



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



DIPARTIMENTO
DI INGEGNERIA

**DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**NANOPARTICELLE PER IL TRASPORTO DI FARMACI
NEL TRATTAMENTO DEL CANCRO:
IL CASO DEL GLIOBLASTOMA MULTIFORME**

Relatore: Prof. Andrea Bagno

Laureando: Gabriele Dal Bosco

ANNO ACCADEMICO 2023 – 2024

Data di laurea 19 Marzo 2024

Indice

Abstract	pagina 3
Introduzione	pagina 4
Capitolo 1: Nanoparticelle per il trasporto farmaci	pagina 5
1.1 Introduzione alle Nanoparticelle	pagina 5
1.1.1 Vantaggi e svantaggi rispetto ai Sistemi di Trasporto Tradizionali	pagina 6
1.2 Classi di Nanoparticelle	pagina 7
1.2.1 Nanoparticelle Lipidiche	pagina 8
1.2.2 Nanoparticelle Polimeriche	pagina 9
1.2.3 Nanoparticelle Inorganiche	pagina 10
1.3 Barriera Ematoencefalica	pagina 13
1.3.1 Meccanismi per l'attraversamento	pagina 14
1.3.2 Strategie per l'attraversamento della BBB	pagina 15
1.4 Rischi e tossicità	pagina 17
1.4.1 Tossicità delle nanoparticelle	pagina 17
1.4.2 Valutazione della biocompatibilità	pagina 19
1.4.3 Esempi di tossicità	pagina 20
1.5 Nanoparticelle nel trattamento del cancro	pagina 21
1.5.1 Targeting tumorale	pagina 21
1.5.2 Rilascio controllato di farmaci	pagina 25
1.5.3 Terapie combinatorie	pagina 25
Capitolo 2: Glioblastoma	pagina 27
2.1 Introduzione al Glioblastoma	pagina 27
2.1.1 Epidemiologia e incidenza	pagina 27

2.1.2 Opzioni di trattamento attuali	pagina 28
2.1.3 Barriera ematoencefalica tumorale	pagina 29
2.2 Ruolo delle Nanoparticelle nel trattamento	pagina 31
2.2.1 Targeting passivo	pagina 31
2.2.2 Targeting attivo	pagina 32
2.2.3 Diagnosi e teranostica	pagina 35
2.2.4 Terapia combinata	pagina 35
Conclusioni	pagina 37
Bibliografia	pagina 38

Abstract

Il Glioblastoma Multiforme (GBM) è una forma di tumore cerebrale altamente aggressiva e difficilmente trattabile. La sua crescita rapida, la capacità di infiltrarsi nei tessuti circostanti e la sua tendenza ad avere recidive lo rendono una delle forme di cancro più pericolose e di difficile trattamento. Il tasso di sopravvivenza medio è di circa di 15 mesi dalla prima diagnosi. La strategia terapeutica convenzionale, che prevede l'asportazione chirurgica seguita da radioterapia e chemioterapia, spesso è inefficace a causa della barriera ematoencefalica, che limita l'accesso dei farmaci al cervello. Questa tesi ha per obiettivo indagare la letteratura scientifica relativa ai trattamenti del GBM mediante l'utilizzo di nanoparticelle come vettori di farmaci in grado di superare la barriera ematoencefalica.

Introduzione

Il cancro rappresenta una delle principali cause di morte a livello globale: in particolare, il glioblastoma si distingue come uno dei più aggressivi e letali tumori cerebrali. Nonostante i progressi significativi nella comprensione dei meccanismi molecolari e cellulari alla base di questa neoplasia, la prognosi rimane sfavorevole. Questo è dovuto principalmente alla complessità del microambiente tumorale, alla resistenza alle terapie convenzionali e alla difficoltà di superare la barriera ematoencefalica (Blood–Brain Barrier, BBB) per raggiungere efficacemente il tessuto tumorale. In questo contesto, le nanoparticelle emergono come una promettente piattaforma tecnologica per il trasporto di farmaci, offrendo nuove prospettive nel trattamento del glioblastoma essendo in grado di superare la BBB.

Il primo capitolo introduce le nanoparticelle, delineando la loro definizione e l'importanza nel trasporto di farmaci. Si discutono i vantaggi delle nanoparticelle rispetto ai sistemi di rilascio tradizionali, e le diverse tipologie di nanoparticelle, tra cui quelle lipidiche, polimeriche ed inorganiche, evidenziandone le caratteristiche e i potenziali rischi associati al loro utilizzo. Infine viene esaminato il loro utilizzo nel trattamento del cancro.

Il secondo capitolo si concentra sul glioblastoma, uno dei tumori cerebrali più aggressivi e difficili da trattare. Dopo averne descritto le caratteristiche principali, la patogenesi e le opzioni terapeutiche attuali, il capitolo si concentra sul ruolo potenziale delle nanoparticelle nel superare alcune delle barriere che hanno tradizionalmente limitato il successo dei trattamenti per il glioblastoma. In particolare, si discute di come le nanoparticelle possano essere utilizzate per migliorare il targeting tumorale e consentire il rilascio controllato di farmaci. Inoltre, si esplorano le sfide, le prospettive future e l'impatto delle nuove tecnologie sul trattamento di questa patologia devastante.

Attraverso un'analisi della letteratura scientifica più recente, questa tesi mira a fornire una panoramica sullo stato attuale delle nanotecnologie applicate alla medicina, con un focus specifico sulle loro applicazioni in campo oncologico cerebrale. Pertanto, l'obiettivo di questa tesi è duplice: da un lato, illustrare le aspettative e le sfide associate all'uso delle nanoparticelle nel trasporto di farmaci; dall'altro, esplorare la specifica applicazione delle nanoparticelle nel trasporto di farmaci per il trattamento del glioblastoma, con particolare attenzione alle strategie che mirano a superare la BBB e la complessità del microambiente tumorale.

Capitolo 1 Nanoparticelle per il Trasporto di farmaci

1.1 Introduzione alle NP

Negli ultimi decenni, l'avvento delle nanotecnologie ha rivoluzionato numerosi campi della scienza e della tecnologia, trovando applicazioni significative nel settore biomedico. Particolarmente promettente è l'impiego delle nanoparticelle (NP) nella terapia farmacologica, un approccio innovativo che mira a superare le limitazioni dei trattamenti convenzionali, migliorando l'efficacia e riducendo gli effetti collaterali dei farmaci. Le nanoparticelle, definite come particelle con una dimensione compresa tra 1 e 100 nanometri, offrono caratteristiche uniche grazie alle loro dimensioni ridotte e alla grande superficie specifica, che permettono un'interazione ottimizzata con le cellule e i tessuti biologici [1,2,3].

La terapia farmacologica basata sulle nanoparticelle le utilizza per incapsulare, proteggere e veicolare i farmaci direttamente alle cellule o ai tessuti bersaglio, migliorandone l'assorbimento e la distribuzione.

Le NP possono essere classificate in base alla loro composizione, struttura e funzionalità in organiche (come liposomi, dendrimeri e nanoparticelle polimeriche) e inorganiche (come nanoparticelle di oro e ossido di ferro). Ogni tipologia presenta vantaggi specifici.

La capacità delle nanoparticelle di superare barriere biologiche difficili da penetrare, come la barriera ematoencefalica (BBB), le rende strumenti eccezionali nel trattamento di patologie complesse, tra cui il cancro, le malattie neurodegenerative e le infezioni. In particolare, nel contesto oncologico, le nanoparticelle offrono la possibilità di concentrare l'azione terapeutica sul tumore, riducendo l'impatto sui tessuti sani circostanti e diminuendo così la tossicità associata alla chemioterapia convenzionale [1,2,3].

Nonostante le promesse e i progressi significativi, la terapia farmacologica basata sulle nanoparticelle affronta ancora sfide relative alla sicurezza, alla biocompatibilità, alla stabilità in vivo e all'efficacia del targeting. La ricerca continua, tuttavia, a superare questi ostacoli, con lo sviluppo di strategie innovative per la sintesi, il funzionamento e l'applicazione delle nanoparticelle, ponendo le basi per una nuova era nella terapia farmacologica.

1.1.1 Vantaggi e svantaggi rispetto ai sistemi di trasporto tradizionali

L'utilizzo delle nanoparticelle come veicoli per il trasporto di farmaci presenta vantaggi e svantaggi rispetto ai sistemi di rilascio tradizionali, come evidenziato in Tabella 1.1 e Tabella 1.2 [1].

Vantaggi dei sistemi convenzionali	Svantaggi dei sistemi convenzionali
Convenienza nella somministrazione	Scarso assorbimento nel sito di somministrazione
In vivo e in vitro migliore	Nessuna specificità del target
Forma di dosaggio accurata e misurata	Escrezione prematura dall'organismo
Maggiore durata di conservazione	Metabolismo prematuro del farmaco
Migliore adattamento alle variazioni del paziente	Scarsa biodisponibilità
Flessibilità per il medico per l'aggiustamento della dose	Alta frequenza di dosaggio
Basso costo	Scarsa cooperazione del paziente

Tabella 1.1: Vantaggi e svantaggi dei sistemi di trasporto convenzionali.

Vantaggi dei sistemi controllati	Svantaggi dei sistemi controllati
Rilascio controllato del farmaco	Possibile tossicità dei materiali utilizzati
Specificità del target	Rilascio del farmaco anticipato a causa di fattori ambientali
Lunga permanenza del farmaco	Procedura invasiva per impiantare o rimuovere il sistema
Protezione dal metabolismo da parte di enzimi/sostanze chimiche	L'assorbimento da parte del reticolo endoplasmatico riduce l'efficacia
Miglioramento della biodisponibilità	In vivo e in vitro peggiore
Bassa frequenza di dosaggio	Limitazioni nell'utilizzo
Migliore cooperazione del paziente	Costi di produzione più elevati

Tabella 1.2: Vantaggi e svantaggi dei sistemi di trasporto controllati.

1.2 Classi di nanoparticelle

Nel contesto del trasporto di farmaci mediante l'uso di nanoparticelle, una comprensione approfondita delle varie classi di nanoparticelle è fondamentale per sfruttare appieno il loro potenziale terapeutico. Questo paragrafo si propone di esplorare le diverse classi di nanoparticelle, ognuna caratterizzata da proprietà fisiche, chimiche e biologiche distinte, che le rendono adatte a specifiche applicazioni nel campo della medicina (Figura 1.1). Dalle nanoparticelle lipidiche, note per la loro biocompatibilità e capacità di incorporare un'ampia varietà di farmaci, alle nanoparticelle polimeriche, apprezzate per la loro versatilità e capacità di rilascio controllato del farmaco, fino alle nanoparticelle inorganiche, che offrono uniche proprietà ottiche ed elettroniche, questo paragrafo fornirà una panoramica dettagliata delle opzioni disponibili per i ricercatori e gli sviluppatori di farmaci. Verranno esaminate le caratteristiche distintive, i vantaggi e le potenziali applicazioni di ciascuna classe di nanoparticelle, evidenziando come la scelta del tipo di nanoparticella possa influenzare l'efficacia del trasporto del farmaco e l'esito terapeutico nel trattamento.

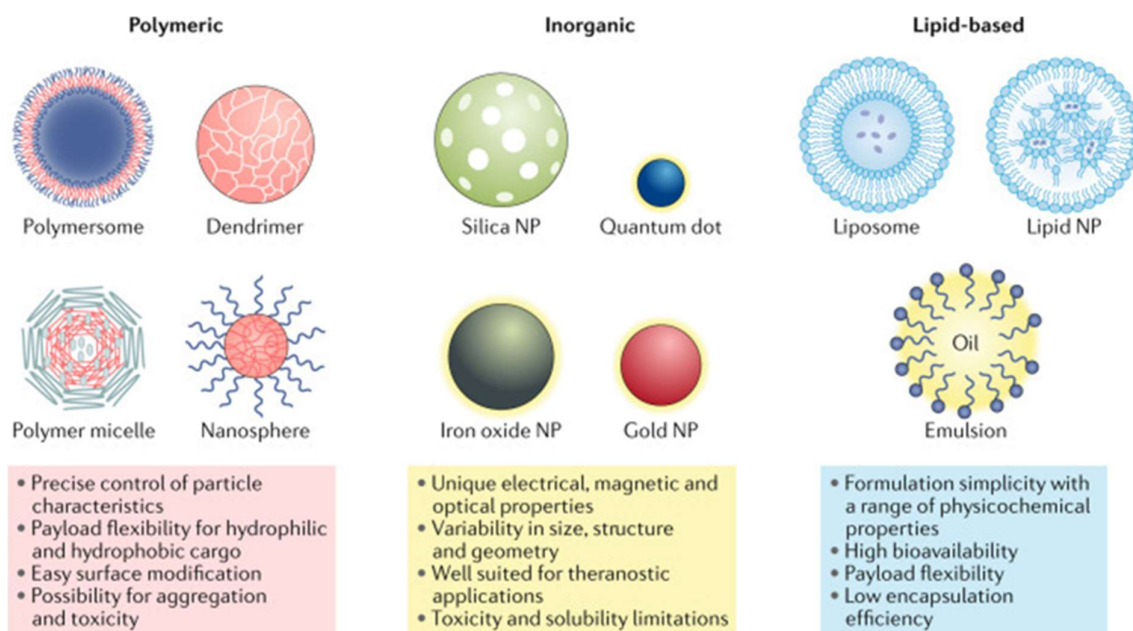


Figura 1.1: Principali classi e sottoclassi di nanoparticelle, con alcune delle caratteristiche evidenziate.

1.2.1 Nanoparticelle lipidiche

Le nanoparticelle lipidiche rappresentano una classe vitale di vettori per il trasporto di farmaci. Come sistema di rilascio, le NP a base lipidica offrono molti vantaggi, tra cui la semplicità di formulazione, l'autoassemblaggio, la biocompatibilità, l'elevata biodisponibilità, la capacità di trasportare grandi carichi utili e una gamma di proprietà fisico-chimiche che possono essere controllate per modularne le caratteristiche biologiche. Questa sezione esplora due tipologie principali di nanoparticelle lipidiche: i liposomi e le nanoparticelle solide lipidiche (SLN) (Figura 1.2).

- **Liposomi:** sono vescicole sferiche composte da fosfolipidi e steroidi, costituite da uno o più strati lipidici che circondano compartimenti acquosi. Variano in grandezza tra 80 e 300 nm. La loro struttura unica li rende ideali per incapsulare farmaci sia idrofilici, nei compartimenti acquosi, sia idrofobici, nei loro strati lipidici, sia lipofilici. Queste particelle aumentano la solubilità dei farmaci e migliorano le loro proprietà farmacocinetiche, come l'indice terapeutico degli agenti chemioterapici, il metabolismo rapido, la riduzione degli effetti collaterali dannosi e l'aumento dell'attività antitumorale in vitro e in vivo. I liposomi possono essere ulteriormente funzionalizzati con molecole di targeting per aumentare la specificità verso le cellule bersaglio, migliorando così l'efficacia terapeutica e riducendo gli effetti collaterali. Il problema irrisolto dell'utilizzo di sistemi di somministrazione di farmaci basati su liposomi deriva dal loro accumulo

nelle cellule al di fuori dei tessuti bersaglio e dagli effetti imprevedibili dipendenti dall'agente attivo che trasportano, come la morte cellulare [1,2,3,4,5,8].

- Nanoparticelle solide lipidiche (SLN): sono un'altra importante forma di vettori lipidici, basate su una matrice di lipidi solidi a temperatura corporea. Gli SLN sono nanoparticelle sferiche di dimensioni comprese tra 50 e 1000 nm. Queste particelle sono costituite da lipidi solidi, come ad esempio trigliceridi altamente purificati, miscele complesse di gliceridi o cere stabilizzate da vari tensioattivi. Le caratteristiche principali di SLN includono una buona stabilità fisica, la protezione dei farmaci incorporati dalla degradazione, il rilascio controllato del farmaco e una buona tollerabilità. Sono particolarmente utili per il rilascio di farmaci idrofobici, migliorando significativamente la loro solubilità e biodisponibilità. Sono stati però osservati alcuni svantaggi, come la bassa capacità di carico (limitata dalla solubilità del farmaco nel lipide e dalla struttura e dallo stato polimorfico della matrice lipidica), l'espulsione del farmaco dopo la cristallizzazione e un contenuto di acqua relativamente elevato delle dispersioni [1,2,3,5].

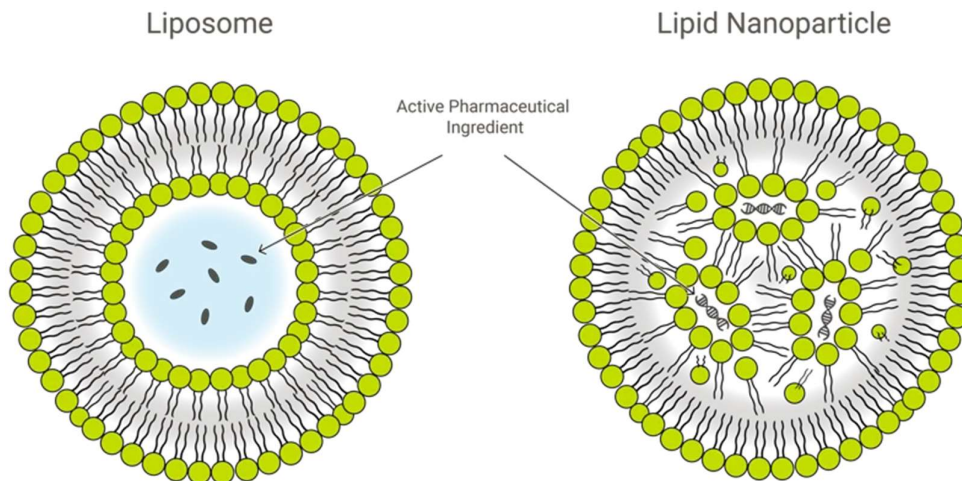


Figura 1.2: Struttura liposomi e SLN.

1.2.2 Nanoparticelle polimeriche

Le nanoparticelle polimeriche costituiscono una classe essenziale di sistemi di rilascio di farmaci. Possono essere formulate per consentire un controllo preciso di più caratteristiche delle NP e sono generalmente buoni veicoli di rilascio perché sono biocompatibili e hanno parametri facilmente modificabili. Gli agenti terapeutici possono essere incapsulati all'interno del nucleo delle NP, intrappolati nella matrice polimerica, coniugati chimicamente al polimero o legati alla

superficie delle NP. Ciò consente il rilascio di diverse molecole, tra cui composti idrofobici e idrofilici, nonché molecole con diverso peso molecolare come piccole molecole, macromolecole biologiche, proteine e vaccini, rendendo le NP polimeriche ideali per le applicazioni di co-delivery. Modulando proprietà come la composizione, la stabilità, la reattività e la carica superficiale, l'efficacia di carico e la cinetica di rilascio possono essere controllate con precisione. Le forme più comuni di NP polimeriche sono le nanocapsule (cavità circondate da una membrana o guscio polimerico) e le nanosfere (sistemi a matrice solida) (Figura 1.3). All'interno di queste due grandi categorie, le NP sono ulteriormente suddivise in forme come polimerosomi, micelle e dendrimeri.

- Polimerosomi: sono vescicole artificiali che racchiudono farmaci liquidi, con membrane realizzate utilizzando copolimeri a blocchi anfifilici. I polimerosomi sono più stabili dei liposomi e hanno dimostrato di avere una minore tossicità nell'organismo. Possono incapsulare sia farmaci idrofobici che idrofilici [1,2].
- Micelle polimeriche: sono composte da polimeri anfifilici che si autoassemblano spontaneamente per formare nanosfere. Il segmento idrofobico forma il nucleo e il segmento idrofilico forma il guscio: questo serve a proteggere il carico acquoso di farmaci e migliorare i tempi di circolazione. La dimensione delle micelle varia da 10 a 100 nm. Le micelle polimeriche possono caricare vari agenti terapeutici, dalle piccole molecole alle proteine, e sono anche state utilizzate per la somministrazione di terapie antitumorali [1,2].
- Dendrimeri: sono nanoparticelle polimeriche altamente ramificate, per le quali la massa, le dimensioni, la forma e la chimica della superficie possono essere altamente controllate; offrono una superficie esterna vasta e funzionale per il legame di farmaci, agenti di targeting e altri ligandi. I gruppi funzionali attivi presenti all'esterno dei dendrimeri consentono la coniugazione di biomolecole o agenti di contrasto alla superficie, mentre i farmaci possono essere caricati all'interno. I dendrimeri possono contenere molti tipi di carico, ma sono più comunemente studiati per il rilascio di acidi nucleici e piccole molecole. La loro struttura consente di controllare strettamente le dimensioni e la forma della nanoparticella, facilitando la penetrazione tissutale e l'accumulo nel sito di azione desiderato. Inoltre, la possibilità di funzionalizzare la superficie dei dendrimeri con vari ligandi li rende candidati ideali per il targeting cellulare specifico, aumentando l'efficacia del trattamento e riducendo gli effetti collaterali [1,2,3].

Le NP polimeriche sono candidate ideali per la somministrazione di farmaci perché sono biodegradabili, solubili in acqua, biocompatibili, biomimetiche e stabili durante la conservazione. Le loro superfici possono essere facilmente modificate per un ulteriore targeting, consentendo loro di fornire farmaci, proteine e materiale genetico ai tessuti bersaglio, il che le rende utili nella terapia contro il cancro, nella terapia genica e nella diagnostica. Tuttavia, gli svantaggi delle NP polimeriche includono un aumento del rischio di aggregazione di particelle e tossicità.

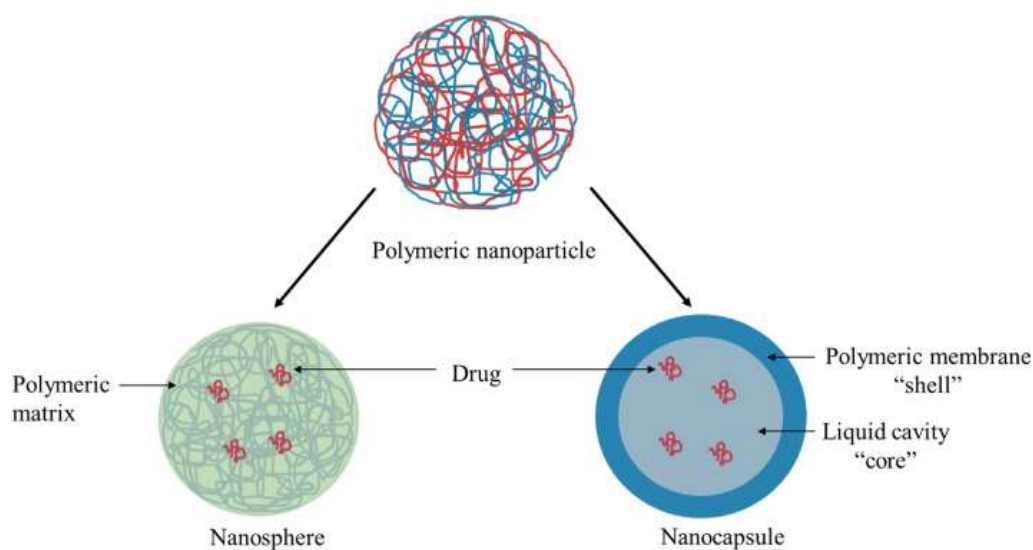


Figura 1.3: Struttura di nanosfere e nanocapsule.

1.2.3 Nanoparticelle inorganiche

Le nanoparticelle inorganiche si distinguono per le loro proprietà fisiche uniche, che includono elevata stabilità, specificità di forma e dimensione, e straordinarie proprietà ottiche, elettriche e magnetiche. Sono formulate con precisione e possono essere progettate per avere un'ampia varietà di strutture e geometrie. Queste caratteristiche rendono le nanoparticelle inorganiche strumenti preziosi per una varietà di applicazioni nel trasporto di farmaci, oltre che in diagnostica e in terapie combinate. Di seguito alcune delle più utilizzate (Figura 1.4).

- Nanoparticelle d'oro: sono le più studiate per il loro impiego in terapia e diagnostica, grazie alla loro biocompatibilità e alla facilità con cui possono essere funzionalizzate con una vasta gamma di molecole, inclusi anticorpi, peptidi e acidi nucleici. La loro superficie può essere modificata per migliorare la specificità di targeting e l'assorbimento cellulare. Inoltre, le nanoparticelle d'oro possiedono proprietà ottiche uniche che consentono il riscaldamento selettivo dei tessuti (ipertermia magnetica)

quando irradiate con luce a una specifica lunghezza d'onda, trovando applicazione nella terapia fototermica per la distruzione mirata delle cellule tumorali e nel rilascio controllato di farmaci [2,3].

- Nanoparticelle di ossido di ferro: presentano un'ampia varietà di attributi, che le rendono vettori molto promettenti per la somministrazione di farmaci. In particolare, questi sono: la possibilità di utilizzare strategie di somministrazione passiva e attiva del farmaco, la capacità di visualizzazione, la facilità di manipolazione con l'aiuto di un campo magnetico esterno. Questa proprietà in particolare le rende particolarmente adatte per il targeting mirato di tumori o altre aree patologiche. Inoltre, come le nanoparticelle d'oro, possono essere utilizzate per generare ipertermia magnetica [2,3].
- Silice: i materiali di silice utilizzati nei sistemi di somministrazione controllata dei farmaci sono classificati come xerogel e nanoparticelle di silice mesoporosa. Presentano diversi vantaggi come sistemi di trasporto, tra cui la biocompatibilità, la struttura altamente porosa e la facilità di funzionalizzazione. Tra le nanoparticelle inorganiche, i materiali di silice sono i vettori che più spesso vengono utilizzati più spesso. Tuttavia, studi recenti hanno rivelato una certa tossicità in vitro e in vivo e alcuni rischi derivanti dall'uso di questo materiale [3].
 1. Xerogel: gli xerogel di silice possiedono una struttura amorfa con un'elevata porosità e una grande superficie. Modificando le condizioni di sintesi, come il rapporto tra reagenti, temperatura, concentrazione del catalizzatore e pressione di essiccazione, è possibile alterare le proprietà degli xerogel utilizzati nel rilascio controllato di farmaci [3].
 2. Nanoparticelle di silice mesoporosa (MSN): rispetto agli xerogel, possiedono una struttura più omogenea, una minore polidispersione e una maggiore superficie per l'adsorbimento di agenti terapeutici o diagnostici. La loro struttura porosa permette di incapsulare una vasta gamma di principi attivi, inclusi farmaci, proteine e acidi nucleici, proteggendoli dalla degradazione enzimatica e migliorandone la biodisponibilità. La superficie delle nanoparticelle di silice può essere ulteriormente modificata per il targeting specifico e per controllare il rilascio del farmaco in risposta a stimoli esterni [3].
- Quantum dots: sono nanoparticelle composte da semiconduttori che esibiscono proprietà ottiche e elettroniche quantistiche uniche, come la fluorescenza. Queste proprietà li rendono particolarmente utili per applicazioni di imaging in vitro e diagnostica, consentendo il monitoraggio in tempo reale della distribuzione dei farmaci

e del loro accumulo nei tessuti target. La loro applicazione diretta nel trasporto di farmaci è però limitata dalla potenziale tossicità [2].

- Nanoparticelle di carbonio: si suddividono in nanotubi di carbonio (CNT) e nanocorni di carbonio (CNH).
 1. i CNT sono caratterizzati da un'architettura unica formata dall'arrotolamento di strati singoli o multipli di grafene con una grande area di superficie e un'eccellente conducibilità elettronica e termica. Hanno rapporti tra lunghezze e diametri >100 , con lunghezze di diversi μm e diametri da 0,7 a 1,5 nm per i nanotubi di carbonio a parete singola (Single Walled Carbon NanoTube, SWCNT) e da 2 a 50 nm per i nanotubi di carbonio a parete multipla (Multi Walled Carbon NanoTube MWCNT). La biocompatibilità dei nanotubi può essere migliorata modificando chimicamente la loro superficie. Per inserire un farmaco è possibile incapsularlo nel nanotubo, oppure attraverso adsorbimento chimico sulla superficie o negli spazi tra i nanotubi [2,3];
 2. i CNH, uno dei tipi di nanotubi con un singolo strato, mostrano proprietà simili a questi ultimi. Il loro processo di formazione non richiede un catalizzatore metallico, quindi possono essere facilmente preparati con costi molto bassi e sono di elevata purezza. L'inserimento dei farmaci può basarsi sull'adsorbimento sulle pareti dei nanocorni o sulla nanoprecipitazione dei farmaci con i nanocorni [3].

La tossicità dei nanomateriali a base di carbonio dipende anche dalla loro struttura geometrica unica e ben definita. Il potenziale tossico dei nanotubi di carbonio può derivare dall'elevato rapporto lunghezza/diametro e dalla tossicità del materiale che li compone, che è il grafene. Inoltre, alcune impurità, come il metallo residuo e il carbonio amorfo, contribuiscono all'aumento del livello di specie reattive dell'ossigeno (ROS), inducendo così lo stress ossidativo nelle cellule [3].

Le nanoparticelle inorganiche offrono quindi una piattaforma versatile e potente per il trasporto di farmaci, la diagnostica e le terapie combinate, grazie alle loro proprietà fisiche e chimiche distintive. La loro capacità di essere ingegnerizzate su misura per specifiche applicazioni apre nuove possibilità per il trattamento di malattie complesse, migliorando l'efficacia terapeutica e riducendo gli effetti collaterali attraverso strategie di rilascio mirate e controllate.



Figura 1.4: Struttura di alcune nanoparticelle inorganiche

1.3 Barriera ematoencefalica

Il cervello umano è composto da una complessa rete di oltre 100 miliardi di capillari. Questo sistema svolge un ruolo fondamentale nel proteggere il cervello da sostanze potenzialmente nocive. La barriera ematoencefalica (Blood-Brain Barrier, BBB), costituita da cellule endoteliali strettamente congiunte, che insieme agli astrociti, periciti, neuroni, mastociti e alla microglia contribuiscono a formare l'unità neurovascolare (NeuroVascular Unit, NVU), funge da filtro selettivo tra il sistema nervoso centrale (SNC) e il resto del corpo, proteggendo il cervello da sostanze nocive e patogeni presenti nel flusso sanguigno (Figura 1.5). Tuttavia, questa selettività rappresenta anche una sfida significativa per il trasporto di farmaci destinati al trattamento di patologie cerebrali, come il glioblastoma. Per superare la BBB e raggiungere il tessuto cerebrale, le nanoparticelle e i farmaci devono sfruttare specifici meccanismi di attraversamento, e per farlo la ricerca ha messo in campo svariate strategie (Figura 1.6) [4,5,7,8].

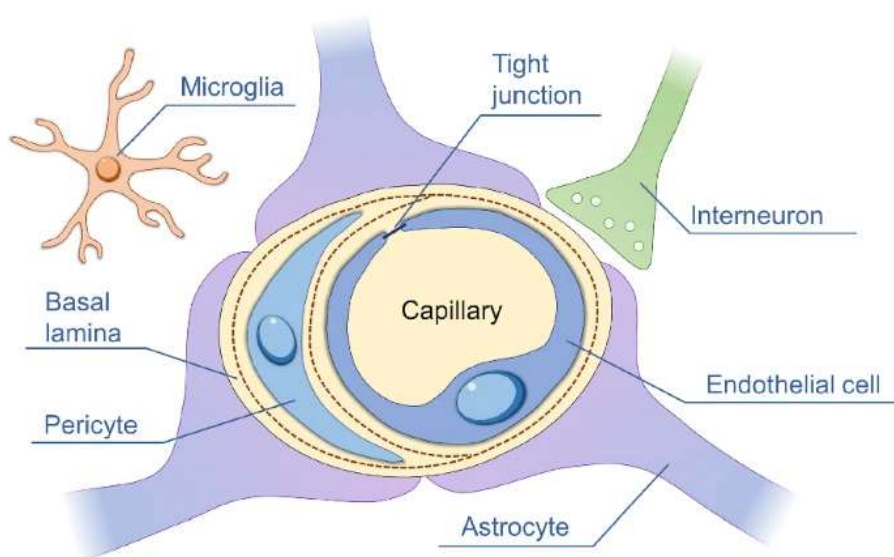


Figura 1.5: Struttura della barriera ematoencefalica

1.3.1 Meccanismi di Attraversamento

- **Trasporto Passivo:** si riferisce al movimento di sostanze attraverso la BBB senza l'utilizzo di energia, principalmente per diffusione semplice. Questo meccanismo è efficace principalmente per piccole molecole lipofile che possono attraversare direttamente le membrane cellulari delle cellule endoteliali che formano la BBB. Tuttavia, molti farmaci e nanoparticelle non soddisfano i criteri necessari per il trasporto passivo a causa delle loro dimensioni, carica o solubilità [4,7,8].
- **Trasporto Attivo:** il trasporto attivo e facilitato richiede l'uso di proteine trasportatrici specifiche per attraversare la BBB. Queste proteine possono legare molecole specifiche, compresi alcuni farmaci, e trasportarle attraverso la barriera in modo selettivo. Il trasporto attivo è un processo che richiede energia e che consente il movimento di sostanze contro un gradiente di concentrazione, mentre il trasporto facilitato permette il movimento di molecole secondo un gradiente di concentrazione senza l'utilizzo di energia diretta [4,7,8].
- **Transitosi:** è un meccanismo vitale per il trasporto di macromolecole attraverso la BBB e può avvenire in tre forme principali:
 1. **Transitosi Mediata da Recettori (RMT):** sfrutta recettori specifici sulla superficie delle cellule endoteliali per il legame e l'assorbimento di particelle o molecole. Le nanoparticelle possono essere funzionalizzate con ligandi che mirano a questi recettori, facilitando il loro trasporto attraverso la BBB [4,6,7,8].
 2. **Transitosi Adsorbitiva Mediata (AMT):** coinvolge il legame delle nanoparticelle a componenti della superficie cellulare che indirizzano il loro assorbimento e trasporto attraverso le cellule endoteliali [4,6,7,8].

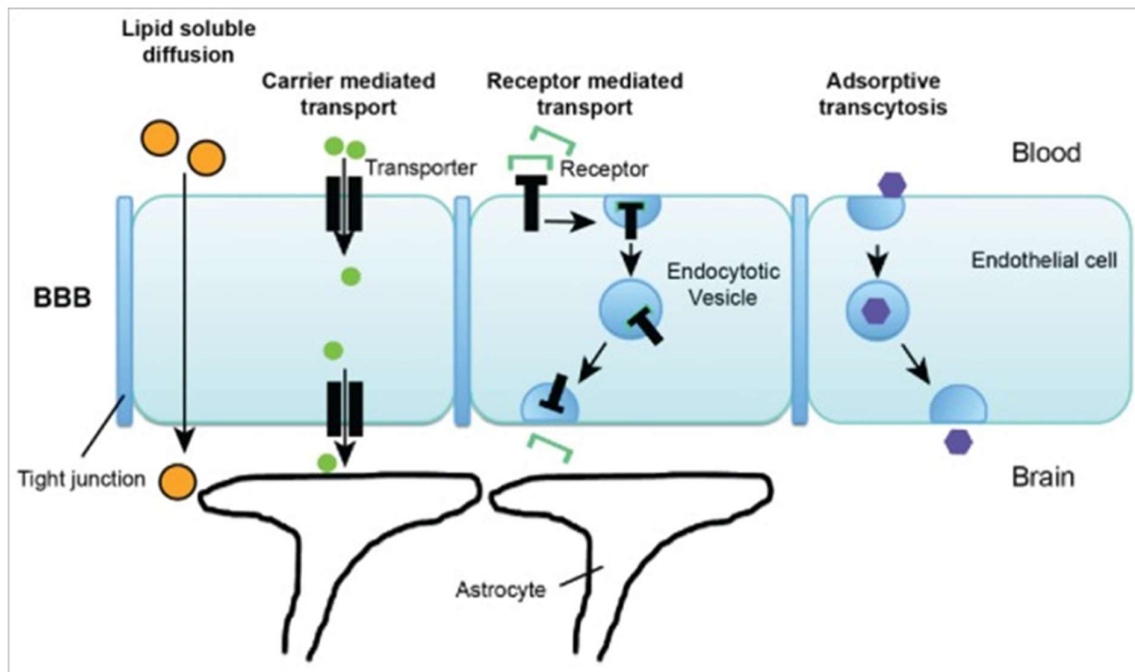


Figura 1.6: Meccanismi di attraversamento della BBB.

1.3.2 Strategie per l'attraversamento della BBB

- Modificazione superficiale delle nanoparticelle: la modificazione superficiale delle nanoparticelle con polimeri biocompatibili può aumentare la loro stabilità in circolo e ridurre l'adsorbimento non specifico di proteine. L'aggiunta di ligandi specifici, come anticorpi o peptidi che mirano a recettori espressi dalle cellule endoteliali della BBB, può promuovere l'attraversamento delle nanoparticelle tramite transitosi mediata da recettori [4,5,7,8].
- Utilizzo di vettori peptidici: i vettori peptidici possono essere utilizzati per trasportare farmaci e nanoparticelle attraverso la BBB mediante meccanismi di penetrazione cellulare. Questi peptidi possono facilitare l'assorbimento diretto delle nanoparticelle caricate con farmaci nelle cellule endoteliali e il loro successivo rilascio nel tessuto cerebrale [4,5,7,8].
- Sistemi di trasporto attivo: si possono sfruttare i sistemi di trasporto attivo esistenti sulla BBB, come quelli per il glucosio (GLUT) o l'aminoacido L-DOPA, utilizzando farmaci o nanoparticelle con molecole che sono substrati naturali di questi trasportatori [4,5,7,8].
- Apertura temporanea della BBB: tecniche che sfruttano gli ultrasuoni in combinazione con microbolle, oppure l'aumento di pressione osmotica dettato da agenti chimici esterni, possono essere utilizzate per aprire temporaneamente la BBB in specifiche aree

del cervello, aumentando la permeabilità locale e consentendo l'ingresso di farmaci o nanoparticelle. Questo metodo richiede un controllo preciso per minimizzare i potenziali danni al tessuto cerebrale [4,5,7].

- Nanoparticelle magnetiche: possono essere guidate attraverso la BBB utilizzando campi magnetici esterni. Una volta che le nanoparticelle raggiungono il cervello, possono essere attivate per rilasciare il farmaco tramite un aumento locale della temperatura (ipertermia magnetica) o attraverso altri meccanismi controllati esternamente [4,5,7,8].

1.4 Rischi e tossicità

Nonostante i progressi significativi e le potenzialità offerte dalle nanoparticelle nel trattamento di patologie complesse come il cancro, la questione della loro tossicità rimane un argomento di cruciale importanza. Questa sezione esplorerà le diverse dimensioni della tossicità associata alle nanoparticelle, analizzando come esse possono interagire con i sistemi biologici a livello cellulare e sistemico, potendo eventualmente causare effetti collaterali indesiderati.

La tossicità delle nanoparticelle può derivare da vari fattori, inclusi la loro composizione, forma, dimensione, superficie e modalità di esposizione all'organismo. Pertanto, comprendere e mitigare i rischi associati all'uso delle nanoparticelle nel trasporto di farmaci è essenziale per lo sviluppo di terapie sicure ed efficaci. In questa sezione verranno quindi discussi i meccanismi attraverso i quali le nanoparticelle possono esercitare effetti tossici, le metodologie impiegate per valutare tali rischi e alcuni esempi noti di tossicità di nanoparticelle.

1.4.1 Tossicità delle nanoparticelle

La tossicità delle nanoparticelle si riferisce alla capacità di causare effetti dannosi sui sistemi viventi, a livello molecolare, cellulare, tissutale o dell'intero organismo. Questi effetti possono variare a seconda di molteplici fattori, tra cui le proprietà fisiche e chimiche delle nanoparticelle stesse. La comprensione della tossicità delle nanoparticelle è fondamentale per garantire la sicurezza nell'uso delle nanotecnologie in ambito medico, in particolare per il trasporto di farmaci. La tossicità legata alle nanoparticelle, che si sviluppa in forma acuta o cronica, può essere classificata in base alla natura degli effetti:

- Citotossicità: comprende gli effetti tossici diretti delle nanoparticelle sulle cellule, come la morte cellulare, l'alterazione del ciclo cellulare o il danno al DNA. Le nanoparticelle possono indurre citotossicità dose-dipendente e tempo-dipendente. Viene valutata in vitro in termini di diminuzione della vitalità cellulare impiegando vari saggi di citotossicità, il principale dei quali è il test di vitalità cellulare MTT (tetrazolio giallo).

La citotossicità è un parametro cruciale per valutare la sicurezza delle nanoparticelle [9].

- Genotossicità: include effetti delle nanoparticelle che causano danni al DNA o portano ad alterazioni genetiche. È particolarmente significativa per il potenziale di indurre mutazioni e carcinogenesi [9].
- Immunotossicità: riguarda gli effetti e danni diretti o indiretti sul sistema immunitario, come l'attivazione di risposte infiammatorie o allergiche, fino alle malattie autoimmuni. La progettazione di nanoparticelle che evitano il riconoscimento e l'eliminazione precoce da parte del sistema immunitario è fondamentale per la loro efficacia e sicurezza [9].

La tossicità delle nanoparticelle è influenzata da diversi fattori intrinseci ed estrinseci (Figura 1.7), tra cui:

- Dimensione e superficie: la dimensione delle nanoparticelle influisce sulla loro capacità di penetrare nelle cellule e nei tessuti, e quindi risultare più o meno dannose. In particolare particelle di dimensioni inferiori mostrano potenzialmente una maggiore tossicità a causa della maggiore superficie relativa [9,10].
- Composizione: materiali diversi possono indurre risposte biologiche differenti. Nanoparticelle composte da materiali noti per la loro reattività chimica, tossicità o scarsa biocompatibilità potrebbero presentare rischi maggiori. Materiali biodegradabili e biorisorbibili sono preferibili in quanto possono essere metabolizzati e eliminati dall'organismo dopo aver svolto la loro funzione terapeutica [9,10].
- Rivestimento e funzionalizzazione della superficie: le modifiche superficiali possono sia mitigare che esacerbare la tossicità delle nanoparticelle, a seconda della natura del rivestimento e della sua interazione con il sistema biologico. L'applicazione di rivestimenti biocompatibili, come il polietilenglicole (PEG), i silsesquiosani, chitosano, rivestimenti lipidici, acido poliacrilico (PAA) o altri, può mascherare le nanoparticelle al sistema immunitario, riducendo la fagocitosi e prolungando il tempo di circolazione nel sangue [9,10].
- Solubilità: la capacità delle nanoparticelle di dissolversi in ambiente biologico può influenzare la loro tossicità. Nanoparticelle altamente solubili possono essere più facilmente eliminate, riducendo potenzialmente l'esposizione e la tossicità [9,10].

La valutazione accurata della tossicità delle nanoparticelle richiede un approccio multidisciplinare che integra studi in vitro ed in vivo per comprendere appieno i meccanismi

attraverso cui le nanoparticelle interagiscono con i sistemi biologici. Solo attraverso una comprensione dettagliata di questi aspetti è possibile progettare nanoparticelle sicure ed efficaci per applicazioni terapeutiche, minimizzando i rischi per la salute umana.

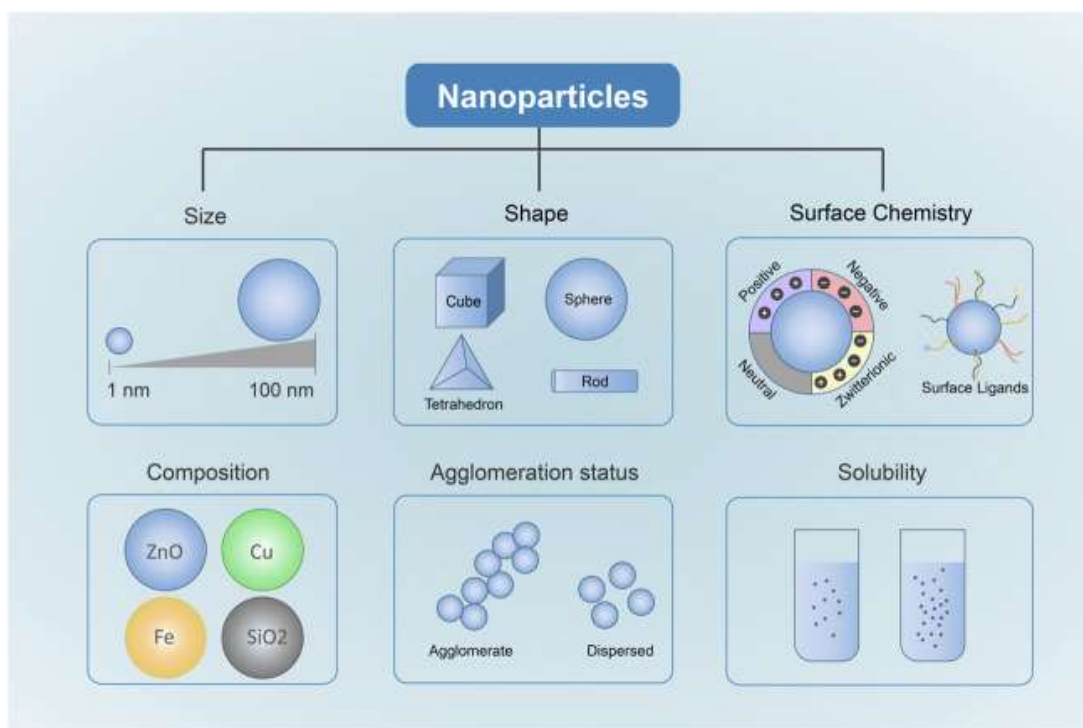


Figura 1.7: Caratteristiche delle nanoparticelle che influenzano la tossicità.

1.4.2 Valutazione della biocompatibilità

Valutare la biocompatibilità delle nanoparticelle è un processo cruciale nello sviluppo di sistemi sicuri ed efficaci per il trasporto di farmaci. Questa fase assicura che le nanoparticelle, una volta introdotte nell'organismo vivente, non provochino risposte avverse e siano in grado di svolgere la loro funzione terapeutica senza causare danni ai tessuti circostanti o all'organismo nel suo complesso.

- Studi in vitro: questi test sono eseguiti utilizzando colture cellulari per valutare gli effetti diretti delle nanoparticelle su vari tipi di cellule. Tra tutti i tipi di test, le valutazioni in vitro sono considerate le più affidabili, economiche ed accessibili, senza contare che non prevedono l'utilizzo di animali. Durante la valutazione, vengono usate diverse colture di cellule, tra cui quelle del sangue, tumorali, epatiche e neuronali. Questi studi prevedono saggi di vitalità cellulare, saggi di citotossicità per l'identificazione dello stress ossidativo e saggi di stress cellulare per l'espressione genica. L'elevata produzione

di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto, l'infiammazione e la sovrapproduzione di citochine provocano apoptosi, autofagia e meccanismi di morte cellulare necrotica. Gli studi in vitro sono spesso il primo passo nella valutazione della biocompatibilità, offrendo un modo rapido ed economico per identificare possibili rischi [9,10].

- Studi in vivo: forniscono dati sulla biodistribuzione, sul metabolismo, sull'accumulo e sull'escrezione delle nanoparticelle, nonché sulla loro tossicità sistemica e sugli effetti a lungo termine. La produzione di ROS è spesso il fenomeno che causa la tossicità delle nanoparticelle, che possono portare sia ad immunotossicità che a esiti tossicologici genetici. Le nanoparticelle interagiscono con vari componenti delle cellule che ne alterano le proprietà, la superficie e la biodistribuzione. Pertanto, è necessario considerare le possibili interferenze prima di analizzarne la tossicità. Gli studi in vivo, condotti su modelli animali, sono essenziali per comprendere le interazioni complesse tra le nanoparticelle e l'organismo vivente, inclusi gli effetti immunitari e infiammatori [9,10].

La valutazione completa della biocompatibilità delle nanoparticelle richiede un approccio integrato che combina dati in vitro, in vivo e, quando disponibili, studi clinici su uomo. Il superamento di queste valutazioni è essenziale prima che le nanoparticelle possano essere approvate per l'uso clinico. Le agenzie regolatorie richiedono una documentazione dettagliata della biocompatibilità per garantire che i benefici terapeutici delle nanoparticelle superino i potenziali rischi per i pazienti.

1.4.3 Esempi di tossicità

L'analisi di casi specifici, sia in studi preclinici che clinici, può offrire informazioni preziose per identificare modelli e possibili meccanismi di tossicità utili alla gestione dei rischi associati all'uso delle nanoparticelle. Questi esempi pratici forniscono lezioni importanti per la progettazione e l'impiego sicuro delle nanoparticelle nel trasporto di farmaci, evidenziando sia le potenziali sfide che le strategie di successo. Di seguito si riportano alcuni esempi di tossicità nota.

- Nanoparticelle metalliche: l'esatto meccanismo di tossicità di queste nanoparticelle, come quelle d'argento, d'oro o di ossido di ferro, non è ancora chiaro; vari processi però vi contribuiscono, tra cui la generazione ROS, e conseguente stress ossidativo, disfunzione mitocondriale, danni al DNA e altri [8,9].

- Nanotubi di carbonio: i nanotubi hanno il potenziale per agire come fibre biopersistenti (come le fibre di amianto). L'incubazione in vitro dei cheratinociti e delle cellule epiteliali bronchiali con alte dosi di SWCNT provoca la generazione di ROS, la perossidazione lipidica, lo stress ossidativo, la disfunzione mitocondriale e i cambiamenti nella morfologia cellulare. Questi risultati hanno sollevato preoccupazioni riguardo alla sicurezza dell'esposizione umana e hanno stimolato lo sviluppo di linee guida per la manipolazione sicura e l'applicazione di tecniche di ingegnerizzazione della superficie per ridurre la tossicità [10].
- Dendrimeri: grazie alla loro natura specifica, sono particolarmente adatti per la somministrazione di farmaci. Sebbene le loro piccole dimensioni (fino a 10 nm) limitino l'ampia incorporazione di farmaci nei dendroni, la loro natura dendritica e la loro ramificazione consentono il carico di farmaci sulle superfici esterne della struttura polimerica. La funzionalizzazione della superficie con anticorpi specifici può migliorare ulteriormente il potenziale targeting. L'esperienza clinica con i dendrimeri porta a concludere che sarà sempre possibile designare un dendrimero come sicuro solo se correlato a un'applicazione specifica, ma non in generale [10].
- Quantum dots: variano in una ampia gamma di dimensioni da 2,5 a 100 nm, a seconda dello spessore del rivestimento. È stato dimostrato in vitro che possono essere tossici, anche se parte di questa tossicità potrebbe essere attribuita al rivestimento. I quantum dots privi di rivestimento sono citotossici perché inducono la formazione di ROS con conseguente danno alle membrane plasmatiche, ai mitocondri e al nucleo [10].
- Nanoparticelle d'oro: sono ampiamente utilizzate, possono essere sintetizzate in diverse forme (bastoncelli, punti), sono disponibili in commercio in varie dimensioni e possono essere rilevate a basse concentrazioni. Le cellule possono assorbire nanoparticelle d'oro senza effetti citotossici [10].
- Silice: sono state osservate risposte sia tossiche che non tossiche in vitro. Si riscontra un aumento della tossicità sia all'aumentare delle dosi che all'aumentare del tempo di esposizione. L'esposizione ha provocato un aumento dei livelli di ROS e una riduzione dei livelli di glutazione, indicando un aumento dello stress ossidativo. Le nanoparticelle di silice sono tossiche ad alti dosaggi, come dimostrato da una riduzione della vitalità e proliferazione cellulare e dal rilascio di lattato deidrogenasi (LDH) dalle cellule che indicano un danno alla membrana [10].

1.5 Nanoparticelle nel trattamento del cancro

Il cancro rimane la seconda causa di morte in tutto il mondo. A causa della sua eterogeneità e complessità, lo sviluppo di terapie antitumorali efficaci è molto impegnativo. Questa sezione esplora l'evoluzione e il potenziale rivoluzionario delle nanoparticelle nella lotta contro il cancro, con un focus sulle loro applicazioni innovative, dalla precisione nel targeting tumorale al rilascio controllato di farmaci e le terapie combinatorie; inoltre, si sottolinea come le nanoparticelle permettano di superare le limitazioni dei trattamenti convenzionali, offrendo nuove speranze per efficaci terapie antitumorali con minori effetti collaterali.

1.5.1 Targeting tumorale

Il targeting tumorale tramite nanoparticelle rappresenta una strategia promettente per migliorare l'efficacia e ridurre gli effetti collaterali della chemioterapia e di altre terapie antitumorali. Questo approccio sfrutta le caratteristiche uniche del microambiente tumorale e delle nanoparticelle per dirigere selettivamente i farmaci verso le cellule tumorali, aumentando la concentrazione del farmaco nel tessuto bersaglio e minimizzando l'esposizione dei tessuti sani. Ci sono due principali metodi di targeting tumorale: il targeting passivo e il targeting attivo.

- Targeting passivo: rappresenta una strategia promettente nella consegna mirata di farmaci per il trattamento del cancro. Questo approccio si basa sull'effetto di permeabilità e ritenzione migliorata (Enhanced Permeability and Retention effect, EPR), una proprietà distintiva di molti tumori solidi che consente alle nanoparticelle di accumularsi preferenzialmente nel tessuto tumorale. L'effetto EPR si verifica a causa di due caratteristiche principali dei tumori solidi: una vascolarizzazione disorganizzata e porosa e un drenaggio linfatico (clearance) inefficiente. I tumori crescono rapidamente e richiedono un apporto costante di nutrienti, cosa che stimola la formazione di nuovi vasi sanguigni tramite angiogenesi. Tuttavia, questi nuovi vasi sono spesso disfunzionali, con giunzioni endoteliali allargate e una permeabilità aumentata. Queste condizioni creano un ambiente in cui le nanoparticelle possono facilmente penetrare e rimanere intrappolate nel tessuto tumorale. Il principale vantaggio del targeting passivo è la sua capacità di aumentare la concentrazione del farmaco nel tumore rispetto ai tessuti sani circostanti, riducendo potenzialmente gli effetti collaterali associati alla chemioterapia convenzionale. Poiché l'accumulo delle nanoparticelle avviene in modo non specifico, basato principalmente sulle proprietà fisiche del tumore, questo approccio può essere applicato a una vasta gamma di tumori solidi senza la necessità di identificare specifici marker tumorali. Le dimensioni delle nanoparticelle sono un

fattore cruciale: particelle con un diametro compreso tra 10 e 100 nanometri tendono a mostrare un ottimale accumulo tumorale, poiché sono abbastanza piccole da passare attraverso le giunzioni endoteliali allargate ma abbastanza grandi da evitare il rapido drenaggio linfatico. Inoltre, la superficie delle nanoparticelle può essere modificata per aumentare la loro circolazione nel sangue e ridurre la rimozione da parte del sistema immunitario, ad esempio rivestendole con PEG. L'efficacia dell'effetto EPR però può variare notevolmente tra i diversi tipi di tumori e anche all'interno dello stesso tumore, influenzando l'uniformità dell'accumulo delle nanoparticelle. Inoltre, la pressione interstiziale elevata all'interno dei tumori può limitare la penetrazione delle nanoparticelle più in profondità nel tessuto tumorale. La continua innovazione nella progettazione delle nanoparticelle è fondamentale per ottimizzare questa strategia e superare le sfide associate alla variabilità dell'effetto EPR (Figura 1.8) [11,12,13].

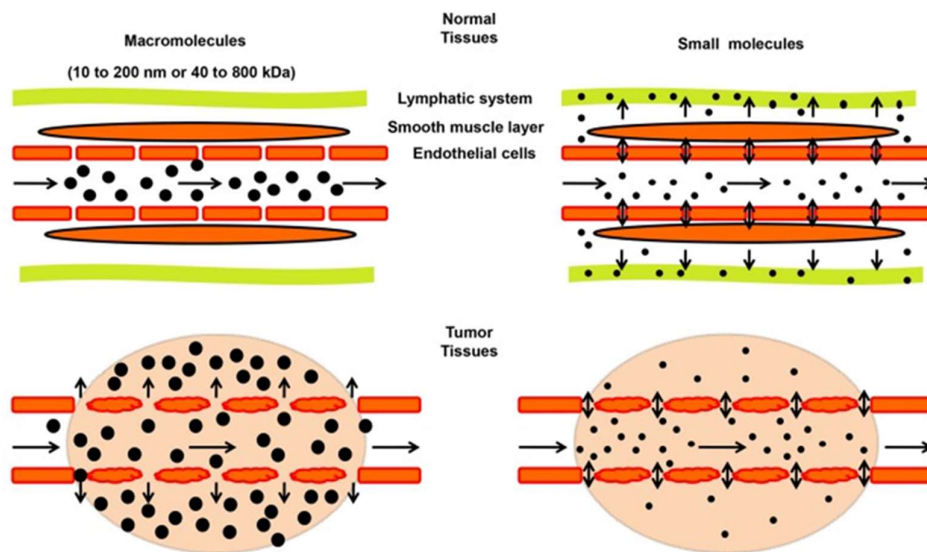


Figura 1.8: Effetto EPR (le cellule endoteliali sono scarsamente allineate e vi è una mancanza di clearance linfatica e di uno strato di muscolatura liscia rispetto ai tessuti normali; pertanto, le macromolecole tendono ad accumularsi nei tessuti tumorali molto più che in quelli normali).

- Targeting attivo: impiega una strategia sofisticata per la consegna di farmaci, che si concentra sulla modificazione superficiale delle nanoparticelle con ligandi specifici in grado di legare selettivamente recettori o altre molecole espressi in modo predominante sulle cellule tumorali. Questo approccio mira a migliorare significativamente l'accumulo di farmaci nel tessuto tumorale rispetto al tessuto normale, massimizzando l'efficacia terapeutica del trattamento e riducendo gli effetti collaterali associati alla chemioterapia convenzionale. Il targeting attivo si basa sull'identificazione di

biomarcatori specifici espressi dalle cellule tumorali o dall'ambiente tumorale che non sono presenti, o lo sono in misura minore, sulle cellule sane. Questi biomarcatori possono includere recettori di superficie cellulare, proteine, o antigeni che sono sovraespressi nelle cellule malate. La selezione dei ligandi che mirano a questi biomarcatori è cruciale per il successo di questa strategia. Le nanoparticelle vengono funzionalizzate con molecole di targeting, come anticorpi monoclonali, peptidi, piccole molecole o aptameri. Questi ligandi sono scelti per la loro alta affinità e specificità verso i biomarcatori target, consentendo alle nanoparticelle di legarsi specificamente alle cellule tumorali e di essere assorbite più efficacemente attraverso processi come l'endocitosi. Attraverso il legame specifico ai recettori o alle molecole target, il targeting attivo facilita un maggiore accumulo di nanoparticelle nel tessuto tumorale. Questo approccio riduce la dipendenza dall'effetto EPR, consentendo una consegna più mirata e efficiente di farmaci anche in tumori con una bassa permeabilità vascolare. Il targeting attivo mira a ridurre l'impatto dei trattamenti antitumorali sulle cellule sane, limitando la distribuzione dei farmaci chemioterapici al tessuto tumorale. La capacità di concentrare maggiormente il farmaco nel sito del tumore aumenta l'efficacia terapeutica, potenzialmente permettendo l'uso di dosi minori di farmaci e riducendo la resistenza al trattamento. Considerata l'enorme eterogeneità tra i tumori, una delle maggiori sfide del targeting attivo è l'identificazione di biomarcatori specifici e universali per diversi tipi di tumori. La progettazione e la produzione di nanoparticelle funzionalizzate con ligandi specifici per il targeting richiedono processi sofisticati e costosi, che possono limitare la loro applicabilità e disponibilità su larga scala. Le nanoparticelle funzionalizzate possono innescare una risposta immunitaria, che potrebbe ridurre l'efficacia del targeting e aumentare la rimozione delle nanoparticelle dal corpo. Il targeting attivo offre un approccio promettente per la consegna mirata di farmaci nei tumori, superando alcune delle limitazioni del targeting passivo e potenzialmente migliorando l'efficacia dei trattamenti antitumorali. Tuttavia, la realizzazione pratica di questa strategia richiede ulteriori ricerche per affrontare le sfide relative all'identificazione dei biomarcatori, alla progettazione di nanoparticelle e alla gestione delle risposte immunitarie (Figura 1.9) [11,12,13].

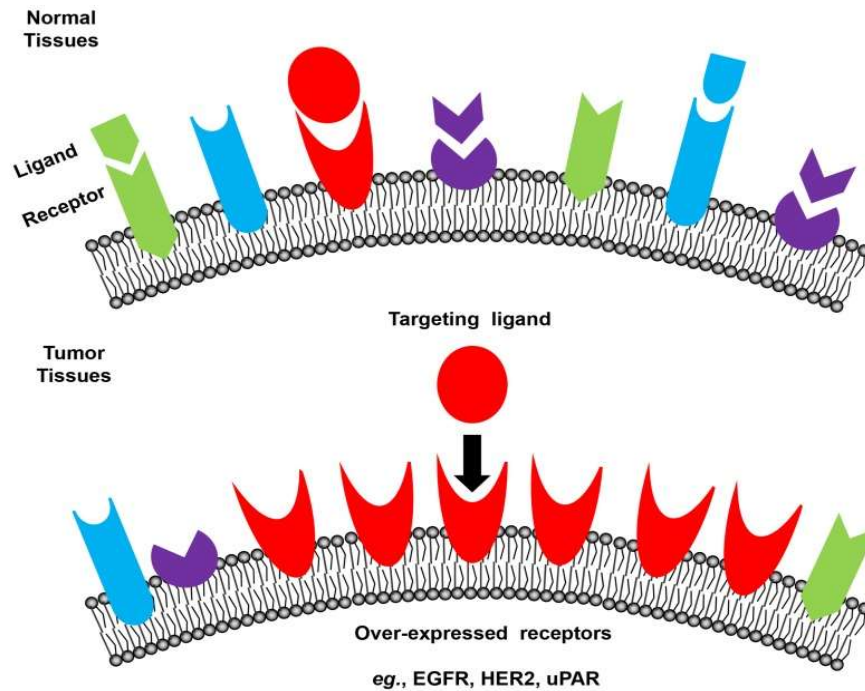


Figura 1.9: Targeting attivo.

1.5.2 Rilascio controllato di farmaci

Il rilascio controllato di farmaci mediante nanoparticelle è una tecnologia avanzata che mira a ottimizzare l'efficacia terapeutica dei trattamenti, minimizzando gli effetti collaterali. Questo approccio consente un rilascio preciso del principio attivo nel tempo e/o in risposta a specifici stimoli ambientali, garantendo che il farmaco sia disponibile nel sito d'azione desiderato nel momento più opportuno e nelle dosi ottimali. Di seguito sono riportati i meccanismi di rilascio controllato:

- **Rilascio sostenuto:** il rilascio sostenuto è progettato per mantenere la concentrazione del farmaco entro un intervallo terapeutico per un periodo prolungato, riducendo la frequenza delle dosi necessarie. Le nanoparticelle possono essere formulate per degradarsi o rilasciare il farmaco a un tasso predeterminato, garantendo una somministrazione costante del farmaco al bersaglio [13].
- **Rilascio stimolo-responsivo:** sfrutta specifici cambiamenti nel microambiente del tumore, come variazioni di pH, livelli di enzimi, ossigeno, o la presenza di campi magnetici o ultrasuoni, per innescare il rilascio del farmaco. Questo meccanismo assicura che il farmaco venga rilasciato solo quando e dove è necessario, massimizzando l'efficacia terapeutica e limitando gli effetti collaterali [14].

Minimizzando l'esposizione dei tessuti sani al farmaco, il rilascio controllato riduce il rischio di tossicità e gli effetti collaterali associati ai trattamenti convenzionali, migliorando la qualità della vita del paziente.

1.5.3 Terapie combinatorie

Le terapie combinatorie rappresentano un approccio avanzato nel trattamento del cancro, che mira a utilizzare contemporaneamente più agenti terapeutici per colpire vari aspetti della patogenesi tumorale. Questa strategia si basa sulla premessa che l'uso sinergico di diverse modalità terapeutiche può aumentare l'efficacia complessiva del trattamento, superare la resistenza ai farmaci e ridurre la probabilità di recidiva tumorale. L'impiego di nanoparticelle nel contesto delle terapie combinatorie offre nuove opportunità per la consegna mirata e controllata di più farmaci al sito del tumore. L'obiettivo principale delle terapie combinatorie è sfruttare la sinergia tra diversi agenti terapeutici. Questa sinergia può derivare dalla capacità di colpire simultaneamente più vie di segnalazione cellulare critiche per la sopravvivenza e la proliferazione delle cellule tumorali, dalla combinazione di farmaci che lavorano con meccanismi d'azione complementari, o dall'uso congiunto di trattamenti convenzionali e nuove terapie molecolari. Le nanoparticelle consentono il controllo preciso sul rapporto dei farmaci e sul controllo temporale e sulla localizzazione del rilascio. Possono essere progettate per rilasciare due o più agenti terapeutici in modo sequenziale o simultaneo, a seconda delle necessità specifiche del trattamento. Inoltre, la capacità di modificare la superficie delle nanoparticelle consente il targeting specifico delle cellule tumorali, aumentando l'efficacia e riducendo l'impatto sui tessuti sani. La co-consegna di farmaci attraverso nanoparticelle può superare le barriere biologiche con maggiore efficienza, aumentando l'accumulo di farmaci nel tessuto tumorale. L'uso combinato di farmaci può prevenire o ridurre lo sviluppo di resistenza ai farmaci da parte delle cellule tumorali, un problema comune nelle terapie con un farmaco singolo. Concentrando l'azione dei farmaci sul tumore e riducendo la dose necessaria di ciascun agente, queste terapie possono diminuire gli effetti collaterali rispetto alle terapie standard: per questo, determinare il rapporto ottimale e le dosi dei farmaci combinati è cruciale per massimizzare la sinergia e minimizzare la tossicità; questo però richiede valutazioni cliniche complesse.

Le terapie combinatorie mediante nanoparticelle rappresentano un campo di ricerca in rapida evoluzione con il potenziale per trasformare il trattamento del cancro, offrendo approcci più efficaci e personalizzati alla gestione della malattia. La continua innovazione nel design delle

nanoparticelle e nelle strategie di targeting promette di superare le attuali sfide e di realizzare il pieno potenziale delle terapie nel trattamento del cancro [15,18,19,20].

Capitolo 2 Glioblastoma multiforme

2.1 Introduzione al glioblastoma

Il glioblastoma è riconosciuto come il più aggressivo tra i tumori cerebrali primari nell'adulto, classificato come un glioma di grado IV secondo la classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). Questo tumore si distingue per la sua rapida crescita e la sua tendenza a infiltrarsi profondamente nel tessuto cerebrale circostante, rendendo estremamente difficile ottenere una resezione chirurgica completa e aumentando significativamente il rischio di recidiva. La sua grande eterogeneità contribuisce non solo alla complessità del tumore ma anche alla sua resistenza a molteplici forme di trattamento. È noto per la sua capacità di creare un microambiente tumorale altamente vascolarizzato, attraverso il processo di angiogenesi, per sostenere la sua crescita rapida. Tuttavia, nonostante la ricca vascolarizzazione, sono comuni zone necrotiche all'interno del tumore a causa della velocità con cui cresce, superiore all'apporto di nutrienti e ossigeno. I sintomi associati al glioblastoma possono variare ampiamente a seconda della localizzazione nel cervello e possono includere mal di testa, convulsioni, alterazioni nella visione, nella parola e nella funzione motoria, nonché alterazioni cognitive e di personalità. Questi sintomi riflettono l'effetto distruttivo del tumore sul tessuto cerebrale e sulle sue funzioni. Data la sua aggressività e la sfida che rappresenta per il trattamento, il glioblastoma rimane al centro di intensi sforzi di ricerca volti a comprendere meglio la sua eziologia e a sviluppare terapie più efficaci.

2.1.1 Epidemiologia e incidenza

Il glioblastoma rappresenta la forma più comune e aggressiva di tumore cerebrale primario negli adulti, costituendo circa il 15% di tutti i tumori cerebrali e quasi il 50% dei gliomi. La sua incidenza annuale è stimata in 3-4 casi ogni 100.000 persone nei paesi occidentali, con una leggera predominanza nel sesso maschile rispetto al femminile. Sebbene il glioblastoma possa manifestarsi a qualsiasi età, è più frequentemente diagnosticato in individui di età compresa tra i 45 e i 75 anni, con un picco di incidenza nei pazienti anziani. Fattori di rischio specifici per lo sviluppo del glioblastoma non sono stati definitivamente identificati, tuttavia, esistono alcune condizioni genetiche note per aumentare la suscettibilità, anche se la grande maggioranza dei casi di glioblastoma appare sporadica, senza una chiara causa genetica o ambientale identificabile. La prognosi per i pazienti affetti da glioblastoma rimane sfavorevole nonostante i progressi nei trattamenti. Il tasso di sopravvivenza medio è di circa 15 mesi con trattamento standard, che include chirurgia, radioterapia e chemioterapia. La sopravvivenza a 5 anni è

inferiore al 5%, cosa che evidenzia chiaramente la natura aggressiva e resistente ai trattamenti di questo tumore [15,16,17,19].

2.1.2 Opzioni di trattamento attuali

Le opzioni terapeutiche attuali sono multidisciplinari e mirano a prolungare la sopravvivenza dei pazienti, migliorare la qualità della vita e controllare i sintomi, pur riconoscendo le limitate possibilità di una cura definitiva. Questa sezione esplora le strategie terapeutiche convenzionali impiegate nella gestione del glioblastoma.

- **Chirurgia:** rappresenta il primo passo nel trattamento del glioblastoma; ha l'obiettivo di rimuovere la massima quantità possibile di tessuto tumorale mentre si preserva il tessuto cerebrale sano circostante. La chirurgia consente non solo di ridurre la massa tumorale ma anche di migliorare i sintomi dovuti alla pressione intracranica. Tuttavia, data l'infiltrazione del glioblastoma nel tessuto cerebrale adiacente, una resezione completa è spesso impossibile, e residui microscopici del tumore possono rimanere, portando a recidive [15,16,19].
- **Radioterapia:** segue tipicamente la chirurgia e mira a distruggere le cellule tumorali residue. Viene solitamente somministrata congiuntamente alla chemioterapia per migliorare l'efficacia del trattamento. Nonostante la sua utilità nel controllare la progressione della malattia, la radioterapia può danneggiare anche il tessuto cerebrale sano, portando a effetti collaterali come affaticamento, perdita di capelli, edema cerebrale e, a lungo termine, potenziali deficit cognitivi [15,16,19].
- **Chemioterapia:** in particolare l'uso del farmaco temozolomide (TMZ), ad assunzione orale, in combinazione con la radioterapia, costituisce uno standard di cura nel trattamento del glioblastoma. Il TMZ, grazie alla sua capacità di superare la barriera ematoencefalica, ha dimostrato di migliorare significativamente la sopravvivenza nei pazienti. Tuttavia, la sua efficacia è limitata dalla resistenza intrinseca del tumore e dagli effetti collaterali, che possono includere mielosoppressione, nausea, vomito e affaticamento [15,16,19].

Le principali limitazioni dei trattamenti attuali includono la resistenza del tumore alle terapie convenzionali, gli effetti collaterali significativi e la difficoltà di eradicarlo completamente; a questo si aggiungono anche la barriera ematoencefalica e la barriera ematoencefalica tumorale, che rappresentano un ostacolo significativo per la consegna efficace di molti agenti terapeutici.

2.1.3 Barriera ematoencefalica tumorale

Nei gliomi di grado alto, durante lo sviluppo del tumore, la normale struttura della BBB viene gradualmente disgregata, con conseguente formazione della barriera tumorale emato-encefalica (Blood-Brain Tumor Barrier, BBTB). La BBTB è caratterizzata da una formazione anomala dei vasi sanguigni e da un alterato trasporto molecolare. I cambiamenti nella BBTB sono principalmente nella struttura, nella permeabilità, nei trasportatori molecolari e nei recettori (Figura 2.1).

- **Struttura:** la BBTB è caratterizzata da una formazione anomala di vasi sanguigni e da una maggiore permeabilità a causa dei danni causati dal tumore. Le giunzioni strette (Tight Junction, TJ) sono una componente fondamentale della BBB e sono responsabili della regolazione del trasporto paracellulare delle molecole attraverso le cellule endoteliali che formano la barriera. Nella BBTB, le TJ sono disgregate, portando a un aumento della permeabilità della barriera e a un trasporto molecolare alterato attraverso la BBB [20,21].
- **Permeabilità:** la BBTB è caratterizzata da una maggiore permeabilità, consentendo alle molecole, come il fattore di crescita dell'endotelio vascolare (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF), di muoversi più liberamente tra il sangue e il cervello [20,21].
- **Trasportatori molecolari e recettori:** nella BBTB questi trasportatori e recettori sono alterati, il che può portare a un accumulo anomalo di alcune molecole nel cervello. Ad esempio, le pompe di efflusso sono un gruppo di proteine responsabili del trasporto di varie molecole e farmaci fuori dalle cellule, che svolgono un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'integrità e della funzione della BBB. Nella BBTB, la funzione delle pompe di efflusso, come la P-glicoproteina (P-gp), possono essere alterate portando a una diminuzione della penetrazione dei farmaci nel cervello ed a resistenza alla chemioterapia [20,21].

Sebbene la BBTB sia più permeabile della BBB, può comunque mostrare una certa eterogeneità nella permeabilità ai farmaci e può quindi contribuire alla crescita e alla diffusione del tumore (Figura 2.2). In questo contesto, l'emergere delle nanoparticelle come veicoli per il trasporto di farmaci offre una nuova speranza, promettendo di superare queste barriere e di aprire la strada a terapie più mirate ed efficaci.

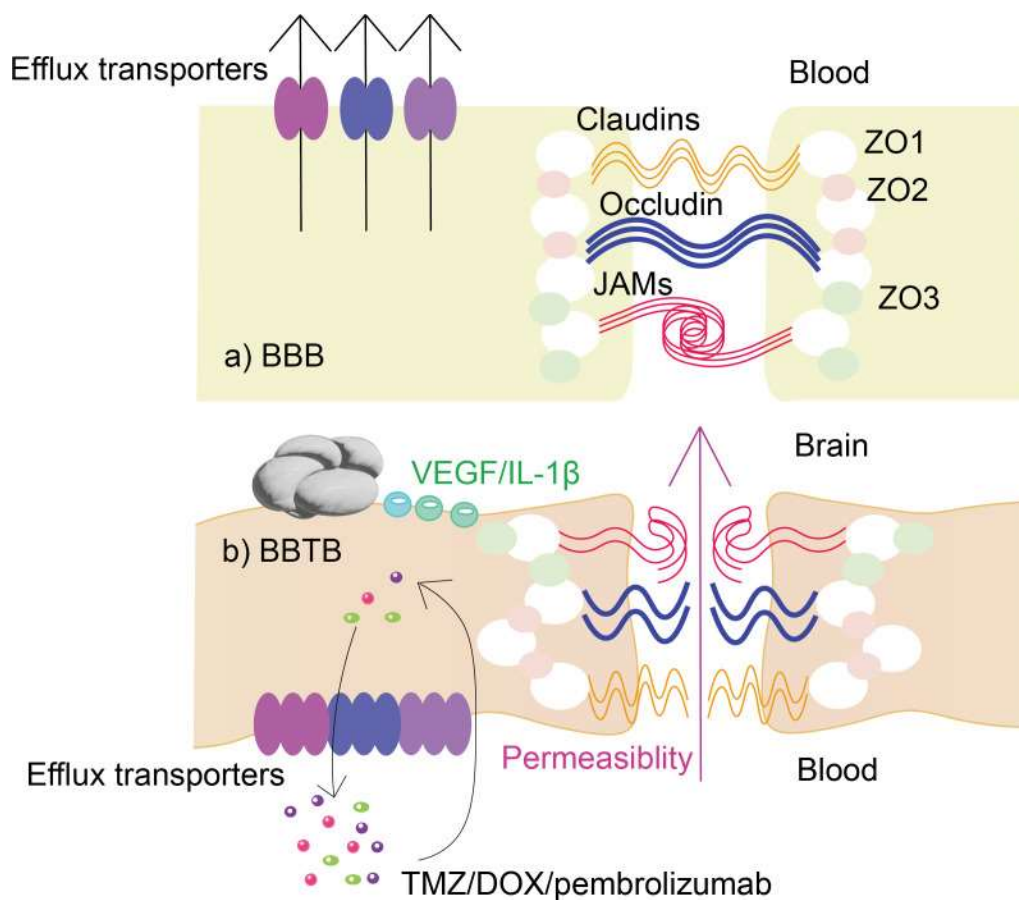


Figura 2.1: Differenze tra BBB e BTBB.

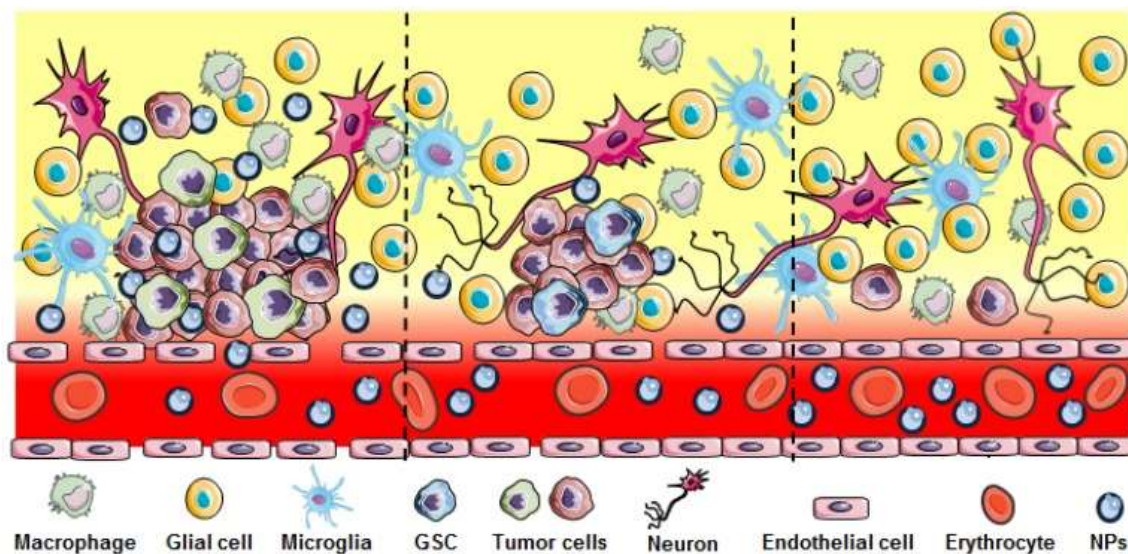


Figura 2.2: La significativa disgregazione della BBB osservata nella regione tumorale (a sinistra) consente il passaggio di nanoparticelle. Le regioni infiltrate con cellule di GBM e GSC (Glioblastoma Stem Cells) mostrano una minore o nessuna rottura della BBB (al centro e a destra), impedendo alle NP o ad altre terapie di raggiungere queste cellule.

2.2 Ruolo delle nanoparticelle nel trattamento

La ricerca ha dimostrato che vari fattori possono compromettere l'efficacia delle terapie, portando a risultati clinici deludenti. Per il GBM, la BBB sembra essere il problema principale. Negli ultimi anni, i nanomateriali hanno attirato l'attenzione in quanto hanno il potenziale per superare questo ostacolo, limitare gli effetti collaterali dei farmaci e migliorarne l'efficacia. Si stima che, a causa della BBB, il 100% delle grandi molecole e il 98% delle piccole molecole non riescano a raggiungere il cervello e quindi avere effetti terapeutici. Le nanoparticelle (NP) che incapsulano queste molecole possono essere adattate per consentire il trasporto specifico del loro carico facilitando la penetrazione attraverso la BBB, consentendo quindi ai farmaci di raggiungere tumori difficilmente raggiungibili come il GBM. A seconda dei materiali, le nanoparticelle sono in grado di essere caricate con farmaci idrofilici e idrofobici, garantire un rilascio prolungato e migliorare l'emivita del farmaco in circolo. Il miglioramento della solubilità e della stabilità dei composti e la riduzione della tossicità sistemica sono obiettivi importanti nella progettazione di tali tecnologie. Vari sistemi basati su polimeri (micelle, dendrimeri), materiali inorganici (ferro, silice, oro) e lipidi (liposomi, nanoparticelle solide lipidiche) sono stati studiati per la somministrazione di farmaci contro questo tumore. I farmaci possono essere caricati all'interno di queste particelle mediante incapsulamento, legame covalente o adsorbimento superficiale. A seconda del design del sistema, le NP raggiungono il tumore attraverso il targeting passivo o attivo per esercitare il loro effetto.

2.2.1 Targeting passivo

Il targeting passivo, come discusso nel capitolo precedente, si basa sull'effetto EPR, cioè sull'osservazione che alcune particelle di certe dimensioni tendono ad accumularsi nel tessuto tumorale molto più di quanto non facciano nei tessuti sani. Tuttavia, l'effetto EPR è altamente eterogeneo sia intra che intertumorale, e varia durante lo sviluppo del tumore. I tumori umani sono drasticamente diversi dai modelli tumorali preclinici in molti aspetti critici, tra cui l'eterogeneità o assenza di fenestrazioni nell'endotelio tumorale, presenza di aree ipossiche, copertura inferiore o eterogenea della membrana basale e alta pressione del fluido interstiziale (Interstitial Fluid Pressure, IFP) indotta da una densa matrice extracellulare. L'elevata variabilità dell'effetto EPR è considerata una delle principali sfide per la traduzione della nanomedicina nella pratica clinica. Questo problema può essere affrontato mediante l'imaging dell'effetto EPR, o sviluppando sistemi con proprietà sia diagnostiche che terapeutiche (teranostica). L'imaging dell'effetto EPR può visualizzare e quantificare in modo non invasivo

i parametri chiave che determinano l'EPR della formazione tumorale, mentre la teranostica può fornire informazioni sulla distribuzione delle NP e sulle risposte tumorali [18].

2.2.2 Targeting attivo

Quando il targeting passivo è insufficiente, il targeting attivo delle NP può facilitare il loro trasporto attraverso la BBB. Di seguito sono riportati le principali molecole per funzionalizzare la superficie delle nanoparticelle, in modo da prolungare la loro permanenza in circolo, impedire la clearance e garantire un più semplice accesso nel sito del tumore (Figura 2.3).

- **Proteine:** le nanoparticelle possono essere funzionalizzate con anticorpi che si legano specificamente a recettori espressi sulla BBB o sulle cellule tumorali, facilitando così il trasporto di farmaci direttamente al tessuto tumorale cerebrale attraverso meccanismi come l'endocitosi mediata da recettore. Il recettore del fattore di crescita epidermico (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR), il recettore del fattore di crescita endoteliale vascolare (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor, VEGFR), il recettore della transferrina e della lactoferrina sono tra i principali bersagli per la terapia mirata, essendo sovraespressi in molte cellule tumorali, inclusi i gliomi. Gli anticorpi diretti contro questi recettori hanno mostrato capacità nel bloccare le vie di segnalazione che promuovono la crescita e la diffusione del tumore, nonché nell'inibire l'angiogenesi. Tra le varie piattaforme di rilascio, anche le nanoparticelle polimeriche, le nanoparticelle lipidiche solide e di ossido di ferro sono state funzionalizzate con anticorpi per aumentare la specificità e l'efficacia della terapia contro il GBM. Sono stati condotti studi clinici e preclinici per valutare l'efficacia di questi sistemi di rilascio, mostrando risultati promettenti, come l'aumento della sopravvivenza in modelli animali di GBM e una buona tollerabilità nei pazienti [15,16,20].
- **Peptidi:** sono composti che hanno origine da substrati naturali e sintetici, che agiscono in una varietà di applicazioni biotecnologiche e terapeutiche, come antibiotici, ormoni, substrati enzimatici, inibitori enzimatici e regolatori biologici. Sono stati studiati per promuovere la somministrazione di farmaci attraverso la BBB per raggiungere le cellule dei gliomi attraverso le vie di trasporto mediate dai recettori. Alcuni vantaggi includono la loro bassa immunogenicità, il peso molecolare modificabile, i bassi costi e un processo di produzione semplice. Rispetto alle proteine o alle piccole molecole, le caratteristiche dei peptidi possono essere ottimizzate modificando la loro sequenza di amminoacidi per promuovere un aumento della loro forza di legame con recettori specifici. I principali limiti di queste molecole sono la degradazione enzimatica e

lisosomiale e, pertanto, sono necessarie alcune strategie per superare questi inconvenienti, come l'aggiunta di β -aminoacidi, che prevengono la clearance renale e la proteolisi strutturale. Possono essere classificati in due classi principali in base alle loro funzioni e caratteristiche: peptidi come agenti di targeting e che attraversano la membrana cellulare. Diversi recettori sono stati studiati come bersaglio per peptidi, tra cui l'interleuchina, la neurochinina e l'integrina [15,16,20].

- Aptameri: sono composti da brevi ligandi di oligonucleotidi di DNA e RNA in un singolo filamento. Sono stabili e di piccole dimensioni, la loro struttura è flessibile ed hanno bassa immunogenicità e tossicità con elevata affinità e specificità per legarsi ed essere assorbiti nelle cellule tumorali. L'aptamero AS1411 è stato ampiamente impiegato come ligando di targeting in sistemi polimerici, inorganici e lipidici per il trattamento del GBM. Questo aptamero è un oligodesossinucleotide specificamente riconosciuto dal recettore della nucleolina, che è sovraespresso nelle cellule tumorali e nelle cellule endoteliali dei vasi sanguigni. La sua funzione è quella di competere per il recettore della nucleolina impedendo in questo modo alle cellule tumorali di prevenire l'apoptosi. In generale, gli aptameri possono essere buone strategie per fornire il targeting attivo nel GBM a causa dell'elevata espressione di recettori specifici nelle cellule tumorali e in alcuni casi l'espressione di recettori nella BBB. È stato dimostrato che gli aptameri non sono considerati citotossici nelle cellule non tumorali. Inoltre, la funzionalizzazione di nanoparticelle con aptameri può potenziare le proprietà citotossiche e l'assorbimento cellulare dei farmaci contro il GBM [15,16,20].
- Acido folico (FA): è una vitamina del gruppo B che svolge un ruolo importante nella sintesi e nella riparazione del DNA. Questa vitamina agisce sulla sintesi delle purine e della timidina ed è considerata un nutriente essenziale sia per le cellule normali che per quelle tumorali. Il riconoscimento e l'internalizzazione dell'acido folico da parte delle cellule sono mediati dai recettori dei folati (Folate Receptor, FR), principalmente l'isoforma α di questo recettore (FR α). Poiché le cellule tumorali hanno un tasso di proliferazione incontrollato e aggressivo, l'FR α è comunemente sovraespresso sulle loro membrane per garantire l'apporto di FA per il processo di duplicazione cellulare. Si stima che FR α sia sovraespresso circa 500 volte più nelle cellule tumorali rispetto alle cellule sane, il che ne facilita l'uso come biomarcatore e bersaglio per migliorare la terapia del cancro, i gliomi in modo particolare. Inoltre, poiché il FA è una vitamina essenziale per il mantenimento dell'omeostasi del SNC, ci sono FR α anche nella BBB,

il che rende possibile il trasporto di nanoparticelle funzionalizzate con FA attraverso la BBB [15,16,20].

- Glucosio: l'elevato fabbisogno energetico per il mantenimento delle funzioni cerebrali è sostenuto principalmente dal glucosio, con un consumo medio giornaliero di 100-150 g nel cervello adulto normale. Il consumo di energia cerebrale rappresenta almeno il 20% del glucosio necessario nel corpo. A causa della elevata richiesta di energia, il glucosio viene trasportato attraverso la BBB per diffusione facilitata attraverso le proteine trasportatrici del glucosio (GLUT). Tra questi trasportatori, l'isoforma GLUT1 è altamente espressa sulla superficie della BBB e nelle cellule dei gliomi. Inoltre, questo trasportatore può anche mediare l'ingresso di sostanze con una struttura chimica simile a quella del glucosio, come mannosio, galattosio e altri carboidrati. Pertanto, il glucosio e molecole simili come ligandi di targeting attivo possono essere utilizzate per migliorare il trasporto delle nanoparticelle attraverso la BBB e raggiungere le cellule tumorali. Tuttavia, è importante notare che, sebbene la BBB abbia una sovraespressione di GLUT1 e un'elevata domanda di glucosio, anche altri organi mostrano una sovraespressione di altre isoforme dei recettori del glucosio, come il fegato e il pancreas. Inoltre, i neuroni mostrano un'elevata espressione di GLUT4, un'altra isoforma del recettore del glucosio in grado di legarsi con elevata affinità al glucosio e a molecole simili. Pertanto, la selettività delle nanoparticelle funzionalizzate con glucosio può essere considerata inferiore a quella di altri ligandi. [15,16,20].

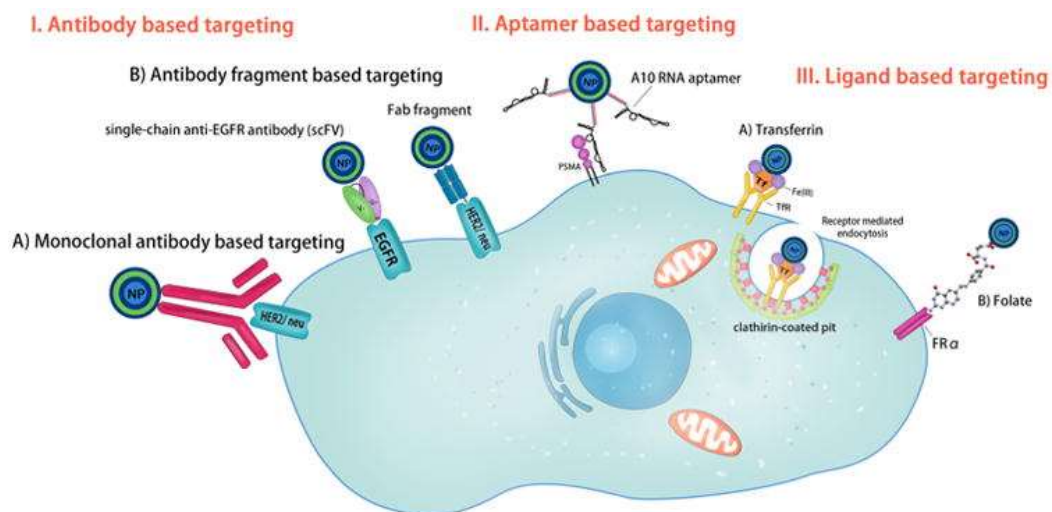


Figura 2.3: Targeting attivo sfruttando diverse funzionalizzazioni.

2.2.3 Diagnostica e teranostica

Le nanoparticelle offrono l'opportunità di incorporare funzioni di imaging che facilitano le attività diagnostiche e di monitoraggio. Una diagnosi accurata è essenziale per un adeguato trattamento del cancro. Per il GBM, l'imaging è fondamentale per la caratterizzazione e la localizzazione preliminare del tumore, la pianificazione delle strategie chirurgiche e il monitoraggio della risposta al trattamento, in quanto la diagnostica alternativa, ad esempio biopsie o chirurgia, è altamente invasiva. Le nanoparticelle possono migliorare il contrasto e la risoluzione delle modalità di imaging come la RM (Risonanza Magnetica), la PET (Tomografia a Emissione di Positroni) e la TC (Tomografia Computerizzata); ad esempio, le nanoparticelle di ossido di ferro superparamagnetico (SuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticles, SPIONs) sono state utilizzate per migliorare il contrasto nella RM, fornendo una migliore visualizzazione dei margini del tumore. Le NP possono essere progettate per rilevare specifici biomarcatori associati al GBM; i quantum dots, ad esempio, possono essere utilizzati per l'imaging in fluorescenza delle cellule di GBM, consentendo il rilevamento di tumori in stadi molto precoci o il monitoraggio della progressione del tumore. Nel contesto del GBM, le nanoparticelle offrono anche diverse possibilità teranostiche. Alcune nanoparticelle possono assorbire luce, tipicamente nel vicino infrarosso, e convertirla in calore, distruggendo le cellule cancerose attraverso ipertermia localizzata (terapia fototermica). Altre producono specie reattive dell'ossigeno quando esposte alla luce, inducendo la morte cellulare (terapia fotodinamica). Queste terapie possono essere attivate specificamente nel sito del tumore, minimizzando i danni ai tessuti sani. Inoltre, le nanoparticelle possono fornire feedback sull'efficacia di un trattamento in tempo reale; monitorando i cambiamenti nel segnale di imaging delle nanoparticelle, è possibile valutare se un tumore sta rispondendo alla terapia, consentendo strategie di trattamento più personalizzate e adattive [15,18,19,20].

2.2.4 Terapia combinata

La terapia combinata si riferisce all'uso di multiple strategie terapeutiche simultaneamente per trattare una malattia. Nel contesto del GBM, ciò significa combinare i trattamenti tradizionali con terapie basate su nanoparticelle. Attaccando il tumore con più agenti terapeutici che lavorano attraverso diversi meccanismi, la terapia combinata mira a ridurre la probabilità che le cellule tumorali sviluppino resistenza al trattamento. Alcune combinazioni di farmaci possono lavorare insieme in modo sinergico, producendo un effetto terapeutico maggiore della somma degli effetti di ogni farmaco da solo. Il GBM è altamente eterogeneo, contenendo molteplici tipi cellulari con differenti mutazioni genetiche e strategie di sopravvivenza. La

terapia combinata può essere personalizzata per bersagliare questa eterogeneità includendo agenti che affrontano vari obiettivi cellulari. Le nanoparticelle possono essere caricate con due o più farmaci che mirano a differenti aspetti della biologia del tumore. Ad esempio, un farmaco potrebbe mirare a uccidere le cellule tumorali che si dividono rapidamente, mentre un altro potrebbe inibire la crescita di nuovi vasi sanguigni di cui il tumore ha bisogno per espandersi. Questo approccio non solo aggredisce il tumore su più fronti, ma può anche aiutare a ridurre le dosi dei singoli farmaci, potenzialmente diminuendone la tossicità. Un altro approccio combinato implica l'uso di nanoparticelle per consegnare un agente per terapia genica insieme a un farmaco chemioterapico. L'agente per terapia genica potrebbe essere progettato per ripristinare la funzione di un gene soppressore del tumore, sensibilizzare le cellule tumorali al farmaco accompagnatorio o indurre risposte immunitarie contro il tumore. Le nanoparticelle possono anche essere usate per rilasciare farmaci radiosensibilizzanti al tumore, aumentando l'efficacia della radioterapia. È stato dimostrato, ad esempio, che le nanoparticelle d'oro sono in grado di aumentare l'assorbimento delle radiazioni da parte delle cellule tumorali, amplificando il danno al DNA e migliorando i risultati del trattamento. Combinare la terapia basata su nanoparticelle con l'immunoterapia rappresenta un altro approccio all'avanguardia. Le nanoparticelle possono trasportare farmaci immunomodulatori che attivano il sistema immunitario contro le cellule GBM. Ad esempio, le nanoparticelle potrebbero portare molecole che bloccano i checkpoint immunitari, meccanismi utilizzati dalle cellule tumorali per evitare il rilevamento immunitario.

Sebbene il potenziale della terapia combinata con nanoparticelle nel trattamento del GBM sia significativo, diverse sfide devono essere affrontate. Queste includono l'ottimizzazione della consegna delle nanoparticelle attraverso la BBB, garantendo la stabilità e il rilascio controllato degli agenti terapeutici, minimizzando gli effetti tossici. Inoltre, l'interazione complessa tra differenti agenti terapeutici all'interno del microambiente tumorale deve essere meglio compresa per progettare terapie combinate efficaci [15,18,19,20].

Conclusioni

In questa tesi di laurea è stato esplorato il ruolo innovativo delle nanoparticelle nel trasporto di farmaci per il trattamento del cancro, con un focus sul glioblastoma. Attraverso l'analisi dei progressi scientifici e tecnologici in questo campo, sono state delineate sia le immense potenzialità sia le sfide significative associate all'uso delle nanoparticelle nella medicina oncologica.

Il primo capitolo ha introdotto le nanoparticelle, evidenziando le loro caratteristiche, problematiche, le differenze tra le tipologie e la loro applicabilità nel rilascio mirato di farmaci, superamento della barriera ematoencefalica, e nella realizzazione di terapie contro il cancro. Si è visto come le nanoparticelle possano offrire soluzioni innovative per superare le limitazioni dei trattamenti convenzionali, migliorando l'efficacia terapeutica e riducendo gli effetti collaterali.

Nel secondo capitolo, il focus si è spostato sul glioblastoma: sono state esaminate le attuali opzioni di trattamento e le loro limitazioni. È stato discusso il potenziale delle nanoparticelle nel superare questi limiti, con particolare attenzione al targeting preciso del tumore, alla diagnosi e teranostica e alle terapie combinate.

Guardando al futuro, l'orizzonte del trattamento del glioblastoma attraverso la tecnologia delle nanoparticelle offre molteplici potenzialità. Le innovazioni nella progettazione delle nanoparticelle prospettano di produrre sistemi di somministrazione di farmaci più sofisticati, capaci di terapie mirate, consegna simultanea di diversi farmaci e monitoraggio in tempo reale dell'efficacia del trattamento.

Questi progressi promettono non solo di estendere la sopravvivenza dei pazienti affetti da glioblastoma ma anche di migliorare significativamente la loro qualità di vita durante il trattamento.

In conclusione, questa tesi evidenzia un momento importante nella ricerca sulle terapie contro il cancro. Le nanoparticelle si trovano sul punto di modificare significativamente il panorama terapeutico per uno dei tumori più aggressivi, il glioblastoma, offrendo un esempio per estendere l'utilizzo di queste tecnologie avanzate per affrontare altre malattie. La strada da percorrere è ancora lunga e complessa, ma il potenziale per un impatto significativo sul trattamento del glioblastoma è immenso. L'esplorazione e l'innovazione continue nella tecnologia delle nanoparticelle rappresentano una speranza per pazienti e ricercatori, e pongono le fondamenta per un futuro in cui anche il glioblastoma possa essere efficacemente trattato e, si spera, sconfitto.

Bibliografia

- [1] Ana Rita Costa-Pinto, Ana Leite Oliveira, Controlled Drug Delivery Systems: Current Status and Future Directions, *Molecules*, 2021;26(19):5905.
- [2] Michael J. Mitchell, Margaret M. Billingsley, Rebecca M. Haley, Marissa E. Wechsler, Nicholas A. Peppas, Robert Langer, Engineering precision nanoparticles for drug delivery, *Nat Rev Drug Discov*, 2021;20(2):101-124
- [3] Agnieszka Z Wilczewska, Katarzyna Niemirowicz, Karolina H Markiewicz, Halina Car, Nanoparticles as drug delivery systems, *Pharmacol Rep*, 2012;64(5):1020-37
- [4] Andreas M Grabrucker, Barbara Ruozi, Daniela Belletti, Francesca Pederzoli, Flavio Forni, Maria Angela Vandelli, and Giovanni Tosi, Nanoparticle transport across the blood brain barrier, *Tissue Barriers*, 2016;4(1):e1153568
- [5] Ksenia Mitusova, Oleksii O. Peltek, Timofey E. Karpov, Albert R. Muslimov, Mikhail V. Zyuzin, Alexander S. Timin, Overcoming the blood–brain barrier for the therapy of malignant brain tumor: current status and prospects of drug delivery approaches, *Journal of Nanobiotechnology*, 2022;20(1):412
- [6] Rúben G. R. Pinheiro, Ana Joyce Coutinho, Marina Pinheiro, and Ana Rute Neves, Nanoparticles for Targeted Brain Drug Delivery: What Do We Know?, *Int J Mol Sci*, 2021; 22(21):11654
- [7] Jinbing Xie, Zheyu Shen, Yasutaka Anraku, Kazunori Kataoka, Xiaoyuan Chen, Nanomaterial-based blood-brain-barrier (BBB) crossing strategies, *Biomaterials*, 2019;224:119491
- [8] David S. Hersh, Aniket S. Wadajkar, Nathan Roberts, Jimena G. Perez, Nina P. Connolly, Victor Frenkel, Jeffrey A. Winkles, Graeme F. Woodworth, Anthony J. Kim, Evolving Drug Delivery Strategies to Overcome the Blood Brain Barrier, *Curr Pharm Des*, 2016; 22(9):1177–1193
- [9] Anas Ahmad, Mohammad Imran, Nisha Sharma, Precision Nanotoxicology in Drug Development: Current Trends and Challenges in Safety and Toxicity Implications of Customized Multifunctional Nanocarriers for Drug-Delivery Applications, *Pharmaceutics*, 2022;14(11): 2463
- [10] Wim H De Jong, Paul JA Borm, Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards, *Int J Nanomedicine*, 2008;3(2):133–149

- [11] Rui Li, Ke Zheng, Cai Yuan, Zhuo Chen, Mingdong Huang Be Active or Not: the Relative Contribution of Active and Passive Tumor Targeting of Nanomaterials, *Nanotheranostics*, 2017;1(4):346–357
- [12] Remon Bazak, Mohamad Hourri, Samar El Achy, Serag Kamel, and Tamer Refaat, Cancer active targeting by nanoparticles: a comprehensive review of literature, *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015;141(5):769–784.
- [13] Dongyan Wei, Ni Zhang, Shuang Qu, Hao Wang, Jin Li, Advances in nanotechnology for the treatment of GBM, *Front Neurosci*, 2023;17:1180943
- [14] Lei Li, Junqing Wang, Hangru Kong, Yun Zeng, Gang Liu Functional biomimetic nanoparticles for drug delivery and theranostic applications in cancer treatment, *Sci Technol Adv Mater*, 2018;19(1):771–790
- [15] Xin Yuan Lim, Sharah Mae Capinpin, Nagarjun Boleem, Aaron Song Chuan Foo, Wai-Cheong George Yip, Alan Prem Kumar, Daniel Boon Loong Teh, Biomimetic nanotherapeutics for targeted drug delivery to glioblastoma multiforme, *Bioeng Transl Med*, 2023;8(3):e10483
- [16] Marcela Tavares Luiz, Leonardo Delello Di Filippo, Larissa Bueno Tofani, Jennifer Thayanne Cavalcante de Araújo, Jessyca Aparecida Paes Dutra, Juliana Maldonado Marchetti, Marlus Chorilli, Highlights in targeted nanoparticles as a delivery strategy for glioma treatment, *Int J Pharm*, 2021:604:120758
- [17] Vishwanath Kurawattimath, Barnabas Wilson, Kannoth Mukundan Geetha, Nanoparticle-based drug delivery across the blood-brain barrier for treating malignant brain glioma, *OpenNano*, 2023;10:100128
- [18] Mengnan Zhao, Demian van Straten, Marike L.D. Broekman, Véronique Préat, Raymond M. Schiffelers, Nanocarrier-based drug combination therapy for glioblastoma, *Theranostics*, 2020;10(3):1355–1372
- [19] Xiangjin Zheng, Qin Tang, Liwen Ren, Jinyi Liu, Wan Li, Weiqi Fu, Jinhua Wang, Guanhua Du, A narrative review of research progress on drug therapies for glioblastoma multiforme, *Ann Transl Med*, 2021;9(11):943
- [20] William H. Pentz, Vincenzo J. Pizzuti, Matthew E. Halbert, Tritan J. Plute, Paul R. Lockman, Samuel A. Sprowls, An Overview of Nanotherapeutic Drug Delivery Options for the Management of Glioblastoma, *Journal of Nanotheranostics*, 2023;4(3):323-345
- [21] Yongyan Wu, Yufeng Qian, Wei Peng, Xuchen Qicorresponding, Functionalized nanoparticles crossing the brain–blood barrier to target glioma cells, *PeerJ*, 2023;11:e15571