

## CONCLUDING REMARKS

CARLO PELLICCIARI (\*,\*\*), FIORENZA DE BERNARDI (\*)

L'impiego di sistemi nanoparticellari per la veicolazioni di farmaci a scopo terapeutico o diagnostico è certamente una delle applicazioni nanotecnologiche maggiormente studiate in ambito biomedico.

Gli interventi che si sono susseguiti in questo incontro di studio hanno inizialmente presentato le principali tecniche di preparazione e funzionalizzazione delle nanoparticelle; sono stati poi illustrati i metodi microscopici e istochimici per descrivere le interazioni di queste con gli organuli cellulari e sono stati infine presentati alcuni studi preclinici di somministrazione di farmaci mediante nanovettori.

Barbara Stella ha spiegato come la scelta del materiale polimerico e della tecnica di preparazione più adatti sia fondamentale per consentire la sintesi di nanoparticelle in grado di rilasciare il farmaco in forma attiva nei siti bersaglio, veicolandolo attraverso i tessuti e superando le naturali barriere biologiche.

Tra queste, l'epidermide è preposta a prevenire l'assorbimento di sostanze esogene e ciò ostacola in modo significativo la somministrazione transdermica di agenti terapeutici: in linea di principio, le nanoparticelle, in virtù delle loro ridottissime dimensioni, si prestano bene a trasportare i farmaci attraverso questo tessuto, ma è stato dimostrato dall'intervento di Francesco Cilurzo che solo la precisa conoscenza dell'organizzazione istologica della pelle può garantire la progettazione di sistemi nanoparticellari efficaci che possano raggiungere i tessuti vascolarizzati sottoepidermici, a livello dei quali si esercita l'azione farmacologica, locale e sistemica.

---

(\*) Istituto Lombardo Accademia di Scienze e Lettere, Milano, Italia.

(\*\*) Presidente della Società Italiana di Istochimica, Milano, Italia.

Silvia Arpicco ha sottolineato l'importanza di rendere selettivo l'effetto di un farmaco sul tessuto o sull'organo bersaglio, mediante l'opportuna funzionalizzazione dei sistemi nanoparticellari di trasporto: ciò può essere ottenuto decorando la superficie delle nanoparticelle con molecole che vengano riconosciute e legate selettivamente da recettori presenti sulla superficie di determinate cellule. In tal modo, mediante somministrazione sistemica, si può significativamente migliorare la captazione farmaco ai siti bersaglio, aumentandone il rilascio locale e riducendo, nel contempo, i possibili effetti indesiderati sugli altri tessuti.

I nanosistemi di trasporto possono, di per sé, alterare la funzionalità cellulare ed è pertanto fondamentale conoscere i meccanismi di internalizzazione, il traffico intracellulare, le relazioni con gli organuli e la persistenza all'interno della cellula dei nanoparticolati, con particolare attenzione alle loro vie degradative. Nel suo intervento, Manuela Malatesta ha descritto l'importanza delle tecniche di microscopia ottica e, specialmente, elettronica per valutare, su colture cellulari *in vitro*, la possibile citotossicità dei sistemi nanoparticellari e per chiarire la dinamica localizzazione intracellulare delle nanoparticelle: la conoscenza delle sedi di rilascio dei farmaci è infatti cruciale per spiegare il loro effetto a livello cellulare.

Sistemi cellulari *in vitro* sono stati utilizzati anche nel laboratorio di Federica Meloni per mettere a punto una modalità di somministrazione locale di farmaci destinati a curare due patologie respiratorie rare per le quali esistono, ad oggi, scarse possibilità di cura. Funzionalizzando nanoparticelle contenenti i farmaci, è stato possibile renderne selettiva l'efficace azione sulle cellule bersaglio, aprendo così la strada ad una sperimentazione preclinica sull'animale, attualmente in corso.

L'incontro di oggi ha dimostrato le grandi potenzialità dei sistemi nanoparticellari per la somministrazione mirata di farmaci. E' stata anche, però, ripetutamente sottolineata la necessità che sia garantita, prima di tutto, la sicurezza dei pazienti, attraverso una preventiva valutazione multidisciplinare della possibile tossicità, a breve e lungo termine, dei materiali usati per la costruzione delle nanoparticelle e dei meccanismi di interazione tra queste e i sistemi biologici (cellule, tessuti e organi).

Se, nel campo biomedico, il problema della sicurezza è fortemente sentito e sistematicamente affrontato, rimane pressante la necessità di una rigorosa normativa regolatoria per l'ormai generalizzato impiego di sistemi nanoparticellari in un crescente numero di settori industriali, con rischio di esposizione per quanti sono occupati nei cicli produttivi

e con amplissimo impatto sulla nostra vita di tutti i giorni (basti pensare che la maggior parte dei prodotti contenenti nanomateriali rientrano nei settori cosmetico, tessile e alimentare).

\*\*\*

The use of nanoparticulates as drug-delivery systems for therapy or diagnosis is one of the most investigated applications of nanotechnology in the biomedical field.

The lectures in today's meeting have first described the most frequently used techniques for the synthesis and functionalization of nanoparticles; then the microscopical and histochemical methods have been shown to visualize the interaction of nanoparticles with cell organelles; and finally some preclinical studies on the administration of drugs *via* nanovectors have been presented.

Barbara Stella underlined how crucial is the appropriate selection of the polymeric materials and the manufacturing techniques to allow the synthesis of suitable nanoparticles for delivering drugs in an active form to the target sites, through the tissues and across the natural biological barriers.

Among these barriers, epidermis is structured to prevent the absorption of exogenous substances and this significantly hinders the transdermal administration of therapeutic agents. In principle, nanoparticles -due to their extremely small size- should be especially suitable for transporting drugs through this tissue; however, Francesco Cilurzo explained us that the complex histological organization of the epidermis must be carefully taken into account when one attempts to design nanoparticulate systems for delivering drugs to the sub-epidermal vascularized tissue where the local or systemic pharmacological action can actually be exerted.

To make the effect of drugs selective for a given tissue or organ, nanovectors may appropriately be functionalized: as explained by Silvia Arpicco, nanoparticles may be decorated on their surface with molecules (such as whole antibodies or their fragments, folate or transferrin) which are recognized by receptors located on the plasma membrane of specific cells. Thus, following systemic administration, the drug uptake to the target sites is highly improved, while increasing the release of the therapeutic agent and reducing the possible unwanted effects on other cells or tissues.

Nanovectors *per se* may affect cell functions, and it is therefore crucial to be aware of the uptake mechanisms, the intracellular traffic, the interaction with organelles and the permanence inside the cells of nanoparticulates, with special attention to their degradation routes. To this aim, Manuela Malatesta showed that light microscopy and, especially, electron microscopy are unreplaceable techniques to investigate, on cultured cells, the possible cytotoxic effect of nanoparticles and to describe their dynamic intracellular moving: actually, the effect of a drug at the cellular level strictly depends on the subcellular sites where it had been released.

*In vitro* cell systems were also used by Federica Meloni and her collaborators to set-up a new therapeutic approach to two rare respiratory diseases with poor prognosis. Drug-loaded nanoparticles have been functionalized to make them specifically targeted to the cells responsible of the bronchiolitis obliterans or the malignant pleural mesothelioma, and their anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-inflammatory action was tested on cultured cells. The promising results obtained paved the way to a preclinical study on animal models, which is now in progress.

The great potential of nanovectors as drug-delivery devices was demonstrated by all the lectures; it was, however, also underlined that the safety of the nanoparticles used is essential and must preventively be tested by assessing the short- and long-term toxicity of the materials used for their synthesis, and clarifying the mechanisms by which nanoparticles interact with and persist within the biological systems (cells, tissues, organs).

In the biomedical field, this problem is perfectly understood and systematically addressed; on the contrary, severe regulatory rules are still called for to cope with the already widespread use of nanoparticulates in the industry, with occupational health risks associated with manufacturing and using nanomaterials, and with a tremendous impact on our everyday life (actually, most of the nanomaterial-containing products available on the market fall into the “personal care”, “clothing” and “food” categories).