

*ABSTRACT\_en*

**ORGAN SULFUR COMPOUNDS AND  
INTERACTIONS WITH THE DETOXIFICATION  
AND REDOX SYSTEM**

Many Organ Sulfur Compounds (OSCs), founded in garlic, are able to induce apoptosis in various tumoral cell lines [80]. Recently, in the aqueous phase of boiled garlic has been found the 2-propenyl thiosulfate (2-PTS), and it can induce apoptosis in several tumor cell lines, through the intracellular ROS production [16, 75]. Besides, recent works [38, 39, 75] highlight that the enzymes thioalkenylation can be one of the causes of cytotoxic effect of this type of compounds. Since to this observations, has been valuated the cytotoxic effect of 2-PTS on a human lymphoblastoma cell line (HuT 78), monitoring the activity and expression of some enzymes involved in the OSCs metabolism, such as Rhodanese (TST), Glutathione-S-transferase (GST), Thioredoxin (Trx), Thioredoxin reductase (Trd). All these enzyme are very important for the cell vitality, and their dysfunction causes severe diseases [7] and is related to the apoptotic induction [2, 54, 76]. In our experiments we have observed the ability of 2-PTS to oxidase all the proteins examined trough a thioalkenylation mechanism of cysteine residues, except Trx, essential for their enzymatic activity.

Has been also observed the reaction between the 2-PTS and another important molecule, the glutathione (GSH). The 2-PTS can react with the GSH at physiological condition, producing S-allyl-mercaptogluthatione

## *ABSTRACT*

(GSSP), which is used, after its characterization, for molecular and cellular studies. Molecular studies indicates that GSSP is a competitive inhibitor of GSTM1-1, with a  $K_i$  of about 0,1 mM. Cellular studies on HuT 78 cell line, shows an inhibition of cell proliferation, with a  $G_1/S$  phase blockage of the cell cycle, and an activation of p38 MAPKinase. It has been also observed the ability of GSSP to increment the intracellular concentration of Doxorubicin, incrementing its cytotoxic effect, in the case of combinate treatment of GSSP and Dox, respect to the only treatment with a non-toxic concentration of Doxo. The increase of the effect of Doxo is attended with an increment of expression of CDKN1A, p21.

All these results gives prominence to the discovery of the role of the Trx-Trd-TST system as detoxifying system of the OSCs, because a dysregulation of expression or activity of one o more components of the system, as the case of some pathology [8, 9, 88, 91], could compromise the detoxification skill of the cell, explaining the major sensibility of some tumor cells to the OSCs treatment, or causing the develop of pathology correlated to the incorrect OSCs metabolism [88, 91]. Moreover, the inhibition of GST from 2-PTS and GSSP gives further indications on the intracellular mechanism of action of this type of compounds.

In the end, the discover of the GSSP effect give indications on the possibility to use the co-treatment with chemoterapic (Doxo) and OSCs as possible methodological approach to reduce the used chemoterapic dose.

*ABSTRACT\_ita*

**COMPOSTI ORGANICI CONTENENTI ZOFO:  
INTERAZIONI CON GLI ENZIMI DEL SISTEMA  
DETOSSIFICANTE E REDOX**

Molti composti organici contenenti zolfo (OSCs) ritrovati nell'aglio sono in grado di indurre apoptosi in varie linee tumorali [80]. Recentemente, è stato ritrovato nella fase acquosa dell'aglio bollito il 2-propenil tiolsolfato (2-PTS), ed è stato visto essere in grado di indurre apoptosi in più linee tumorali, tramite la produzione di ROS intracellulari [16, 75]. Inoltre, recenti lavori [38, 39, 75] hanno messo in evidenza il fatto che la tioalchenilazione degli enzimi sia una delle cause dell'effetto citotossico di questi composti. Sulla base di ciò è stato valutato l'effetto citotossico del 2-PTS su una linea di linfoblastoma umano (HuT 78), sulla quale è stata monitorata l'attività e l'espressione di alcuni enzimi, che è stato visto essere coinvolti metabolismo degli OSCs, come la Rodanesi (TST), la Glutazione-S-transferasi (GST), la Tioredossina (Trx), la Tioredossina reductasi (Trd). Tutti questi enzimi sono importantissimi per la vitalità cellulare, ed una loro disfunzione causa gravi patologie [7] ed è visto essere associata anche all'induzione apoptotica [2, 54, 76]. Nei nostri esperimenti è emersa la capacità del 2-PTS di ossidare tutte le proteine in esame attraverso un meccanismo di tioalchenilazione, tranne che per la Trx, di residui di cisteina essenziali per la loro attività enzimatica.

E' stata, inoltre, monitorata la reazione tra il 2-PTS ed un'altra molecola

## ABSTRACT

importante, il glutatione (GSH). Il 2-PTS è in grado di reagire con il GSH in condizioni fisiologiche, producendo l' S-allil-mercaptoglutatione (GSSP), il quale dopo essere stato caratterizzato è stato utilizzato per studi molecolari e cellulari. Gli studi molecolari evidenziano che il GSSP è un inibitore competitivo della GSTM1-1, ed ha una  $K_i$  di circa 0.1 mM. Gli studi cellulari sulla linea HuT 78, invece, mostrano un'inibizione della proliferazione cellulare, associata ad un blocco della fase  $G_1/S$  del ciclo cellulare, e un'attivazione della MAPKinasi p38. E' stata inoltre osservata la capacità del GSSP di incrementare la concentrazione intracellulare di Doxorubicina, aumentando così l'effetto citotossico del chemioterapico, nel caso si utilizzasse un co-trattamento di GSSP e Doxo, rispetto al solo trattamento con una concentrazione non tossica di Doxo. L'aumento dell'effetto della Doxorubicina è accompagnato con un aumento dell'espressione della CDKN1A, p21.

Tutti questi risultati danno molta importanza alla scoperta del ruolo del sistema Trx-Trd-TST come sistema detossificante per gli OSCs, poichè una disregolazione dell'espressione o dell'attività di uno o più componenti del sistema, come nel caso di alcune patologie [8, 9, 88, 91], potrebbe compromettere la capacità detossificante della cellula, giustificando così la maggiore sensibilità di alcune cellule tumorali al trattamento con gli OSCs, rispetto a quelle non tumorali, o dare luogo allo sviluppo di patologie correlate allo scorretto metabolismo degli OSCs [88, 91]. L'inibizione, inoltre, della GST da parte del 2-PTS e del GSSP da ulteriori indicazioni sul meccanismo d'azione di questo tipo di composti all'interno della cellula.

Infine, la scoperta degli effetti del GSSP da indicazioni sulla possibilità di utilizzare il co-trattamento con chemioterapici (Doxo) e OSCs come

*ABSTRACT*

possibile approccio metodologico per abbassare le dosi di chemioterapico somministrato.