

OSSIDO NITRICO E PROTEZIONE CELLULARE

Stefano Fiorucci

Clinica di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Dipartimento di Medicina Clinica, Patologia e Farmacologia, Università degli Studi di Perugia, Italy;

IL monossido d'azoto (NO) mediatore multifunzionale. Sebbene molte delle funzioni svolte dall' NO siano dovute alla formazione di cGMP, in anni recenti è stato ampiamente dimostrato che NO modula funzioni cellulari chiave grazie alla sua capacità di interferire con funzioni proteiche attraverso meccanismi che implicano attivazione, ma più spesso inattivazione funzionale. Uno dei meccanismi meglio conosciuti è la nitrosilazione di residui di cisteina situati nel core catalitico di cisteino-proteasi, risultandone una inattivazione della funzione proteica. Il processo di nitrosilazione è funzione dello stato redox della cellula e non è limitato solo a cisteino proteasi, ma coinvolge anche proteine contenenti nuclei metallici.

L'inattivazione di cisteino-proteasi svolge un ruolo importante nel modulare l'attività anti-infiammatoria ed anti-apoptotica dell' NO. Infatti cisteino-proteasi della famiglia dell' interleukin-1 β converting enzyme (ICE) sono coinvolte sia nella mediazione di funzioni infiammatorie, in quanto regolano la secrezione/maturazione di citochine quali IL-1 β ed IL-18 (IFN- γ inducing factor [IGIF]) sia nella traduzione di segnali pro-apoptotici.

Cisteino proteasi della famiglia di ICE, caspasi, mediano sia la fase di trasduzione (caspasi 8) che la fase effettrice (caspasi 9 e 3) dell' apoptosi. L'NO inibisce l'attivazione di caspasi indotta sia da *death factor* come Fas e TNF- α , sia dovuta al danno mitocondriale diretto (esempio da chemioterapici). L'interazione di NO con caspasi 8 previene il clivaggio di fattori quali *Bid* (una proteina della famiglia di Bcl-2 con effetti pro-apoptotici) arrestando la progressiva depolarizzazione del potenziale di membrana mitocondriale ($\Delta\psi_m$) e la formazione di pori di transizione nella membrana del mitocondrio, evento questo, che prelude al rilascio di citocromo c e caspasi 9 nel citosol ed alla formazione di un complesso proteico (*apoptosome*) tra citocromo c, APAF e caspasi 9, essenziale, a sua volta, per attivare caspasi 9 stessa e quindi per il clivaggio/attivazione di caspasi 3.

Recentemente noi abbiamo dimostrato che NCX-4016 un derivato di aspirina in grado di rilasciare NO in sede intracellulare, ma stabile in soluzioni prive di enzimi, riduce l'apoptosi di cellule endoteliali indotta da deprivazione di fattori di crescita e/o da chemioterapici, quali la doxorubicina o da agenti che danneggiano il mitocondrio quali la staurosporina o la iperglicemia sostenuta. La protezione cellulare osservata in questi modelli appare dovuta ad un insieme di attività dipendenti dal rilascio di NO, quali ad esempio una iperpolarizzazione tempo- e concentrazione-dipendente di $\Delta\psi_m$ che comporta una stabilizzazione della membrana mitocondriale con mantenimento della polarizzazione intracellulare del citocromo c.

L'attività pro- o anti-apoptotica dell' NO dipende inoltre dal consumo di O₂ da parte della cellula, infatti in presenza di elevate concentrazioni di NO (sub-millimolari), la respirazione cellulare viene ridotta fino ad essere abolita a ciò consegue una prima fase di arresto dell' apoptosi seguita però da una rapida transizione verso la necrosi. Questi effetti bifasici sono funzione del tempo ed ovviamente della concentrazione.

Va considerato che molti di questi effetti sono osservabili solo a concentrazioni molto elevate di NO e non sono quindi fisiologici, a tali concentrazioni, infatti, vengono generate quantità considerevoli di radicali liberi, risultando un danno cellulare da free radicals, che non si osserva a concentrazioni sub-micromolari.

Referenze

1. Fallace J.L., L.J Ignaro, S. Fiorucci. Cardioprotective effects of a NO-releasing aspirin. *Nature Review Drug Discovery*. 2002; 1: 375-382
2. Fiorucci S., A. Mencarelli, R. Mannucci, E. Distrutti, A. Morelli, P. del Soldato and S. Moncada. NCX-4016, a nitric oxide-releasing aspirin, protects endothelial cells against apoptosis by modulating mitochondrial function. *FASEB J (in press)*

SIF – Società Italiana di Farmacologia
<http://farmacologiasif.unito.it>