

Received: 2007.10.15  
Accepted: 2008.02.15  
Published: 2008.03.31

## Przeciwrakotwórcze właściwości glukozynolanów zawartych w kapuście (*Brassica oleracea* var. *capitata*) oraz produktów ich rozpadu

### Cancer chemopreventive agents: Glucosinolates and their decomposition products in white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*)

Anna Śmiechowska<sup>1</sup>, Agnieszka Bartoszek<sup>2</sup>, Jacek Namieśnik<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

<sup>2</sup> Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

#### Streszczenie

Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań epidemiologicznych wskazują, że dieta wzbogacona w kapustę może zmniejszać ryzyko wystąpienia niektórych typów nowotworów, takich jak raki trzustki, piersi, prostaty, żołądka i płuc. Wiąże się to z obecnością w tym warzywie składników aktywnych biologicznie.

Chemioprewencyjne działanie spożywanej kapusty może być związane zarówno z modulacją aktywności enzymów I i II fazy detoksykacji, jak i innymi mechanizmami przeciwrakotwórczymi wykazywanymi przez glukozynolany i produkty ich rozpadu, powstałe w wyniku hydrolizy katalizowanej przez enzym mirosynazę. Związki te wpływają na wiele procesów zachodzących w komórce poprzez regulację poziomu czynników transkrypcyjnych, szlaków sygnalizacyjnych, a także regulację cyklu komórkowego i apoptozy.

Korzystne działanie wspomnianych związków z punktu widzenia profilaktyki nowotworowej wskazuje na potrzebę stworzenia naukowych podstaw rekomendacji żywieniowych pozwalających na optymalne wykorzystanie tego warzywa w ochronie zdrowia.

#### Słowa kluczowe:

chemioprewencja • glukozynolany • indole • izotiocyjaniany • kapusta

#### Summary

A number of recent epidemiological studies have indicated that high intake of white cabbage may be associated with a lower risk of neoplastic diseases such as cancer of the pancreas, breast, prostate, stomach, and lungs. The anticarcinogenic activity is related to the presence of biologically active components in this vegetable. The chemopreventive effects of cabbage may be connected with modulation of the activity of phase I and II detoxification enzymes and other mechanisms triggered by glucosinolates and products of their decomposition, which are formed as a result of hydrolysis catalyzed by the enzyme myrosinase. The products of glucosinolate decomposition influence a number of cellular processes through the regulation of transcription factor levels, signaling pathways, the cell cycle, and apoptosis. The beneficial activities and especially the chemopreventive effects of the compounds present in cabbage point to the necessity of formulating

scientifically based dietary recommendations enabling the optimal exploitation of this vegetable in health protection.

**Key words:** chemoprevention • glucosinolates • indoles • isothiocyanates • cabbage

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_62/11557.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_62/11557.pdf)

**Word count:** 4644

**Tables:** 1

**Figures:** 3

**References:** 91

**Adres autorki:** mgr inż. Anna Śmiechowska, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk; e-mail: anna\_smiechowska@o2.pl

**Wykaz skrótów:** **Ahr** – receptor węglowodorów arylowych (aryl hydrocarbon receptor); **Ahrn** – translokaza jądrowa; **AITC** – izotiocyanian allilu (allyl isothiocyanate); **AP-1** – kompleks białkowy (activator protein 1); **ARE** – element odpowiedzi na przeciwutleniacze (antioxidant response element); **ATF** – czynnik transkrypcyjny należący do rodziny TGF- $\beta$  (activating transcription factor); **CNC** – rodzina białek (cap and collar); **CYP** – cytochrom P450 (cytochrome P450); **DAD** – detektor wielowiązkowy (diode-array detector); **DIM** – diindolimetan (diindolylmethane); **EGFR** – receptor epidermalnego czynnika wzrostu (epidermal growth factor receptor); **ELK-1** – czynnik transkrypcyjny (transcription factor regulator); **ER** – receptor estrogenowy (estrogen receptor); **ERE** – element odpowiedzi na estrogeny (estrogen response element); **ERK** – kinaza regulowana przez sygnały zewnątrzkomórkowe (extracellular signal-regulated kinases); **GC** – chromatografia gazowa (gas chromatography); **GLS** – glukozynolany (glucosinolates); **GSH** – glutation (glutathione); **GST** – S-transferaza glutationowa (glutathione S-transferase); **HPLC** – wysokosprawna chromatografia cieczowa (high performance liquid chromatography); **I3C** – indolo-3-karbinol (indole-3-carbinol); **ITC** – izotiocyaniany (isothiocyanates); **JNK** – kinaza NH<sub>2</sub>-terminalna c-jun (c-jun N-terminal kinase); **MEKK-1** – mitogennie aktywowana kinaza białkowa MAP (mitogen-activated protein (MAP) kinase); **MKK4** – białkowa kinaza kinazy 4 (protein kinase kinase 4); **MAPK** – mitogennie aktywowane kinazy białkowe (mitogen-activated protein kinase); **MS** – spektrometria mas (mass spectroscopy); **NF- $\kappa$ B** – czynnik transkrypcyjny  $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B); **NIK** – kinaza indukująca czynnik NF- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B-inducing kinase); **NIRS** – spektroskopia w bliskiej podczerwieni (near infrared spectroscopy); **Nrf2** – czynnik transkrypcyjny (NF-E2-related factor); **16 $\alpha$ OHE<sub>1</sub>** – 16 $\alpha$ -hydroksyestron (16 $\alpha$ -hydroxyestrone); **2OHE<sub>1</sub>** – 2-hydroksyestron (2-hydroxyestrone); **PEITC** – izotiocyanian fenyloetylu (phenethyl isothiocyanate); **PERK** – kinaza ER (protein kinase-like endoplasmic reticulum); **PI3K** – kinaza 3-fosfatydiloinozytolu (phosphoinositide-3 kinase); **PKC** – kinaza białkowa C (protein kinase C); **ROS** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species); **RNS** – reaktywne formy azotu (reactive nitrogen species); **SFN** – sulforafan (sulforaphane); **sm** – sucha masa (dry weight); **TE** – równoważniki troloxu (trolox equivalents); **TNFR** – receptor czynnika martwicy nowotworu (tumor necrosis factor receptor); **TrxR1** – reduktaza tioredoksova 1 (thioredoxin reductase); **UGT** – UDP-glukuronylotransferaza (UDP-glucuronosyltransferase); **QR** – reduktaza chinonowa (quinone reductase); **XRE** – element odpowiedzi na ksenobiotyki (xenobiotic response element).

## WPROWADZENIE

Obserwowana już od kilku dziesięcioleci, zwiększona zachorowalność na nowotwory (zwłaszcza w krajach wysoko rozwiniętych) jest siłą napędową intensywnych poszukiwań skutecznych metod leczenia. Ze względu na trudności ze znalezieniem celu molekularnego, na tyle odróżniającego komórki nowotworowe od prawidłowych, by w trakcie terapii nie uszkadzać tych ostatnich, wciąż brakuje idealnego leku.

Innym podejściem budzącym wielkie nadzieje stała się ostatnio chemioprewencja, czyli działanie zapobiegawcze, w efekcie którego powinno wystąpić zahamowanie, opóźnienie albo odwrócenie kancerogenezy z użyciem do tego celu naturalnych bądź syntetycznych związków. Liczne badania epidemiologiczne, a także doświadczenia przeprowadzone na zwierzętach wykazały, że duże spożycie warzyw z rodziny krzyżowych, takich jak brokuły, brukselka, kalafior, kapusta, może chronić organizm ludzki przed rozwojem nowotworów [26,79]. W związku z tym, wspo-

mniane warzywa wzbudziły zainteresowanie badaczy jako potencjalne źródło substancji służących profilaktyce chorób nowotworowych. Przeciwrakotwórcze właściwości roślin krzyżowych wiązane są z obecnością glukozynolanów, które – pod wpływem enzymu mirozynazy – ulegają enzymatycznej degradacji do izotiocyjanianów, a często także dalszym przemianom nieenzymatycznym. Glukozynolany, ale przede wszystkim izotiocyjaniany i indole będące produktami ich rozpadu, wykazują podwyższoną aktywność biologiczną istotną z punktu widzenia chemioprewencji nowotworów [1,8,18,37].

Proponowanych jest wiele mechanizmów, które tłumaczą przeciwrakotwórcze właściwości izotiocyjanianów. Najlepiej poznany z nich to mechanizm oparty na zahamowaniu metabolicznej aktywacji związków rakotwórczych przez cytochrom P450 (faza I), w połączeniu z indukcją enzymów fazy II detoksykacji [37,41]. Wiadomo jednak, że produkty rozpadu glukozynolanów wpływają na wiele procesów zachodzących w komórce poprzez regulację poziomu czynników transkrypcyjnych, szlaków sygnalizacyjnych, a także regulację cyklu komórkowego i apoptozy.

W niniejszej pracy zebrano dane literaturowe na temat chemioprewencyjnych właściwości glukozynolanów oraz produktów ich rozpadu występujących w kapuście, warzywie bardzo ważnym w żywieniu, bowiem należącym do najczęściej spożywanym w skali globalnej, ale jak się wydaje nie dość dobrze poznanego z punktu widzenia skuteczności profilaktyki nowotworowej. Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań epidemiologicznych wskazują, że dieta wzbogacona w kapustę zmniejsza ryzyko wystąpienia niektórych typów nowotworów, takich jak nowotwory trzustki [6], piersi [26,63], prostaty [26,40], okrężnicy [40,44], pęcherza [26] i płuc [26,65].

#### **CHEMIA GLUKOZYNOLANÓW ZAWARTYCH W KAPUŚCIE I PRODUKTÓW ICH ROZPADU**

Glukozynolany (GLS) są grupą związków zdefiniowaną pod względem chemicznym. Dotychczas opisano ponad 300 struktur związków chemicznych należących do tej grupy [45]. Wszystkie GLS charakteryzują się podobieństwem podstawowej struktury, w której skład wchodzi [47]:

- grupa  $\beta$ -D-tioglukozowa,
- sulfonowane ugrupowanie oksymowe,
- boczny łańcuch pochodzący od jednego z siedmiu białkowych aminokwasów.

W próbkach kapusty, której poświęcone jest to opracowanie, całkowita zawartość GLS wynosi około 10  $\mu$ mol/g świeżej masy [69], a głównie są to singrina, glukobrassyfina, glucoiberyna oraz glukonapina.

Związki z grupy GLS są związkami o dużej stabilności chemicznej. Powstanie aktywnych biologicznie izotiocyjanianów (ITC) i indoli jest następstwem enzymatycznej hydrolizy GLS. Enzymem katalizującym tę reakcję jest mirozynaza ( $\beta$ -tioglukozydaza, glukohydrolaza tioglukozydowa EC 3.2.3.1), występująca w tzw. komórkach mirozynowych. Dopiero podczas krojenia lub żucia warzyw wspomniany enzym zostaje uwolniony i może być katalizatorem procesu hydrolizy wiązania glikozydowego, w wyniku czego powstaje glukoza i niestabilny tiohydroksym-

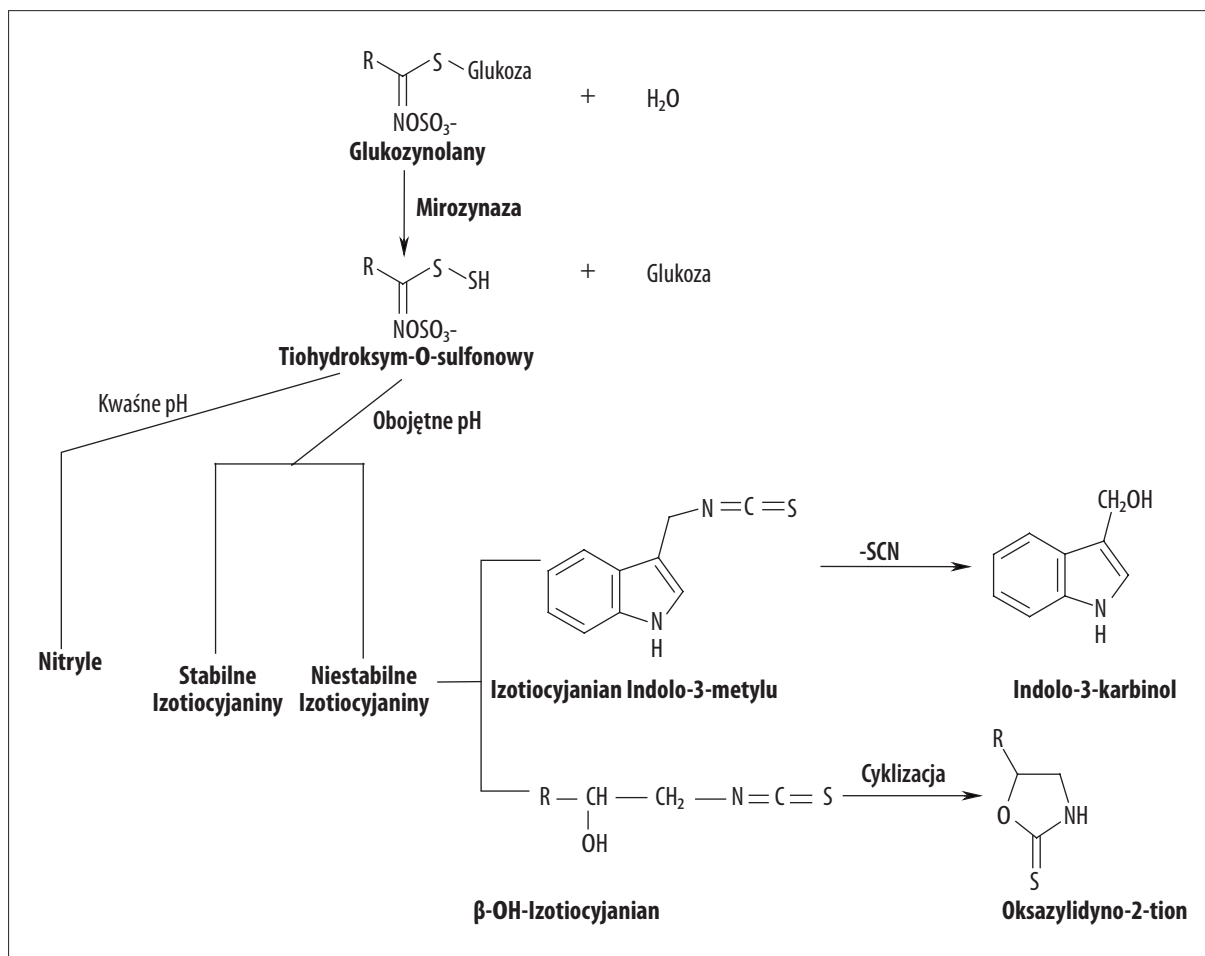
O-sulfonowy, który ulega samorzutnemu przekształceniu do odpowiedniego izotiocyjanianu (ryc. 1). W przypadku pH rzędu 7,0–8,0 stabilne związki z grupy ITC, powstałe w wyniku enzymatycznej degradacji glukozynolanów z łańcuchem bocznym pochodzącym od metioniny lub fenyloalaniny, są na ogół stabilne i stanowią końcowe produkty [23]. Natomiast niestabilne  $\beta$ -hydroksyizotiocyjaniany ulegają cyklizacji do oksazolidyno-2-tionów. Indolowe izotiocyjaniany, powstające z glukozynolanów z indolowym łańcuchem bocznym pochodzącym od tryptofanu, przechodzą w odpowiednie alkohole [23]. W przypadku kapusty w wyniku rozpadu glukozynolanów tworzą się produkty zarówno stabilne, jak i niestabilne. Te pierwsze to przede wszystkim izotiocyjaniany allilu i 2-fenyloetylu. Natomiast wśród niestabilnych produktów najważniejszy to indolo-3-karbinol (I3C), który może ulegać dalszej kondensacji z kwasem askorbinowym do askorbigeny.

#### **MECHANIZMY CHEMIOPREWENCYJNE WYKAZYWANE PRZEZ GLUKOZYNOLANY ZAWARTE W KAPUŚCIE I PRODUKTY ICH ROZPADU**

Istnieją dowody, że pewne substancje pochodzące z roślin jadalnych dostarczane do organizmu zarówno jako składnik diety, a także w postaci wyizolowanych związków zmniejszają zagrożenie występowania nowotworów [26,36]. Toteż zapobieganie powstawaniu nowotworów przez spożywanie nietoksycznych związków jest jedną ze strategii proponowanych w profilaktyce chorób nowotworowych. Z kolei racjonalne dostosowanie rodzaju chemioprewencji do typu nowotworu, rodzaju organu i predyspozycji genetycznych, może być podstawowe dla przebiegu i optymalizacji pomysłów strategii wspomagania leczenia [36].

Nowotwory powstają na skutek wieloetapowego procesu kancerogenezy będącego rezultatem ekspozycji na różne kancerogeny. Najwcześniejszy etap – inicjacja – jest zjawiskiem, o którym decydują zmiany o charakterze genotoksycznym prowadzące do przekształcenia prawidłowych komórek w komórki nowotworowe. Kolejny etap – promocję, charakteryzują zmiany epigenetyczne, które są często odwracalne. Podczas nieodwracalnej fazy progresji, wzrost komórek ma charakter autonomiczny, następuje wytwarzanie czynników angiogennych, ekspresji ulegają geny kodujące enzymy proteolityczne oraz zachodzą zmiany we właściwościach adhezyjnych białek błony komórkowej. Naturalne substancje pochodzenia roślinnego mogą jedynie zablokować i zapobiec wczesnym etapom kancerogenezy, natomiast mają mniejszy wpływ na późniejsze etapy nowotworzenia [18]. Dlatego wspomnianych związków nie można raczej stosować jako leków przeciwnowotworowych, choć nie wszyscy badacze są tego zdania i prowadzonych jest wiele badań nad ich wykorzystaniem w terapii chorób nowotworowych.

Postępowanie chemioprewencyjne może być realizowane na różnych poziomach kancerogenezy [3]. Poziom podstawowy, tzw. chemioprewencja pierwotna jest adresowana do osób zdrowych. Ma ona na celu niedopuszczenie do zmian nowotworowych. W tym obszarze działanie glukozynolanów polega głównie na obniżeniu aktywności enzymów odpowiedzialnych za aktywację kancerogenów oraz indukcji enzymów zaangażowanych w detoksykację (enzymy I i II fazy), a także wychwytywaniu elektrofilowych metabolitów i reaktywnych form tlenu (ROS) czy też uruchamianiu mechanizmów naprawczych DNA.



Ryc. 1. Schemat ścieżki przemian glukozynolanów w organizmie po spożyciu kapusty (na podstawie [26], zmodyfikowano)

Trudniejsze zadanie przeciwdziałania, czyli odwrócenia zmian nowotworowych jest stawiane przed chemioprewencją wtórną. Przeciwrakotwórczymi mechanizmami wykazywanymi przez GLS i produkty ich rozpadu na tym etapie kancerogenezy są hamowanie aktywacji onkogenów, hamowanie proliferacji komórek nowotworowych, indukcja apoptozy oraz hamowanie procesów zapalnych i angiogenezy.

Natomiast trzeci poziom określany jako towarzyszący chemioterapii dotyczy wspomagania etapu leczenia i utrzymania jego efektów [3,62].

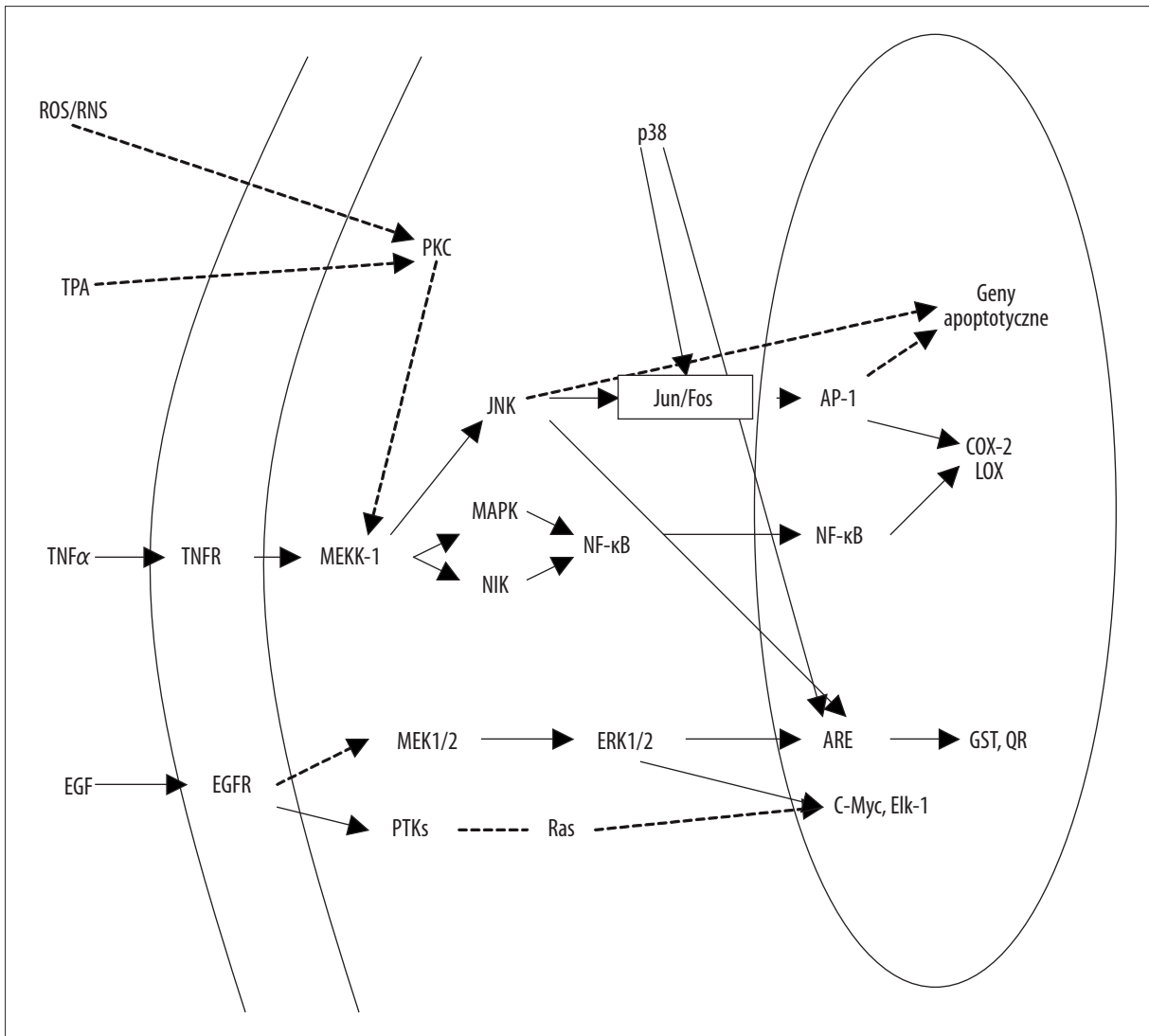
Należy także podkreślić istotność szlaków sygnalizacyjnych, które regulują rozmnażanie, przetrwanie i transformację komórek, dla przeciwdziałania procesowi kancerogenezy. Znaczna część zmian molekularnych związanych z kancerogenezą jest pochodną rozregulowania przebiegu szlaków sygnalizacyjnych, które są odpowiedzialne za kontrolę procesów rozmnażania komórki i różnicowania. Komponenty tych szlaków wpływają na aktywację kilku kinaz, takich jak mitogenicznie aktywowane kinazy białkowe (MAPK) i kinaza białkowa C (PKC), które przyczyniają się do utrzymania homeostazy komórki. Nieprawidłowa aktywacja czy też inaktywacja tych kinaz albo ich transkrypcyjnych czynników może doprowadzić do niekontrolowanego wzrostu komórki, prowadząc do jej złośliwej transformacji

[41]. Na rycinie 2 przedstawiono najważniejsze szlaki sygnalizacyjne kontrolujące wzrost komórek, które stanowią obiekt zainteresowania chemiopreencji i o których wiadomo, że mogą być modulowane przez ITC i I3C.

Zewnątrzkomórkowe czynniki wzrostu mają zdolność regulowania transkrypcji genów odpowiedzialnych za homeostazę komórkową. Cytokiny oraz czynniki promotornego guza mogą się wiązać do kinazy białkowej C bądź do receptorów błonowych, takich jak receptor epidermalnego czynnika wzrostu (EGFR), receptor czynnika martwicy nowotworu (TNFR), powodując aktywację kilku serynowo-treoninowych lub tyrozynowych kinaz białkowych (ryc. 2), mianowicie [37]:

- kinazy NIK indukującej czynnik transkrypcyjny NF-κB,
- mitogenicznie aktywowanej kinazy białkowej (MAPK),
- kinazy ERK,
- kinazy NH<sub>2</sub>-terminalnej c-jun (JNK).

Aktywacja JNK przez kinazę MEKK-1 powoduje zwiększenie aktywności kilku czynników transkrypcyjnych i późniejszą ekspresję odpowiednich genów, która może prowadzić do proliferacji komórki np. przez zwiększenie ekspresji genów kontrolujących proliferację komórek i aktywację białek ELK-1 oraz c-Myc [41]. Z kolei geny kodujące enzymy II fazy, zawierają swoistą sekwencję DNA



Ryc. 2. Schemat sygnalizacyjnych szlaków komórki, będących możliwymi celami chemioprewencji (według [37,39], zmodyfikowano)

(5'GTGACNNGC-3') nazywaną ARE (antioxidant response element) umiejscowioną w regionie regulatorowym genu [60]. Czynnikiem transkrypcyjnym pośredniczącym w indukcji jest Nrf2 [2]. W cytoplazmie, białko Keap 1 tworzy nieaktywny kompleks z Nrf2. W wyniku pozakomórkowych bodźców (np. izotiocyjanianów) wiązanie disiarczkowe między Nrf2 a białkiem Keap 1 zostaje rozerwane, czego konsekwencją jest oddysocjowanie Nrf2 od białka Keap 1. Uwalnianie Nrf2 od Keap 1 możliwe jest także dzięki aktywacji kinaz białkowych (MAPK, PI3K, PKC, PERK). Nrf2 przemieszcza się następnie do jądra komórkowego, w którym wraz z niewielkim białkiem Maf wiąże się do sekwencji ARE. Możliwa staje się wówczas indukcja transkrypcji enzymów II fazy detoksykacji. Transkrypcyjna aktywacja poprzez sekwencję ARE wymaga zatem obecności Nrf2 [37]. Izotiocyjaniany według powyższego mechanizmu uwalniającego czynnik Nrf2, wpływają na wzrost intensywności transkrypcji genów zawierających element ARE [38].

Wyżej wymienione szlaki sygnalizacyjne komórki mogą stanowić możliwe cele chemioprewencji. Reaktywne for-

my tlenu/azotu (ROS/RNS) i inne bodźce wywołujące stres mogą wpływać na aktywację tych sygnalizacyjnych szlaków. Taką zdolność mają także ITC i indole przyczyniając się do wzmocnienia obrony komórkowej przed toksycznymi czynnikami [37].

W tabeli 1 przedstawiono struktury poszczególnych glukozynolanów zawartych w kapuście i odpowiadających im produktów rozpadu – izotiocyjanianów i związków indolowych oraz wykazywane przez nie właściwości przeciwrakotwórcze. Potwierdzeniem chemioprewencyjnych właściwości związków z grupy GLS i produktów ich rozpadu są badania przeprowadzone *in vitro* i *in vivo* [26]. Najlepiej poznane izotiocyjaniany to sulforafan (SFN) i izotiocyjanian fenyletylu, natomiast wśród indoli – indolo-3-karbinol (I3C) i jego produkt kondensacji diindolilometan (DIM). Przeciwrakotwórcze właściwości wspomnianych związków mogą być związane z różnymi mechanizmami działania m.in. modulacją enzymów I i II fazy detoksykacji, zahamowaniem proliferacji komórek, zatrzymaniem cyklu komórkowego czy też indukcją apoptozy. Przy czym ITC hamują aktywność niektórych enzymów biorących udział

Tabela 1. Informacje na temat występujących w kapuście glukozynolanów i produktów ich rozpadu oraz przykłady prawdopodobnych mechanizmów działania przeciwrakotwórczego

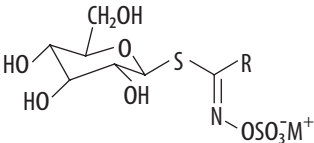
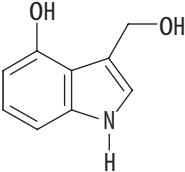
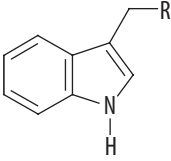
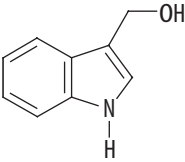
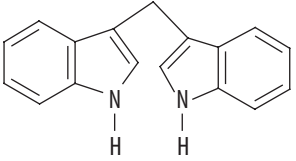
Glukozynolany i ich produkty rozpadu	Mechanizm chemioprewencyjny (model doświadczalny)	Piśmiennictwo (przykłady)
<p>Glukozynolan:</p>  <p>4-hydroksyglukobrassylicyna</p>	nieznany	
<p>Produkt rozpadu:</p>  <p>4-hydroksyindolo-3-karbinol</p>	indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vivo</i> )	80
<p>Glukozynolan:</p>  <p>glukobrassylicyna</p>	hamowanie enzymów I fazy detoksykacji ( <i>in vivo</i> ) indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vivo</i> )	13 37
<p>Produkt rozpadu:</p>  <p>indolo-3-karbinol (3-hydroksymetyloindol)</p>	indukcja enzymów I fazy detoksykacji ( <i>in vivo, in vitro</i> ) indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vivo, in vitro</i> ) hamowanie tworzenia adduktów DNA ( <i>in vivo</i> ) działanie antyestrogenne ( <i>in vitro, in vivo</i> ) zahamowanie proliferacji komórek ( <i>in vitro, in vivo</i> ) indukcja apoptozy ( <i>in vitro</i> ) zatrzymanie cyklu komórkowego ( <i>in vitro</i> ) zahamowanie wzrostu inwazyjnego i angiogenezy ( <i>in vitro</i> )	26,39,50,75 39 35 33,43,61 33,54,58,71,82 46,54,58,71,82 11,33,46,58 58,82
<p>Produkt rozpadu:</p>  <p>diindolilometan (DIM)</p>	indukcja enzymów I fazy detoksykacji ( <i>in vitro</i> ) indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vivo, in vitro</i> ) naprawa DNA ( <i>in vitro</i> ) zahamowanie proliferacji komórek ( <i>in vitro</i> ) działanie antyestrogenne ( <i>in vitro</i> ) indukcja apoptozy ( <i>in vitro</i> ) zatrzymanie cyklu komórkowego ( <i>in vitro</i> ) zahamowanie inwazji guza i angiogenezy ( <i>in vivo, in vitro</i> )	75 20,60,75 39 33,58,61 43,61 39,54,58 33,54,58 7; 58

Tabela 1 c.d. Informacje na temat występujących w kapsułce glukozynolanów i produktów ich rozpadu oraz przykłady prawdopodobnych mechanizmów działania przeciwrakotwórczego

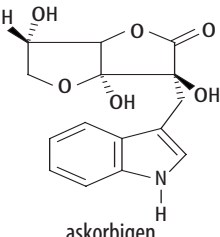
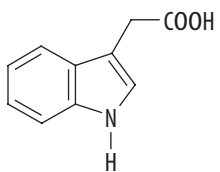
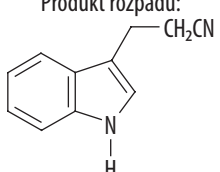
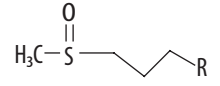
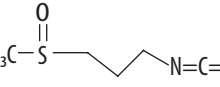
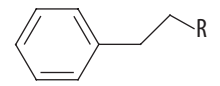
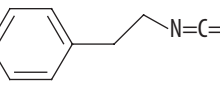
Glukozynolany i ich produkty rozpadu	Mechanizm chemioprewencyjny (model doświadczalny)	Piśmiennictwo (przykłady)
Produkt rozpadu:  askorbigen	indukcja enzymów I fazy detoksykacji ( <i>in vivo, in vitro</i> ) indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vitro</i> )	20,75 75,91
Produkt rozpadu:  kwas indolo-3-octowy	indukcja apoptozy ( <i>in vitro</i> )	28
Produkt rozpadu:  indolo-3-acetonitryl	indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vitro</i> )	91
Glukozynolan:  glukoiberyna	hamowanie enzymów I fazy detoksykacji ( <i>in vitro</i> ) indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vivo</i> ) zahamowanie proliferacji ( <i>in vivo</i> )	18 37 22
Produkt rozpadu:  izotiocyanian 3-metylosulfinylopropylu	indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vitro, in vivo</i> ) zahamowanie proliferacji komórek ( <i>in vivo</i> ) indukcja apoptozy ( <i>in vitro</i> )	18,49 26 19
Glukozynolan:  glukonasturcyna	hamowanie enzymów I fazy detoksykacji ( <i>in vivo</i> ) indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vivo, in vitro</i> )	5 37
Produkt rozpadu:  izotiocyanian 2-fenyletylowy (PEITC)	hamowanie enzymów I fazy detoksykacji ( <i>in vitro</i> ) indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vitro, in vivo</i> ) hamowanie tworzenia adduktów DNA ( <i>in vivo</i> ) zahamowanie proliferacji komórek ( <i>in vitro</i> ) indukcja apoptozy ( <i>in vitro</i> ) zatrzymanie cyklu komórkowego ( <i>in vitro</i> ) działanie przeciwzapalne i zahamowanie angiogenezy ( <i>in vivo, in vitro</i> )	59 41,49,58 26,34 58,66 2,37,41,58,66,83 5,37 78,85

Tabela 1 c.d. Informacje na temat występujących w kapsułce glukozynolanów i produktów ich rozpadu oraz przykłady prawdopodobnych mechanizmów działania przeciwrakotwórczego

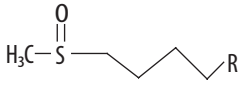
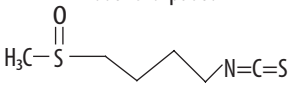
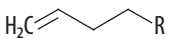
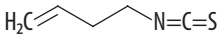
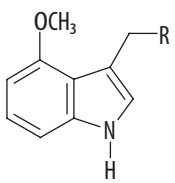
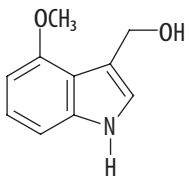
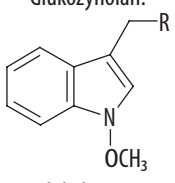
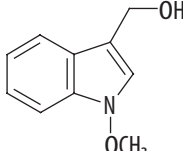
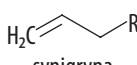
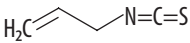
Glukozynolany i ich produkty rozpadu	Mechanizm chemioprewencyjny (model doświadczalny)	Piśmiennictwo (przykłady)
<p>Glukozynolan:</p>  <p>glukorafanina (GRP)</p>	<p>indukcja enzymów I fazy detoksykacji (<i>in vivo, in vitro</i>)</p> <p>indukcja enzymów II fazy detoksykacji (<i>in vivo</i>)</p>	<p>4,59</p> <p>4</p>
<p>Produkt rozpadu:</p>  <p>izotiocyjanian 4-metylosulfinylobutyłu (sulforafan SFN); naturalnie występuje izomer L-sulforafan, natomiast większość cytowanych dotychczas prac prowadzona była dla racematu DL-sulforafanu</p>	<p>hamowanie enzymów I fazy detoksykacji (<i>in vivo</i>)</p> <p>indukcja enzymów II fazy detoksykacji (<i>in vivo, in vitro</i>)</p> <p>aktywność przeciwbakteryjna w stosunku do <i>H.pylori</i> (<i>in vivo, in vitro</i>)</p> <p>hamowanie tworzenia adduktów DNA (<i>in vivo, in vitro</i>)</p> <p>zahamowanie proliferacji komórek (<i>in vitro</i>)</p> <p>indukcja apoptozy (<i>in vitro, in vivo</i>)</p> <p>indukcja autofagii (<i>in vitro</i>)</p> <p>zatrzymanie cyklu komórkowego (<i>in vitro</i>)</p> <p>działanie przeciwzapalne i hamowanie angiogenezy (<i>in vivo, in vitro</i>)</p>	<p>2,18,59</p> <p>2,16,18,33,37,38,48,5876,81</p> <p>17,24</p> <p>17,18</p> <p>30,58</p> <p>19,21,30,37,58,83</p> <p>19</p> <p>19,21,30,37,38,58</p> <p>18,25,30,85</p>
<p>Glukozynolan:</p>  <p>glukonapina</p>	<p>indukcja enzymów II fazy detoksykacji (<i>in vivo</i>)</p>	<p>37</p>
<p>Produkt rozpadu:</p>  <p>izotiocyjanian but-3-enylu</p>	<p>indukcja enzymów II fazy detoksykacji (<i>in vivo</i>)</p>	<p>37,49</p>
<p>Glukozynolan:</p>  <p>4-metoksyglukobrassicyna</p>	<p>nieznany</p>	
<p>Produkt rozpadu:</p>  <p>4-metoksyindolo-3-karbinol</p>	<p>indukcja enzymów II fazy detoksykacji (<i>in vivo</i>)</p>	<p>80</p>
<p>Glukozynolan:</p>  <p>neoglukobrassicyna</p>	<p>nieznany</p>	



Tabela 1 c.d. Informacje na temat występujących w kapuście glukozynolanów i produktów ich rozpadu oraz przykłady prawdopodobnych mechanizmów działania przeciwrakotwórczego

Glukozynolany i ich produkty rozpadu	Mechanizm chemioprewencyjny (model doświadczalny)	Piśmiennictwo (przykłady)
Produkt rozpadu:  1-metoksy-3-indoilometyl	indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vivo</i> )	80
Glukozynolan:  synigryna	hamowanie enzymów I fazy detoksykacji ( <i>in vivo</i> )	13
	indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vivo</i> )	48
	indukcja apoptozy ( <i>in vivo</i> )	67
Produkt rozpadu:  izotiocyanian allilu (AITC)	indukcja enzymów II fazy detoksykacji ( <i>in vivo, in vitro</i> )	29,48
	aktywność przeciwbakteryjna w stosunku do <i>H.pylori</i> ( <i>in vivo</i> )	26
	zahamowanie proliferacji komórek ( <i>in vitro</i> )	67,84
	indukcja apoptozy ( <i>in vitro</i> )	68,83,84
	hamowanie angiogenezy ( <i>in vivo, in vitro</i> )	77

w aktywacji ksenobiotyków (I faza), a indukują enzymy II fazy, przez co zmniejszają ilość aktywnego kancerogenu [88]. W przeciwieństwie do ITC, związki indolowe indukują zarówno enzymy I i II fazy detoksykacji [55]. Kancerogen aby zostać unieszkodliwiony przez enzymy II fazy detoksykacji, musi ulec aktywacji w fazie I, czym tłumaczy się wykazywane przez I3C i jego pochodne właściwości przeciwrakotwórcze. Jednak ważną jest relacja ilości aktywnego kancerogenu i możliwości detoksykacyjnych enzymów II fazy. Poza tym wspomniane związki indolowe (podobnie jak ITC) hamują rozwój nowotworów wpływając na różne aspekty homeostazy komórkowej.

Niestety, nadal mało wiadomo na temat przeciwrakotwórczego działania pozostałych glukozynolanów zawartych w kapuście, tj. 4-metoksyglukobrassyliny, neoglukobrassyliny i 4-hydroksyglukobrassyliny.

#### Mechanizmy przeciwrakotwórcze wykazywane przez glukozynolany i produkty ich rozpadu na etapie inicjacji nowotworów

Mechanizmy działania przeciwrakotwórczego wykazywane przez glukozynolany i produkty ich rozpadu na etapie inicjacji nowotworów to głównie modulacja aktywności enzymów I i II fazy detoksykacji.

#### Modulacja aktywności enzymów I fazy detoksykacji biorących udział w etapie inicjacji nowotworów i aktywacji enzymów II fazy detoksykacji

Enzymy I i II fazy detoksykacji odgrywają ważną rolę w metabolizmie i eliminacji z organizmu różnych ksenobiotyków, w tym leków, toksyn i czynników rakotwórczych. Biotransformacja niepolarnych i nielotnych trucizn może być

opisana jako dwuetapowa reakcja biochemiczna. Ogólnie, enzymy I fazy detoksykacji katalizują reakcje biotransformacji, takie jak utlenienie, redukcja, hydroliza i dehalogenacja, które zwiększają reaktywność hydrofobowych związków, przygotowując je do reakcji katalizowanych przez enzymy II fazy detoksykacji, prowadzących do zwiększenia rozpuszczalności w wodzie i umożliwiających eliminację związków toksycznych z organizmu [13]. Najlepiej opisanym induktorem enzymów II fazy detoksykacji jest sulforafan, będący produktem rozpadu glukorafaniny, obecny także w kapuście. Stymuluje on głównie flawoproteinę DT-diaforazę, której aktywność, podobnie jak innych enzymów II fazy detoksykacji organizmu, chroni organizm przed kancerogenezą w organizmie ludzkim [20].

#### Modulacja biotransformacji ksenobiotyków przez izotiocyaniany

Niektóre chemiczne czynniki rakotwórcze muszą być podane biotransformacji przez enzymy fazy I, np. z rodziny cytochromu P450 (CYP), żeby stać się aktywnymi czynnikami rakotwórczymi, zdolnymi do wiązania się z DNA i wywołania mutacji. Zahamowanie przez ITC określonych izoenzymów CYP, zaangażowanych w aktywację kancerogenów spowalnia rozwój nowotworów w badaniach przeprowadzonych na zwierzętach [59]. Izotiocyaniany aktywują enzymy fazy II, zwłaszcza S-transferazy glutationowe (GST), UDP-glukuronylotransferazy (UGT) oraz oksydoreduktazy chinonowe np. NQO1 [37,89,91]. Odgrywają przez to ważną rolę w ochronie komórek przed uszkodzeniami DNA wywołanymi przez czynniki rakotwórcze i reaktywne formy tlenu [74]. Wprawdzie ilość danych z badań klinicznych jest ciągle dość ograniczona, ale ich wyniki prowadzą do wniosku, że dieta bogata w GLS może zwiększyć aktywność enzymów fazy II także u ludzi [26].

## Modulacja biotransformacji ksenobiotyków przez indole

Dopiero niedawno dostrzeżono molekularne cele i potencjał przeciwrakotwórczy związku I3C i jego pochodnych, ale również przedstawiono dowody na możliwy negatywny ich wpływ w fazie promocji kancerogenezy [1]. W przeciwieństwie do ITC, będących modulatorami o działaniu różnicującym dla enzymów I i II fazy detoksykacji, związki indolowe są traktowane jako stymulatory dwufunkcyjne, bowiem mogą wpływać na indukcję zarówno enzymów I fazy, jak i II fazy detoksykacji [55, 88]. Kwaśne produkty kondensacji I3C, zwłaszcza DIM, mogą się wiązać z cytoplazmatycznym węglowodorowym receptorem arylowym Ah. Dzięki przyłączeniu indoli, wspomniany receptor Ah łączy się z białkiem zwanym translokazą jądrową – Arnt, przemieszczając się do jądra komórkowego. Kompleks Ahr/Arnt wiąże się z określonymi sekwencjami DNA znanymi jako elementy odpowiedzi na ksenobiotyki (XRE) i daje sygnał do rozpoczęcia procesu transkrypcji wielu genów [64]. Powoduje to aktywację genu cytochromu CYP1A1 i jego wzmoczoną transkrypcję, a co za tym idzie zwiększoną aktywację enzymatyczną kancerogenów. Działanie chemioprewencyjne związków indolowych opiera się na jednoczesnej indukcji enzymów II fazy detoksykacji, które neutralizują aktywne metabolity ksenobiotyków [55].

### Wpływ indolo-3-karbinolu i jego pochodnych na metabolizm i aktywność estrogenów

Estrogeny (łącznie z 17 $\beta$ -estradiolem) działają estrogennie przez wiązanie się z receptorem estrogenów (ER). W jądrze, kompleks estrogen – ER może się przyłączyć do sekwencji DNA znanych jako element odpowiedzi na estrogeny (ERE) zwiększając transkrypcję genów zależnych od estrogenów [32]. Niektóre działania, w których pośredniczy receptor estrogenów mogą prowadzić do zwiększenia ryzyka rozwoju nowotworów estrogenozależnych, takich jak rak piersi, czy też szyjki macicy [27]. Hormony typu estrogenów pobudzają komórki takich nowotworów do wzrostu, a tym samym przyczyniają się do rozwoju choroby.

### Wpływ indolo-3-karbinolu i jego pochodnych na aktywność receptora estrogenów

Indolo-3-karbinol, dodany do komórek raka piersi wykazuje zdolność hamowania transkrypcji genów kodujących receptor estrogenów. Wykazano, że także produkty kondensacji I3C mogą zahamować transkrypcję genów ER poprzez rywalizację z koaktywatorem, mogą też spowodować zwiększenie degradacji ER [31].

### Wpływ indolo-3-karbinolu i jego pochodnych na metabolizm estrogenu

Powstałe w środowisku kwaśnym żołądka produkty kondensacji indolo-3-karbinolu (głównie DIM) wiążąc się z receptorem Ah aktywują go, co z kolei prowadzi do indukcji ekspresji genu cytochromu CYP1A1, powodującej zwiększony metabolizm estrogenów i obniżenie jego poziomu we krwi. Dzięki temu związki indolowe hamują wzrost nowotworów estrogenozależnych. Wyniki badań z użyciem kultur komórkowych *in vitro* [61] i zwierząt dowodzą, że

również pochodne I3C przyczyniają się do zwiększenia metabolizmu estrogenów.

Wspomniany wyżej 17 $\beta$ -estradiol może zostać przekształcony do 16 $\alpha$ -hydroksyestronu (16 $\alpha$ OHE<sub>1</sub>) albo 2-hydroksyestronu (2OHE<sub>1</sub>), które czasami są oceniane odpowiednio jako „złe” i „dobre” metabolity estrogenne. W kontrolnych klinicznych próbach, spożywanie I3C w dawce 300–400 mg/dzień powodowało zwiększenie poziomu 2OHE<sub>1</sub> oraz stosunku zawartości 2OHE<sub>1</sub>: 16 $\alpha$ OHE<sub>1</sub> w moczu kobiet [31]. Przyjmowanie DIM w dawce 108 mg/dzień również spowodowało zwiększenie poziomu 2OHE<sub>1</sub> w moczu kobiet w okresie menopauzy [12]. Jednakże zależność między stosunkiem zawartości 2OHE<sub>1</sub>: 16 $\alpha$ OHE<sub>1</sub> i ryzykiem wystąpienia raka piersi nie jest jeszcze dowiedzione w sposób jednoznaczny.

### Mechanizmy przeciwrakotwórcze uruchamiane przez glukozynolany obecne w kapuście i produkty ich rozpadu na etapie promocji i progresji nowotworów

#### Regulacja cyklu komórkowego i/lub indukcja apoptozy

W przypadku uszkodzenia DNA, cykl komórkowy może być przejściowo zatrzymany, co umożliwia proces naprawy, albo alternatywnie może nastąpić aktywacja ścieżek prowadzących do apoptozy, jeżeli uszkodzenie jest rozległe i nieodwracalne [26]. Zatrzymanie cyklu komórkowego następuje na etapie komórkowych punktów kontrolnych, takich jak fazy G1/S albo G2/M. Mechanizmy obronne polegające na zahamowaniu cyklu komórkowego albo indukcji apoptozy są obiecującą strategią dla chemioprewencji na etapie promocji i progresji nowotworu, gdyż pozwalają na zniszczenie komórek nowotworowych, także tych które niezależniły się od podatności na tzw. sygnały śmierci.

#### Regulacja cyklu komórkowego

Dowiedziano, że liczna grupa związków zaliczanych do izotiocyjanianów, m.in. AITC, PEITC i SFN oraz indole [87] np. I3C, powodują zatrzymanie cyklu komórkowego w hodowli różnych linii nowotworowych [19,21,33,46]. Jednakże, odniesienie tych badań do warunków fizjologicznych jest trudne choćby ze względu na nieznaną dostępność I3C w danej tkance po spożyciu przez ludzi.

Można jednak oczekiwać, że wadliwa regulacja cyklu komórkowego może wywołać propagację mutacji, które przyczyniają się do transformacji nowotworowej [8]. Systematyczne przechodzenie komórek przez fazy cyklu komórkowego G1, S, G2 i M jest stymulowane przez białka zwane cyklinami. Wiążą się one z cyklinozależnymi kinazami (CDK) przez co je aktywują. Kolejne fazy cyklu są modulowane przez inhibitory kinaz, takie jak p21, określane ogólnie jako inhibitory CDK (CDI). Cykliny D1 i A tworzą kompleksy z kinazami CDK4 i CDK2, niezbędnymi do zapoczątkowania replikacji DNA w fazie S poprzez fosforylację białek podstawowych dla cyklu komórkowego (takich jak Rb). Dochodzi wówczas do aktywacji czynnika transkrypcyjnego E2F i przejścia komórki przez punkt restrykcyjny G1/S. W publikacjach można znaleźć informacje o tym, że zwiększona ekspresja cykli-

ny D1 korelowała z wczesnym początkiem nowotworu, niebezpieczeństwem progresji i pojawienia się przerzutów [9]. Izotiocyjaniiny, takie jak PEITC, AITC, SFN mogą indukować ekspresję p21 i hamować proliferację komórki w punkcie kontrolnym G2/M.

Okazało się, że hamowanie ekspresji cykliny D1 przez ITC wiąże się nie tylko ze szlakiem APC/ $\beta$ -katenin, ale też z kinazą MAPK i czynnikiem NF- $\kappa$ B. Podczas gdy ITC zatrzymują fazę G2/M w przypadku jednej linii komórkowej, te same związki w innych komórkach mogą powodować zahamowanie fazy G1 i fazy S. Wspomniane produkty degradacji GLS oprócz zatrzymania fazy G2, mogą wywoływać zatrzymanie cyklu komórki w fazie M. Jeśli ich celem działania są tubuliny (faza M), przeszkadzają one w ich polimeryzacji i formowaniu wrzeciona, a tym samym hamują mitozę [37].

Należy wspomnieć, że także ksenobiotyki wykazujące właściwości elektrofilowe i stres oksydacyjny wywołany przez dietetyczne czynniki wpływa na zatrzymanie cyklu komórkowego i indukcję apoptozy [58].

### Indukcja apoptozy

Utrzymanie homeostazy organizmu jest możliwe dzięki równowadze pomiędzy procesem proliferacji i apoptozą. Programowana śmierć stanowi ważny mechanizm ochronny zapobiegający rozwojowi nowotworu w organizmie przez eliminowanie genetycznie uszkodzonych albo zbędnych komórek. W przeciwieństwie do komórek prawidłowych, komórki nowotworowe namnażają się tracąc zdolność do odpowiedzi na komórkowe sygnały śmierci. Wykazano, że I3C i DIM indukują apoptozę po dodaniu ich do kultur nowotworowych komórek stercza, piersi i szyjki macicy. Poza tym dowiedziono, że związki z grupy ITC również hamują proliferację i indukują apoptozę komórek kilku innych linii nowotworowych [58].

Mechanizm indukcji apoptozy przez różne ITC ze względu na ich podobieństwo strukturalne jest podobny (ryc. 3). Izotiocyjaniiny jako elektrofile, poprzez grupę  $-N=C=S$  mogą reagować z nukleofilami (tiokarbamylacja). Łatwo reagują one z tiolami komórkowymi np. GSH, co umożliwia ich akumulację w komórce. Po wnikięciu do komórki w procesie dyfuzji ITC szybko ulegają koniugacji z GSH i innymi tiolami. Koniugat ITC z GSH może być usunięty z komórki przez pompy błonowe, prowadząc tym samym do obniżenia poziomu GSH [37]. Zmniejszenie poziomu GSH powoduje, iż komórki stają się bardziej wrażliwe na uszkodzenia wywołane stresem oksydacyjnym i możliwa jest indukcja apoptozy. Jednak, szybka alkilacja i spadek poziomu GSH przez ITC jest w dużej mierze przejściowy i po pewnym czasie dochodzi do wzrostu poziomu GSH w potraktowanych produktami rozpadu GLS komórkach. Może to być związane ze zwiększeniem biosyntezy GSH przez indukcję ligazy cysteino-glutaminowej [37].

Wystawienie komórki na działanie izotiocyjanianów powoduje zmianę potencjału zarówno wewnętrznej, jak i zewnętrznej błony mitochondrialnej, a także uwolnienie do cytosolu cytochromu c i dehydrogenazy malonowej. Mechanizm, według którego ITC oraz ich koniugaty z GSH wywołują uszkodzenia mitochondrium pozostają

nieznane, choć uważa się, że koniugaty GSH z ITC mogą stanowić główną przyczynę uszkodzeń mitochondrialnych komórki [38].

Stres oksydacyjny wywołany przez ITC wskutek obniżenia poziomu tioli wpływa na regulację aktywności białek proapoptotycznych (Bcl-2, Bcl-x<sub>L</sub>, Mcl-1) i białek hamujących apoptozę (Bad, Bak, Bid), doprowadzając do uwolnienia cytochromu c [57]. Izotiocyjaniiny inaktywują białko Bcl-2 stymulując ich fosforylację przez kinazę NIK. Poza tym, wspomniane pochodne glukozyolanów mogą wpływać na regulację Bcl-2, Bcl-x<sub>L</sub> i Mcl-1, aktywować białko Bid, zwiększać ekspresję Bad, Bak i Bax oraz zwiększać translokację białka Bax do mitochondriów. Przeprowadzone badania sugerują, że efekt oddziaływania ITC zależy od rodzaju komórki. W wyniku oddziaływania związków z grupy ITC na prawidłową komórkę następuje proces aktywacji kaspaz 8 i 9, wskazując na aktywację zarówno szlaku receptora śmierci, jak i mitochondrialnego. Indukcja apoptozy szlakiem mitochondrialnym jest inicjowana przez uwolnienie cytochromu c do cytoplazmy, który wraz z czynnikiem Apaf-1 i kaspazą 9 tworzy kompleks zwany apoptosomem. Z procesem aktywacji wyżej wspomnianej kaspazy wiąże się aktywacja kaspaz 3, 6 i 7, które są odpowiedzialne za degradację wewnątrzkomórkowych białek i doprowadzają do morfologicznych zmian komórek apoptotycznych [66]. Zatem indukcja apoptozy przez ITC może być wywołana poprzez aktywację kinazy JNK, zmianę potencjału mitochondrialnego, uwolnienie cytochromu c i/lub aktywację kaspaz.

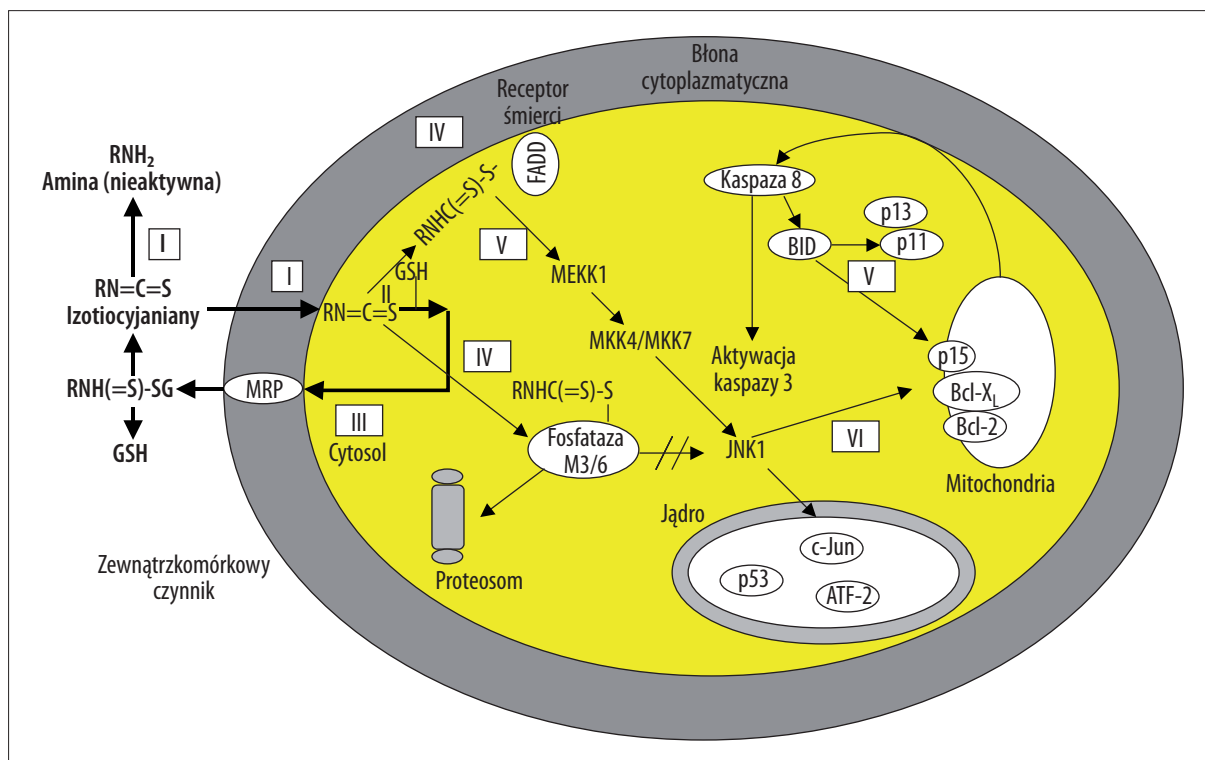
Poza wpływem ITC na białka rodziny Bcl-2, również wpływ na regulację szlaku sygnalizacyjnego związanego z czynnikiem NF- $\kappa$ B może indukować programowaną śmierć komórki. Wykazano, że PEITC i SFN hamują syntezę lipopolisacharydu (LPS), który wywołuje aktywację NF- $\kappa$ B [85].

### Zahamowanie wzrostu inwazyjnego i angiogenezy

Wprawdzie wartość danych z badań *in vitro* opartych na wykorzystaniu kultur komórkowych jest ograniczona, a badań *in vivo* jest bardzo niewiele, to pozwalają one wyciągnąć wnioski, że I3C i DIM mogą hamować inwazję komórek nowotworowych na prawidłowe tkanki [39] i zahamować rozwój nowych naczyń krwionośnych (angiogenezę) niezbędny do wzrostu guza [7]. Dostępne są dane literaturowe świadczące o tym, że również ITC, takie jak SFN i AITC, mają podobne działanie hamując inwazję guza i angiogenezę [77].

### Aktywność przeciwzapalna

Modulacja aktywności czynnika jądrowego NF- $\kappa$ B odgrywa główną rolę w chemioprewencji nowotworów dzięki jego ważnej roli w kontroli ekspresji genów zaangażowanych we wzrost guza, proliferację komórek nowotworowych i ich inwazyjność, apoptozę i angiogenezę [85]. Odczyn zapalny promuje proliferację komórek i hamuje apoptozę, zwiększając ryzyko rozwoju nowotworu [73]. Jak wykazano izotiocyjaniiny SFN i PEITC prowadzą do zmniejszenia wydzielania zapalnych cząsteczek sygnalizacyjnych przez komórki jądrowe krwi, właśnie w wyniku blokowania działania jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B [57,85].



Ryc. 3. Schemat możliwego mechanizmu indukcji apoptozy przez izotiocyjaniany (opis w tekście) (na podstawie [58], zmodyfikowano)

### Indukcja endogennych enzymów przeciwutleniających przez izotiocyjaniany

Indukcja aktywności enzymów mających właściwości przeciwutleniające przez naturalne substancje prowadzi do zwiększenia stopnia ochrony komórek przed utleniającym, mutagennym działaniem niektórych kancerogenów [4]. ITC wywołują aktywację transkrypcyjną wielu genów kodujących enzymy kontrolujące komórkową homeostazę redoks, takie jak GST, QR, TR i HO-1 [37].

Mimo wyraźnych dowodów, że ITC aktywują przeciwutleniające białka komórkowe i ochraniają komórki przeciw stresowi oksydacyjnemu, są też dowody, iż związki te mogą w pewnych sytuacjach ten stres powiększać. Można to wyjaśnić w oparciu o taki mechanizm działania, jak wspomniane obniżenie stężenia GSH bądź też utleniające właściwości samych ITC. Ponadto ITC są zdolne również generować reaktywne formy tlenu (ROS), gdyż rodankowa grupa ITC może ulec spontanicznej hydrolizie przyczyniając się do tworzenia nadtlenu wodoru [42]. Jednak, zwierzętom, u których zaobserwowano negatywne oddziaływanie oksydacyjnego uszkodzenia mitochondriów przez związki z grupy ITC podawano znacznie większe dawki tych związków niż te, które jest w stanie przyjąć człowiek w diecie [88]. Wyniki te wskazują jednak na zagrożenia w przypadku suplementacji diety tymi związkami.

### Regulacja szlaków sygnalizacyjnych z udziałem czynników transkrypcyjnych NF-κB i AP-1

W przypadku większości nowotworów złośliwych obserwowana jest zwiększona aktywacja czynników transkrypcyjnych NF-κB i AP-1. Wykazano, że naturalnie wystę-

pujące związki o działaniu chemioprewencyjnym mogą zmieniać aktywność obu tych czynników transkrypcyjnych [90]. Przy czym zmiana aktywności NF-κB i AP-1 przez związki wykazujące właściwości chemioprewencyjne jest wysoce zmienna zależnie od stężenia i prawdopodobnie typu komórki. Eukariotyczny czynnik transkrypcyjny NF-κB składa się z kompleksów homo- i heterodimerów uformowanych z rodziny białek Rel i w cytoplazmie tworzy zwykle nieczynny kompleks z inhibitorem κB (IκB). Pod wpływem zewnętrznych bodźców, różnych czynników chorobotwórczych albo czynników związanych ze stresem, IκB staje się funkcjonalnie unieruchomiony, a NF-κB przemieszcza się do jądra, by wywołać transkrypcję różnych genów kodujących białka odpowiedzialne za komórkową odpowiedź na stres [37].

Białko aktywatora 1 (AP-1) jest innym ważnym kompleksem białek rodziny Jun i Fos, które oddziałują wzajemnie poprzez suwak leucynowy (bZIP) [73]. Obecność domeny bZIP zapewnia możliwość wiązania AP-1 z innymi białkami również zawierającymi domenę bZIP, takimi jak podrodziny ATF, Maf, CNC i C/EBP [90]. Z kolei dimery AP-1 mogą oddziaływać z wieloma rejonami w DNA, takimi jak: element odpowiedzi tarczycy (TRE), element odpowiedzi na utleniacze (ARE) czy element odpowiedzi na cAMP (CRE). Białko AP-1 może oddziaływać nie tylko z rejonami regulatorowymi w DNA, ale także z innymi białkami istotnymi dla procesów transkrypcji, miogenezy włączając w to p65, CRE, CBP albo p300, SMAD-3 i -4. Zarówno aktywność NF-κB, jak i AP-1 jest indukowana przez różnorodne zewnętrzne bodźce obejmujące UV, promotory guza, czynniki wzrostu i przekształcone onkogeny, które działają jako pośrednie regulatory transkrypcyjne w sygnalizacyjnych szlakach prowadzących do

rozmnażania komórki i transformacji. Aktywacja NF- $\kappa$ B i AP-1 wymaga wcześniejszej aktywacji wielu kinaz. Przeprowadzone badania wskazują, że izotiocyjaniany hamują aktywność czynników transkrypcyjnych NF- $\kappa$ B i AP-1 przez modulowanie sygnalizacyjnych szlaków z udziałem kinazy MAPK. Jednak dokładne mechanizmy procesu modulacji wspomnianych czynników przez izotiocyjaniany nie są jeszcze do końca wyjaśnione [86].

### Modulacja epigenetyczna ekspresji genów

Materiał genetyczny (DNA) obecny w jądrze jest związany głównie z białkami zwanymi histonami. Proces acetylacji histonów przez acetylotransferazy histonowe (HAT) zapewnia dostępność DNA czynnikom transkrypcyjnym, które łączą się z DNA i uaktywniają geny transkrypcyjne. Deacetylacja histonów przez deacetylazy histonowe (HDAC) jest oprócz metylacji regionów promotorowych w DNA głównym mechanizmem ograniczenia dostępu czynników transkrypcyjnych do DNA. Acetylacja i deacetylacja histonów jądrowych stanowi ważny mechanizm komórkowy regulacji transkrypcji genów [51]. Jednakże, istniejąca w prawidłowych komórkach równowaga między aktywnością HAT i HDAC może zostać zachwiana w komórkach nowotworowych. Związki, które wywołują spadek aktywności HDAC, charakteryzują się zdolnością do wywoływania transkrypcji supresorowych białek guza, promujących różnicowanie i apoptozę w przekształconych (prekancerogennych) komórkach [15].

Metabolity izotiocyjanianów AITC i SFN powodują zahamowanie aktywności HDAC w kulturach komórek nowotworowych i w badaniach prowadzonych na zwierzętach [15,52,53]. W literaturze można znaleźć coraz więcej dowodów na działanie chemioprewencyjne indolo-3-karbinolu i innych dietetycznych modulatorów na nowotwór piersi, przejawiający się zmianami w obrazie metylacji DNA, strukturze chromatyny i ekspresji znaczących genów.

### Działanie przeciwwirusowe i przeciwbakteryjne

Infekcja organizmu przez pewne rodzaje ludzkiego wirusa papilloma (HPV) zwiększa ryzyko zachorowania na nowotwór szyjki macicy. W przypadku myszy transgenicznych, u których wystąpiła ekspresja genów HPV promujących nowotwór obserwuje się rozwój nowotworu szyjki macicy. Dostarczenie związku indolowego I3C prowadzi do zmniejszenia populacji myszy z rozwiniętą postacią tego nowotworu. Wykazano, że liczba prekancerogennych uszkodzeń szyjki macicy spada ze wzrostem dawki I3C [31]. Jeszcze skuteczniejszy okazał się w tym przypadku DIM, którego działanie jest obecnie testowane w badaniach klinicznych [72].

Infekcja bakteryjna wywoływana przez *H. pylori* jest łączona ze wzrostem zachorowania na raka żołądka. Dodanie oczyszczonego izotiocyjanianu SFN do hodowli tego patogenu działało bakteriostatycznie lub bakteriobójczo, nawet w przypadku antybiotykoopornych szczepów *H. pylori* [17]. U zwierząt zakażonych *H. pylori*, podawanie SFN przez 5 dni doprowadziło do eliminacji 8 z 11 szczepów *H. pylori* [24]. Istnieje potrzeba dalszych badań, których celem będzie uzyskanie danych potwierdzających tezę o korzystnym działaniu izotiocyjanianu SFN albo diety bogatej w jego prekursor – glukorafaninę w leczeniu infekcji organizmu

ludzkiego przez te bakterie, a w związku z tym ograniczenie zachorowań na raka żołądka [17].

### DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE GLUKOZYNOANÓW OBECNYCH W KAPUŚCIE I PRODUKTÓW ICH ROZPADU NA ORGANIZM

Nadmierna konsumpcja znacznych ilości glukozynolanów, grozi wystąpieniem działań niepożądanych, takich jak działanie wolotwórcze, a nawet mutagenne [26].

Naturalnie występujące izotiocyjaniany i ich metabolity wykazywały *in vivo* zdolność hamowania rozwoju chemicznie wywołanych nowotworów płuc, wątroby, przełyku, żołądka oraz piersi w badaniach przeprowadzonych na różnych zwierzętach [41]. Ochronne działanie izotiocyjanianów było skuteczne wtedy, kiedy związki te podawane były zwierzętom przed lub jednocześnie z podawaniem kancerogenu chemicznego. I3C dostarczony przed albo jednocześnie z czynnikiem rakotwórczym hamował rozwój nowotworów piersi, żołądka, płuc i wątroby w badaniach prowadzonych na różnych zwierzętach i liniach komórkowych [10,46]. Jednakże wyniki badań przeprowadzonych w kilku laboratoriach wykazały negatywne działanie związku indolowego I3C, który przyczynił się albo stymulował rozwój nowotworu, kiedy podano go w sposób ciągły po czynniku rakotwórczym (postinicjacja). Pierwsze negatywne skutki I3C, ujawniające jego wpływ na rozwój nowotworu dostrzeżono w przypadku nowotworu wątroby w badaniach przeprowadzonych na pstrągu [56]. Również w przypadku szczurów wykazano przeciwny do chemioprewencyjnego wpływ wspomnianego wyżej związku na nowotwory wątroby, tarczycy i macicy. Wpływ długotrwałej suplementacji I3C na ryzyko wystąpienia raka u ludzi nie jest jeszcze poznany, ale sprzeczne wyniki badań na zwierzętach ostrzegają przeciw rozpowszechnieniu użyciu wzbogacenia diety w związek indolowy I3C i jego produkt kondensacji DIM u ludzi, aż do czasu potwierdzenia braku negatywnego działania [14,42].

### PERSPEKTYWY UŻYCIA GLUKOZYNOANÓW I PRODUKTÓW ICH ROZPADU JAKO ZWIĄZKÓW CHEMIOPREWENCYJNYCH

Wprawdzie badania epidemiologiczne dostarczają dowodów, że większe spożycie kapusty wiąże się ze zmniejszonym ryzykiem wystąpienia nowotworów u ludzi [26,63], trudno jest jednak określić, czy ochronne skutki są związane z działaniem glukozynolanów, izotiocyjanianów, indoli, czy też innych substancji np. fitosteroli. Usiłowano oszacować ekspozycję organizmu na izotiocyjaniany opierając się na dostępnych danych dotyczących spożycia warzyw i pomiarze maksymalnych ilości izotiocyjanianów, które mogą zostać uwolnione. Pamiętać należy, że szacując dietetyczny wpływ kapusty można tylko ogólnie określić narażenie konsumenta na ITC, ponieważ inne czynniki mogą zmienić ilość i jakość utworzonych i wchłoniętych związków z tej grupy. Poprzez pomiar zawartości ITC i ich metabolitów w próbkach moczu można uzyskać bardziej dokładne informacje na temat ilości tych związków, jednak wartość danych literaturowych na ten temat jest stosunkowo niewielka [87].

### PODSUMOWANIE

Kapusta zawiera glukozynolany, przekształcane w enzymatyczne produkty rozpadu, które – jak dowodzą badania –

zmniejszają ryzyko wystąpienia nowotworów. Podczas gotowania wspomnianego warzywa spada ilość wymienionych składników [70]. Ze względu na dotychczasowe informacje o przeciwrakotwórczych właściwościach tych związków, kapusta stała się przedmiotem ciągłych badań. Istnieje wiele już poznanych mechanizmów zapobiegających nowotworom, wykazywanych przez glukozynolany i produkty ich rozpadu, jednak równie wiele stawianych jest wciąż pod znakiem zapytania.

Wykryte szkodliwe właściwości produktów rozpadu GLS nakazują na ostrożność z suplementacją diety izolowanymi substancjami (np. I3C) i podkreślają wagę spożywania kapusty jako składnika diety. Niewiele jest prac poświęconych badaniom wpływu mieszanin związków zawartych w kapuście na rozwój nowotworów. Należy żywić nadzieje, że ten stan rzeczy ulegnie zmianie dostarczając jednoznacznych podstaw naukowych rekomendacjom żywnościowym.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Aggarwal B.B., Ichikawa H.: Molecular targets and anticancer potential of indole-3-carbinol and its derivatives. *Cell Cycle*, 2005; 4: 1201–1215
- [2] Bacon J.R., Plumb G.W., Howie A.F., Beckett G.J., Wang W., Bao Y.: Dual action of sulforaphane in the regulation of thioredoxin reductase and thioredoxin in human HepG2 and Caco-2 cells. *J. Agric. Food Chem.*, 2007; 55: 1170–1176
- [3] Baer-Dubowska W.: Chemoprewencja – profilaktyka i terapia wspomaganą raków głowy i szyi. *Post. Chir. Głowy i Szyi*, 2003; 2: 3–14
- [4] Barillari J., Iori R., Broccoli M., Pozzetti L., Canistro D., Saponi A., Bonamassa B., Biagi G.L., Paolini M.: Glucoraphasatin and glucoraphenin, a redox pair of glucosinolates of Brassicaceae, differently affect metabolizing enzymes in rats. *J. Agric. Food Chem.*, 2007; 55: 5505–5511
- [5] Canistro D., Croce C.D., Iori R., Barillari J., Bronzetti G., Poi G., Cini M., Caltavuturo L., Perocco P., Paolini M.: Genetic and metabolic effects of gluconasturtiin, a glucosinolate derived from cruciferae. *Mutat. Res.*, 2004; 545: 23–35
- [6] Chan J.M., Wang F., Holly E.A.: Vegetable and fruit intake and pancreatic cancer in a population-based case-control study in the San Francisco bay area. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005; 14: 2093–2097
- [7] Chang X., Tou J.C., Hong C., Kim H.A., Riby J.E., Firestone G.L., Bjeldanes L.F.: 3,3'-Diindolylmethane inhibits angiogenesis and the growth of transplantable human breast carcinoma in athymic mice. *Carcinogenesis*, 2005; 26: 771–778
- [8] Chen C., Kong A.N.: Dietary cancer-chemopreventive compounds: from signaling and gene expression to pharmacological effects. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2005; 26: 318–326
- [9] Chu M., Guo J., Chen C.Y.: Long-term exposure to nicotine, via ras pathway, induces cyclin D1 to stimulate G1 cell cycle transition. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 6369–6379
- [10] Conaway C.C., Yang Y.M., Chung F.L.: Isothiocyanates as cancer chemopreventive agents: their biological activities and metabolism in rodents and humans. *Curr. Drug Metab.*, 2002; 3: 233–255
- [11] Dahler A.L., Rickwood D., Guminski A., Teakle N., Saunders N.A.: Indole-3-carbinol-induced growth inhibition can be converted to a cytotoxic response in the presence of TPA + Ca<sup>2+</sup> in squamous cell carcinoma cell lines. *FEBS Lett.*, 2007; 581: 3839–3847
- [12] Dalessandri K.M., Firestone G.L., Fitch M.D., Bradlow H.L., Bjeldanes L.F.: Pilot study: effect of 3,3'-diindolylmethane supplements on urinary hormone metabolites in postmenopausal women with a history of early-stage breast cancer. *Nutr. Cancer*, 2004; 50: 161–167
- [13] Das S., Tyagi A.K., Kaur H.: Cancer modulation by glucosinolates: A review. *Curr. Sci.*, 2000; 79: 1665–1671
- [14] Dashwood R.H.: Indole-3-carbinol: anticarcinogen or tumor promoter in Brassica vegetables? *Chem. Biol. Interact.*, 1998; 110: 1–5
- [15] Dashwood R.H., Myzak M.C., Ho E.: Dietary HDAC inhibitors: time to rethink weak ligands in cancer chemoprevention? *Carcinogenesis*, 2006; 27: 344–349
- [16] Erkoç Ş., Erkoç F.: Theoretical investigation of sulforaphane molecule. *THEOCHEM*, 2005; 714: 81–85
- [17] Fahey J.W., Haristoy X., Dolan P.M., Kensler T.W., Scholtus I., Stephenson K.K., Talalay P., Lozniewski A.: Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 7610–7615
- [18] Fimognari C., Hrelia P.: Sulforaphane as a promising molecule for fighting cancer. *Mutat. Res.*, 2007; 635: 90–104
- [19] Fimognari C., Nüsse M., Berti F., Iori R., Cantelli-Forti G., Hrelia P.: A mixture of isothiocyanates induces cyclin B10 and p53-mediated cell-cycle arrest and apoptosis of human T lymphoblastoid cells. *Mutat. Res.*, 2004; 554: 205–214
- [20] Fowke J.H., Shu X.O., Dai Q., Shintani A., Conaway C.C., Chung F.L., Cai Q., Gao Y.T., Zheng W.: Urinary isothiocyanate excretion, brassica consumption, and gene polymorphisms among women living in Shanghai, China. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2003; 12: 1536–1539
- [21] Gamet-Payrastré L., Li P., Lumeau S., Cassar G., Dupont M. A., Chevolleau S., Gasc N., Tulliez J., Terce F.: Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon cancer cells. *Cancer Res.*, 2000; 60: 1426–1433
- [22] Gonzales G.F., Miranda S., Nieto J., Fernández G., Yucra S., Rubio J., Yi P., Gasco M.: Red maca (*Lepidium meyenii*) reduced prostate size in rats. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2005; 3: 5
- [23] Grubb C.D., Abel S.: Glucosinolate metabolism and its control. *Trends Plant Sci.*, 2006; 11: 89–100
- [24] Haristoy X., Angioi-Duprez K., Duprez A., Lozniewski A.: Efficacy of sulforaphane in eradicating *Helicobacter pylori* in human gastric xenografts implanted in nude mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003; 47: 3982–3984
- [25] Heiss E., Herhaus C., Klimo K., Bartsch H., Gerhauser C.: Nuclear factor kappa B is a molecular target for sulforaphane-mediated anti-inflammatory mechanisms. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 32008–32015
- [26] Higdon J.V., Delage B., Williams D.E., Dashwood R.H.: Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacol. Res.*, 2007; 55: 224–236
- [27] Hilakivi-Clarke L., Cho E., Cabanes A., DeAssis S., Olivo S., Helferich W., Lippman M.E., Clarke R.: Dietary modulation of pregnancy estrogen levels and breast cancer risk among female rat offspring. *Clin. Cancer Res.*, 2002; 8: 3601–3610
- [28] Huang C., Liu L.Y., Song T.S., Ni L., Yang L., Hu X.Y., Hu J.S., Song L.P., Luo Y., Si L.S.: Apoptosis of pancreatic cancer BXP-3 cells induced by indole-3-acetic acid in combination with horseradish peroxidase. *World J. Gastroenterol.*, 2005; 11: 4519–4523
- [29] Hwang E.S., Lee H.J.: Induction of quinone reductase by allyl isothiocyanate (AITC) and the N-acetylcysteine conjugate of AITC in Hepa1c1c7 mouse hepatoma cells. *Biofactors*, 2006; 26: 7–15
- [30] Jackson S.J., Singletary K.W., Venema R.C.: Sulforaphane suppresses angiogenesis and disrupts endothelial mitotic progression and microtubule polymerization. *Vascul. Pharmacol.*, 2007; 46: 77–84
- [31] Jin L., Qi M., Chen D.Z., Anderson A., Yang G.Y., Arbeit J.M.: Indole-3-carbinol prevents cervical cancer in human papilloma virus type 16 (HPV16) transgenic mice. *Cancer Res.*, 1999; 59: 3991–3997
- [32] Jordan V.C., Schafer J.M., Levenson A.S., Liu H., Pease K.M., Simons L.A., Zapf J.W.: Molecular classification of estrogens. *Cancer Res.*, 2001; 61: 6619–6623
- [33] Jump S.M., Kung J., Staub R., Kinseth M.A., Cram E.J., Yudina L.N., Preobrazhenskaya M.N., Bjeldanes L.F., Firestone G.L.: N-alkoxy derivatization of indole-3-carbinol increases the efficacy of the G1 cell cycle arrest and of I3C-specific regulation of cell cycle gene transcription and activity in human breast cancer cells. *Biochem. Pharmacol.*, 2008; 75: 713–724
- [34] Kassie F., Anderson L.B., Higgins L., Pan Y., Matise I., Negia M., Upadhyaya P., Wang M., Hecht S.S.: Chemopreventive agents modulate the protein expression profile of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone plus benzo[a]pyrene-induced lung tumors in A/J mice. *Carcinogenesis*, 2008; 29: 610–619

- [35] Kassie F., Anderson L.B., Scherber R., Yu N., Lahti D., Upadhyaya P., Hecht S.S.: Indole-3-carbinol inhibits 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone plus benzo(a)pyrene-induced lung tumorigenesis in A/J mice and modulates carcinogen-induced alterations in protein levels. *Cancer Res.*, 2007; 67: 6502–6511
- [36] Kelloff G.J.: Perspectives on cancer chemoprevention research and drug development. *Adv. Cancer Res.*, 2000; 78: 199–334
- [37] Keum Y.S., Jeong W.S., Kong A.N.: Chemoprevention by isothiocyanates and their underlying molecular signaling mechanisms. *Mutat. Res.*, 2004; 555: 191–202
- [38] Kim B.R., Hu R., Keum Y.S., Hebbar V., Shen G., Nair S.S., Kong A.N.: Effects of glutathione on antioxidant response element-mediated gene expression and apoptosis elicited by sulforaphane. *Cancer Res.*, 2003; 63: 7520–7525
- [39] Kim Y.S., Milner J.A.: Targets for indole-3-carbinol in cancer prevention. *J. Nutr. Biochem.*, 2005; 16: 65–73
- [40] Kristal A.R., Lampe J.W.: Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. *Nutr. Cancer*, 2002; 42: 1–9
- [41] Kwon K.H., Barve A., Yu S., Huang M.T., Kog T.A.: Cancer chemoprevention by phytochemicals: potential molecular targets, biomarkers and animal models. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2007; 28: 1409–1421
- [42] Lee B.M., Park K.K.: Beneficial and adverse effects of chemopreventive agents. *Mutat. Res.*, 2003; 523-524: 265–278
- [43] Leong H., Riby J.E., Firestone G.L., Bjeldanes L.F.: Potent ligand-independent estrogen receptor activation by 3,3'-diindolylmethane is mediated by cross talk between the protein kinase A and mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Mol. Endocrinol.*, 2004; 18: 291–302
- [44] Marques-Vidal P., Ravasco P., Ermelinda Camilo M.: Foodstuffs and colorectal cancer risk: A review. *Clin. Nutr.*, 2006; 25: 14–36
- [45] Mohn T., Cutting B., Ernst B., Hamburger M.: Extraction and analysis of intact glucosinolates – A validated pressurized liquid extraction/liquid chromatography–mass spectrometry protocol for *Isatis tinctoria*, and qualitative analysis of other cruciferous plants. *J. Chromatogr. A*, 2007; 1166: 142–151
- [46] Moiseeva E.P., Heukers R., Manson M.M.: EGFR and Src are involved in indole-3-carbinol-induced death and cell cycle arrest of human breast cancer cells. *Carcinogenesis*, 2007; 28: 435–445
- [47] Moreno D.A., Carvajal M., Lopez-Berenguer C., Garcia-Viguera C.: Chemical and biological characterization of nutraceutical compounds of broccoli. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2006; 41: 1508–1522
- [48] Munday R., Munday C.M.: Induction of phase II detoxification enzymes in rats by plant-derived isothiocyanates: comparison of allyl isothiocyanate with sulforaphane and related compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 2004; 52: 1867–1871
- [49] Munday R., Zhang Y., Fahey J.W., Jobson H.E., Munday C.M., Li J., Stephenson K. K.: Evaluation of isothiocyanates as potent inducers of carcinogen-detoxifying enzymes in the urinary bladder: critical nature of *in vivo* bioassay. *Nutr. Cancer*, 2006; 54: 223–231
- [50] Murray M.: Altered CYP expression and function in response to dietary factors: potential roles in disease pathogenesis. *Curr. Drug Metab.*, 2006; 7: 67–81
- [51] Myzak M.C., Dashwood R.H.: Histone deacetylases as targets for dietary cancer preventive agents: lessons learned with butyrate, diallyl disulfide, and sulforaphane. *Curr. Drug Targets*, 2006; 7: 443–452
- [52] Myzak M.C., Dashwood W.M., Orner G.A., Ho E., Dashwood R.H.: Sulforaphane inhibits histone deacetylase *in vivo* and suppresses tumorigenesis in Apcmin mice. *FASEB J.*, 2006; 20: 506–508
- [53] Myzak M.C., Hardin K., Wang R., Dashwood R.H., Ho E.: Sulforaphane inhibits histone deacetylase activity in BPH-I, LNCaP and PC-3 prostate epithelial cells. *Carcinogenesis*, 2006; 27: 811–819
- [54] Nachshon-Kedmi M., Yannai S., Haj A., Fares F.A.: Indole-3-carbinol and 3,3'-diindolylmethane induce apoptosis in human prostate cancer cells. *Food Chem. Toxicol.*, 2003; 41: 745–752
- [55] Nho C.W., Jeffery E.: The synergistic upregulation of phase II detoxification enzymes by glucosinolate breakdown products in cruciferous vegetables. *Toxicol. Applied Pharmacol.*, 2001; 174: 146–152
- [56] Oganessian A., Hendricks J.D., Pereira C.B., Orner G.A., Bailey G.S., Williams D.E.: Potency of dietary indole-3-carbinol as a promoter of aflatoxin B1-initiated hepatocarcinogenesis: results from a 9000 animal tumor study. *Carcinogenesis*, 1999; 20: 453–458
- [57] Paolini M., Perocco P., Canistro D., Valgimigli L., Pedulli G.F., Iori R., Croce C.D., Cantelli-Forti G., Legator M.S., Abdel-Rahman S.Z.: Induction of cytochrome P450, generation of oxidative stress and *in vitro* cell-transforming and DNA-damaging activities by glucoraphanin, the bioprecursor of the chemopreventive agent sulforaphane found in broccoli. *Carcinogenesis*, 2004; 25: 61–67
- [58] Pappa G., Lichtenberg M., Iori R., Barillari J., Bartsch H., Gerhäuser C.: Comparison of growth inhibition profiles and mechanisms of apoptosis induction in human colon cancer cell lines by isothiocyanates and indoles from Brassicaceae. *Mutat. Res.*, 2006; 599: 76–87
- [59] Perocco P., Bronzetti G., Canistro D., Valgimigli L., Sapone A., Affatato A., Pedulli G.F., Pozzetti L., Broccoli M., Iori R., Barillari J., Sblendorio V., Legator M.S., Paolini M., Abdel-Rahman S.Z.: Glucoraphanin, the bioprecursor of the widely extolled chemopreventive agent sulforaphane found in broccoli, induces Phase-I xenobiotic metabolizing enzymes and increases free radical generation in rat liver. *Mutat. Res.*, 2006; 595: 125–136
- [60] Pool-Zobel B., Veeriah S., Böhmer F.D.: Modulation of xenobiotic metabolising enzymes by anticarcinogens – focus on glutathione S-transferases and their role as targets of dietary chemoprevention in colorectal carcinogenesis. *Mutat. Res.*, 2005; 591: 74–92
- [61] Rahman K.W., Li Y., Wang Z., Sarkar S.H., Sarkar F.H.: Gene expression profiling revealed survivin as a target of 3,3'-diindolylmethane-induced cell growth inhibition and apoptosis in breast cancer cells. *Cancer Res.*, 2006; 66: 4952–4960
- [62] Russo G.L.: Ins and outs of dietary phytochemicals in cancer chemoprevention. *Biochem. Pharmacol.*, 2007; 74: 533–544
- [63] Rybaczyk-Pathak D.: Joint association of high cabbage/sauerkraut intake at 12-13 years of age and adulthood with reduced breast cancer risk in Polish migrant women: results from the US component of the Polish Women's Health Study (PWHS). Abstracts of AACR 4<sup>th</sup> Annual Conference on Frontiers in Cancer Prevention Research, Baltimore, Maryland, 2005, Abstract no 3697
- [64] Safe S.: Molecular biology of the Ah receptor and its role in carcinogenesis. *Toxicol. Lett.*, 2001; 120: 1–7
- [65] Sapone A., Affatato A., Canistro D., Pozzetti L., Broccoli M., Barillari J., Iori R., Paolini M.: Cruciferous vegetables and lung cancer. *Mutat. Res.*, 2007; 635: 146–148
- [66] Satyan K.S., Swamy N., Dizon D.S., Singh R., Granai C.O., Brard L.: Phenethyl isothiocyanate (PEITC) inhibits growth of ovarian cancer cells by inducing apoptosis: Role of caspase and MAPK activation. *Gynecol. Oncol.*, 2006; 103: 261–270
- [67] Smith T.K., Lund E.K., Parker M.L., Clarke R.G., Johnson I.T.: Allyl isothiocyanate causes mitotic block, loss of cell adhesion and disrupted cytoskeletal structure in HT29 cells. *Carcinogenesis*, 2004; 25: 1409–1415
- [68] Smith T.K., Mithen R., Johnson I.T.: Effects of Brassica vegetable juice on the induction of apoptosis and aberrant crypt foci in rat colonic mucosal crypts *in vivo*. *Carcinogenesis*, 2003; 24: 491–495
- [69] Song L., Morrisson J.J., Botting N.P., Thornalley P.J.: Analysis of glucosinolates, isothiocyanates, and amine degradation products in vegetable extracts and blood plasma by LC-MS/MS. *Anal. Biochem.*, 2005; 347: 234–243
- [70] Song L., Thornalley P.J.: Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of Brassica vegetables. *Food Chem. Toxicol.*, 2007; 45: 216–224
- [71] Souli E., Machluf M., Morgenstern A., Sabo E., Yannai S.: Indole-3-carbinol (I3C) exhibits inhibitory and preventive effects on prostate tumors in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 2008; 46: 863–870
- [72] Stanley M.: Chapter 17: Genital human papillomavirus infections – current and prospective therapies. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 2003; 31: 117–124
- [73] Steele V.E., Hawk E.T., Viner J.L., Lubet R.A.: Mechanisms and applications of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the chemoprevention of cancer. *Mutat. Res.*, 2003; 523–524: 137–144
- [74] Steinkellner H., Rabot S., Freywald C., Nobis E., Scharf G., Chabicovsky M., Knasmüller S., Kassie F.: Effect of cruciferous vegetables and their constituents on drug metabolizing enzymes involved in the bioactivation of DNA-reactive dietary carcinogens. *Mutat. Res.*, 2001; 480-481: 285–297
- [75] Stephenson P.U., Bonnesen C., Bjeldanes L.F., Vang O.: Modulation of cytochrome P4501A1 activity by ascorbigen in murine hepatoma cells. *Biochem. Pharmacol.*, 1999; 58: 1145–1153
- [76] Tani H., Higashi T., Nishimura F., Higuchi Y., Saijoh K.: Induction of detoxication enzymes in mice by naturally occurring allyl nitrile. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 8993–8996

- [77] Thejass P., Kuttan G.: Allyl isothiocyanate (AITC) and phenyl isothiocyanate (PITC) inhibit tumor-specific angiogenesis by downregulating nitric oxide (NO) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) production. *Nitric Oxide*, 2007; 16: 247–257
- [78] Thejass P., Kuttan G.: Inhibition of endothelial cell differentiation and proinflammatory cytokine production during angiogenesis by allyl isothiocyanate and phenyl isothiocyanate. *Integr. Cancer Ther.*, 2007; 6: 389–399
- [79] Thomson C.A., Newton T.R., Graver E.J., Jackson K.A., Reid P.M., Hartz V.L., Cussler E.C., Hakim I.A.: Cruciferous vegetable intake questionnaire improves cruciferous vegetable intake estimates. *J. Am. Diet Assoc.*, 2007; 107: 631–643
- [80] Verhoeven D.T., Verhagen H., Goldbohm R.A., van den Brandt P.A., van Poppel G.: A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by brassica vegetables. *Chem. Biol. Interact.*, 1997; 103: 79–129
- [81] Wang W., Wang S., Howie A.F., Beckett G.J., Mithen R., Bao Y.: Sulforaphane, erucin, and iberin up-regulate thioredoxin reductase 1 expression in human MCF-7 cells. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 1417–1421
- [82] Wu H., Lin S., Chen Y.: Inhibition of cell proliferation and *in vitro* markers of angiogenesis by indole-3-carbinol, a major indole metabolite present in cruciferous vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 5164–5169
- [83] Wu X., Kassie F., Mersch-Sundermann V.: Induction of apoptosis in tumor cells by naturally occurring sulfur-containing compounds. *Mutat. Res.*, 2005; 589: 81–102
- [84] Xiao D., Srivastava S.K., Lew K.L., Zeng Y., Hershberger P., Johnson C.S., Trump D.L., Singh S.V.: Allyl isothiocyanate, a constituent of cruciferous vegetables, inhibits proliferation of human prostate cancer cells by causing G2/M arrest and inducing apoptosis. *Carcinogenesis*, 2003; 24: 891–897
- [85] Xu C., Shen G., Chen C., Gelinis C., Kong A.N.: Suppression of NFB and NF $\kappa$ B-regulated gene expression by sulforaphane and PEITC through I $\kappa$ B $\alpha$ , IKK pathway in human prostate cancer PC-3 cells. *Oncogene*, 2005; 24: 4486–4495
- [86] Young M.R., Yang H.S., Colburn N.H.: Promising molecular targets for cancer prevention: AP-1, NF- $\kappa$ B and Pdc4. *Trends Mol. Med.*, 2003; 9: 36–41
- [87] Zhang Y.: Cancer-preventive isothiocyanates: measurement of human exposure and mechanism of action. *Mutat. Res.*, 2004; 555: 173–190
- [88] Zhang Y., Li J., Tang L.: Cancer-preventive isothiocyanates: dichotomous modulators of oxidative stress. *Free Radical Biol. Med.*, 2005; 38: 70–77
- [89] Zhang Y., Munday R., Jobson H.E., Munday C.M., Lister C., Wilson P., Fahey J.W., Mhawech-Fauceglia P.: Induction of GST and NQO1 in cultured bladder cells and in the urinary bladders of rats by an extract of broccoli (*Brassica oleracea italica*) sprouts. *J. Agric. Food Chem.*, 2006; 54: 9370–9376
- [90] Zhang Y., Yao S., Li J.: Vegetable-derived isothiocyanates: anti-proliferative activity and mechanism of action. *Proc. Nutr. Soc.*, 2006; 65: 68–75
- [91] Zhu C.Y., Loft S.: Effect of chemopreventive compounds from Brassica vegetables on NAD(P)H:quinone reductase and induction of DNA strand breaks in murine hepa1c1c7 cells. *Food Chem. Toxicol.*, 2003; 41: 455–462