

Received: 2004.06.09
 Accepted: 2004.09.07
 Published: 2004.09.20

Rola witaminy C w uszkodzeniach oksydacyjnych DNA

Role of vitamin C in oxidative DNA damage

Maria Konopacka

Zakład Radiobiologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Onkologii Oddział Gliwice, Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Gliwicach

Streszczenie

Witamina C (kwas askorbinowy) jest antyoksydantem, który pełni w komórkach istotną rolę w utrzymaniu odpowiedniego potencjału oksydoredukcyjnego i poprzez uczestnictwo w neutralizowaniu reaktywnych form tlenu i azotu chroni makrocząsteczki komórki przed powstawaniem uszkodzeń oksydacyjnych. Opublikowane prace o wpływie witaminy C na uszkodzenia DNA indukowane przez czynniki wyzwalające w komórkach reakcje wolnorodnikowe są rozbieżne. Wykazano, że spożywanie witaminy C w różnych dawkach nie obniża wszystkich typów oksydacyjnych uszkodzeń DNA oznaczanych w limfocytach ludzkich. Wykazano natomiast, że konsumpcja kwasu askorbinowego z naturalnych źródeł (warzywa i owoce) chroni przed powstawaniem uszkodzeń DNA w komórkach ludzkich. Protekcyjne działanie witaminy C jest związane nie tylko z jej udziałem w reakcjach wolnorodnikowych, ale również z jej wpływem na ekspresję genów uczestniczących w procesach apoptozy i reperacji DNA. Praca stanowi przegląd literatury o wpływie witaminy C na oksydacyjne uszkodzenia DNA w komórkach *in vitro* i *in vivo*.

Słowa kluczowe:

witamina C • uszkodzenia oksydacyjne DNA • uszkodzenia genetyczne

Summary

Vitamin C (ascorbic acid) has considerable antioxidant activity: it scavenges reactive oxygen species and may, thereby, prevent oxidative damage to important biological macromolecules, such as DNA, proteins, and lipids. Data concerning the influence of vitamin C on oxidative DNA damage are conflicting and some of the discrepancies can be explained by the different experimental methodologies employed. Data using biomarkers of oxidative damage of DNA bases in human lymphocytes *in vitro* have provided no compelling evidence to conclude that vitamin C supplementation can decrease the level of oxidative DNA damage. There are also no conclusive data from studies of strand breaks for a protective effect of ascorbic acid. The consumption of food rich in vitamin C (fruits and vegetables) appears more protective because it exerts more positive effects in decreasing oxidative DNA damage to human cells. Recent studies indicate that vitamin C is much more than just an antioxidant; it regulates the expression of some genes participating in apoptosis or DNA repair processes. The purpose of this review is to provide a summary of the role of vitamin C in oxidative DNA damage.

Key words:

vitamin C • oxidative DNA damage • genetic damage

Full-text PDF:

http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/6374.pdf

Word count:

2448

Tables:

–

Figures:

1

References:

55

Adres autorki:

Zakład Radiobiologii Doświadczalnej i Klinicznej, Centrum Onkologii Oddział Gliwice, Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-100 Gliwice, e-mail: m_konopacka@pf.pl

WSTĘP

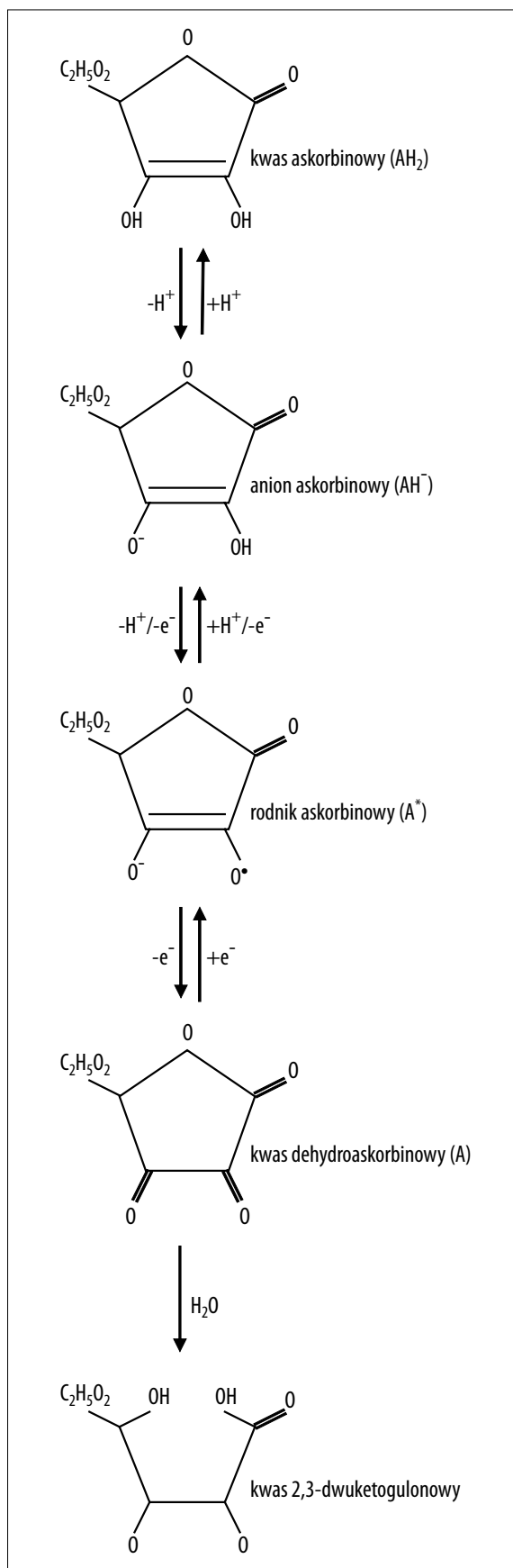
Za jedną z przyczyn powstawania i rozwoju chronicznych chorób degeneracyjnych np. arteriosklerozy, katarakty, nowotworów, a także procesów starzenia organizmów uważa się wolnorodnikowe uszkodzenia materiału genetycznego komórek. W wyniku oddziaływania wolnych rodników tlenowych z cząsteczką DNA powstają pojedyncze niciowe i podwójne niciowe pęknięcia, miejsca apurynowe i apirymidynowe, wiązania poprzeczne DNA-białko i DNA-DNA oraz różnego rodzaju chemiczne modyfikacje zasad azotowych. Te zmiany genetyczne stanowią potencjalne źródło mutacji, których powstanie i utrwalenie może prowadzić do rozwoju nowotworów. Ochrona komórek przed powstawaniem wolnorodnikowych uszkodzeń DNA i innych składników strukturalnych i funkcjonalnych komórki jest jednym z ważnych kierunków badań biologicznych. Wiele prac koncentruje się na udziale witamin antyoksydacyjnych w zachowaniu integralności genomu komórek w warunkach stresu oksydacyjnego.

Witamina C pełni w komórkach istotną rolę w utrzymaniu odpowiedniego potencjału oksydoredukcyjnego przez uczestnictwo w neutralizowaniu powstających w metabolizmie komórkowym reaktywnych form tlenu i azotu [38,46]. Ta właściwość kwasu askorbinowego skłoniła badaczy do rozważenia możliwości zastosowania witaminy C jako czynnika ochronnego w zapobieganiu chorobom o podłożu wolnorodnikowego uszkodzenia tkanek lub zmniejszającego skutki działania radio- lub chemioterapii w komórkach prawidłowych u pacjentów poddanych leczeniu. Opublikowano wiele prac zarówno o działaniu samej witaminy C na DNA komórek *in vivo* i *in vitro*, jak również o jej modulującym wpływie na poziom uszkodzeń DNA indukowanych przez czynniki wyzwalające w komórkach reakcje wolnorodnikowe. Chociaż większość tych prac przedstawia dowody wskazujące na ochronne działanie witaminy C przeciw reaktywnym formom tlenu powstającym w metabolizmie komórkowym lub powstających wskutek działania czynników zewnętrznych, to nie można pominąć doniesień przedstawiających genotoksyczne działanie kwasu askorbinowego. Obecna praca stanowi przegląd literaturowy o udziale witaminy C w powstawaniu lub zmniejszaniu oksydacyjnych uszkodzeń DNA w komórkach.

STRUKTURA CHEMICZNA I UDZIAŁ WITAMINY C W REAKCJACH OKSYDUKACYJNYCH

Najważniejszą właściwością leżącą u podstaw biologicznej aktywności kwasu askorbinowego jest jego zdolność odwracalnego utleniania i redukcji. Rycina 1 przedstawia kolejne etapy utlenienia kwasu askorbinowego.

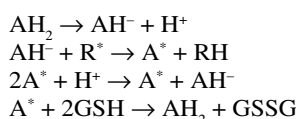
Odwracalna dysocjacja kwasu askorbinowego (AH_2) z odłączeniem wodoru prowadzi do powstania anionu askorbinowego (AH^-). Jednoelektronowe utlenienie cząsteczki anionu askorbinowego powoduje powstanie rodnika askorbinowego (A^*), cząsteczki o małej reaktywności chemicznej, która z udziałem NADH-zależnej reduktazy ulega redukcji do cząsteczki kwasu askorbinowego (AH_2). Utrata kolejnego elektronu przez rodnik askorbinowy prowadzi do jego przemiany do kwasu dehydroaskorbinowego (A). Utleniona postać kwasu askorbinowego ma taką samą aktywność biologiczną jak postać zredukowana. Redukcja



Ryc. 1. Struktury chemiczne kwasu askorbinowego i produktów jego utlenienia

kwasy dehydroaskorbinowego z powrotem do cząsteczki kwasu askorbinowego zachodzi z udziałem glutationu lub selenozależnej reduktazy [18,34], natomiast hydroliza kwasu dehydroaskorbinowego do kwasu 2,3-dwuketogulonowego powoduje jego degradację i zanikanie właściwości antyoksydacyjnych [6].

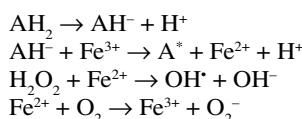
Witamina C jest zaliczana do grupy antyoksydantów fazy wodnej, hamujących inicjację łańcuchowych reakcji wolnorodnikowych. Poprzez donację wodoru witamina C neutralizuje krótko żyjące rodniki hydroksylowe, oksyalkoholowe, ponadtlenkowe i azotowe [46], przy czym tworzą się stabilne i niereaktywne rodniki askorbinowe [8]. Rodniki te są regenerowane do postaci kwasu askorbinowego z udziałem glutationu. Antyoksydacyjne działanie witaminy C przedstawia poniższy schemat:



R^\cdot – rodnik tlenowy, GSH – zredukowana, GSSG – utleniona postać glutationu.

Kwas askorbinowy uczestniczy także w regenerowaniu antyoksydantów hydrofobowych – α -tokoferolu i β -karotenu z ich postaci rodnikowych [6,36]. Najnowsze doniesienia dostarczyły dowodów na to, że witamina C neutralizuje także długo żyjące rodniki białkowe, tworzące się z aminokwasami zawierających siarkę ($\text{R-CH}_2\text{-S-O}^\cdot$) [29].

Prooksydacyjna aktywność kwasu askorbinowego jest związana z jego zdolnością interakcji z jonami metali przejściowych, głównie żelaza i miedzi. Udział witaminy C w reakcjach z jonami tych metali jest podstawową właściwością w jej funkcjonowaniu jako kosubstratu hydroksylaz i oksygenaz, enzymów uczestniczących w biosyntezie kolagenu. Utrzymuje ona znajdujące się w centrach aktywnych tych enzymów jony metali w stanie zredukowanym, co umożliwia optymalne działanie enzymów [3]. Katalizowana przez witaminę C redukcja wolnych, niezwiązanych z białkami jonów metali przejściowych jest przyczyną generowania rodników tlenowych. Zredukowane jony metali, np. żelaza wchodzi w reakcje z nadtlakiem wodoru prowadząc do wytworzenia wysoce reaktywnych rodników hydroksylowych lub jonów ponadtlenkowych. Ta opisana przez Fentona reakcja zachodzi *in vitro* w obecności tlenu, zgodnie z poniższym schematem:



AH_2 – kwas askorbinowy, AH^\cdot – jon askorbinowy, A^* – rodnik askorbinowy, OH^\cdot – rodnik hydroksylowy, O_2^- – jon ponadtlenkowy

Uważa się, że reakcja Fentona nie występuje *in vivo*, ze względu na ograniczoną dostępność jonów żelaza i miedzi w tkankach organizmów żywych. Jony tych metali są związane przez obecne w komórce białka – ferrytynę, transferynę i ceruloplazminę [18,19].

Prooksydacyjna aktywność witaminy C występująca przy dużym stężeniu jest związana nie tylko z jej uczestnictwem w reakcji Fentona, ale również z reakcjami z nadtlakami lipidów. Wykazano, że witamina C indukuje dekompozycję wodoronadtlenków lipidów do związków tworzących trwałe addukty z DNA. Są to: 4-oxo-nonenal, 4,5-epoxy-2(E)-decenal i 4-hydroxy-2-nonenal [31].

BIOMARKERY OKSYDACYJNYCH USZKODZEŃ DNA

Markerami oksydacyjnych uszkodzeń DNA są najczęściej chemiczne modyfikacje zasad oraz strukturalne zmiany, do których należą pęknięcia nici DNA, wymiana siostrzanych chromatyd, formowanie mikrojąder oraz aberracje chromosomowe.

Test mikrojądrowy jest metodą cytogenetyczną pozwalającą na wykrywanie podwójnych niciowych pęknięć nici DNA i uszkodzeń wrzeciona podziałowego ujawniających się po podziale komórek. Zastosowanie cytochalazyny B, która blokuje cytokinezę, podwyższyło czułość tej metody w oznaczaniu uszkodzeń DNA [15].

Klasyczna analiza aberracji chromosomowych w komórkach metafazowych wykrywa mikroskopowo dostrzegalne zmiany w liczbie i morfologii chromosomów. Tą metodą identyfikowane są złamania chromosomów i chromatyd, obecność fragmentów acentrycznych oraz tworzenie się chromosomów dwucentrycznych i pierścieniowych. Metoda hybrydyzacji *in situ* z zastosowaniem barwników fluorescencyjnych (FISH) pozwala na wykrywanie niedostrzegalnych mikroskopowo translokacji fragmentów chromosomów.

Wymiana odcinków siostrzanych chromatyd (SCE) jest możliwa do oceny w płytkach metafazowych uzyskanych z hodowli komórek prowadzonych w obecności bromodeoksyurydyny i barwionych fluorescencyjnie.

Stosowane są trzy metody pozwalające na detekcję uszkodzeń oksydacyjnych zasad azotowych w cząsteczce DNA. Są to: chromatografia gazowa w połączeniu ze spektroskopią masową (GS-MS), wysokociśnieniowa chromatografia cieczowa z detekcją elektrochemiczną (HPLC-ECD) oraz rozszerzona o zastosowanie swoistych enzymów rozpoznających pęknięcia DNA elektroforeza pojedynczych jąder komórkowych na żelu (metoda kometowa) w warunkach alkalicznych.

Metoda GS-MS jest przydatna w wykrywaniu różnego typu uszkodzeń zasad. Jest to metoda obciążona jednak znacznym błędem pomiaru, wynikającym z wprowadzania dodatkowych uszkodzeń w czasie skomplikowanej preparatyki izolacji i ekstrakcji DNA [24].

Metoda HPLC-ECD, czuła o rząd wielkości od poprzedniej, wykrywa modyfikacje chemiczne zasad azotowych [21].

Test kometowy w warunkach alkalicznych wykrywa pęknięcia nici DNA na poziomie pojedynczych komórek, przez co może być stosowany na niewielkich próbkach badanego materiału [47]. Specyficzność wykrywania oksydacyjnych uszkodzeń zasad tą metodą umożliwiło zastosowanie enzymów naprawczych, np. glikozydazy formamidopirymy-

dynowej (FAPY) i endonukleazy III, które mają zdolność rozpoznawania zmodyfikowanych zasad [40].

WPLYW WITAMINY C NA USZKODZENIA OKSYDACYJNE DNA

Badania *in vitro* na liniach komórkowych

Wpływ witamin antyoksydacyjnych w tym kwasu askorbinowego na spontaniczne lub indukowane przez czynniki chemiczne lub fizyczne zmiany genetyczne i przeżywalność komórek *in vivo* i *in vitro* opisano szerzej już wcześniej [25].

Wyniki eksperymentów przeprowadzonych na liniach komórkowych lub krótkoterminowych hodowlach limfocytów ludzkich wskazują, że witamina C, obecna w podłożu hodowlanym w stężeniu nieprzekraczającym 60 μM zmniejsza liczbę spontanicznych uszkodzeń DNA. Obserwowano np. spadek częstości występowania mutacji HPRT lub pęknięć nici DNA w komórkach hodowanych w obecności kwasu askorbinowego w porównaniu z liczbą tych uszkodzeń w komórkach hodowanych na podłożu standardowym [51]. Wyższe stężenie kwasu askorbinowego jest związane z indukowaniem aberracji chromosomowych i pęknięć nici DNA [28,48]. Dotychczas nie stwierdzono wpływu witaminy C na liczbę spontanicznych mikrojąder w komórkach hodowanych *in vitro* [12,27].

Wyniki wielu eksperymentów dostarczyły dowodów na to, że witamina C hamuje fragmentację DNA oraz powstawanie uszkodzeń cyto-genetycznych w komórkach poddanych działaniu promieniowania jonizującego [16,28] lub substancji chemicznych o mutagennych własnościach [5,53]. Jednak wielu autorów przedstawia dowody, że działanie mutagenne niektórych substancji chemicznych jest silniejsze w obecności witaminy C [4]. Czynnikiem wspomagającym mutagenne działanie witaminy C jest obecność jonów żelaza i miedzi [22,50], co można wytłumaczyć udziałem witaminy w reakcji Fentona prowadzącej do generowania rodników hydroksylowych, odpowiedzialnych za oksydacyjne uszkodzenia DNA.

Badania na zwierzętach doświadczalnych

Wyniki eksperymentów przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych nie wykazały prooksydacyjnej aktywności witaminy C w tkankach organizmów żywych. Zarówno stężenie samej witaminy, jak i jonów metali przejściowych są regulowane w organizmach żywych przez systemy wewnętrzne, co ogranicza występowanie reakcji Fentona. Chociaż dotychczas nie przedstawiono dowodów na generowanie *in vivo* rodników hydroksylowych we wspomnianej powyżej reakcji, to istnieją przesłanki o generowaniu innych reaktywnych form tlenu. W eksperymentach przeprowadzonych na szczurach wykazano, że witamina podawana zwierzętom w dawce 500 mg/kg m.c. indukuje w mikrosomach wątroby tych zwierząt anionorodniki ponadtenkowie [39]. Autorzy cytowanej pracy nie obserwowali uszkodzeń DNA w komórkach testowanych zwierząt. W innych eksperymentach przeprowadzonych na świnkach morskich podawano zwierzętom wysokie dawki witaminy C i chociaż odnotowano prawie 60-krotny wzrost stężenia tej witaminy w surowicy zwierząt, to stężenie 8-okso-guaniny – głównego markera oksydacyjnych uszkodzeń DNA,

pozostawał niezmienny [9]. Również badania wykonane na innych gryzoniach nie wykazały prooksydacyjnej aktywności kwasu askorbinowego. Witamina C zastosowana w dawkach sięgających 800 mg/kg m.c./dzień nie indukowała uszkodzeń DNA i przyczyniała się do obniżenia liczby tych uszkodzeń w komórkach zwierząt po ich ekspozycji na działanie promieniowania jonizującego [26,45] i cislpatyny [17].

Badania *ex vivo*

W ostatnich latach opublikowano wiele prac, w których testowano wpływ witamin antyoksydacyjnych na liczbę spontanicznych uszkodzeń genetycznych w komórkach ludzkich. W badaniach tych podawano witaminę C zdrowym ochotnikom, a liczbę uszkodzeń DNA oznaczano najczęściej w limfocytach krwi obwodowej. Stosowano różne dawki dobowe witaminy, od 60 mg [1], poprzez 0,5 g [11,41] dochodząc do 2 g [12]. Po kilkudniowej suplementacji stężenie witaminy C w surowicy wzrastało z wartości 20–90 μM maksymalnie do 170 μM [32], ale liczba uszkodzeń DNA pozostawała niezmienną, albo nieznacznie obniżoną [12,35,42].

Opublikowana praca Podmore'a i współpr. już samym swoim tytułem „Vitamin C exhibits prooxidant properties” sugeruje jej prooksydacyjną aktywność [41]. W limfocytach pobranych od osób otrzymujących kwas askorbinowy, odnotowano wzrost stężenia 8-oksoadeniny przy jednoczesnym spadku stężenia 8-oksoguaniny [30,41]. Praca ta nie stanowi w opinii wielu badaczy dowodu na prooksydacyjny charakter witaminy C, dlatego że wykazano wzrost stężenia 8-oksoadeniny, która wykazuje dużo słabszą aktywność mutagenną w porównaniu z 8-oksoguaniną, a ponadto spadek stężenia oksydowanej guaniny wskazuje raczej na antyoksydacyjną aktywność witaminy.

Podobnych wyników dostarczyły badania, w których ochotnicy przyjmowali przez 12 tygodni witaminę C (60–12 mg/dobę) łącznie z solami żelaza (14 mg/dobę) [43]. W limfocytach krwi pobranych od tych osób oznaczono 13 typów zmodyfikowanych chemicznie zasad azotowych, a wśród nich odnotowano spadek poziomu 8-oksoguaniny przy jednoczesnym wzroście stężenia glikolu tymidyny i 5-hydroksycytozyny. Zbadano także wpływ witaminy C na poziom spontanicznych lub indukowanych *in vitro* uszkodzeń DNA wykrywanych testem kometowym.

Wyniki badań wskazały, że spożywanie dużych ilości kwasu askorbinowego nie wpływa na liczbę pęknięć nici DNA [1,52] albo obniża liczbę spontanicznych lub indukowanych *in vitro* uszkodzeń DNA – pęknięć i zmodyfikowanych zasad azotowych [7,13,14,37,38].

W naszych badaniach z zastosowaniem testu kometowego wykazaliśmy, że witamina C dodana do hodowli limfocytów po ich ekspozycji *in vitro* na działanie promieniowania jonizującego obniża liczbę wykrywanych tą metodą pęknięć DNA [27]. Witaminę dodawaliśmy po napromienieniu hodowli, zatem jej ochronne działanie nie jest związane z bezpośrednim wychwytywaniem indukowanych przez promieniowanie krótko żyjących reaktywnych form tlenu. Przyspieszone usuwanie uszkodzonego DNA można było wytłumaczyć jej udziałem w procesach reperacji

[28]. Opublikowane niedawno badania Luneca i współpr. dostarczyły bezpośrednich dowodów na udział witaminy C w przyspieszaniu aktywności genów uczestniczących w procesie reparacji DNA. Wykazały one, że witamina C w stężeniu 100 μM po 3 godzinach inkubowania komórek w 37°C aktywuje czynniki transkrypcyjne AP-1 i NF κ B, uczestniczące w regulacji ekspresji genów naprawy NER [33].

W ciągu ostatnich lat wzrasta liczba doniesień wskazujących na udział witaminy C w regulacji transkrypcji różnych genów. Zgodnie z nimi kwas askorbinowy reguluje transkrypcję genów odpowiedzialnych za syntezę kolagenu, transkrypcję genu *fra-1*, kodującego czynniki rodziny Fos z wspomnianym powyżej czynnikiem AP-1 [2,33]. Wykazano także, że witamina C wpływa na ekspresję genów uczestniczących w procesie apoptozy. Hamowanie przez witaminę C śmierci komórek za pośrednictwem apoptozy przedstawiają wyniki różnych badań przeprowadzonych na liniach białaczki ludzkiej [10,23,55]. W hodowli komórek białaczki ludzkiej linii HL60 wykazano, że witamina C hamuje indukowaną przez promieniowanie jonizujące apoptozę, ale nie zmienia ekspresji genu *BCL2*, regulującego ten proces oraz antygenu powierzchniowego TNFSRF 6 (znanego jako Fas/APO 1) [54]. Przedstawiono również, że witamina C hamuje indukowaną przez homocysteinę apoptozę w komórkach HL60 przez supresję kaspazy 3 [23]. Wykazano, że mechanizm ochronnej aktywności witaminy C w tym procesie jest związany ze wzmaganiem ekspresji genów odpowiedzialnych za syntezę interleukin 2, 4, 12 i 15, które są czynnikami hamującymi śmierć komórek [10].

W innych badaniach przeprowadzonych na wielu liniach komórek nowotworowych przedstawiono dowody, że witamina C indukuje proces apoptozy [44]. Autorzy tej pracy proponują mechanizm, w którym witamina C aktywuje interleukinę 1 α , oddziałując na białko p53, które hamuje cykl komórkowy i indukuje apoptozę. W świetle tych badań, odnoszących się do komórek nowotworowych, można mówić o znaczeniu terapeutycznym witaminy C, ponieważ aktywacja p53 prowadzi do supresji nowotworu. Ostateczne wnioski potwierdzające to spostrzeżenie wymagają przeprowadzenia większej liczby badań.

Interesujących wniosków, przekonujących o korzystnym wpływie witamin w redukowaniu oksydacyjnych uszkodzeń DNA dostarczyły wyniki badań, w których jako źródło witamin antyoksydacyjnych zastosowano dietę bogatą

w warzywa i owoce. Wykazano, że konsumpcja witamin z naturalnych źródeł przyczynia się do obniżenia poziomu 8-oksoguaniny, głównego markera uszkodzeń DNA wykrywanego w leukocytach krwi lub w moczu [11,49,54].

PODSUMOWANIE

Doświadczenia przeprowadzone na liniach komórkowych wskazują, że witamina C w małym stężeniu funkcjonuje jako antyoksydant i obniża liczbę uszkodzeń genetycznych, natomiast w dużym stężeniu i dodatkowo w obecności jonów metali przejściowych wykazuje prooksydacyjny charakter, a włączając się w reakcję Fentona przyczynia się poprzez indukcję reaktywnych form tlenu - do wzrostu liczby tych uszkodzeń.

Badania wykonane na hodowli limfocytów ludzkich nie wykazały prooksydacyjnej aktywności witaminy C, a większość z nich wskazuje na ochronny charakter kwasu askorbinowego. To ochronne działanie witaminy C wynika nie tylko z jej antyoksydacyjnych własności, ale także z jej wpływu na ekspresję genów uczestniczących w procesach naprawy uszkodzonego DNA oraz genów hamujących śmierć komórek. Wyniki eksperymentów przeprowadzonych na różnych liniach komórkowych sugerują, że witamina C przez hamowanie indukowanej przez promieniowanie i cytostatyki uszkodzeń cytoogenetycznych może być potencjalnym czynnikiem ochronnym komórek prawidłowych u pacjentów poddanych radio- lub chemioterapii.

Badania, w których oznaczano stężenie zmodyfikowanych zasad wskazujących na oksydacyjne uszkodzenia DNA wykonane na limfocytach osób po kilkutygodniowej suplementacji witaminą C, nie dały jednoznacznych dowodów wskazujących na protekcyjne działanie tej witaminy. Wykazują one, że witamina C przyjmowana w dawkach przekraczających dobowe zapotrzebowanie, nie ma wpływu, albo zmniejsza liczbę zmodyfikowanych zasad jednego typu, przy jednoczesnym wzroście uszkodzeń innego typu. Obecnie uczeni namawiają do stosowania naturalnej diety bogatej w warzywa i owoce, jako źródło witamin antyoksydacyjnych. Na przykład owoc kiwi zawiera prawie 100 mg witaminy C i wystarcza do pokrycia dobowego zapotrzebowania na tę witaminę [20]. Ponadto owoce i warzywa zawierają wiele innych składników, np. mikroelementy i flawony roślinne przyczyniające się do zmniejszenia zapadalności na choroby, których podstawą są uszkodzenia oksydacyjne DNA.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Anderson D., Philips B.J., Yu T., Edwards A.J., Ayesh R., Butterworth K.R.: The effects of vitamin C supplementation on biomarkers of oxygen radical generated damage in human volunteers with "low" or "high" cholesterol level. *Environ. Mol. Mutagen.*, 1997; 30: 161–174
- [2] Arrigoni O., De Tullio M.C.: Ascorbic acid: much more than just an antioxidant (review). *Biochim. Biophys. Acta*, 2002; 1569: 1–9
- [3] Bendich A., Cohen M.: Ascorbic acid safety: analysis of factors affecting iron absorption. *Toxicol. Lett.*, 1990; 51: 189–201
- [4] Błasiak J., Trzeciak A., Dżiki A., Ułańska J., Pander B.: Synergistic effect of vitamin C on DNA damage induced by cadmium. *Gen. Physiol. Biophys.*, 2000; 19: 373–379
- [5] Błasiak J., Kowalik J.: Protective action of vitamin C against DNA damage induced by selenium-cisplatin conjugate. *Acta Biochim. Pol.*, 2001; 48(1): 233–240
- [6] Bonorden W.R., Pariza M.W.: Antioxidant nutrients and protection from free radicals. In: *Nutritional Toxicology*. Eds.: Kotsonis F.N., Mackey M., Hjelle J. Ravel Press, Ltd, New York, 1994, 19–47
- [7] Brennan L.A., Morris G.M., Wasson G.R., Hannigan B.M., Barnett V.A.: The effect of vitamin C or vitamin E supplementation on basal and H₂O₂ - induced DNA damage in human lymphocytes. *Br. J. Nutr.*, 2000; 84: 195–202
- [8] Buettner G.R.: The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1993; 300: 535–5543
- [9] Cadenas S., Barja G., Poulsen H.E., Loft S.: Oxidative DNA damage estimated by oxo8dG in the liver of guinea pigs supplemented with graded dietary doses ascorbic acid and alpha-tocopherol. *Carcinogenesis*, 1997; 18: 2373–2377

- [10] Campbell J.D., Cole M., Bunditratavorn B., Vella A.T.: Ascorbic acid is a potent inhibitor of various forms of T cell apoptosis. *Cell. Immunol.*, 1999; 194: 1–5
- [11] Cook M.S., Evans M.D., Herbert K.E., Lunec J.: Urinary 8'-oxo-2'-deoxyguanosine – source, significance and supplements. *Free Radic. Res.*, 2000; 32: 381–397
- [12] Crott J.W., Fenech M.: Effect of vitamin C supplementation on chromosome damage, apoptosis and necrosis *ex vivo*. *Carcinogenesis*, 1999; 20: 1035–1041
- [13] Dusińska M., Kazimirowa A., Barancokova M., Beno, Smolkova B., Horská A., Raslova K., Wsolova L., Collins A.R.: Nutritional supplementation with antioxidants decreases chromosomal damage in humans. *Mutagenesis*, 2003; 18: 371–377
- [14] Duthie S.J., Ma A., Ross M.A., Collins A.R.: Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res.*, 1996; 56: 1291–1295
- [15] Fenech M.: The cytokinesis – block micronucleus technique and its application to genotoxicity studies in human populations. *Environ. Health Perspect.*, 1993; 3: 101–107
- [16] Fisher-Nielsen A., Jeding I.B., Loft S.: Radiation-induced formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and its prevention by scavengers. *Carcinogenesis*, 1994; 15: 1609–1612
- [17] GIRI A., Khyrriani D., Prasad S.B.: Vitamin C mediated protection on cisplatin induced mutagenicity in mice. *Mutation Res.*, 1998; 421: 139–148
- [18] Halliwell B.: Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? *TIBS*, 1999; 24: 255–259
- [19] Halliwell B., Gutteridge J.M.C.: *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. Oxford Univ. Press. London, 1999
- [20] Halliwell B.: Vitamin C and genomic stability (review). *Mutation Res.*, 2001; 475: 29–35
- [21] Helbock H.J., Beckman K.B., Shigenaga M.K., Watter R.B., Woodall A.A., Yeo H.C., Ames B.N.: DNA oxidation matters: the HPLC-electrochemical detection assay of 8-oxo-deoxyguanosine and 8-oxo-guanine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 288–293
- [22] Hu M.L., Shih M.K.: Ascorbic acid inhibits lipid peroxidation but enhances DNA damage in rat liver nuclei incubated with iron ions. *Free Radic. Res.*, 1997; 26: 585–592
- [23] Huang R-F., Huang S-M., Lin B-S., Huang C-Y., Lu H-T.: N-acetylcysteine, vitamin C and vitamin E diminish homocysteine thiolactone-induced apoptosis in human promyeloid HL-60 cells. *J. Nutr.*, 2002; 132: 2151–2156
- [24] Jenner A., England T.G., Aruoma O.I., Halliwell B.: Measurement of oxidative DNA damage by gas chromatography-mass spectrometry: ethanethiol prevents artifactual generation of oxidized DNA bases. *Biochem. J.*, 1998; 331: 365–369
- [25] Konopacka M.: Witaminy jako radioprotektory komórek prawidłowych. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1996; 50: 145–156
- [26] Konopacka M., Widel M., Rzeszowska-Wolny J.: Modifying effect of vitamins C, E and beta-carotene against gamma-ray-induced DNA damage in mouse cells. *Mutation Res.*, 1998; 417: 85–94
- [27] Konopacka M., Rzeszowska-Wolny J.: Antioxidant vitamins C, E and beta-carotene reduce DNA damage before as well as after, gamma-ray irradiation of human lymphocytes *In vitro*. *Mutation Res.*, 2001; 491: 1–7
- [28] Konopacka M., Palyvoda O., Rzeszowska-Wolny J.: Inhibitory effect of ascorbic acid post-treatment on radiation-induced chromosomal damage in human lymphocytes *in vitro*. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, 2002; 22: 443–450
- [29] Kumagi J., Masui K., Itagaki Y., Shiotani M., Kodama S., Watanabe M., Miyazaki T.: Long-lived mutagenic radicals induced in mammalian cells by ionizing radiation are mainly localized to proteins. *Radiat. Res.*, 2003; 160: 95–102
- [30] Lee B. M., Lee S.K., Kim H.S.: Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, beta-carotene and red ginseng). *Cancer Lett.*, 1998; 132: 219–227
- [31] Lee S.H., Oe T., Blair I.A.: Vitamin C-induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins. *Science*, 2001; 292: 2083–2086
- [32] Levine M., Rumsey S.C., Daruwala S., Park J.B., Wang Y.: Criteria and recommendations for vitamin C intake. *JAMA* 1999, 281: 1415–1423.
- [33] Lunec J., Holloway K., Griffiths H., Faux S.: DNA repair: a novel action for vitamin C? *Acta Bioch. Pol.*, 2003; 50(Suppl.1): 25–26
- [34] May J.M., Mendiratta S., Hill K.E., Burk R.F.: Reduction of dehydroascorbate to ascorbate by the selenoenzyme thioredoxin reductase. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 22607–22610
- [35] Mc Call M.R., Frei B.: Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999; 26: 1034–1053
- [36] Niki E., Tsuchiya J., Tanimura R., Kamiya Y.: Regeneration of vitamin E from alpha-chromanoxyl radical by glutathione and vitamin C. *Chem. Lett.*, 1992; 789–792
- [37] Noroozi M., Angerson W.J., Lean M.E.J.: Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998; 67: 1210–1218
- [38] Panyiotidis M., Collins A.R.: *Ex vivo* assessment of lymphocyte antioxidant status using the comet assay. *Free Radic. Res.*, 1997; 27: 533–537
- [39] Paolini M., Pozzetti L., Pedullì G.F., Marchesi E., Centelli-Forti G.: The nature of prooxidant activity of vitamin C. *Life Sci.*, 1999; 64: 273–278
- [40] Pflaum M., Kielbassa C., Garmyn M., Epe B.: Oxidative DNA damage induced by visible light in mammalian cells: extent, inhibition by antioxidants and genotoxic effect. *Mutation Res.*, 1998, 408: 137–146
- [41] Podmore I.D., Griffiths H.R., Herbert K.E., Mistry N., Mistry P., Lunec J.: Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature*, 1998; 392: 559
- [42] Prieme H., Loft S., Nyyssonen K., Salonen J.F., Poulsen H.E.: No effect of supplementation with vitamin E, ascorbic acid, or coenzyme Q10 on oxidative DNA damage estimated by 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine excretion in smokers. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997; 65: 503–507
- [43] Rehman A., Collis C.S., Yang M., Kelly M., Diplock A.T., Halliwell B., Rice-Evans C.: The effect of iron and vitamin C co-supplementation on oxidative damage to DNA in healthy volunteers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 246: 293–298
- [44] Sakagami H., Satoh K., Hakeda Y., Kumegawa M.: Apoptosis-inducing activity of vitamin C and vitamin K. *Mol. Biol.*, 2000, 46: 129–134
- [45] Sarma L., Kesavan P.C.: Protective effect of vitamin C and E against gamma-ray-induced chromosomal damage in mouse. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1993; 63: 759–764
- [46] Sies H., Stahl W., Sundquist R.R.: Antioxidant functions of vitamins. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1992; 669: 7–20
- [47] Singh N. P., McCoy M.T., Tice R.R., Schneider E.L.: A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Res.*, 1988; 175: 184–191
- [48] Singh N.P.: Sodium ascorbate induces DNA single-strand breaks in human cells *in vitro*. *Mutation Res.*, 1997; 375: 195–203
- [49] Smith M.J., Inserra P.F., Watson R.R., Wise J.A., O'Neil K.L.: Supplementation with fruit and vegetable extracts may decrease DNA damage in the peripheral lymphocytes of an elderly population. *Nutr. Res.*, 1999; 19: 1507–1518
- [50] Stich H.F., Wei L., Whiting R.F.: Enhancement of the chromosome-damaging action of ascorbate by transition metals. *Cancer Res.*, 1979; 39: 4145–4151
- [51] Sweetman S.F., Strain J.J., McKelvey-Martin V.J.: Effect of antioxidant vitamin supplementation on DNA damage and repair in human lymphoblastoid cells. *Nutr. Cancer*, 1997; 27: 122–130
- [52] Szeto Y-T, Benzie I.F.F.: Effects of dietary antioxidants on human DNA *ex vivo*. *Free Radic. Res.*, 2002; 36: 113–118
- [53] Tavares D.C., Cecchi A.O., Antunes L.M.G., Takahashi C.S.: Protective effect of the amino acid glutamine and of ascorbic acid against chromosomal damage induced by doxorubicin in mammalian cells. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, 1998; 18: 153–161
- [54] Thompson H.J., Heimendinger J., Haegle A., Sedlacek S.M., Gillette C., O'Neil C., Wolfe P., Conry C.: Effect of increased vegetable and fruit consumption on markers of oxidative cellular damage. *Carcinogenesis*, 1999; 20: 2261–2266
- [55] Witenberg B., Kletter Y., Kalir H.H., Raviv Z., Fenig E., Nagler A., Halperin D., Fabian I.: Ascorbic acid inhibits apoptosis induced by X irradiation in HL60 myeloid leukemia cells. *Radiat. Res.*, 1999; 152: 468–478