

CNR Short Term Mobility Fellowship 2010-Prot. N0054100 del
16/07/2010

Fruitore: Dr. Mario Ledda

Periodo: 28/10/2010-19/11/2010

RELAZIONE SCIENTIFICA ATTIVITA' SVOLTA

Titolo del programma svolto: Veicolazione specifica di farmaci ad attività antiblastica con eritro-magneto-virosomi.

Recentemente il gruppo del Dr. Settimio Grimaldi, di cui faccio parte, ha iniziato una collaborazione scientifica con il gruppo del Dr Pier Paolo Claudio della Marshall University.

Il nostro obiettivo è quello di sviluppare un innovativo metodo di veicolazione specifica di farmaci ad attività antiblastica. Questo metodo è basato su eritro-magneto-virosomi in grado di veicolare farmaci contro neoplasie umane, limitando gli effetti collaterali dovuti alla tossicità del farmaco e proteggendo questo dall'ambiente circostante.

I nostri due gruppi di ricerca hanno un'estesa esperienza nello studio di vari modelli di tumore nell'animale e nei sistemi di veicolazione dei farmaci. La veicolazione specifica dei farmaci è particolarmente interessante in quei casi in cui gli agenti terapeutici sono difficili da sintetizzare, hanno una breve emivita, hanno una bassa capacità di penetrare nel tessuto o sono rapidamente inattivati dopo la loro somministrazione.

Gli eritrociti possiedono delle proprietà che li rendono un buon sistema di veicolazione per diverse classi di molecole, quali proteine, nucleotidi, glucocorticoidi e quindi anche agenti terapeutici. L'utilizzo degli eritrociti come veicoli diminuisce il rischio di effetti collaterali e di risposte immunitarie che si hanno normalmente contro altri tipi di trasportatori.

Recentemente il nostro gruppo ha sviluppato un sistema di veicolazione basato su eritrociti ingegnerizzati in modo tale da contenere particelle superparamagnetiche che presentano sulla loro superficie la

glicoproteina emagglutinina del virus dell'influenza. La presenza della emagglutinina conferisce agli eritrociti capacità di binding e fusione una volta raggiunto il sito di interesse, le nanoparticelle magnetiche hanno lo scopo di veicolare specificamente gli eritrociti contenenti il farmaco al sito di interesse grazie alla applicazione di un campo magnetico statico esterno. Grazie a queste caratteristiche, noi proponiamo di testare l'attività antiblastica della 5-Aza-2-dC, noto come farmaco antitumorale, usando una veicolazione magneto indotta degli eritro-magneto-virosomi su topi a cui è stato indotto un tumore sperimentale (prostata, polmone)

Questo nuovo approccio permetterà di veicolare il farmaco antiblastico in maniere efficiente e specifica nel sito di interesse.

Il raggiungimento degli obiettivi del nostro progetto permetterà di ottenere un sistema innovativo di veicolazione di farmaci che potrà essere utilizzato in terapie contro patologie tumorali diminuendo gli effetti collaterali dei farmaci antitumorali e contemporaneamente aumentandone l'efficacia

Attività svolta durante la STM e risultati ottenuti

Nel corso della mia permanenza presso il laboratorio del Dr. Pier Paolo Claudio della Marshall University mi sono occupato della preparazione ed analisi di eritro-magneto-virosomi.

Preparazione degli eritro-magneto-virosomi.

Eritrociti umani sono stati ottenuti da sangue di donatori sani, una volta lisate, le cellule sono state deprivate dell'emoglobina e l'eritrocita è stato messo in condizione di richiudersi includendo nel suo interno: il farmaco (5-Aza-2-dC), le nano-particelle superparamagnetiche (marcate con una sonda fluorescente nel verde) e la glicoproteina emagglutinina del virus dell' influenza. La quantità di 5-Aza-2-dC sequestrata nel globulo rosso è stata determinata grazie a HLPC- mass spectrometry.

Analisi degli eritro-magneto-virosomi.

Una volta ottenuti, gli eritro-magneto-virosomi sono stati incubati con cellule tumorali di prostata in modo da stabilire la loro capacità di penetrare nella cellula tumorale. In particolare abbiamo piastrato cellule DU-145 (cellule tumorali di prostata) su vetrini per immunofluorescenza alla densità di 1×10^6 cells/3ml, dopo 24h, il terreno di coltura è stato cambiato aggiungendo nuovo terreno in presenza degli eritro-magneto-virosomi contenenti la 5-Aza-2-dC. Dopo 1 ora e 12 ore di incubazione le cellule sono state fissate per l'analisi al microscopio confocale. In figura 1A sono mostrati gli eritro-magneto-virosomi che essendo marcati con una sonda fluorescente presentano una colorazione verde se analizzate al microscopio confocale, in figura 1B le cellule di controllo dove non sono stati aggiunti gli eritro-magneto-virosomi presentano la marcatura solo dei nuclei in blu, in figura 1C e 1D è mostrata la presenza degli eritro-magneto-virosomi all'interno citoplasma delle cellule DU-145, dopo 1 ora (1C) e dopo 12 ore (1D) di incubazione. La presenza della fluorescenza in verde intorno ai nuclei, marcati in blu, dimostra la capacità degli eritro-magneto-virosomi di penetrare nella cellula.

Questo lavoro proseguirà con l'inoculo degli eritro-magneto-virosomi in topi nudi a cui è sono state perfuse cellule tumorali di prostata, verrà così esaminata la capacità degli eritro-magneto-virosomi di raggiungere il tumore mediante l'utilizzo di un campo magnetico statico esterno.

cellule DU-145, dopo 1 ora (1C) e dopo 12 ore (1D) di incubazione. La presenza della fluorescenza in verde intorno ai nuclei, marcati in blu, dimostra la capacità degli eritro-magneto-virosomi di penetrare nella cellula.

Questo lavoro proseguirà con l'inoculo degli eritro-magneto-virosomi in topi nudi a cui è sono state perfuse cellule tumorali di prostata, verrà così esaminata la capacità degli eritro-magneto-virosomi di raggiungere il tumore mediante l'utilizzo di un campo magnetico statico esterno.

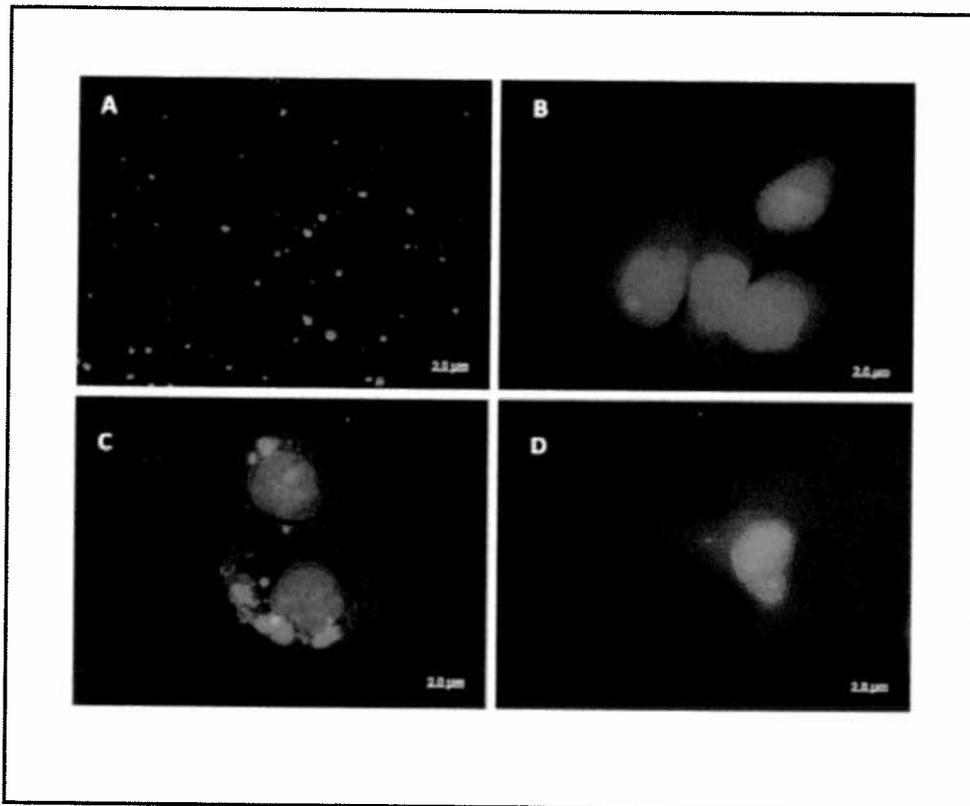
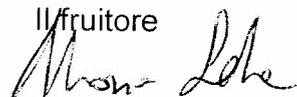


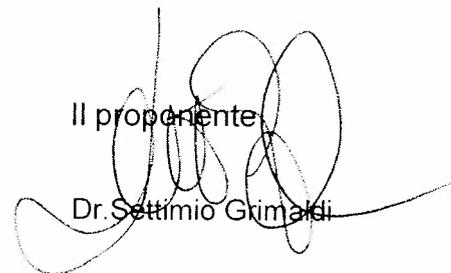
Fig.1

Data 06/12/2010

Il fruitore


Dr. Mario Ledda

Il proponente


Dr. Settimio Grimaldi