

## **LA REGOLAZIONE DELLA NO SINTETASI INDUCIBILE DA PARTE DEGLI ESTROGENI E' ALTERATA IN CELLULE MUSCOLARI AORTICHE DI RATTO DIABETICO**

Minici C, Cignarella A, Brusadelli A, Bolego C, Maggi A, Puglisi L.

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano, Via Balzaretti 9, 20133 Milano

In questo studio abbiamo valutato l'espressione e l'attività dell'enzima NO sintetasi inducibile (iNOS) in cellule muscolari lisce (SMC) ottenute dalle aorte di ratti sani e diabetici e la regolazione di questo processo da parte del  $17\beta$ -estradiolo ( $E_2$ ).

La cinetica di espressione e l'attività della iNOS in seguito a stimolazione con citochine sono risultate rallentate in SMC diabetiche rispetto alle SMC controllo. I livelli di mRNA e l'attività della iNOS sono diminuiti in seguito al trattamento per 24 ore con concentrazioni crescenti di  $E_2$  ( $10^{-11}$ - $10^{-9}$  M) in SMC controllo ma sono aumentati in SMC diabetiche. Il medesimo trattamento ha ridotto l'espressione della proteina iNOS, misurata con Western blotting, dopo 24 ore di stimolazione in SMC controllo, ma solo dopo 48 ore in SMC diabetiche.

Valutando l'espressione dei recettori degli estrogeni (ER), si è osservato che i livelli di mRNA e di proteina di  $ER\alpha$  e  $ER\beta$  erano maggiori nelle SMC diabetiche rispetto alle SMC controllo e calavano in entrambi i tipi cellulari dopo la stimolazione con citochine. Il trattamento con  $E_2$  ha regolato positivamente i valori di mRNA e di proteina di  $ER\alpha$  in entrambi i tipi cellulari, mentre ha provocato un abbassamento dei livelli di  $ER\beta$ , che rimanevano comunque significativamente superiori nelle SMC diabetiche.

Inoltre, abbiamo osservato che le due isoforme di ER regolano in modo opposto la iNOS: infatti, mentre il 2,3-bis-(4-idrossifenil)-propionitrile (DPN), un agonista selettivo per  $ER\beta$ , ha aumentato l'espressione dell'enzima in entrambi i gruppi, il 1,3,5-(4-idrossifenil)-4-propil-1H-pirazolo (PPT), un agonista selettivo per  $ER\alpha$ , ha diminuito l'espressione della iNOS in SMC controllo senza modificarla nelle SMC diabetiche.

In conclusione, la regolazione negativa della iNOS da parte dell' $E_2$  nelle SMC appare mediata da  $ER\alpha$ .

Tale effetto protettivo è attenuato nelle SMC diabetiche a causa di un'alterata espressione funzionale delle due isoforme di ER, la quale può rappresentare un nuovo aspetto della disfunzione vascolare del diabete.