

МЕДИЦИНСКИТЕ РАСТЕНИЯ КАТО ИНДУКТОРИ НА АПОПТОЗАТА

Веселина Петрова-Тачева*, Севдалина Алекова, Борислав Попов*,
Светлана Георгиева*****

**Катедра «Молекулярна биология, имунология и медицинска генетика», Медицински факултет*

***Катедра «Обща медицина и офталмология», Медицински факултет*

****Катедра «Генетика, развъждане и репродукция», Аграрен факултет
Тракийски университет, Армейска 11, гр.Стара Загора
e-mail:vesepetr@abv.bg*

MEDICINAL PLANTS AS INDUCERS OF APOPTOSIS

Veselina Petrova-Tacheva *, Sevdalina Alekova **, Borislav Popov *, Svetlana Georgieva ***

**Department of Molecular Biology, Immunology and Medical Genetics, Faculty of Medicine*

***Department of General medicine and Ophthalmology, Faculty of Medicine*

****Department of Genetics, Animal Breeding and Reproduction, Agricultural Faculty
Trakia University, 11 Armejska str., Stara Zagora, Bulgaria*

ABSTRACT

Programmed cell death plays a fundamental role in human development and tissue homeostasis. Abnormal function of this process is associated with a wide variety of human diseases, including immunological, neurodegenerative and developmental disorders, and many types of cancer. This article reviews the current knowledge on the molecular mechanisms of apoptotic cell death. The potential of some medicinal plants as apoptosis inducers is also analyzed.

Key words: apoptosis, medicinal plants, apoptosis modulators

ВЪВЕДЕНИЕ

Апоптозата е общобиологичен процес, характерен за всички многоклетъчни организми. Чрез нея се осигурява и се контролира развитие на организма, диференцирането на клетките, поддържането на тъканната хомеостаза и защитата от патогени. Отклоненията от нормално протичащата апоптоза - засилена или подтисната, водят до тежки заболявания, често с летален изход.[1] Поради това изследванията на основните пътища за нейното активиране, основните й етапи и молекулярни механизми, ролята на различни сигнални молекули както и възможностите за нейното регулиране и контрол са особено важни и актуални. Много медицински растения са източници на разнообразни биоактивни съединения и проявяват антиоксидантни, антимуtagenни, антиканцерогенни и имуномодулиращи свойства. Многобройни изследвания показват, че чрез лечебните растения може да се въздейства и върху клетъчния цикъл, клетъчната пролиферация и програмираната клетъчна смърт.

ЦЕЛ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Да се разгледат възможностите за регулиране и контрол на клетъчната апоптоза в насока индукция под въздействие на различни медицински растения като се обърне особено внимание на установените ефекти на растителните екстракти върху основните пътища за активиране на апоптозата, върху нейните основни етапи и молекулярни механизми.

ИЗЛОЖЕНИЕ

Основни етапи, пътища и контрол на апоптозата

Апоптозата е сложен и многостъпален процес, в който могат да се отдиференцират няколко основни етапи:

1. Индукция или пускане на апоптозата
2. Активация на проапоптотични белтъци
3. Каскада на каспазите
4. Разграждане на вътреклетъчните органели или тяхното преобразуване
5. Фрагментация на клетката на апоптотични телца
6. Подготовка на клетката и на нейните фрагменти за фагоцитоза от макрофагите или от съседните клетки. [2]

Активирането на апоптозата може да се осъществи по няколко различни пътя и взаимност от това се различават:

- апоптоза, активираща се от рецептори на клетъчната мембрана
- апоптоза, активираща се от митохондриалните белтъци
- апоптоза, включваща се от гранзим В цитотоксични Т-лимфоцити
- апоптоза, включваща се от RGD пептиди
- апоптоза, зависима от ендоплазматичния ретикулум
- загуба на клетъчното ядро като особенна форма на апоптоза [1]

През ефекторната фаза на апоптозата основна роля имат каспазите. Каспазите спадат към семейството на еволюционно консервативни протеази. Известни са 14 члена на семейството. Те специфично узнават и изрязват пептидите в С-терминалния им край, в който се среща мотив от 4 аминокиселини, включващ аспарагинова киселина. [1, 3] В клетките каспазите се синтезират под формата на латентни предшественици- проензими, наречени прокаспази. По субстратна специфичност се различават инициращи и ефекторни каспази. Активацията на инициращите прокаспази става с участието на специални белтъци-адаптори. На етап активация на инициращи каспази живота на клетката все още може да бъде съхранена. Субстратите на инициращите каспази (към тях се отнасят каспази-2, -8, -9, -10 и -12) са латентните форми на ефекторните каспази- прокаспази-3, -6 и -7. Активираните ефекторни каспази имат многобройни ефекти в клетката като протеолиза на инхибиторите на ДНКазите (отговорни за фрагментацията на ДНК), инактивация и нарушаване регулацията на белтъците, участващи в репарацията на ДНК, сплайсинга на мРНК и репликацията на ДНК, разграждане на белтъци на цитоскелета (ламинини, актин, фодрин, кератин) и др. Най-голяма активност в разграждането на тези белтъци има каспаза-3. Счита се, че след нейната активация клетката губи необратимо възможността за преживяване. [1] Във всички клетки имат каспази [3] и затова тяхната регулация е изключително сложен и важен процес.

Към физиологичните инхибитори на апоптозата се отнасят растежните фактори, екстрацелуларния матрекс, CD40L, неутрални аминокиселини, цинк, естрогени, андрогени и др. [4] Цитокините са една от най-многобройните групи биологично активни вещества, оказващи влияние върху процеса на клетъчна смърт. Ефектът на някои цитокини обаче може да бъде разнопосочен и зависи както от типа клетки, така и от тяхното функционално състояние. Класически индуктори на апоптозата са стероидните хормони, които оказват своето действие чрез ядрените рецептори. [5]

Апоптозата се контролира от гени с иницираща функция (смъртоносни гени), и гени със супресорна функция (антиапоптозни гени). Например ген bcl2 е антиапоптозен ген. Неговото въздействие върху апоптозата може да се осъществи по няколко различни механизми. Кодираният от него продукт може да се свърже с проапоптозни молекули и да регулира тяхната летална активност, може да се включва в комплекси с други ефекторни летални молекули или пък включвайки се в интрацелуларните мембрани проявява

цитопротективен ефект. Активността на ген *bcl2* се регулира от девет родствени гена на фамилията *bcl2*, които могат да променят неговото въздействие върху апоптозата. Като примери за апоптозни гени могат да се посочат гените кодиращи каспазите. [3]

Апоптоза и лечебни растения

Детайлното изучаване на различните механизми и етапи на регулацията на апоптозата позволява да се обяснят патофизиологичните механизми лежащи в основата на заболяванията, свързани с абнормна апоптоза. Натрупаните знания способстват и за разработването на нови молекулярни и клетъчни технологии с цел корекция на настъпилите отклонения. [6] Особено интензивно се работи в областта на онкотерапията и имуномодулацията. Безспорен факт е обаче, че голям брой от използваните за лечение силно и бързо действащите синтетични продукти трудно се възприемат от организма, натрупват се в него, увреждат кръвта или други здрави тъкани и органи и често показват странични действия. [7] Растителните препарати в сравнение с тях са по-малко токсични, което се обяснява със химичния състав на биологично активните им съставки, а също и с известното сродство на метаболизма на растителната и животинската клетка. [8] Действащите съставки на лечебните растения се приемат от болния организъм по-лесно, по-естествено и без токсични прояви. [7] Отличителна особеност на лечебните растения е тяхната поливалентност, която се обуславя от сложения химичен състав на растителната клетка. [9] Растенията са източник на разнообразни биоактивни съединения (витамины, полизахариди, гликопротеини, аминокиселини, сулфиди, сапонини, полифеноли, терпеноиди, изофлавоноиди, индоли и др.) проявяващи антиоксидантни, антимулагенни, антиканцерогенни и имуномодулиращи свойства. [8]. Многобройни изследвания показват, че чрез лечебните растения може да се въздейства върху клетъчния цикъл, клетъчната пролиферация и програмираната клетъчна смърт.

Активиране на апоптозата чрез рецептор зависимия сигнален път. Изследванията с приложен върху белодробни туморни клетъчни линии растителен екстракт от *Stellera chamaejasme L.* (растение използвано в традиционната китайска медицина за лечение на белодробен, чернодробен и езофагиален карцином) показват, че растителният екстракт води до засилена апоптоза, увеличена активност на каспаза-3 и каспаза-8 както и до увеличена Fas експресия. Изследователите считат, че апоптозната индукция се осъществява чрез активиране на Fas рецепторния път. [10, 11] Тритерпенът *Saikosaponin D* получено от растението *Bupleurum falcatum* е установено, че също води до индукция на Fas/APO1. Освен това увеличава експресията на p53 и p21/WAF1 протеини. [12]

Активиране на апоптозата чрез митохондриалния сигнален път е описан при изследвания с етилацетатен екстракт от *Patrinia scabiosaefolia Fisch* [13], под въздействие на изохинолиновия алкалоид *fangchinoline* изолиран от *Radix Stephaniae tetrandrae* [14], а също и под действието на *Saikosaponin D* изолиран от *Bupleurum falcatum L.* [15] Алкалоидът *acutiaporberin* изолиран от традиционната китайска билка *Thalictrum acutifolium* инхибира експресията на *bcl-2* гена и активира експресията на *baх* гена. [12] Гликоалкалоидът *соламаргин* от *Solanum incanum* увеличава освобождаването на цитохром С, намалява активността на *bcl-2* и *bcl-XL* и увеличава активността на *Вах* и каспаза-3. [12]. Установено е, че метанолов екстракт от билката *Pereskia bleo* активира каспаза-3 и с-тус пътища. [16]

Въздействие върху каспазната каскада. Изследванията с метанолов екстракт от *Coxi lachryma* предизвиква инхибиране на експресията на циклин А и активиране на каспазната каскада. [17, 12] Етанолов екстракт от *Scutellaria barbata* също води до активиране на апоптозата чрез каспазната каскада. Установена е повишена активност на каспаза-3 и каспаза-7. Установена е и повишена активност на гени, контролиращи клетъчния цикъл като *STK6*, *MCM* и др. [12]

Активиране на белтък p53. Описано е активиране на апоптозата чрез p53 опосредстван път при опити със *Saikosaponin D* екстрахиран от *Bupleurum falcatum* [17,12],

както и с *триптолида* (triptolide) и негови деривати, изолирани от китайската билка *Tripterygium wilfordii Hook F* и др.[17, 12]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Чрез растителните екстракти могат да се модулират основните пътища за активиране на апоптозата. Чрез тях може да се избирателно да се влияе върху нейни основни етапи и молекулярни механизми. Прилагането им в лечебната практика като апоптозни регулатори изисква провеждането на задълбочени и обширни експериментални и клинични проучвания. Детайлното им изучаване и изследване ще допренесе до появата на нови лекарствени продукти за лечение на такива социално значими заболявания като злокачествени тумори, автоимунни заболявания и др.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Самуилов, В. Д., 2001. Биохимия программируемой клеточной смерти (апоптоза) у животных, Соросовский образовательный журнал, 7, №10, 18-24
2. Скибо Ю.В., З. И. Абрамова, 2011. Методы исследования программируемой клеточной гибели, ФГАОУ ВПО КФУ, гр. Казань, с. 4-10
3. Ефремов Г., В. Баранов, В. Горбунова, Д. Тончева, С. Лалчев, И. Кременски, Т. Иващенко, Т. Кузнецова, Т. Кашаева, 1999. Медицинская генетика, СИЕЛА, София, 93-96
4. Группа компаний „БиоХимМак“, Маркеры апоптоза, 432-433, www.biochemmack.ru
5. Жукова, О. Б., Н. В. Рязанцева, В. В. Новицкий, Т. Т. Радзивил, Л. С. Литвинова, Н. Ю. Часовских, 2007. Изменение реакции лимфоцитов крови на апоптоз модулирующие факторы при вирусной инфекции, Бюллетень со РАМН, №6(128), 44-48
6. Григорьева, Е. С., 2007. Механизмы нарушения цитокинопосредованной регуляции апоптоза эозинофилов при больших эозинофилиях крови, Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава, Томск, 25-30
7. Памуков, Д., Хр. Ахтарджиев, 1989. Природна Аптека, Земиздат, София, 9
8. Каримова, Н. С., Д. Г. Фатыхова, Й. Р. Абдрахимова, О. Н. Ильинская, 2010. Исследование антигенотоксических свойств соков растений *Chelidonium majus L.*, *Plantago major L.* и *tussilago farfara L.*, Экологическая генетика, VIII, №2, 56-65
9. Убеева, И. П., С. Ч. Гончикова, Н. В. Верлан, С.М. Николаев, 2009. Иммунопосредованная регуляция апоптоза гепатоцитов при различных поражениях печени и возможности ее фитокоррекции, Сибирский медицинский журнал, № 7, 215-218
10. Liu X, Li Y, Yang Q, Chen Y, Weng X, Wang Y, Li N, Zhu X., 2012. In vitro inhibitory and pro-apoptotic effect of *Stellera chamaejasme L* extract on human lung cancer cell line NCI-H157, *J Tradit Chin Med.* 32(3), 404-10
11. Liu X, Zhu X., 2012. *Stellera chamaejasme L.* extract induces apoptosis of human lung cancer cells via activation of the death receptor-dependent pathway, *Exp Ther Med.*, Oct;4(4), 605-610
12. Malik J. K., Manoj Aggarwal, G. S. Rao and D. Kumar. Modulacion of apoptosis by herbs, Division of Pharmacology and Toxicology Indian Veterinary Research Institute Izatnagar – 243 122 (UP)
13. Lawrence C.-M. Chiu, T.-S. Ho, Elaine Y.-L. Wong, Vincent E.C. Ooi, 2006. Ethyl acetate extract of *Patrinia scabiosaefolia* downregulates anti-apoptotic Bcl-2/Bcl-XL, *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 263–268
14. Zhi-Bo Xing, Lei Yao, Guo-Qiang Zhang, Xian-Yu Zhang, You-Xue Zhang, Da Pang, 2011. Fangchinoline Inhibits Breast Adenocarcinoma Proliferation by Inducing Apoptosis, *Chem. Pharm. Bull.* 59(12), 1476—1480

15. Yang Sun, Tian-Tian Cai, Xiao-Bin Zhou, Qiang Xu, 2009. Saikosaponin a inhibits the proliferation and activation of T cells through cell cycle arrest and induction of apoptosis, *International Immunopharmacology*, 9, 978–983
16. Tan M.L., S.F. Sulaiman, N. Najimuddin, M.R. Samian, T.S. Tengku Muhammad, 2005. Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line, *Journal of Ethnopharmacology*, 96 , 287–294
17. Tanawan Kummalue, 2005. Molecular Mechanism of Herbs in Human Lung Cancer Cells, *J Med Assoc Thai*, 88 (11):, 1725-34