



Sodium Nitroprusside Triggered ROS Accumulation to Induce HepG2 Cells Apoptosis via AKT/Nrf2/HO-1 Pathway

Mengyao CAO, Ling LIU*, Jingjing CHEN & Jinglei XU

Department of Pharmacy, Medical College, Henan University of Science and Technology,
Luoyang 471003, China

SUMMARY. Sodium nitroprusside (SNP) can release NO to induce cancer cell apoptosis. The present study explored the mechanism of apoptotic cells induced by SNP. SNP inhibited HepG2 cells proliferation and induced apoptosis in a dose-dependent manner. SNP treatment increased the level of NO in apoptotic cells. Consistent with this, SNP-induced apoptotic HepG2 cells were characterized by accumulation of the reactive oxygen species (ROS), loss of the mitochondrial membrane potential, and increase of Bax-to-Bcl-2 ratio. The levels of Cyt c and AIF were decreased in mitochondria and increased in cytosol. Moreover, caspase-9 and caspase-3 were activated, which indicated that mitochondrial-mediated pathway was involved in SNP-induced apoptosis. Simultaneously, SNP treatment caused ROS accumulation, inhibited the expression of p-AKT, and HO-1. SNP treatment decreased the accumulation of Nrf2 in the nucleus and increased the expression in the cytosol. NAC and carboxy-PTIO could reverse the above events. Pre-treatment with NAC (an antioxidant) significantly decreased the ratio of Bax/Bcl-2, the expression of Cyt c and AIF in the cytosol, partly declined the activation of caspase-3. Meanwhile, it also increased the expression of p-AKT and HO-1, and decreased the accumulation of Nrf2 in the cytosol. Pre-treatment with Carboxy-PTIO meaningfully blocked up-regulation of Bax, down-regulation of Bcl-2 and the activation of caspase-3 in SNP-induced apoptotic cells. It also blocked accumulation of Cyt c, AIF and Nrf2, decreased of p-AKT and HO-1 in the cytosol of SNP-treated cells. Taking together, these results suggested that SNP released NO, which caused ROS accumulation to induce apoptosis through inhibiting AKT/Nrf2/HO-1 anti-oxidation signaling pathway.

RESUMEN. El nitroprusiato de sodio (SNP) puede liberar NO para inducir la apoptosis de las células cancerosas. El presente estudio exploró el mecanismo de las células apoptóticas inducidas por SNP. SNP inhibió la proliferación de células HepG2 e indujo la apoptosis de una manera dependiente de la dosis. El tratamiento con SNP aumentó el nivel de NO en las células apoptóticas. De acuerdo con esto, las células HepG2 apoptóticas inducidas por SNP se caracterizaron por la acumulación de las especies reactivas de oxígeno (ROS), la pérdida del potencial de membrana mitocondrial y el aumento de la relación Bax-a-Bcl-2. Los niveles de Cyt c y AIF disminuyeron en las mitocondrias y aumentaron en el citosol. Además, la caspasa-9 y la caspasa-3 se activaron, lo que indicaba que la vía mediada por mitocondrias estaba involucrada en la apoptosis inducida por SNP. Simultáneamente, el tratamiento con SNP causó la acumulación de ROS, inhibió la expresión de p-AKT y HO-1. El tratamiento con SNP disminuyó la acumulación de Nrf2 en el núcleo y aumentó la expresión en el citosol. NAC y Carboxy-PTIO podrían revertir los eventos anteriores. El tratamiento previo con NAC (un antioxidante) disminuyó significativamente la proporción de Bax/Bcl-2, la expresión de Cyt c y AIF en el citosol, disminuyó en parte la activación de la caspasa-3. Mientras tanto, también aumentó la expresión de p-AKT y HO-1 y disminuyó la acumulación de Nrf2 en el citosol. El pretratamiento con Carboxy-PTIO bloqueó significativamente la regulación positiva de Bax, la regulación negativa de Bcl-2 y la activación de caspasa-3 en células apoptóticas inducidas por SNP. También bloqueó la acumulación de Cyt c, AIF y Nrf2, disminución de p-AKT y HO-1 en el citosol de las células tratadas con SNP. En conjunto, estos resultados sugirieron que SNP liberó NO, lo que provocó que la acumulación de ROS indujera apoptosis al inhibir la vía de señalización de antioxidación AKT/Nrf2/HO-1.

KEY WORDS: apoptosis, nitric oxide, reactive oxygen species, SNP.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: liuling921@126.com