

Università degli Studi di Catania

Clinica Oculistica

Direttore: Prof. A. Reibaldi



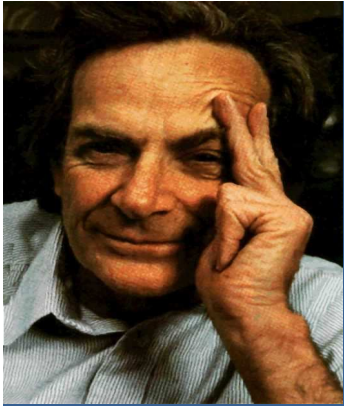
*Consiglio Nazionale
delle Ricerche.*

Istituto per i Processi Chimico-Fisici

Nanotecnologia in oftalmologia: aspetti futuri.

F. Battaglia, M. Reibaldi, M. Battaglia, M. Toro, N. Micali, V. Villari, A. Mazzaglia

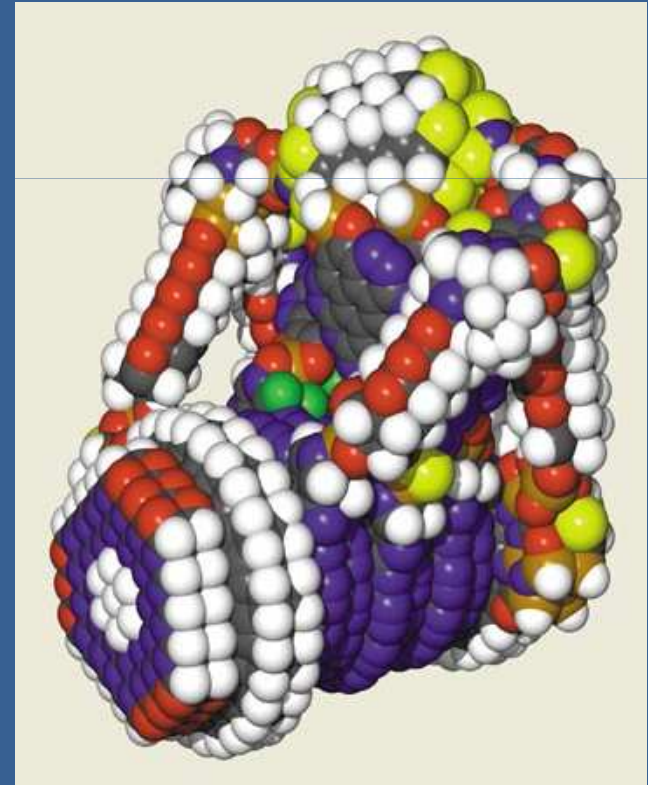
SOSI 2011



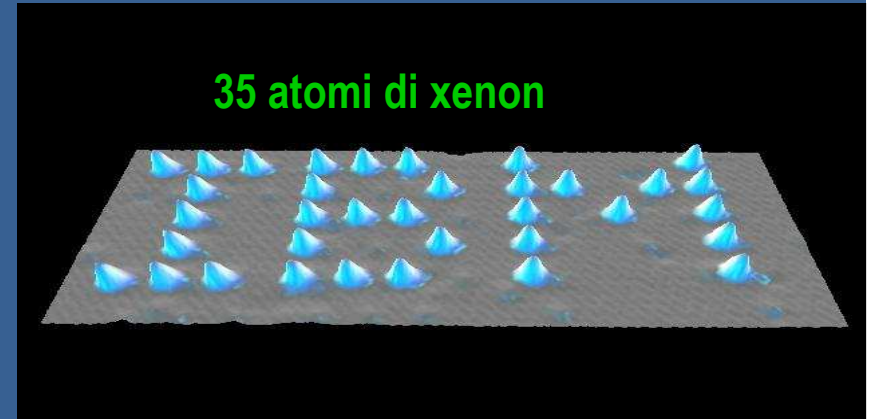
Richard Feynman: il Padre della Nanotecnologia

Il 29 dicembre 1959 Feynman tenne un famoso discorso:

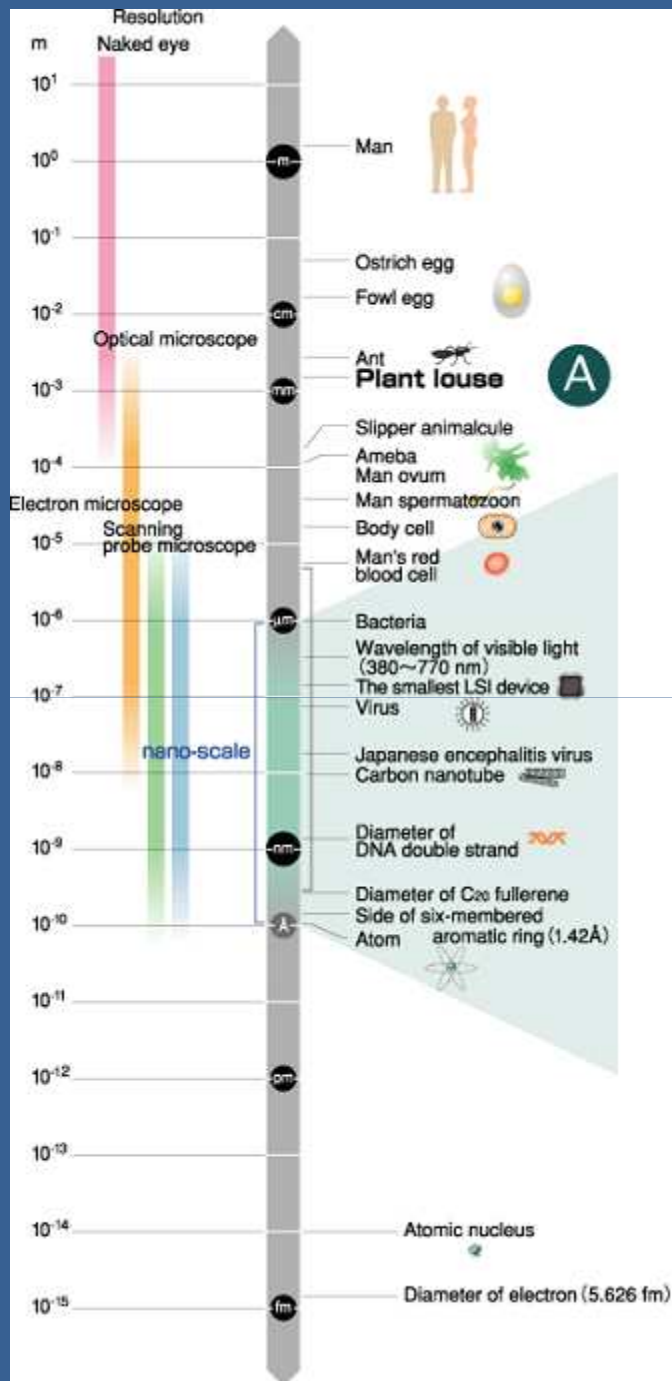
“ Ciò di cui voglio parlare è il problema di manipolare e controllare le cose su una piccola scala. [...] Ma non mi spaventa affrontare anche la questione finale, cioè se - in un lontano futuro - potremo sistemare gli atomi nel modo in cui vogliamo; proprio i singoli atomi, al fondo della scala! [...] Per quanto ne so, i principi della fisica non impediscono di manipolare le cose atomo per atomo. Non è un tentativo di violare alcuna legge; è qualcosa che in principio può essere fatto, ma in pratica non è successo perché siamo troppo grandi.”



L'avvento delle NANOTECNOLOGIE



- 1959 R. Feynman prevede la nascita della nanotecnologia
- 1974 Primo dispositivo elettronico molecolare brevettato (IBM)
- 1985 Scoperta dei fullereni
- 1986 Invenzione del microscopia ad effetto tunnel (IBM-Zurigo)
- 1988 La Dupont progetta la prima proteina artificiale
- 1989 D.M. Eigler (IBM) scrive il nome della sua azienda con 35 atomi di Xenon
- 1991 S. Iijima scopre i nanotubi di carbonio
- 1993 Nasce alla Rice University (USA) il primo laboratorio di Nanotecnologie
- 2001 IBM e Università di Delft (NL) creano il primo circuito logico a base di nanotubi
- 2002 Cornell University (NY) realizza il primo nanomotore
- 2003 USA stanziavano 3.7 MLD di \$ in 4 anni per la ricerca

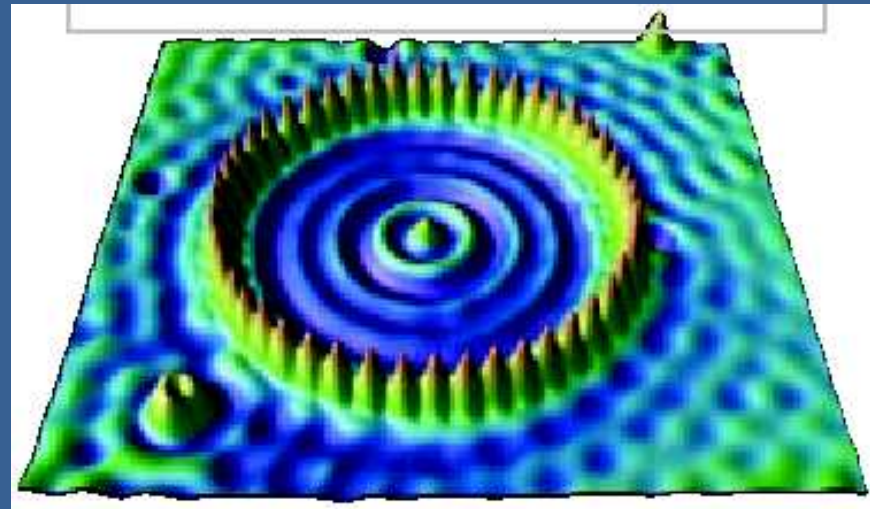


Nanotecnologie

1 nm = 1 miliardesimo di metro

Arete della Scienza e della tecnologia relative a **MATERIALI** e **STRUTTURE** con dimensioni fino a

100 nanometri



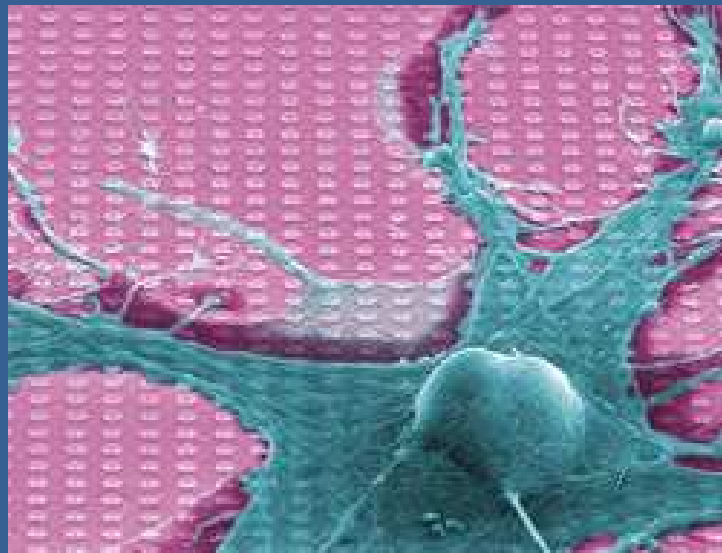
**Quantum Corral
(Atomi di Fe su Cu)**

Nano-biotecnologie



Nano bio sensori

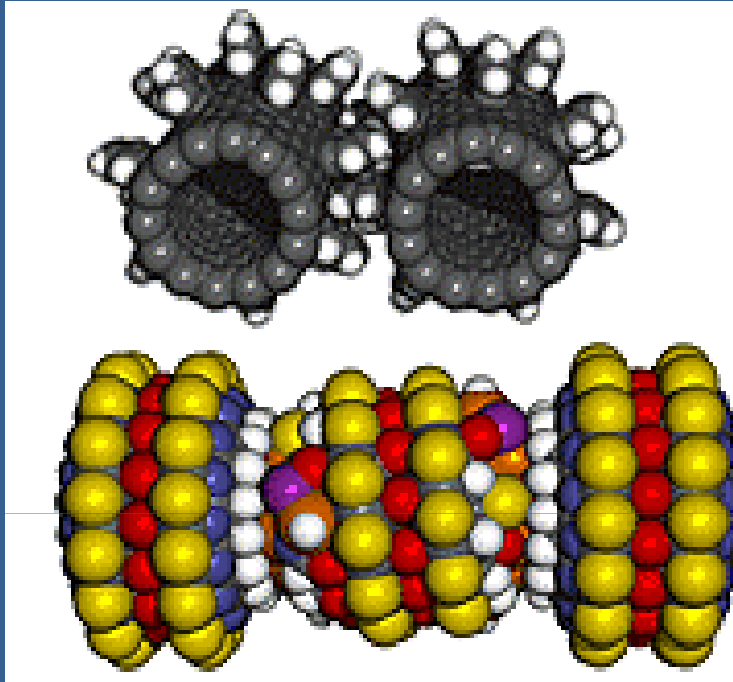
Capaci di riconoscere specifiche sequenze di Dna e di mutazioni genetiche. Forniranno strumenti per rilevare precocemente i tumori e per mettere a punto nuovi farmaci.



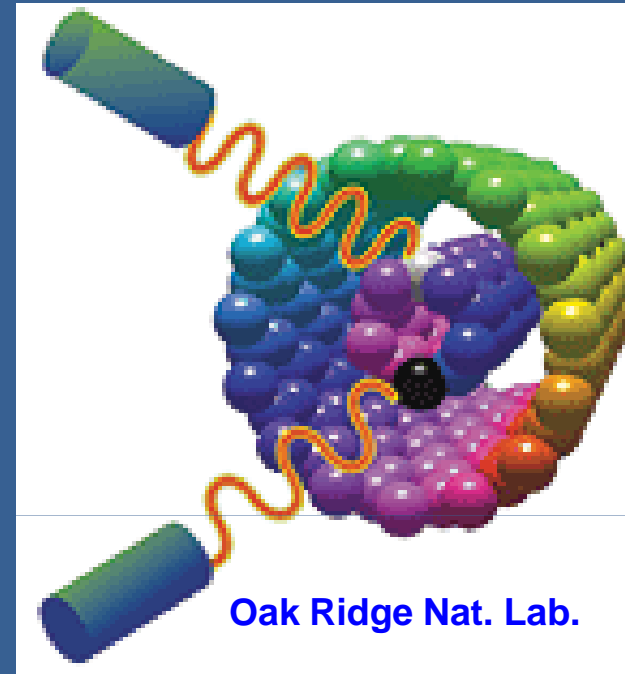
Chip neuronali

Neurone a lumaca cresciuto dal Max Planck Institute su un dispositivo CMOS della Infineon Technologies che misura l'attività elettrica neuronale accoppiando chip elettronici e cellule viventi

Assemblaggio molecolare



Nanoingranaggi



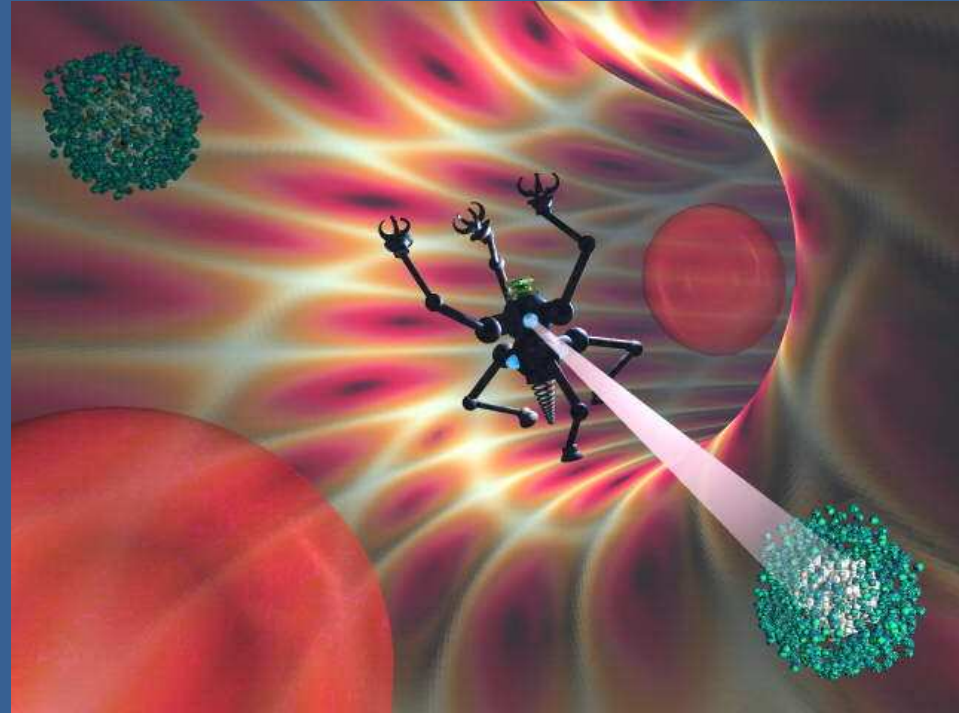
Oak Ridge Nat. Lab.

Nanomotore molecolare

Appositi nanoassemblatori, arrangeranno gli atomi per costruire una struttura macroscopica. Migliaia di miliardi di assemblatori occuperanno un'area più piccola di 1 mm^2 e saranno ancora invisibili ad occhio nudo.

Dal bisturi ai nanorobot

Un futuro nanorobot inietta farmaci in una cellula cancerogena o modifica le molecole di un virus. Oggi i più piccoli robot sono grandi qualche cm.



I nanorobot potranno rallentare il processo di invecchiamento ed essere programmati per eseguire delicati interventi chirurgici – migliaia di volte più precisi del più affilato bisturi - senza lasciare cicatrici.

TERAPIA GENICA

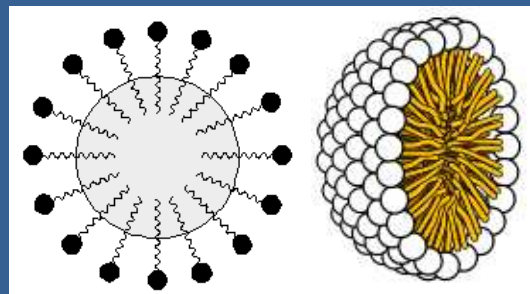
NANOFARMACI

Sistemi colloidali auto-organizzati per la veicolazione di farmaci

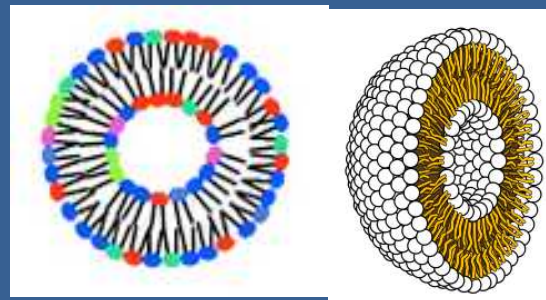
I colloidi rappresentano un'importante classe di materiali che consistono di una fase dispersa (in un solvente) di dimensioni comprese tipicamente tra 1 nm e 1 μm (dimensioni cioè da 5000 a 5 volte più piccole rispetto a quelle di un globulo rosso).

Tra i sistemi colloidali, gli aggregati di molecole anfifiliche in soluzione acquosa acquistano rilevanza anche in campo biomedico e farmaceutico, grazie alla loro capacità di intrappolare e trasportare farmaci.

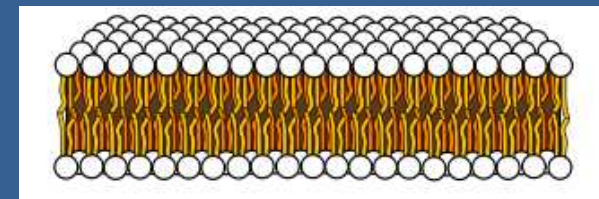
Una molecola anfifilica contiene sia un gruppo idrofilico che un gruppo idrofobico, di conseguenza quando si trova in un mezzo acquoso tende ad aggregarsi spontaneamente per schermare la parte idrofobica dal contatto con l'acqua. In relazione alle proprietà geometriche della molecola anfifilica gli aggregati che si formano possiedono differenti caratteristiche strutturali; ad esempio:



Micella

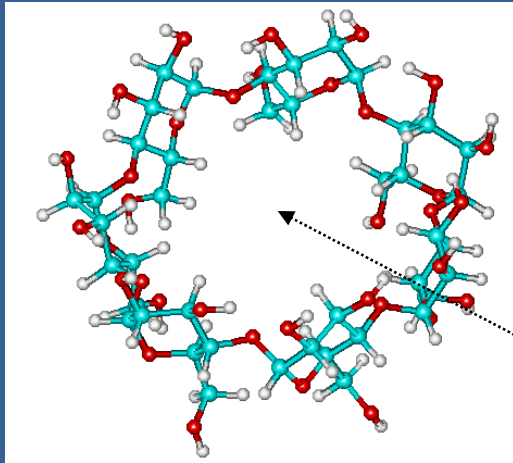


Vescicola



Bilayer

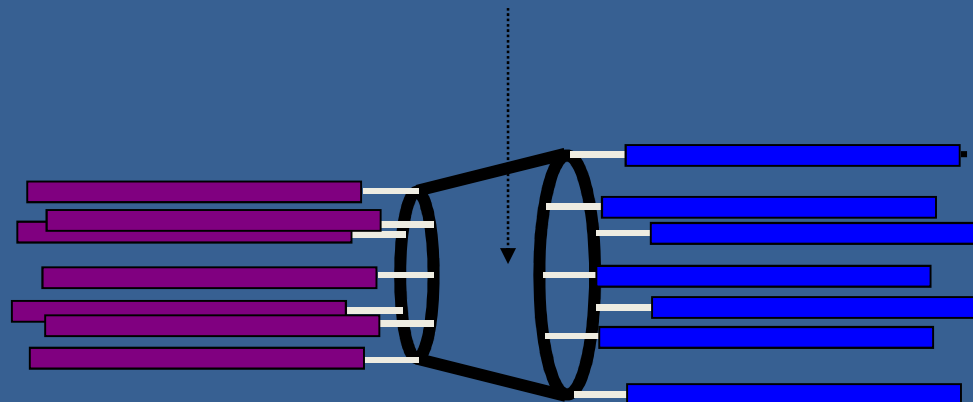
Versatili "multitopic hosts": Ciclodestrine anfifiliche



Cavità CD

Peculiarità:

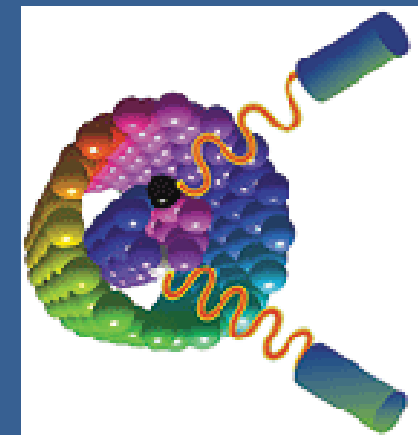
- Formazione di vescicole "stealth"*
- Efficacia nel "drug delivery"*
- Riconoscimento di proteine*



Code idrofobiche

Code idrofiliche

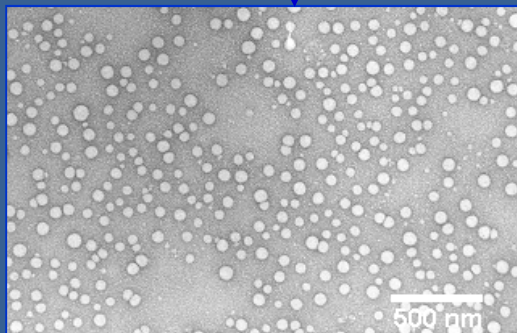
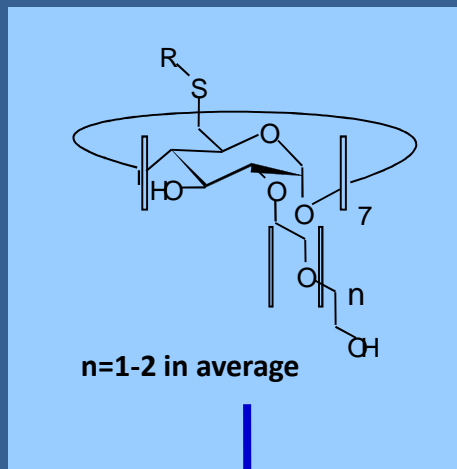
Gruppo funzionale



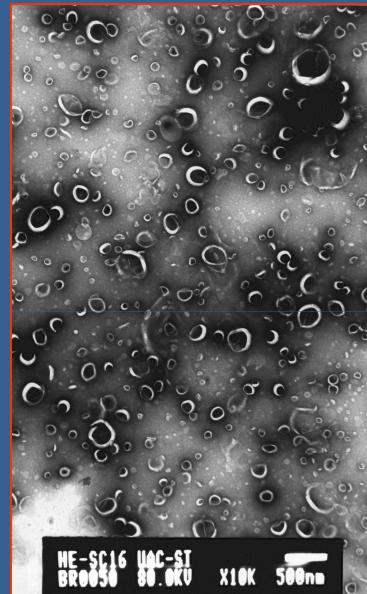
Molecole "guest" possono essere ospitate in differenti regioni di queste CD, in relazione al loro carattere idrofobico/idrofilico.

Ciclodestrine anfifiliche come veicolanti di farmaci

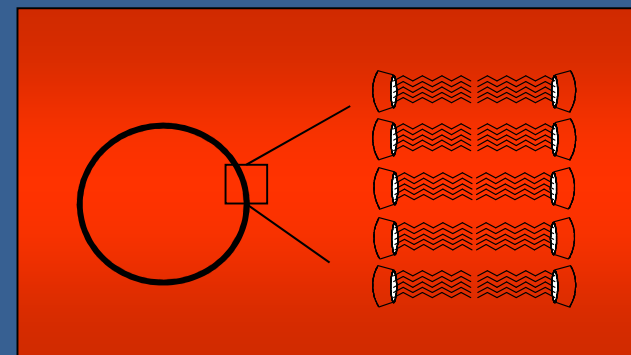
In relazione alla lunghezza della parte idrofobica ed al tipo di gruppo funzionale, gli aggregati di CD assumono differenti caratteristiche strutturali (micelle, cluster di micelle, liposomi).



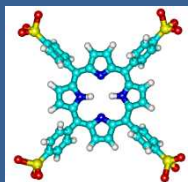
Micelles



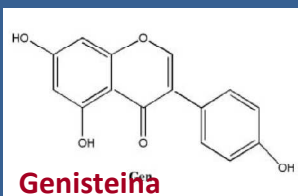
Liposomi



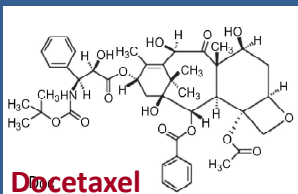
Vescicole di SC6CDNH2 per il trasporto intracellulare



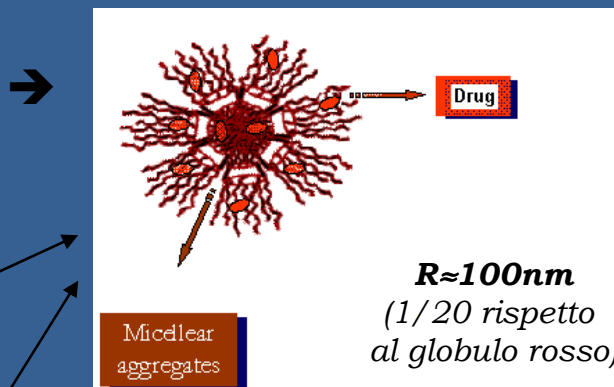
TPPS



Genisteina

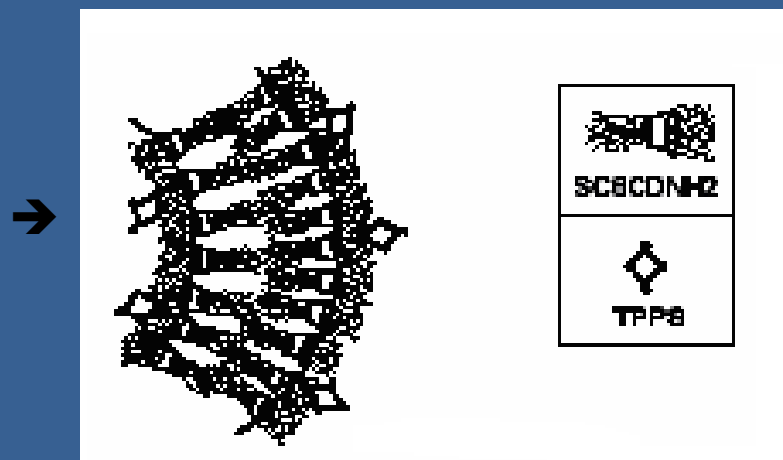


Docetaxel



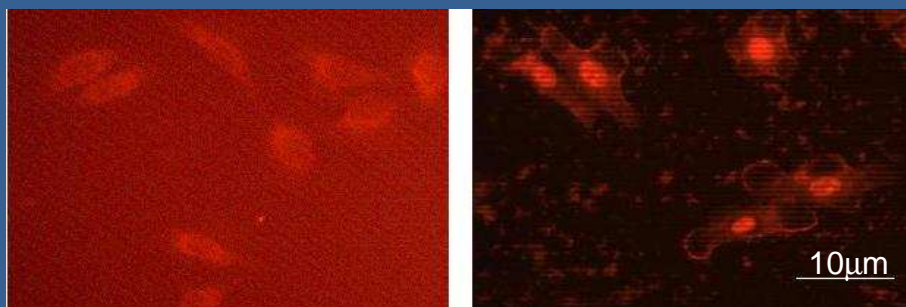
Micellar aggregates

$R \approx 100\text{nm}$
(1/20 rispetto al globulo rosso)



Gli aggregati di CD rappresentano efficaci sistemi di veicolazione di farmaci come dimostrato con porfirina, Genisteina e Docetaxel.

Queste ciclodestrine anfifiliche si aggregano per formare vescicole di dimensioni di centinaia di nanometri che sono in grado di intrappolare la porfirina nella fase vescicolare e di trasportarla all'interno delle cellule. Questa circostanza le rende potenzialmente utili nella terapia fotodinamica dei tumori.

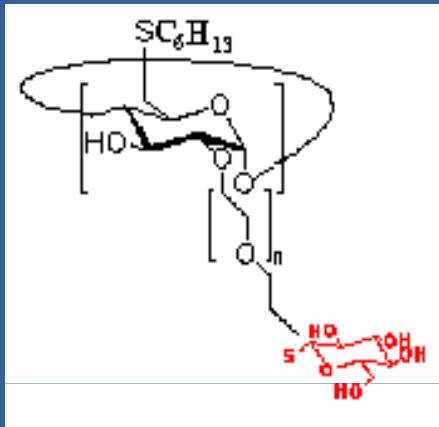


Coltura cellulare (HEP-2) in assenza (a sinistra) ed in presenza (a destra) del veicolante. Attraverso la fluorescenza del sensibilizzante è dimostrata l'internalizzazione cellulare.

*Chem. Eur. J., 2003, 9, 5762
J.Phys.Chem B, 2005, 109, 7258
Biomaterials, 30, 2009, 374-382.*

Veicolazione selettiva

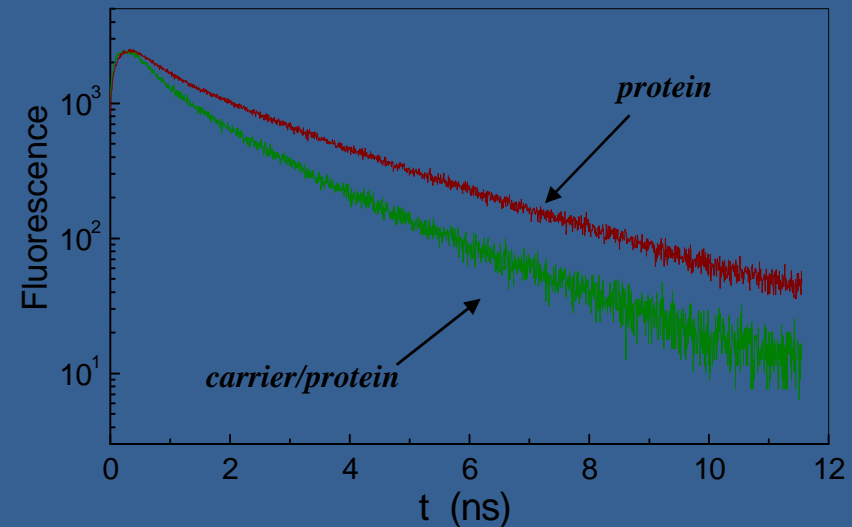
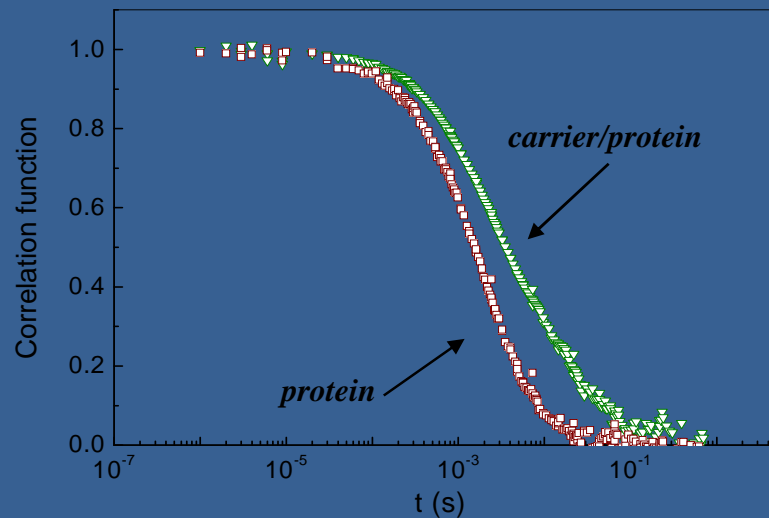
Per rendere il veicolante selettivo nei confronti delle cellule malate (e, quindi, rendere minimo il danno ai tessuti sani circostanti) il gruppo funzionale è costituito da determinati zuccheri, che svolgono la funzione di recettori per specifiche proteine.



La funzionalizzazione con gruppi galattosilati consente l'interazione selettiva con una proteina specifica (la lectina) sovra-espressa ad esempio nei tessuti tumorali. Il riconoscimento della proteina ed il trasporto della porfirina dentro la cellula suggeriscono la possibilità di impiegare il sistema come carrier intelligente nel processo di drug delivery.

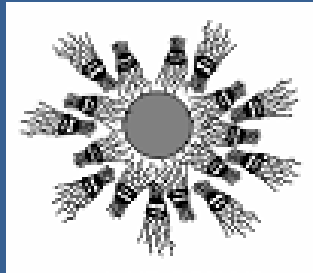
Nanotechnology, 2006, 17, 3239-3244, New J. Chem., 2006, 30, 1662-1668.

Riconoscimento molecolare tra carrier e proteina

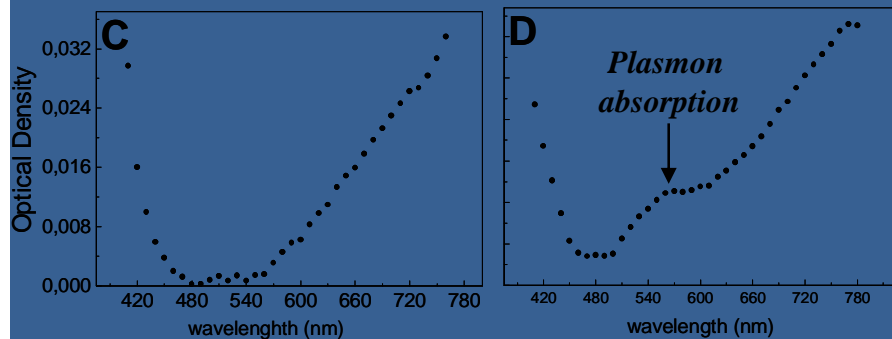
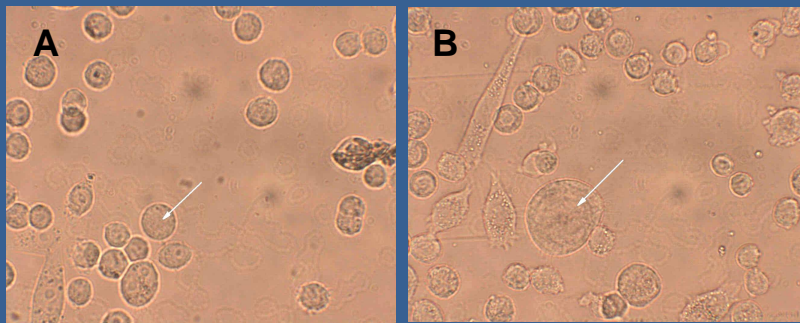


Misure di scattering di luce e di spettroscopia di fluorescenza risolta nel tempo, in assenza ed in presenza di veicolante, dimostrano l'esistenza di interazione carrier-proteina.

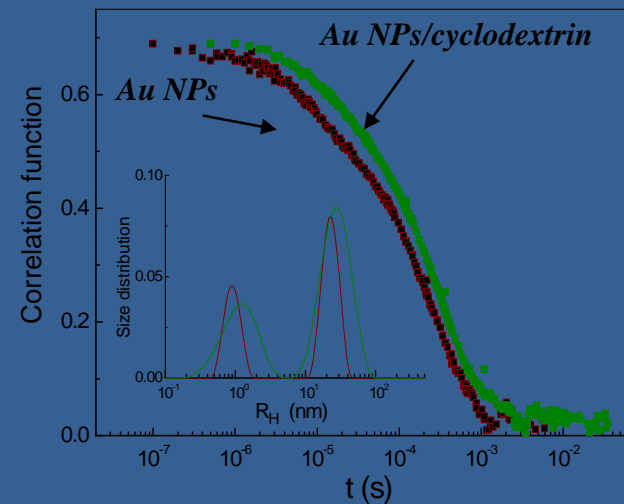
Nanoparticelle di oro decorate con Ciclodestrina anfifilica come veicolanti intracellulari



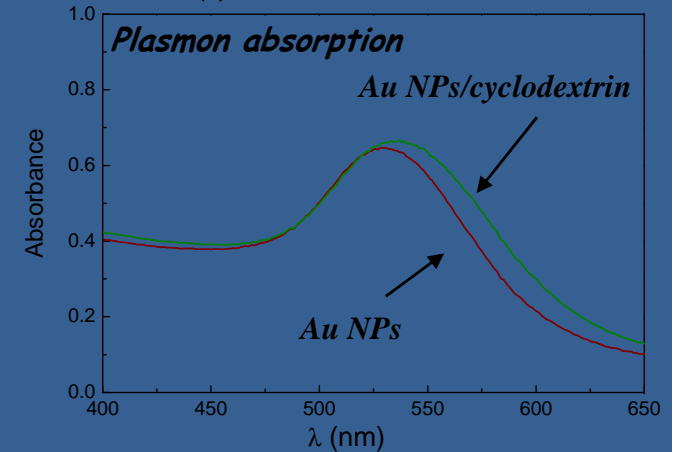
Distribuzione dimensionale delle nanoparticelle d'oro in assenza ed in presenza di decorazione con CD (dimensioni di circa 1/200 rispetto al globulo rosso) →



Coltura cellulare (HEP-2) in presenza di particelle di oro, Au NPs, (A) ed in presenza di particelle di oro decorate con ciclodestrina anfifilica, Au Ps/cyclodextrin, (B).

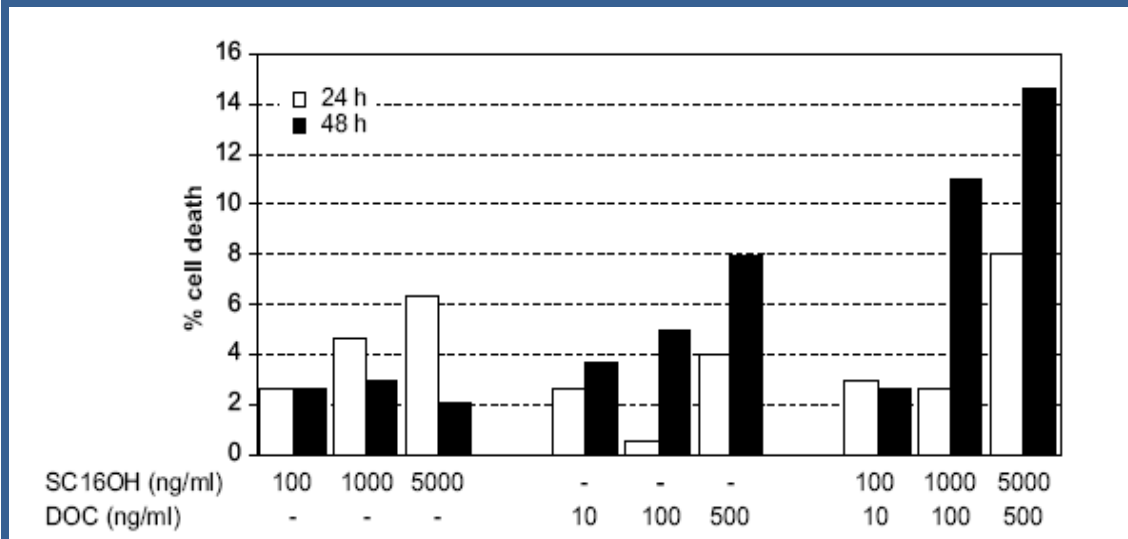


Assorbimento plasmonico tipico delle nano particelle sferiche di oro.

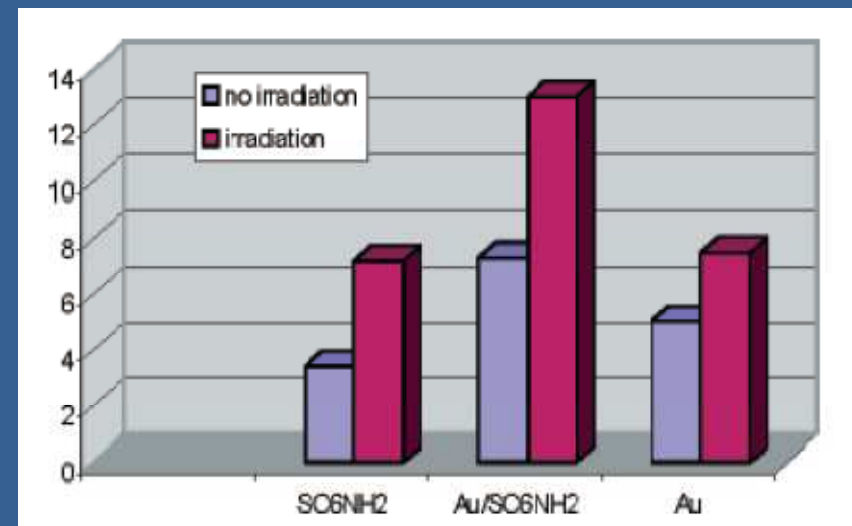


La densità ottica intracellulare indica che la funzionalizzazione con ciclodestrina anfifilica è un metodo efficiente per l'internalizzazione delle nanoparticelle di oro.

Test in vitro di mortalità cellulare

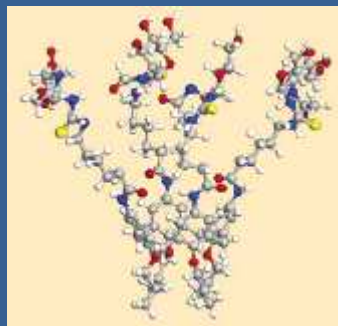


Effetti dell'esposizione al Docetaxel in cellule HEp-2. Le cellule sono state trattate con solo Docetaxel, con sole nanoparticelle di SC16OH e con SC16OH contenente Docetaxel.

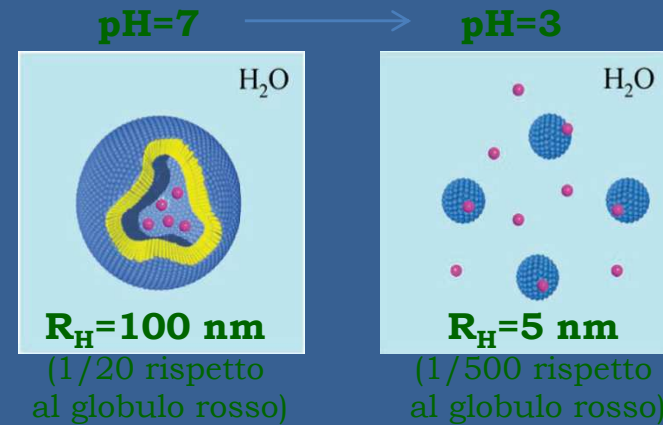
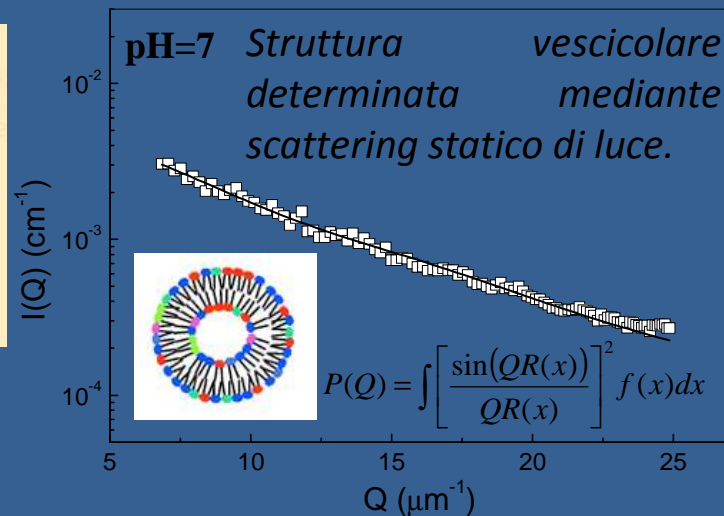


Danno fototermico indotto su cellule HeLa trattate con SC6NH2, Au/SC6NH2 e Au in seguito ad irradiazione laser (Nd:YAG 532 nm, 11 KHz, 1ns/impulso, 1μJ/impulso).

Veicolanti sensibili al pH

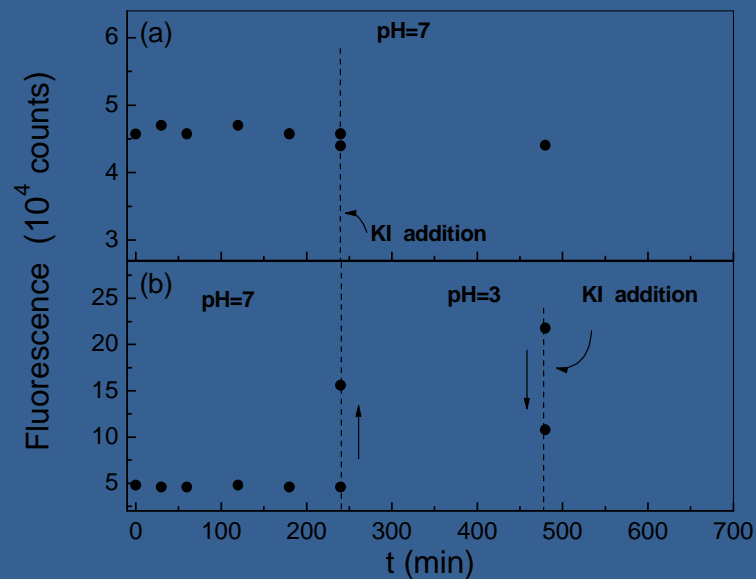


Calix[8]arene-based glycoconjugate

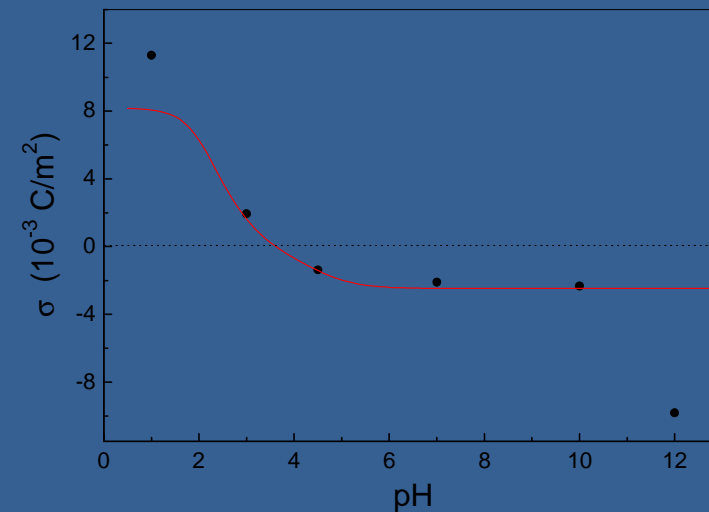


Nell'intervallo di pH da 7 a 3 si osserva una transizione da vescicola a micella.

Capacità di veicolare un "guest" idrosolubile



Un "guest" idrosolubile intrappolato all'interno della struttura vescicolare viene rilasciato a pH acido in seguito alla transizione vescicola-micella.



La modifica strutturale è pilotata dalla densità di carica superficiale, σ , del veicolante.

Phys. Rev. E, 2006, 73, 051904.

Uso potenziale di nanoparticelle biodegradabili in terapia fotodinamica delle malattie oculari

- L'uso potenziale di nanoparticelle per la PDT nella AMD è stato valutato in studi pre-clinici utilizzando la membrana corionallantoidea (CAM) di embrione di pollo, che è un tessuto altamente vascolarizzato .
- l'uso clinico futuro come il polimero L-acido lattico (PLA) e L- lattico-co-glicolico (PLGA) sono stati approvati dalla FDA . Quattro AF (agenti fotosensibilizzanti) sono già stati incapsulati in nanoparticelle di PLA.
- Utilizzo di *meso-tetra-p-idrossifenil-porfirina (m-THPP)* incapsulati in nanoparticelle di PLGA ha dimostrato che le nanoparticelle rimangono più a lungo nel sangue .
- l'utilizzo di nanoparticelle di dimensioni sufficienti a non attraversare l'endotelio discontinuo del CNV farebbe aumentare la selettività della PDT.

- Il futuro sviluppo di farmaci per PDT e VEGF nell'occhio si potrà realizzare tramite il rivestimento superficiale delle nanoparticelle con ligandi specifici per i tessuti bersaglio come è stato proposto nella terapia del cancro . Questa è una delle strategie che rende possibile alle nanoparticelle di diventare uno strumento prezioso per il rilascio controllato e selettivo di nuovi farmaci in oftalmologia.
- Il nostro gruppo di ricerca sta attualmente studiando in vitro su cellule retiniche e successivamente su modelli animali le possibili applicazioni in campo oftalmologico .

CONCLUSIONI

- "La persona malata, soffre a causa di sequenze di atomi non corrette, sia che la loro cattiva disposizione sia stata creata da virus o dal tempo che passa. Strumenti in grado di ridare l'ordine corretto agli atomi, saranno anche in grado di superare questi mali. Le nanotecnologie costituiranno un passo fondamentale per la medicina."

