

1. La tecnica di estrusione (più risposte esatte):

- A) è un metodo di preparazione di liposomi
- B) permette di ottenere liposomi di dimensione definita (→ è una specie di schiaccia-patate)
- C) si ottiene una preparazione di liposomi tutti di dimensioni diverse
- D) prevede l'utilizzo di un detergente
- E) è un metodo di preparazione valido per qualsiasi NP (→ solo per lipidi)

2. Carbon nanotubes (più risposte esatte):

- A) sono buoni conduttori di corrente elettrica
- B) sono strutture a base di carbonio e azoto (→ solo C)
- C) possono avere lunghezza di centinaia di nm
- D) Non si usano in vivo per la loro tossicità (→ sono un po' tossici)
- E) Non possono avere diametro inferiore a 5 nm
- F) Si usano per costruire nanobiosensori

3. L'accumulo di NP nei tumori solidi si può realizzare sfruttando (più risposte esatte):

- A) il minore pH nell'intorno e all'interno del tumore (l'accumulo di particelle non dipende dal pH, ma è il rilascio del farmaco - pH sensibile)
- B) la presenza di molecole sovra-esprese sulla superficie delle cellule tumorali
- C) la maggiore permeabilità dei capillari tumorali rispetto agli altri capillari
- D) l'intenso drenaggio linfatico (→ il contrario)
- E) la mancanza di ossigeno a livello tumorale

4. Per aumentare il rilascio di farmaci da NP si possono sfruttare (più risposte esatte):

- A) variazioni locali di pH
- B) la presenza di albumina in circolo (→ protein corona: la particella viene ricoperta da particelle, quindi, non viene rilasciata)
- C) variazioni della pressione arteriosa (→ potrebbe cambiare la velocità ma non il rilascio)
- D) irradiazioni con ultrasuoni
- E) variazioni della concentrazione di CO₂ (alta nei polmoni)
- F) variazioni di temperatura, provocando un riscaldamento locale

5. La tecnica di Dynamic Light Scattering (DLS) consente di:

- A) misurare le dimensioni di una nanoparticella depositata su un supporto
- B) misurare le dimensioni e PDI di una nanoparticella in soluzione
- C) misurare la luce assorbita da una nanoparticella in soluzione
- D) necessita di un fascio di elettroni come fonte di luce per ottenere la dimensione di una NP

6. La tecnica di Surface Plasmon Resonance (SPR) (più risposte esatte):

- A) Permette di separare molecole legate a nanoparticelle da molecole libere
- B) Consente di misurare una costante di affinità di legame tra nanoparticelle e loro possibili targets
- C) Prevede l'immobilizzazione di un ligando sulla superficie di un chip
- D) Permette di misurare le dimensioni di una nanoparticella
- E) Permette di misurare la carica di una nanoparticella

7. Le nanoparticelle formate da ossidi di Ferro (più risposte esatte):

- A) Possono essere usate come agenti di contrasto per imaging di Risonanza Magnetica.
- B) Utilizzando un campo magnetico alternato si può provocare ipertermia nelle zone in cui queste particelle si accumulano.
- C) Sono tossiche e si possono usare solo per diagnostica in vitro.
- D) Non possono avere diametro inferiore a 500nm

- E) L'accumulo delle nanoparticelle in una zona del corpo può essere indotto tramite un magnete applicato localmente.
- F) Non possono avere diametro inferiore a 100nm

8. Quali vantaggi può comportare l'uso di NPs per la veicolazione di farmaci?

Targeting specifico che riduce gli effetti collaterali in altre zone dell'organismo, utilizzate per fare diagnostica, ...

9. Quali vantaggi può comportare l'uso di NPs per la veicolazione di farmaci (più risposte esatte)?

- A) Un farmaco di natura idrofobica diventa più stabile rispetto a un farmaco idrofilico
- B) se la particella è funzionalizzata per targeting specifico, la quantità totale di farmaco da utilizzare risulterà minore rispetto al farmaco libero
- C) l'emivita in circolo del farmaco inserito nelle nanoparticelle è la stessa delle NP
- D) i farmaci non vengono più rimossi dal fegato
- E) si possono sfruttare vie di somministrazione diverse rispetto al farmaco libero

10. Quali di queste affermazioni sui nanobodies sono sbagliate? (più risposte esatte)

- A) sono derivati da anticorpi di piccolo peso molecolare presenti nei camelidi (Cammeli, lama,..)
- B) al contrario degli anticorpi da cui derivano, non hanno più la capacità di legare antigeni
- C) non si possono usare per funzionalizzare la superficie di NP
- D) sono costituiti da lipidi
- E) Sono così definite tutte le NP con diametro inferiore a 5 nm

11. Quali affermazioni sui Quantum dots sono esatte (più risposte esatte)?

- A) Sono NP fluorescenti
- B) A parità di composizione, il loro colore dipende dal diametro
- C) Non sono soggetti a photobleaching come molte molecole organiche fluorescenti
- D) Hanno diametro compreso tra 50 e 100 nm
- E) L'intensità di fluorescenza emessa è nella regione UV-vis

12. Caratterizzazione di NP (più risposte esatte):

- A) Dynamic Laser Light Scattering. Questa tecnica misura il diametro idrodinamico delle NP
- B) Dynamic Laser Light Scattering misura il peso molecolare delle NP
- C) Microscopia a forza atomica (AFM). Questa tecnica fornisce una immagine virtuale (ricostruita tramite un software) della forma e dimensioni della NP
- D) ζ -potential (Zeta potential), è usato per quantificare la carica superficiale. E' un indicatore della stabilità delle dispersioni acquose di NP
- E) ζ -potential (Zeta potential), è usato per quantificare la carica superficiale. Particelle con zeta potential + (positivo) aggregano più facilmente
- F) Microscopia elettronica a Trasmissione (TEM). Se fatta in acqua fornisce il raggio idrodinamico delle NP
- G) TEM: (transmission electron microscopy) permette di studiare la morfologia di una nanoparticella, sia metallica che non metallica
- H) DSC: (differential scanning calorimetry) permette di studiare la transizione di fase dei lipidi (es. Temperatura) e si utilizza in particolare per liposomi e SLN
- A. Cromatografia ad esclusione. Permette di separare il farmaco libero da quello incorporato nelle NP.

13. Gli idrogel:

- A) sono classificati come matrici rigonfiabili ed erodibili
- B) non possono essere preparati pH-sensitive
- C) sono costituiti da nanoparticelle sferiche
- D) non sono adatti per la tissue engineering
- E) Possono contenere il 99% in peso di acqua

14. La preparazione di liposomi mediante la tecnica della dialisi da detergente (PIU' RISPOSTE ESATTE):

- A. è basata sulla rimozione per dialisi di un detergente favorendo la formazione di liposomi
- B. è basata sull'incorporazione del detergente nel core dei liposomi
- C. favorisce l'incorporazione di proteine con ancora lipidica nel bilayer dei liposomi
- D. il detergente rimane intrappolato nel bilayer lipidico
- E. consente di eliminare i lipidi mediante dialisi

15. Quali caratteristiche di una nanoparticella possono servire a rendere più specifico il suo targeting a un tessuto ? (più risposte esatte)

- A) La presenza sulla superficie della NP di ligandi specifici (es. Aptameri o anticorpi)
- B) La presenza sulla superficie della NP di molecole che la rendono stealth (es. PEG),
- C) La presenza sulla superficie della NP di anticorpi contro un ligando over-espresso dal tessuto target
- D) Tutte le precedenti
- E) La presenza sulla superficie della NP di recettori dell'acido folico

14. I liposomi si differenziano dalle Solid-lipid Nanoparticles (SLN):

- A) Solo i liposomi possono veicolare farmaci idrofobici
- B) L'interno dei liposomi è costituito da una cavità acquosa, mentre quello delle SLN è costituito da lipidi
- C) Solo i liposomi sono biodegradabili
- D) Solo i liposomi possono avere un diametro di 100 nm
- E) Al contrario delle SLN, non si possono preparare liposomi costituiti da lipidi solidi (o allo stato di gel) a temperatura fisiologica (37°C)

15. Tutte le seguenti affermazioni riguardanti i liposomi sono esatte, eccetto:

- A. La presenza di colesterolo ne aumenta la stabilità
- B. Possono contenere sfingomieline
- C. Possono avere un diametro maggiore di 200 nm
- D. Possono trasportare sia farmaci idrofilici che idrofobici
- E. Non possono essere funzionalizzati sulla superficie con ligandi per il targeting

1. Le seguenti caratteristiche delle NP determinanti la loro emivita nel circolo ematico sono tutte errate, eccetto:

- A. Carica superficiale (zeta potential) positiva. Aggregano meno facilmente
- B. Diametro maggiore di 10 nm: vengono eliminate più velocemente dal rene
- C. Il legame in circolo con opsonine determina la loro rimozione da parte del sistema reticolo endoteliale (RES)
- D. Rivestimento di PEG (polietilenglicol): vengono eliminate più velocemente dal circolo
- E. Carica superficiale (zeta potential) negativo. Aggregano più facilmente

2. La farmacodinamica 1) descrive lo studio degli effetti biochimici e fisiologici che un farmaco (o una NP) esercita in un organismo, 2) misura l'assorbimento, 3) la distribuzione, 4) il metabolismo e 5) l'escrezione di un farmaco (o una NP) in un organismo. Le seguenti affermazioni sono:

- A. Tutte vere
- B. Tutte false
- C. Tutte vere tranne la 1
- D. Tutte false tranne la 1
- E. Sono vere solo la 2 e la 4

3. Quale di queste affermazioni descrive meglio l'effetto di "protein corona":

- A. rappresenta l'effetto determinato dalla funzionalizzazione della superficie delle nanoparticelle con ligandi per il targeting
- B. rappresenta la ricopertura della superficie di una nanoparticella dagli ioni costituenti la soluzione in cui è dispersa
- C. rappresenta il layer di molecole biologiche (es. proteine, lipidi, etc..) che aderiscono alla superficie di una nanoparticella quando risospesa in un fluido biologico
- D. rappresenta il layer di opsonine che aderiscono alla superficie di una nanoparticella quando immessa nella circolazione sanguigna

4. Quale delle seguenti affermazioni relative alla farmacocinetica di una NP è esatta?

- A. NP con diametro inferiore o uguale a 20 nm vengono più facilmente eliminate per via renale
- B. NP con diametro inferiore o uguale a 5 nm vengono più facilmente eliminate per via renale
- C. La forma di una NP non influenza la sua biodistribuzione
- D. La modificazione della superficie di una NP con PEG ne aumenta l'emivita in circolo e ne aumenta il riconoscimento dal sistema dei fagociti mononucleari
- E. La carica superficiale di una NP non ne influenza la sua biodistribuzione

5. Il termine "effetto di primo passaggio" è riferito:

- A. Alla quantità di farmaco presente nel sangue dopo iniezione endovenosa
- B. Alla possibilità che una quota di farmaco venga trattenuta dallo stomaco dopo somministrazione orale
- C. Alla possibilità che una quota di farmaco venga trattenuta nel fegato dopo somministrazione, limitandone la quantità biodisponibile
- D. Alla prima barriera biologica che il farmaco deve oltrepassare per raggiungere il tessuto bersaglio
- E. Alla quantità di farmaco recuperata dopo processi di purificazione

6. Le proprietà dei materiali cambiano quando le loro dimensioni sono ridotte alla scala nanometrica. Perché? (più di una risposta esatta):

- A. Perché aumenta il rapporto superficie/volume
- B. Perché diminuisce il rapporto superficie/volume
- C. Per effetti di quantizzazione degli stati energetici
- D. Per l'annullamento degli effetti di quantizzazione degli stati energetici

7. La barriera emato-encefalica 1) è costituita solo da cellule endoteliali specializzate 2) le quali possiedono delle giunzioni proteiche che limitano il passaggio paracellulare di sostanze 3) ma consentono il passaggio di nutrienti per via transcellulare 4) grazie alla presenza di trasportatori e recettori specifici. 5) queste cellule non possiedono sistemi di efflusso dal cervello verso il sangue ed 6) è possibile fare targeting specifico delle stesse utilizzando NP funzionalizzate. Queste affermazioni sono:

- A. Tutte vere tranne 1, 5 e 6
- B. Tutte vere tranne 1, 5
- C. Tutte false tranne la 2
- D. Tutte false tranne 2 e 3
- E. Tutte vere

8. E' possibile preparare NP lipidiche artificiali di forma discoidale, contenenti farmaci idrofilici, e funzionalizzati sulla superficie con un ligando per il targeting del tessuto bersaglio da utilizzare come strutture biomimetiche di lipoproteine plasmatiche (es. HDL discoidali)?

- A. Sì è possibile
- B. No, non è possibile
- C. Sì è possibile ma si possono incorporare solo farmaci idrofobici e non idrofilici in quanto il core delle NP risulterebbe idrofobico
- D. Sì è possibile ma non si possono preparare NP di forma discoidale, solo sferica
- E. Sì è possibile ma non si possono funzionalizzare in superficie

9. Calcolare la quantità di NaCl (MW 60 g/mol) necessaria per preparare una soluzione alla concentrazione di 120 mM in un volume finale di 1 litro.

- A. 120 g
- B. 7.2 g
- C. 7.2 mg
- D. 120 mg

10. Calcolare la quantità di NaCl (MW 60 g/mol) necessaria per preparare una soluzione alla concentrazione di 120 mM in un volume finale di 500 ml.

- E. 6 g
- F. 60 mg
- G. 3.6 g
- H. 3.6 mg
- I. 6 mg

11. Calcolare il volume da prelevare da una soluzione concentrata 50 mg/ml per preparare una diluizione 1:2 in un volume finale di 750 ul.

- A. 375 ul
- B. 3.75 ul
- C. 500 ul
- D. 2.5 ml
- E. 0.375 ul

12. La resistenza elettrica transendoteliale (TEER):

- F. È la misura della carica elettrica di una particella
- G. Consente di valutare la funzionalità di un modello di barriera biologica in vitro
- H. È la misura della resistenza elettrica di una particella
- I. Viene sfruttata per separare le proteine mediante elettroforesi

13. Con il termine "biomateriale" si intende:

- A. Un materiale non vitale utilizzato come dispositivo medico in grado di interagire con sistemi biologici
- B. Un materiale vitale utilizzato come dispositivo medico in grado di interagire con sistemi biologici
- C. Un materiale con ottime capacità di condurre elettricità
- D. Un dispositivo medico in grado di interagire con sistemi biologici ma non utilizzabile in vivo per la sua tossicità elevata

14. In questo periodo di emergenza sanitaria sarebbe utile la costruzione di una nanoparticella mimante il virus SARS-CoV-2 (covid19) da poter utilizzare in laboratorio per studiare meglio l'interazione del virus con le cellule bersaglio:

- A. Non è possibile sintetizzare nanoparticelle biomimetiche
- B. Sì, è possibile sintetizzare nanoparticelle biomimetiche
- C. Non è possibile mimare l'envelope di un virus
- D. Sì è possibile mimare il virus ma non le sue dimensioni (circa 120 nm)

13. Con quali meccanismi una nanoparticella (NP) può interagire con le cellule? Più risposte esatte:

- A) Endocitosi. Questa via può determinare la loro degradazione da parte degli enzimi lisosomiali
- B) Adsorbimento. Questa modalità è più frequente quando la superficie della NP ha cariche elettrostatiche negative.
- C) Endocitosi mediata da caveole.
- D) Transcitosi. Questa modalità permette alle NP di attraversare le barriere biologiche (es. endoteliale) ed è solitamente innescata da interazione con un recettore di membrana
- E) Tutti i precedenti

15. Le nanoparticelle magnetiche: (più risposte esatte)

- E. si possono usare come agenti di contrasto per Risonanza magnetica
- F. L'accumulo locale delle nanoparticelle può essere guidato tramite un campo magnetico localizzato
- G. Sottoponendole a un campo magnetico alternato si può indurre ipertermia nel tessuto dove si accumulano
- H. Le nanoparticelle magnetiche non possono essere funzionalizzate sulla superficie, ma possono essere incorporate in altre NP (es. liposomi).
- I. Le più utilizzate in diagnostica MRI sono costituite da ossidi di Ferro

16. La tossicità di una NP può essere influenzata da tutti i seguenti fattori eccetto:

- E. composizione chimica
- F. dimensione
- G. dose di somministrazione
- H. metodi di preparazione
- I. nessuna delle precedenti

17. Quali delle seguenti NP sono citotossiche e sarebbe opportuno non utilizzare in vivo? (più risposte)

- A. Le particelle di Silice (SiO_2)
- B. I liposomi
- C. I carbon Nanotubes
- D. I Quantum dots
- E. NP a base di ossidi di Ferro

18. Chi ha usato per primo il termine nanotecnologia e quando?

- A. Richard Feynman, 1959
- B. Norio Taniguchi, 1974
- C. Eric Drexler, 1986
- D. Sumio Iijima, 1991
- E. Richard Feynman, 1859

Risposte esatte:

1. Calcolare la quantità di NaCl (MW 60 g/mol) necessaria per preparare una soluzione alla concentrazione di 600 mM in un volume finale di 1.2 litri.

- A. 432 mg
- B. 43.2 mg
- C. 43.2 g
- D. 0.432 g

Il calcolo da effettuare è il seguente:

$$(600\text{mmol/l}) * 1.2\text{l} * 60\text{ mg/mmol} = 43200\text{ mg} = 43.2\text{ g}$$

(scrivo per esteso la mM) * volume finale * peso molecolare

PS: la scrittura per esteso della concentrazione deve avere la stessa unità di misura del volume finale. Idem per il peso molecolare.

2. Calcolare la quantità di NaCl (MW 60 g/mol) necessaria per preparare una soluzione alla concentrazione di 120 mM in un volume finale di 500 ml.

- A. 6 g
- B. 60 mg
- C. 3.6 mg
- D. 3600 mg

Il calcolo da effettuare è il seguente:

$$(120\text{mmol}/1000\text{ml}) * 500\text{ ml} * 60\text{ mg/mmol} = 3600\text{ mg}$$

(scrivo per esteso la mM) * volume finale * peso molecolare

PS: la scrittura per esteso della concentrazione deve avere la stessa unità di misura del volume finale. Idem per il peso molecolare.

3. Calcolare il volume da prelevare da una soluzione concentrata 50 mg/ml per preparare una diluizione 1:2 in un volume finale di 750 ul (microlitri).

- A. 375 ul
- B. 3.75 ul
- C. 500 ul
- D. 0.375 ul

Diluizione 1:2 significa prelevare un volume dalla soluzione madre ed aggiungere un volume di diluente, che significa 1 volume della soluzione in 2 volumi finali.

Se fosse stato 1:5 => 1 volume della soluzione madre + 4 volumi del diluente, per avere un volume finale di 5.

4. Calcolare i grammi di saccarosio (MW 360) necessari per preparare 15 ml di una soluzione al 30% (peso/volume)

- A. 3
- B. 4.5
- C. 0.45
- D. 1.5

La dicitura % peso/volume (p/v) significa grammi/100 ml. Quindi il calcolo da effettuare è il seguente:

$$(30 \text{ g}/100 \text{ ml}) * 15 \text{ ml} = 4.5 \text{ g}$$

(scrivo per esteso la dicitura % p/v) * volume finale

PS: p/v e volume finale devono avere la stessa unità di misura

5. Calcolare la quantità necessaria per ciascun lipide utile per la preparazione di liposomi aventi una concentrazione lipidica totale di 1 mM (lipidi totali) composti da fosfatidilcolina (MW 700 g/mol) e colesterolo (MW 400 g/mol) in rapporto molare 70:30 (fosfatidilcolina:colesterolo) in un volume finale di 1 ml.

- A. 49 mg fosfatidilcolina, 12 mg colesterolo
- B. 490 ug (microgrammi) fosfatidilcolina, 120 ug (microgrammi) colesterolo
- C. 7 g fosfatidilcolina, 12 g colesterolo
- D. 70 mg fosfatidilcolina, 6 mg colesterolo

Il calcolo da effettuare è il seguente:

1. Calcolo le moli totali di lipidi che mi servono:

$$(1 \text{ mmol}/1000 \text{ ml}) * 1 \text{ ml} = 0.001 \text{ mmol} = 1 \text{ umol (micromole)} \Rightarrow \text{micromoli di lipidi totali}$$

2. Calcolo le moli di ciascun lipide:

$$70:30 = 70\% \text{ fosfatidilc} + 30\% \text{ colesterolo} \Rightarrow 0.7 \text{ umol fosfatidilc} + 0.3 \text{ umol colest} = 1 \text{ umol totale}$$

3. Calcolo le quantità per ciascun lipide:

$$0.7 \text{ umol} * 700 \text{ ug/umol} = 490 \text{ ug (microgrammi) di fosfatidilc}$$

$$0.3 \text{ umol} * 400 \text{ ug/umol} = 120 \text{ ug (microgrammi) di colest}$$

6. Calcolare la quantità di nanoparticelle polimeriche aventi peso molecolare 3×10^6 (3 milioni), per preparare 10 ml di una soluzione 2 mM:

- A. 60 mg
- B. 60 g
- C. 0.6 g
- D. 30 mg

Il calcolo da effettuare è il seguente:

$$(2 \text{ mmol}/1000 \text{ ml}) * 10 \text{ ml} * 3 \times 10^6 = 60000 \text{ mg} = 60 \text{ g}$$