



SEASON ONE

18 Marzo 2021

Piccole molecole di nuova generazione come ipotetici agenti terapeutici impiegati nelle patologie che coinvolgono la permeabilità mitocondriale: dallo studio cinetico al metabolismo cellulare

Cristina Algieri¹, Vincenzo Algieri², Debora La Mantia¹, Loredana Maiuolo², Chiara Bernardini¹, Fabiana Trombetti¹, Antonio De Nino², Monica Forni¹, Salvatore Nesci¹

¹ DIMEVET – Servizio di Bioscienze e Biotecnologie

² Dipartimento di Chimica e Tecnologie Chimiche (CTC), Unical, Arcavacata di Rende, Italia

Background - Il poro di transizione di permeabilità mitocondriale (mPTP), un canale ad alta conduttanza ionica, è correlato a disfunzioni mitocondriali responsabili di diverse condizioni patologiche. L' F_1F_0 -ATPasi mitocondriale sembra essere il principale enzima coinvolto nella formazione del mPTP quando l'attività di idrolisi è sostenuta dallo ione Ca^{2+} piuttosto che dal cofattore naturale Mg^{2+} [1-3] e per questo è considerato un potenziale target di agenti terapeutici [4]. Fra questi, risultano particolarmente promettenti alcune piccole molecole triazoliche che, per la loro capacità di instaurare interazioni con le proteine cellulari, potrebbero esplicare effetti biologici con azione antivirale ed antitumorale [5]. I triazoli sono stati impiegati come modulatori della permeabilità mitocondriale [6] valutando anche i loro effetti sul metabolismo cellulare.

Scopo del lavoro - In questo studio vengono valutati gli effetti e il meccanismo d'azione di due derivati dell'1,2,3-triazolo-1,5-disostituito, identificati come **3a** - **3b**, sulla F_1F_0 -ATPasi mitocondriale di cuore suino attivata da Mg^{2+} o da Ca^{2+} , quest'ultima attività correlata alla formazione del mPTP. Gli eventuali effetti protettivi di inibizione del mPTP sono affiancati dallo studio sulla respirazione mitocondriale e da indagini sul metabolismo cellulare energetico delle cellule endoteliali di aorta di suino (pAEC). Questo duplice approccio consentirà quindi di verificare la mancanza di effetti citotossici dei triazoli nella prospettiva di un loro ipotetico ruolo terapeutico nelle condizioni patologiche in cui mPTP è coinvolto.

Materiali e metodi - Gli studi cinetici e la valutazione del mPTP su mitocondri di cuore suino, isolati mediante centrifugazione differenziale, sono stati condotti mediante tecniche spettrofotometriche e spettrofluorimetriche [6]. La caratterizzazione del metabolismo energetico delle pAEC è stata eseguita mediante tecnologia Seahorse XFp.

Risultati - I derivati triazolici non influenzano l'enzima attivato da Mg^{2+} mentre inibiscono l'attività sostenuta dal Ca^{2+} , correlata all'effetto desensibilizzante sulla formazione del mPTP [6]. La purificazione della porzione idrofila F_1 dell' F_1F_0 -ATPasi ha consentito poi di identificare il sito di legame delle molecole in esame. Inoltre, i composti **3a** e **3b** non alterano la respirazione cellulare mitocondriale. La caratterizzazione del metabolismo energetico consentirà in studi futuri di verificare l'effetto sul metabolismo cellulare delle pAEC.

Conclusioni - L'inibizione dell'attività idrolitica dell' F_1F_0 -ATPasi sostenuta dal Ca^{2+} , evidenziata anche sull'apertura del mPTP da parte dei composti **3a** e **3b**, in assenza di effetti sulla respirazione mitocondriale,

sembra escludere un loro effetto citotossico classificandoli come ipotetici agenti terapeutici da impiegare nelle patologie indotte dall'apertura del mPTP.

Bibliografia

- [1] Nesci et al. Kinetic properties of the mitochondrial F1FO-ATPase activity elicited by Ca²⁺ in replacement of Mg²⁺. *Biochimie* 140, 73–81, 2017.
- [2] Algieri et al. Mitochondrial Ca²⁺ -activated F1FO-ATPase hydrolyzes ATP and promotes the permeability transition pore. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1457: 142–157, 2019.
- [3] Pinke et al. Cryo-EM structure of the entire mammalian F-type ATP synthase, *Nature Structural & Molecular Biology*, 27, 1077-1085, 2020.
- [4] Briston et al. Mitochondrial Permeability Transition: A Molecular Lesion with Multiple Drug Targets, *Trends Pharmacol sci.*, 40(1):50-70, 2019.
- [5] Thirumurugan et al. Click chemistry for drug development and diverse chemical- biology applications, *Chem. Rev.*, 113: 4905-4979, 2013.
- [6] Algieri et al. 1,5-Disubstituted-1,2,3-triazoles as inhibitors of the mitochondrial Ca²⁺-activated F1FO-ATP(hydro)ase and the permeability transition pore. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1485(1):43-55, 2021.

- La **casata** di appartenenza

- One Health

- Blue Growth

- Fundamental Sciences

- Clinical Sciences

- Animal Production

- La **tipologia** del proprio progetto

- Individual Research

- Team Work

- Travelling Scientists