

“Acido Oleico come componente strutturale e funzionale per lo sviluppo di nanocarrier nel trattamento del melanoma”

ABSTRACT

Il melanoma cutaneo è un tumore maligno a rapida diffusione metastatica che, soprattutto negli stadi più avanzati, detiene un alto indice di mortalità nonostante i progressi in campo farmacologico. Tra i numerosi fattori coinvolti nella progressione tumorale, gli acidi grassi ricoprono un ruolo importante nel controllo della proliferazione e nel mantenimento del comparto staminale tumorale. In particolare, numerosi studi hanno messo in evidenza come la deregolazione di diversi enzimi del metabolismo lipidico sia correlata all'insorgenza e progressione del melanoma. Nel nostro laboratorio, abbiamo precedentemente dimostrato che l'enzima Stearoyl-CoA Desaturasi (SCD5) ed il suo principale prodotto acido oleico, sono in grado di ridurre la capacità metastatica del melanoma, attraverso meccanismi di regolazione della secrezione nella matrice extracellulare di proteine protumorali, quali SPARC e di reversione del processo di transizione epitelio-mesenchimale. Visto il ruolo antimetastatico dell'acido oleico nel melanoma e l'impossibilità di utilizzarlo in vivo nella sua forma pura in fase oleosa perché tossica, abbiamo sviluppato, in collaborazione con il gruppo di ricerca della professoressa Carafa, una formulazione di nanoemulsione idrosolubile caratterizzata da un alto contenuto di acido oleico (NEs-OA). La disponibilità di questo nanocarrier ci ha permesso di riprodurre in un modello murino singenico di melanoma costituito da cellule B16F10 in topi C57Bl/6 i risultati ottenuti in vivo con la trasduzione di SCD5 e in vitro con l'acido oleico. Perciò, dopo aver verificato l'internalizzazione delle NEs-OA nelle cellule B16F10 in vitro, tramite saggi di proliferazione/vitalità abbiamo dimostrato l'assenza di tossicità a diverse dosi e tempi di trattamento con NEs-OA nelle B16F10. Poiché SPARC nella forma secreta risulta fondamentale per le capacità invasive delle cellule, abbiamo potuto confermare che il trattamento delle cellule B16F10 in vitro con NEs-OA era in grado di ridurre la secrezione di SPARC nei terreni condizionati, a fronte di una maggiore ritenzione intracellulare, confermando quanto già dimostrato nel modello di overespressione di SCD5 nel melanoma umano. In linea con ciò, tramite saggi di migrazione abbiamo dimostrato una ridotta capacità migratoria delle cellule trattate con NEs-OA rispetto al controllo. Sulla base di questi risultati, abbiamo studiato gli effetti del trattamento intravena con NEs-OA sulla crescita di noduli tumorali indotti tramite inoculo sottocute di cellule B16F10 in topi C57Bl/6. Abbiamo potuto constatare l'innocuità del trattamento con NE-OA e in parallelo, verificare un rallentamento della crescita tumorale nei topi trattati con NEs-OA, significativamente apprezzabile nella fase finale dell'esperimento. Mediante studi di espressione e di immunolocalizzazione di

SPARC e dei principali fattori chiave nella transizione epitelio-mesenchimale, abbiamo rilevato una maggiore ritenzione intracellulare di SPARC, una riduzione del fattore pro-tumorale ZEB1 controbilanciata da un aumento di ZEB2 e soprattutto dell'E-caderina, di cui abbiamo dimostrato la corretta localizzazione in membrana. Infine, in esperimenti preliminari di induzione di metastasi polmonari mediante inoculo intravena di cellule B16F10 in topi C57Bl/6, seguiti da trattamenti con NEs-OA, abbiamo potuto osservare una diminuzione del numero di noduli metastatici di grandi dimensioni a fronte di una grande variabilità di numero di quelle più piccole. Da questi primi risultati si potrebbe ipotizzare che le NEs-OA possano influire sulla capacità metastatica delle cellule B16F10 e/o sulla loro crescita all'interno di ciascun clone metastatico. Al fine di dimostrare in modo netto il ruolo antimetastatico delle NEs-OA in vivo, sono attualmente in corso nel nostro laboratorio esperimenti volti alla standardizzazione di questo approccio sperimentale. In conclusione, possiamo dire di avere identificato una nanoformulazione in grado di veicolare l'acido oleico per via parenterale, senza provocare nessuna reazione avversa negli animali trattati. Poichè questo tipo di nanocarrier può essere caricato con farmaci lipofici antitumorali, il suo utilizzo in vivo ci permetterà di sfruttare contemporaneamente le proprietà intrinseche antimetastatiche dell'OA con la sua sensibilità al basso pH e raggiungere i microambienti acidi tumorali dove rilasciare il contenuto farmacologico, in modo da ottenere la maggiore efficacia della terapia con la minore dose e con il minor effetto collaterale possibile.