

NANOTECNOLOGIE

nuovi strumenti per risolvere vecchi problemi

dott. Cristina Ferrario

Gruppo di ricerca: *Genetica dei tumori*
(responsabile prof. Marco Pierotti)

21 Aprile 2006



Cosa sono le nanotecnologie

Il termine ***nanotecnologie*** si riferisce a tutte quelle tecnologie che coinvolgono la creazione e l'utilizzo di materiali e strumenti nella scala dimensionale del **nanometro**, la miliardesima parte del metro.

Proprio a questa scala dimensionale appartengono le molecole biologiche e tutte le strutture presenti in una cellula vivente.



Dimensioni
globulo rosso:
circa 6-8 μm

$\times 10^{-3}$ →

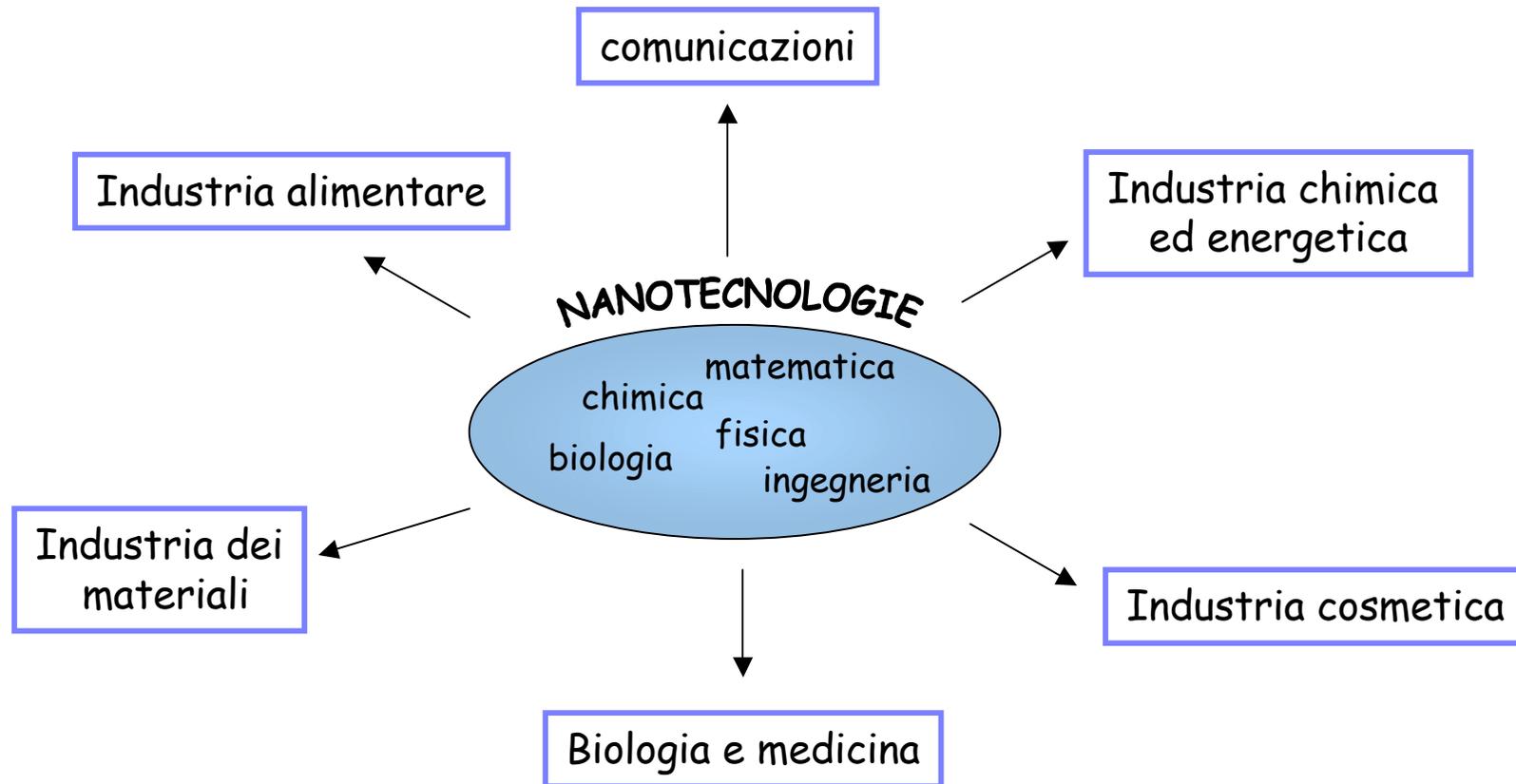


Diametro
doppia elica DNA:
circa 2,5 nm

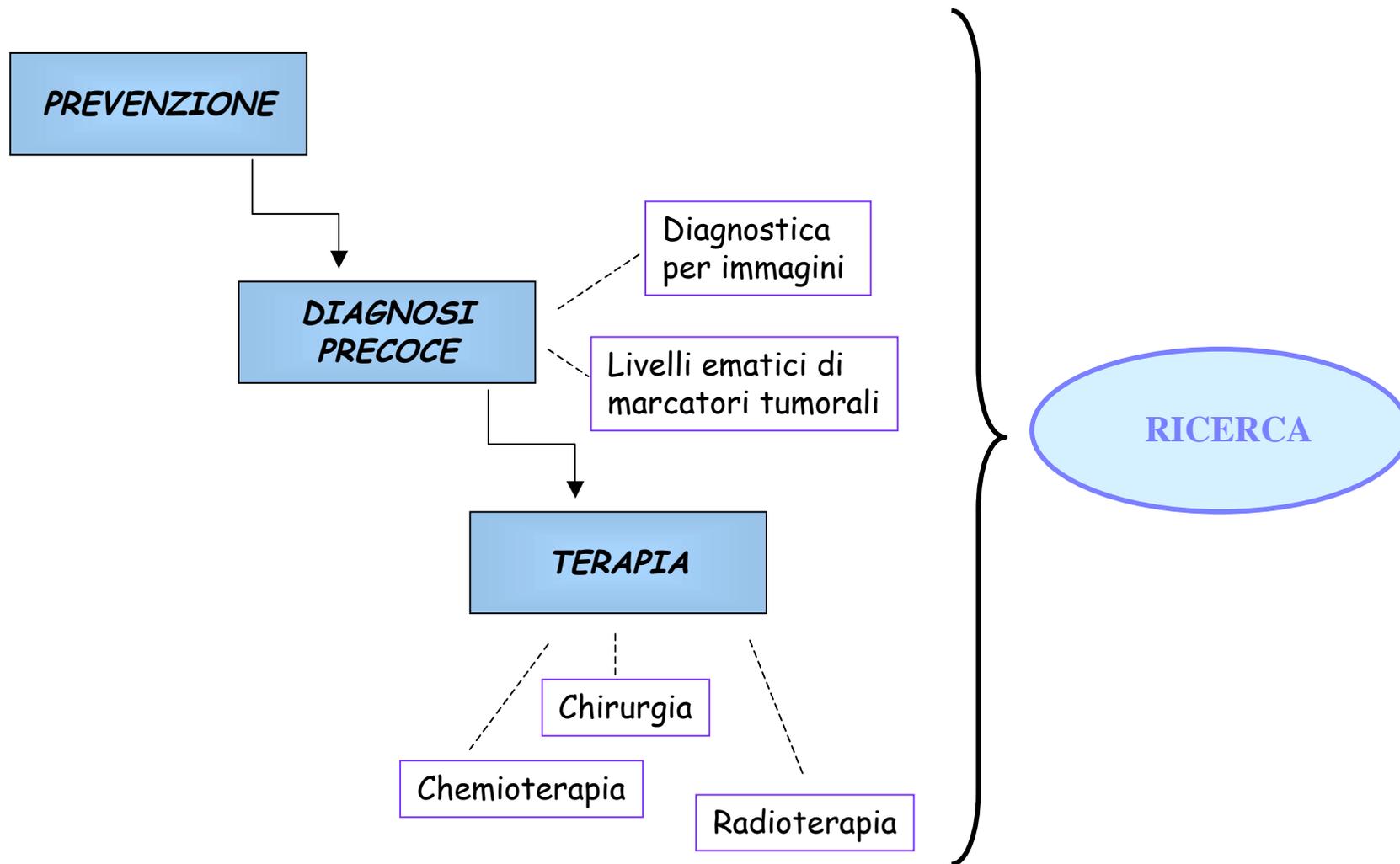
Le applicazioni delle nanotecnologie per il trattamento, la diagnosi e il controllo di sistemi biologici sono state recentemente definite ***nanomedicina*** dal National Institute of Health.

...come hanno modificato la nostra societa'...

Le nanotecnologie influenzano quasi tutti gli aspetti della nostra vita



...e la lotta contro il cancro



Vecchi problemi...

Diagnosi precoce

Diagnostica per
immagini

- Difficolta' nell'identificare e raggiungere il tumore
- Tossicita' del mezzo di contrasto
- Scarsa stabilita' del segnale emesso
- Strumentazione complessa e costosa

Ricerca di marcatori
nel sangue

- Livelli di espressione del marcatore
- Scarsa specificita' del marcatore

...nuovi strumenti

- nanoparticelle in grado di migliorare diversi aspetti della diagnostica per immagini
- dispositivi costituiti da nano-componenti in grado di identificare con grande specificita' e sensibilita' determinate molecole di interesse

Nuovi strumenti - diagnosi precoce (1)

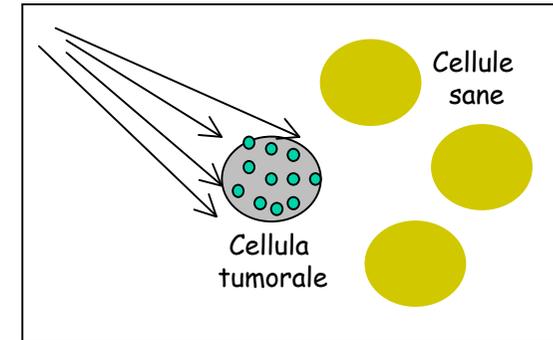


NANOSHELLS

Core di materiale semiconduttore o non conduttore circondato da un "guscio" di metallo.

Modificando la forma e lo spessore della particelle si possono modificare le caratteristiche di risposta alla luce.

Utilizzate sia per la **diagnostica** che per la **terapia** (termoablazione)



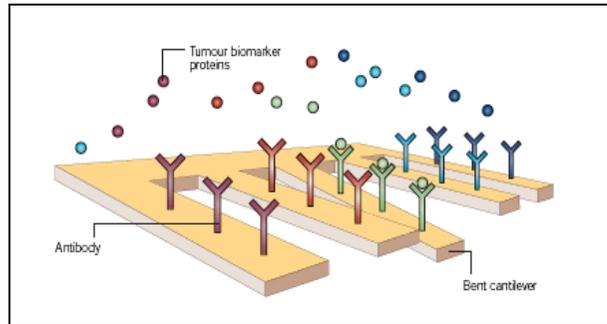
QUANTUM DOTS: nanoparticelle di semiconduttori che, quando vengono illuminate da luce ultravioletta, emettono una vasta gamma di colori che possono essere usati per identificare le cellule e le loro attività biologiche.

GOLD NANOPARTICLES: particelle con un rivestimento d'oro, molto utilizzate perché possono essere identificate con diverse tecniche.

VANTAGGI

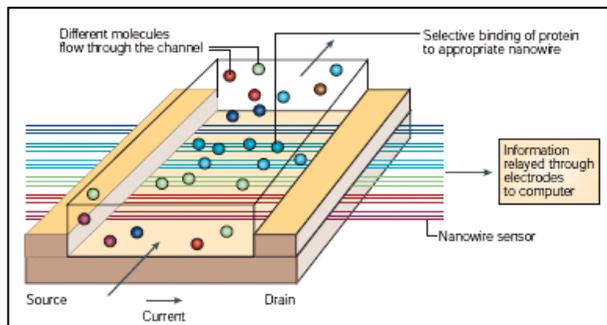
- maggiore luminosità
- maggior stabilità del segnale emesso
- possibilità di "visualizzazioni multiple"
- maggior specificità

Nuovi strumenti - diagnosi precoce (2)



NANOCANTILEVERS

Strutture flessibili, che somigliano a dei trampolini per i tuffi, che possono essere ricoperte di molecole (anticorpi) in grado di legare marcatori tumorali. Il legame dello specifico molecola all'anticorpo provoca una flessione della struttura che permette di identificare il ligando sia qualitativamente che quantitativamente



NANOWIRES

Sottilissimi fili, dell'ordine di grandezza del nanometro, che possono essere ricoperti di anticorpi in grado di legare proteine di interesse e di trasmettere l'informazione ad un computer attraverso degli elettrodi.

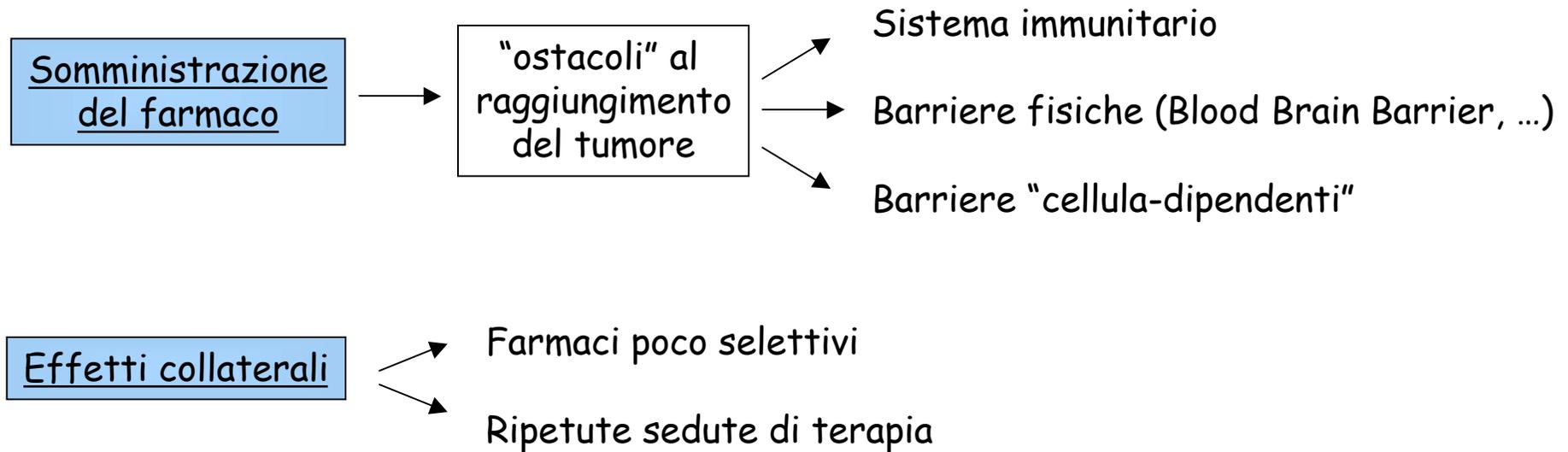
Modificata da: Ferrari, M, Nat Rev Cancer. 2005 Mar; 5 (3):161-71.

VANTAGGI

- elevata sensibilita'
- possibilita' di "determinazioni multiple"
- elevata specificita'

Vecchi problemi...

La terapia

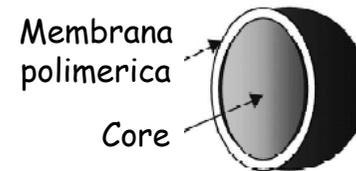


...nuovi strumenti

Nanoparticelle



Nanosfere



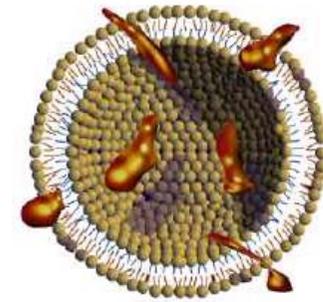
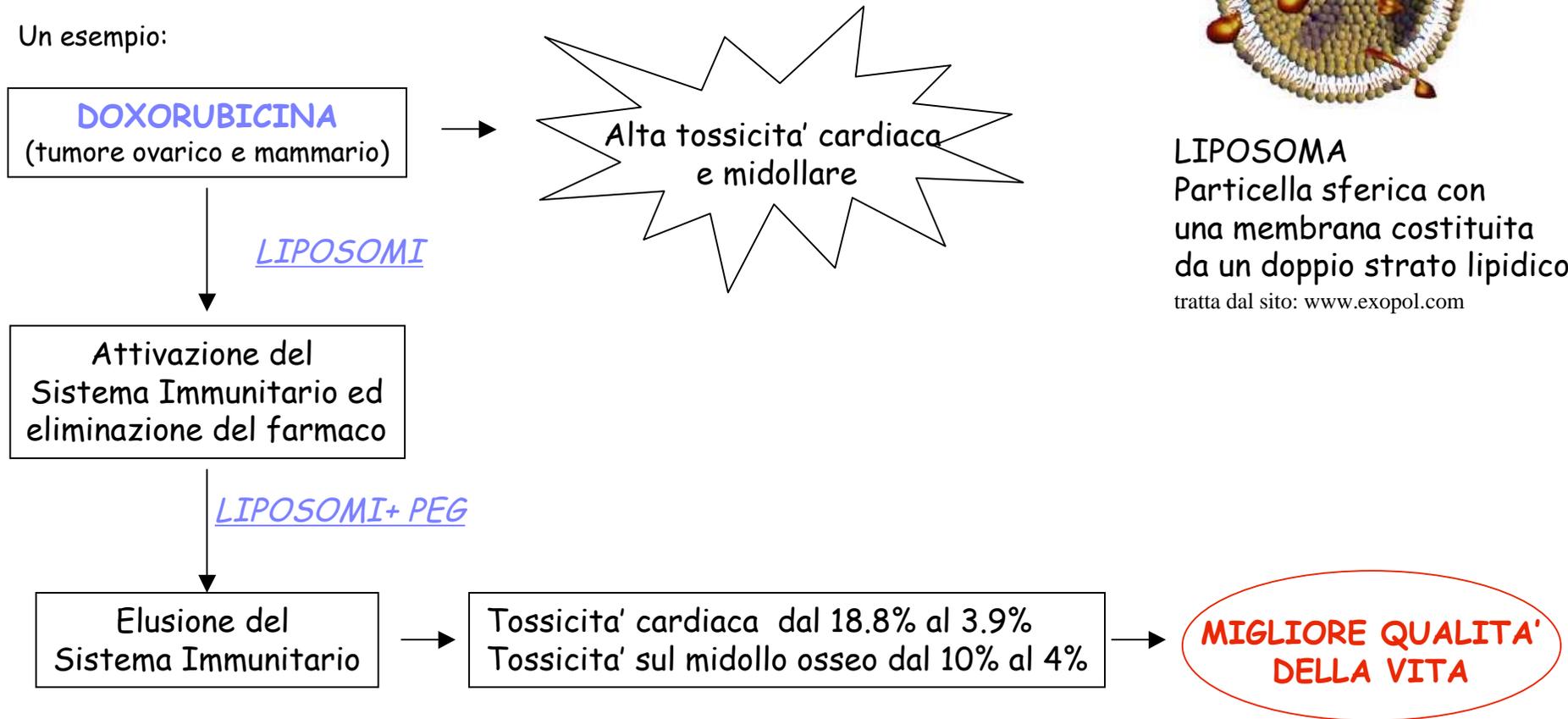
Nanocapsule

Modificata da: Brigger I, et al; Adv Drug Deliv Rev. 2002 Sep 13;54(5):631-51.

Nuovi strumenti - terapia (1)

I **LIPOSOMI** sono tra le prime molecole studiate e utilizzate in clinica per superare alcuni degli effetti collaterali della chemioterapia tradizionale.

Un esempio:

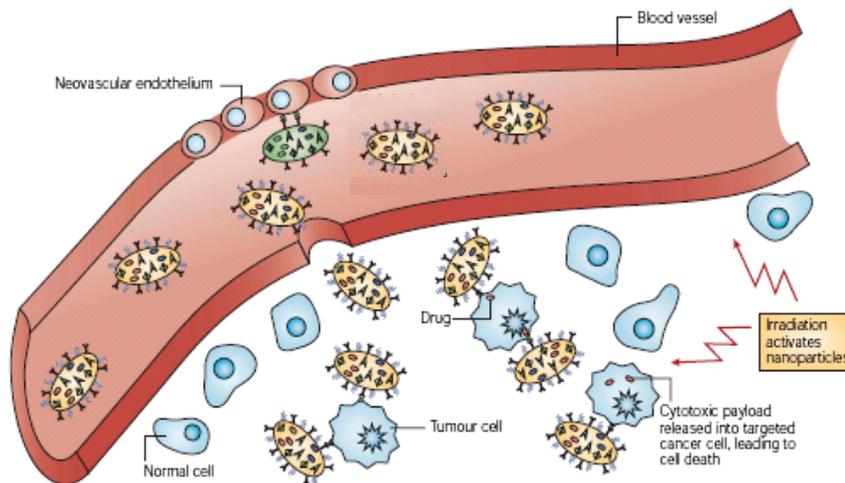


LIPOSOMA
Particella sferica con
una membrana costituita
da un doppio strato lipidico
tratta dal sito: www.exopol.com

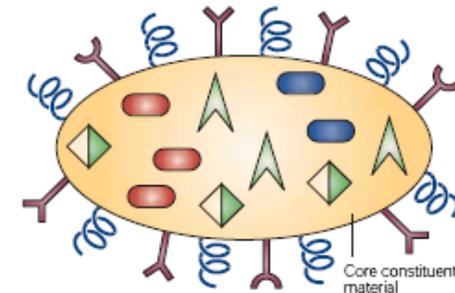
Nuovi strumenti - terapia (2)

Le nanoparticelle sono multifunzionali

Possono veicolare anche piu' di un farmaco alla volta permettendo una chemioterapia combinata.
Possono inoltre trasportare altre molecole oltre ai farmaci, ad esempio mezzi di contrasto oppure molecole che facilitino il raggiungimento dell'organo bersaglio.



Modificata da: Ferrari, M, Nat Rev Cancer. 2005 Mar; 5 (3):161-71.



Therapeutic or imaging payload	Biological surface modifier
Drug A	PEG
Drug B	Targeting moieties
Contrast enhancer	
Permeation enhancer	

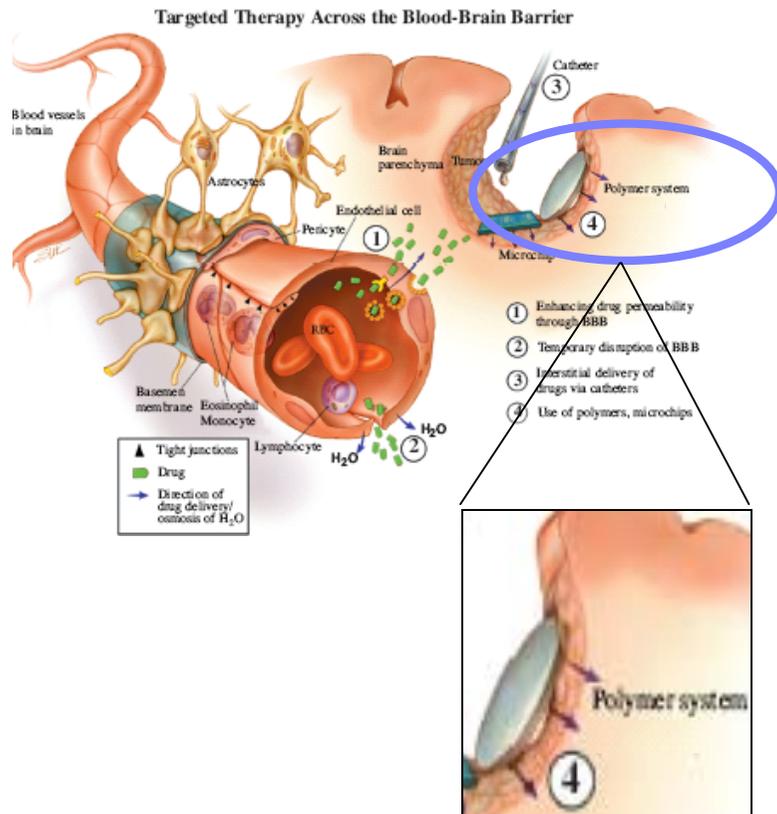
Da: Ferrari, M, Nat Rev Cancer. 2005 Mar; 5 (3):161-71.

Le nanoparticelle possono essere attivate

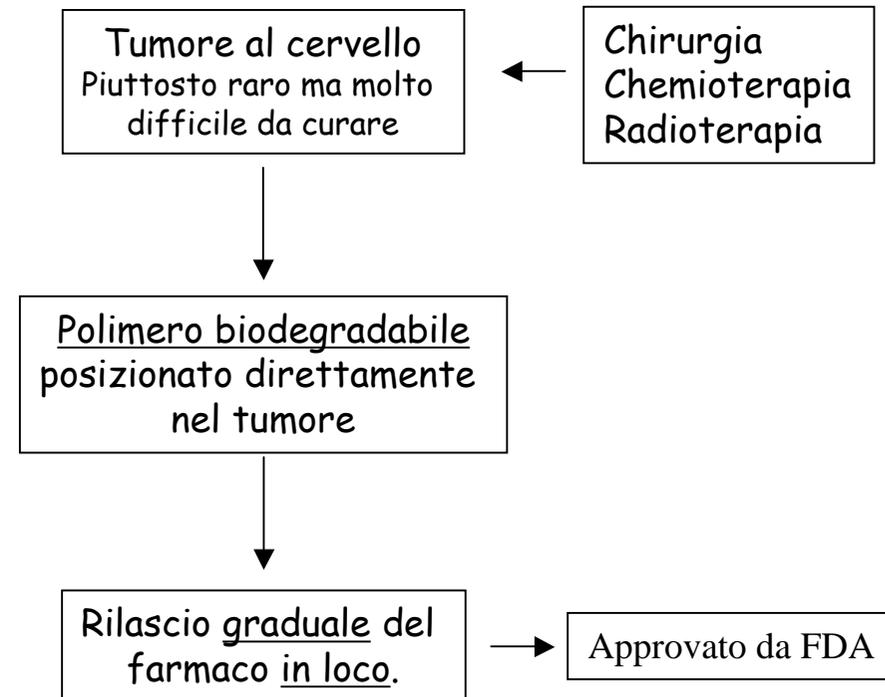
E' possibile modificare le nanoparticelle in modo che rilascino il farmaco o le altre sostanze che trasportano solo dopo un determinato stimolo (radiazione esterna, legame con la cellula tumorale, ecc)

Nuovi strumenti - terapia (3)

Oltre alle nanoparticelle sono state progettati anche alcuni dispositivi (**matrici polimeriche**) in grado di rilasciare gradualmente il farmaco e che possono essere impiantati direttamente nel tumore.



Un esempio:

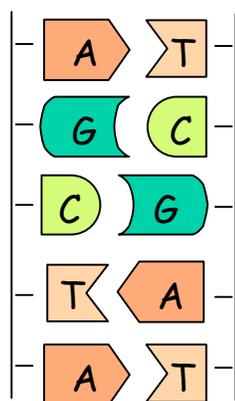


Modificata da: Lesniak M.S., Technol Cancer Res Treat. 2005 Aug;4(4):417-28.

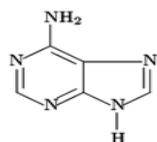
...e la ricerca sul cancro?

Le nanotecnologie si sono rivelate importanti strumenti per lo studio dell' espressione genica.

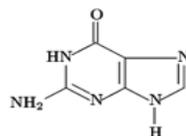
Ma cosa sono i geni e perché è importante conoscerne l'espressione?



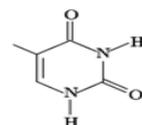
DNA: sequenza di 4 diverse basi azotate



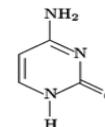
Adenina (A)



Guanina (G)



Timina (T)

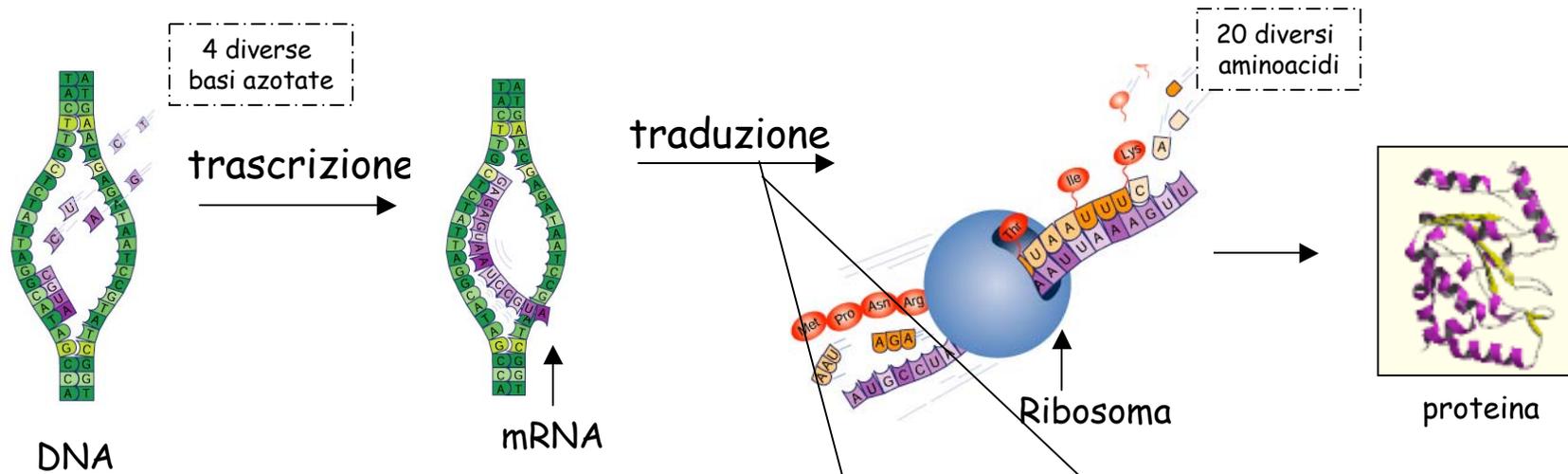


Citosina (C)

I geni sono dei frammenti di DNA che contengono tutte le informazioni necessarie per la sintesi delle proteine e il corretto funzionamento delle cellule.

Il sequenziamento del genoma umano ci ha permesso di conoscere tutta l'informazione contenuta nella cellula: più di 30.000 geni.

Dal DNA alle proteine: leggere e interpretare il messaggio



L'informazione contenuta nel DNA e' espressa con un linguaggio costituito da una specifica sequenza di basi azotate.

Ogni molecola di **mRNA** (RNA messaggero) corrisponde ad un preciso messaggio.

CUU leucina	CCU prolina
CUC leucina	CCC prolina
CUA leucina	CCA prolina
CUG leucina, start	CCG prolina
AUU isoleucina, start ²	ACU treonina
AUC isoleucina	ACC treonina
AUA isoleucina	ACA treonina
AUG metionina, start ¹	ACG treonina

Il codice genetico
per interpretare il
messaggio

Differenze nell'espressione genica...

Le cellule



Globulo rosso



Neurone



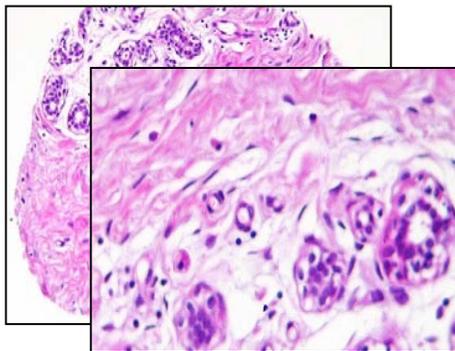
Cellula adiposa

Tutte le cellule del nostro organismo possiedono un identico patrimonio genetico (geni), ma differenze nell'espressione dei suddetti geni portano alla generazione di cellule completamente diverse le une dalle altre, dotate di specifiche caratteristiche morfologiche e funzionali.

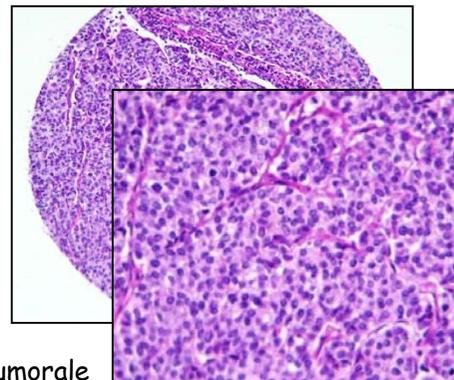
Dal libro "Viaggio nel Corpo Umano" P. Angela e P. Motta, Ed. Rizzoli.
Immagini dal sito <http://w3.uniroma1.it/anat3b/libro%20motta/libro%20motta.htm>

L'informazione genica della cellula tumorale e' spesso molto diversa da quella della cellula sana.

I tessuti



Tessuto normale
(breast)

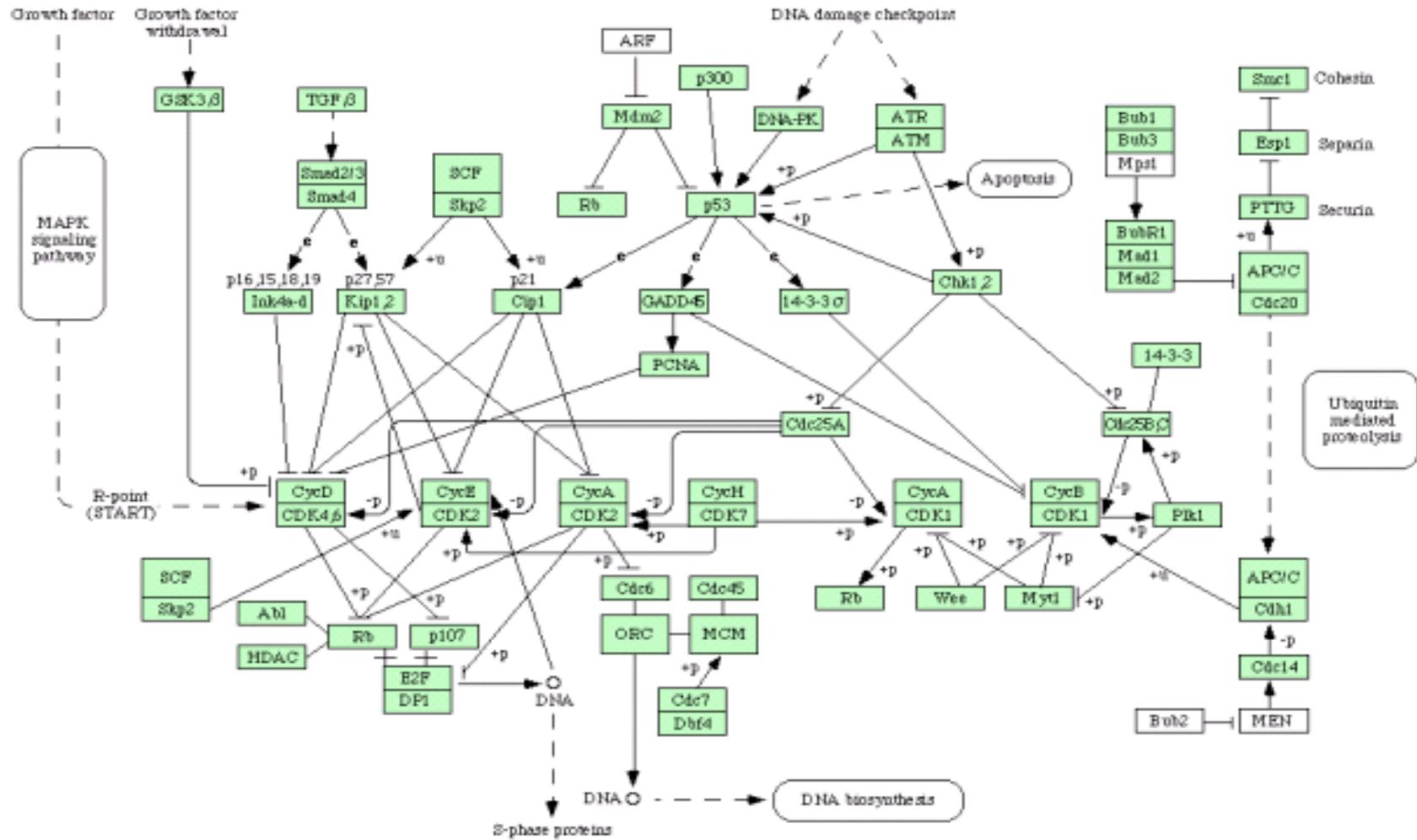


Tessuto tumorale
(breast)

Il tumore e' caratterizzato da alterazioni a livello molecolare che spesso portano a profonde modificazioni anche a livello macroscopico.

I geni non sono "isolati" . Esiste una fitta rete di interazioni tra i geni

Il ciclo cellulare

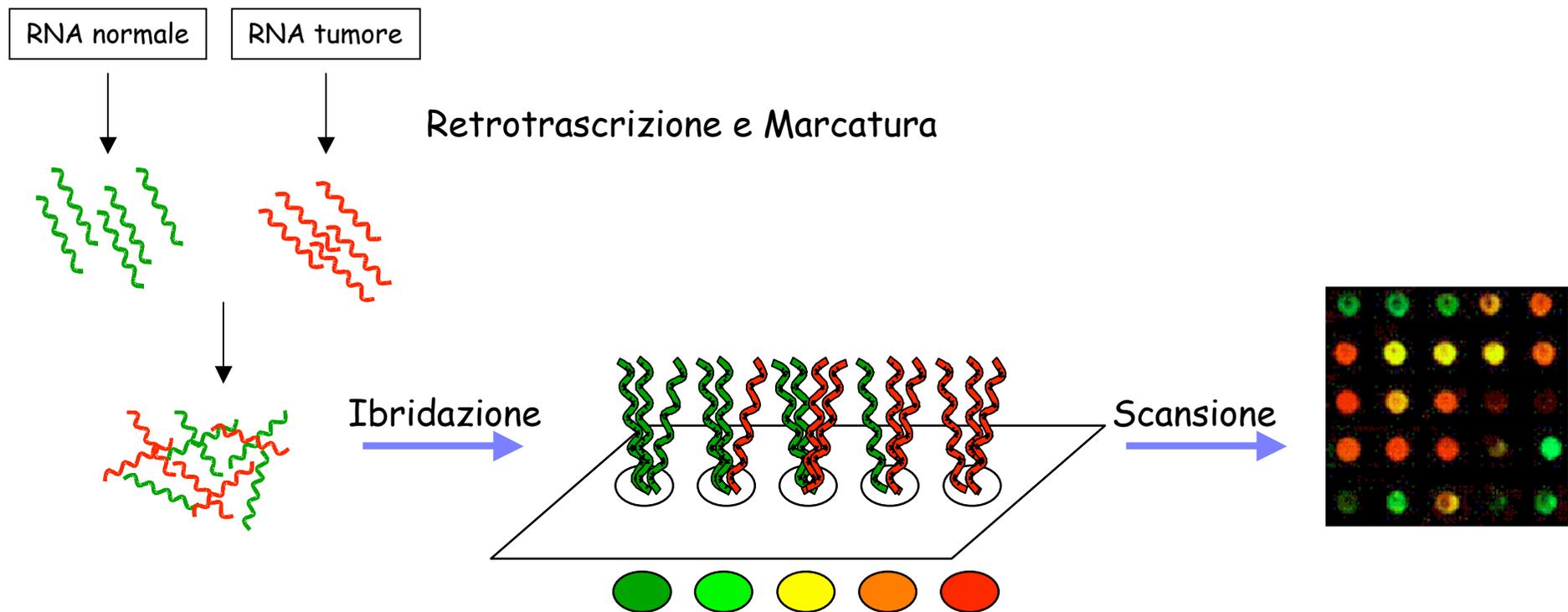


Modificato da: KEGG <http://www.genome.ad.jp/kegg>

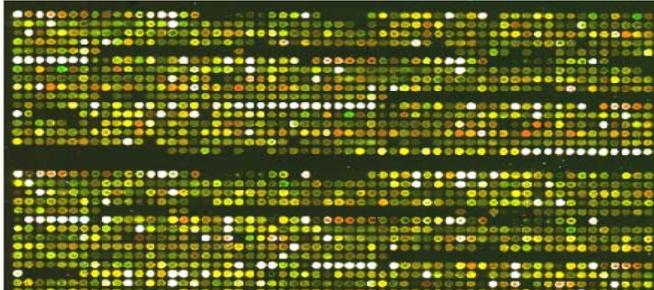
Piccoli microchip (*microarray*) ci permettono di ottenere una "fotografia" dettagliata di tutto ciò che avviene a livello espressione genica in una cellula.

Possiamo studiare l'espressione *migliaia di geni* contemporaneamente

Qualche dettaglio tecnico...



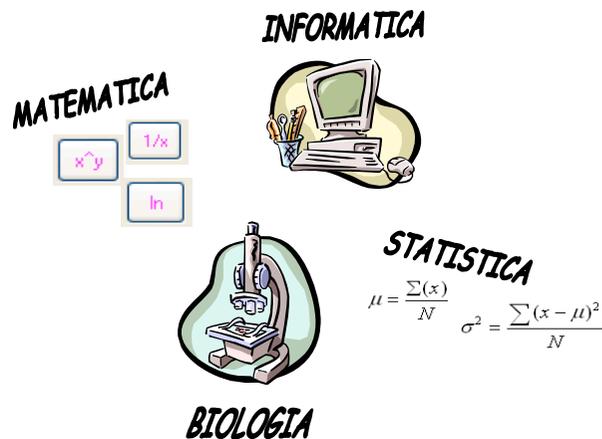
L'interpretazione dei dati



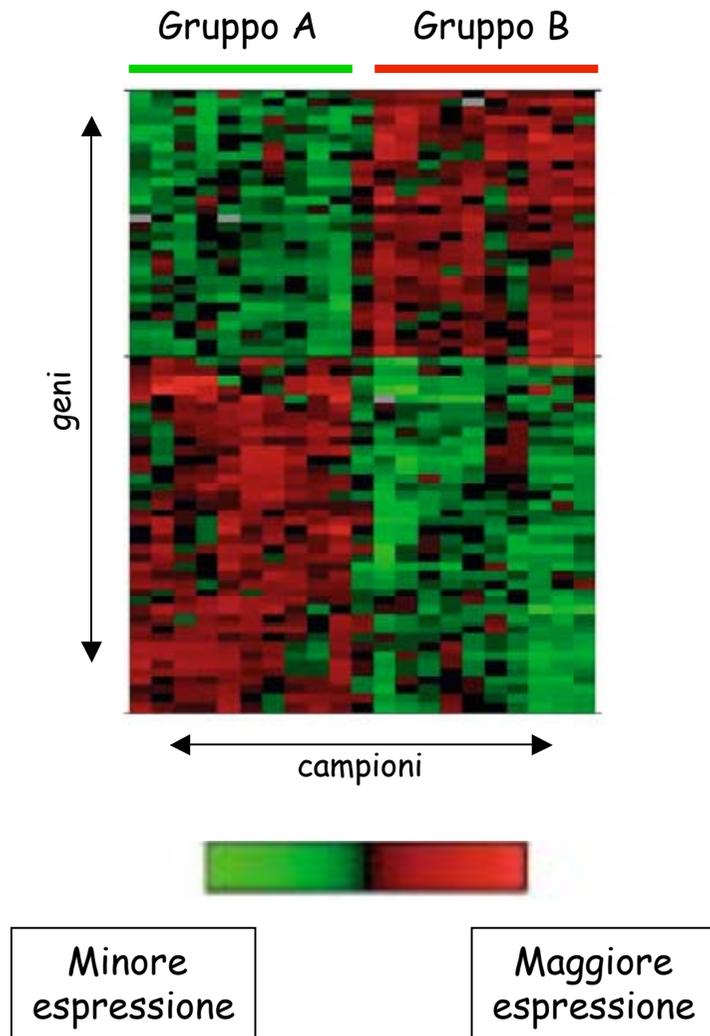
Dopo l'ibridazione e la scansione del chip si ottiene un'immagine che rappresenta i livelli di espressione dei geni nel campione analizzato.

Appositi programmi informatici traducono ogni singolo segnale luminoso in un numero che deve poi essere analizzato e interpretato dal ricercatore.

Log Ratio	F635 Median	F532 Median	F635 Mean	F532 Mean	Flags
1.135	16605	7563	24198	14598	0
-0.725	4012	6632	4504	7158	0
-0.868	2531	4621	3444	5560	0



Il risultato finale



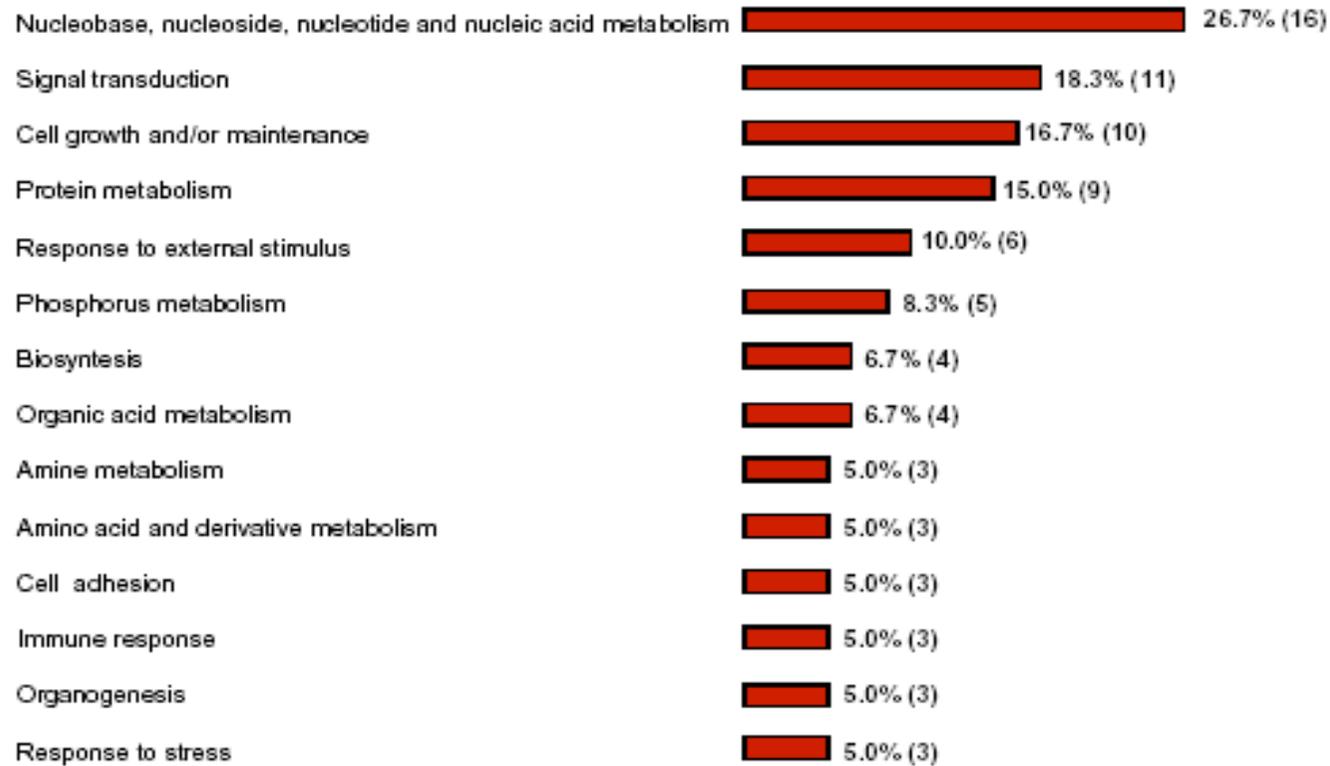
E' possibile confrontare l'espressione genica di due "classi" (tumore/metastasi, tumore/normale, ...) ed ottenere delle liste di geni differenzialmente espressi tra i due gruppi.

Tra questi geni potrebbero essere rappresentati nuovi marcatori tumorali, nuove molecole da utilizzare come bersagli terapeutici o geni importanti per comprendere i meccanismi di sviluppo e progressione del tumore, e di risposta al trattamento.

La classificazione funzionale

Non e' sufficiente ottenere una lista di geni differenzialmente espressi tra due classi.

E' molto importante anche capire in quali processi biologici sono coinvolti questi geni.



Conclusioni

- ✿ La lotta contro il cancro si avvale oggi della collaborazione di numerose discipline scientifiche anche apparentemente lontane dalla medicina (matematica, ingegneria, ecc..).
- ✿ Grazie ai quotidiani progressi della ricerca e della medicina oggi il cancro non e' piu' un "male incurabile".
- ✿ La diagnosi precoce e le moderne terapie sono strumenti efficaci nella lotta contro il cancro, ma ci sono ancora dei problemi che le attuali metodiche non riescono a risolvere.
- ✿ Le nanotecnologie possono dare un contributo significativo al superamento dei limiti delle attuali metodologie diagnostiche e terapeutiche, verso una medicina piu' efficace e personalizzata.