Atti SIMeL

Nano/Micro Particelle per lo "*'Smart' Drug Delivery*"*

P. Decuzzi[1,2,3], G. Cuda[2], P. Tagliaferri[2], S. Venuta[2], M. Ferrari[3]

[1] *Centro di Eccellenza per la Meccanica Computazionale, Politecnico, Bari*
[2] *Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi "Magna Græcia", Catanzaro*
[3] *Heart and Lung Research Institute, Ohio State University, Columbus OH, USA*

*** Comunicazione presentata al 17° Congresso Nazionale della Società Italiana di Medicina di Laboratorio Lamezia Terme (CZ), 3-5 Ottobre 2003**

Sommario

L'impiego di nano/micro particelle come mezzo per la veicolazione di farmaci tramite il sistema circolatorio offre vantaggi enormi se confrontato con le tradizionali modalità di somministrazione. Infatti, la ottimale 'progettazione' di una particella per lo *smart drug delivery* garantisce elevata *selettività* - raggiungere ed aderire esclusivamente alle cellule 'malate' -, elevata *efficacia* - impiegare il minimo numero possibile di particelle -, e bassa *tossicità* - somministrare il farmaco in dosi precisamente controllate. Questo obbiettivo può essere raggiunto solo integrando le conoscenze derivanti dalle scienze mediche, farmacologiche, nano- e biotecnologie, e dalle scienze ingegneristiche, organizzando gruppi di ricerca fortemente interdisciplinari e multidisciplinari. La collaborazione fra la Facoltà di Medicina dell'Università degli Studi 'Magna Grecia' di Catanzaro, l' Heart and Lung Research Institute dell'Ohio State University ed il Centro di Eccellenza per la Meccanica Computazionale del Politecnico di Bari costituisce probabilmente il primo esempio italiano.
In questo lavoro, gli autori descrivono un sistema basato sull'impiego di particelle in silicio, microfabbricate secondo i protocolli classici delle nanotecnologie per applicazioni microelettroniche, per la veicolazione di farmaci. Si focalizza l'attenzione sull'integrazione fra processo progettuale e analisi proteomica, e sulle modalità di verifica sperimentale della bontà delle scelte progettuali.

1. Introduzione

Fra le modalità di somministrazione dei farmaci, la via orale rappresenta indubbiamente quella più tradizionale. La nota 'pillola' ingerita dal paziente, dopo avere superato lo stomaco raggiunge l'intestino, ne attraversa le pareti e si riversa nel circolo sanguigno per raggiungere, quindi, dopo essere stata filtrata attraverso il fegato, la meta finale. La pillola è generalmente costituita da un involucro a più strati, ciascuno con specifiche caratteristiche e proprietà, che avvolge e protegge il farmaco durante il suo cammino fino al completo assorbimento evitando che possa essere distrutto dall'azione aggressiva dei succhi gastrici e intestinali o dal fegato e garantendo il passaggio attraverso la mucosa dell'intestino. La scelta del rivestimento è estremamente complicata ed influisce sulla velocità di reazione del farmaco. E' importante ricordare che per ogni tipo di farmaco esiste un range di concentrazione ottimale nel sangue: se la pillola si dissolve troppo facilmente liberando rapidamente elevate dosi di farmaco quest'ultimo può essere tossico; se, al contrario, la pillola si dissolve troppo lentamente liberando basse dosi di farmaco questo può risultare inefficace. La pillola deve essere dunque 'progettata' in modo da garantire il raggiungimento dell'obbiettivo con dosi accettabili.
La possibilità di controllare in modo più diretto ed ottimizzare la concentrazione del farmaco nel sangue ha portato allo sviluppo di sistemi di somministrazione alternativi attraverso la cute (*transdermal routes*) o mucose (*transmucosal routes*) (sottolinguale/buccale, nasale, tracheale, rettale). I sistemi citati permettono di introdurre il farmaco rapidamente nel circolo sanguigno superando i rischi e le difficoltà su citate per la tradizionale via orale. Sia la somministrazione transcutanea che quella attraverso superfici mucose godono della elevata densità di vasi sanguigni i quali consentono una rapida diffusione del farmaco a livello sistemico. La via transcutanea ha l'inconveniente della barriera naturale

costitutita dalla cute ma si stanno attualmente studiando sistemi che permettono di aumentare la permeabilità al farmaco della cute, anche mediante l'ausilio di deboli correnti elettriche ed ultrasuoni. La somministrazione transmucosa è più efficace per l'assenza della barriera costituita dall'epidermide. L'impiego delle vie respiratorie (tracheale) è noto già da tempo (si pensi, ad esempio, agli anestetici) ed offre una superficie estremamente estesa. E' utilizzato per trattare malattie polmonari o per la somministrazione di farmaci diretti verso organi distanti i quali vengono raggiunti tramite il sistema circolatorio. La somministrazione attraverso la mucosa nasale è estremamente efficace per farmaci diretti al sistema nervoso. La via sottolinguale o buccale prevede il posizionamento del farmaco al di sotto della lingua per un periodo di tempo sufficientemente lungo. Infine la via rettale ha il vantaggio di essere particolarmente indolore e semplice da impiegare per i bambini.

Possono essere impiegati diversi vettori per veicolare il farmaco all'interno del corpo umano a seconda della modalità di somministrazione (1, 2, 3): una matrice di aghi micrometrici (*microneedles*) che perforando gli strati più esterni della cute (10 – 20 μm) permettono il trasferimento del farmaco nei vasi sottocutanei; particelle bioadesive (dendrimeri, polimeri, liposomi) che interagiscono direttamente con le cellule endoteliali dei canali sanguigni o con gli alveoli polmonari permettono di raggiungere gli organi desiderati attraverso il sistema circolatorio. Uno dei sistemi di veicolazione del farmaco più promettente è basato sull'impiego di micro/nano particelle fabbricate secondo i più recenti protocolli delle biotecnologie e nanotecnologie, che offrono la possibilità di trasportare le dosi ottimali di farmaco nella regione desiderata garantendo simultaneamente elevata selettività, efficacia, e bassa tossicità. Esistono diversi gruppi che lavorano sulla progettazione e produzione di particelle per lo *smart drug delivery*, ed in particolare ricordiamo il gruppo di Baker presso il *Center for Biologic Nanotechnology del University of Michigan* che adopera dendrimeri (3), ed il gruppo di Ferrari presso l'*Heart and Lung Research Institute del Ohio State University* che impiega particelle in silicio (4).

2. Particelle per Drug Delivery

Le nano/micro particelle si comportano essenzialmente come dei linfociti, le cellule adibite al ruolo di difensori del corpo umano dalla aggressione di agenti patogeni esterni. Tali particelle iniettate all'interno del canale sanguigno, sospinte da azioni emodinamiche, raggiungono la zona sede del processo patologico e, in seguito alla loro adesione alle pareti della cellula 'malata' rilasciano il farmaco localmente e nella dose richiesta. Nel loro funzionamento ottimale, dunque, le nano/micro particelle sono caratterizzate da elevata selettività e bassa tossicità. Come descritto da Ferrari (4), la forma, il tipo e la composizione di queste particelle dipende dal tipo di applicazione. La forma può essere ad esempio discoidale o ad anello, e le dimensioni possono variare da qualche micron (1-3 μm); a pochi nanometri (5 - 50 nm). Solitamente sono costituite da una 'struttura portante' che accoglie il farmaco realizzata in silicio secondo le tecniche della microfabbricazione, parzialmente o completamente ricoperta da strati polimerici (*polyethylene glicol* (PEG) che permette di estendere la presenza della particella nel sangue; *synthetic glycocalyx* che accresce la solubilità della particella nel sangue), e da anticorpi che fungono da liganti per la particella con il tessuto endoteliale del canale sanguigno. Uno schema del sistema nano/micro particella e del processo di riconoscimento, adesione e rilascio del farmaco è mostrato in Figura 1 e 2.

Figura 1. Nano/Micro particelle come vettori per farmaci (iMEDD Inc).

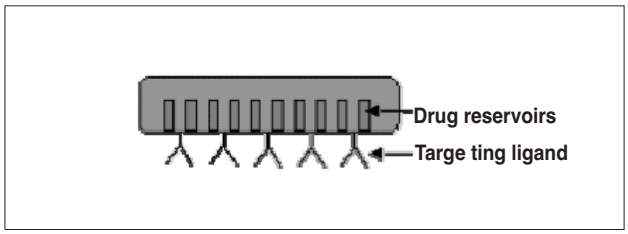
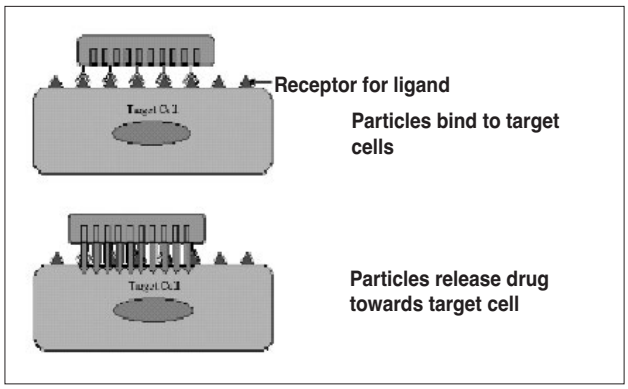


Figura 2. Riconoscimento, adesione della particella e rilascio del farmaco (iMEDD Inc).



La struttura portante della particella può essere fabbricata ricorrendo a diverse tecniche di microfabbricazione quali fotolitografia, fotoablazione, o *x-ray/electron beam* litografia. I rivestimenti molecolari, che ricoprendo interamente o parzialmente la non struttura impartiscono specifiche proprietà biochimiche e meccaniche al sistema, possono aderire direttamente alla superficie esterna oppure possono essere incollati impiegando resine e sostanze adesi-

ve opportune. Il processo di microfabbricazione di tali particelle è descritto diffusamente in (4).

3. Proteomica e progettazione della nano/micro particelle

La scelta del ligante da impiantare covalentemente sulla particella è di fondamentale importanza in quanto assicura la selettività chimica dell'adesione della particella al tessuto cellulare 'malato' o all'agente patogeno estraneo.
A questo proposito, uno straordinario contributo viene fornito, oltre che dalle metodologie tradizionali (immunoistochimica, peptide surface display, etc.), dallo studio del proteoma, sia sierico che tissutale. La proteomica è una tecnologia molto complessa e dalle notevoli applicazioni, sia in ambito puramente laboratoristico che clinico-diagnostico (5). Essa si basa sull'analisi dell'espressione proteica del siero, di un particolare tessuto, di una cellula o di una frazione di essa, allo scopo di identificare profili altamente specifici che, attraverso l'analisi bioinformatica, definiscono un pattern caratteristico di una particolare malattia o, addirittura, di uno stadio della medesima (6). Rispetto alla tecnologia del profiling trascrizionale (cDNA arrays), l'analisi del proteoma rappresenta uno strumento molto complesso ma decisamente più potente in quanto è in grado di fornire delle informazioni sul reale livello di espressione proteico (senza il bias derivante da problemi di instabilità dell'mRNA o da modificazioni post-traduzionali). La strumentazione di cui si avvale associa a metodiche di biochimica tradizionale (elettroforesi bidimensionale) moderne e costose strumentazioni, come le sorgenti MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization- Time Of Flight), SELDI-TOF (Surface-Emitted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight), e la spettrometria di massa su sorgente nano- o elettrospray. Più specificamente in ambito oncologico, che è quello per il quale il nostro gruppo ha interessi peculiari (7), l'analisi del profiling proteomico può consentire la identificazione di nuovi marcatori biologici di malattia neoplastica e sviluppare strategie innovative per la prevenzione e, soprattutto, il trattamento precoce di queste malattie attraverso l'individuazione di nuovi bersagli molecolari. La tecnologia proteomica, infatti, ed in particolare l'analisi sub-proteomica delle proteine di membrana, è in grado di fornire delle importanti informazioni sulla espressione di una o più molecole la cui espressione risulta essere modificata rispetto al tessuto sano o, addirittura, in stadi diversi della malattia. Il profilo proteomico così identificato rappresenta uno strumento formidabile in quanto costituisce esso stesso un potenziale "reservoir" di proteine che potrebbero fungere da "docking site" per il ligante associato alle nanoparticelle veicolanti il farmaco.

La scelta del ligante e dei vari rivestimenti polimerici interposti fra la struttura portante e la molecola adesiva influisce sul comportamento meccanico della particella durante il processo adesivo. Come descritto recentemente da Decuzzi (8), la probabilità di adesione di una particella in circolazione è funzione dell'entità delle forze F scambiate fra endotelio e particella e del tasso di crescita di tali forze dF/dt. Sia F e sia dF/dt sono influenzate: dalle condizioni emodinamiche, e quindi dalla (i) tipologia di canale sanguigno (arteria, capillare, vena), (ii) dalla geoemetria del canale sanguigno, ovvero dalla presenza di diramazioni, inspessimenti e costrizioni delle pareti vascolari, (iii) dalla morfologia del tessuto endoteliale che può dipendere dal grado di avanzamento della malattia; dalla risposta viscoelastica del sistema e quindi (iv) dalle proprietà meccaniche del rivestimento polimerico e della molecola ligante, (v) dalla eterogeneità geometrica e lunghezza del rivestimento polimerico; (vi) dalla geometria e peso della particella. E' evidente da quanto descritto la complessità del sistema nano/micro particella ed il motivo per cui Ferrari (4) parla con terminologia anglosassone di *microdevices*, ovvero microdispositivi.
La selettività ed efficacia di una nano/micro particella per *drug delivery* può essere ottimizzata integrando la scelta delle molecole adesive (progettazione biochimica/farmacologica) con la definizione delle proprietà meccaniche della catena polimerica di connessione della molecola adesiva alla struttura portante in silicio (progettazione meccanica), e la scelta della forma della particella (progettazione emodinamica). E' evidente la necessità di avviare uno studio integrato del sistema particella che coinvolga ricercatori con differenti background scientifici afferenti ai campi della medicina, farmacologia, biotecnologia e nanotecnologia, e delle scienze ingegneristiche. La collaborazione fra la Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi 'Magna Grecia' di Catanzaro, l'Heart and Lung Research Institute dell'Ohio State University ed il Centro di Eccellenza per la Meccanica Computazionale del Politecnico di Bari costituisce probabilmente il primo passo italiano in tale direzione.

4. Metodologie di verifica sperimentale

La tecnica sperimentale impiegata per studiare la probabilità di adesione di cellule, quali linfociti, sul tessuto endoteliale di un canale sanguigno è basata sull'analisi del flusso di cellule in un canale trasparente alla luce sulle pareti del quale vengono depositati strati di tessuto endoteliale (sistema *flow chamber*). I linfociti introdotti all'interno di tale canale artificiale in parte rotoleranno sullo strato endoteliale senza aderire, in parte fluiranno attraverso la camera senza neppure interagire con il substrato cellulare, ed in parte aderiranno fermamente a quest'ulti-

mo. Valutando il numero di cellule che aderiscono nel tempo sul substrato è possibile dedurre la probabilità di adesione (9).
Si vuole seguire un approccio simile per lo studio dell'adesione di micro/nano particelle impiegate per il drug delivery. La realizzazione di tale sistema permetterà di dedurre sperimentalmente la probabilità di adesione di nano/microparticelle e quindi di giudicare la bontà ed efficacia di differenti soluzioni progettuali, alcune già citate nei precedenti paragrafi, mirate ad ottimizzare il processo adesivo. Va osservato che un sistema *flow chamber* per nano/micro particelle deve essere differente da un sistema simile per cellule (linfociti) e richiede delle modifiche dedicate. Le dimensioni caratteristiche dei linfociti sono di pochi micrometri (7-15 μm), mentre le nano/microparticelle hanno dimensioni che variano da pochi micrometri a qualche nanometro (5 nm ai 10 μm). Tale profonda differenza obbliga a riprogettare sia il sistema ottico e di acquisizione delle immagini, e sia la struttura stessa del flow chamber.
La microscopia ottica è ampiamente impiegata nel campo delle bioscienze per osservare strutture molecolari, cellule, particelle, tessuti. E' relativamente poco costosa e di facile utilizzo ma soffre di un limite fondamentale legato alla lunghezza d'onda della luce visibile. Il limite ultimo per uno strumento che lavora nel campo del visibile è di circa 250 nm. Conseguentemente un comune microscopio ottico può al più risolvere nello spazio oggetti con dimensioni caratteristiche di qualche decimo di micron. La microscopia a scansione elettronica supera questo limite offrendo una risoluzione di 5-50 nm, ma può essere applicata solo per oggetti fissi nello spazio e a seguito di lunghe e costose preparazioni del campione da osservare. Più recentemente è stata introdotta una nuova tecnica, ancora in fase di studio e messa a punto, nota come *scanning near-field optical microscopy* (*SNOM*) che offre una risoluzione di 10-100 nm e che consiste nel posizionare una sorgente di luce concentrata vicinissima all'oggetto da osservare (10). Sfortunatamente questa tecnica allo stato attuale non può però essere applicata allo studio in esame. Il modo più semplice e relativamente economico per potere osservare e tracciare il movimento di nanoparticelle in una flow chamber e' l'impiego di sistemi a fluorescenza. Fluorocromi dedicati vengono legati alle nano particelle ed utilizzando un modulo a fluorescenza è possibile registrarne il moto come per le particelle risolvibili nel visibile. Anche questa tecnica, seppure ampiamente impiegata nel campo biomedicale e farmacologico, deve essere adattata al caso in esame. Le particelle rotolano e si muovono all'interno del canale su piani ottici differenti, con velocità che variano fra i 1-100 μm/sec ed impiegano tempi differenti per attraversare l'intero campo di osservazione. Il potere emissivo e il decadimento del fluorocromo impiegato è quindi influenzato dalle dimensioni della camera, dal tipo di particella e dalle condizioni di funzionamento in quanto tutti questi parametri concorrono nel modificare i tempi di permanenza della particella all'interno del campo visivo.
Come dice il termine, un *flow chamber* è semplicemente costituito da una camera trasparente alla luce

Figura 3a. Schema di una *flow chamber* prismatica (Glycotech).

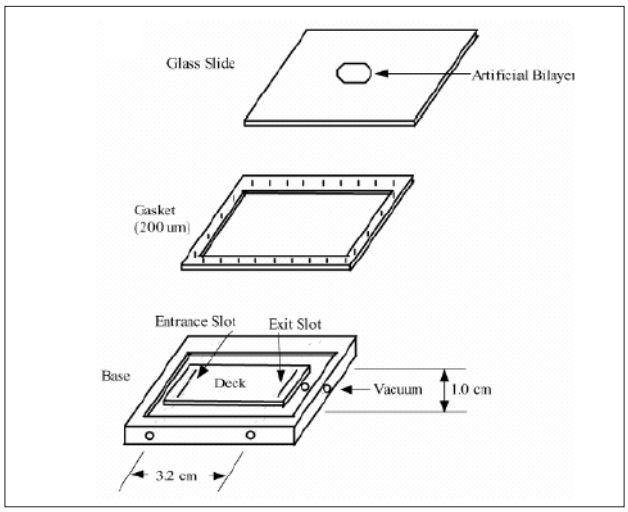
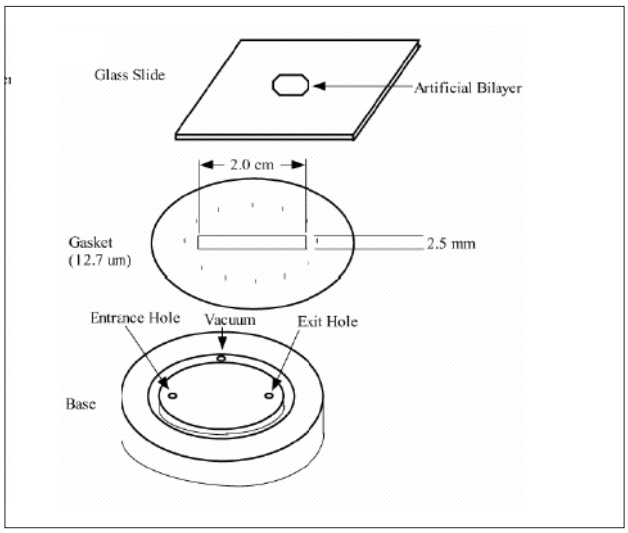


Figura 3b. Schema di una *flow chamber* circolare (Glycotech).



con un ingresso ed una uscita attraversata dal flusso ematico che porta con se le cellule e/o particelle da studiare. Esistono diversi tipi di flow chamber in commercio realizzati con geometrie e materiali differenti.
In particolare, il flow chamber fornito dalla Glycotech e mostrato in Figura 3 nella versione rettangolare e circolare è costituito da una piastra con una porta di ingresso ed una di uscita attraverso cui le cellule o particelle fluiscono; una piastrina in vetro o plastica su cui viene depositato il substrato cellulare (endotelio), un gasket che controlla le dimensioni della camera realizzata fra le due piastre citate, ed infine un foro per il vuoto tramite il quale si rea-

Figura 4a. Schema di funzionamento di una *flow chamber* a circuito aperto.

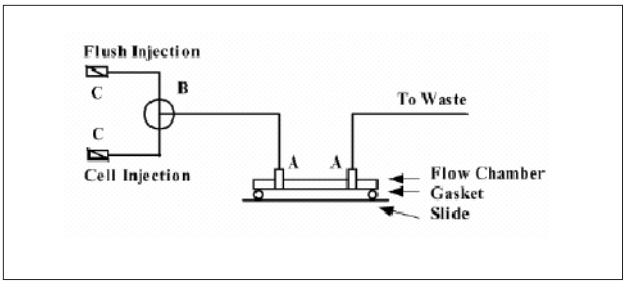
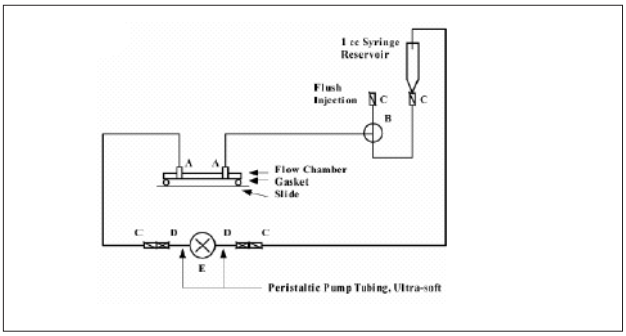


Figura 4b. Schema di funzionamento di una *flow chamber* a circuito chiuso.



lizza la chiusura ermetica dell'intero sistema. Le dimensioni caratteristiche sono riportate in figura. (Figura 3a-3b).

Il flow chamber è collegato tramite gli *slot* di ingresso/uscita (*Entrance Slot/ Exit Slot*) ad una pompa per l'iniezione del flusso ematico arricchito in cellule/particelle. A seconda del tipo di pompa si può realizzare un sistema a funzionamento discreto o un sistema a funzionamento continuo (Figura 4a e 4b).

Nel primo caso si ricorre ad una tradizionale *syringe pump* la cui portata e dimensioni devono essere scelte in funzione delle dimensioni della camera in modo da assicurare il campo di *shear flow* gw desiderati. A seconda della zona del sistema circolatorio lo shear flow può variare fra i 50 – 300 sec-1, e per una camera avente un sezione di passaggio rettangolare di larghezza W e altezza B, la portata volumica Q è data da

$$Q = B^2 W \gamma_w / 6 \qquad (1)$$

per un flusso laminare. Conseguentemente per variare gw al fine di riprodurre sperimentalmente le diverse condizioni emodinamiche osservabili nel sistema circolatorio si possono utilizzare flow chamber con differenti dimensioni (variare *B* e *W*) o più facilmente si può modificare la portata volumica. Alcune *syringe pump* permettono di controllare, modificare e programmare in modo estremamente preciso *Q* senza dovere arrestare il sistema assicurando un funzionamento continuo e quindi una continua acquisizione di dati/immagini senza la presenza di un operatore. Nel funzionamento discontinuo si richiede anche la presenza di un contenitore di raccolta a valle del flow chamber. L'utilizzo di pompe programmabili permette anche di simulare la periodicità del flusso ematico con frequenze dell'ordine dei 1-5 Hz, e di osservare la possibile decoesione delle particelle già fermamente arrestate sul substrato endoteliale a causa del flusso pulsante.

Solitamente per garantire un numero sufficientemente elevato di cellule in adesione sul substrato endoteliale, si adoperano concentrazioni dell'ordine di $2x10^{6}$ *cel/ml*. Questo dato è di enorme importanza perché definisce il numero di cellule che devono essere introdotte in funzione delle dimensioni del flow chamber: quanto minori sono i volumi in gioco tanto minore è il numero di cellule richiesto e quindi la stessa preparazioni può essere impiegata per più esperimenti o per periodi più lunghi di osservazione, riducendo anche i costi. Il fattore costo assume ancora più importanza nel momento in cui si ricorre all'impiego di particelle microfabbricate, siano esse organiche o inorganiche. Il volume a cui fare riferimento per il calcolo è il volume totale, somma del volume del flow chamber e del sistema di tubi per la movimentazione del siero o del sangue.

Naturalmente deve essere consentito un diametro minimo per il regolare deflusso delle particelle, ed esiste conseguentemente un limite minimo invalicabile per il corretto funzionamento del sistema sperimentale. La condizione sul numero di particelle può porre severe limitazioni al testing di particelle di piccole dimensioni. Nel caso di un flow chamber della Glycotech, utilizzando dei canali con diametro interno di circa 0.5 mm ID si ha un volume totale di 1000 μl, con 50 μl di volume morto, che suggerisce di impiegare $2x10^{6}$ *cel/ml*. Assumendo che il rapporto 'pieno/vuoto' sia lo stesso per il flow chamber con linfociti e quello con particelle, si deriva il valore minimo per il numero di particelle da impiegare

$$\frac{N_p}{V_{tot}} = \left(\frac{N_{cell}}{V_{tot}}\right)\left(\frac{R_{cell}}{R_p}\right)^3 = 2 \text{ x } 10^{6} \left(\frac{R_{cell}}{R_p}\right)^3 \qquad (2)$$

dove *Rcell* è la dimensione caratteristica del linfocita (. 10 μm), e *Rp* quella della particella. Per nano particelle con diametro caratteristico di 10 nm, ad esempio, è richiesta una concentrazione di $2x10^{+15}$ cel/ml. particelle per ml! Da questi semplici calcoli si evince quindi l'importanza delle dimensioni del flow chamber, e come le dimensioni minime siano influenzate dalla dimensione delle particelle. Questa osservazione suggerisce la necessità di progettare un sistema flow chamber modulare in grado di modificare e adattare le proprie dimensioni a quelle della particella in prova.

Il flow chamber descritto, che nel caso della Glycothec ha ingombri globali di circa 3.2 x 1.0 x 0.2 cm, è montato sulla base di un microscopio, generalmente, rovesciato. Il flow chamber è sistemato in modo che la

luce proveniente dall'alto attraversa lo strato di cellule endoteliali, e mediante il gruppo ottico inferiore è possibile monitorare il moto delle cellule/particelle. Diversamente da quanto è osservabile per il caso tradizionale di linfociti immersi in una flow chamber, la densità delle particelle è differente dalla densità del fluido circostante. Conseguentemente, la forza gravitazionale, proporzionale alla densità della particella, è maggiore della spinta archimedea, proporzionale alla densità del sangue, ed in condizioni statiche tenderebbe ad allontanare la particella dallo strato endoteliale distribuito sulla superficie superiore della camera e a ridurre la probabilità di adesione. In questo caso quindi la spinta gravitazionale potrebbe essere non trascurabile obbligando ad una riprogettazione della camera di prova. Il microscopio è collegato ad una fotocamera o videocamera digitale governate da apposito software. Le immagini registrate possono essere processate utilizzando il software integrato nel sistema di acquisizione del microscopio oppure ricorrendo al software *NIH Image 1.61*, distribuito gratuitamente dal US National Institute of Health (http:rsb.info.nih.gov/nih-image). Tali software permettono generalmente di realizzare misure di distanza, angoli, perimetri, aree e volumi, e conseguentemente di valutare velocità di avanzamento e rotolamento; di stimare periodi di adesione e contatto confrontando immagini prese in differenti istanti.

5. Conclusioni

Dopo una breve introduzione alle modalità per la somministrazione dei farmaci alternative alla tradizionale via orale, ovvero attraverso la cute e le mucose (sottolinguale/buccale, nasale, tracheale e rettale), e dei più recenti ed innovativi vettori impiegati per il drug delivery, ovvero *microneedles* e micro/nano particelle bioadesive, si è concentrata l'attenzione sulla 'progettazione' biomeccanica di particelle su base silicio impiegate per il drug delivery terapeutico e diagnostica, e sulla messa a punto di un sistema sperimentale dedicato a valutare l'efficacia adesiva di tali particelle su cellule endoteliali. Si e' inoltre messo in evidenza il fondamentale contributo che la nascente scienza proteomica può fornire per l'ottimale progettazione del sistema particella, evidenziando la necessità di organizzare gruppi di ricerca multidisciplinari a cui afferiscono medici, farmacologi, nano - e biotecnologi, ingegneri progettisti ed informatici. I medici sono impegnati nella lunga e ardua ricerca di specifici ed univoci *biomarkers* per cellule 'malate' che possano fungere, fra l'altro, da *docking site* per il vettore del farmaco, ed in questo sono sostenuti e costantemente coadiuvati dagli strumenti informatici messi a loro disposizione per l'analisi dei dati proteomici (ingegnere informatico); il farmacologo determina la tipologia e le dosi ottimali per la sostanza curante; l'ingegnere progettista definisce la forma, le dimensioni, i materiali della particella in funzione dei dati acquisiti con l'obbiettivo di ottimizzarne selettività, efficacia e costi; il nano-biotecnologo fabbrica la micro/nano particella. Infine, la sperimentazione valuta le scelte progettuali effettuate e le metodologie di fabbricazione adoperate. A tale riguardo è stato evidenziato quali sono i parametri da modificare in un tradizionale sistema flow chamber per l'analisi sperimentale dell'adesione di linfociti al fine di progettare un sistema simile ma dedicato allo studio dell'adesione di nano/micro particelle. Si è sottolineata la necessità di progettare dei sistemi modulari in grado di adattare le proprie dimensioni in funzione di quelle delle particelle che possono variare da 5 nm fino a 10 μm. Inoltre, il sistema di microscopia ottica tradizionale deve essere necessariamente integrato con sistemi più sofisticati di osservazione con fluorescenza.

Bibliografia

1. Tao SL, Desai TA, Microfabricated drug delivery systems: from particles to pores. Advanced Drug Delivery Reviews 2003; 55: 315–28.
2. Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. Advanced Drug Delivery Reviews. 2002; 54: 631–51.
3. Patri A, Majoros I, Baker JR, Jr. Dendritic polymer macromolecular carriers for drug delivery. Current Opinion in Chemical Biology 2002; 6: 466-71.
4. Ferrari M. Therapeutic Microdevices and Methods of Making and Using Same. U.S. Patent No. 6, 107, 102, August 22, 2000.
5. Hanash S. Disease proteomics. Nature 2003; 422: 226-32.
6. Boguski MS, MacIntosh MW. Biomedical informatics for proteomics Nature 2003; 22; 233-37.
7. Baudi F, et al. Hum Mutat 1-5, 2001
8. Decuzzi P, Lee S, Decuzzi M, Ferrari M.Adhesion of Micro-Fabricated Particles on Vascular Endothelium: a Parametric Analysis. Annals of Biomedical Engineering, 2003 (inviato).
9. Schmidtke DW, Scott L. Diamond, Direct Observation of Membrane Tethers Formed during Neutrophil Attachment to Platelets or P-selectin under Physiological Flow. J Cell Biol 2000;149: 719–29.
10. Keller TH, Rayment T, Klenerman D. Optical Chemical Imaging of Tobacco Mosaic Virus in Solution at 60-nm Resolution. Biophys J 1998; 74: 2076-9.