

Identificazione di nuovi ligandi dei recettori PPAR α PPAR γ , e analisi della struttura tridimensionale dei complessi recettore-ligando

V.Cafiero, C.Godio, N.Mitro, D.Caruso, G.Fracchiolla¹, A.Laghezza¹, A.Lavecchia², F.Lodiodice¹, F.Mazza³, E.Novellino², G.Pochetti³, P.Tortorella¹, V. Tortorella¹ e M.Crestani

Università degli Studi di Milano; Università degli Studi di Bari¹; Università degli Studi di Napoli²; Istituto di Cristallografia, CNR, Roma³

I Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPARs) alfa, gamma e delta sono recettori nucleari coinvolti nella regolazione del metabolismo lipidico e glucidico, nel differenziamento cellulare, nella risposta infiammatoria e in processi patologici quali diabete di tipo 2, aterosclerosi, obesità e tumori.

Considerato il coinvolgimento dei PPARs in questi processi e il crescente interesse nello studio di composti con attività dualistica sui recettori PPARalfa e PPARgamma, in grado di combinare gli effetti benefici sul metabolismo lipidico e glucidico, scopo di questa ricerca è stata la caratterizzazione delle proprietà biologiche di molecole sintetiche con attività dualistica, come la coppia di enantiomeri LT127 e LT160, e LT175 derivati da un composto precedentemente caratterizzato nel nostro laboratorio.

L'analisi dell'attività trascrizionale ha evidenziato che LT160 e LT175 attivano entrambi i recettori, con una potenza ed efficacia più elevate del Wy14,643 sull'isotipo alfa ma con una potenza ed efficacia inferiori o paragonabili al rosiglitazone sull'isotipo gamma, mentre LT127 ha potenza ed efficacia minori degli altri composti analizzati sia su PPARalfa che su PPARgamma. L'attività di questi composti è stata confermata misurando l'espressione di geni bersaglio di PPARalfa e gamma.

Per caratterizzare il tipo di interazione recettore-ligando abbiamo purificato e cristallizzato la proteina contenente il ligand binding domain di PPARgamma per poi analizzare queste strutture ai raggi X, in presenza dei due ligandi. L'analisi cristallografica ha rivelato che LT160 assume due diverse conformazioni nel sito attivo del recettore, mentre LT175 si dispone in un'unica posizione. Abbiamo confrontato le posizioni assunte da LT160 e LT175 nella tasca recettoriale con quella assunta dal rosiglitazone, per giustificarne la diversa attività su PPARgamma. La potenza più elevata del rosiglitazone è giustificata dalla maggiore rigidità strutturale conferita all'alfa-elica 12 che consente una più stabile interazione con il coattivatore SRC-1.

Lo studio della struttura tridimensionale del complesso ligando-recettore è risultata fondamentale per stabilire la relazione struttura-attività di questi ligandi e per il disegno razionale di nuove molecole con attività dualistica.