

Riassunto

Titolo della Tesi: Inibizione dell'aldoso reduttasi da emiacetali.

Luogo di svolgimento: Dip. Biologia, Unità di biochimica, Via San Zeno 51, Pisa

Relatori: Prof.ssa Antonella Del Corso, Dr. Francesco Balestri

L'aldoso reduttasi (alditol:NADP oxidoreductase, EC 1.1.1.21) (AR) è un enzima citosolico monomero, appartenente alla famiglia delle aldo-cheto reduttasi, in grado di agire su aldeidi sia aromatiche che alifatiche. Esso catalizza la prima tappa (che è anche quella limitante) della via dei polioli, che consiste nella riduzione NADPH-dipendente del glucosio in sorbitolo. La seconda tappa della suddetta via, catalizzata dalla sorbitolo deidrogenasi, converte il sorbitolo in fruttosio, in una reazione NAD⁺-dipendente.

In condizioni fisiologiche, la via dei polioli coinvolge meno del 3% del glucosio totale presente nella cellula, poiché la quasi totalità dello zucchero viene fosforilato dalla esochinasi, che lo convoglia nella via glicolitica. In condizioni di iperglicemia, come nel caso dei soggetti diabetici, una quota di glucosio diventa substrato dell'aldoso reduttasi e il flusso di glucosio attraverso la via dei polioli può interessare percentuali fino al 30% del glucosio totale.

L'aumento di flusso attraverso la via dei polioli è considerato dannoso per una serie di ragioni: la prima riguarda l'accumulo di sorbitolo all'interno della cellula, che causa uno squilibrio osmotico tale da richiamare acqua dall'esterno, con gravi alterazioni del normale equilibrio elettrolitico. La seconda riguarda l'aumento della produzione di fruttosio che, essendo un agente glicante addirittura migliore del glucosio stesso, può indurre fenomeni di glicazione proteica. Infine, l'aumento del consumo di NADPH ad opera dell'AR determina una riduzione delle difese antiossidanti della cellula.

Queste alterazioni metaboliche correlate con l'aumentato flusso attraverso la via dei polioli sono considerate responsabili dell'insorgenza delle cosiddette complicanze diabetiche, che includono cataratta, neuropatie, nefropatie e retinopatie. Per questo l'AR è da tempo considerata un bersaglio per l'identificazione di inibitori che possano portare allo sviluppo di farmaci contro le complicanze del diabete.

Sebbene il glucosio rappresenti uno dei substrati di AR più rilevanti dal punto di vista fisiopatologico, la reazione di riduzione catalizzata dall'enzima mostra ancora alcuni aspetti non completamente chiariti. Tra questi, l'apparente cooperatività negativa che è stata osservata con questo substrato e che è stata ascritta all'esistenza di più forme enzimatiche.

Il lavoro sperimentale riportato in questa tesi ha fatto uso sia di AR ricombinante umana sia di AR isolata da cristallino bovino. I risultati ottenuti indicano che le strutture emiacetaliche degli aldosi esercitano un effetto modulatore sulla riduzione della forma aldeidica libera catalizzata dall'AR e che questo effetto è in grado di dare spiegazione dell'apparente negatività cooperativa osservata per l'enzima.