

Modulazione ormetica della ferroptosi con isotiocianati per prevenire le malattie cardiovascolari e combattere il cancro

Hormetic regulation of ferroptosis with isothiocyanates to prevent cardiovascular diseases and fight cancer

Le attività dell'assegno di ricerca supportano il progetto PRIN 2022 "Hydrogen sulfide releasing isothiocyanates as ferroptosis inhibitors for prevention of cardiovascular diseases", avente come coordinatore scientifico nazionale la Prof.ssa Valentina Citi del Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa e come responsabile di unità locale la Prof.ssa Eleonora Turrini del Dipartimento di Scienze per la Qualità della Vita, Università di Bologna. Il progetto ha l'obiettivo di incentivare la collaborazione scientifica multidisciplinare per sviluppare nuove strategie preventive e/o terapeutiche per contrastare lo sviluppo di patologie cronico-degenerative.

Tutor: Prof.ssa **Eleonora Turrini**

Sedi di attività: Dipartimento di Scienze per la Qualità della Vita (QuVi) – C.so d'Augusto 237 – Rimini

Introduzione

La ferroptosi è una forma di morte cellulare programmata che differisce da apoptosi, necroptosi e autofagia in termini morfologici, biochimici e di meccanismi alla base della sua regolazione. La ferroptosi è caratterizzata da sovraccarico di ferro e perossidazione lipidica (Dixon et al., 2012).

La ferroptosi è un processo biologico che offre diverse applicazioni terapeutiche, poiché la sua modulazione può essere vantaggiosa per contrastare diverse patologie. Sebbene sia un processo fisiologico per il mantenimento dell'omeostasi cellulare, essa può diventare patologica quando eccessivamente attivata, contribuendo, per esempio, allo sviluppo di malattie cardiovascolari. Infatti, l'accumulo di lipoperossidi e il danno ossidativo che ne deriva possono causare danni al sistema cardiovascolare, digestivo, nervoso e urinario (Liu et al, 2022). Di conseguenza, i composti in grado di inibire la ferroptosi, riducendo la perossidazione lipidica e l'accumulo di ferro, possono ostacolare lo sviluppo e la progressione delle suddette patologie. Allo stesso tempo, la ferroptosi ha un ruolo chiave anche nel cancro, perché è stato dimostrato che l'induzione farmacologica di ferroptosi nelle cellule tumorali induce morte cellulare e rappresenta una interessante strategia per il trattamento del cancro (Patanè, 2023).

Pochi sono i farmaci che hanno come bersaglio la ferroptosi e la ricerca di nuovi composti in grado di regolarla può rappresentare una promettente strategia terapeutica. I composti di origine naturale rappresentano una risorsa preziosa per la scoperta di nuovi farmaci, come strategie preventive e/o terapeutiche per contrastare le malattie cronico-degenerative (Zheng, 2021).

Gli isotiocianati sono prodotti biologicamente attivi presenti prevalentemente nelle verdure crucifere appartenenti alla famiglia delle Brassicaceae e derivanti dall'idrolisi dei glucosinolati. La conversione dei glucosinolati in forme bioattive avviene attraverso il processo di idrolisi, catalizzato dall'enzima endogeno mirosinasi (β -tioglucosidasi) o dal microbiota gastrointestinale umano. Gli isotiocianati sono stati ampiamente studiati in vitro ed in vivo per i loro effetti preventivi e terapeutici in molte malattie cronico-degenerative, tra cui il cancro, le malattie cardiovascolari, la neurodegenerazione e il diabete (Olayanju, 2024). Infatti, mostrano proprietà antiossidanti, antinfiammatorie e antitumorali.

La capacità degli isotiocianati di svolgere attività sia preventiva che terapeutica risiede nella loro proprietà ormetica, per cui effetti benefici e protettivi sono osservati a basse dosi, mentre effetti negativi per la sopravvivenza della cellula sono registrati ad alte concentrazioni e quindi potrebbero essere sfruttati come agenti citotossici antitumorali (Na et al., 2023). Per esempio, il sulforafane, il più studiato tra gli isotiocianati, a basse concentrazioni (1 μM) protegge le cellule staminali mesenchimali contro lo stress ossidativo, mentre a dosi più alte (20 μM) induce danno al DNA ed effetti citotossici, con conseguente arresto del ciclo cellulare e apoptosi (Zanichelli et al., 2012). Questa proprietà è di grande rilevanza e pone gli isotiocianati come interessanti candidati per una regolazione ormetica della ferroptosi, la cui inibizione a basse dosi di isotiocianato potrebbe portare a prevenzione, per esempio, delle patologie cardiovascolari e una sua induzione ad alte dosi di isotiocianato per promuoverne l'attività antitumorale.

Obiettivi e piano dell'attività formativa

L'obiettivo del presente assegno di ricerca è quello di valutare l'impatto di vari isotiocianati sulla regolazione della ferroptosi ed il loro potenziale terapeutico, esplorando il contributo della ferroptosi nel loro potenziale per la prevenzione di patologie a basse concentrazioni ed i loro effetti citotossici ed antitumorali a concentrazioni più elevate.

-Isotiocianati come inibitori di ferroptosi in modelli di patologie cardiovascolari in vitro

Isotiocianati come erucina, sulforafane saranno testati per la loro attività anti-ferroptotica in modelli in vitro di patologie cardiovascolari. In particolare, saranno utilizzati tre diversi modelli di danno cardiovascolare in cellule endoteliali dell'aorta (human aortic endothelial cells, HAEC) e cellule muscolari lisce dell'aorta (human aortic smooth muscle cells, HASMCs): i) cellule esposte ad alti livelli di glucosio, per mimare il danno cardiovascolare diabetico; ii) alti livelli di lipoproteine ossidate a bassa densità (ox LDL) per mimare il danno aterosclerotico o iii) alti livelli di omocisteina, che aumenta lo stress ossidativo e lo sviluppo precoce di danno cardiaco. La ferroptosi sarà indotta con noti induttori di ferroptosi come RLS3 (Ras-selective lethal small-molecule 3) ed erastina. In un regime di pre o co-trattamento, l'inibizione della morte cellulare ferroptotica da parte degli isotiocianati sarà studiata attraverso saggi di vitalità cellulare. Gli effetti regolatori sugli eventi molecolari chiave alla base della ferroptosi saranno poi studiati nel dettaglio: ferro intracellulare, perossidazione lipidica, livelli di GSH, espressione di GPX4.

-Isotiocianati come induttori di ferroptosi in linee cellulari tumorali

Le proprietà antitumorali di isotiocianati come sulforafane ed erucina saranno testate su diverse linee cellulari di tumori solidi e liquidi, per comprendere l'eventuale contributo della ferroptosi nell'effetto citotossico osservato. Saranno poi analizzati gli eventi cellulari e molecolari alla base della regolazione della ferroptosi: perossidazione lipidica, livelli di GSH, espressione proteica e molecolare di GPX4. Sarà inoltre esplorata la capacità degli isotiocianati di indurre morte immunogenica (ICD), un evento in cui la cellula morente stimola il sistema immunitario, incrementando in tal modo il potenziale di una completa eradicazione tumorale. L'ICD

sarà determinata misurando il rilascio di specifiche molecole, dette damage-associated molecular patterns (DAMPs), dalle cellule morenti. In particolare, si analizzerà il rilascio nel mezzo di coltura dei principali DAMPs, quali calreticolina, ATP e HMGB1.

Risultati attesi

Si prevede, dopo una prima fase di attività, di presentare i risultati ottenuti mediante comunicazioni a congressi e pubblicazioni su riviste specializzate.

Piano di formazione

Formazione di un ricercatore in grado di operare nel campo della ricerca farmacologica applicata allo sviluppo di nuove strategie preventive e/o farmacologiche per contrastare lo sviluppo di patologie cronico-degenerative, di utilizzare metodologie e strumentazioni avanzate, di saper affrontare le problematiche connesse alle varie fasi del progetto di ricerca tramite la messa a punto di metodiche idonee alla loro risoluzione.

Bibliografia

Dixon et al., Cell 2012; 149:1060-72.
Liu et al., Ann Transl Med 2022; 10(6):368.
Na et al., Int J Mol Sci. 2023; 24(3):1962.
Olayanju et al., Nutrients 2024; 16(6):757
Patanè et al., Int J Mol Sci 2023; 24:17279.
Zanichelli et al., Apoptosis 2012; 17: 964-974.
Zheng et al., Pharmacol Res 2021; 168:105580.