

UDC: 612.67+577.017.67

FENOPTOZA – MECANISME BIOCHIMICE (REVIUL LITERATURII)

PHENOPTOSIS - BIOCHEMICAL MECHANISM (A REVIEW)

Doina L. Dudnic, studentă anul VI

Coordonator științific: **Leonid Lisii**, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"

Rezumat

O parte importantă a oricărui program anti-aging este de a ști care sunt factorii ce accelerează îmbătrânirea. Teoriile îmbătrânirii explică cauzele și mecanismele acesteia. Mecanismele de îmbătrânire se manifestă în sute de tipuri de schimbări la toate nivelurile – de la moleculare la fiziologice. Îmbătrânirea este un ansamblu de procese, fiecare dintre acestea reducând rezistența organismului. Propun acest articol în scopul de a aduce la cunoștință faptul că, atât ritmul de îmbătrânire, cât și longevitatea pot fi influențate mult mai semnificativ. Înțelegerea procesului de îmbătrânire ne poate oferi însă diferite soluții pentru a încetini procesul și pentru a ne bucura de sănătate și vitalitate vreme mai îndelungată.

Cuvinte cheie: fenoptoza, stresul oxidativ, speciile reactive de oxigen, antioxidanți.

Summary

An important part of any anti-aging program is knowing what the factors that accelerate aging are. Aging theories explain its causes and mechanisms. Mechanisms of aging are manifested in hundreds of types of changes at all levels – from molecular to physiological. Aging is a set of processes, each reducing the body's resistance. I propose this article in order to make it known that both the aging rate and longevity can be influenced more significant. Understanding the aging process, however, can provide us with different solutions to slow down the process and to enjoy health and vitality for a longer time.

Keywords: phenoptosis, oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidant.

Introducere

Există sute de ipoteze care explică natura îmbătrânirii. Cu toate acestea, comunitatea științifică recunoaște numai vreo câteva din cele propuse. Cei mai mulți experți sunt de acord că îmbătrânirea este un fenomen care implică o serie întreagă de procese interdependente.

Nu există un singur motiv pentru care îmbătrânim, dar există o serie de motive al căror efect combinat provoacă consecințele distructive, prin care s-a și stabilit termenul general – îmbătrânirea. Mai mult decât atât, astfel de modificări distructive apar la nivel celular, organismic și molecular. Probabil că multe teorii concurente ale îmbătrânirii sunt corecte în felul lor și fiecare dintre ele oferă doar o parte din imagine (teoria uzurii vieții, teoria radicalilor liberi, teoria imunologică, teoria telomerilor ș.a.).

Fenomenul de moarte programată: mitoptoză, apoptoză și organoptoză.

În ultimii ani, mecanismele morții programate au fost demonstrate nu numai la nivel celular, ci și la nivel subcelular (mitocondrii), dar și la nivel extracelular (pe grupuri de celule și organe întregi).

În 1992, D. Zorov și colab. săi au sugerat că mitocondriile au un dispozitiv pentru autodistrugere. Această funcție a fost atribuită unui canal în membrana mitocondrială internă (permeability transition pore, PTP) – cu permeabilitate nespecifică. În mod normal PTPm (pori mitocondriali permeabili temporari) este închis. La deschidere se creează o diferență de potențial electric pe membrana internă mitocondrială, ce va

egala gradientii tuturor substanțelor cu greutate moleculară mică între matricea mitocondrială și citosol. Speciile reactive de oxigen (ROS) servesc ca cel mai eficient mijloc de deschidere al PTP. Dacă o oarecare mitocondrie începe să formeze prea mult ROS, atunci acestea v-or distruge mitocondria. Un mecanism similar va permite să curățe populația mitocondrială în celulă de acele organite care au devenit periculoase, prin faptul că formează ROS mai repede decât le poate scoate. Acest proces de autodistrugere al mitocondriilor a fost denumit mitoptoză (prin analogie cu apoptoza, mecanismul de autodistrugere a celulei). [4]

Mitoptoza servește ca exemplu de program de autodistrugere, care funcționează la nivel subcelular. În ceea ce privește nivelul extracelular, aici ne putem referi la o serie de lucrări în care celulele apoptotice au format clustere în țesutul in vivo sau în cultura celulară in vitro. Acest fenomen este numit „moartea trecătorilor la întâmplare” („bystander death”). Skulacev a sugerat că peroxidul de hidrogen (H₂O₂), format într-o celulă apoptotică, servește ca un semnal de apoptoză pentru celulele vecine. [12]

Biomecanismul fenoptozei

Stresul oxidativ cuprinde toate deteriorările oxidative în lanț provocate de radicalii liberi ai oxigenului și moleculelor biologice: oxidare, peroxidare, autooxidare, cooxidare. Activarea oxigenului – proces considerat fundamental și caracteristic al lumii vii – produce radicalii liberi ai oxigenului (speciile reactive ale oxigenului): oxigenul singlet și radicalii liberi – superoxid, perhidroxil și hidroxil. Radicalii liberi sunt molecule

sau fragmente moleculare care conțin un electron impar, au proprietatea de a fi foarte reactive și provoacă stresul oxidativ (în condiții de dezechilibru cu factorii anti-oxidanți). Intervin ei însăși ca principal factor de amplificare în producerea leziunilor oxidative: peroxizi, hiperperoxizi, endoperoxizi și epoxizi, la care se cumulează o nouă amplificare rezultată din dezechilibrarea balanței: prin exces de pro-oxidanți, dublat de deficit în antioxidanți. [5]

Producția de radicali liberi este un fenomen constant în organismele vii. La om 1-3% din oxigenul inspirat este folosit pentru producerea celor 2 kg de radical superoxid anual. Superoxidul nu are o mare reactivitate, dar, prin reacții de dismutare, trece în peroxid de hidrogen, substanță deosebit de agresivă pentru metabolism și structurile biologice. Calea de apărare a organismului față de superoxid este reprezentată de enzima superoxid dismutaza (SOD). Deoarece peroxidul de hidrogen este reactiv în prezența unor ioni metalici sau tioli (acționând ca nucleofil), excesul este descompus eficient de o altă enzimă – catalaza. [2]

Stresul oxidativ poate avea și conotații pozitive, când ținta leziunii, indusă de acesta, este un microb, virus sau o altă noxă xenobiotică. Din acest motiv, neutrofilele, macrofagi și monocitele posedă un sistem puternic de formare a radicalilor liberi de oxigen, prin care este asigurată liza intrafagocitară a microorganismelor și a epavelor lor. Aceste celule sunt o sursă importantă a radicalilor liberi în organism.

Astfel, superoxid dismutaza și catalaza sunt recunoscute drept enzime antioxidante, deci, factori care limitează intensitatea stresului oxidativ. Vitaminele E și A, betacarotenele, glutatiunea, flavonozii, seleniul, zincul, coenzima Q10 sunt, de asemenea, componente operante ale sistemului antioxidant. Important de menționat că metionina, hormonul glandei piene și colesterolul sintetizat în ficat, de asemenea, posedă proprietăți antioxidante notabile. [8]

Peroxidarea lipidelor (POL) este cea mai studiată și biologic relevantă reacție în lanțul radicalilor liberi. POL, concomitent cu stresul oxidativ și leziunile oxidative moleculare, este o cauză importantă de disfuncție tisulară și celulară, cu un rol semnificativ în procesul de îmbătrânire. Produsele primare ale POL (oxisteroli, hidroperoxizii și endoperoxizii) sunt substanțe instabile și, prin fragmentare, produc o gamă largă de compuși intermediari – carbonili – mai stabili și extrem de reactivi: α,β -aldehide nesaturate (Hydroxynonenal și acroleina), dialdehide (dialdehida malonică și glioxal), cheto-aldehide (4-oxo-trans-2-nonenal și isochetale). Aceste substanțe sunt responsabile de modificările produse de stresul oxidativ. Numeroase studii au demonstrat creșterea stresului oxidativ la persoanele în vârstă, contribuția acestui proces la îmbătrânirea accelerată și incidența sporită a bolilor oxidative (inflamația, ateroscleroza, bolile neurodegenerative și cancerul). [3]

Factorii care induc apoptoza

Din cele prezentate anterior am reținut faptul că apoptoza unor celule este un fenomen fiziologic normal, care contribuie la homeostazia țesuturilor, la modelarea acestora și a organismelor vii, potrivit unor semnale provenite din interiorul celulei, dar și din exteriorul ei (de la celulele învecinate). Apoptoza însă poate fi declanșată și sub acțiunea unor agenți externi de natură fizică și chimică, care provoacă, în special, alterări ale materialului genetic și, indirect, modificări ale proceselor biochimice celulare (apoptoza ar putea fi indusă de agenții externi și prin

acțiunea lor directă asupra proceselor biochimice din celule). Se pare că, și în această situație, decizia intrării în apoptoză a unei celule se ia tot pe baza semnalelor primite de la celulele învecinate, care au fost probabil „avizate” de leziunile provocate materialului genetic al celulei în cauză. Gama factorilor fizici, chimici și biologici, care pot induce apoptoza, este variată: radiațiile ionizante și neionizante, hipertermia, câmpurile electromagnetice de frecvență joasă, hipoxia, substanțele chimioterapice (metothrexatul, ciclosporina A, vincristina, cisplatina, majoritatea citostatice), medicamentele citotoxice, hormonii, interferonul, retinoizii, virusurile, unii anticorpi, limfocitele citotoxice etc. Se consideră că inducția apoptozei, de către unii din factorii amintiți, depinde, în mare măsură, de capacitatea lor de a influența activitatea genelor p53 și bcl-2. În continuare, vom discuta pe scurt acțiunea apoptotică a unora dintre acești factori. [1]

Radiațiile ionizante și neionizante. S-a constatat că radiațiile ionizante, în doze mici și moderate (care nu periclitează supraviețuirea celulelor), se constituie într-un fel de trigger ai apoptozei, prin schimbările induse la nivelul ADN-ului celular. Se apreciază că producția genelor p53 (care au rol de monitorizare a integrității genomului celular) determină (la concentrații ridicate) oprirea ciclului celular în G1, câștigând un timp mai îndelungat pentru intervenția proceselor de reparație a ADN-ului lezat, iar, în cazul în care aceste leziuni nu pot fi înlăturate, producția genelor p53 declanșează apoptoza. Existența unui astfel de mecanism a fost demonstrat în unele experiențe. Astfel, timocitele, a căror gene p53 au fost blocate, au rezistat la doze letale de iradiere, iar deblocarea acestor gene a determinat redobândirea capacității de apoptoză sub influența radiațiilor. S-a observat, de asemenea, că o concentrație sporită de producție ai genelor p53 a indus apoptoza în tumorile derivate din timocite. Intrarea în apoptoză, în urma iradierii, depinde și de rata de proliferare specifică a celulelor unui țesut (celulele din criptele intestinale, țesutul spermatic sau al limfocitelor), deși, sunt situații în care radiațiile induc o frecvență ridicată a apoptozei, fără să existe o asemenea legătură (glandele salivare sau lacrimale). În cazul iradierii terapeutice, frecvența apoptozei diferă de la o tumoră la alta și nu există o relație directă între radiosensibilitatea tumorii și nivelul apoptozei. [7]

Hipertermia. S-a observat că tratamentele hipertermice moderate au capacitatea de a induce apoptoza, deși mecanismul de acțiune rămâne obscur. Valoarea temperaturilor la care se înregistrează un nivel ridicat al apoptozei depinde de la un țesut la altul, frecvența apoptozei fiind mai înaltă în cazul țesuturilor cu proliferare înaltă (țesuturile limfoide și tumorale, de exemplu). Țesuturile supuse acțiunii unor agenți fizici (inclusiv hipertermiei) prezintă un nivel crescut al proteinei Bax (proapoptotică).

Hipoxia. Hipoxia este un factor care poate induce, atât apoptoza, cât și necroza celulelor. Hipoxia însoțește frecvent tumorile care depășesc dimensiunea de 1-2 mm. Apoptoza apare ca fenomen cert în celulele tumorale hipoxice, dar hipoxia poate fi un factor care induce apoptoza și în celulele normale. S-a observat că inactivarea genei p53 sau prezența în exces a proteinei Bcl-2 reduce frecvența de intrare în apoptoză a celulelor în caz de hipoxie. În zonele ischemice ale miocardului apoptoza indusă de hipoxie apare ca un factor distructiv, întrucât contribuie la eliminarea unor miocite, în timp ce distrugerea prin apoptoză a unor celule tumorale, în unele forme de cancer solid, apare ca un mecanism de acțiune antitumorală al organismului. [4]

Chimioterapicele. Este cert stabilit că apoptoza poate fi indusă de unele substanțe anticanceroase, cum ar fi tamoxifenul și glucocorticoizii, după cum este posibil ca și alte substanțe, precum metothrexatul, vinblastina, etopozida, cisplatina etc, care determină apoptoza in vitro, să aibă această calitate și in vivo. Mecanismul prin care induce apoptoza aceste substanțe este neclar, dar se consideră că ele și-ar exercita acest efect prin influențarea genelor bcl-2 și p53. S-a observat că stimularea sintezei de produși specifici genei p53 crește receptivitatea celulelor tumorale pentru substanțele citotoxice, după cum pierderea sau deficiența funcției acestei gene sporește rezistența acestor celule la chimioterapie. Un rol asemănător ar avea și gena bcl-2 prin producția ei specifici. Se pare că genele care induc apoptoza sunt capabile, pe de o parte să genereze cancerul, iar pe de altă parte să inducă rezistența la terapia anticanceroasă. Diminuarea în timp a eficienței unor substanțe în terapia cancerului pare să fie legată de activarea unor gene anti-apoptotice (cum ar fi de exemplu bcl-2), după cum mutația genei p53 poate, de asemenea, să determine ineficiența sau eficiența parțială a unor chimioterapice. [13]

Retinoizii. Retinoizii sunt derivați ai vitaminei A, care au rol important în creșterea, diferențierea și dezvoltarea unor țesuturi, care pot manifesta, însă, activitate anticancerigenă și declanșa apoptoza în diverse tipuri de celule canceroase, această acțiune fiind legată, se pare, de activitatea caspazelor. [7]

Limfocitele citotoxice. În cercetări efectuate pe culturi celulare s-a constatat că unele celule ca limfocitele T citotoxice, celulele NK (Natural Killer) și celulele K (Killer) pot induce apoptoza în celulele țintă. Un exemplu de acest gen îl reprezintă distrugerea de către limfocitele T citotoxice a celulelor infectate cu virusuri. S-a constatat, de asemenea, că substanțele care inhibă expresia genei bcl-2 nu inhibă apoptoza provocată de limfocitele T citotoxice. [2]

Infecțiile virale. S-a observat că unele infecții virale (în special infecția cu HIV) determină un nivel mai ridicat al apoptozei limfocitelor T neinfectate, reducerea numărului limfocitelor activate și diminuarea reacției imune. [13]

Preparatele mitocondriale – blocante ale fenoptozei

Funcționarea vehiculului cu antioxidanți în mitocondrii se bazează pe utilizarea diferenței de potențial transmembranar creat ca urmare a funcționării transferului de electroni. Metodologia de construcție a cationilor organici lipofili ("locomotive electrice moleculare") a fost dezvoltată de Skulachev, Liberman și coautorii săi (Topaly V. P., Jasaitis A.) la sfârșitul anilor '60 ai secolului trecut (1969). Mai târziu, la sugestia unui biochimist american D. Green (1974), astfel de molecule au fost numite ionii lui Skulachev. Încercarea lui Murphy (2007) de creare a ionilor Skulachev cu încărcare antioxidantă a fost nereușită, iar testarea cu succes a primelor modele cu activitate antioxidantă ridicată și prooxidantă scăzută, fiind numite SkQ1 (10-(6'-plastoquinonil) deciltripenilfosfoniu) și SkQR1 (10-(6'-plastoquinonil) decilrodamină-19), sunt descrise în lucrările sale. După cum sugerează și numele, cel mai eficient protector împotriva ROS, compusul SkQ1, este o „locomotivă electrică moleculară” de trifenilfosfoniu, la care, cu ajutorul unui linker de hidrocarbură, este atașat antioxidantul natural din plante – plastoquinona. Compusul SkQ este format din trei componente: un antioxidant, un linker C-alifatic și un cation lipofil. [9]

Proprietățile ionilor lui Skulachev cu capacitate antioxidantă au fost studiate prin aplicarea consecventă a modelelor de o

complexitate tot mai mare. În prima etapă a lucrării au fost sintetizați un număr de compuși care diferă după fragmentul cationic din moleculă. Au mai fost utilizați, în afară de fosfoniu, și compuși cu atomul de azot ionizat – cum ar fi metilcarnitina (SkQ2M), tributilamoniu (SkQ4), rodamina 6G (SkQR1) și altele. Cele mai multe experimente in vitro au fost efectuate utilizând tehnologia membranelor cu bistrat lipidic. În aceste experimente s-a descoperit că cationii lipofili SkQ1, SkQR1 și TPP (trifenildodecylfosfoniu, care este un analog al SkQ fără quinone) poate transporta acizii grași protonați prin membrană, asigurând o disociere blândă a respirației și sinteză de ATP și, astfel, scăderea nivelului de generarea a ROS prin reducerea potențialului transmembranar.

Pentru SkQ1 a fost demonstrat efectul geroprotector, care se manifestă printr-un spectru larg de acțiune asupra organismelor vii. S-a remarcat o creștere a speranței de viață a unei game diverse de organisme vii, precum ciuperca *Podospora anserina*, crustaceele *Ceriodaphnia*, insectele *Drosophila melanogaster*, peștele *Nothobranchius furzeri*, precum și la mamifere (șoareci, hamsteri). La șoarecii liniei SHR (spontaneously hypertensive rats), ținute în mediu nesteril, speranța de viață a crescut de aproximativ două ori. În mediile sterile, atât pentru șoarecii liniei SHR, cât și pentru șoarecii cu viață lungă ai liniei 129/sv, nu au fost observate semne semnificative de prelungire a vieții, însă, șoarecii cărora li s-a administrat preparatul SkQ1, aveau un aspect mai tânăr în comparație cu șoarecii ținuti de control, și manifestau semnificativ mai puține semne fiziologice de îmbătrânire. [11]

Interpretând efectele date, merită să amintim regula care a fost data de S. P. Maslov (2007): "...orice funcție semnificativă biologic este realizată de câteva mecanisme destul de independente". Blocul programului fenoptozic, care, ipotetic, se stopează sub acțiunea SkQ, aparent este responsabil pentru dezvoltarea unui complex de fenomene care însoțesc așa-numita decrepitudine senilă. În legătură cu toate cele menționate mai sus, trebuie să luăm în considerare în ce limite SkQ1 sau analogii săi pot servi drept instrument universal sau sistemic pentru tratamentul bolilor legate de vârstă. [10]

Concluzii

Fenoptoza este moartea unui organism, programată de genomul său. Numeroase exemple de fenoptoză sunt descrise la procariote, eucariotele unicelulare și la eucariotele pluricelulare (plante, animale, ciuperci). Există cazuri foarte demonstrative de fenoptoză acută, la acționarea unui program biochimic sau comportamental specific, ce are ca rezultat moartea imediată (șocul septic).

După evidențierea tuturor pașilor secvențiali în desfășurarea programului de îmbătrânire, putem deduce rolul important al mitocondriilor ca fiind stațiile de alimentare cu energie a celulei, și, în același timp, surse de producere a radicalilor liberi. Generarea speciilor reactive de oxigen și alterarea stării reacțiilor de oxidoreducere sunt aspecte comune biochimice în celulele îmbătrânite. În procesul de îmbătrânire în celule se acumulează produsele de peroxidare lipidică – crește capacitatea pro-oxidativă și scade capacitatea antioxidantă.

A fost decoperit cel mai eficient protector împotriva ROS, compusul SkQ1, la care este atașat antioxidantul natural din plante – plastoquinona. Acești antioxidanți fiind aduși în mitocondrii, cu ajutorul cationilor lipofili de fosfoniu, au fost numiți ionii lui Skulachev. SkQ este capabil să întârzie

dezvoltarea unor semne de îmbătrânire și să crească durata de viață a unei mari varietăți de animale. De asemenea, în diferite experimente, SkQ a încetinit dezvoltarea mai multor patologii

dependente de vârstă, dar și aplicarea practică ca remedii în caz de retinopatie, cataractă și osteoporoză.

Bibliografie

1. Austad S.N. Is aging programmed? // *Aging Cell*. 2004, Vol. 3, pp. 249-251.
2. Chistyakov V. A., Tsvetkov D. S., Prazdnova E. V., Chistyakova I. B. The phenoptosis concept and systemic approach in nephrology // *Nephrology, Russia*, 2013, Vol.17, No. 5, pp. 16-21.
3. Circu M. L., Aw T. Y., Reactive oxygen species, celular redox systems, and apoptosis. Free radicals // *Biology Med.*, 2010, Vol. 48, No. 6, pp.749-762.
4. Danăilă L., Alecu M., Coman G., Apoptoza. Moartea celulară programată // Ed. Academiei Române, București, 1999.
5. Leonid Lisii, Ecaterina Pavlovschi, Biochimie medicală, Ediția a 3-a, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "N. Testemițanu" din RM, Chișinău, 2019.
6. Libertini G. The concept of phenoptosis and its usefulness for controlling aging // *Current Aging Science*, Italy, 2014, Vol. 7, pp. 32-37.
7. Riga D., Riga S. Medicina anti-îmbătrânire și științele longevității // Ed. Cartea Universitară, București, 2007.
8. Rzheshvsky A. V. Fatal "Triad": lipotoxicity, oxidative stress, and phenoptosis // *Biochemistry (Moscow)*, 2013, Vol. 78, No. 9, pp. 991-1000.
9. Skulachev M. V., Skulachev V. P. New data on programmed aging – slow phenoptosis // *Biochemistry (Moscow)*, 2014, Vol. 79, No. 10, pp. 977-993.
10. Skulachev M. V., Skulachev V. P. Programmed aging of mammals: proof of concept and prospects of biochemical approaches for anti-aging therapy // *Biochemistry (Moscow)*, 2017, Vol. 82, No. 12, pp. 1403-1422.
11. Tcaci I. Îmbătrânirea pielii. Stresul oxidativ, peroxidarea lipidelor și sistemul antioxidant. Profilaxie și tratament. În: *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*, 2013, Nr. 1, pp.178-183.
12. Скулачев В. П. Старение как атавистическая программа, которую можно попытаться отменить // *Вестник Российской Академии Наук*, 2005, том. 75, № 9, p. 831-843.
13. Трубицын А.Г. Механизм феноптоза: возрастное снижение общего уровня синтеза белков вызывается запрограммированным затуханием биоэнергетики // *Успехи геронтологии*, 2009, том 22, № 2, pp. 223-227