

**PROGETTO DI RICERCA SU TUMORI CEREBRALI PEDIATRICI:**  
“ALTERAZIONE DELLA BARRIERA EMATO-ENCEFALICA (BEE) MEDIANTE FARMACI  
CHE INTERAGISCONO CON LA GLICOPROTEINA-P.  
NUOVE PROSPETTIVE PER LA CURA DI TUMORI CEREBRALI “POOR-RESPONDER”  
DELL’ETA’ PEDIATRICA”.

**Stato di avanzamento Giugno 2011**

Un ostacolo all'efficacia della chemioterapia nel trattamento dei tumori cerebrali è rappresentato dalla barriera emato-encefalica (BEE), la cui attività è fisiologicamente protettiva, ma assai limitante l'azione dei farmaci, anche se somministrati ad alte dosi.

La BEE è un'importante interfaccia tra il sangue ed il tessuto cerebrale; essa regola l'omeostasi e protegge il sistema nervoso centrale da sostanze potenzialmente dannose; rappresenta quindi un importante ostacolo fisico e fisiologico alla diffusione di agenti chemioterapici nel cervello.

Poiché l'integrità della BEE può costituire un ostacolo alla diffusione intracerebrale di molti farmaci antineoplastici, le procedure di apertura temporanea della stessa potrebbero incrementare la concentrazione di farmaco in sede tumorale. A riguardo, risulta particolarmente promettente l'uso di morfina a basse dosi non neurotossiche da associare all'uso della chemioterapia con farmaci quali antracicline e taxoli, in aggiunta al trattamento radioterapico. Le antracicline (doxorubicina) e i taxoli sono tra i farmaci più attivi in neuro-oncologia come dimostrano studi *in vitro* su linee di glioblastoma, ma il loro utilizzo è fortemente limitato dall'incapacità di oltrepassare la BEE.

Abbiamo recentemente dimostrato (Sardi *et al*, *Cancer Chem Pharm* 2010; Sardi *I, J Neurooncol*, 2011) che la morfina aumenta la permeabilità della barriera emato-encefalica alla doxorubicina in un modello animale, inibendo l'isoforma ABCB1 del trasportatore P-gp (glicoproteina-P). La concentrazione di doxorubicina risultava significativamente più alta in tutte le aree del cervello (emisferi, tronco e cervelletto) di animali pretrattati con morfina rispetto al gruppo di animali trattati con la sola doxorubicina ( $P < 0.001$ ), a indicare che la morfina facilita l'ingresso e l'accumulo di antraciclina nel tessuto cerebrale. Inoltre, poiché la doxorubicina è un farmaco cardiotossico e nefrotossico, abbiamo quantificato i livelli di antraciclina in tessuto cardiaco e renale dopo pre-trattamento con morfina al fine di valutare se questo possa aumentarne l'accumulo di doxorubicina. La co-somministrazione di morfina non ha aumentato i livelli di doxorubicina in entrambi i tessuti 1h dopo la somministrazione, a indicare che il pre-trattamento con morfina può essere efficace nell'aumentare i livelli cerebrali di doxorubicina, rendendo questo metodo potenzialmente adatto al trattamento clinico dei tumori cerebrali, senza crescente tossicità cardiaca e renale associata. Abbiamo anche valutato l'attività plasmatica della LDH (lattato deidrogenasi) e i livelli di MDA (malondialdeide) come marker di cardiotossicità acuta senza riscontrare nessuna differenza nell'attività della LDH o nei livelli plasmatici di MDA tra i ratti trattati con la sola doxorubicina e i ratti trattati con doxorubicina e morfina. Alla luce dei risultati ottenuti, ci proponiamo di espandere la nostra osservazione preliminare per comprendere il meccanismo dell'azione di “permeabilizzazione” della

BEE indotto dalla morfina e per capire se questo potrebbe essere un fenomeno comune, condiviso da altri farmaci.

Gli obiettivi del progetto di ricerca sono:

- realizzazione di un “modello *in vivo*” per valutare l’ingresso e/o l’accumulo di farmaci chemioterapici che normalmente non oltrepassano la BEE dopo pre-trattamento con morfina e altri substrati del trasportatore P-gp.

Studi da noi condotti hanno dimostrato che la morfina aumenta la permeabilità della barriera emato-encefalica alla doxorubicina in un modello animale, inibendo l’isoforma ABCB1 del trasportatore P-gp (glicoproteina-P) (Sardi *et al*, *Cancer Chem Pharm* 2010).

Ad oggi, stiamo valutando l’azione dell’ondansetron, un potente antiemetico comunemente impiegato in oncologia, in uno stesso modello animale, al fine di valutare se sia più efficace della morfina nel permettere l’accumulo di doxorubicina. Come per la morfina, valuteremo se il pre-trattamento con ondansetron possa portare ad un incremento dei livelli di antraciclina in tessuti cardiaci e renali, aumentandone così i possibili effetti tossici.

Su tale modello *in vivo* testeremo altri agenti chemioterapici dopo pre-trattamento con morfina/ondansetron per dimostrare che il meccanismo che abbiamo osservato con morfina e doxorubicina può essere un meccanismo comune, condiviso da diversi farmaci, potenzialmente applicabile per il rilascio di tali sostanze nel cervello;

- realizzazione di un modello animale di tumore al cervello attraverso la microiniezione nel corpo striato di gruppi di topo nudo fox1nu di linee cellulari di tumori cerebrali;
- realizzazione di un “modello *in vitro*” basato sullo studio di linee cellulari che esprimono l’isoforma ABCB1 di P-gp e di colture cellulari primarie ottenute da frammenti chirurgici di tumore cerebrale pediatrico per valutare se il pre-trattamento con morfina/ondansetron aumenti i livelli intracellulari di agenti chemioterapici impiegati nella cura dei più frequenti tumori cerebrali pediatrici. I dati ottenuti forniranno informazioni sul meccanismo molecolare che sottende la permeabilizzazione della BEE dopo pre-trattamento con substrati del trasportatore P-gp.

## **Publicazioni**

Sardi I, la Marca G, Giovannini MG, Malvagia S, Guerrini R, Genitori L, Massimino M, Aricò M. Detection of doxorubicin hydrochloride accumulation in the rat brain after morphine treatment by mass spectrometry. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2011 Jun;67(6):1333-40.

Sardi I. Morphine facilitates doxorubicin penetration in the central nervous system: a new prospect for therapy of brain tumors. J Neurooncol. 2011 Jan 14.