

Molekularne i komórkowe mechanizmy działania kurkuminy – dobroczynny wpływ na organizm

Marta Sikora-Polaczek¹

Anna Bielak-Żmijewska²

Ewa Sikora^{2,✉}

¹Centrum Medyczne MACIERZYŃSTWO, Kraków

²Pracownia Molekularnych Podstaw Starzenia, Zakład Biochemii, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN, Warszawa

✉Pracownia Molekularnych Podstaw Starzenia, Zakład Biochemii, Instytut Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa; tel.: (22) 589 24 36, e-mail: e.sikora@nencki.gov.pl

Artykuł otrzymano 21 lipca 2010 r.

Artykuł zaakceptowano 4 października 2010 r.

Słowa kluczowe: apoptoza, hormeza, kurkumina, stan zapalny, stres oksydacyjny

Wykaz skrótów: RFT – reaktywne formy tlenu; RFA – reaktywne formy azotu

STRESZCZENIE

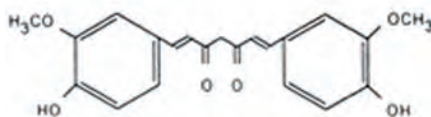
Kurkumina jest naturalnym związkiem otrzymywanym z kłączy ostryżu długiego. Jest ona aktywnym składnikiem kurkumy stosowanej od tysięcy lat w medycynie tradycyjnej. Współczesna, bardzo bogata literatura naukowa opisuje przeciwnowotworowe, antyoksydacyjne i przeciwzapalne działanie kurkuminy. Na wielu modelach zwierzęcych wykazano, że kurkumina może być potencjalnym lekiem nie tylko przeciwnowotworowym, ale także stosowanym w przypadku wielu innych chorób, w etiologii których odgrywają rolę reaktywne formy tlenu oraz chroniczny łagodny stan zapalny. Kurkumina również chroni narządy przed uszkodzeniami indukowanymi toksynami. Na poziomie komórkowym hamuje ona proliferację oraz indukuje apoptozę, jednakże komórki prawidłowe są mniej podatne na działanie kurkuminy niż komórki nowotworowe. Znanych jest już wiele molekularnych mechanizmów działania kurkuminy. Wydaje się, że obserwowane efekty komórkowe najlepiej można opisać działaniem kurkuminy na stres komórkowy oraz hamowanie aktywności czynnika transkrypcyjnego NF-κB. Kurkumina, mimo swojej niskiej biodostępności wywiera dobroczynne działanie na organizm. Postuluje się, że jest to możliwe dzięki jej hormetycznym właściwościom.



Ostryż długi



Kłącza i kurkuma



kurkumina

WPROWADZENIE

Kurkumina od tysięcy lat stosowana w medycynie naturalnej, dzisiaj przyciąga uwagę wielu badaczy i klinicystów jako tak zwany nutraceutyk oraz związek, który sam w sobie lub w postaci pochodnych może być w przyszłości stosowany w klinice, jako lek, lub preparat wspomagający leczenie choroby nowotworowej i choroby Alzheimera [1].

Kurkumina jest związkiem roślinnym znajdującym się w ekstrakcie z kłączy ostryżu długiego (*Curcuma longa*), stosowanym jako przyprawa znana pod nazwą *turmeric* (ang.) lub kurkuma. Jest też żółtym składnikiem indyjskiej przyprawy *curry*. Stosowana jest powszechnie jako bezpieczny związek (E100) nadający kolor wielu produktom spożywczym, takim jak margaryna, musztarda, makarony, czy napoje bezalkoholowe [2] (Ryc. 1).

Termin *nutraceutyk* (ang. *nutraceutical*) znany jest od dość dawna, gdyż został wprowadzony w 1989 roku przez lekarza Stephena DeFelice. Oznacza on substancję, która stanowi pokarm lub składnik pokarmu, przynoszącą korzyści prozdrowotne zarówno zapobiegając chorobie jak i wykazując zdolności

Rycina 1. Ostryż długi (<http://faculty.ksu.edu.sa/70917/Pictures%20Library/Forms/Disp-Form.aspx?ID=25>), kłącze, z którego ekstrahuje się kurkumę (<http://natureasmedicine.wordpress.com/2009/04/13/are-turmeric-capsules-any-good-find-out-now>) oraz wzór kurkuminy.

lecznicze [2]. W tym znaczeniu, kurkumina, podobnie jak i inne polifenole, które znajdują się w składnikach diety, jak na przykład czarnej i zielonej herbacie, czerwonym winie, orzeszkach ziemnych, czy też czekoladzie, ma pozytywny wpływ na nasz organizm. Jednakże jest jednym z niewielu naturalnych składników diety, który ma tak długą i bogatą tradycję w medycynie naturalnej oraz tak bogatą współczesną literaturę naukową. Zwłaszcza ostatnio ukazało się bardzo wiele prac zarówno oryginalnych jak i przeglądowych, poświęconych molekularnym, komórkowym i fizjologicznym mechanizmom działania kurkuminy [3-9]. Jest też jedna praca przeglądowa w języku polskim [10].

KURKUMINA W MEDYCYNIE NATURALNEJ

Początek historii kurkumy sięga kilku tysięcy lat do samych początków medycyny Ayurveda, oznaczającej naukę długiego życia [11], a dzisiaj zaliczanej do tak zwanej *Complementary and Alternative Medicine* (CAM). Kurkuma była używana na subkontynencie indyjskim nie tylko jako składnik diety, ale również jako środek leczniczy nie wywołujący żadnych szkodliwych efektów ubocznych.

W tradycyjnej hinduskiej i chińskiej medycynie stosowano ją jako środek przeciw nadmiernemu apetytowi, w leczeniu żółtaczki i innych schorzeń wątroby oraz układu trawiennego. Kurkuma była stosowana w leczeniu kolki, bólu zębów i klatki piersiowej oraz bólu męstrucyjnego. Stosowano ją także jako środek wspomagający gojenie ran i leczenie przebarwień skórnych [11]. Współczesna medycyna naturalna Wschodu zna kurkuminę, która jest najaktywniejszym składnikiem kurkumy, jako środek antyseptyczny, przeciwzapalny, antyoksydacyjny oraz przeciwnowotworowy. Kurkumina stosowana jest w leczeniu infekcji oczu, oparzeń, ugryzień, trądziku i innych schorzeń skóry. Jest również skuteczna w przypadku wielu schorzeń układu pokarmowego takich jak: biegunka, niestrawność, nadkwasota, wzdęcia i wrzody. Stosuje się ją jako środek antydepresyjny i łagodzący halucynacje spowodowane haszyszem i lekami psychotropowymi [12].

Świat Zachodu zawdzięcza kurkumę handlarzom arabskim, którzy zaczęli ją rozprowadzać w Europie w XV wieku. Jednakże dopiero panowanie Brytyjczyków w Indiach upowszechniło zastosowanie kurkumy jako składnika mieszanki ziół zwanych pod nazwą curry [11].

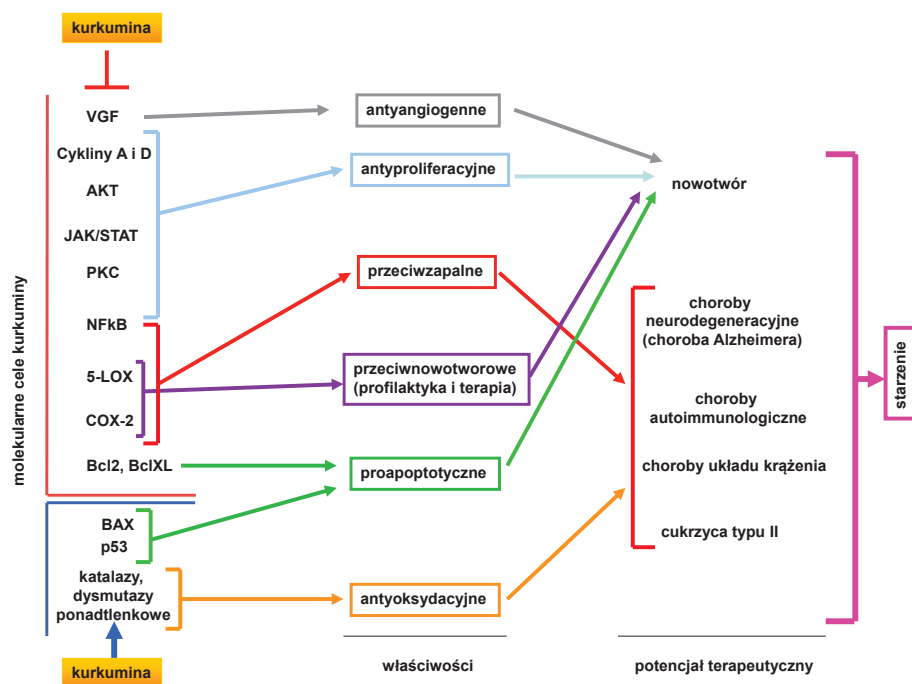
BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ KURKUMINY JAKO ŚRODKA PREWENCYJNEGO I LECZNICZEGO

Nasza współczesna wiedza daje podstawy, aby sądzić, iż kurkumina może być stosowana jako środek nie tylko zapobiegający, ale także leczniczy w przypadku wielu chorób cywilizacyjnych takich jak: choroby neurodegeneracyjne, w tym choroba Alzheimera, choroby układu krążenia, cukrzyca, nowotwory,

reumatoidalne zapalenie stawów, przewlekłe zapalenie jelit, choroby infekcyjne płuc, alerggia, astma, choroby autoimmunologiczne, AIDS, łuszczyca i prawdopodobnie wiele innych. Co zatem wiadomo na temat aktywności biologicznej kurkuminy, która uzasadniałaby takie wszechstronne i dobroczynne działanie tego związku? W następnych rozdziałach zostaną przedstawione najważniejsze wyniki badań podstawowych oraz przedklinicznych świadczące o plejotropowym działaniu tego związku (Ryc. 2).

KURKUMINA JAKO ZWIĄZEK ANTYOKSYDACYJNY I PRZECIWZAPALNY

Reaktywne formy tlenu (RFT) jak również reaktywne formy azotu (RFA), stanowiące produkty normalnego metabolizmu komórki, mogą być zarówno pożyteczne jak i szkodliwe. W niskich stężeniach pełnią one rolę sygnalizacyjną w komórce, w tym indukują efekt mitogenny oraz biorą udział w ochronie przed szkodliwymi czynnikami (patogenami). Szkodliwe działanie RFT/RFA objawia się stresem komórkowym, który występuje w wyniku podwyższonego ich poziomu lub niewystarczającej enzymatycznej lub/i nieenzymatycznej obrony antyoksydacyjnej. Nadmiar RFT może uszkodzić lipidy, cukry, białka i DNA. Dlatego uważa się, że stres oksydacyjny ma fundamentalne znaczenie w etiologii wielu chorób, jak również w procesie starzenia. Głównym źródłem komórkowych RFT są mitochondria, które produkują jeden z ważniejszych wolnych rodników, mianowicie anionorodnik ponadtlenkowy. Tlenek azotu (NO•) natomiast produkowany jest przez syntazy tlenu azotu (NOS) w procesie przekształcania argininy do cytruliny. Pełni on wiele funkcji fizjologicznych takich jak: udział w neurotransmisji, prawidłowym funkcjonowaniu układu odpornościowego, rozszerzaniu naczyń oraz wewnątrzkomórkowej sygnalizacji. RFA mogą bezpośrednio uszkadzać DNA lub też wpływać na upośledzenie jego naprawy, poprzez zmianę funkcji białek w nią zaangażowanych. W



Rycina 2. Wybrane molekularne i komórkowe cele kurkuminy oraz jej dobroczynne działanie na organizm.

skład obrony antyoksydacyjnej wchodzą enzymy takie jak: dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationowa oraz katalaza. Nieenzymatyczne antyoksydanty to kwas askorbinowy, α -tokoferol, glutation, karotenoidy, flawonoidy i inne. Równowaga RFT/RFA jest bardzo ważna w utrzymaniu homeostazy całego organizmu [13,14]. Wyniki wielu badań wskazują na fakt, że kurkumina może mieć w tym zasadniczy udział.

Kurkumina wykazuje silne antyoksydacyjne właściwości porównywalne do witaminy C i E. Wykazano, że jest ona zmiataczem RFT/RFA, w tym rodnika ponadtlenkowego i hydroksylowego oraz dwutlenku azotu, hamuje peroksydację lipidów w różnych modelach zwierzęcych oraz oksydacyjne uszkodzenia tkanek. Wykazano protekcyjne działanie kurkuminy przeciw uszkodzeniom mięśnia sercowego, związane z hamowaniem powstawania RFT [15]. Kurkumina aktywuje również enzymatyczną obronę antyoksydacyjną poprzez aktywację genów takich enzymów jak: dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza i peroksydaza glutationu oraz s-transferaza glutationowa [16]. Wykazano również, że kurkumina podnosi poziom glutationu zarówno w komórkach prawidłowych [17] jak i nowotworowych [18]. Hamuje ona również aktywność NOS w mysich makrofagach, jak również syntezę NOS w wątrobie myszy w badaniach *in vivo*. Kurkumina indukuje też ekspresję genu oksygenazy hemowej (HO-1) w różnych komórkach [19]. HO-1 jest enzymem, który nie tylko rozkłada hem do tlenku węgla, żelaza i biliwerdyny, ale ma również bardzo duże znaczenie w odpowiedzi komórki na stres oksydacyjny [20].

Odpowiedź komórki na stres oksydacyjny jest silnie powiązana z indukcją stanu zapalnego. Reaktywne formy tlenu pośredniczą w metabolizmie prostaglandyn oraz produkcji cytokin prozapalnych. Kurkumina wykazuje aktywność przeciwzapalną poprzez oddziaływanie z wieloma ścieżkami sygnalizacyjnymi zaangażowanymi w powstawanie stanu zapalnego. Przede wszystkim hamuje aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, regulującego ekspresję genów, których produktami są cytokiny prozapalne. Obniża również syntezę TNF- α , który jest głównym induktozem NF- κ B. Kurkumina hamuje wydzielanie wielu cytokin prozapalnych takich jak IL-1, IL-6, IL-8 oraz chemokin. Poza tym obniża syntezę cyklooksigenazy COX-2, kluczowego enzymu zaangażowanego w produkcję prostaglandyn, który ulega indukcji w miejscach stanu zapalnego. Hamuje syntezę również innego prozapalnego enzymu – lipooksygenazy (5-LOX). Z powodzeniem może być zaliczona do niesterydowych leków przeciwzapalnych – NSAID (ang. *non-steroidal anti-inflammatory drug*) [11,21,22].

KURKUMINA JAKO POTENCJALNY LEK CHOROÓB ZWIĄZANYCH ZE STRESEM OKSYDACYJNYM I STANEM ZAPALNYM

Badania ostatnich lat wskazują na udział stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego w etiologii wielu chorób. Należą do nich choroby neurodegeneracyjne, choroby układu krążenia, cukrzyca, reumatoidalne zapalenie stawów, nowotwory i inne. Nie dziwi więc fakt, że kurkumina może zapobiegać i hamować rozwój tych chorób poprzez blokadę stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego. Poniżej przedsta-

wimy wybrane dane świadczące o korzystnym wpływie kurkuminy na poprawę parametrów charakteryzujących niektóre z wyżej wymienionych chorób.

Choroba Alzheimer (AD, ang. *Alzheimer disease*) jest postępującą chorobą neurodegeneracyjną powodującą zaburzenia poznawcze i behawioralne. Jest ona główną przyczyną demencji w krajach wysoko rozwiniętych. Autopsja mózgu pacjentów z chorobą Alzheimer wykazuje obecność wewnątrzkomórkowych włókien fibrylarnych oraz zewnątrzkomórkowych złogów β -amyloidów (A β) zwanych płytkami starczymi. Są one wykrywane pośmiertnie w hipokampie, nowej korze i innych subkorowych strukturach. W etiologii choroby Alzheimer odgrywają rolę zarówno czynniki genetyczne jak i środowiskowe. Istnieje coraz więcej dowodów na to, że w rozwoju choroby Alzheimer bardzo dużą rolę odgrywa stres oksydacyjny, i to zarówno w mózgu jak i w tkankach peryferyjnych. Produkty oksydacyjnej modyfikacji kwasów nukleinowych, białek, lipidów oraz produkty glikooksydacji, które są znanymi markerami stresu oksydacyjnego, znajdowano pośmiertnie w mózгах ludzi chorych, jak również w płynie mózgowo-rdzeniowym, osoczu, surowicy i moczu ludzi cierpiących na tę chorobę [23]. Coraz więcej danych świadczy o tym, że również stan zapalny, zarówno w mózgu, jak tkankach peryferyjnych, może być związany z patologią choroby Alzheimer [24]. Obecnie opublikowanych jest już kilkadziesiąt prac, których wyniki, uzyskane na zwierzęcych modelach choroby Alzheimer, wskazują na to, że kurkumina zmniejsza zaburzenia poznawcze, obniża stres oksydacyjny, hamuje stan zapalny w mózgu oraz zmniejsza akumulację beta-amyloidu, bardzo często poprzez niszczenie już istniejących złogów [3]. Opublikowano już wyniki pierwszych badań klinicznych osób dotkniętych tym schorzeniem, chociaż ze względu na niewielką grupę osób badanych na razie trudno jest jednoznacznie stwierdzić, czy kurkumina ma wpływ na hamowanie postępów tej choroby u ludzi.

Dysfunkcja układu krążenia (arterioskleroza) należy do typowych schorzeń wieku podeszłego i związana jest z gromadzeniem się uszkodzeń spowodowanych stresem oksydacyjnym oraz stanem zapalnym śródbłonna naczyń krwionośnych. Zmiany zapalne związane są ze zwiększoną produkcją cząstek adhezyjnych, zmienionym wydzielaniem cytokin prozapalnych, odkładaniem się LDL, żeby wymienić tylko niektóre. Sądzi się, że w procesie tym kluczową rolę może odgrywać podwyższona aktywność czynnika transkrypcyjnego NF- κ B [25]. Co ciekawe, uważa się, że rozwojowi arteriosklerozy towarzyszy stale podwyższona aktywność oksygenazy hemowej, HO-1 [20]. Jak wiadomo, kurkumina jest inhibitorem NF- κ B oraz aktywuje ekspresję genu kodującego oksygenazę hemową. Podwyższenie poziomu tego enzymu przez kurkuminę tłumaczy się jako efekt obronny komórek polegający na adaptacyjnej aktywacji na stres [6]. Prac dotyczących dobroczynnego wpływu kurkuminy na hamowanie zwyrodnienia naczyń krwionośnych jest znacznie więcej. Zostały one zebrane w pracy przeglądowej [3].

Cukrzyca, to choroba, która może prowadzić do ślepoty, uszkodzenia nerek, zaburzeń zarówno naczyniowych jak i kardiologicznych, choroby dziąseł [26]. Cukrzyca zarów-

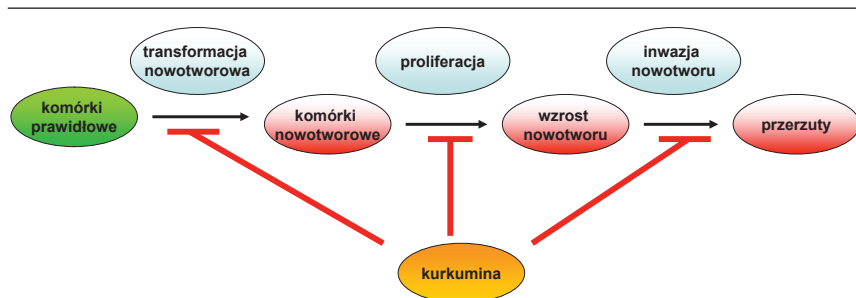
no typu I jak i II jest powiązana bezpośrednio z funkcją układu odpornościowego. Za zanik wysepek β -Langerhansa (typ I) mogą być odpowiedzialne zarówno limfocyty T jak i komórki odpowiedzi wrodzonej. Cukrzyca typu II charakteryzuje się natomiast insulinoopornością i towarzyszy jej podwyższony poziom cytokin prozapalnych takich jak: TNF- α , IL-1 β , IL-6 oraz innych [26]. Wpływ kurkuminy na objawy cukrzycy studiowano głównie na modelu indukowanej choroby u szczurów. Wykazano, że kurkumina zmniejsza hiperglikemię, poprawia parametry lipidowe, podnosi poziom insuliny, obniża poziom NF- κ B oraz wydzielanie TNF- α i tlenu azotu, redukując generalnie stres oksydacyjny [3,27].

Reumatoidalne zapalenie stawów należy do chorób autoimmunologicznych. Charakteryzuje się chronicznym stanem zapalnym i, podobnie jak w chorobach układu krążenia, zwiększoną produkcją cytokin prozapalnych takich jak: IL-1, IL-6, TNF- α . Cytokiny te są produkowane głównie w okolicach stawów, gdzie gromadzą się aktywowane makrofagi i komórki dendrytyczne [28,29]. Reumatoidalne zapalenie stawów związane jest także z podwyższonym poziomem zewnątrzkomórkowych metaloproteinaz (MMP). W destrukcji chrząstki ma szczególne znaczenie MMP-13, która jest produkowana przez chondrocyty i komórki synowialne. Tak więc, wydaje się, że kurkumina może hamować rozwój tego schorzenia poprzez blokowanie MMP oraz ścieżki związanej z NF- κ B [28].

Należy w tym miejscu wspomnieć również o chorobie nowotworowej, chociaż poświęcono jej cały następny rozdział. Znamy wiele dowodów na to, że stan zapalny i nowotwór są ze sobą powiązane w dwojaki sposób. Aktywacja onkogenów powoduje produkcję cytokin prozapalnych w transformowanych komórkach (ścieżka wewnętrzna) a chroniczny stan zapalny indukuje transformację nowotworową (ścieżka zewnętrzna), na co są już bogate dowody epidemiologiczne. Obydwie ścieżki (wewnętrzna i zewnętrzna) aktywują między innymi NF- κ B oraz STAT3, które z kolei indukują syntezę cytokin, chemokin, prostaglandyn oraz COX-2 [30]. Kurkumina może więc działać przeciwnowotworowo między innymi poprzez hamowanie stanu zapalnego.

KURKUMINA JAKO ZWIĄZEK CHEMOPREWENCYJNY I PRZECIWNOWOTWOROWY

Kancerogeneza, czyli powstawanie nowotworu, najogólniej rzecz ujmując polega na genetycznych zmianach w komórce spowodowanych mutacjami, niestabilnością chromosomową, aktywacją onkogenów i inaktywacją genów supresorów nowotworu, które to zmiany przekładają się na fenotyp komórki nowotworowej. Komórki nowotworowe charakteryzują się nieograniczonymi podziałami, niezależnością od czynników wzrostu, zmniejszoną podatnością na apoptozę oraz zdolnością do tworzenia przerzutów [31]. W zwierzęcych modelach rozwój choroby nowotworowej przyjęto dzielić na fazy inicjacji, promocji i progresji [2]. Termin chemoprewencja lub chemoprofilaktyka, czyli zapobieganie chorobie, w tym przypadku nowotworowej,



Rycina 3. Wpływ kurkuminy na hamowanie powstawania i rozwoju nowotworu.

nie jest równoznaczny z chemioterapią, czyli leczeniem nowotworu przy pomocy związków chemicznych. Jednakże termin chemoprewencja używany jest często w przypadku zapobiegania chorobie nowotworowej na różnych etapach jej rozwoju, ale w zasadzie zanim nastąpią przerzuty. Natomiast przeciwnowotworowe działanie związku odnosi się do jego cytostatycznego efektu na komórki nowotworowe. W tym rozumieniu kurkumina ma działanie zarówno chemoprewencyjne (antykanцерогенне) jak i przeciwnowotworowe (cytostatyczne, proapoptotyczne) [32,33]. Uproszczony schemat przeciwdziałania kurkuminy na różne etapy rozwoju nowotworu przedstawia rycina 3.

Chemoprewencyjne działanie kurkuminy wykazano w przypadku wielu typów nowotworów zwierzęcych indukowanych kancerogenami. I tak, kurkumina aplikowana na skórę lub podawana w diecie znacząco redukowała powstawanie guzów skóry myszy i szczurów na skutek działania kancerogenów. Podobnie, obecna w diecie kurkumina hamowała kancerogenezę w wątrobie myszy i szczurów. Najwięcej badań poświęcono ochronnemu działaniu kurkuminy w stosunku do nowotworów układu pokarmowego, wykazując jej skuteczność w przypadku raka okrężnicy mutantów mysich szczególnie podatnych na ten typ nowotworu oraz zwierzęcych nowotworów przełyku i żołądka. Kurkumina okazała się być skutecznym związkiem prewencyjnym również w przypadku guzów płuc i piersi [10,32,33].

Przeciwnowotworowe działanie kurkuminy przejawia się poprzez zahamowanie proliferacji i indukcję śmierci komórkowej, co wykazano przede wszystkim w badaniach *in vitro*. *In vivo* kurkumina zapobiega przerzutom [32] i hamuje angiogenezę [34]. Śmierci komórkowej indukowanej przez kurkuminę zostanie poświęcony następny rozdział. W tym miejscu zostanie krótko przedstawiony problem hamowania przez kurkuminę metastazy i związanej z nią angiogenezy. Metastaza to proces, w którym komórki nowotworowe wędrują poprzez układ krwionośny z tkanki, w której powstały do innych, nieraz bardzo odległych narządów i tam się zasiedlają, czyli tworzą przerzuty. W swojej wędrówce komórki nowotworowe muszą pokonać wiele barier, w tym błonę podstawną zbudowaną głównie z kolagenu IV. W pokonaniu tej bariery pomagają im metaloproteinazy (MMP), z których dwie MMP-2 i MMP-9 degradowują kolagen IV. Wykazano, że kurkumina jest inhibitorem tych metaloproteinaz wydzielanych przez komórki nowotworowe. Komórki raka prostaty przeszczepione myszom, wykazywały znaczące zahamowanie wzrostu oraz spadek aktywności MMP-2 i MMP-9 pod wpływem kurkuminy. Podobnie u myszy, którym przeszczepiono komórki raka

piersi człowieka, kurkumina hamowała przerzuty do płuc i syntezę MMP-9, COX-2, NF- κ B oraz naczyniowego czynnika wzrostu śródbłonna, VEGF [35]. VEGF jest typowym czynnikiem stymulującym angiogenezę, która jest niezbędna do wzrostu guza i obniżenie jego ekspresji pod wpływem kurkuminy obserwowane było również przez innych [34].

Wyniki badań przedklinicznych oraz podstawowych, obrazujących molekularny mechanizm przeciwnowotworowego działania kurkuminy, są na tyle obiecujące, że rozpoczęto już badania kliniczne ludzi chorych na nowotwory okrężnicy, prostaty oraz czerniaka.

WPLYW KURKUMINY NA ŚMIERĆ I PODZIAŁY KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Badania *in vivo* prowadzone na gryzoniach ujawniły skuteczność kurkuminy w redukcji indukowanych guzów, wskazując tym samym, że może ona indukować śmierć komórek nowotworowych. Wyniki uzyskane na komórkach różnych linii nowotworowych wskazują na wysoką cytotoxyczność kurkuminy stosowanej w stężeniach od kilku do kilkunastu μ M [36]. Zasadniczo rozróżnia się trzy rodzaje śmierci komórkowej. Jest to nekroza, apoptoza i autofagia [37]. Chociaż jeszcze do niedawna uważano, że nekroza jest śmiercią przypadkową, prowadzącą do bezładnej destrukcji komórki, a apoptoza stanowi tzw. śmierć programowaną. Dzisiaj tak ostre rozróżnienie nie ma już uzasadnienia, gdyż bardzo często nekroza może kończyć się apoptozą lub apoptoza może zachodzić bez udziału kaspaz dając pozorne symptomy nekrozy. Natomiast autofagia, zwana czasem II typem śmierci (I typ to apoptoza) okazuje się być procesem prowadzącym do przetrwania komórek. Apoptoza to proces zwany *self-killing* (ang.), gdyż komórka uruchamiając ścieżkę apoptozy ulega nieodwracalnemu samounicestwieniu a powstające ciała apoptotyczne ulegają fagocytozie przez makrofagi lub komórki sąsiadujące. Natomiast autofagia zwana jest *self-eating* (ang.), gdyż komórka w warunkach stresu degraduje cząsteczki lub całe organella. Proces ten może zakończyć się śmiercią, ale coraz częściej uważa się, że jest to sposób na przeżycie, podobnie jak starzenie komórkowe (ang. *senescence*). Jak dotychczas brak jest danych o indukcji starzenia komórkowego przez kurkuminę i tylko dwie prace dotyczące indukcji przez ten związek autofagii komórek glejaka [38,39]. Nasze wstępne wyniki wskazują, że kurkumina może indukować w komórkach raka okrężnicy HCT116 zarówno starzenie komórkowe jak i autofagię (Mosieniak i wsp., dane niepublikowane). Natomiast są już dziesiątki prac traktujących o indukcji apoptozy przez kurkuminę. Nasze własne badania wykazały indukcję przez kurkuminę katastrofy mitotycznej, czyli śmierci komórki w fazie mitozy, spowodowanej nieprawidłowościami w funkcjonowaniu wrzeciona mitotycznego. Komórki umierające w tej fazie cyklu zwykle uruchamiają egzekutorową fazę apoptozy, można więc ten rodzaj śmierci komórkowej traktować jak apoptozę [40,41].

Wyróżnia się dwa podstawowe szlaki apoptozy: szlak zewnętrzny (ang. *extrinsic*) pobudzany za pośrednictwem receptorów śmierci, obecnych w błonie komórkowej, prowadzący do aktywacji kaspazy 8 oraz szlak wewnętrzny (ang. *intrinsic*), który można podzielić na indukowany przez

stres siateczki śródplazmatycznej i związany z aktywacją kaspazy 12 oraz klasyczny szlak wewnętrzny, zależny od mitochondriów i aktywacji kaspazy 9 [42]. Wewnętrzna droga apoptozy uruchamiana jest poprzez stres i uszkodzenia DNA. Wszystkie szlaki prowadzą do aktywacji kaspazy 3, głównej kaspazy egzekutorowej apoptozy, i mogą ulegać wzajemnemu pobudzaniu i wzmacnianiu. Kluczowym elementem sygnałowym ścieżki mitochondrialnej jest uwolnienie cytochromu c z mitochondriów do cytoplazmy i utworzenie tzw. apoptosomu, kompleksu aktywującego kaspazę 9. Kaspazy efektorowe (3,6,7) katalizują degradację licznych białek komórkowych oraz aktywują specyficzną endonukleazę (DFF/CAD), prowadzącą do oligonukleosomowej fragmentacji DNA. Uwolnienie cytochromu c (oraz innych białek) z mitochondrialnej przestrzeni międzybłonowej jest regulowane przez białka z rodziny Bcl-2. Rodzina białek Bcl-2 jest bardzo liczna i zawiera zarówno białka proapoptotyczne jak i anty-apoptotyczne. Regulują one nie tylko proces apoptozy, ale także nekrozy i autofagii.

Bardzo ważną rolę w regulacji procesu apoptozy zarówno „zewnętrznej” jak i „wewnętrznej” odgrywa białko p53, które bierze udział w przekazywaniu sygnału o uszkodzeniach DNA. Białko p53 pełni rolę przełącznika pomiędzy zatrzymaniem cyklu komórkowego i naprawą uszkodzeń, a uruchomieniem programu apoptozy, jeśli uszkodzenia są zbyt rozległe. W tym drugim przypadku p53 aktywuje białka z rodziny Bcl-2, które z kolei przekazują sygnał do mitochondriów. Komórki nowotworowe to takie, które „wymknęły” się starzeniu i śmierci komórkowej, gdyż zmiany genetyczne, które w nich występują związane są ze wzmocnieniem ścieżek prożyciowych, z jednej strony, i z drugiej strony osłabieniem ścieżek prowadzących do śmierci komórkowej [42]. Dlatego wiele komórek nowotworowych jest opornych na radio- i chemioterapię. Zdziwiający jest fakt, że kurkumina jest w stanie wyidukować śmierć komórkową we wszystkich badanych komórkach nowotworowych, nie wyłączając w tym tych opornych na inne proapoptotyczne czynniki. Można to wytłumaczyć tym, że kurkumina, w zależności od typu komórek i zmian genetycznych w nich występujących, aktywuje różne szlaki poprzez indukcję ekspresji genów białek proapoptotycznych oraz hamowanie ekspresji genów białek antyapoptotycznych. Analiza mikromacierzy wykazała zmianę ekspresji pod wpływem kurkuminy 104 z 214 badanych genów związanych z apoptozą komórek raka piersi [43]. Kurkumina indukuje śmierć zarówno komórek zwierzęcych jak i człowieka, pochodzących z guzów litych, białaczek i chłoniaków. I tak, pod wpływem kurkuminy wykazano śmierć komórek linii nowotworowych okrężnicy, wątroby, płuc, piersi, przysadki, jajników, prostaty, pęcherza, astrocytów, gleju i neuroblastomy, czerniaka i wielu innych [44]. Nasze własne badania wykazały, że kurkumina skutecznie indukowała śmierć komórek promielocytarnych HL-60 [45,46] oraz wywodzących się z nich opornych na apoptozę komórek HCW-2 [40], komórek człowieka i myszy z ekspresją genu Bcr/ Abl [41] oraz limfoidalnych komórek Jurkat [18,47,48]. Wśród apoptotycznych ścieżek indukowanych przez kurkuminę można znaleźć zarówno zewnętrzną mitochondrialną i zależną od stresu siateczki śródplazmatycznej, jak i wewnętrzną a także zależną od p53 i związaną z hamowaniem przez kurkuminę NF- κ B. Co ciekawe, chociaż kurkumina jest związkiem o

właściwościach antyoksydacyjnych, to jednak bardzo często w indukcji apoptozy wykazuje właściwości prooksydacyjne. [49]. Kurkumina może indukować również nietypową apoptozę. Jest też wiele danych mówiących o uwrażliwianiu przez kurkuminę komórek na radio- i chemioterapię oraz o synergistycznym działaniu z innymi związkami.

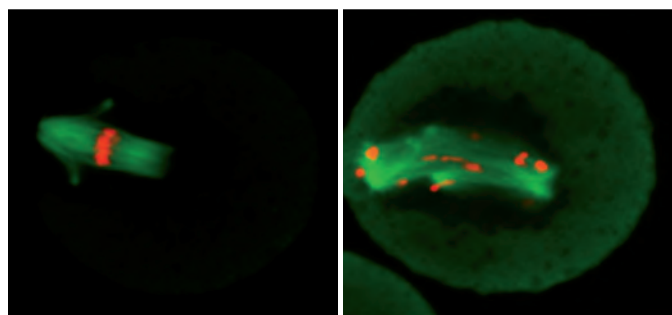
Komórki nowotworowe, w odróżnieniu od prawidłowych, nie podlegają limitowi podziałów, tylko dzielą się w nieskończoność [31]. Kurkumina indukuje w nich nie tylko śmierć, ale także zatrzymuje podziały poprzez oddziaływanie na punkty kontroli cyklu komórkowego. Wykazano wielokrotnie, że zmniejsza ekspresję genu cykliny D1. Cyklina D1 wiąże się z kinazami (Cdk4/6) punktu kontroli przejścia z fazy G1 do S cyklu komórkowego (tak zwany punkt restrykcyjny), powodując fosforylację białka Rb, które hyperfosforylowane uwalnia czynnik transkrypcyjny E2F1, aktywujący geny niezbędne do syntezy DNA. Tak więc, kurkumina pośrednio, poprzez obniżenie ekspresji genu cykliny D1 oraz podwyższenie ekspresji genów inhibitorów zależnych od cyklin kinaz rodziny Kip, takich jak p21 i p27, hamuje syntezę DNA, podwyższa ekspresję p53, co w efekcie może prowadzić do apoptozy, albo zatrzymania komórek w fazie G1 cyklu komórkowego. Hamuje też proliferację komórek i indukuje ich śmierć poprzez hamowanie aktywności prożyciowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B [50].

WPLYW KURKUMINY NA ŚMIERĆ I PODZIAŁY KOMÓREK PRAWIDŁOWYCH

O ile jest bardzo dużo prac mówiących o hamowaniu podziałów i indukcji śmierci komórek nowotworowych, o tyle można doliczyć się zaledwie kilkunastu prac dotyczących hamowania proliferacji i indukcji śmierci przez kurkuminę komórek prawidłowych. Pierwsza praca jaka się ukazała na ten temat pochodzi z roku 1996 i mówi o tym, że kurkumina indukuje apoptozę w komórkach nowotworowych i unieśmiertelnionych fibroblastach (NIH 3T3), ale nie w embrionalnych fibroblastach szczura i prawidłowych fibroblastach skóry człowieka [51]. Również w jednej z ostatnich prac wykazano, że kurkumina dopiero w stężeniu 40 μ M indukuje śmierć prawidłowych fibroblastów człowieka, podczas gdy już 10 μ M stężenie daje taki sam efekt w komórkach nowotworu okrężnicy HCT116 [52]. Co prawda, trudno jest porównywać prawidłowe fibroblasty, o których wiadomo, że są dosyć odporne na apoptozę, z komórkami nowotworowymi pochodzenia śródbłonkowego. W innej pracy wykazano, że kurkumina w sposób zależny od czasu i stężenia indukuje apoptozę w unieśmiertelnionych fibroblastach myszy, podczas gdy prawidłowe nabłonkowe komórki płuc człowieka pozostawały niewrażliwe na kurkuminę stosowaną w tych samych stężeniach (do 30 μ M) [53]. Inni natomiast wykazali, że fibroblasty człowieka izolowane z dziąseł, są wrażliwe na kurkuminę, która hamuje ich proliferację i indukuje śmierć komórkową, ale w stężeniach wyższych, bo sięgających 80 μ M [54]. Ostatnio wykazano, że kurkumina skutecznie indukuje śmierć fibroblastów skóry człowieka w stężeniu powyżej 25 μ M [55]. Kurkumina była również skutecznym induktorem apoptozy fibroblastów pochodzących z maziówki stawów osób chorych na reumatoidalne zapalenie stawów, ale dopiero w stężeniu 50 μ M i wyższym

[56]. Kurkumina stosowana w podobnym stężeniu (50 μ M) skutecznie indukowała śmierć komórkową w limfoidalnych komórkach gryzoni oraz komórkach krwi obwodowej człowieka zarówno spoczynkowych jak i stymulowanych do proliferacji [45,57]. Natomiast w stężeniu 5-krotnie niższym kurkumina indukowała śmierć komórek nowotworowych raka piersi (MCF-7), po uprzednim zatrzymaniu ich w fazie G2/M cyklu komórkowego. Stosowana w tym samym stężeniu przejściowo hamowała proliferację prawidłowych komórek nabłonkowych zatrzymując je w fazie G0/G1 bez oznak śmierci komórkowej [58]. W podobnie niskim stężeniu kurkumina hamowała proliferację komórek śródbłonka żyły pępowinowej człowieka (tzw. HUVEC), jednakże bez indukcji śmierci komórkowej. Pojedyncze prace traktują o indukcji śmierci komórkowej przez kurkuminę keratynocytów, osteoklastów, komórek mięśni gładkich naczyń, śródbłonka żyły pępowinowej oraz neuronów kory szczura.

Wydaje się, że słabsza podatność komórek prawidłowych niż nowotworowych na indukcję apoptozy przez kurkuminę może wynikać ze stosowania różnych stężeń w przypadku komórek prawidłowych i nowotworowych oraz z nie zawsze typowego obrazu śmierci jaką ona indukuje. Wykazaliśmy na przykład, że w limfocytach T człowieka kurkumina indukuje apoptozę, ale bez typowej dla tego rodzaju śmierci oligonukleosomowej degradacji DNA [57]. Aggarwal i wsp. uważają, że komórki nowotworowe, w odróżnieniu od większości komórek prawidłowych, mają aktywny czynnik transkrypcyjny NF- κ B, który jest głównym celem kurkuminy [59]. Nasze własne badania prowadzone na oocytach i zarodkach myszy, w których to komórkach nie dochodzi do aktywacji NF- κ B, wykazały, że kurkumina indukuje śmierć poprzez działanie na kinazę CDK1 i wrzeciono podziałowe, jednakże dopiero w dość wysokim stężeniu, 30 μ M i wyższym [60]. Rycina 4 przedstawia przykładowe oocyty mysie kontrolne i traktowane 40 μ M kurkuminą. Po traktowaniu kurkuminą widoczne są zaburzenia wrzeciona podziałowego i nieprawidłowa segregacja chromosomów. Obserwowane przez nas zaburzenia wrzeciona podziałowego dotyczą zarówno komórek mejotycznych jak i mitotycznych [60]. Wydaje się więc, że faktycznie kurkumina może indukować śmierć w komórkach prawidłowych, jednakże uruchomienie ścieżek śmierci komórkowej wymaga w tym przypadku znacznie wyższych stężeń kurkuminy. Fakt ten potwierdza znaczenie kurkuminy jako potencjal-



Oocyt kontrolny

Oocyt po traktowaniu
4 μ M kurkuminą

Rycina 4. Efekt działania kurkuminy na wrzeciono podziałowe mysich oocytów. Kolor czerwony przedstawia DNA, a kolor zielony β tubulinę wybarwioną odpowiednio barwnikiem DRAQ5 oraz przeciwciałem przeciwko β tubulinie sprzężonym z fluorochromem FITC.

nego leku przeciwnowotworowego bezpiecznego dla organizmu. Kurkumina hamuje również proliferację i aktywację limfocytów T, B, NK i dendrocytów, co sprawia, że jest ona nie tylko czynnikiem przeciwzapalnym, ale także wykazuje właściwości immunosupresyjne [61].

KURKUMINA A GOJENIE RAN I OCHRONA PRZECIWKO USZKODZENIOM NARZĄDÓW

Pomimo tego, że kurkumina jest induktorem śmierci komórek, to jednak, jako składnik diety, jest czynnikiem kardio-, nefro- i hepatoprotekcyjnym. Może również stanowić ochronę przeciw uszkodzeniom innych narządów, w tym płuc, jąder i przede wszystkim skóry.

Dobroczynne działanie kurkuminy w gojeniu się ran skórnych jest znane od bardzo dawna. Gojenie ran można podzielić na trzy etapy: (1) faza stanu zapalnego i tworzenia się wysięku oraz usuwania komórek uszkodzonych, czyli oczyszczanie rany oraz krzepnięcie krwi; (2) faza proliferacji i ziarnowacenia tkanki; (3) faza różnicowania, dojrzewania, tworzenia nabłonka i blizny [62]. W skrócie można powiedzieć, że w gojeniu się ran mamy do czynienia, ze śmiercią, proliferacją, dojrzewaniem i migracją komórek. Kurkumina przyspiesza gojenie się ran poprzez redukcję stresu oksydacyjnego, indukcję migracji komórek, przyspieszanie ich proliferacji, indukcję śmierci, podwyższanie syntezy kolagenu, indukcję angiogenezy [62]. Wydaje się, że działania kurkuminy w regulacji tego skomplikowanego procesu fizjologicznego są przeciwstawne (np. indukcja śmierci, proliferacji), chociaż efekt końcowy jest pozytywny. Prawdopodobnie mogą mieć tutaj znaczenie lokalne i czasowe różnice w stężeniach kurkuminy oraz jej hormetyczne działanie (patrz ostatni rozdział). W początkowej fazie stosunkowo wysokie stężenia kurkuminy mogą przyspieszać śmierć uszkodzonych komórek poprzez wzmocnienie stresu oksydacyjnego, a w późniejszych fazach niższe stężenie (kurkumina jest dość szybko metabolizowana) może sprzyjać indukcji proliferacji i protekcji przeciwko śmierci. Ostatnio wykazano, że kurkumina w stężeniu powyżej 25 μM indukuje śmierć fibroblastów, natomiast w niższym stężeniu (5 μM) zapobiega jej [63].

Ochrona układu sercowo-naczyniowego przez kurkuminę manifestuje się na wielu płaszczyznach. Przede wszystkim antyoksydacyjne i przeciwzapalne działanie kurkuminy zapobiega arteriosklerozie, o czym wspomiano już wcześniej. Duże znaczenie w tym działaniu ochronnym ma wpływ kurkuminy na poziom cholesterolu i peroksydację lipidów, w tym utlenianie cholesterolu. Jak wiadomo utleniony cholesterol powoduje uszkodzenie ścian naczyń krwionośnych i może prowadzić do ataku i zawału serca. Badania prowadzone na królikach karmionych dietą wysokocholesterolową oraz kilkuset ochotnikach wykazały, że kurkumina obniża poziom „złego” (LDL), podwyższa poziom „dobrego” cholesterolu (HDL) oraz obniża poziom trójglicerydów [64]. Ponadto kurkumina zapobiega agregacji płytek krwi i obniża poziom fibrynogenu. Zapobiega też szkodliwym skutkom niedotlenienia – reperfuzji, co może mieć znaczenie w przypadku wylewów krwi [2,64].

Antyoksydacyjne właściwości kurkuminy oraz jej pochodnych leżą również u podłoża ochrony nerek, zwłaszcza w przypadku uszkodzeń powodowanych cukrzycą oraz wątroby w zatruciach szkodliwymi związkami, w tym alkoholowym [64]. Kurkumina wykazuje również ochronne działanie w przypadku płuc, gdy uszkodzenia indukowano różnymi czynnikami [65].

Ostatnio ukazało się kilka prac publikujących wyniki dotyczące ochronnego działania kurkuminy na jądra samców myszy i szczurów, w których indukowano uszkodzenia, w tym również stresem oksydacyjnym, co potwierdziły nasze własne badania [44].

BIODOSTĘPNOŚĆ I TOKSYCZNOŚĆ KURKUMINY

Kurkumina jest związkiem o masie cząsteczkowej 368,38. Po raz pierwszy wyizolowano ją w 1815 roku, a strukturę ustalono w 1910 roku. Jest ona dwuferulometanem (Ryc. 1) i stanowi około 77% w dostępnym preparatach występujących pod ogólną nazwą kurkuminy, w skład których wchodzi jeszcze dwa inne kurkuminoidy [11]. Jest związkiem hydrofobowym i w związku z tym dobrze rozpuszcza się w acetonie, etanolu i DMSO. Badania prowadzone na zwierzętach oraz wolontariuszach wykazały, że kurkumina posiada bardzo niską biodostępność i jest dość szybko metabolizowana. Badania prowadzone na szczurach wykazały, że kurkumina podawana doustnie w bardzo wysokiej dawce, bo 1g/kg wagi ciała, jest w 75% wydalana z kałem i tylko śladowe jej ilości znaleziono w moczu. Ponad 60% wydalanej z kałem kurkuminy stanowiły jej metabolity. Kiedy kurkuminę wstrzykiwano dożylnie lub dootrzewnowo gromadziła się głównie w woreczku żółciowym w postaci pochodnych glukuronidów tetra- i heksa-kurkuminy. Zasadniczo kurkumina tworzy w jelicie i wątrobie nieaktywne biologicznie koniugaty glukuronidowe i siarczanowe, a także ulega redukcji [66]. Dane uzyskane podczas I fazy testów klinicznych, generalnie potwierdzają spostrzeżenia dokonane na zwierzętach o niskiej biodostępności kurkuminy [2]. Najwyższa ustna dawka jaką stosowano u ludzi (8 g/dobę) dawała najwyższe stężenie w surowicy nie przekraczające 2 μM . Jednakże, zarówno w badaniach na zwierzętach jak i na wolontariuszach wykazano, że aktywny składnik pieprzu piperyna znacząco podwyższa biodostępność kurkuminy i u ludzi wskaźnik jej biodostępności podawanej w ilości 2 g razem z 20 mg piperiny poprawił się aż o 2000% [67].

Kurkumina jest naturalnym składnikiem diety, ale dawki stosowane w klinice znacznie przekraczają te stosowane w diecie. Dlatego badania przedkliniczne i kliniczne I fazy, nastawione na sprawdzenie toksyczności związku, zarówno w przypadku kurkuminy jak i innych potencjalnych leków, są niezbędne. Dotychczasowe ich wyniki wskazują, że kurkumina podawana przez kilka miesięcy w dziennej dawce 3,6 g lub nawet 8 g nie powodowała żadnych ubocznych skutków. Szacuje się, że Hindusi spożywają praktycznie przez całe życie około 2 g kurkuminy dziennie, co stanowi ekwiwalent mniej niż 100 mg kurkuminy [68].

Na pytanie jak przy tak niskiej biodostępności kurkuminy może ona wywoływać tyle dobroczynnych efektów

postaramy się odpowiedzieć w ostatnim rozdziale. W tym miejscu jednak należy nadmienić, że prowadzi się badania w kierunku syntezy pochodnych kurkuminy, które przy zachowaniu aktywności charakteryzowałyby się znacznie wyższą biodostępnością, oraz znalezieniu jak najlepszego sposobu dostarczania jej do tkanek docelowych. I tak wykazano, że związek ten podawany w liposomach miał wyższą aktywność jako inhibitor NF- κ B, co przekładało się na wydajniejsze hamowanie wzrostu komórek raka trzustki *in vitro* i *in vivo* [69]. Ponadto czynione są próby syntezy fosfolipidów połączonych z kurkumina oraz nanocząsteczek kurkuminy zwiększających jej stabilność i biodostępność [66].

CELE KOMÓRKOWE KURKUMINY

Kurkumina ma w komórce bardzo dużo celów molekularnych, których identyfikacja wydaje się postępować bardzo szybko. Z niektórymi cząsteczkami kurkumina wiąże się, a aktywność innych reguluje w sposób pośredni. Większość z nich została zebrana przez Aggarwala i Sunga [66]. Na rycinie 2 pokazano niektóre z nich. Docelowe dla kurkuminy cząsteczki, z którymi nie wiąże się ona bezpośrednio, mogą być aktywowane lub hamowane. Kurkumina aktywuje wiele czynników transkrypcyjnych (m.in. p53, NrF2, ATF3, PPAR- γ), które wpływają na aktywność genów docelowych. Wpływa na indukcję p21 przez p53 oraz aktywację genu oksygenazy hemowej (HO-1) przez NrF2 a także hamowanie ekspresji genu cykliny D1 przez PPAR- γ . Z kolei inne czynniki transkrypcyjne są hamowane przez kurkumina. Do jednych z pierwszych zbadanych cząstek docelowych należy czynnik transkrypcyjny AP-1, którego obniżenie wiązania z DNA pod wpływem kurkuminy wykazano w 1991 roku [70].

Grupa Aggarwala zidentyfikowała po raz pierwszy czynnik transkrypcyjny NF- κ B jako cel molekularny kurkuminy. Zgodnie z dzisiejszą wiedzą wydaje się, że może on być jednym z bardziej uniwersalnych celów kurkuminy (poza czynnikiem transkrypcyjnym AP-1, który jest zaangażowany w regulację genów odpowiedzi na stres oksydacyjny) [59]. Wynika to z faktu, że NF- κ B ma działanie antyapoptotyczne oraz pełni funkcje w regulacji odporności zarówno nabytej jak i wrodzonej. I tak, NF- κ B aktywuje wiele genów, których produkty białkowe biorą udział w kontroli stanu zapalnego (enzymy COX-2 i 5-LOX, cytokiny IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α ; cząstki adhezyjne: CXCR4), proliferacji (c-myc, cykliny D1, surwiwina), apoptozy (Bcl-2, Bcl-xL, XIAP, IAP-1, IAP-2, cFlip, surwiwina) oraz angiogenezy (MMP-2, MMP-9, ICAM-1, VCAM-1).

NF- κ B stanowi rodzinę składającą się z pięciu białek: p65 (RelA), RelB, c-Rel, p50/p105 i p52/p100. Białka te rezydują w cytoplazmie w postaci homo- lub heterodimerów i są związane z białkami z rodziny inhibitorów I κ B. Po stymulacji komórki, na przykład do podziałów, inhibitory ulegają fosforylacji, a następnie degradacji przez proteasom. Uwolniony NF- κ B ulega translokacji do jądra i związaniu z DNA [71]. Aktywność czynnika transkrypcyjnego NF- κ B może być również regulowana poprzez acetylację na różnych poziomach [72]. Mianowicie, po pierwsze acetylacja histonów reguluje dostępność genów regulowanych przez

NF- κ B, po drugie acetylacji ulega kinaza IKK fosforylująca inhibitor I κ B, i po trzecie acetylowane są podjednostki p50 i p65 NF- κ B. Acetylacja białek histonowych regulowana jest przez deacetylazy (HDAC) oraz acetylotransferazy (HAT). Zasadniczo acetylacja reszty lizynowej histonów powoduje rozluźnienie chromatyny i udostępnienie DNA czynnikom transkrypcyjnym. W związku z tym wiele koaktywatorów transkrypcji ma funkcje transacetylaz odpowiedzialnych za acetylację histonów.

Wydaje się, że kurkumina działa głównie poprzez hamowanie aktywności kinazy IKK fosforylującej inhibitorową jednostkę kompleksu [73]. Aczkolwiek wykazano również, że kurkumina indukuje hypoacetylację histonów poprzez hamowanie aktywności acetylotransferaz, w tym białka CBP/p300, które jest koaktywatorem transkrypcji [74]. Nie wykluczone, że kurkumina może też wpływać na acetylację innych białek, nie związanych z regulacją aktywności genów, takich jak na przykład α -tubulina, która podlega procesom acetylacji/deacetylacji.

KURKUMINA A HOMEOSTAZA ORGANIZMU

Homeostaza jest to zdolność komórki lub całego organizmu do utrzymania wewnętrznej równowagi poprzez uruchomienie biochemicznych i fizjologicznych procesów. Ponieważ, na każdy organizm działają różne stresogenne czynniki, zakłócające równowagę, istnieje ciągle tendencja do jej przywrócenia [75]. Jednakże zdolność organizmu do utrzymania homeostazy jest ograniczona. Po pierwsze, wszystkie organizmy rozmnażające się płciowo starzeją się, czyli charakteryzują się stopniowym spadkiem homeostazy zakończonym śmiercią, a po drugie występuje wiele czynników chorobotwórczych, którym organizm sam, bez interwencji, nie potrafi poddać. Istnieje jednak wiele zewnętrznych czynników, które pomagają w przywróceniu homeostazy organizmu. Należy do nich wiele naturalnych i syntetycznych leków. Znamy już dzisiaj dużo związków roślinnego pochodzenia, które mają dobroczynne działanie poprzez przywracanie homeostazy organizmu. Należy do nich kurkumina. Ostatnio zaproponowaliśmy nawet, że może ona spowalniać starzenie się organizmu, chociaż dotychczas brak jest danych o wpływie kurkuminy na długość życia [8].

Ali i Rattan uważają, że kurkumina może mieć tak zwane hormetyczne działanie, czyli należy do związków, które nazwali hormetykami [76]. Hormeza, to zjawisko polegające na tym, że różne czynniki w zależności od nasilenia/stężenia mogą działać dobroczynnie (mała dawka) lub destrukcyjnie (duża dawka) (Ryc. 5). Nasze własne badania prowadzone *in vitro* wykazały, że faktycznie występuje dwufazowe działanie kurkuminy. W niższych dawkach (10 μ M) stymuluje ona dojrzewanie oocytów i podziały wczesnych zarodków, natomiast wyższe dawki (30 μ M) je hamują [60]. Kurkumina, jak się wydaje, nie ma *in vivo* działania szkodliwego, gdyż nawet w bardzo wysokich dawkach nie jest toksyczna. Wiąże się to z jej niską biodostępnością, której następstwem jest niskie stężenie związku w surowicy. Jest ono jednakże wystarczające, aby zapobiegać stanom zapalnym oraz eliminować komórki nowotworowe. Wysoka cytotoksyczność kurkuminy w przypadku komórek no-

wotworowych, w odróżnieniu od komórek prawidłowych, wynika prawdopodobnie z podwyższonej aktywności NF- κ B w tych pierwszych. Zaproponowaliśmy [8], aby zaliczyć kurkuminę do tak zwanych fitohormen, czyli związków roślinnych o pozytywnym działaniu na organizm zwierzęcy. Rośliny, w obronie przed szkodliwym wpływem środowiska (susza, promieniowanie UV, pasożyty i owady), wytworzyły mechanizmy obronne w postaci niskocząsteczkowych związków, które ze względu na podobieństwo molekularnych szlaków u roślin i zwierząt działają podobnie u jednych i drugich.

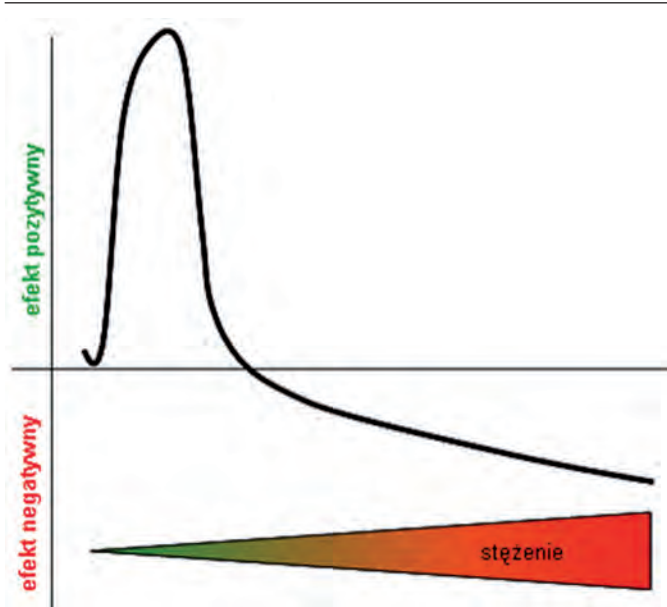
Czy jednak tak wielki optymizm związany z kurkuminą jest w pełni uzasadniony? Czy nie będzie ona miała szkodliwych efektów ubocznych, jeśli już nauczymy się, jak dostarczać ją do organizmu w dawkach znacznie przewyższających te, które powodują pozytywny efekt jaki obserwuje się przy jej niskiej biodostępności? Kurkumina, badana *in vitro* w stężeniach znacznie przewyższających te osiągalne w organizmie, indukuje przecież śmierć nie tylko komórek nowotworowych, ale również prawidłowych. Ostatnio zaczęły pojawiać się doniesienia wnoszące pewną dozę sceptycyzmu w całkowicie dobroczynne działanie kurkuminy. Otóż, jak wiadomo kurkumina jest związkiem chelatującym metale dwuwartościowe, w tym żelazo. Ma to korzystny wpływ, jeśli chodzi o jej antyoksydacyjne działanie, natomiast wykazano, że może ona powodować poważny niedobór żelaza u zwierząt doświadczalnych [77]. Badania te jednak nie znalazły jak na razie potwierdzenia w przypadku człowieka. Wydaje się więc, że kurkumina jako nutraceutyk, czyli składnik diety, jest zupełnie bezpieczna i nie ma przeciwwskazań w jej spożywaniu.

PIŚMIENNICTWO

1. Singh S (2007) From exotic spice to modern drug? Cell 130: 765-768
2. Strimpakos AS, Sharma RA (2008) Curcumin: preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. Antioxid Redox Signal 10: 511-545
3. Aggarwal BB, Harikumar KB (2009) Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative,

cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. Int J Biochem Cell Biol 41: 40-59

4. Aggarwal BB, Kunnumakkara AB, Harikumar KB, Tharakan ST, Sung B, Anand P (2008) Potential of spice-derived phytochemicals for cancer prevention. Planta Med 74: 1560-1569
5. Anand P, Thomas SG, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Sung B, Tharakan ST, Misra K, Priyadarsini IK, Rajasekharan KN, Aggarwal BB (2008) Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. Biochem Pharmacol 76: 1590-1611
6. Calabrese V, Bates TE, Mancuso C, Cornelius C, Ventimiglia B, Cambria MT, Di Renzo L, De Lorenzo A, Dinkova-Kostova AT (2008) Curcumin and the cellular stress response in free radical-related diseases. Mol Nutr Food Res 52: 1062-1073
7. Khan N, Afaq F, Mukhtar H (2008) Cancer chemoprevention through dietary antioxidants: progress and promise. Antioxid Redox Signal 10: 475-510
8. Salvioli S, Sikora E, Cooper EL, Franceschi C (2007) Curcumin in Cell Death Processes: A Challenge for CAM of Age-Related Pathologies. Evid Based Complement Alternat Med 4: 181-190
9. Sikora E, Bielak-Zmijewska A, Mosieniak G, Piwocka K (2010) The promise of slow down ageing may come from curcumin. Curr Pharm Des 16: 884-892
10. Wolanin K, Piwocka K (2008) Kurkumina – od medycyny naturalnej do kliniki. Kosmos 57: 53-65
11. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H (2007) Curcumin: the Indian solid gold. Adv Exp Med Biol 595: 1-75
12. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Torti SV (2008) Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. Cell Mol Life Sci 65: 1631-1652
13. Bartosz G (2008) Druga twarz tlenu. Wydawnictwo Naukowe PWN
14. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 39: 44-84
15. Manikandan P, Sumitra M, Aishwarya S, Manohar BM, Lokanadam B, Puvanakrishnan R (2004) Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. Int J Biochem Cell Biol 36: 1967-1980
16. Menon VP, Sudheer AR (2007) Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. Adv Exp Med Biol 595: 105-125
17. Jaruga E, Bielak-Zmijewska A, Sikora E, Skierski J, Radziszewska E, Piwocka K, Bartosz G (1998) Glutathione-independent mechanism of apoptosis inhibition by curcumin in rat thymocytes. Biochem Pharmacol 56: 961-965
18. Piwocka K, Jaruga E, Skierski J, Gradzka I, Sikora E (2001) Effect of glutathione depletion on caspase-3 independent apoptosis pathway induced by curcumin in Jurkat cells. Free Radic Biol Med 31: 670-678
19. Motterlini R, Foresti R, Bassi R, Green CJ (2000) Curcumin, an antioxidant and anti-inflammatory agent, induces heme oxygenase-1 and protects endothelial cells against oxidative stress. Free Radic Biol Med 28: 1303-1312
20. Loboda A, Jazwa A, Grochot-Przeczek A, Rutkowski AJ, Cisowski J, Agarwal A, Jozkowicz A, Dulak J (2008) Heme oxygenase-1 and the vascular bed: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. Antioxid Redox Signal 10: 1767-1812
21. Aggarwal BB, Shishodia S (2004) Suppression of the nuclear factor-kappaB activation pathway by spice-derived phytochemicals: reasoning for seasoning. Ann N Y Acad Sci 1030: 434-441
22. Aggarwal BB, Shishodia S (2006) Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. Biochem Pharmacol 71: 1397-1421
23. Nunomura A, Castellani RJ, Zhu X, Moreira PI, Perry G, Smith MA (2006) Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease. J Neuro-pathol Exp Neurol 65: 631-641
24. Gupta A, Pansari K (2003) Inflammation and Alzheimer's disease. Int J Clin Pract 57: 36-39



Rycina 5. Krzywa obrazująca hormetyczne działanie dowolnego czynnika.

25. Csiszar A, Wang M, Lakatta EG, Ungvari Z (2008) Inflammation and endothelial dysfunction during aging: role of NF-kappaB. *J Appl Physiol* 105: 1333-1341
26. King GL (2008) The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J Periodontol* 79: 1527-1534
27. Weisberg SP, Leibel R, Tortoriello DV (2008) Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabetes. *Endocrinology* 149: 3549-3558
28. Bright JJ (2007) Curcumin and autoimmune disease. *Adv Exp Med Biol* 595: 425-451
29. Packard RR, Libby P (2008) Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem* 54: 24-38
30. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F (2008) Cancer-related inflammation. *Nature* 454: 436-444
31. Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100: 57-70
32. Kuttan G, Kumar KB, Guruvayoorappan C, Kuttan R (2007) Antitumor, anti-invasion, and antimetastatic effects of curcumin. *Adv Exp Med Biol* 595: 173-184
33. Surh YJ, Chun KS (2007) Cancer chemopreventive effects of curcumin. *Adv Exp Med Biol* 595: 149-172
34. Bhandarkar SS, Arbiser JL (2007) Curcumin as an inhibitor of angiogenesis. *Adv Exp Med Biol* 595: 185-195
35. Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y, Banerjee S, Newman RA, Bueso-Ramos CE, Price JE (2005) Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin Cancer Res* 11: 7490-7498
36. Reuter S, Eifes S, Dicato M, Aggarwal BB, Diederich M (2008) Modulation of anti-apoptotic and survival pathways by curcumin as a strategy to induce apoptosis in cancer cells. *Biochem Pharmacol* 76: 1340-1351
37. Lockshin RA, Zakeri Z (2004) Apoptosis, autophagy, and more. *Int J Biochem Cell Biol* 36: 2405-2419
38. Aoki H, Takada Y, Kondo S, Sawaya R, Aggarwal BB, Kondo Y (2007) Evidence that curcumin suppresses the growth of malignant gliomas *in vitro* and *in vivo* through induction of autophagy: role of Akt and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways. *Mol Pharmacol* 72: 29-39
39. Shinjima N, Yokoyama T, Kondo Y, Kondo S (2007) Roles of the Akt/mTOR/p70S6K and ERK1/2 signaling pathways in curcumin-induced autophagy. *Autophagy* 3: 635-637
40. Magalska A, Sliwinska M, Szczepanowska J, Salvioli S, Franceschi C, Sikora E (2006) Resistance to apoptosis of HCW-2 cells can be overcome by curcumin- or vincristine-induced mitotic catastrophe. *Int J Cancer* 119: 1811-1818
41. Wolanin K, Magalska A, Mosieniak G, Klinger R, McKenna S, Vejda S, Sikora E, Piwocka K (2006) Curcumin affects components of the chromosomal passenger complex and induces mitotic catastrophe in apoptosis-resistant Bcr-Abl-expressing cells. *Mol Cancer Res* 4: 457-469
42. Bielak-Zmijewska A (2003) Mechanizmy oporności komórek nowotworowych na apoptozę. *Kosmos* 52: 157-171
43. Ramachandran C, Rodriguez S, Ramachandran R, Raveendran Nair PK, Fonseca H, Khatib Z, Escalon E, Melnick SJ (2005) Expression profiles of apoptotic genes induced by curcumin in human breast cancer and mammary epithelial cell lines. *Anticancer Res* 25: 3293-3302
44. Sikora-Polaczek M (2010) Wpływ kurkuminy na przeżywalność komórek rozrodczych oraz podziały i śmierć preimplantacyjnych zarodków myszy. Praca doktorska Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Instytut Zoologii, Zakład Genetyki i Ewolucjonizmu
45. Bielak-Zmijewska A, Koronkiewicz M, Skierski J, Piwocka K, Radziszewska E, Sikora E (2000) Effect of curcumin on the apoptosis of rodent and human nonproliferating and proliferating lymphoid cells. *Nutr Cancer* 38: 131-138
46. Mosieniak G, Sliwinska M, Piwocka K, Sikora E (2006) Curcumin abolishes apoptosis resistance of calcitriol-differentiated HL-60 cells. *FEBS Lett* 580: 4653-4660
47. Piwocka K, Zablocki K, Wieckowski MR, Skierski J, Feiga I, Szopa J, Drela N, Wojtczak L, Sikora E (1999) A novel apoptosis-like pathway, independent of mitochondria and caspases, induced by curcumin in human lymphoblastoid T (Jurkat) cells. *Exp Cell Res* 249: 299-307
48. Sikora E, Bielak-Zmijewska A, Magalska A, Piwocka K, Mosieniak G, Kalinowska M, Widlak P, Cymerman IA, Bujnicki JM (2006) Curcumin induces caspase-3-dependent apoptotic pathway but inhibits DNA fragmentation factor 40/caspase-activated DNase endonuclease in human Jurkat cells. *Mol Cancer Ther* 5: 927-934
49. Kang J, Chen J, Shi Y, Jia J, Zhang Y (2005) Curcumin-induced histone hypoacetylation: the role of reactive oxygen species. *Biochem Pharmacol* 69: 1205-1213
50. Karunakaran D, Joseph J, Kumar TR (2007) Cell growth regulation. *Adv Exp Med Biol* 595: 245-268
51. Jiang MC, Yang-Yen HF, Yen JJ, Lin JK (1996) Curcumin induces apoptosis in immortalized NIH 3T3 and malignant cancer cell lines. *Nutr Cancer* 26: 111-120
52. Watson JL, Hill R, Lee PW, Giacomantonio CA, Hoskin DW (2008) Curcumin induces apoptosis in HCT-116 human colon cancer cells in a p21-independent manner. *Exp Mol Pathol* 84: 230-233
53. Shankar S, Srivastava RK (2007) Bax and Bak genes are essential for maximum apoptotic response by curcumin, a polyphenolic compound and cancer chemopreventive agent derived from turmeric, *Curcuma longa*. *Carcinogenesis* 28: 1277-1286
54. Atsumi T, Tonosaki K, Fujisawa S (2006) Induction of early apoptosis and ROS-generation activity in human gingival fibroblasts (HGF) and human submandibular gland carcinoma (HSG) cells treated with curcumin. *Arch Oral Biol* 51: 913-921
55. Scharstuhl A, Mutsaers HA, Pennings SW, Szarek WA, Russel FG, Wagener FA (2009) Curcumin-induced fibroblast apoptosis and *in vitro* wound contraction are regulated by antioxidants and heme oxygenase: implications for scar formation. *J Cell Mol Med* 13: 712-725
56. Park C, Moon DO, Choi IW, Choi BT, Nam TJ, Rhu CH, Kwon TK, Lee WH, Kim GY, Choi YH (2007) Curcumin induces apoptosis and inhibits prostaglandin E₂ production in synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis. *Int J Mol Med* 20: 365-372
57. Magalska A, Brzezinska A, Bielak-Zmijewska A, Piwocka K, Mosieniak G, Sikora E (2006) Curcumin induces cell death without oligonucleosomal DNA fragmentation in quiescent and proliferating human CD8+ cells. *Acta Biochim Pol* 53: 531-538
58. Choudhuri T, Pal S, Das T, Sa G (2005) Curcumin selectively induces apoptosis in deregulated cyclin D1-expressed cells at G2 phase of cell cycle in a p53-dependent manner. *J Biol Chem* 280: 20059-20068
59. Aggarwal BB (2004) Nuclear factor-kappaB: the enemy within. *Cancer Cell* 6: 203-208
60. Bielak-Zmijewska A, Sikora-Polaczek M, Nieznanski K, Mosieniak G, Kolano A, Maleszewski M, Styra J, Sikora E (2010) Curcumin disrupts meiotic and mitotic divisions via spindle impairment and inhibition of CDK1 activity. *Cell Prolif* 43: 354-364
61. Jagetia GC, Aggarwal BB (2007) "Spicing up" of the immune system by curcumin. *J Clin Immunol* 27: 19-35
62. Thangapazham RL, Sharma A, Maheshwari RK (2007) Beneficial role of curcumin in skin diseases. *Adv Exp Med Biol* 595: 343-357
63. Scharstuhl A, Mutsaers HA, Pennings SW, Szarek WA, Russel FG, Wagener FA (2009) Curcumin-induced fibroblast apoptosis and *in vitro* wound contraction are regulated by antioxidants and heme oxygenase: implications for scar formation. *J Cell Mol Med* 13: 712-725
64. Miriyala S, Panchatcharam M, Rengarajulu P (2007) Cardioprotective effects of curcumin. *Adv Exp Med Biol* 595: 359-377
65. Venkatesan N (2000) Pulmonary protective effects of curcumin against paraquat toxicity. *Life Sci* 66: PL21-8
66. Aggarwal BB, Sung B (2009) Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends Pharmacol Sci* 30: 85-94

67. Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PS (1998) Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Med* 64: 353-356
68. Chainani-Wu N (2003) Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (*Curcuma longa*). *J Altern Complement Med* 9: 161-168
69. Li L, Braiteh FS, Kurzrock R (2005) Liposome-encapsulated curcumin: *in vitro* and *in vivo* effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. *Cancer* 104: 1322-1331
70. Huang TS, Lee SC, Lin JK (1991) Suppression of c-Jun/AP-1 activation by an inhibitor of tumor promotion in mouse fibroblast cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 5292-6
71. Hayden MS, Ghosh S (2004) Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev* 18: 2195-224
72. Quivy V, Van Lint C (2004) Regulation at multiple levels of NF-kappaB-mediated transactivation by protein acetylation. *Biochem Pharmacol* 68: 1221-1229
73. Shishodia S, Singh T, Chaturvedi MM (2007) Modulation of transcription factors by curcumin. *Adv Exp Med Biol* 595: 127-148
74. Marcu MG, Jung YJ, Lee S, Chung EJ, Lee MJ, Trepel J, Neckers L (2006) Curcumin is an inhibitor of p300 histone acetyltransferase. *Med Chem* 2: 169-174
75. Stewart JA (2006) The detrimental effects of allostasis: allostatic load as a measure of cumulative stress. *J Physiol Anthropol* 25: 133-145
76. Ali RE, Rattan SI (2006) Curcumin's biphasic hormetic response on proteasome activity and heat-shock protein synthesis in human keratinocytes. *Ann N Y Acad Sci* 1067: 394-399
77. Jiao Y, Wilkinson Jt, Di X, Wang W, Hatcher H, Kock ND, D'Agostino R, Jr., Knovich MA, Torti FM, Torti SV (2009) Curcumin, a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent, is a biologically active iron chelator. *Blood* 113: 462-469

Molecular and cellular mechanisms of curcumin action- beneficial effect on organism

Marta Sikora-Polaczek¹, Anna Bielak-Żmijewska², Ewa Sikora^{2,✉}

¹Maternity Center, 7a Białoprądnicka St., 31-221 Cracow, Poland

²Laboratory of Molecular Bases of Aging, Department of Biochemistry, Nencki Institute of Experimental Biology, 3 Pasteur St., 02-093 Warsaw, Poland

✉e-mail: e.sikora@nencki.gov.pl

Key words: apoptosis, curcumin, hormesis, low grade inflammation, oxidative stress

ABSTRACT

Curcumin is a natural compound derived from rhizome of *Curcuma longa*. It is an active compound of turmeric used from millennia in traditional medicine. At present there is a very rich scientific documentation describing curcumin as an anticancer, antioxidative and anti-inflammatory compound. Research on animal models revealed its not only anticancer activity but also potency as a drug against many other diseases of low grade inflammatory origin. Curcumin also counteracts many induced organ injuries. On the cellular level curcumin inhibits proliferation and induces apoptosis, however it is less cytotoxic for cancer than normal cells. There are many molecular targets of curcumin but stress signaling pathways and inhibition of NF- κ B transcription factor seems to be the most common. Despite its low bioactivity curcumin can exert beneficial influence on organism, thus confirming its hormetic propensity.