
Piattaforme *organ-on-chip* e Nuove prospettive per la ricerca medica e farmacologica

Anna Grazia Monteduro, Silvia Rizzato, Giusi Caragnano

Andrea Margari, Noemi Petese, Giuseppe Maruccio

*Omnic Research Group, Dipartimento di Matematica e Fisica (Università del Salento),
CNR-Istituto di Nanotecnologia, INFN Sezione di Lecce*

Lo sviluppo di nuovi farmaci è un processo lungo, costoso ed attualmente poco efficiente. La causa di questa scarsa efficienza risiede, principalmente, nella scarsa efficienza ed accuratezza delle attuali metodologie di ricerca preclinica, basate su colture cellulari bidimensionali e modelli animali che non sono sufficientemente predittive degli effetti sull'uomo. Oggi lo sviluppo di piattaforme microfisiologiche *organ-on-chip* fornisce un nuovo approccio, più efficace, per la ricerca farmacologica e biomedica al fine di migliorare la comprensione dei meccanismi fisiopatologici coinvolti e di sviluppare nuove terapie più efficaci ed eventualmente personalizzate. Queste piattaforme miniaturizzate consentono di investigare sia aspetti collegati alla somministrazione e rilascio dei farmaci che la presenza di effet-

ti di tossicità anche collegati al loro metabolismo. Per tali motivi il settore ha raccolto notevole interesse.

1. Introduzione

La società moderna si trova oggi a fronteggiare diverse sfide rilevanti per il futuro dell'umanità, avendone per la prima volta i mezzi ma anche (in diversi casi) la responsabilità. Lotta contro disuguaglianze e povertà, cambiamenti demografici e migrazioni, cambiamenti climatici ed economia circolare, nuove fonti energetiche rinnovabili e pulite, biodiversità, agricoltura sostenibile e sicurezza alimentare, salute umana e benessere sono temi caldi nell'agenda mondiale che trovano una forte sensibilità nell'opinione pubblica. Le nuove conoscenze e tecnologie oggi disponibili ci permettono di affrontare questi temi con l'obiettivo concreto di porre le basi per un futuro migliore. In tale contesto, desta particolare attenzione il miglioramento delle aspettative e

Principali cause di mortalità al mondo

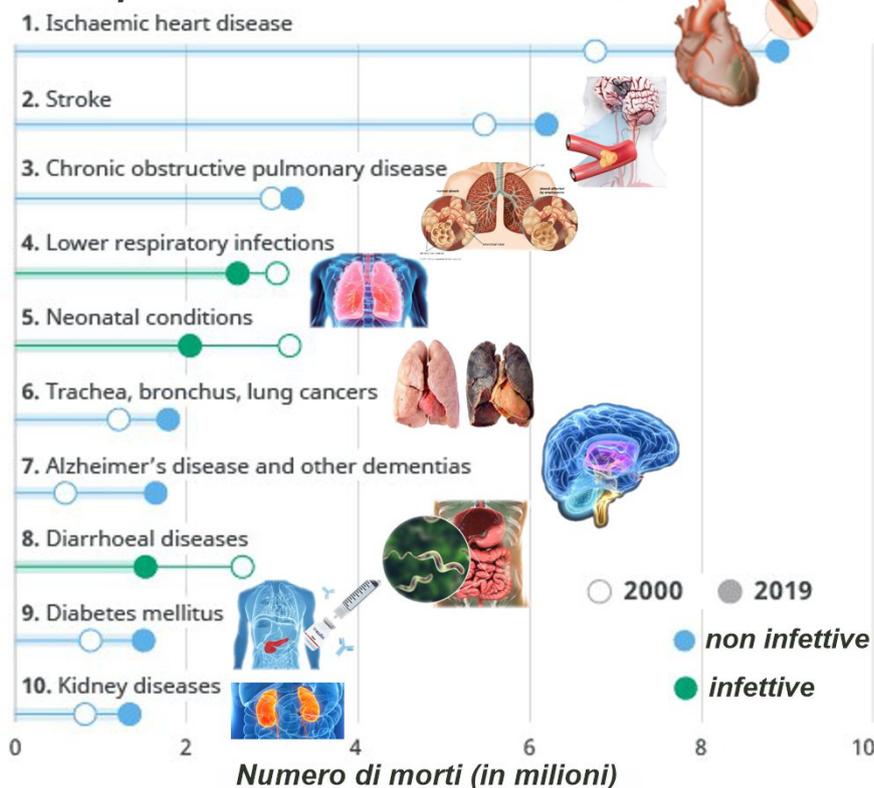


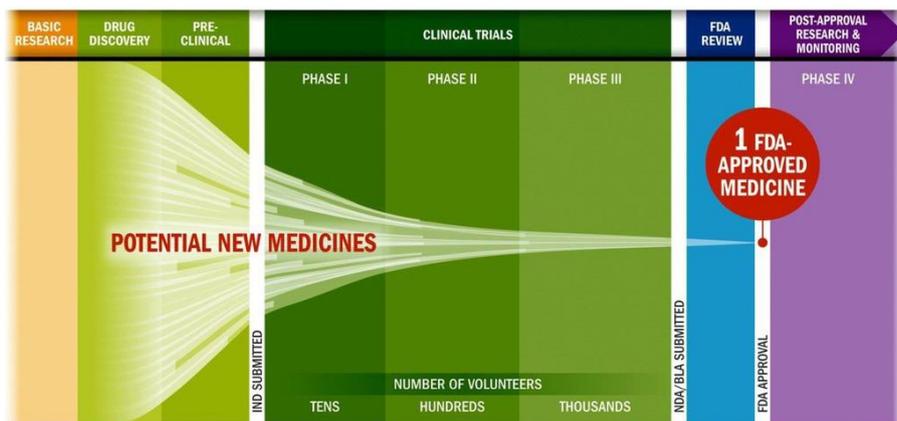
Figura 1: Principali cause di morte a livello mondiale negli anni 2000 (pallini vuoti) e 2019 (pallini pieni). Fonte: Organizzazione mondiale della sanità. I primi posti sono occupati da malattie cardiovascolari, malattie delle vie respiratorie, cancro, malattie neurodegenerative e diabete oltre a problematiche più tipiche dei paesi in via di sviluppo quali condizioni neonatali e malattie diarroiche. Adattata da [1].

della qualità di vita. Un aspetto oggi portato ancor più alla ribalta dall'emergenza pandemica che ha messo in ginocchio l'odierna società globale e cambiato gli stili di vita, aggiungendosi alle emergenze sanitarie già presenti. In Fig.1, sono riportate le principali cause di morte al mondo negli anni 2009 e 2019, fonte Organizzazione mondiale della sanità [1]. Si può notare come ai primi posti vi siano malattie cardiovascolari, malattie respiratorie, cancro, malattie neurodegenerative e diabete, oltre a voci maggiormente legate ai paesi in via di sviluppo come condizioni neonatali e malattie diarroiche. Dalla sua comparsa, i decessi per infezioni da Covid-19 hanno rapidamente scalato questa triste classifica posizionandosi nei primi posti in molti paesi. Per contrastare queste patologie, si può oggi contare su strumenti diagnostici e di analisi innovativi al fine di consentire una diagnosi precoce o arginare la diffusione nel caso di malattie infettive. Migliori strumenti diagnostici permettono anche di conseguire una stratificazione ed una gestione terapeutica del paziente basata sull'evidenza, anche nel caso di malattie multiformi ed eterogenee, aprendo la strada a terapie personalizzate ed una medicina di precisione. Inoltre epidemiologia e biostatistica consentono di sviluppare modelli di

diffusione e comprensione con un grado di accuratezza senza precedenti. Naturalmente una migliore comprensione dei processi patologici coinvolti è cruciale, così come lo sviluppo di nuovi farmaci appropriati per un trattamento efficace della malattia con limitati effetti collaterali e impatto sulle condizioni di vita. In un precedente numero su Ithaca abbiamo analizzato come le nanotecnologie possano essere impiegate per lo sviluppo di nuovi strumenti diagnostici e nuove metodologie per un rilascio intelligente del farmaco (*intelligent drug delivery*) mediante nanovettori [2]. In questo articolo, ci soffermeremo invece sullo sviluppo di piattaforme microfisiologiche per lo studio dei processi fisiopatologici e per test preclinici più accurati di potenziali nuovi farmaci, con particolare riferimento alle barriere biologiche.

2. Il (lungo) percorso di un nuovo farmaco

Lo sviluppo di un nuovo farmaco è un percorso lungo, costituito da tappe ben regolamentate ma comprensivo di non pochi ostacoli (Fig.2). Il processo parte con una fase di ricerca di ba-



Key: IND: Investigational New Drug Application, NDA: New Drug Application, BLA: Biologics License Application
 Source: PhRMA adaptation based on Tufts Center for the Study of Drug Development (CSDD) Briefing: "Cost of Developing a New Drug," Nov. 2014, Tufts CSDD & School of Medicine, and US FDA Infographic, "Drug Approval Process," <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/UCM284393.pdf> (accessed Jan. 20, 2015).

Figura 2: Il lungo percorso di un nuovo farmaco. Dopo una fase iniziale di ricerca di base, drug discovery e test preclinici, si procede ad un'ulteriore scrematura nella fase clinica che coinvolge un numero via via crescente di volontari. Il costo medio di ricerca e sviluppo per avere un nuovo farmaco approvato è stato stimato in alcuni miliardi di dollari. Adattata da [3].

se volta alla scoperta/individuazione di potenziali candidati all'interno di vaste librerie e si sviluppa, quindi, attraverso una fase preclinica che già comporta una significativa riduzione dei potenziali candidati che passano da varie migliaia a poche centinaia in un arco di tempo che tipicamente si estende tra i 3 ed i 6 anni. Solo a questo punto può iniziare la sperimentazione clinica che comporta in genere ulteriori 6-7 anni ed un numero crescente di pazienti coinvolti, dell'ordine delle decine nella fase 1 per poi crescere fino alle centinaia e migliaia nelle fasi 2 e 3 rispettivamente. Se sopravvive a questo processo mostrando efficacia senza evidenziare pericolosi effetti collaterali, il composto candidato può essere approvato dalle agenzie regolatorie (quali la Food and Drug Administration (FDA) negli Stati Uniti e la European Medicines Administration (EMA) nell'Unione Europea). Nella fase di utilizzo continuano comunque monitoraggio e ricerca per valutare ulteriormente gli effetti della somministrazione. L'intero processo è quindi ben definito ed attentamente disciplinato, ma anche piuttosto inefficiente e costoso. Infatti, introdurre un nuovo farmaco richiede tipicamente diversi anni di ricerca e centinaia di milioni di dollari/euro, con il coinvolgimento di personale specializzato e una procedura di validazione caratterizzata da fasi cliniche strettamente regolamentate e ad alto rischio a fronte di investimenti così ingenti. La percentuale di successo dei nuovi composti è di appena il 5% con conseguente significativa perdita di risorse ogni anno. Il principale limite risiede nel fatto che la ricerca farmacologica si basa oggi sull'uso di convenzionali colture cellulari bidimensionali

(2D) *in vitro* e su sperimentazioni animali che non sono in grado di prevedere adeguatamente l'efficacia clinica, la tossicità e gli effetti collaterali delle terapie nell'uomo poiché sono inadeguate a riprodurre la fisiologia umana (Fig.3).

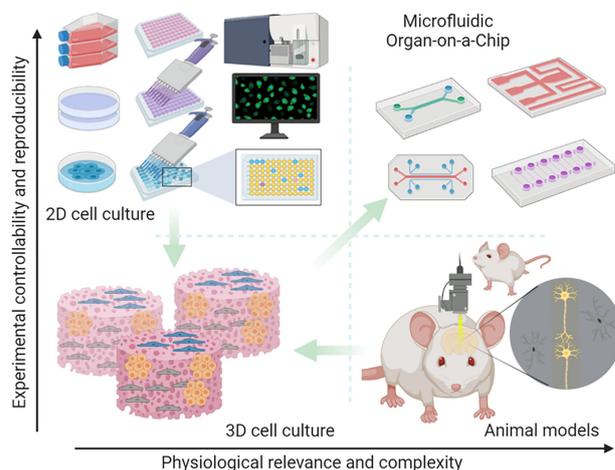


Figura 3: Confronto tra le metodologie attuali e le piattaforme organ-on-chip in termini di controllabilità/riproducibilità sperimentale e rilevanza/complessità fisiologica. Adattata da [4].

Per queste ragioni, lo sviluppo di dispositivi microfisiologici *organ-on-chip* e multiorgano ha recentemente attirato una notevole attenzione poiché può fornire piattaforme alternative e più accurate per lo sviluppo di nuove terapie. L'interesse è motivato dal loro potenziale utilizzo per *screening* ad alto rendimento e ad alto contenuto grazie alla loro capacità di possedere le caratteristiche intrinseche ed estrinseche di un organo/tessuto e del suo microambiente. Questo rappresenta un cambiamento di paradigma e notevoli sono le opportunità fornite da tali modelli

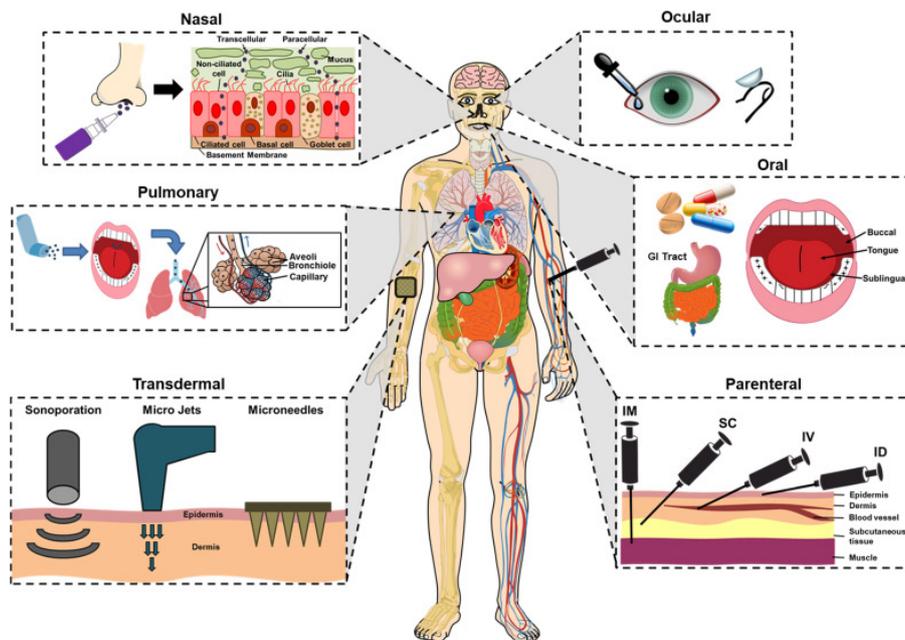


Figura 4: Principali vie di somministrazione farmacologica, in particolare possiamo distinguere strategie che prevedono il passaggio attraverso il flusso sanguigno, l'apparato digerente o le vie respiratorie. Riprodotta da [7].

di malattia più appropriati che stanno diventando sempre più accettati dalle aziende farmaceutiche come nuovi strumenti in grado di accelerare il processo di sviluppo dei farmaci verso standard più precisi ed eventualmente personalizzati [5]. Inoltre, la disponibilità di tali modelli consente di investigare in maniera controllata i processi fisiopatologici, per raggiungere una maggiore comprensione della malattia e delle possibili strategie di intervento. Per tali motivi, la ricerca nel settore è cresciuta enormemente in tutto il mondo [6].

3. Modelli di barriere biologiche per testare le vie di somministrazione dei farmaci

Una questione cruciale per migliorare l'efficacia terapeutica riguarda l'individuazione di percorsi adeguati per la somministrazione dei farmaci nei pazienti, ad es. per inalazione, somministrazione orale o endovenosa (Fig.4). In tale ambito, le barriere emato-encefaliche ed altre barriere biologiche giocano un ruolo estremamente rilevante. Le piattaforme *organ-on-chip* possono fornire un utile supporto in questa direzione, poiché consentono di simulare le barriere biologiche e di testare solubilità, permeabilità, rilascio mirato e tossicità di un potenziale nuovo farmaco.

3.1 Piattaforme intestino su chip e metabolismo su chip per testare la somministrazione orale

La somministrazione orale di farmaci è la più impiegata, ma presenta comunque criticità da affrontare. Le sfide chiave in questo caso sono rappresentate dalla solubilità e permeabilità gastro-intestinale e dalla valutazione dei potenziali effetti collaterali sugli organi coinvolti da passaggio e metabolizzazione dei farmaci (Fig.5). L'intestino svolge un ruolo fondamentale di mediazione nell'assorbimento di nutrienti, acqua e farmaci e rappresenta una barriera rilevante da riprodurre *on-chip*. Questo approccio consente anche di studiare in modo controllato l'interazione dei farmaci con la complessa flora di microrganismi che costituiscono il microbiota intestinale, rivestendo un ruolo importante per le funzioni fisiologiche, metaboliche e immunologiche [8, 9, 10, 11]. Studi recenti hanno mostrato come sia possibile riprodurre su *chip* sia modelli bidimensionali (2D) che tridimensionali (3D) della barriera intestinale mediante colture cellulari 2D o riproducendo microstrutture 3D per ottenere un maggiore realismo. Ad esempio, inducendo il differenziamento di un monostrato di cellule epiteliali utilizzando stimoli meccanici esterni, è stata riprodotta una morfologia 3D increspata della parete intestinale imitando la presenza di microvilli.

Con tali piattaforme è stato così possibile stu-

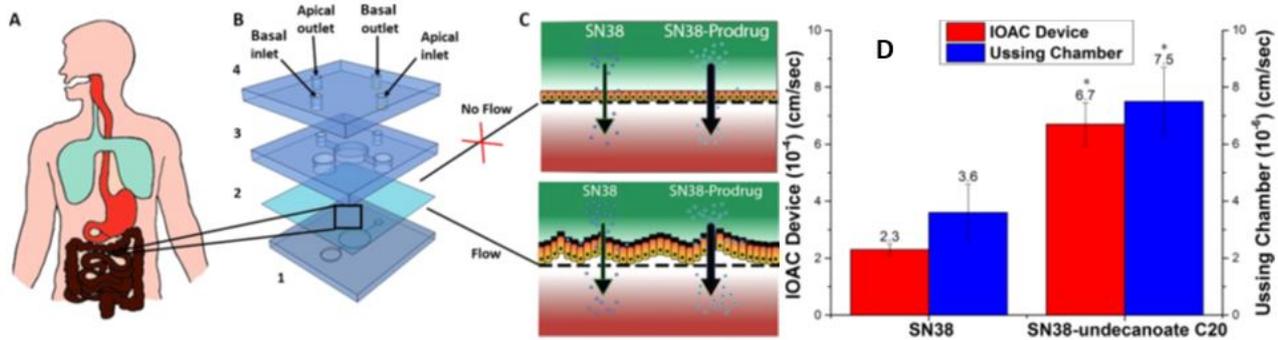


Figura 5: (A-B) Struttura di una piattaforma intestino su chip con camere apicali e basali separate da una membrana. (C) Schema del saggio di permeabilità eseguito per l'agente chemioterapico SN38 attraverso monostrati di cellule Caco-2. (D) Confronto tra i risultati della piattaforma Organ on Chip e della membrana mucosa intestinale di ratto montata in una camera Ussing. Riprodotta da [12].

diare l'assorbimento orale di agenti chemioterapici mediante modelli intestinali su *chip* [12] che migliorano l'approccio convenzionale di coltura di cellule epiteliali umane (Caco-2) su piastre multipozzetto (*transwell*) mimando la funzione di barriera biologica. In un recente studio, tali modelli di barriera sono stati adoperati per studiare la permeabilità ad un agente chemioterapico (SN-38) avente struttura modificata con esteri di acidi grassi di diverse lunghezze e in diverse posizioni, dimostrando la possibilità di conseguire un miglioramento nella biodisponibilità del farmaco assunto per via orale. I modelli di barriera intestinale su *chip* si prestano anche allo studio/ sviluppo di nuove nanoformulazioni, consentendone il test su un modello molto più vicino al caso reale. Inoltre, le tecnologie *organ-on-chip* possono fornire validi strumenti per emulare e studiare con maggiore efficacia disturbi intestinali, tra cui l'infiammazione intestinale, l'interazione ospite-microbiota, le interazioni con fattori ambientali in cui lo squilibrio tra citochine pro-infiammatorie e antinfiammatorie e le alterazioni della composizione e la funzione del microbiota intestinale giocano un ruolo fondamentale [13]. Di conseguenza, ci si aspetta che in futuro piattaforme *organ-on-chip* ingegnerizzate del tratto gastrointestinale assumano un ruolo sempre più rilevante. Potranno infatti fornire informazioni preziose su disfunzioni intestinali e fisiopatologia, sui tratti coinvolti e sulla loro relazione con malattie intestinali gravi e croniche con eziologia complessa, consentendo di analizzare in condizioni controllate l'evoluzione dalla fase iniziale alla piena manifestazione e all'eventuale

peggioramento. Inoltre, consentendo lo sviluppo di modelli della malattia molto simili a quelli reali umani, consentiranno il superamento del *test* sui modelli animali che spesso falliscono quando traslati nel caso umano a causa delle differenze nella composizione del microbiota e nel sistema immunitario. Oltre all'intestino, anche i modelli su *chip* di fegato, rene e pancreas sono rilevanti e sono studiati per la somministrazione orale di farmaci, così da valutare il ruolo del metabolismo o gli effetti indesiderati sull'organo così come le interazioni multi-organo. Un'ulteriore e recente tendenza in tale settore di ricerca riguarda l'integrazione di sensori miniaturizzati nella piattaforma Organ on Chip al fine di consentire un monitoraggio *in situ* ed in tempo reale di indicatori funzionali e risposte biologiche, inclusa l'integrità della barriera, la concentrazione di ossigeno e la risposta all'infiammazione.

3.2 Barriere tessuto-sistema circolatorio e modelli di vascolarizzazione per testare la somministrazione endovenosa

Numerosi agenti terapeutici vengono somministrati per via endovenosa anziché per via orale al fine di superare gli ostacoli legati alla bassa permeabilità gastrointestinale [12]. Tuttavia, anche nel caso di somministrazione endovenosa, le barriere ematiche degli organi possono limitare i farmaci nel raggiungimento del loro target. Per questi motivi, molti studi si sono focalizzati sulla riproduzione microfluidica *in vitro*

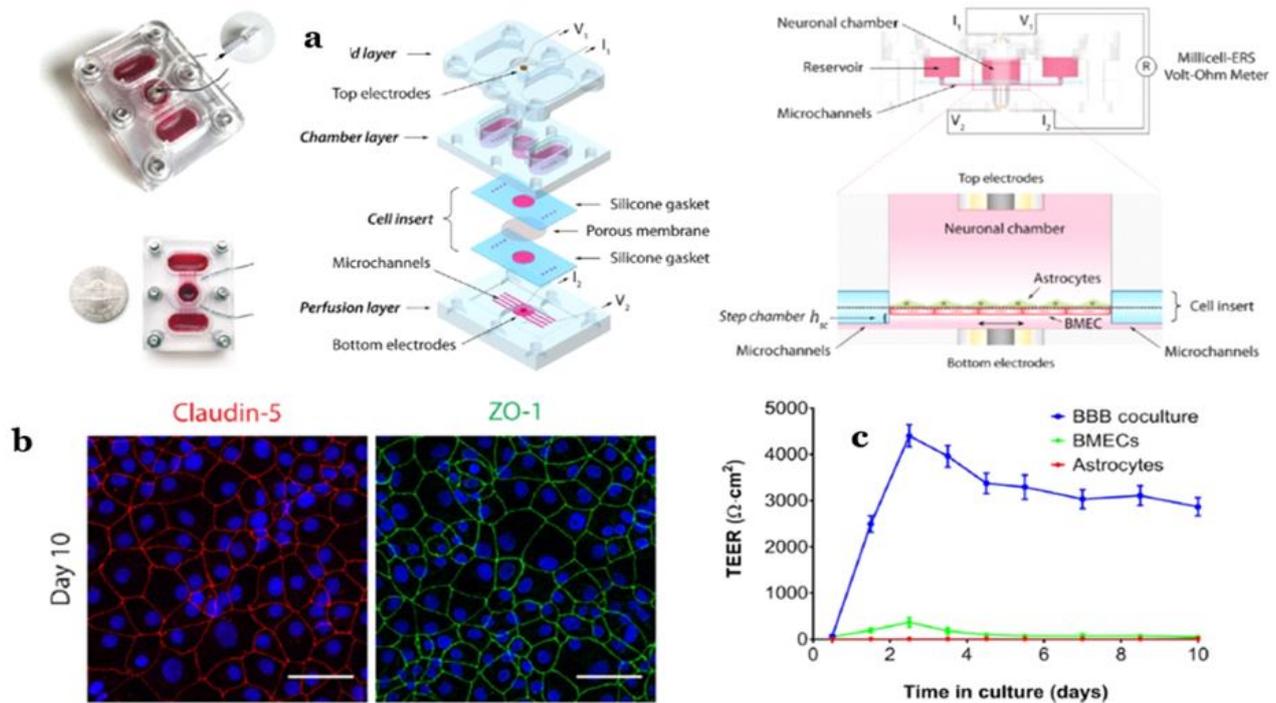


Figura 6: (a) Struttura di un barriera emato-encefalica-on-chip e valutazione dell'integrità della barriera (b) mediante immunocolorazione per le proteine a giunzione stretta Claudin-5 e ZO-1 e (c) mediante misurazioni di resistenza elettrica transepiteliale (TEER). Riprodotta da [16].

di tali barriere al fine di fornire una piattaforma miniaturizzata e modulabile per studiare la somministrazione del farmaco (*drug delivery*) e la farmacocinetica, nonché lo scambio di nutrienti/biomolecole/metaboliti. In tale contesto, la barriera emato-encefalica (*blood-brain barrier*) costituita da cellule endoteliali specializzate e deputate alla separazione del circolo sanguigno dal tessuto cerebrale [14], ha attirato particolare attenzione per lo studio della somministrazione di farmaci e di anticorpi al sistema nervoso centrale per il trattamento di disturbi neurologici. Infatti, per esplicitare la sua funzione neuroprotettiva e per regolare strettamente il trasporto di biomolecole e di composti nocivi, la barriera emato-encefalica è caratterizzata da una bassa permeabilità alla maggior parte dei composti chimici e fornisce l'omeostasi per una funzione neuronale ottimale [14]. Al fine di superare i limiti attuali, sono stati proposti modelli microfluidici di barriera emato-encefalica capaci di soddisfare una serie di criteri: alta fedeltà nel simulare il microambiente fisiologico *in vivo* e le sue relative funzioni, possibilità di indagare le funzioni a livello dell'organo, stabilità nel lungo periodo per consentire studi continuativi in

tempo reale, capacità di operare in condizioni di perfusione continua per studi di permeabilità ai farmaci e, naturalmente, standardizzazione e riproducibilità. I più comuni modelli di barriera emato-encefalica *on chip* proposti consistono in co-culture di cellule endoteliali neurovascolari ed astrociti/periciti primari sui due lati di una membrana porosa [15, 16]. Tale approccio si è dimostrato essere più efficiente nel simulare le condizioni *in vivo* rispetto a monoculture di sole cellule endoteliali in quanto è costituito da giunzioni più strette e caratterizzato da una permeabilità inferiore, più corrispondente al caso fisiologico [17]. Un esempio di questa classe di modelli di barriera emato-encefalica microfluidici è riprodotto in (Fig.6) [16] nella quale sono delineati tutte le componenti principali ed i dettagli del *layout* per co-culture di astrociti primari e cellule endoteliali microvascolari cerebrali, che in laboratorio sono spesso derivate da cellule staminali pluripotenti indotte umane (hiPSCs).

Quando si caratterizzano i tessuti costituenti le barriere, uno *step* cruciale consiste poi nel valutare l'integrità e la funzionalità della barriera, caratteristiche che dovrebbero essere mantenute tali e quali per l'intera durata dello studio. A tal

scopo, sono impiegate metodologie *in vitro* che variano da tecniche di microscopia su proteine di adesione intercellulari, alla misurazione delle correnti ioniche, al flusso di acqua o al trasporto delle molecole attraverso le barriere cellulari [18]. Ad esempio, nei lavori di valutazione dell'integrità di barriera, si eseguono spesso studi *time lapse* mediante immunocolorazione, una tecnica che si basa sul principio di coniugazione antigene-anticorpo [16]. Per analizzare le funzioni della barriera vengono comunemente eseguiti dei saggi di permeabilità utilizzando traccianti fluorescenti, macromolecole (FITC-dextrans), farmaci modello (caffaina, cimetidina e doxorubicina) e mediatori di permeabilità confrontando i risultati ottenuti con i valori dei coefficienti di permeabilità *in vivo* [16]. Recentemente, misure di resistenza elettrica transepiteliale (*trans-endothelial electrical resistance* (TEER)) sono state utilizzate come procedura elettrica alternativa per la valutazione della formazione di strati di epitelio, in quanto una maggiore resistenza elettrica può essere associata ad una minore permeabilità [19].

Oltre a facilitare lo sviluppo di nuovi trattamenti, la disponibilità di modelli microfluidici di barriere tissutali può anche aprire la strada ad una migliore comprensione della loro funzionalità e dei danni associati alla fisiopatologia di molte malattie [18]. Ad esempio, un modello microfluidico dell'unità neurovascolare umana è stato impiegato per studiare l'interruzione infiammatoria della barriera emato-encefalica, le sue conseguenze metaboliche ed i meccanismi di riparazione. In particolare, in un recente studio, in seguito ad una stimolazione infiammatoria utilizzando lipopolisaccaridi o un *cocktail* di citochine per simulare le infezioni sistemiche e locali, è stata osservata una perdita della funzione di barriera associata all'aumento della diffusione e alla ridotta presenza di giunzioni strette [20].

Sono stati, inoltre, implementati modelli microfluidici di patologie neurodegenerative sia per il sistema nervoso centrale che per quello periferico focalizzati su patologie quali Alzheimer, Parkinson e Sclerosi Laterale Amiotrofica simulando le loro caratteristiche principali in un microambiente compartimentalizzato per colture di neuroni, cellule della glia, cellule endoteliali, cellule del muscolo scheletrico e l'abilità di riprodurre i gradienti chimici e le caratteristiche

meccaniche tipiche [21].

Oltre alle barriere tessuto-sistema circolatorio, il sistema vascolare gioca un ruolo cruciale nel mantenere l'omeostasi e le funzioni organo specifiche [22]. La sopravvivenza del tessuto *in vivo* è completamente dipendente dal trasporto di nutrienti attraverso i vasi sanguigni e la somministrazione endovenosa dei farmaci segue la medesima via. Pertanto, non sorprende che la simulazione dei micro-tessuti e della vascolarizzazione di organoidi sia oggetto di studio in tutto il mondo e sia considerato come uno strumento chiave per fornire modelli efficaci ed adeguati di malattia [23].

3.3 Piattaforme polmone su *chip* per testare la somministrazione per inalazione

Relativamente alla somministrazione di farmaci per inalazione, deve essere invece modellata, nel modo più accurato possibile, la fisiologia respiratoria per effettuare uno *screening* dei farmaci e valutarne rilascio e tossicità. Ciò è particolarmente rilevante per le malattie respiratorie e polmonari, comprese le infezioni polmonari virali e batteriche, la broncopneumopatia cronica ostruttiva, gli edemi polmonari, la tubercolosi e il cancro ai polmoni che sono tra le prime dieci cause di morte secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità. Contro queste malattie, i farmaci per via inalatoria possono essere vantaggiosi per un rapido rilascio ed un'azione mirata anziché sistemica per mezzo di farmaci depositati direttamente all'interno del polmone. In questo caso, l'assenza di interazione con fegato o reni può comportare una ridotta tossicità ed effetti collaterali e quindi migliorare l'efficacia terapeutica, gli esiti clinici e la qualità della vita del paziente [24, 25].

Riproducendo il microambiente polmonare umano *in vivo* e la barriera emato-polmonare per gli agenti inalati, le piattaforme *lung-on-chip* facilitano la ricerca [26]. Recentemente è stato ad esempio riportato un sistema microfisiologico *Organ on Chip* che imita la barriera emato-polmonare attraverso gli strati epiteliali/endoteliali attorno a una membrana porosa. In tale studio è stata quindi valutata la permeabilità della barriera e l'influenza dello stress da taglio sul trasporto paracellulare (tra le giunzioni

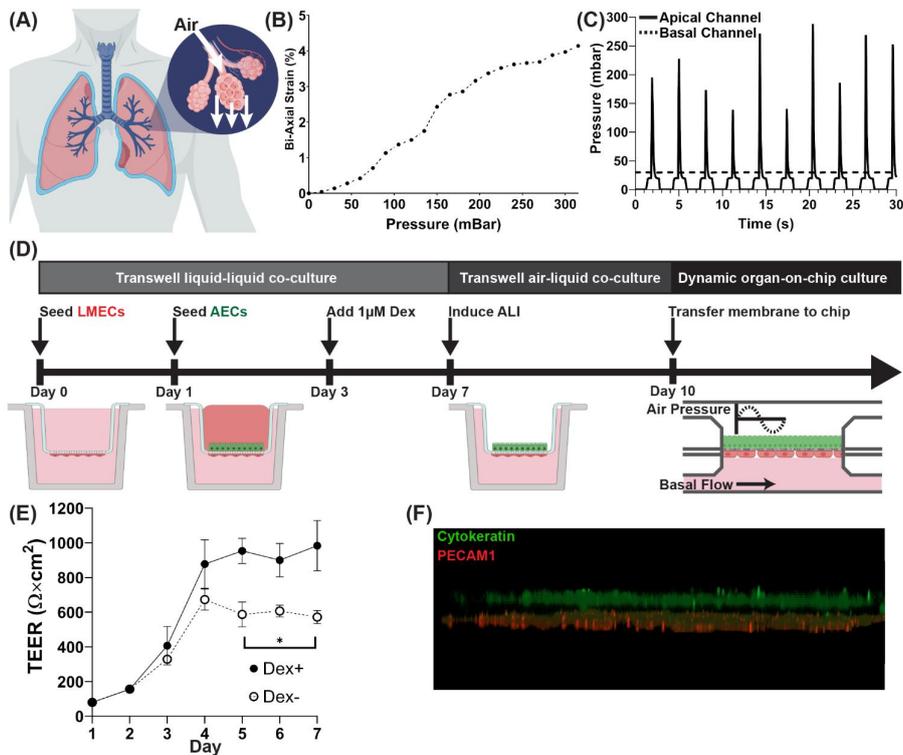


Figura 7: (A-C) Modello di interfaccia alveolare aria-liquido che impiega una pressione ciclica per imitare la respirazione. (D) flusso di lavoro del modello di interfaccia aria-liquido con semina di cellule endoteliali (LMEC) e quindi cellule epiteliali alveolari (AEC) su un sistema transwell. (E-F) Valutazione dell'interfaccia mediante misurazioni TEER e colorazione fluorescente. Riprodotta da [28].

delle cellule epiteliali/endoteliali) e transcellulare (attraverso le cellule prive di trasportatori attivi richiesti) mediante biomarcatori noti (transferina e destrani, rispettivamente) [27]. Un'architettura modulare priva del materiale polimerico Polydimethylsiloxane e pompe pneumatiche microfluidiche è stata invece impiegata in un altro studio per ottenere un modello dell'interfaccia alveolare aria-liquido e generare una deformazione ciclica sulla membrana di coltura (Fig.7) [28]. Ulteriori studi hanno invece riguardato la guarigione delle ferite dell'epitelio alveolare sotto sforzo meccanico [30] e la combinazione di modelli polmone/fegato su chip per studi di tossicità [31]. Anche in questo caso vengono utilizzate misurazioni della resistenza elettrica transepiteliale (TEER) per valutare le caratteristiche della barriera [32, 33].

4. Conclusioni

Le attuali metodologie di sviluppo dei farmaci presentano gravi limitazioni nella loro capacità di tenere adeguatamente conto della complessa fisiopatologia *in vivo* dei tessuti umani. Di conseguenza, sia le colture 2D convenzionali che i (costosi) modelli animali non riescono a fornire previsioni accurate sugli esiti clinici umani

con notevoli discrepanze in termini di efficacia ed effetti collaterali rispetto agli studi sull'uomo [5, 6]. Ciò si traduce in costi elevati e basso tasso di successo nella traslazione clinica, causando la diminuzione del numero di farmaci approvati, la maggiore durata del processo di sviluppo del farmaco ed un rischio più elevato di ritiro del farmaco dal mercato a fronte di enormi investimenti [34].

Per superare queste limitazioni, sono in fase di sviluppo nuove piattaforme con un maggiore potenziale predittivo. Sfruttando i progressi nella microfluidica e nelle tecnologie di coltura cellulare, modelli microfisiologici 3D ed *organ-on-chip* possono ricapitolare la fisiopatologia, le condizioni biofisiche *in vivo*, le interazioni cellula-cellula/cellula-matrice e i percorsi biochimici sottostanti di diverse patologie fornendo informazioni accurate e versatili modelli *in vitro*.

Duplica è la motivazione per imitare i microambienti di tessuti/organi naturali: (i) incrementare le capacità di ricerca biomedica e (ii) consentire uno *screening* preclinico ad alto rendimento aumentando la prevedibilità con modelli basati sull'uomo. I recenti progressi hanno permesso di costruire modelli senza precedenti di malattie umane da organoidi/sferoidi tumorali a patologie cardiache e neurodegenerative. Oltre all'efficacia e alla tossicità dei farmaci, sono di-

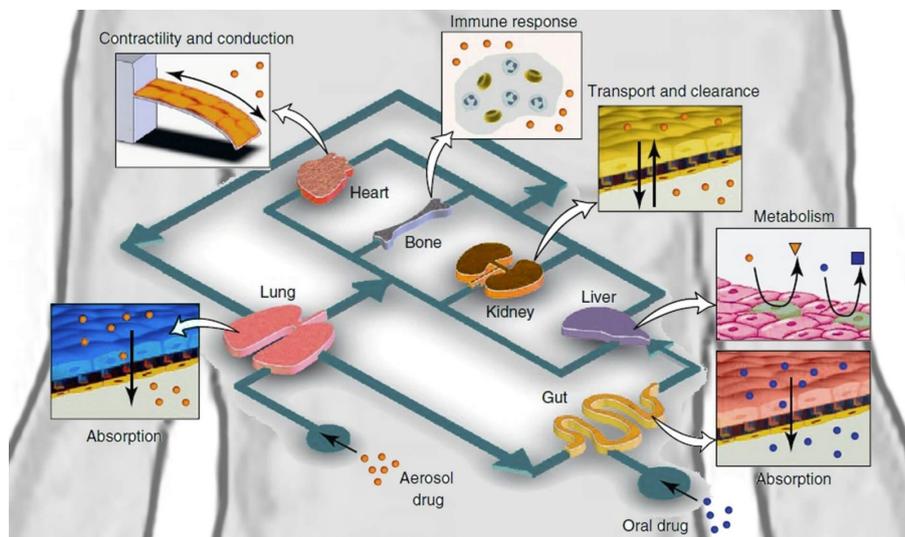


Figura 8: Piattaforme organ-on-chip in fase di sviluppo ed aspetti rilevanti che si possono investigare in condizioni controllate mediante il loro utilizzo. Riprodotta da [37].

sponibili anche modelli *in vitro* migliorati per la vascolarizzazione dei micro-tessuti e le barriere biologiche per studiare il trasporto dei farmaci e la permeabilità delle barriere con maggiore precisione e per lo sviluppo di nuovi sistemi di somministrazione di farmaci attraverso le pertinenti barriere *in vivo*. In tale ambito, le tecnologie microfluidiche offrono notevoli vantaggi per approcci combinatoriali volti ad analizzare librerie di candidati farmaci e valutare la tossicità contro più tessuti in un modo più adeguato e predittivo rispetto a quanto precedentemente possibile.

Questi enormi progressi sono stati facilitati da tecniche all'avanguardia, che vanno dai processi di microfabbricazione ereditati dalla microelettronica alle litografie soft, da tecniche di prototipazione rapida alla stereolitografia assistita da laser, dalla stampa 3D al *bioprinting*. Un ulteriore elemento importante è stato l'emergere di protocolli per l'efficiente differenziazione diretta di cellule staminali pluripotenti indotte umane in quantità e qualità elevate [35], al fine di rendere disponibili le cellule pertinenti e di supporto necessarie per modelli accurati di malattia e barriera.

Una tendenza recente consiste ora nell'accoppiare più moduli di organi collegati dalla perfusione vascolare al fine di ricapitolare le strutture a livello di organo e simulare le interazioni multiorgano in una piattaforma completa *body-on-a-chip* [16] (Fig.8).

In conclusione, la ricerca sui farmaci sta avanzando rapidamente con nuove tecnologie a disposizione di ricercatori e aziende. Diverse pie-

tre miliardi sono già state raggiunte in questa direzione e si prevede che le sfide future riguarderanno standardizzazione e affidabilità nel mimare opportunamente il microambiente della malattia e la risposta ai farmaci [36], nonché procedere verso piattaforme di *test* derivate dal paziente per la medicina di precisione personalizzata.



- [1] <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- [2] G. Maruccio et al.: *Nanotecnologie per la medicina*, Ithaca: Viaggio nella Scienza, XIV (2019) 49.
- [3] https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Biotechnology/Quality_Assurance_and_Regulatory_Affairs_for_the_Biosciences/06%3A_The_Drug_Approval_Process/6.02%3A_Section_2-
- [4] <https://innovation.cherrybiotech.com/organs-on-a-chip/organ-on-a-chip-new-paradigm-for-drug-development>
- [5] N. Dhiman et al.: *On-chip anticancer drug screening - Recent progress in microfluidic platforms to address challenges in chemotherapy*, Biosens. Bioelectron., 137 (2019) 236-254.
- [6] L. A. Low et al.: *Organs-on-chips into the next decade*, Nature Reviews Drug Discovery, 20 (2021) 345-361.
- [7] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128161371000787>
- [8] N. Ashammakhi et al.: *Microphysiological Systems: Next Generation Systems for Assessing Toxicity and Therapeutic Effects of Nanomaterials*, Small Methods, 4 (2020).
- [9] C. A. M. Fois et al.: *Models of the Gut for Analyzing the Impact of Food and Drugs*, Advanced Healthcare Materials, 8 (2019) 1900968.

- [10] S. A. Hewes et al.: *In Vitro Models of the Small Intestine: Engineering Challenges and Engineering Solutions*, Tissue Engineering Part B-Reviews, 26 (2020) 313-326.
- [11] D. Marrero et al.: *Gut-on-a-chip: Mimicking and monitoring the human intestine*, Biosens. Bioelectron., 181 (2021) 113156.
- [12] K. Pocock et al.: *Intestine-on-a-Chip Microfluidic Model for Efficient in Vitro Screening of Oral Chemotherapeutic Uptake*, Acs Biomaterials Science and Engineering, 3 (2017) 951-959.
- [13] M. F. Neurath: *Cytokines in inflammatory bowel disease*, Nat. Rev. Immunol., 14 (2014) 329-342.
- [14] M. W. van der Helm et al.: *Microfluidic organ-on-chip technology for blood-brain barrier research*, Tissue Barriers, 4 (2016) .
- [15] T. E. Park et al.: *Hypoxia-enhanced Blood-Brain Barrier Chip recapitulates human barrier function and shuttling of drugs and antibodies*, Nature Communications, 10 (2019) 12.
- [16] Y. I. Wang et al.: *Multiorgan Microphysiological Systems for Drug Development: Strategies, Advances, and Challenges*, Advanced Healthcare Materials, 7 (2018) .
- [17] S. Jeong et al.: *A Three-Dimensional Arrayed Microfluidic Blood-Brain Barrier Model With Integrated Electrical Sensor Array*, Ieee Transactions on Biomedical Engineering, 65 (2018) 431-439.
- [18] Y. B. Arik et al.: *Barriers-on-chips: Measurement of barrier function of tissues in organs-on-chips*, Biomicrofluidics, 12 (2018) .
- [19] B. Srinivasan et al.: *TEER Measurement Techniques for In Vitro Barrier Model Systems*, Jala, 20 (2015) 107-126.
- [20] J. A. Brown et al.: *Metabolic consequences of inflammatory disruption of the blood-brain barrier in an organ-on-chip model of the human neurovascular unit*, Journal of Neuroinflammation, 13 (2016) .
- [21] T. Osaki et al.: *In Vitro Microfluidic Models for Neurodegenerative Disorders*, Advanced Healthcare Materials, 7 (2018) 29.
- [22] S. Pradhan et al.: *Biofabrication Strategies and Engineered In Vitro Systems for Vascular Mechanobiology*, Advanced Healthcare Materials, 9 (2020) .
- [23] T. Osaki et al.: *Vascularized microfluidic organ-chips for drug screening, disease models and tissue engineering*, Curr. Opin. Biotechnol., 52 (2018) 116-123.
- [24] A. Cidem et al.: *Modifying and Integrating in vitro and ex vivo Respiratory Models for Inhalation Drug Screening*, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 8 (2020) .
- [25] J. M. Borghardt et al.: *Inhaled Therapy in Respiratory Disease: The Complex Interplay of Pulmonary Kinetic Processes*, Canadian Respiratory Journal, 2018 (2018) 2732017.
- [26] G. R. Ainslie et al.: *Microphysiological lung models to evaluate the safety of new pharmaceutical modalities: a biopharmaceutical perspective*, Lab on a Chip, 19 (2019) 3152-3161.
- [27] T. S. Frost et al.: *Permeability of Epithelial/Endothelial Barriers in Transwells and Microfluidic Bilayer Devices*, Micromachines, 10 (2019) 18.
- [28] M. Ishahak et al.: *Modular Microphysiological System for Modeling of Biologic Barrier Function*, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 8 (2020) .
- [29] Y. I. Wang et al.: *Microfluidic Blood-Brain Barrier Model Provides In Vivo-Like Barrier Properties for Drug Permeability Screening*, Biotechnology and Bioengineering, 114 (2017) 184-194.
- [30] M. Felder et al.: *Impaired Wound Healing of Alveolar Lung Epithelial Cells in a Breathing Lung-On-A-Chip*, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 7 (2019) 5.
- [31] D. Bovard et al.: *A lung/liver-on-a-chip platform for acute and chronic toxicity studies*, Lab on a Chip, 18 (2018) 3814-3829.
- [32] O. Y. F. Henry et al.: *Organs-on-chips with integrated electrodes for trans-epithelial electrical resistance (TEER) measurements of human epithelial barrier function*, Lab on a Chip, 17 (2017) 2264-2271.
- [33] J. D. Stucki et al.: *Medium throughput breathing human primary cell alveolus-on-chip model*, Sci. Rep., 8 (2018) 13.
- [34] J. Radhakrishnan et al.: *Organotypic cancer tissue models for drug screening: 3D constructs, bioprinting and microfluidic chips*, Drug Discov. Today, 25 (2020) 879-890.
- [35] B. Y. Zhang et al.: *Advances in organ-on-a-chip engineering*, Nat. Rev. Mater., 3 (2018) 257-278.
- [36] V. Brancato et al.: *Could 3D models of cancer enhance drug screening?*, Biomaterials, 232 (2020) .
- [37] <https://www.elflow.com/microfluidic-reviews/organs-on-chip-3d-cell-culture/a-review-about-organ-on-chip/>
- [38] <http://www.omnics.it/home/>



Anna Grazia Monteduro: Ricercatrice presso il Dipartimento di Matematica e Fisica dell'Università del Salento, associata al CNR-Istituto di Nanotecnologia ed alla sezione di Lecce dell'INFN e membro del gruppo di ricerca Omnics. Nella sua attività di ricerca si occupa di nanoelettronica, spintronica e nanomagnetismo, sensoristica e materiali funzionali.

Silvia Rizzato: Ricercatrice presso il Dipartimento di Matematica e Fisica dell'Università del Salento, associata al CNR-Istituto di Nanotecnologia di Lecce ed alla sezione di Lecce dell'INFN

e membro del gruppo di ricerca Omnics. Nella sua attività di ricerca si occupa di spintronica, sensoristica, litografia e dispositivi ad onde acustiche superficiali.

Giusi Caragnano: Dottoranda presso il Dipartimento di Matematica e Fisica dell'Università del Salento, associata al CNR-Istituto di Nanotecnologia di Lecce.

Andrea Margari: Dottorando presso il Dipartimento di Matematica e Fisica dell'Università del Salento, associato al CNR-Istituto di Nanotecnologia di Lecce.

Noemi Petese: Dottoranda presso il Dipartimento di Matematica e Fisica dell'Università del Salento, associata al CNR-Istituto di Nanotecnologia di Lecce.

Giuseppe Maruccio: Professore Ordinario presso l'Università del Salento ed associato al CNR-Istituto di Nanotecnologia di Lecce ed alla sezione di Lecce dell'INFN, dirige il gruppo di ricerca Omnics e si occupa di biosensori e lab on a chip, spintronica e nanomagnetismo, microscopia a scansione. GM è stato finanziato su vari bandi competitivi (UE, FIRB, PRIN, FISR e MAE), ed anche da aziende (IBM, Ekuberg Pharma s.r.l., Sensichips). GM è autore di oltre 130 pubblicazioni e 4 brevetti (h-index 28, citazioni >2400).

