

## **Ruolo dello stress ossidativo mediato dall'enzima glutatione-S-transferasi negli effetti tossici delle tiopurine**

M. Pelin<sup>1</sup>, L. Fusco<sup>1</sup>, S. De Iudicibus<sup>2</sup>, E. Taboga<sup>1</sup>, G. Pellizzari<sup>1</sup>, S. Martellosi<sup>2</sup>, A. Ventura<sup>2,§</sup>, G. Decorti<sup>1</sup>, G. Stocco<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste, 34127 Trieste, Italia;

<sup>2</sup>Ospedale Materno-Infantile IRCCS Burlo Garofolo, 34137 Trieste, Italy

<sup>3</sup>Dipartimento Clinico di Scienze mediche, chirurgiche e della salute, Università di Trieste, 34127 Trieste, Italia;

Gli antimetaboliti tiopurinici azatioprina (AZA), 6-mercaptopurina (6-MP) e 6-tioguanina (6-TG) sono farmaci immunomodulatori, analoghi dei nucleotidi purinici, ampiamente utilizzati nel trattamento di patologie su base autoimmune e in oncologia come antileucemici. Nonostante questi farmaci siano ampiamente impiegati in clinica con comprovata efficacia, è stata registrata un'alta incidenza di effetti avversi in pazienti trattati con dosi standard.

Questo studio è stato effettuato con lo scopo di spiegare, da un punto di vista meccanicistico, l'evidenza clinica, da noi recentemente dimostrata, di un ruolo significativo del genotipo della glutatione-S-transferasi (GST)-M1 sulla risposta alla terapia con AZA in pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali. A questo scopo, le linee non-tumorali umane IHH ed HCEC sono state scelte come modelli predittivi dei tessuti epatici ed intestinali, rispettivamente, in cui le tiopurine subiscono un significativo metabolismo e dove vengono registrati maggiormente gli effetti tossici. Su entrambe le linee, AZA, ma non 6-MP e 6-TG, inducono una produzione di anione superossido concentrazione-dipendente che sembra dipendere dalla deplezione del glutatione ridotto (GSH). In presenza di N-acetil-cisteina, infatti, gli effetti anti-proliferativi dell'AZA sono stati significativamente ridotti in entrambe le linee cellulari. Ciò è in linea con la capacità dell'enzima GST di convertire l'AZA a 6-MP con conseguente consumo di GSH. Con lo scopo di dimostrare questa ipotesi, sono state allestite, su entrambe le linee cellulari, transfezioni stabili per sovra-esprimere l'enzima GST-M1. In particolare, la sovra-espressione di GST-M1 ha aumentato sia la produzione di anione superossido sia la citotossicità, specialmente nelle cellule della linea HCEC.

In conclusione, in questo studio è stato allestito un modello *in vitro* per lo studio del metabolismo delle tiopurine che ha permesso di dimostrare, per la prima volta, il ruolo di GST-M1 nel modulare la citotossicità dell'AZA, con una stretta dipendenza dalla produzione di anione superossido. Questi risultati forniscono le basi molecolari per chiarire le evidenze cliniche che suggeriscono un ruolo del genotipo di GST-M1 nell'influenzare gli effetti del trattamento con AZA.