

## 8.2. Pacienți și metode

Pacienta în vârstă de 20 de ani se prezintă în clinica de neurochirurgie prezentând parapareza progresivă cu debut insidios de aproximativ 1 lună cu agravare până la 3/5 MRC și sindrom de retenție urinară cu debut insidios și agravare de aproximativ o săptămână. Clinic la examinare prezintă nivel de sensibilitate la T10, RCP extensie bilaterală, hiperreflexivitate bilaterală a membrilor inferioare, retenție urinară sondată. Biologic fără modificări patologice. Fără APP semnificative sau expuneri profesionale. RMN-ul dorso-lombar nativ efectuat în teritoriu evidențiază leziune intramedulară T10-L1 cu caracter infiltrativ ce orientează diagnosticul spre leziune gliomatoasă (figura 8.1).



**Figura 8.1.** Secvența preoperatorie RMN T2, măduva spinării toracice și lombară, secțiune sagitală, leziune intramedulară T10-L1 cu caracter infiltrativ.

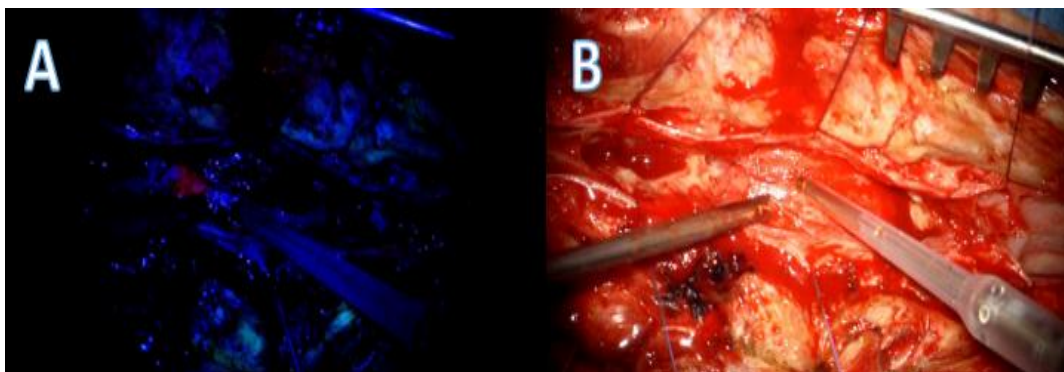
Se intervine chirurgical prin laminectomie T10-L1, duronomie mediană și disecția șanțului median posterior cu evidențierea unei leziuni intramedulare solide fără plan de separare bine delimitat, cu zone infiltrative. Rezecția a fost realizată cu CUSA sub monitorizare electrofiziologică.

Postoperator pacienta prezintă ameliorarea deficitului motor și remite sindromul de retenție urinară. Rezultatul anatomopatologic final este de glioblastom. Ulterior pacienta beneficiază de chimio și radioterapie adjuvantă.

Pacienta este pierdută din urmărire și se reîntoarce după 2 ani prezentând paraplegie și retenție urinară cu debut insidios și agravare progresivă până la 0/5 MRC de aproximativ 1 lună.

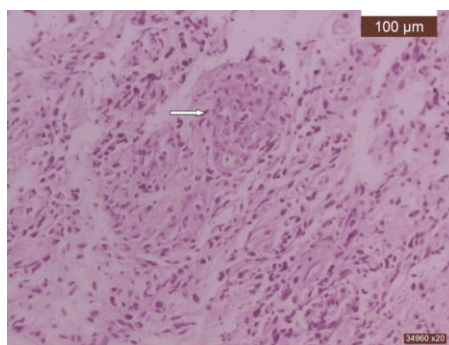
RMN dorso-lombar cu contrast evidențiază recidiva și extensie tumorală la nivel dorsal și lombar.

Având în vedere deficitul forte instalat în urmă cu o lună și prognosticul pacientei, se optează pentru corpectomie până la T6, augmentat de gliolan în vederea evidențierii infiltratului tumoral și pentru a realiza o rezecție supramarginală (figura 8.4.) LCR prelevat intraoperator nu evidențiază celule tumorale.



**Figura 8.4.** Vedere intraoperatorie a intervenției chirurgicale; A. Chirurgie ghidată de fluorescență. B. Chirurgie ghidată microscopic.

Recuperarea postoperatorie a fost notabilă pentru îmbunătățirea deficitului motor și rezolvarea sindromului de retenție urinară. Diagnosticul histopatologic final a confirmat glioblastomul de tip sălbatic IDH1 (Figura 8.6), cu mutație TP53 și indice mitotic Ki-67 ridicat (25%). Pacientul a primit chimioterapie adjuvantă cu o doză zilnică de 120 mg temozolomidă (TMZ) timp de șase săptămâni și radioterapie concomitentă (RT) cu 2 fracțiuni Gy zilnic, cinci zile pe săptămână, totalul fiind de 60 Gy timp de șase săptămâni. Tumoarea a avut un răspuns inițial pozitiv la tratament [114].



**Figura 8.6.** Glioblastom medular (HE, x40); Glioblastom medular, IDH1 de tip sălbatic, gradul 4. Proliferarea tumorală dens celularizată, compusă din astrocite anaplastice dispuse difuz, pe fond fibrilar. Un vas cu proliferare endotelio-pericitică de tip glomeruloid poate fi identificat intratumoral (săgeată).

### 8.5. Concluzii parțiale

În concluzie, prezentarea unei paciente de 20 de ani cu parapareză progresivă, diagnosticată ulterior cu glioblastom spinal, reprezenta o provocare importantă având în vedere și complexitățile îngrijirii interdisciplinare în tratamentul neoplasmelor primare ale măduvei spinării. Glioblastomul, recunoscut în primul rând pentru manifestarea sa supratentorială, comportamentul clinic agresiv și prognosticul sumbru, atunci când este localizat în măduva spinării, așa cum este demonstrat de acest caz, introduce o dilemă terapeutică semnificativă.

Astfel, documentarea meticuloasă a fiecărui caz de glioblastom spinal devine imperativă pentru îmbogățirea înțelegerii colective a bolii, facilitând o analiză comparativă a modalităților terapeutice chirurgicale și adjuvante. Consider că, în acest caz, utilizarea

membranelor biodegradabile cu irinotecan (ce sunt prezentate în capitolul următor) ar fi determinat o eventuală remisie a cancerului, evitând astfel metastazele.

Răspunsul inițial favorabil al pacientului la tratament, evidențiat prin ameliorarea simptomatică și o perioadă prelungită de supraviețuire de 34 de luni post-diagnostic, subliniază potențialele avantaje ale abordărilor de tratament cuprinzătoare și multidisciplinare. Deși rata de supraviețuire a pacientului nu se compară favorabil cu rezultatele altor tulburări oncologice, este de remarcat faptul că durata ei de viață a fost prelungită semnificativ prin administrarea de chimioterapie și radioterapie adjuvante. Cu toate acestea, reapariția tumorii și preferința ulterioară a pacientului pentru îngrijirea paliativă și de susținere subliniază prognosticul sumbru cu care se confruntă adesea pacienții cu acest diagnostic.

## **9. Biomembrane inovative cu aplicații în tratamentul gliomelor de grad înalt**

### **9.1 Biomembrane pe bază de colagen, Irinotecan și Minociclină**

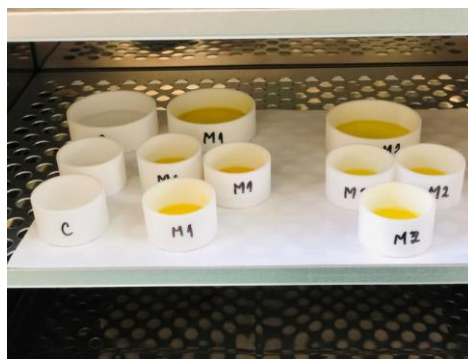
Derivatul bioactiv al irinotecanului, 7-etil-10-hidroxicamptotecina (SN-38), prezintă o potență semnificativ superioară - variind de la 100 la 1.000 de ori - față de precursorul său, irinotecanul, în inhibarea enzimei topoizomerazei. Această eficacitate sporită a SN-38 ca inhibitor al topoizomerazei este rezultatul generării sale prin descompunerea enzimatică a irinotecanului, mediată de carboxilesteraze. S-a demonstrat faptul că celulele gliomului posedă capacitatea de a transforma direct irinotecanul în SN-38. Creșterile ulterioare ale concentrației de SN-38 sunt asociate cu modificări morfologice care indică citotoxicitatea sa, o reducere a proliferării celulare ducând la amplificarea efectelor citotoxice.

Minociclina este remarcată pentru capacitatea sa de a inhiba activarea MAP kinazei p38 în celulele microgliale și de a suprima secreția de chemokine. Aceste acțiuni sunt implicate în reglarea mediată de celule gliale a metaloproteinazei matricei de tip 1 (MT1-MMP) în microgliile asociate tumorii, care utilizează MT1-MMP pentru a promova invazia prin degradarea matricei extracelulare.

#### **9.1.2.3. Obținerea de biomembrane**

Fabricarea membranelor biodegradabile martor a presupus amestecarea gelului de colagen din piele de bovină cu glicerină și apă distilată, ajustarea pH-ului amestecului rezultat la 7,2-7,4 folosind hidroxid de sodiu 1 M și, ulterior, introducerea unei soluții de glutaraldehidă pentru a facilita reticularea colagenului. Glutaraldehida a fost aleasă datorită eficacității sale în reticulare, promovând interacțiunile dintre grupările sale aldehydice și grupările amino prezente în resturile de lizină sau hidroxilizină din lanțurile polipeptidice de colagen.

Membranele infuzate cu medicament au fost produse printr-o metodologie similară. Agenții activi (Irinotecan sau Minociclină) au fost inițial dizolvați în apă. O cantitate precisă de gel de colagen a fost apoi amestecată cu glicerină și soluțiile medicamentoase respective, pH-ul soluției a fost ajustat la 7,2 – 7,4 folosind hidroxid de sodiu 1 M, înainte de adăugarea agentului de reticulare, glutaraldehida. Membranele au fost proiectate pentru a încorpora Irinotecan la cinci concentrații distincte (10%, 20%, 30%, 40% și 50%) sau Minociclină la două concentrații (40% și 20%) față de baza de colagen.



**Figura 9.2.** Etapă din fabricarea membranelor; Adăugarea agentului de reticulare și depunerea în vase Petri de teflon pentru uscare.

Aceste preparate au fost ulterior depuse în vase Petri de teflon pentru uscare la temperatura camerei, rezultând formarea membranelor (figura 9.2). Un rezumat al compozițiilor membranelor este furnizat în Tabelul 9.1.

**Tabelul 9.1.** Compoziția membranelor testate - C – membrana cu collagen, M1, M2 – membrana cu collagen și minociclina, IR1-5 – membrana cu collagen și irinotecan

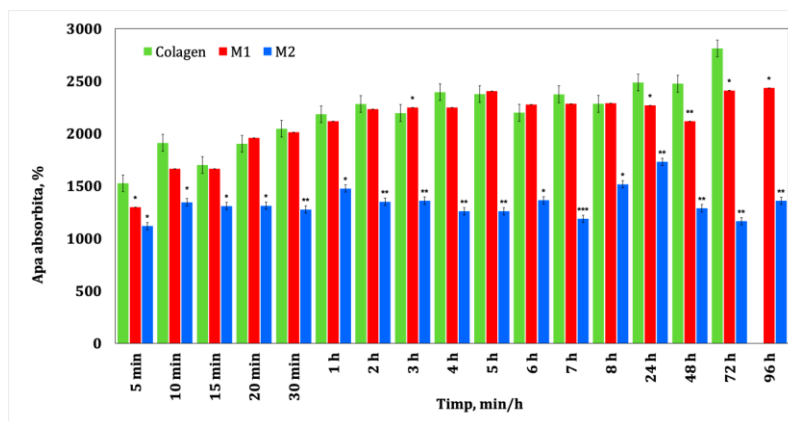
Membrana testata	Minociclina (%)	Irinotecan (%)
C	0	0
M1	20	-
M2	40	-
IR1	-	10
IR2	-	20
IR3	-	30
IR4	-	40
IR5	-	50

În urma studiului experimental se poate afirma că membranele impregnate cu minociclina au prezentat o tendință ușoară de fragilitate.

#### 9.1.3.1. Capacitatea membranelor de a absorbi apă

Rezultatele analizelor de absorbție a apei pentru membranele impregnate cu Minociclina sunt prezentate în Figura 9.4. Rezultatele indică faptul că o concentrație scăzută de Minociclina nu afectează semnificativ capacitatea de absorbție a apei a collagenului, în timp ce o concentrație mai mare de Minociclina are ca rezultat o scădere a conținutului de apă absorbită în comparație cu membrana de collagen de control. Acest comportament poate fi datorat unei interacțiuni între Minociclina și collagen în timpul formării membranei.





**Figura 9.4.** Absorbția de apă pentru membranele de colagen cu concentrație diferită de minociclină; M1- 20% minociclina; M2- 40% minociclina

O valoare  $p > 0,5$  indică faptul că rezultatele obținute nu sunt semnificative statistic.

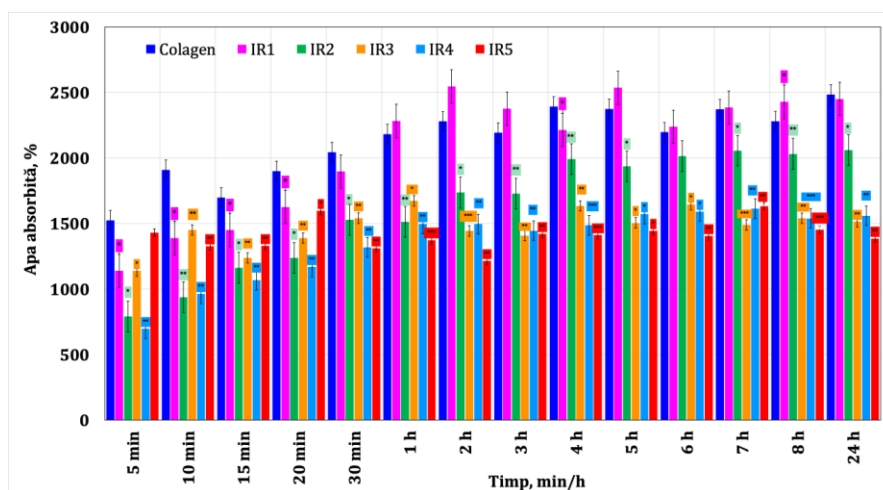
„\*” corespunde rezultatelor cu semnificație statistică ( $0,5 < p < 0,1$ ),

„\*\*” corespunde rezultatelor distinct semnificative statistic ( $0,1 \leq p < 0,01$ ), iar

„\*\*\*” corespunde rezultatelor foarte semnificative statistic ( $p \leq 0,01$ ).

Capacitatea de absorbție a apei a fost evaluată și pentru membranele care conțin Irinotecan, așa cum este ilustrat în Figura 9.5. În ambele cazuri, capacitatea maximă de absorbție a apei a fost de aproximativ 2500%.

De obicei, un glioblastom măsoară aproximativ 4 cm în diametru. În urma rezecției chirurgicale, cavitatea rezultată ar putea fi umplută cu o membrană de dimensiuni echivalente. Capacitatea acestei membrane de a reține apa ar putea conferi avantaje în contextul managementului tratamentului, mai ales având în vedere că lichidul cefalorahidian este compus în proporție de 99% apă.



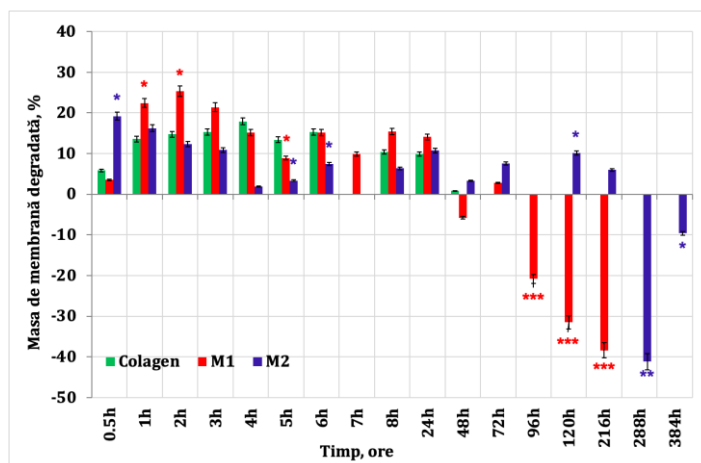
**Figura 9.5.** Absorbția de apă pentru membranele pe bază de colagen cu concentrații diferite de irinotecan; IR1-10%; IR2-20% irinotecan; IR3-30% irinotecan; IR4-40%; IR5-50%

O valoare  $p > 0,5$  indică faptul că rezultatele obținute nu sunt semnificative statistic.

“\*” corespunde rezultatelor cu semnificație statistică ( $0,5 < p < 0,1$ ),

„\*\*” corespunde rezultatelor semnificative distinct statistic ( $0,1 \leq p < 0,01$ ), iar

„\*\*\*” corespunde unor rezultate foarte semnificative statistic ( $p \leq 0,01$ ).



**Figura 9.6.** Influența colagenazei asupra membranelor de colagen cu minociclină  
O valoare  $p > 0,5$  indică faptul că rezultatele obținute nu sunt semnificative statistic.

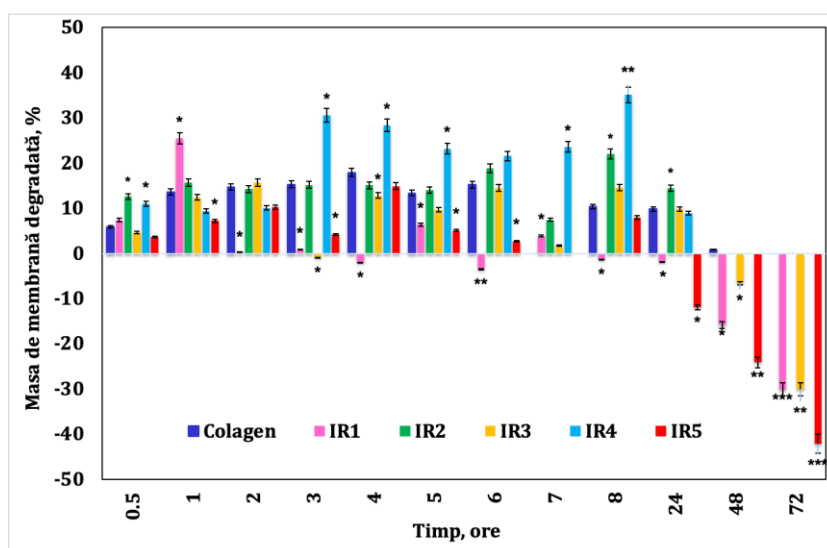
„\*” corespunde rezultatelor cu semnificație statistică ( $0,5 < p < 0,1$ ),

„\*\*” corespunde rezultatelor distinct semnificative statistic ( $0,1 \leq p < 0,01$ ), iar

„\*\*\*” corespunde rezultatelor foarte semnificative statistic ( $p \leq 0,01$ ).

### 9.1.3.2. Degradarea bimembranei sub acțiunea colagenazei

Figurile 9.6. și 9.5. prezintă rezultatele analizelor de degradare enzimatică. Observațiile inițiale indică faptul că membranele suferă o degradare în primele 4 ore. Acest proces încetează ulterior când membranele încep să absoarbă lichidul. Acest comportament sugerează că Minociclina, odată eliberată din membrană, inhibă activitatea enzimatică. Mai mult, datele obținute sugerează și că Irinotecanul, la eliberarea sa din membrană după o perioadă de 24 de ore, exercită în mod similar efecte inhibitoare asupra enzimei.



**Figura 9.7.** Influența colagenazei asupra membranelor de colagen cu irinotecan  
O valoare  $p > 0,5$  indică faptul că rezultatele obținute nu sunt semnificative statistic.

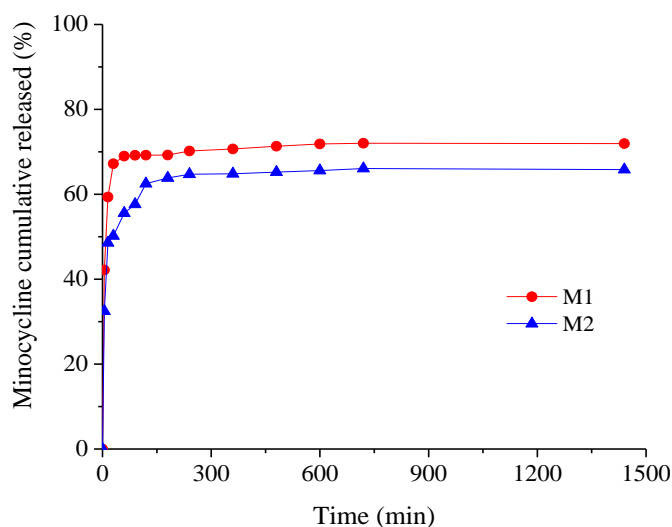
„\*” corespunde rezultatelor cu semnificație statistică ( $0,5 < p < 0,1$ ),

„\*\*” corespunde rezultatelor distinct semnificative statistic ( $0,1 \leq p < 0,01$ ), iar

„\*\*\*” corespunde rezultatelor foarte semnificative statistic ( $p \leq 0,01$ ).

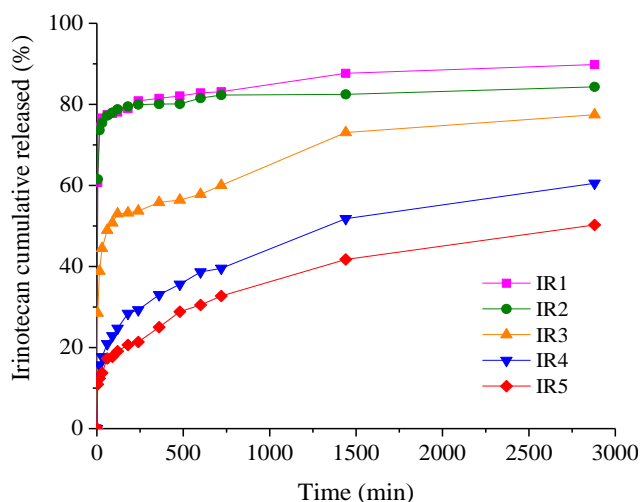
### 9.1.3.3. Eliberarea medicamentelor

Din Figura 9.8 se poate observa că probele încărcate cu minociclină prezintă profiluri de eliberare consistente, cu o eliberare inițială pronunțată observată în primele 15 minute (48,57% pentru M2 și 59,35% pentru M1). Această eliberare bruscă este avantajoasă pentru stabilirea unui mediu aseptice post-operatie, trecând ulterior la o eliberare susținută de medicament în decurs de 24 de ore pentru a inhiba proliferarea bacteriană în continuare. Minociclina totală eliberată în 24 de ore a fost de 71,95% pentru proba M1 cu o concentrație mai mică de medicament și 65,81% pentru proba M2 cu o concentrație mai mare de medicament [151, 152]



**Figura 9.8.:** Dependența de timp a eliberării de minociclina din membranele de colagen

Analiza Figurii 9.9 arată că pentru probele încărcate cu irinotecan, se observă o eliberare inițială intensificată pentru probele cu concentrații mai mici de medicament, atingând 74,45% (IR1) și 73,61% (IR2), în timp ce probele cu conținut mai mare de medicament au prezentat o reducere semnificativă a eliberării inițiale, de aproximativ 2 ori pentru IR3 și de cinci până la șase ori pentru IR4 și, respectiv, IR5. Pe durata experimentului de 48 de ore, procentul cumulat de irinotecan eliberat a variat de la 50,25% (IR5) la 89,85% (IR1). Eliberarea rapidă de concentrații locale mari de irinotecan facilitează regresia imediată a celulelor tumorale, iar eliberarea treptată și continuă care urmează menține concentrațiile eficiente pentru acțiune terapeutică susținută și rezoluție tumorală [153].

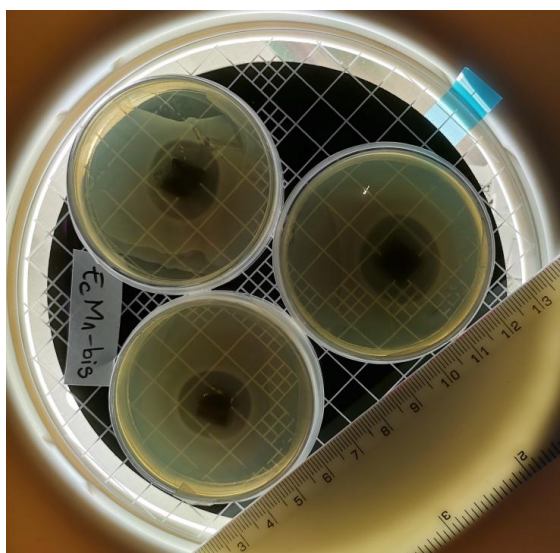


**Figura 9.9.** Dependența de timp a eliberării de irinotecan din membranele de collagen.

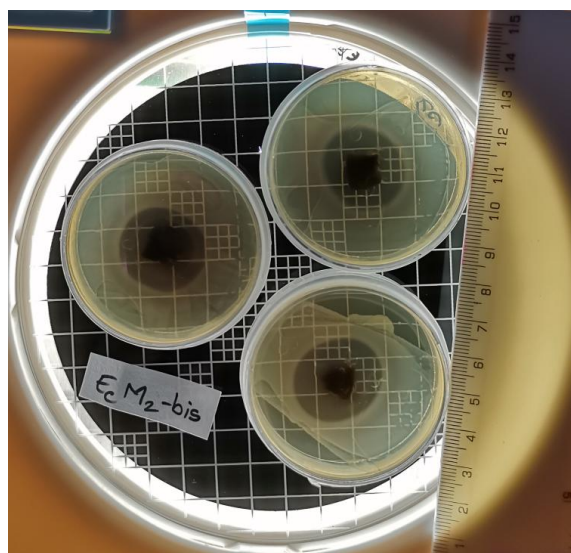
#### 9.1.3.4. Activitatea antimicrobiană

Testele realizate pe *E.coli* (microorganism G-) au arătat că minociclina inhiba aproape total dezvoltarea acestui microorganism ( $d=41,7\pm 2,89\text{mm}$ ). În ceea ce privește biomaterialele testate, acestea se comporta oarecum diferit, probabil funcție de concentrația antibioticului în material (fig. 9.11 – 9.12). Cele mai bune diametre de inhibiție se obțin pentru biomaterialul M2 (fig.9.12,  $d=21,67\pm 1,15\text{mm}$ ) urmat de biomaterialul M1 (fig.9.11,  $d=20,33\pm 0,58\text{mm}$ ).

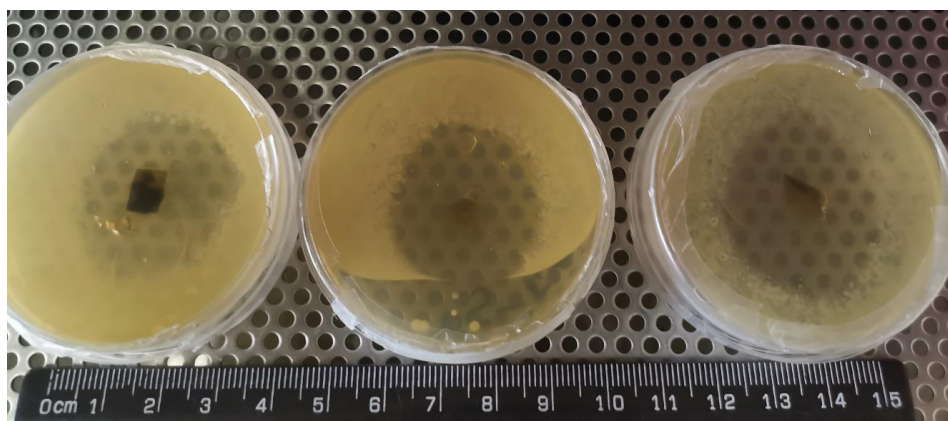
În cazul *S. aureus* (microorganism G+), minociclina inhiba total dezvoltarea acestui microorganism ( $d=50\pm 0,00\text{mm}$ ). În ceea ce privește membrana cu monociclina aceasta a condus la un diametru de inhibiție de  $29\pm 5,41\text{ mm}$ , membrana M1, figura 9.14.



**Figura 9.11.** Efectul biomaterialului M1 asupra *E. coli*.  
DI =  $(20,33\pm 0,58)\text{ mm}$



**Figura 9.12.** Efectul biomaterialului M2 asupra *E. coli*.  
DI =  $(21,67\pm 1,15)\text{ mm}$



**Figura 9.14.** Efectul biomaterialului M1 bis asupra *S.aureus*  
Diametrul mediu de inhibiție ( $28 \pm 2,65$ ) mm

#### 9.1.4. Concluzii parțiale

Membranele de colagen, caracterizate prin atributele lor fizice, chimice și biologice distincte, au atras o atenție considerabilă în domeniul ingineriei tisulare și al administrării de medicamente. Accentul a fost pus pe reticularea gelurilor de colagen folosind glutaraldehidă, încorporând Minociclină și Irinotecan, care servesc drept agenți antibiotici și, respectiv, chimioterapici.

Membranele pe bază de colagen propuse în această cercetare reprezintă o cale terapeutică promițătoare pentru abordarea glioblastomelor care prezintă în mod tradițional răspunsuri slabe la medicație. Mai exact, pentru glioblastom, progresele în nanoinginerie au apărut ca strategii viabile. Cu toate acestea, folosirea de membrane care încorporează minociclină și irinotecan împotriva gliomului de grad înalt a rămas neexplorată, în ciuda faptului că acești agenți sunt recunoscuți pentru eficacitatea lor terapeutică în astfel de afecțiuni maligne.

Rezultatele obținute privind absorbția de apă, degradarea enzimatică, eficacitatea antimicrobiană și dinamica eliberării medicamentului din membranele proiectate subliniază rolul semnificativ al tipului și concentrației de medicament. Fiecare variantă de membrană demonstrează un profil de eliberare bifazic, avantajos pentru profilaxia localizată și strategiile de tratament în managementul glioblastomului.

Această cercetare susține faptul că o membrană cu o concentrație de 30% de irinotecan continuă eliberarea medicamentului mai mult de două zile, în timp ce o membrană care conține 40% minociclină menține prezența medicamentului pentru mai mult de cinci ore, cu eliberare susținută care se extinde peste 24 de ore. Acest mecanism de eliberare treptată asigură o concentrație stabilă și eficientă a medicamentului la locul de tratament, maximizând potențialul terapeutic și diminuând probabilitatea reapariției tumorii. În consecință, aceste membrane ar putea îmbunătăți substanțial eficacitatea tratamentului localizat prin optimizarea eliberării inițiale cu disponibilitate extinsă a medicamentului, în special în contextul administrării de antibiotice și al prezenței chimioterapeuticilor. Prin urmare, dezvoltarea acestor membrane marchează un progres semnificativ către formularea unei modalități de tratament cuprinzătoare pentru provocarea deosebită pe care o reprezintă glioblastomul.

## 9.2. Biomembrane pe baza de colagen si nanoparticule cu Irinotecan

Acest capitol analizează progresul sistemelor de eliberare a medicamentelor bazate pe nanotehnologie (nanoDDS), concentrându-se pe bioingineria structurilor cărăuş al lipidelor nanostructurate (NLC) încărcate cu irinotecan în matricile de colagen cu utilizări potențiale în aplicațiile de inginerie tisulară și de livrare a medicamentelor. Irinotecanul, un agent chimioterapeutic puternic, este combinat cu Minociclina, un antibiotic care provoacă suplimentar apoptoza celulelor glioblastomului, această combinație valorificând potențialul terapeutic eficient asupra gliomelor de grad înalt. Procesul de fabricație a implicat utilizarea colagenului de tip I, provenit din piele de bovină, rafinat prin tehnici anterior descrise de formare a fibrilelor. După formarea fibrilelor, matricele de colagen au fost reticulate folosind glutaraldehidă, rezultând în crearea membranelor bioresorbabile. Aceste membrane proiectate au fost perfuzate cu concentrații variate ale suspensiei NLC pentru a obține încărcări de agent terapeutic (irinotecan) de 10%, 20%, 30%, 40% și 50% față de matricea de colagen pur, respectiv de 20% Minociclină.

Membranele bioresorbabile, impregnate cu diferite concentrații de medicament, au fost supuse unor evaluări riguroase, incluzând capacitatea de absorbție a apei și ratele de degradare enzimatică. Această metodologie subliniază avantajele substanțiale ale sistemelor de administrare a medicamentelor localizate, în special în contextul tratării gliomelor de grad înalt. Mecanismul de eliberare vizat diminuează în mod semnificativ efectele secundare sistemice în timp ce amplifică în același timp concentrația medicamentului în patul tumorii.

Mai mult, această cercetare examinează critic impedimentele asociate cu administrarea sistemică a agenților chimioterapeutici, subliniind în special provocările impuse de proprietățile restrictive ale barierei hemato-encefalice. Se pledează pentru utilizarea metodelor de livrare localizate ca o posibilă strategie eficientă în managementul glioblastomului. Încorporarea matricelor bioresorbabile în sistemele de livrare a medicamentelor se prezintă ca o cale deosebit de promițătoare, oferind o platformă pentru livrarea țintită a agenților terapeutici. Teza se aliniază în rândul inovațiilor privind eficacitatea intervențiilor bazate pe nanotehnologie în tratamentele medicale, propunând soluții inovatoare la complexitățile administrării medicamentelor în contextul terapiei cancerului.

**Tabel 9.2.** Membranele testate si compozitia lor

<b>Codul monstreii</b>	<b>NLC IR 1</b>	<b>NLC IR 2</b>	<b>NLC IR 3</b>	<b>NLC IR 4</b>	<b>NLC IR 5</b>	<b>NLC IR 3 MC</b>
<b>Irinotecan (%)</b>	10	20	30	40	50	30
<b>Minociclina (%)</b>	-	-	-	-	-	20

### 9.2.6. Concluzii parțiale

Utilizarea de nanotransportori lipidici pentru livrarea irinotecanului reprezintă o modalitate extrem de eficientă având în vedere eliberarea pe termen lung a agentului chimioterapeutic. Prin compararea membranelor cu irinotecan care reușesc să elibereze agentul chimioterapeutic pe o durată de 3 zile, și a membranelor îmbunătățite cu

nanoparticule care oferă o eliberare prelingită pe durata a cel puțin 7 zile, se observă o creștere importantă de aproximativ de 60% a timpului de cedare a medicamentului.

Încorporarea minociclonei în membrana pe bază de collagen, alături de irinotecan, conferă materialului proprietăți antibacteriene locale puternice, țintind eficient microorganismele patogene precum *Escherichia coli* (E. coli) și *Staphylococcus aureus* (S. aureus). Această caracteristică este crucială pentru aplicațiile în care prevenirea infecțiilor post-chirurgicale este importantă, oferind o măsură proactivă împotriva agenților patogeni bacterieni comuni.

Dincolo de capacitățile antimicrobiene, combinația de minociclină și irinotecan din aceste biomateriale este promițătoare pentru îmbunătățirea efectelor antiproliferative asupra celulelor canceroase, în special a celor caracteristice glioblastomului. Sinergia dintre irinotecan, un agent chimioterapeutic cunoscut și minociclină, se extinde dincolo de simple efecte aditive, sugerând o interacțiune potențată care poate amplifica impactul terapeutic împotriva glioblastomului. Acest mecanism sinergic poate implica întreruperea concomitentă a proceselor de replicare celulară de către irinotecan și modularea micromediului tumoral sau inhibarea mecanismelor care contribuie la chimiorezistență de către minociclină.

O astfel de abordare dublă-funcțională - care combină protecția antimicrobiană cu o activitate antitumorală îmbunătățită - evidențiază potențialul inovator al acestor biomateriale [183 – 188]. Astfel este subliniat avantajul strategic al încorporării mai multor agenți terapeutici într-o singură platformă de livrare pentru a aborda atât riscul imediat de infecție, cât și limitarea pe termen lung a proliferării cancerului. Această strategie multiplanară ar putea îmbunătăți semnificativ rezultatele clinice, în special în tratarea afecțiunilor în care riscul de infecție și rezistența tumorii la terapiile convenționale sunt preocupări majore .

## **10. Concluzii generale și contribuții personale**

În această teză, am realizat o analiză complexă și detaliată a glioblastomului la nivelul sistemului nervos central, incluzând atât glioblastomul cerebral cât și cel medular, și am explorat multiple fațete ale acestei patologii devastatoare. Studiul nostru s-a dezvoltat pe mai multe planuri, de la diagnostic și imagistică până la tratamente actuale și inovații terapeutice propuse.

### ***Glioblastomul Cerebral și Medular***

Glioblastomul, fie el cerebral sau medular, reprezintă una dintre cele mai agresive forme de tumoră a sistemului nervos central, cu un prognostic extrem de rezervat. În cazul glioblastomului medular, această patologie rară este caracterizată printr-o evoluție rapidă și agresivă, iar opțiunile terapeutice actuale sunt insuficiente pentru a stopa progresia bolii. În literatură există câteva cazuri excepționale în care tratamentele agresive au prelungit semnificativ supraviețuirea pacienților. Diagnosticul pentru aceste tumori este posibil doar prin imagistică prin rezonanță magnetică (IRM), evidențiind importanța tehnologiilor avansate de imagistică în gestionarea acestei boli. Confirmarea patologiei se face în baza studiilor de anatomopatologie realizate pe monstre de țesut prelevat intraoperator.

### ***Rolul Imagisticii Funcționale***

Imagistica funcțională, în special RMN-ul funcțional, joacă un rol crucial în diagnosticarea și gestionarea glioblastomului. Am demonstrat că RMN-ul funcțional este un instrument valabil pentru evaluarea funcționalității cerebrale și ar trebui inclus sistematic în planificarea preoperatorie a glioblastomului, în cazul localizărilor acestuia atât în zone elocvente funcționale precum zona motorie, cât și în zona pre-centrală și post-centrală, zone profunde din creier precum ganglionii bazali sau trunchiul cerebral, dar și zone responsabile de limbaj precum aria Wernicke sau Broca. Principalul avantaj al acestei tehnici este caracterul său noninvaziv, urmat de disponibilitatea largă, capacitatea de a oferi imagini anatomice detaliate și posibilitatea repetării examenului fără riscuri de iradiere pentru pacient.

RMN-ul funcțional este un instrument util pentru evaluarea funcționalității cerebrale, astfel încât poate fi inclus în mod sistematic în planificarea preoperatorie a glioblastomelor din zone funcționale, permițând atingerea unei rezecții cât mai complete; calitatea rezecției fiind corelată direct cu supraviețuirea și rata de recidivă.

Am arătat în lucrarea de față că prin utilizarea concomitentă a RMN-ului funcțional și a TMS navigat obținem o planificare preoperatorie mai detaliată și mai descriptivă.

Am evidențiat, de asemenea, importanța RMN-ului funcțional în monitorizarea plasticității cerebrale postoperatorii. Totuși, există și dezavantaje, cum ar fi fenomenul de decuplare neurovasculară și lipsa de fiabilitate în luarea deciziilor chirurgicale. Prin studiul nostru de caz, am arătat că utilizarea RMN-ului în combinație cu stimularea magnetică transcraniană navigată (TMS) poate oferi o planificare preoperatorie mai detaliată și mai precisă.

În concluzie consider că există încă mult potențial neexplorat în utilizarea și dezvoltarea atât a RMN-ului funcțional, cât și a TMS navigat.

### ***Evaluarea Prognosticului și Tratamente Actuale***

Evaluarea prognosticului în glioblastom rămâne o provocare majoră. Deși există câțiva factori de prognostic favorabili, în ansamblu, viitorul pacienților diagnosticați cu glioblastom este limitat. Printre factorii de prognostic bun am identificat:

- pacienții mai tineri au prognostic mai favorabil,
- o evoluție mai lungă a simptomelor înainte de diagnostic este sugestivă pentru un prognostic mai favorabil,
- rezecția macroscopică poate ameliora mortalitatea.

Ca și factor de prognostic negativ am identificat histopatologic indicele Ki-67 cu valori >40% și mutația P53 ca fiind asociate cu un prognostic limitat.

Am demonstrat că radio-chimioterapia poate prelungi semnificativ supraviețuirea fără progres și supraviețuirea globală a pacienților diagnosticați cu glioblastom medular.

Am arătat prin intermediul graficelor cum curba de supraviețuire Kaplan-Meier este corelată gradului de exereză, dar asocierea nu are semnificație statistică. În studiul efectuat am observat cum chimioterapia singură sau în asociație cu radioterapia este un factor de protecție contra progresiei tumorale, astfel că permite prelungirea supraviețuirii globale sau a supraviețuirii fără progres.



Totuși, aceste tratamente rămân insuficiente pentru a asigura o vindecare completă sau o supraviețuire îndelungată.

### ***Inovații în Tratamente prin chimioterapia locală cu membrane pe bază de colagen cu agent chimioterapic și antimicrobian***

Un studiu recent, publicat în februarie 2024, demonstrează că implanturile reprezintă un nou tratament promițător pentru glioblastom, care ar putea fi rapid implementat în clinică. Nanoingineria a arătat un potențial uriaș în tratamentul glioblastomului, iar membranele pe bază de colagen propuse în această teză reprezintă o oportunitate terapeutică inovatoare pentru tratarea cancerelor cerebrale rezistente la medicamente.

Membranele utilizând minociclină și irinotecan au fost create pentru a răspunde specific la gliomul de grad înalt, iar aceste substanțe reprezintă agenți terapeutici testați pentru acest tip de malignitate la nivelul sistemului nervos central. Rezultatele studiului nostru au arătat că tipul și concentrația medicamentului influențează semnificativ absorbția apei, degradarea enzimatică, activitatea antimicrobiană și caracteristicile de eliberare ale medicamentului din membranele create. Profilurile cinetice bifazice sunt favorabile pentru profilaxia și tratamentul local al glioblastomului, iar rezultatele privind eliberarea medicamentului sugerează că membrana conținând 30-50% irinotecan continuă să elibereze medicamentul chiar și după două zile, în timp ce membrana cu 40% minociclină asigură concentrații substanțiale de medicament în primele cinci ore și concentrații mai mici până la 24 de ore.

Experimentele de eliberare a irinotecanului încapsulat în nanopurtători au arătat că eliberarea sa are loc, așa cum era de așteptat, în urma unui mecanism în mai multe etape. În primul pas, în primele 100 de minute, mai rapid, irinotecanul care nu este încapsulat în nanoparticule este eliberat rapid. Acest lucru fiind benefic pentru anihilarea celulelor canceroase existente. Urmează o etapă de platou, etapa în care irinotecanul încapsulat traversează bariera lipidică a nanocapsulei. În pasul următor, între aproximativ 600 min și 4000 min, irinotecanul care a ieșit din capsulă este eliberat. Ultimul pas este extrem de lent și este pasul în care irinotecanul rămas în membrană este eliberat. Această eliberare extrem de lentă este extrem de benefică deoarece în acest fel celulele precanceroase care nu au fost ucise inițial pot fi anihilate. Nanoparticulele sunt concepute pentru a elibera treptat irinotecanul direct în țesutul tumoral, asigurând niveluri terapeutice susținute pentru o durată de cel puțin 66 de ore. Prin utilizarea nanoparticulelor ca purtători pentru irinotecan, distribuția și eficacitatea acestuia sunt îmbunătățite, făcându-l un tratament eficient de chimioterapie localizată pentru glioblastom.

Eliberarea lentă a irinotecanului asigură o concentrație terapeutică constantă și eficiență a medicamentului, maximizând efectul terapeutic și reducând riscul de recurență a tumorii. Astfel, aceste membrane ar putea fi eficiente în tratamentul local datorită echilibrului în eliberarea prelungită a medicamentului chimioterapeutic anticanceros.

Studiul eficacității antimicrobiene a biopreparatului încorporat cu nanoparticule de irinotecan în concentrație de 30% și minociclină 20%, a arătat efecte antibacteriene semnificative împotriva bacteriilor Gram-negative și Gram-pozitive. Testele au demonstrat un diametru mediu de inhibiție de 17,33 mm pentru *Escherichia coli* și 16,5 mm pentru

*Staphylococcus aureus*. Această activitate moderată subliniază importanța compoziției biomaterialului în eficiența sa antimicrobiană.

Biocompozitele din collagen oferă avantaje în aplicațiile medicale, inclusiv biodegradabilitatea și activitatea antimicrobiană preventivă.

Biomaterialul compozit care combină irinotecan și minociclină are nu doar efecte antimicrobiene, ci și potențial antiproliferativ sinergic împotriva celulelor canceroase, reducând chimiorezistența și sporind eficacitatea chimioterapiei. Cercetările sugerează că minociclina contribuie la sensibilizarea celulelor tumorale, îmbunătățind rezultate terapeutice.

Dezvoltarea acestor membrane reprezintă un pas important în tratamentul cancerului cerebral.

### ***Direcții Viitoare***

Explorarea imagisticii funcționale, evaluarea prognosticului și inovarea în tratamente reprezintă pași esențiali în lupta împotriva acestei patologii devastatoare.

Nanoparticulele încapsulate cu agent chimioterapic oferă o abordare promițătoare pentru utilizarea eficientă a irinotecanului în tratamentul local al glioblastomului după o rezecție chirurgicală, întrucât reușește să șunteze bariera hemato-encefalică, astfel încât dozele eficiente sunt mai mici, cu o biodisponibilitate crescută direct în patul operator, și cu efecte secundare limitate în ceea ce privește toxicitatea sistemică.

Această teză subliniază potențialul promițător al nanoparticulelor încapsulate cu agent chimioterapic, și importanța continuării cercetărilor și dezvoltării de noi terapii pentru a îmbunătăți prognosticul și calitatea vieții pacienților diagnosticați cu glioblastom, fie el cerebral sau medular.

### **Bibliografie selectivă**

1. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncol.* 2021 Aug 2;23(8):1231–51.
17. Ross JL, Cooper LAD, Kong J, Gutman D, Williams M, Tucker-Burden C, et al. 5-Aminolevulinic Acid Guided Sampling of Glioblastoma Microenvironments Identifies Pro-Survival Signaling at Infiltrative Margins. *Sci Rep.* 2017 Nov 15;7(1):15593.
18. Perry J, Chambers A, Spithoff K, Laperriere N, on behalf of the Neuro-Oncology Disease Site Group of Cancer Care Ontario's Program in Evidence-Based Care. Gliadel Wafers in the Treatment of Malignant Glioma: A Systematic Review. *Curr Oncol.* 2007 Oct;14(5):189–94.
19. Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, et al. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005 Mar 10;352(10):987–96.
44. Abd-Elghany AA, Naji AA, Alonazi B, Aldosary H, Alsufayan MA, Alnasser M, et al. Radiological characteristics of glioblastoma multiforme using CT and MRI examination. *J Radiat Res Appl Sci.* 2019 Jan;12(1):289–93.
71. Tian M, Ma W, Chen Y, Yu Y, Zhu D, Shi J, et al. Impact of gender on the survival of patients with glioblastoma. *Biosci Rep.* 2018 Nov 7;38(6):BSR20180752.

72. Park KY, Snyder AZ, Olufawo M, Trevino G, Luekett PH, Lamichhane B, et al. Glioblastoma induces whole-brain spectral change in resting state fMRI: Associations with clinical comorbidities and overall survival. *NeuroImage Clin.* 2023 Jan 1;39:103476.
73. Stumpo V, Sebök M, van Niftrik CHB, Seystahl K, Hainc N, Kulcsar Z, et al. Feasibility of glioblastoma tissue response mapping with physiologic BOLD imaging using precise oxygen and carbon dioxide challenge. *Magn Reson Mater Phys Biol Med.* 2022 Feb 1;35(1):29–44.
74. Kong NW, Gibb WR, Tate MC. Neuroplasticity: Insights from Patients Harboring Gliomas. *Neural Plast.* 2016;2016(1):2365063.
75. Tobochnik S, Lapinskas E, Vogelzang J, Ligon KL, Lee JW. Early EEG hyperexcitability is associated with decreased survival in newly diagnosed IDH-wildtype glioma. *J Neurooncol.* 2022 Aug 1;159(1):211–8.
76. Gibb WR, Kong NW, Tate MC. Direct Evidence of Plasticity within Human Primary Motor and Somatosensory Cortices of Patients with Glioblastoma. *Neural Plast.* 2020;2020(1):8893708.
77. Buklina SB, Podoprigora AE, Pronin IN, Shishkina LV, Boldyreva GN, Bondarenko AA, et al. fMRI study of the dominant hemisphere for language in patients with brain tumor. *Zh Vopr Neurokhir Im N N Burdenko.* 2013;77(5):30–7; discussion 37.
78. Wunderlich G, Knorr U, Herzog H, Kiwit JCW, Freund HJ, Seitz RJ. Precentral Glioma Location Determines the Displacement of Cortical Hand Representation. *Neurosurgery.* 1998 Jan;42(1):18.
85. **Idu AA**, Bogaciu NS, Ciurea AV. Brain imaging and morphological plasticity in glioblastoma: a literature review. *J Med Life.* 2023, 16(3), 344-347
86. Ghinda DC, Wu JS, Duncan NW, Northoff G. How much is enough—Can resting state fMRI provide a demarcation for neurosurgical resection in glioma? *Neurosci Biobehav Rev.* 2018 Jan 1;84:245–61.
87. Winn HR. *Youmans and Winn Neurological Surgery E-Book: 4-Volume Set.* Elsevier Health Sciences; 2022.
96. Chanchotisation A, Xiong J, Yu J, Chu S. Exophytic Primary Intramedullary Spinal Cord Glioblastoma: Case Report and Critical Review of Literature. *World Neurosurg.* 2019 Feb;122:573–6.
107. Yang K, Wang J, Wang G. Multicentric Exophytic Primary Spinal Cord Glioblastoma Mimicking Teratoma. *World Neurosurg.* 2020 Dec;144:262-263.e2.
108. Chambless LB, Kistka HM, Parker SL, Hassam-Malani L, McGirt MJ, Thompson RC. The relative value of postoperative versus preoperative Karnofsky Performance Scale scores as a predictor of survival after surgical resection of glioblastoma multiforme. *J Neurooncol.* 2015 Jan;121(2):359–64.
109. Onciul R, Toader C, Glavan LA, Covache-Busuioc RA, Bratu BG, Costin HP, Corlatescu AD, Ciurea AV, Grama M, **Idu AA**. Retrospective Analysis of Glioblastoma Outcomes. *Cureus.* 2024 Jun 16;16(6):e62462.
114. **Idu AA**, Eva L, Covache-Busuioc RA, Glavan LA, Ciurea AV. Progressive Paraparesis and Spinal Glioblastoma in a Young Female. *Cureus.* 2024 Apr 4;16(4):e57593.

183. Bano S, Albuquerque JQ, Roberts HJ, Pang S, Huang HC, Hasan T. Minocycline and photodynamic priming significantly improve chemotherapy efficacy in heterotypic spheroids of pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Photochem Photobiol B*. 2024 Jun 1;255:112910.
188. Yanai T, Hashimoto H, Yamazaki N, Yasui H, Sakai G, Akatsuka S, et al. 1597P - Prophylactic Topical Adapalene and Oral Minocycline for Panitumumab-Induced Skin Toxicity. *Ann Oncol*. 2012 Sep 1;23:ix514–5.