

RESUMO

Considerando as múltiplas funções do monóxido de azoto ou óxido nítrico (NO) como mediador das respostas induzidas pela interleucina-1 (IL-1), especialmente no que respeita à fisiopatologia das doenças artríticas, o conhecimento dos mecanismos que regulam a sua síntese assume grande importância, tanto do ponto de vista fisiopatológico, como terapêutico. O principal objectivo do presente trabalho foi, por isso, estudar o papel dos factores de transcrição “Factor Nuclear- κ B” (NF- κ B) e “Proteína Activadora-1” (AP-1) na expressão da isoforma indutível da sintase do NO (NOS II), induzida pela IL-1 em condrócitos articulares. Para isso, investigámos os mecanismos através dos quais a IL-1 induz essas respostas, designadamente estudando o papel das espécies reactivas de oxigénio (ROS), das “cinases de resíduos de tirosina das proteínas” (PTK) e das “cinases de proteínas activadas por mitogénios” (MAPK) como mediadores da activação do NF- κ B e do AP-1 e da expressão da NOS II induzidas pela IL-1. Como o próprio NO é capaz de modular a actividade do NF- κ B e do AP-1 e a expressão da NOS II, activando estas respostas numa célula e inibindo-as noutras, procurámos também identificar possíveis mecanismos de regulação da expressão da NOS II envolvendo processos de retroalimentação positiva ou negativa, gerados pelo próprio NO. Com este objectivo, estudámos o papel do NO na activação do NF- κ B e do AP-1 e na expressão da própria NOS II. Por último e procurando contribuir para um melhor conhecimento dos seus mecanismos de acção, estudámos a capacidade de dois fármacos utilizados na terapêutica da osteoartrite, a diacereína e o seu metabolito activo, a reína, para impedirem a activação do NF- κ B e a expressão subsequente da NOS II induzidas pela IL-1, em condrócitos articulares.

Os resultados obtidos, utilizando culturas primárias, confluentes, de condrócitos articulares bovinos como modelo experimental, mostram que:

- o NF- κ B medeia a transcrição do gene da NOS II em resposta à IL-1, pois todos os compostos que impediram a sua activação, inibiram com igual eficácia a síntese do ARNm e da proteína da NOS II;
- o anião superóxido e as PTK, possivelmente incluindo também a “cinase Janus 2”, são indispensáveis para a activação do NF- κ B e para a expressão subsequente da NOS II;
- a p38^{MAPK} é necessária para a expressão da NOS II, mas não para a activação do NF- κ B. No entanto, é possível que esta MAPK seja necessária para que o NF- κ B adquira a capacidade de activar a transcrição dos genes alvo. É também possível que a p38^{MAPK} medie a activação de outro factor de transcrição igualmente essencial para a expressão da NOS II;
- o NO impede a activação do NF- κ B e a expressão da NOS II induzidas pela IL-1. Esta citocina induz a degradação da NOS I expressa de forma constitutiva nos condrócitos. Em conjunto, estes resultados sugerem que o NO pode estar envolvido num mecanismo de auto-regulação que impede a activação accidental ou inadequada do NF- κ B. Este mecanismo poderá também contribuir para restringir a activação continuada do NF- κ B e/ou a sua indução em resposta a um segundo estímulo;
- a diacereína e a reína impedem a degradação do I κ B- α e, conseqüentemente a activação do NF- κ B e a expressão de genes que dependem deste factor de transcrição, designadamente do gene da NOS II. Estes resultados explicam muitos dos efeitos anti-osteoartríticos da diacereína e da reína e sugerem que os dois fármacos podem também exercer efeitos anti-inflamatórios e condroprotectores, o que pode ser útil noutros tipos de doenças artríticas, incluindo as artrites inflamatórias;
- as ROS, particularmente o H₂O₂, e o NO medeiam a activação do AP-1 induzida pela IL-1. No entanto, concluímos que este factor de transcrição não participa na expressão da NOS II, seja como indutor, seja como repressor, porque a sua inibição não teve qualquer efeito na expressão da NOS II induzida

pela IL-1 e a presença de dímeros AP-1 activados não modificou essa resposta. Porém, o NO produzido em consequência da expressão da NOS II, pode contribuir para a activação prolongada do AP-1, inicialmente mediada pelo H₂O₂, e, assim, regular a expressão de genes que dependem deste factor de transcrição;

- O difenileniodónio, um inibidor de enzimas que contém grupos flavonóides, impediu tanto a activação do NF-κB, como do AP-1, induzidas pela IL-1, indicando que a inibição da produção celular de ROS é suficiente para impedir a activação destes dois factores de transcrição.

Em conclusão, os resultados apresentados identificam alguns mecanismos relevantes para a regulação da actividade do NF-κB e do AP-1 e da expressão da NOS II induzidas pela IL-1, em condrócitos articulares. Tendo em conta o papel destes dois factores de transcrição na indução de genes cujas proteínas, incluindo a NOS II, contribuem para a degradação da cartilagem e para a inflamação articular, a inibição da produção celular de ROS pode constituir uma estratégia terapêutica simultaneamente anti-inflamatória e condroprotectora.

Os resultados obtidos evidenciam, ainda, duas funções opostas do NO: por um lado, a sua capacidade para activar o AP-1 e, por outro, a sua eficácia como inibidor do NF-κB. Esta dualidade de funções do NO levanta algumas questões quanto ao seu real papel na fisiopatologia das doenças artríticas. Conforme sugerido por Colasanti e Suzuki (2000), a visão clássica de que baixas concentrações de NO, produzidas pelas isoformas constitutivas da NOS, estão envolvidas em processos fisiológicos, enquanto concentrações elevadas, resultantes da actividade da NOS II, desempenham um papel em processos patológicos, é claramente insuficiente para explicar os mecanismos moleculares que regulam a síntese e as acções do NO. Apesar do enorme interesse que tem despertado, o NO continua a levantar inúmeras questões, cujas respostas contribuirão, certamente, para uma melhor compreensão dos processos fisiopatológicos em que participa e, conseqüentemente, para o desenvolvimento de terapêuticas mais eficazes que permitam modular e aproveitar da melhor forma as suas múltiplas capacidades.