

Received: 2014.02.21  
Accepted: 2014.07.07  
Published: 2014.11.06

## Sprężone trieny kwasu linolenowego (conjugated linolenic acid – CLnA, super CLA) – źródła i działanie biologiczne

### Conjugated linolenic acids (CLnA, super CLA) – natural sources and biological activity

Agnieszka Białek, Marta Teryks, Andrzej Tokarz

Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

#### Streszczenie

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (WNKT) charakteryzują się wielokierunkową aktywnością biologiczną. Wśród nich szczególne zainteresowanie badaczy budzą kwasy zawierające w łańcuchu węglowym układ sprzężonych wiązań podwójnych. Przykładem takich kwasów tłuszczowych są sprzężone dieny kwasu linolowego (conjugated linoleic acids - CLA) o licznych właściwościach prozdrowotnych oraz sprzężone trieny kwasu linolenowego, nazywane w skrócie CLnA (conjugated linolenic acids), a nawet „super CLA”. Są one izomerami pozycyjnymi i geometrycznymi kwasu oktadekatrienowego (C18:3), w których wiązania podwójne występują najczęściej w pozycjach 9, 11, 13 lub 8, 10, 12 łańcucha węglowego. Ich duże ilości można znaleźć w olejach roślinnych, m.in. otrzymywanych z nasion przepękli ogórkowatej (*Momordica charantia*), czy granatowca właściwego (*Punica granatum*). Celem niniejszej pracy było zebranie i omówienie przeglądu piśmiennictwa naukowego odnośnie aktualnych informacji dotyczących źródeł i potencjalnych właściwości prozdrowotnych sprzężonych trienów kwasu linolenowego (CLnA).

Wyniki badań wskazują, że sprzężone trieny kwasu linolenowego (CLnA) mogą okazać się w przyszłości pomocne w prewencji i zwalczaniu wielu chorób, zwłaszcza cukrzycy, miażdżycy, otyłości, różnych typów nowotworów, w tym nowotworów sutka, prostaty czy jelita grubego. Spośród wielu potencjalnych mechanizmów ich działania, niezwykle ważnym wydaje się to, iż niektóre z kwasów CLnA mogą ulegać przekształceniu za pomocą odpowiednich oksydoreduktaz do CLA. W pełni zasadnym wydaje się prowadzenie dalszych badań nad właściwościami i możliwością zastosowania tej grupy kwasów tłuszczowych w profilaktyce wielu chorób.

**Słowa kluczowe:** sprzężone trieny kwasu linolenowego • CLnA • super CLA

#### Summary

Polyunsaturated fatty acids (PUFA) have a wide range of biological activity. Among them conjugated fatty acids are of great interest. Conjugated linoleic acids (CLA), which exert a multidirectional health-benefiting influence, and conjugated linolenic acids (CLnA, super CLA) are examples of this group of fatty acids. CLnA are a group of positional and geometric isomers of octadecatrienoic acid (C18:3), which possess double bonds at positions 9, 11, 13 or 8, 10, 12 of their chain. Some vegetable oils are rich sources of CLnA, e.g. bitter melon oil (from *Momordica charantia* seeds) and pomegranate oil (from *Punica granatum* seeds). The aim of this paper was

to present information concerning natural sources and health-promoting activities of conjugated linolenic acids.

The presented data reveal that conjugated linolenic acids may be very useful in prevention and treatment of many diseases, especially diabetes, arteriosclerosis, obesity and cancers (mammary, prostate and colon cancer). Among many potential mechanisms of their action, the fact that some CLnA are converted by oxidoreductases into CLA is very important. It seems to be very reasonable to conduct research concerning the possibility of CLnA use in prevention of many diseases.

**Key words:** Conjugated linolenic acids • CLnA • super CLA

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1127881>

**Word count:** 6186  
**Tables:** 1  
**Figures:** 1  
**References:** 64

**Adres autorki:** dr Agnieszka Białek, Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa; agnieszka.bialek@wum.edu.pl

**Wykaz skrótów:**  **$\alpha$ -CDA** – kwas  $\alpha$ -kalendulowy, **ACF** - ogniska nieprawidłowych krypt (aberrant crypt foci),  **$\alpha$ -ESA** – kwas  $\alpha$ -eleostearynowy, **ALA** – kwas  $\alpha$ -linolenowy,  **$\beta$ -CDA** – kwas  $\beta$ -kalendulowy,  **$\beta$ -ESA** – kwas  $\beta$ -eleostearynowy, **BGO-FFA** – wolne kwasy tłuszczowe wyekstrahowane z oleju z nasion *Momordica charantia*, **BME** – ekstrakt z przepętkli ogórkowatej, **CLA** – sprzężone dieny kwasu linolenowego, **CLnA** – sprzężone trieny kwasu linolenowego, **CPA** – kwas katalpowy, **DMBA** - dimetylobenzo[a]antracen, **DMH** – dimetylohydrazyna, **GSH** – glutation, **HDL** – lipoproteiny o dużej gęstości, **JA** – kwas jakarandowy, **LDL** – lipoproteiny o małej gęstości, **LOS** – test podatności lipoprotein na oksydację (Lipoprotein Oxidation Susceptibility), **MDA** - dialdehyd malonowy, **PA** – kwas punikowy, **PGO** – olej z nasion granatowca, **PKC** – kinaza białkowa C (protein kinase C), **PPAR** – receptory aktywowane proliferatorami peroksydomów (peroxisome proliferator-activated receptors), **RER** – wskaźnik wymiany oddechowej, **SEM** – elektronowy mikroskop skaningowy, **TBARS** – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym, **TRIAL** – apoptoza w odpowiedzi na TNF związanego z ligandem (TNF-related apoptosis inducing ligand), **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (Vascular Endothelial Growth Factor), **WNKT** – wielonienasycone kwasy tłuszczowe.

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (WNKT) są grupą związków chemicznych naturalnie występujących w wielu źródłach pokarmowych, która charakteryzuje się wielokierunkową aktywnością biologiczną. Wśród nich szczególne zainteresowanie badaczy budzą ostatnio kwasy zawierające w łańcuchu węglowym układ sprzężonych wiązań podwójnych, tj. konfigurację, w której podwójne wiązania oddzielone są nie dwoma, a jednym wiązaniem pojedynczym. Przykładem takich kwasów tłuszczowych są sprzężone dieny kwasu linolenowego (conjugated linoleic acid - CLA) [6] o licznych właściwościach prozdrowotnych. Wykazano, że CLA działają przeciwmiażdżycowo [7], przeciwnowotworowo [8], ułatwiają redukcję tkanki tłuszczowej, przy jednoczesnym stymulowaniu przyrostu masy mięśniowej oraz przyrostu masy kostnej [6,57]. Niezwykle interesującą grupą wielonienasyconych kwasów tłuszczowych wydają się

także sprzężone trieny kwasu linolenowego, nazywane w skrócie CLnA (conjugated linolenic acid), a nawet „super CLA”. Są one izomerami kwasu oktadekatrienowego (C18:3), w których występuje układ sprzężonych trzech wiązań podwójnych, zlokalizowanych najczęściej w pozycjach 9, 11, 13 lub 8, 10, 12 łańcucha węglowego. Ich duże ilości można znaleźć w olejach roślinnych, m.in. otrzymany z nasion przepętkli ogórkowatej (*Momordica charantia*), czy granatowca właściwego (*Punica granatum*) [39], gdzie stanowią one główne składniki oleju [54], dzięki czemu znacznie łatwiej je otrzymać niż CLA. Najbardziej znanych przedstawicieli CLnA, wraz ze źródłami ich występowania zestawiono w tabeli 1. Przypisuje im się wiele właściwości prozdrowotnych, m.in. zdolność do hamowania wzrostu wielu linii komórek nowotworowych. Celem niniejszej pracy było zebranie i dokonanie przeglądu piśmiennictwa naukowego odno-

Tabela 1. Charakterystyka sprzężonych trienów kwasu linolenowego

Kwas tłuszczowy	Polska nazwa zwyczajowa	Angielska nazwa zwyczajowa	Roślina	Nazwa łacińska	Rodzina
<i>cis-9, trans-11, trans-13</i> C18:3	Kwas $\alpha$ -eleostearynowy	$\alpha$ -eleostearic acid	Balsamka ogórkowata/ Przepękla ogórkowata	<i>Momordica charantia</i>	<i>Cucurbitaceae</i>
<i>cis-9, trans-11, trans-13</i> C18:3	Kwas $\beta$ -eleostearynowy	$\beta$ -eleostearic acid	Balsamka ogórkowata/ Przepękla ogórkowata	<i>Momordica charantia</i>	<i>Cucurbitaceae</i>
<i>cis-9, trans-11, cis-13</i> C18:3	Kwas punikowy /kwas punicynowy	punicic acid	Granatowiec właściwy	<i>Punica granatum</i>	<i>Punicaceae</i>
<i>trans-8, trans-10, cis-12</i> C18:3	Kwas $\alpha$ -kalendulowy	$\alpha$ -calendic acid	Nagietek zwyczajny	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Compositae</i>
<i>trans-8, trans-10, trans-12</i> C18:3	kwas $\beta$ -kalendulowy	$\beta$ -calendic acid	Nagietek zwyczajny	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Compositae</i>
<i>cis-9, trans-11, trans-13</i> C18:3	Kwas $\alpha$ -eleostearynowy	$\alpha$ -eleostearic acid	Wiśnia wonna	<i>Prunus mahaleb</i>	<i>Rosaceae</i>
<i>cis-9, trans-11, trans-13</i> C18:3	Kwas $\alpha$ -eleostearynowy	$\alpha$ -eleostearic acid	Tungowiec forda	<i>Aleurites fordii</i>	<i>Euphorbiaceae</i>
<i>cis-8, trans-10, cis-12</i> C18:3	Kwas jakarandowy	jacaric acid	Jakaranda mimosolistna	<i>Jacaranda mimosifolia</i>	<i>Bignoniaceae</i>
<i>trans-9, trans-11, cis-13</i> C18:3	Kwas katalpowy	catalpic acid	Katalpa żółtokwiatowa/ Surmia żółtokwiatowa	<i>Catalpa ovata</i>	<i>Bignoniaceae</i>

śnie aktualnych informacji dotyczących źródeł i potencjalnych właściwości prozdrowotnych wielonienasyconych sprzężonych kwasów tłuszczowych zawierających układ trzech wiązań sprzężonych.

#### ROŚLINNE ŹRÓDŁA SPRZĘŻONYCH TRIENÓW KWASU LINOLENOWEGO

##### *Momordica charantia*

Balsamka ogórkowata (przepękla ogórkowata) jest rośliną należąca do rodziny *Cucurbitaceae* (dyniowate). Występuje na terenie południowej-wschodniej Azji, w Ameryce Południowej, Ameryce Środkowej i we wschodniej części Afryki [21]. W niektórych regionach znana jest również jako „gorzki melon” (bitter melon). Przepękla jest rośliną całoroczną, rośnie w klimacie tropikalnym, na terenach nizinnych [9]. Do celów kulinarnych wykorzystuje się głównie niedojrzałe owoce, których gorzki smak można usunąć przez moczenie w słonej wodzie i następnie: gotowanie, marynowanie lub smażenie [9]. Tradycyjnie balsamka ogórkowata jest wykorzystywana w leczeniu wielu chorób, przy czym stosowane są głównie liście, suszone lub świeże owoce lub świeży sok. W sklepach ze zdrową żywnością dostępne są także kapsułki ze zliofilizowanymi częściami rośliny [43]. Stwierdza się w nich obecność flawonoidów, polifenoli, kwasów tłuszczowych, glikozydów (m.in. charantyny i momordyny), karotenoidów, peptydów i witaminy C. Wykazano, że ekstrakt z przepękli ogórkowatej obniża poziom glukozy, poprawia metabolizm lipidów, wykazuje właściwości antynowotworowe [43]. Olej pozyskiwany z nasion jest bogaty

w kwas  $\alpha$ -eleostearynowy, którego zawartość wynosi ponad 50% [12,47].

##### *Punica granatum*

Granatowiec właściwy należy do rodziny *Punicaceae* (granatowcowate). Wywodzi się z południowo-wschodniej części Europy, ale obecnie spotykany jest na większości terenów tropikalnych i subtropikalnych (podzwrotnikowych) [58]. Wzmianki o uprawie granatowca sięgają 3 tysięcy lat p.n.e. Owoce granatu najczęściej jest spożywany świeży, ale może być też wykorzystywany do produkcji soków, wina, likieru [45]. Już Hipokrates doceniał jego właściwości w leczeniu niepłodności i w łagodzeniu objawów związanych z okresem przekwitania. Surowcem leczniczym może być też kora działająca toksycznie na płazińce bytujące w przewodzie pokarmowym. Jest ona źródłem alkaloidów i garbników [44]. Liczne badania dowodzą, że istnieje wiele kierunków (przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwpasożytnicze i antykancerogenne) prozdrowotnego działania ekstraktów z owoców granatowca. Sfermentowany sok działa antyoksydacyjnie i hamuje aktywność lipooksygenaz oraz cyklooksygenaz. Ekstrakt z kwiatów obniża poziom glukozy we krwi, natomiast świeży sok, bogaty we flawonoidy, antocyjany i kwasy fenolowe, hamuje oksydację lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) [45]. Nasiona znajdujące się w owocach są bogate w wielonienasycone kwasy tłuszczowe, spośród których w największej ilości występuje kwas punikowy, stanowiąc 65-80% wszystkich kwasów tłuszczowych [18].

### *Calendula officinalis*

Nagietek lekarski należy do rodziny *Compositae* [37]. Jest jednoroczną lub dwuletnią rośliną zielną z pomarańczowymi lub żółtymi koszyczkami kwiatowymi o charakterystycznym zapachu. Pochodzi z Europy i północnej części Afryki, głównie z Egiptu. Jest popularną rośliną ogrodową, a w rejonie Morza Śródziemnego występuje w stanie dzikim. Właściwości lecznicze nagietka znane były już w starożytności. Wykorzystywali je m.in. Pliniusz i Teofrast - znani starożytni medycy [30]. Preparaty nagietka przyspieszają gojenie (krótszy czas zablizniania ran) i łagodzą stany zapalne. Dzięki zawartości polifenoli i flawonoidów nagietek wykazuje także właściwości antyoksydacyjne [45,48]. Surowcem wykorzystywanym w lecznictwie jest kwiat (*Calendulae flos*) i koszyczek (*Calendulae anthodium*). Najważniejszymi związkami czynnymi obecnymi w kwiatach nagietka są saponozydy triterpenowe, zwane kalendulozydami A-F, triterpeny:  $\alpha$ - i  $\beta$ -amyryna, taraksasterol, kalenduladiol, a także flawonoidy: glikozydy izoramnetyny i kwercetyny. W kwiatostanach występuje olejek eteryczny (0,02%), karotenoidy (likopen i ksantofil) i kwasy tłuszczowe (m.in. CLA i CLnA, takie jak kwas  $\alpha$ - i  $\beta$ -kalendulowy) [38,40,48]. Badania ostatnich lat pozwoliły ustalić, że za syntezę sprzężonych kwasów tłuszczowych w nagietku odpowiedzialne są dwa geny: *CoFad2* i *CoFac2*, które zidentyfikowano np. w kielkujących nasionach [40].

### *Prunus mahaleb*

Wiśnia wonna jest małym drzewem lub krzewem z białymi kwiatami i owocami należącym do rodziny *Rosaceae* (rózowate). Rośnie we wschodniej części Azji i Europie [50]. Nasiona są stosowane w medycynie tradycyjnej w leczeniu cukrzycy, astmy, oraz przy zaburzeniach jelitowych. Zawierają kumaryny i małe ilości amidginaliny są bogate w białko i nienasycone kwasy tłuszczowe. Wykazano, że w owocach żółtych i czerwonych w największej ilości występuje kwas linolowy, natomiast w owocach czarnych - kwas oleinowy. Wszystkie owoce zawierają ponadto CLnA (głównie kwas  $\alpha$ -eleostearynowy, który stanowi ok. 18% wszystkich kwasów tłuszczowych) [13].

### *Aleurites fordii*

Tungowiec Forda jest wiecznie zielonym drzewem pochodzącym z Chin, należącym do rodziny *Euphorbiaceae*. Hodowany jest w celach ozdobnych oraz dla nasion, których olej jest wykorzystywany do produkcji lakierów, farb, linoleum, sztucznej skóry i smarów. Praktycznie wszystkie części rośliny są trujące dla człowieka. Połknięcie jednego nasienia może mieć skutki śmiertelne. Do celów leczniczych wykorzystuje się olej tungowy izolowany z nasion, bogaty w kwas  $\alpha$ -eleostearynowy [55].

### *Jacaranda mimosifolia*

Jakaranda mimozolistna jest wiecznie zielonym drzewem należącą do rodziny *Bignoniaceae*, pochodzącą z Brazylii i Argentyny. Rośnie na terenach tropikalnych i subtropi-

kalnych. Nasiona są bogate w olej, z którego otrzymuje się kwas jakarandowy o silnych właściwościach cytotoksycznych [16,22]. Kwas jakarandowy stanowi prawie 32% wszystkich kwasów tłuszczowych obecnych w oleju z nasion jakarandy [35].

## WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNE SPRĘŻONYCH TRIENÓW KWASU LINOLENOWEGO

### Cukrzyca

*Potencjalne zastosowanie CLnA występujących w oleju z nasion Momordica charantia*

W badaniu, w którym sprawdzano aktywność antyoksydacyjną sprzężonych kwasów tłuszczowych (CLA i CLnA) obecnych w oleju z nasion *Momordica charantia*, w którym w największej ilości występuje kwas *cis-9, trans-11, trans-13 C18:3*, stanowiąc prawie 60% wszystkich kwasów tłuszczowych, wykorzystano krew pobraną zarówno od pacjentów chorych na cukrzycę (średnie stężenie glukozy we krwi utrzymywało się na poziomie  $200 \pm 20$  mg/dl) jak i od osób zdrowych (średnie stężenie glukozy wynosiło  $90 \pm 10$  mg/dl) [12]. Stopień peroksydacji osocza został określony na podstawie pomiaru ilości produktów peroksydacji lipidów, m.in. dialdehydu malonowego (MDA) [10]. Dodatkowo został wykonany test podatności lipoprotein na oksydację (Lipoprotein Oxidation Susceptibility - LOS), który pozwala określić ilość MDA przypadającego na mg innych frakcji cholesterolu niż HDL, zaś zmiany w ilości MDA po dodaniu CLnA dostarczyły informacji o jego właściwościach antyoksydacyjnych. Stopień peroksydacji uległ zmniejszeniu w większym stopniu w przypadku traktowania próbek krwi CLnA. Znaczący spadek ilości MDA zaobserwowano po zastosowaniu CLnA w stężeniu 0,05% i 0,1%, zarówno w przypadku próbek pochodzących od osób chorych, jak i zdrowych, zaś najsilniejszy efekt antyoksydacyjny wykazywał 0,1% CLnA [12].

Badania na zwierzęcym modelu cukrzycy wykazały, że suplementacja diety CLnA pochodzącą z oleju z *Momordica charantia* powodowała obniżenie stężenia triglicerydów i cholesterolu całkowitego oraz utrzymywała stężenie glukozy we krwi na niezmiennym poziomie. Dodatkowo wzmacniała działanie antyoksydacyjne  $\alpha$ -tokoferolu, przez co znacznie skuteczniej hamowała peroksydację lipidów w wątrobie [11].

Można zatem przypuszczać, że kwas  $\alpha$ -eleostearynowy otrzymany z przepętkli ogórkowatej może być przydatny w zapobieganiu utlenianiu lipidów i poprawie profilu lipidowego krwi, szczególnie u chorych na cukrzycę, ze względu na potencjalne zmniejszanie ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych [11,12].

*Potencjalne zastosowanie CLnA występujących w oleju z nasion Punica granatum*

Jądrowe receptory aktywowane proliferatorami peroksydomów (peroxisome proliferator-activated receptor - PPAR) są czynnikami transkrypcyjnymi, których aktywa-

cja wiąże się z wpływem na: procesy zapalne, wrażliwość tkanek na insulinę, metabolizm węglowodanów i tłuszczów [20]. Wykazano, że spożycie oleju z nasion granatowca zmniejsza przyrost masy ciała i ryzyko cukrzycy typu 2 u myszy karmionych pokarmem wysokotłuszczowym, przyczyniając się do występowania otyłości [56]. Ten pozytywny wpływ oleju wiąże się z możliwością aktywacji receptorów PPARy i hamowania receptorów dla TNF- $\alpha$  przez kwas punikowy. W badaniach na modelu mysim nad wpływem suplementacji diety olejem z nasion granatowca na obwodową wrażliwość na insulinę samcom karmionym przez 12 tygodni pokarmem wysokotłuszczowym, w którym 45,3% energii pochodziło z nasyconych kwasów tłuszczowych, podawano dodatkowo olej z nasion granatowca w ilości 1 g na 100 g pokarmu. Zastosowana suplementacja diety olejem z granatowca istotnie zmniejszała przyrost całkowitej masy ciała ( $5,7 \pm 2,9$  g vs  $8,5 \pm 3,1$  g w grupie kontrolnej), jak również masę tłuszczową ciała. Nie stwierdzono jednak znaczących różnic w wydatku energetycznym pomiędzy grupami, jedynie wskaźnik wymiany oddechowej (RER) pokazał, że u myszy karmionych paszą z dodatkiem oleju z nasion granatowca nastąpił wzrost ilości utlenianych węglowodanów i spadek ilości utlenianych tłuszczów, co pozwala domniemywać, że nastąpił u nich wzrost wrażliwości na insulinę obwodową. Porównując poziomy insuliny i glukozy, na czczo, nie stwierdzono znaczących różnic pomiędzy grupami [56], jednak McFarlin i wsp. wykazali zdecydowanie mniejsze stężenie insuliny, na czczo, u myszy karmionych paszą z dodatkiem oleju z nasion granatowca [34]. Uzyskane wyniki badań sugerują, że suplementacja diety myszy olejem z nasion granatowca może zmniejszać u nich ryzyko otyłości i insulinooporności [56].

## Choroby nowotworowe

Poszukując sposobów hamowania progresji i promocji kancerogenezy, dużą uwagę zwraca się na sposoby naprawy uszkodzeń materiału genetycznego i indukcji apoptozy [24]. Kwasy CLnA mogą okazać się skuteczne w prewencji procesu nowotworowego, gdyż uzyskiwane wyniki badań wskazują, że ich siła działania może być znacznie większa niż w przypadku CLA [49], oraz że mają one właściwości antyoksydacyjne, ograniczające powstawanie stresu oksydacyjnego, odpowiedzialnego za niszczenie DNA [46]. Wykazano, że kwasy CLnA mogą hamować wzrost wielu typów komórek nowotworowych. W badaniu *in vitro* [53] potwierdzono, że kwas  $\alpha$ -eleostearynowy hamuje żywotność kilku linii komórek nowotworowych, w tym komórek raka jelita grubego DLD-1, komórek raka płuc A549, komórek raka wątroby HepG2 i komórek ostrej białaczki szpikowej HL-60. Ponadto skuteczność działania kwasu  $\alpha$ -eleostearynowego wzrastała wraz z zastosowanym stężeniem oraz zależała od rodzaju oleju, będącego jego źródłem. W powyższym badaniu, w którym użyto dwóch olejów: tungowego i z przeplekli ogórkowatej, najkorzystniejsze efekty uzyskano po zastosowaniu oleju tungowego [53].

Komórki nowotworowe potrzebują do szybkiego wzrostu odpowiednich ilości tlenu i składników odżywczych,

które zapewnia im sieć naczyń krwionośnych. Ponadto dzięki nim komórki te łatwo dostają się do krwioobiegu, dając w późniejszym czasie przerzuty [4]. Zahamowanie procesu angiogenezy może pomóc w hamowaniu rozwoju choroby nowotworowej. Kwas  $\alpha$ -eleostearynowy w badaniach *in vitro* [52] hamuje ekspresję receptora VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor - czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego). Dodatkowo zwiększa on ekspresję mRNA białka Bax (aktywatora procesu apoptozy) i hamuje działanie białka Bcl-2, będącego supresorem apoptozy.

W badaniu *in vivo* na modelu mysim, w którym zwierzętom wszczepiono komórki raka jelita grubego DLD-1, zastosowano kwas  $\alpha$ -eleostearynowy ( $\alpha$ -ESA) w dwóch dawkach: 50 mg/kg m.c. i 100 mg/kg m.c., a w grupie kontrolnej - CLA w dawce 500 mg/kg m.c. Po 7 dniach stwierdzono, że w grupach otrzymujących  $\alpha$ -ESA w dawce 100 mg/kg m.c., hamowanie procesu angiogenezy było najsilniejsze. Zastosowanie znacznie większej dawki CLA nie doprowadziło jednak do uzyskania tak dobrych rezultatów, co pozwala wnioskować, że siła działania CLnA jest znacznie większa niż CLA [52].

## Nowotwory gruczołu piersiowego

Rak gruczołu piersiowego jest jednym z najczęściej diagnozowanych typów nowotworów u kobiet. Etiologia jego powstawania jest bardzo zróżnicowana, ale do głównych czynników ryzyka należą: wiek (80% nowotworów diagnozowanych jest po 50 roku życia), obciążenie genetyczne (mutacja genów BRCA1 i BRCA2), ekspozycja na estrogeny (np. podczas hormonalnej terapii zastępczej), ekspozycja na promieniowanie, nieprawidłowa dieta i styl życia, występowanie innych nowotworów [14].

## Potencjalne zastosowanie CLnA występujących w oleju z nasion *Punica granatum*

Doniesienia o prozdrowotnych właściwościach oleju z nasion granatowca, który jest źródłem wielu bioaktywnych substancji, w tym wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, generują liczne badania dotyczące możliwości zastosowania oleju z *Punica granatum* w hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych raka gruczołu piersiowego. W badaniach *in vitro* [18] sprawdzono działanie oczyszczonego kwasu punikowego (PA), który w oleju z nasion granatowca stanowi 65-80% wszystkich kwasów tłuszczowych, na dwie linie komórek nowotworowych: MDA-ER $\alpha$ 7 i MDA-MB-231 (zawierających lub nie receptory estrogenowe). Wykazano, że kwas punikowy hamuje proliferację komórek obu linii (MDA-MB-231 w 92%, a MDA-ER $\alpha$ 7 w 96%) oraz indukuje apoptozę u 86% komórek niewrażliwych na estrogeny i u 91% komórek wrażliwych na estrogeny. Co więcej, w przypadku zastosowania CLA i ALA, pomimo dosyć dużego podobieństwa strukturalnego tych kwasów do kwasu punikowego, nie uzyskano znaczącego hamowania proliferacji wśród badanych linii komórkowych, co również potwierdza większą siłę działania CLnA w porównaniu do CLA, które dopiero w dużo

większych dawkach efektywnie hamowało proliferację komórek linii MDA-MB-231 [18].

Sugerowany potencjalny mechanizm działania kwasu punikowego dotyczy powstawania z glicerolu i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (między innymi takich jak PA) diacyloglicerolu, który przy zachodzącej peroksydacji lipidów, aktywuje kinazę białkową C (PKC - protein kinase C), a ta z kolei uruchamia zjawisko apoptozy i hamuje proliferację komórek nowotworowych. W przytoczonym eksperymencie sprawdzono również jak wpływa na proliferację i apoptozę komórek nowotworowych jednoczesne użycie kwasu punikowego i  $\alpha$ -tokotrienolu, który jest postacią witaminy E o właściwościach antyoksydacyjnych. Stwierdzono, że dodatek tokotrienolu w znacznym stopniu hamuje działanie kwasu punikowego w stosunku do obu typów komórek nowotworowych, zarówno w odniesieniu do procesu apoptozy jak i proliferacji, gdyż poprzez swoje właściwości antyoksydacyjne  $\alpha$ -tokotrienol zapobiega peroksydacji lipidów, a ta z kolei jest przeciwieństwem niezbędna do aktywacji kinazy białkowej C [18].

#### Potencjalne zastosowanie CLnA występujących w oleju z nasion *Momordica charantia*

Ray i wsp. wykorzystali w badaniach ekstrakt z młodych owoców przepętkli ogórkowatej (gorzkiego melona – BME) w trzech stężeniach: 1, 2 i 5%, którego działaniu poddali komórki nowotworowe raka piersi dwóch linii: MCF-7 i MDA-MB-231 [43]. Po inkubacji komórek z różnymi stężeniami ekstraktu z *Momordica charantia* stwierdzono śmierć ponad 80% komórek obu linii inkubowanych z 2% i 5% BME. Wykazano ponadto, że wyciąg z przepętkli ogórkowatej może dodatkowo wpływać inicjująco na proces apoptozy, poprzez aktywację kaspazy 3 i hamowanie survivaliny (w przypadku komórek MCF-7 i MDA-MB-231), hamowanie Bcl-2 (tylko u MCF-7) oraz zwiększanie ekspresji Bax (tylko u MDA-MB-231).

W badaniach Grossmann i wsp. zbadano wpływ kwasu  $\alpha$ -eleostearynowego ( $\alpha$ -ESA), wyizolowanego z *Momordica charantia*, na wzrost komórek nowotworowych raka piersi [17]. Użyto dwóch typów komórek: MDA-ER $\alpha$ 7 - mających receptory estrogenowe, a przez to wrażliwe na działanie estrogenów, oraz komórek MDA-wt, niemających takiego receptora.  $\alpha$ -ESA zastosowano w trzech stężeniach: 20, 40 i 80  $\mu$ mol/l, a do porównania jego działania zastosowano CLA i ALA. Stwierdzono, że w każdym ze stężeń  $\alpha$ -ESA hamował proliferację obu typów komórek nowotworowych oraz aktywował proces apoptozy, czego nie odnotowano w przypadku traktowania komórek CLA i ALA [17]. Okazało się, że dodatek  $\alpha$ -tokotrienolu hamował działanie  $\alpha$ -ESA w stosunku do obu zastosowanych linii komórkowych, co pozwala wnioskować, że mechanizm działania  $\alpha$ -ESA jest przynajmniej częściowo związany z procesem peroksydacji lipidów [17]. Za pomocą dodatkowych badań wykazano, że mechanizm działania kwasu  $\alpha$ -eleostearynowego wiąże się również z aktywacją kinazy serynowo-treoninowej AMPK, gdyż jej blokada

częściowo hamuje działanie  $\alpha$ -ESA. Stwierdzono ponadto, że kwas eleostearynowy hamuje cykl komórkowy, powodując jego zatrzymanie w fazie G<sub>2</sub>-M, ponieważ wystąpiło nagromadzenie komórek MDA-ER $\alpha$ 7 i MDA-MB-231, będących w tej fazie cyklu komórkowego po poddaniu ich działaniu  $\alpha$ -ESA, czego nie zaobserwowano w przypadku zastosowania CLA i ALA [17].

Kitamura i wsp. uzyskali zupełnie odmienne wyniki dotyczące działania przeciwnowotworowego kwasu  $\alpha$ -eleostearynowego [25]. W badaniach na szczurzym modelu nowotworu piersi, który był indukowany dimetylobenzo[*a*]antracenenem (DMBA) i dimetylohydrazyną (DMH) wykorzystali  $\alpha$ -ESA wyizolowany z oleju tungowego pochodzącego z *Aleurites fordii* w trzech stężeniach: 0,01, 0,1 i 1,0%. Niestety,  $\alpha$ -ESA w zastosowanych stężeniach okazał się nieefektywnym przeciwnowotworowo [25].

Z innych badań wynika jednak, że  $\alpha$ -ESA wyizolowany z oleju tungowego może skutecznie hamować rozwój komórek nowotworowych piersi przez hamowanie syntezy DNA, indukcję apoptozy oraz zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G<sub>2</sub>/M [64].

#### Nowotwory jelita grubego

Rak jelita grubego jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym, który co roku powoduje śmierć ponad miliona osób na świecie. Niestety, pomimo nowoczesnych metod diagnozowania oraz coraz skuteczniejszych procedur terapeutycznych, odnotowuje się wzrost zapadalności na tę chorobę. Czynniki ryzyka powstawania tego typu nowotworu można podzielić na wewnętrzne i zewnętrzne. Do tych pierwszych zaliczamy głównie uwarunkowania genetyczne i współistniejące choroby, takie jak np. wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Leśniowskiego-Crohna, czy gruczolaki jelita grubego. Czynniki zewnętrzne związane są ze środowiskiem życia, dlatego ryzyko choroby jest tym większe, im bardziej rozwinięte cywilizacyjnie i gospodarczo jest społeczeństwo. Największy odsetek zachorowań na raka jelita grubego dotyczy Stanów Zjednoczonych i krajów Europy Zachodniej, natomiast najmniej przypadków dotyczy Indii i Tajlandii. Podkreśla się wyraźny związek ryzyka wystąpienia tej choroby z wiekiem (u kobiet pojawia się ona po 45. roku życia, a u mężczyzn – po 35 r.ż.) i stylem życia, a zwłaszcza dietą, aktywnością fizyczną i współistniejącymi nałogami. Dieta bogata w nasycone tłuszcze zwierzęce, produkty przetworzone z dodatkiem konserwantów, zanieczyszczona metalami ciężkimi, a uboga w błonnik, witaminy i związki mineralne, niesie ze sobą większe prawdopodobieństwo wystąpienia nowotworu jelita grubego [23,26].

Ze względu na duże trudności, związane z leczeniem raka jelita grubego, poszukuje się surowców naturalnych, których składniki czynne mogą okazać się skuteczne w prewencji, czy leczeniu tego typu nowotworu. Duże nadzieje wiąże się zwłaszcza z kwasami CLnA. Shinohara i wsp. [49] sprawdzili, jaka jest ich skuteczność i siła działania hamującego wzrost i rozwój w stosunku do komórek no-



Ryc. 1. Uszeregowanie kwasów CLnA na podstawie efektywności ich przeciwnowotworowego działania [49]

wotworowych raka jelita grubego (DLD-1). Do badań użyto siedmiu kwasów CLnA: punikowego (PA), katalpowego (CPA),  $\alpha$ -eleostearynowego ( $\alpha$ -ESA),  $\beta$ -eleostearynowego ( $\beta$ -ESA), jakarandowego (JA),  $\alpha$ -kalendulowego ( $\alpha$ -CDA) i  $\beta$ -kalendulowego ( $\beta$ -CDA). Uzyskane wyniki wskazują, że wszystkie kwasy CLnA w stężeniu 10  $\mu\text{mol/l}$  znacząco zmniejszyły przeżywalność komórek DLD-1 po 24 h inkubacji. W niższym stężeniu (5  $\mu\text{mol/l}$ ) efekt przeciwnowotworowy wykazały po tym czasie kwasy: CPA,  $\alpha$ -ESA, JA i  $\beta$ -CDA. Dwunastogodzinna inkubacja wystarczyła do znacznego zmniejszenia przeżywalności komórek rakowych traktowanych kwasami CPA,  $\alpha$ -ESA,  $\beta$ -ESA, JA,  $\alpha$ -CDA i  $\beta$ -CDA w stężeniu 10  $\mu\text{mol/l}$ . Ponadto, wszystkie zastosowane w badaniach kwasy CLnA, w mniejszym lub większym stopniu indukowały proces apoptozy komórek raka jelita grubego, którego to działania nie stwierdzono w przypadku komórek kontrolnych. Na podstawie uzyskanych danych autorzy uszeregowali powyższe kwasy CLnA pod względem siły ich działania przeciwnowotworowego (ryc. 1). Najbardziej skuteczny okazał się kwas jakarandowy.

Mechanizm obserwowanego cytotoksycznego działania prawdopodobnie związany jest z peroksydacją lipidów, ponieważ dodatek  $\alpha$ -tokoferolu hamował efekt przeciwnowotworowy wszystkich kwasów CLnA [49].

Silny efekt cytotoksyczny kwasu jakarandowego został wykazany w badaniach *in vivo* na myszach, którym wszczepiono komórki nowotworowe linii DLD-1. Zwierzęta podzielono na dwie grupy i jednej z nich podawano olej z nasion jakarandy, bogaty w kwas jakarandowy. Po 36 dniach w grupie otrzymującej kwas jakarandowy, guzy nowotworowe były znacznie mniejsze [49].

Tsuzuki i wsp. skupili badania na kwasie  $\alpha$ -eleostearynowym [53]. Podobnie jak w badaniach Shinohara i wsp. użyli komórek DLD-1 do badań *in vivo* na myszach. Dla porównania efektu przeciwnowotworowego oprócz kwasu  $\alpha$ -ESA (pochodzącego z oleju tungowego) użyli dwóch izomerów CLA: *cis*-9, *trans*-11 i *trans*-10, *cis*-12. Najsilniejszy efekt hamujący wzrost komórek nowotworowych guza wykazał kwas  $\alpha$ -ESA, a najsłabszy – izomer *cis*-9, *trans*-11 CLA. W grupie otrzymującej  $\alpha$ -ESA odnotowano ponadto wzrost aktywności dwóch kaspaz: 3 i 9, odpowiedzialnych za indukowanie procesów apoptozy.

Doniesienia o potencjalnych właściwościach antykanцерогенных przepęklki ogórkowatej zainicjowały badania z wykorzystaniem komórek nowotworowych raka jelita grubego linii Caco-2, które poddano działaniu izomeru *cis*-9, *trans*-11, *trans*-13 CLnA (kwas  $\alpha$ -eleostearynowy), *cis*-9, *trans*-11 CLA i wolnych kwasów tłuszczowych wyekstrahowanych z oleju nasion *Momordica charantia* (BGO-FFA) [63]. Po 24-godzinnej inkubacji zbadano wpływ użytych kwasów tłuszczowych na przeżywalność komórek Caco-2. Wykazano, że BGO-FFA w stężeniu 25  $\mu\text{M}$  zmniejszyły liczbę komórek nowotworowych do 48%, zaś w dwukrotnie wyższym stężeniu – aż do 19%, podczas gdy wyizolowany izomer CLnA okazał się być równie efektywny jak zastosowany ekstrakt, gdyż zmniejszył liczbę komórek rakowych do 19%, już w stężeniu 12,5  $\mu\text{M}$ . Nie zaobserwowano żadnego efektu cytotoksycznego po zastosowaniu CLA w stężeniu 150  $\mu\text{M}$ . Dowiedziono również, na podstawie testu ELISA, że BGO-FFA w stężeniu 50  $\mu\text{M}$  wywoływały po 48 h inkubacji aż 14-krotny wzrost fragmentacji DNA w komórkach Caco-2, w porównaniu z grupą kontrolną. Świadczyć to może o zdolności BGO-FFA do indukcji apoptozy, czego dodatkowym potwierdzeniem jest obserwowany spadek ekspresji białka Bcl-2, odpowiedzialnego za hamowanie apoptozy oraz wzrost aktywności PPAR $\gamma$ , GADD45 i białka p53. Niestety, nie uzyskano podobnych wyników dla CLA, co zdaniem badaczy potwierdza, że CLA nie inicjuje apoptozy komórek nowotworowych Caco-2 oraz pozwala na stwierdzenie, że w przypadku komórek raka jelita grubego linii Caco-2 siła działania CLnA jest znacznie większa niż CLA [63].

Ta sama grupa badaczy postanowiła zweryfikować jak kwas  $\alpha$ -eleostearynowy w kilku różnych stężeniach wpływa na inne linie komórek nowotworowych raka jelita grubego (HT-29 i DLD-1) [62]. Wykazano, że linie te są bardziej podatne na działanie kwasu  $\alpha$ -eleostearynowego, który w ilości 12,5  $\mu\text{M}$  już po 24 h wyraźnie zmniejszył liczbę komórek nowotworowych, podczas gdy w odniesieniu do linii Caco-2 podobny efekt dla tego stężenia izomeru CLnA wystąpił dopiero po 48 h inkubacji. Sprawdzone także jaki jest w komórkach wszystkich tych trzech linii komórkowych poziom ekspresji receptora PPAR $\gamma$ , uznawanego za znaczący czynnik transkrypcyjny w prewencji raka jelita grubego i wykazano, że najwyższym poziomem ekspresji PPAR $\gamma$  charakteryzuje się linia HT-29, zaś najniższym – komórki linii Caco-2. Ponadto obserwowano, że zastosowany izomer CLnA najefektywniej hamował

wzrost linii HT-29, a najslabiej - Caco2, co zdaniem autorów potwierdza przypuszczenie, że zdolność CLnA do hamowania wzrostu komórek nowotworowych raka jelita grubego zależy proporcjonalnie od poziomu ekspresji receptora PPAR $\gamma$ . Dodatkowo zbadano stopień fragmentacji DNA w komórkach HT-29 i Caco-2 pod wpływem CLnA użytego w dwóch stężeniach (3,13  $\mu$ M i 6,25  $\mu$ M), aby stwierdzić, w którym przypadku indukcja apoptozy jest największa. Wykazano wyraźniejszy wpływ wyższego stężenia CLnA na fragmentację DNA oraz, że pomimo użycia jednakowych stężeń CLnA w przypadku obu linii komórkowych, stopień fragmentacji DNA był znacznie wyższy w komórkach linii HT-29 [62].

Kohno i wsp. podobnie wykorzystali w swoich badaniach *in vivo* izomer *cis*-9, *trans*-11, *trans*-13 CLnA w celu stwierdzenia, czy zahamuje on powstawanie zmian neoplastycznych w obrębie nabłonka jelita grubego (aberrant crypt foci - ACF) [29]. Jako czynnik kancerogeny zastosowano azoksymetan, który został podany szczurom podskórnie. Zwierzęta otrzymywały ponadto olej z nasion przepękli ogórkowatej w trzech różnych stężeniach (0,01%, 0,1% lub 1%). Po 32 tygodniach stosowania tego preparatu we wszystkich grupach odnotowano wyraźne zahamowanie rozwoju procesu nowotworowego. Ponadto, zmniejszyła się znacznie liczba zmian neoplastycznych przypadających na jednego szczura. Nie obserwowano jednak zależności pomiędzy zastosowaną dawką oleju z nasion *Momordica charantia*, a stopniem redukcji nowotworu. Zauważono ponadto, że część CLnA podawanego szczurom ulega konwersji do jednego z izomerów CLA (*cis*-9, *trans*-11 CLA) znanego z właściwości chemoprewencyjnych [29].

W oleju z nasion nagietka lekarskiego odkryto duże ilości dwóch sprzężonych kwasów oktadekatrienowych:  $\alpha$ -kalendulowego (*trans*-8, *trans*-10, *cis*-12 CLnA) i  $\beta$ -kalendulowego (*trans*-8, *trans*-10, *trans*-12 CLnA). Na podstawie wyników prowadzonych badań podkreśla się ich potencjalną rolę w prewencji nowotworów, miażdżycy i otyłości [61]. Yasui i wsp. [61] sprawdzili skuteczność powyższych kwasów tłuszczowych w hamowaniu wzrostu komórek nowotworowych jelita grubego oraz porównali ich mechanizm i skuteczności działania do kwasów:  $\alpha$ - i  $\beta$ -eleostearynowego, wyizolowanych z *Momordica charantia*. Cechą wspólną sprzężonych kwasów tłuszczowych typu  $\beta$  jest posiadanie wszystkich wiązań podwójnych w konfiguracji *trans*, podczas gdy w kwasach typu  $\alpha$  jedno z wiązań ma konfigurację *cis*, a dwa pozostałe *trans*. Badania przeprowadzono z użyciem komórek linii Caco-2, które inkubowano z powyższymi kwasami tłuszczowymi i stwierdzono, że zarówno po 24 h, jak i po 48 h, kwasy typu  $\beta$  wykazywały znacznie silniejsze działanie cytotoksyczne, niż kwasy typu  $\alpha$ . Dodatkowo obydwa kwasy tłuszczowe typu  $\beta$  w znacznie większym stopniu, niż kwasy typu  $\alpha$ , powodowały fragmentację DNA, a co za tym idzie - silniej indukowały proces apoptozy w komórkach traktowanych tymi kwasami tłuszczowymi.

W innych badaniach Yasui i wsp. wykazali, że mechanizm działania przeciwnowotworowego kwasu

$\alpha$ -eleostearynowego jest w znacznym stopniu związany z peroksydacją lipidów [61]. Zbadano, czy ten sam mechanizm występuje w przypadku pozostałych ocenianych kwasów. Do tego celu użyto  $\alpha$ - tokoferolu, silnego antyoksydanta i stwierdzono, że całkowicie zniósł działanie cytotoksyczne kwasu  $\alpha$ -eleostearynowego, ale nie  $\beta$ -eleostearynowego - jego działanie nie zostało całkowicie zahamowane i śmiertelność komórek nowotworowych wyniosła ok. 40%. Podobny efekt obserwowano w przypadku kwasów kalendulowych, z których kwas  $\beta$ -kalendulowy okazał się mniej podatny na działanie  $\alpha$ - tokoferolu. Przeprowadzone obserwacje pozwalają stwierdzić, że mechanizm działania kwasów zawierających wiązania podwójne tylko w konfiguracji *trans* (tj. typu  $\beta$ ) jest odmienny, niż w przypadku kwasów typu  $\alpha$ , co potwierdza zasadę, że działanie danego związku chemicznego zależy od konformacji jego wiązań podwójnych, czyli od jego właściwości fizyko-chemicznych [61].

W oleju z nasion granatowca ponad 70% wszystkich kwasów tłuszczowych stanowi izomer *cis*-9, *trans*-11, *cis*-13 CLnA (tj. kwasu punikowy). Zbadano jego skuteczność w hamowaniu rozwoju nowotworów jelita grubego [28]. Zmiany nowotworowe u 5 grup 6-tyg. szczurów płci męskiej zostały wyindukowane azoksymetanem, który raz w tygodniu przez okres dwóch tygodni podawano zwierzętom podskórnie, w dawce 20 mg/kg masy ciała. Dieta grup badanych była wzbogacana w olej z nasion granatowca w różnych dawkach (0,01% PGO, 0,1% PGO, 1% PGO) lub w 1% CLA w przypadku grupy odniesienia przez okres do 32. tygodnia życia. Zbadano, czy PGO lub CLA w dawce 1,0% u zwierząt niepoddanych działaniu czynnika kancerogenego mają toksyczny wpływ na narządy, takie jak: serce, płuca, śledziona, wątroba, nerki i stwierdzono, że w tych narządach nie wystąpiły żadne zmiany patologiczne. Zaobserwowano, że w grupie otrzymującej 0,01% PGO i 0,1% PGO znacząco zmniejszył się odsetek zwierząt z nowotworami jelita grubego oraz zmniejszyła się liczba guzów przypadająca na jedno zwierzę. W grupie suplementowanej najwyższą dawką PGO (1,0%), nie zaobserwowano, co prawda spadku udziału procentowego zwierząt z nowotworami jelita grubego, stwierdzono natomiast zmniejszenie się liczby guzów u pojedynczego szczura. Co ciekawe, w grupie suplementowanej CLA nie zaobserwowano żadnych zmian [28].

Wielu badaczy sugeruje istnienie związku pomiędzy aktywnością receptora PPAR $\gamma$  a działaniem przeciwnowotworowym. Mechanizm tego działania prawdopodobnie polega na modyfikacji cyklu komórkowego i regulacji aktywności cyklooksigenazy-2. Wykazano, że specyficzne ligandy o wysokim powinowactwie do receptora PPAR $\gamma$  (np. związek o nazwie GW7845, który charakteryzuje się dużym powinowactwem do tego typu receptorów) mają zdolność hamowania rozwoju nowotworów gruczołu piersiowego u szczurów [28]. W omawianym eksperymencie [28] dodatkowo zbadano wpływ zastosowanej suplementacji diety olejem z granatowca (PGO) na aktywność receptora PPAR $\gamma$ . Zaobserwowano wzrost jego aktywności we wszystkich grupach otrzymujących PGO i CLA, jednak



w przypadku grupy z CLA efekt ten był znacznie słabszy, niż w przypadku grup z PGO. Być może, miało to związek z tym, że CLA użyty w doświadczeniu był mieszaniną zawierającą 30,9% izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA i 33,5% izomeru *trans*-10, *cis*-12 CLA, a jak wykazano w innych badaniach [8] izomer *cis*-9, *trans*-11 CLA jest agonistą receptora PPAR $\gamma$ , podczas gdy izomer *trans*-10, *cis*-12 CLA jego antagonistą, stąd podawanie mieszaniny izomerów CLA może skutkować znacznie słabszymi efektami, co stanowi ważną przesłankę do aplikacyjnego stosowania CLA. Uzyskane wyniki pozwoliły autorom stwierdzić, że olej z nasion granatowca wydaje się obiecującym naturalnym składnikiem o potencjalnym działaniu prewencyjnym w odniesieniu do nowotworów jelita grubego, który być może w przyszłości zostanie wprowadzony do diety osób chorych lub znajdujących się w grupie ryzyka raka jelita grubego [28].

#### Nowotwory stercza

Rak stercza jest patologicznym rozrostem gruczołu krokowego i drugim pod względem występowania wśród mężczyzn w krajach rozwiniętych. Choroba rozwija się zwykle bardzo powoli, początkowo nie dając żadnych objawów. Gdy guz zaczyna uciskać cewkę moczową, pojawiają się trudności w oddawaniu moczu, takie jak ból i nieregularny strumień. Do głównych czynników ryzyka raka prostaty należą: wiek, tryb życia, otyłość, stany zapalne dróg moczowych i czynniki genetyczne. Choroba pojawia się głównie po 70. roku życia, jednak badania profilaktyczne zalecane są już u mężczyzn po 50. roku życia. Szybkie rozpoznanie pozwala bowiem na wdrożenie odpowiedniego leczenia i uniknięcia przerzutów, które dotyczą najczęściej kości. Ze względu na dużą częstotliwość pojawiania się raka prostaty u mężczyzn, poszukuje się naturalnych substancji, które np. jako dodatek do pożywienia okazałyby się pomocne w prewencji tego typu nowotworu [33].

Badania *in vitro* [31] wykazały, że olej z nasion granatowca właściwego, zawierający kwas punikowy, hamuje proliferację i inwazyjność komórek nowotworowych raka prostaty (PC-3). W owocach granatowca właściwego znajdują się też inne związki (luteolina, kwas kawowy i kwas elagowy), które dodatkowo wzmacniają działanie cytostaticzne kwasu punikowego. Podobny synergizm działania zaobserwowano badając właściwości cytotoksyczne oleju z nasion granatowca, polifenoli z jego sfermentowanego soku i polifenoli z owocni. Analizowano, czy poszczególne związki są bardziej skuteczne w postaci mieszaniny, czy jako pojedyncze składniki. Zanotowano, że sam olej, bogaty w kwas punikowy, hamuje proliferację komórek PC-3 w 60%, podczas gdy jego mieszanina z frakcją polifenolową, czy to ze sfermentowanego soku czy z owocni, zwiększa jego skuteczność do 90%, zaś zastosowanie wszystkich trzech składników razem obniża proliferację komórek PC-3 aż o 99% [32].

Gasmi i Sanderson badali wpływ pięciu kwasów CLnA (jakarandowego, punikowego,  $\alpha$ -kalendulowego,  $\beta$ -kalendulowego i katalpowego) na dwa typy komórek

nowotworowych raka prostaty: PC-3 (hormononiezależne) i LNCaP (hormonozależne) [15]. Otrzymane przez nich wyniki wykazały, że wszystkie powyższe kwasy CLnA zmniejszały przeżywalność komórek nowotworowych obu linii. Ponadto wykazały się wysoką selektywnością - zostały zniszczone tylko komórki nowotworowe, a zdrowe komórki nabłonka pozostały nienaruszone. Najsilniejszy efekt cytotoksyczny, istotnie większy niż w przypadku innych badanych izomerów CLnA, wykazały dwa kwasy: jakarandowy i punikowy. W ich przypadku zanotowano najwyższy stopień fragmentacji DNA w obu typach komórek nowotworowych. Dowiedziono, że mechanizm działania kwasu jakarandowego prawdopodobnie związany jest z peroksydacją lipidów, hamowaniem ekspresji Bcl-2 i zwiększeniem wrażliwości komórek LNCaP i PC-3 na TRIAL (TNF-related apoptosis inducing ligand) - cytokinę odpowiedzialną za indukcję procesu apoptozy.

#### Miażdżycy

Badania Mirandy i wsp. miały na celu zbadanie wpływu suplementacji diety CLA i CLnA na profil lipidowy i redukcję tkanki tłuszczowej u szczurów płci męskiej [35]. Zwierzęta otrzymywały przez 7 tygodni CLnA (*cis*-8, *trans*-10, *cis*-12 C18:3) wyizolowany z jakarandy mimosolistnej, CLA w postaci preparatu CLARINOL, po czym sprawdzono, jak zmieniła się w ich organizmie ilość białej tkanki tłuszczowej, brązowej tkanki tłuszczowej, cholesterolu całkowitego, triacylogliceroli i HDL. Zbadano również stężenie insuliny, glukozy oraz wykonano test HOMA-IR, pozwalający określić insulinoporność. Nie stwierdzono znaczących różnic w masie tkanki tłuszczowej i w ogólnej masie ciała, co zdaniem autorów prawdopodobnie było spowodowane zastosowaniem zbyt małej dawki kwasów. Istotne różnice w wynikach odnotowano zaś w przypadku wielu parametrów niezwykle istotnych z punktu widzenia patofizjologii miażdżycy. Stężenie cholesterolu całkowitego istotnie zmalało w grupie otrzymującej CLA, podczas gdy w przypadku stężenia frakcji LDL cholesterolu stwierdzono obniżenie zarówno w grupie CLnA jak i CLA. W obu grupach otrzymujących sprzężone kwasy tłuszczowe obserwowano wzrost frakcji niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych, podczas gdy wskaźnik insulinoporności HOMA-IR wzrósł tylko w grupie CLnA.

Yang i wsp. otrzymali odmienne wyniki dotyczące wpływu CLnA na profil lipidowy krwi [60]. Do badań użyto kwasów CLnA wyizolowanych z oleju granatowca właściwego i z oleju tungowego, które podawano chomikom w ilości 10 g/kg pokarmu, nie zanotowano jednak zmian świadczących o znacznej poprawie profilu lipidowego, z wyjątkiem obniżenia zawartości cholesterolu w wątrobie.

Saha i wsp. badali działanie dwóch izomerów CLnA: kwasu  $\alpha$ -eleostearynowego i kwasu punikowego, podawanych w dwóch dawkach - 0,5 i 1,0% na profil lipidowy, oksydację lipidów i płynność błony komórkowej erytrocytów u szczurów płci męskiej, u których za pomocą arsenianu sodu wyindukowano stres oksydacyjny [47].

U zwierząt z grupy kontrolnej, w wyniku indukcji stresu oksydacyjnego, wystąpił znaczny wzrost stężenia triacylogliceroli, cholesterolu całkowitego i LDL. W grupach otrzymujących izomery CLnA stężenia tych lipidów były znacznie niższe niż w grupie kontrolnej. Obserwowano ponadto wzrost stężenia HDL, podczas gdy masa ciała zwierząt pozostała bez zmian. Niezwykle interesującym wydaje się to, iż niższe dawki obu izomerów CLnA wykazywały znacznie silniejsze działanie niż stężenia wyższe. Arsenian sodu działając prooksydacyjnie zmniejszył w erytrocytach zawartość glutationu (GSH), chroniącego je przed stresem oksydacyjnym i uszkodzeniami. Odwrócenie tego niekorzystnego procesu było możliwe dzięki suplementacji diety izomerami CLnA, a najkorzystniejszy efekt zaobserwowano w przypadku 0,5% dodatku kwasu  $\alpha$ -eleostearynowego. Ponadto, mimo iż arsenian sodu zwiększał zawartość cholesterolu w krwince i zmniejszał ilość fosfolipidów, co wiąże się ze zmianą płynności błony erytrocytów, podobnie jak w przypadku glutationu, efekt ten może zostać odwrócony za pomocą izomerów CLnA. W doświadczeniu zbadano również wpływ zastosowanej suplementacji diety na aktywność reduktazy HMG-CoA (3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A), która w warunkach stresu oksydacyjnego ulega zmniejszeniu. W przypadku wszystkich grup suplementowanych CLnA obserwowano wzrost aktywności tego enzymu; ponadto kwas punikowy wykazywał w tym przypadku znacznie większą efektywność niż kwas  $\alpha$ -eleostearynowy. W badaniach sprawdzono także za pomocą testu LOS stopień oksydacji lipoprotein i peroksydacji błony erytrocytów, oznaczając w nich zawartość dialdehydu malonowego (MDA). We wszystkich grupach otrzymujących CLnA zanotowano zmniejszenie wartości tych dwóch parametrów. Było ono największe w przypadku 0,5% dodatku kwasu  $\alpha$ -eleostearynowego. W odniesieniu do wzrostu stężenia kwasu arachidynowego, wywołanego przez arsenian sodu, który jest wskaźnikiem stanu zapalnego, oba izomery CLnA wykazywały podobną skuteczność hamując wzrost tego stężenia. Dowiedziono ponadto, że suplementacja diety izomerami CLnA wpływa ochronnie na morfologię erytrocytów. Arsenian sodu indukuje zmianę kształtu krwinek czerwonych, zaś we wszystkich grupach otrzymujących CLnA efekt ten nie nastąpił. W badaniu Saha i wsp. oznaczono ponadto we wszystkich grupach zwierząt zawartość cholesterolu w wątrobach i mózgu [47]. Arsenian sodu zwiększał ilość cholesterolu w tych narządach, natomiast kwasy CLnA, poprzez hamowanie reduktazy HMG-CoA, odpowiedzialnej za syntezę cholesterolu w wątrobie, zmniejszały jego zawartość w tym narządzie. Podobny efekt obserwowano w przypadku zawartości cholesterolu w mózgu. Największe zmiany wystąpiły po zastosowaniu 0,5% dodatku kwasu punikowego. Na podstawie wyników uzyskanych przez Saha i wsp. można stwierdzić, że kwasy CLnA pełnią bardzo ważną rolę w poprawie profilu lipidowego i ochronie czerwonych krwinek, zarówno przed stresem oksydacyjnym, jak i stanem zapalnym [47]. Obserwowane wyraźne różnice w skuteczności działań między kwasem punikowym a  $\alpha$ -eleostearynowym pozwalają przypuszczać, że

jest to wynikiem odmiennej konfiguracji przestrzennej występującej w tych izomerach. Niezwykle interesujący wydaje się jednak to, że oba te kwasy wykazują większą efektywność w niższych stężeniach.

Jednak w badaniach mających określić podatność CLA i CLnA na utlenienie, w których wykorzystano także kwasy tłuszczowe niesprężone, czyli kwas linolowy i  $\alpha$ -linolenowy, stwierdzono, że CLA i CLnA wykazują znacznie mniejszą stabilność oksydacyjną, która dodatkowo maleje wraz ze wzrostem liczby wiązań podwójnych. Istotną okazała się także konfiguracja wiązań podwójnych, gdyż udowodniono, że najbardziej stabilnymi izomerami CLnA są te, w których wszystkie wiązania podwójne mają konfigurację *trans* [59]. Nasuwa to przypuszczenie, że u podłoża efektów obserwowanych przez Saha i wsp. [47] w odniesieniu do kwasów punikowego i  $\alpha$ -eleostearynowego leżą różne mechanizmy, m.in. wynikające z właściwości oksydacyjnych badanych kwasów tłuszczowych, które same ulegając utlenieniu, działają ochronnie w stosunku do innych związków czy struktur komórkowych.

### Otyłość

Duże nadzieje związane są ponadto z możliwością zastosowania kwasów CLnA i CLA w zwalczaniu otyłości, która staje się chorobą cywilizacyjną [51]. Wyniki wielu badań wskazują na potencjalną skuteczność oleju z nasion granatowca właściwego w redukcji całkowitej masy ciała, masy tłuszczowej i obniżaniu stężenia cholesterolu. Vroegrijk i wsp. [56] podawali myszom olej z nasion granatowca w ilości 1g/100g pokarmu wysokotłuszczowego przez 12 tygodni. U wszystkich zwierząt zaobserwowali obniżenie masy ciała. Podobny efekt uzyskali Hontecillas i wsp. [19], którzy podawali myszom kwas katalpowy z nasion *Punica granatum*. Obserwowali znaczną redukcję tkanki tłuszczowej, głównie w części brzusznej ciała. Poprawie uległ również profil lipidowy, ponieważ doszło do wzrostu stężenia frakcji HDL cholesterolu, zaś ilość triglicerydów w osoczu krwi uległa obniżeniu.

Al-Muammar i wsp. wykazali, że olej z nasion granatowca właściwego redukuje tkankę tłuszczową przez aktywację receptora PPARy, będącego modulatorem gospodarki lipidowej [2]. Poza tym obniżał poziom leptyn, zapobiegał odkładaniu tkanki tłuszczowej i zwiększał stężenie adiponektyn. Jednak w badaniach Arao i wsp. [3] otrzymano odmienne wyniki. U otyłych myszy, których dieta była suplementowana olejem z granatowca nie stwierdzono żadnych zmian w masie tkanki tłuszczowej w okolicy brzusznej. Nie doszło również do poprawy profilu lipidowego. Prawdopodobnie wynikało to ze zbyt krótkiego czasu prowadzenia suplementacji, ponieważ trwała ona tylko 2 tygodnie. Dowiedziono jednak, że CLnA zapobiegają akumulacji triacylogliceroli w wątrobie. Koba i wsp. porównali skuteczność kwasów CLnA i CLA w obniżaniu masy ciała [27]. Po 4 tygodniach podawania szczurom CLA lub CLnA we wszystkich grupach zanotowano spadek masy ciała, obniżenie stężenia cholesterolu i leptyn,

jednak znacznie lepsze wyniki uzyskano w przypadku stosowania CLnA. Uzyskiwane wyniki wskazują ponadto, że spośród kwasów CLnA najmniej skutecznymi w zwalczaniu otyłości wydają się być kwasy: jakarandowy i kalendulowy, ponieważ znacznie lepsze rezultaty niż przy ich użyciu uzyskano przy zastosowaniu CLA. W badaniu Miranda i wsp. [36], w którym wykorzystano mieszaninę dwóch izomerów CLnA: *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15 i *cis*-9, *trans*-13, *cis*-15 w stosunku 50 : 50 wykazano, że aktywuje ona receptor PPAR $\alpha$ , odpowiedzialny za pobudzenie ekspresji enzymów zaangażowanych w oksydację kwasów tłuszczowych. W przeciwieństwie do kwasu punikowego, mieszanina ta nie działała na receptor PPAR $\gamma$ , wpływający na magazynowanie lipidów w tkance tłuszczowej.

## PODSUMOWANIE

Wyniki przedstawionych badań potwierdzają, że sprzężone trieny kwasu linolenowego mogą się okazać pomocne w prewencji i zwalczaniu wielu chorób. Z względu na potencjalnie korzystne działanie CLnA poszukuje się sposobów otrzymywania łatwo dostępnych produktów spożywczych z ich w dużą zawartością. Wykazano m.in., że dodatek siemienia lnianego do paszy krów skutkuje otrzymywaniem mleka o znacznej zawartości dwóch izomerów CLnA: *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 C18:3 i *cis*-9, *trans*-11, *cis*-15 C18:3 [1].

Niektóre z kwasów CLnA mogą ulegać przekształceniu za pomocą odpowiednich oksydoreduktaz do CLA. Przykładowo kwas  $\alpha$ -eleostearynowy może ulec uwodornieniu w pozycji 13, co spowoduje przekształcenie go w *cis*-

9, *trans*-11 CLA (tzw. kwas żwaczowy). Podobnej reakcji ulega kwas punikowy, który również ulega konwersji do *cis*-9, *trans*-11 CLA [54]. W badaniach *in vivo* wykazano, że tego typu reakcje zachodzą w nerkach, wątrobie, gruczołach sutkowymi i jelicie [59]. Udowodniono również, że ich szybkość jest największa, gdy wiązanie podwójne przy węglu 13. izomeru CLnA ma konfigurację *trans*. Wydaje się to być o tyle istotne, iż odpowiednie skomponowanie diety, aby uzyskać adekwatną dla spodziewanego efektu podaż CLA, jest zadaniem niezwykle trudnym. Być może, dzięki zastosowaniu w diecie olejów zawierających CLnA, które to kwasy występują w nich w znacznie większych ilościach niż CLA w produktach pochodzących od zwierząt poligatrycznych, możliwe będzie uzyskanie korzystnego działania prozdrowotnego, przy zastosowaniu znacznie mniejszej dawki.

Interesujący jest być także fakt, że na japońskiej wyspie Okinawa, słynącej z jednej z najwyższych średnich długości życia na świecie, ludzie spożywają duże ilości przepękli ogórkowatej, bogatej w kwas  $\alpha$ -eleostearynowy. Niektórzy badacze wiążą ze sobą te dwa fakty [54], co sugeruje kolejny kierunek badań dla tej grupy kwasów tłuszczowych, nad możliwym działaniem opóźniającym procesy starzenia.

Na podstawie przytoczonych doniesień w pełni zasadnym wydaje się być dalsze prowadzenie badań dotyczących kierunków i mechanizmów działania CLnA. Być może staną się one szansą na bardziej skuteczną profilaktykę różnych chorób.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Akraim F., Nicot M.C., Juaneda P., Enjalbert F.: Conjugated linolenic acid (CLnA), conjugated linoleic acid (CLA) and other biohydrogenation intermediates in plasma and milk fat of cows fed raw or extruded linseed. *Animal*, 2007; 1: 835-843
- [2] Al-Muammar M.N., Khan F.: Obesity: the preventive role of the pomegranate (*Punica granatum*). *Nutrition*, 2012; 28: 595-604
- [3] Arao K., Wang Y.M., Inoue N., Hirata J., Cha J.Y., Nagao K., Yanagita T.: Dietary effect of pomegranate seed oil rich in 9*cis*, 11*trans*, 13*cis* conjugated linolenic acid on lipid metabolism in obese, hyperlipidemic OLETF rats. *Lipids Health Dis.*, 2004; 3: 24
- [4] Banyś A., Bułaś L., Długosz E., Szulc-Musiał B., Jankowski A.: Angiogeneza w chorobie nowotworowej. *Farm. Pol.*, 2009; 65: 247-250
- [5] Bartuszek D., Bartuszek T.: Rak prostaty i przerzuty nowotworowe do kości. <http://osteoporoza.drukarz.net/pdf/pagetfoundation/RakProstatyPrzerzutyDoKosci.pdf> (15.05.2013)
- [6] Bhattacharya A., Banu J., Rahman M., Causey J., Fernandes G.: Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J. Nutr. Biochem.*, 2006; 17: 789-810
- [7] Białek A., Tokarz A.: Wpływ sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA) na rozwój miażdżycy naczyń w świetle aktualnych badań. *Czynniki ryzyka.*, 2008; 1: 5-16
- [8] Białek A., Tokarz A.: Sprzężone dieny kwasu linolowego jako potencjalny czynnik prewencyjny w profilaktyce nowotworów piersi. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013, 67: 6-14
- [9] Bitter Gourd (*Momordica charantia*). [http://cms.cnr.edu.bt/cms/files/docs/File/vegetable%20production/Study%20guides/Bitter%20gourd\\_HandOuts.pdf](http://cms.cnr.edu.bt/cms/files/docs/File/vegetable%20production/Study%20guides/Bitter%20gourd_HandOuts.pdf) (30.04.2013)
- [10] Del Rio D., Stewart A.J., Pellegrini N.: A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr. Metab. Cardiovas. Dis.*, 2005; 15: 316-328
- [11] Dhar P., Bhattacharyya D., Bhattacharyya D.K., Ghosh S.: Dietary comparison of conjugated linolenic acid (9 *cis*, 11 *trans*, 13 *trans*) and  $\alpha$ -tocopherol effects on blood lipids and lipid peroxidation in alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *Lipids*, 2006; 41: 49-54
- [12] Dhar P., Chattopadhyay K., Bhattacharyya D., Roychoudhury A., Biswas A., Ghosh S.: Antioxidative effect of conjugated linolenic acid in diabetic and non-diabetic blood: an *in vitro* study. *J. Oleo Sci.*, 2006; 56: 19-24
- [13] Ercisli S., Orhan E.: Fatty acid composition of seeds of yellow, red, and black colored Prunus mahaleb fruits in Turkey. *Chem. Nat. Comp.*, 2008; 44: 87-89
- [14] Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer; a Global Perspective. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research, Washington DC: AICR, 2007. [http://www.dietandcancerreport.org/expert\\_report/report\\_contents/index.php](http://www.dietandcancerreport.org/expert_report/report_contents/index.php) (09.09.2014)
- [15] Gasmi J., Sanderson J.T.: Jacaric acid and its octadecatrienoic acid geoisomers induce apoptosis selectively in cancerous human

prostate cells: a mechanistic and 3-D structure-activity study. *Phyto-medicine*, 2013; 20: 734-742

- [16] Gilman E.F., Watson D.G.: *Jacaranda mimosifolia*. [http://hort.ifas.ufl.edu/database/documents/pdf/tree\\_fact\\_sheets/jacmima.pdf](http://hort.ifas.ufl.edu/database/documents/pdf/tree_fact_sheets/jacmima.pdf) (30.04.2013)
- [17] Grossmann M.E., Mizuno N.K., Dammen M.L., Schuster T., Ray A., Cleary M.P.: Eleostearic acid inhibits breast cancer proliferation by means of an oxidation-dependent mechanism. *CAPR*, 2009; 2: 879-886
- [18] Grossmann M.E., Mizuno N.K., Schuster T., Cleary M.P.: Punicic acid is an  $\omega$ -5 fatty acid capable of inhibiting breast cancer proliferation. *Int. J. Oncol.*, 2010; 36: 421-426
- [19] Hontecillas R., Diguardo M., Duran E., Orpi M., Bassaganya-Riera J.: Catalpic acid decreases abdominal fat deposition, improves glucose homeostasis and upregulates PPAR  $\alpha$  expression in adipose tissue. *Clin. Nutr.*, 2008; 27: 764-772
- [20] Hontecillas R., O'Shea M., Einerhand A., Diguardo M., Bassaganya-Riera J.: Activation of PPAR  $\gamma$  and  $\alpha$  by puniceic acid ameliorates glucose tolerance and suppresses obesity-related inflammation. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2009; 28: 184-195
- [21] Hudson T.: Nutrient Profile: Bitter melon (*Momordica charantia*). [http://www.naturalmedicinejournal.com/article\\_content.asp?editon=1&section=3&article=371](http://www.naturalmedicinejournal.com/article_content.asp?editon=1&section=3&article=371) (30.04.2013)
- [22] *Jacaranda mimosifolia*. Agroforestry Database 4.0 [http://www.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Jacaranda\\_mimosifolia.pdf](http://www.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Jacaranda_mimosifolia.pdf)
- [23] Karachadzis K., Paradowski L.: Aktualna sytuacja epidemiologiczna nowotworów jelita grubego w Polsce. *Gastroenterol. Pol.*, 2012; 19: 64-69
- [24] Kawiak J., Zabla M.: *Seminaria z cytofizjologii*. Urban & Partner, Wrocław 2008
- [25] Kitamura Y., Yamagishi M., Okazaki K., Umemura T., Imazawa T., Nishikawa A., Matsumoto W., Hirose M.: Lack of chemopreventive effects of  $\alpha$ -eleostearic acid on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced mammary and colon carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats. *Food Chem. Toxicol.*, 2006; 44: 271-277
- [26] Klimczak A., Kubiak K., Cybulska M., Kula A., Dziki Ł., Malinowska K.: Etiologia raka jelita grubego oraz bariera antyoksydacyjna ustroju. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2010; 28: 223-226
- [27] Koba K., Akahoshi A., Yamasaki M., Tanaka K., Yamada K., Iwata T., Kamegai T., Tsutsumi K., Sugano M.: Dietary conjugated linolenic acid in relation to CLA differently modifies body fat mass and serum and liver lipid levels in rats. *Lipids*, 2002; 37: 343-350
- [28] Kohno H., Suzuki R., Yasui Y., Hosokawa M., Miyashita K., Tanaka T.: Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. *Cancer Sci.*, 2004; 95: 481-486
- [29] Kohno H., Yasui Y., Suzuki R., Hosokawa M., Miyashita K., Tanaka T.: Dietary seed oil rich in conjugated linolenic acid from bitter melon inhibits azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis through elevation of colonic PPAR $\gamma$  expression and alteration of lipid composition. *Int. J. Cancer*, 2004; 110: 896-901
- [30] Kowalska-Wochna E.: *Kosmetyki z ogrodu*. Panacea, 2009; 28: 24-26
- [31] Lansky E.P., Harrison G., Froom P., Jiang W.G.: Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel. *Invest. New Drugs*, 2005; 23: 121-122
- [32] Lansky E.P., Jiang W., Mo H., Bravo L., Froom P., Yu W., Harris N.M., Neeman I., Campbell M.J.: Possible synergistic prostate cancer suppression by anatomically discrete pomegranate fractions. *Invest. New Drugs*, 2005; 23: 11-20
- [33] Matuszewska K., Matuszewski M., Jassem J.: Rola badań przesiewowych w raku gruczołu krokowego. *Współcz. Onkol.*, 2003; 7: 160-165
- [34] McFarlin B.K., Strohacker K.A., Kueht M.L.: pomegranate seed oil consumption during a period of high-fat feeding reduces weight gain and reduces type 2 diabetes risk in CD-1 mice. *Br. J. Nutr.*, 2009; 102: 54-59
- [35] Miranda J., Fernández-Quintela A., Macarulla M.T., Churruga I., García C., Rodríguez V.M., Simon E., Portillo M.P.: A comparison between CLNA and CLA effects on body fat, serum parameters and liver composition. *J. Physiol. Biochem.*, 2009; 65: 25-32
- [36] Miranda J., Lasa A., Fernández-Quintela A., Garcia-Marzo C., Ayo J., Dentin R., Portillo M. P.: cis-9,trans-11,cis-15 and cis-9,trans-13,cis-15 CLNA mixture activates PPAR $\alpha$  in HEK293 and reduces triacylglycerols in 3T3-L1 cells. *Lipids*, 2011; 46: 1005-1012
- [37] Mohammad S., Kashani H.H.: Pot marigold (*Calendula officinalis*) medicinal usage and cultivation. *Scient. Res. Essays*, 2012; 7: 1468-1472
- [38] Nartowska J.: Kwiat, który liczy dni. *Panacea*, 2011; 35: 5-7
- [39] Özgül-Yücel S.: Determination of conjugated linolenic acid content of selected oil seeds grown in Turkey. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2005; 82: 893-897
- [40] Qiu X., Reed D.W., Hong H., MacKenzie S.L., Covelto P.S.: Identification and analysis of a gene from *Calendula officinalis* encoding a fatty acid conjugase. *Plant Physiol.*, 2001; 125: 847-855
- [41] Rak gruczołu krokowego. [http://www.mezczyzna45plus.pl/g2/2011\\_07/22c3fcf9e8473eb8799b7bc7ca93b50f.pdf](http://www.mezczyzna45plus.pl/g2/2011_07/22c3fcf9e8473eb8799b7bc7ca93b50f.pdf) (12.05.2013)
- [42] Rak prostaty. [http://www.nhs.uk/translationpolish/Documents/Cancer\\_of\\_the\\_prostate\\_Polish\\_FINAL.pdf](http://www.nhs.uk/translationpolish/Documents/Cancer_of_the_prostate_Polish_FINAL.pdf) (12.05.2013)
- [43] Ray R.B., Raychoudhuri A., Steele R., Nerurkar P.: Bitter Melon (*Momordica charantia*) extract inhibits breast cancer cell proliferation by modulating cell cycle regulatory genes and promotes apoptosis. *Cancer Res.*, 2010; 70: 1925-1931
- [44] Rumińska A., Ożarowski A.: *Leksykon roślin leczniczych*. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1990
- [45] Rumpel L.: Granat - bogate źródło antyutleniaczy. *Panacea*, 2012; 38: 16-17
- [46] Saha S.S., Ghosh M.: Ameliorative role of conjugated linolenic acid isomers against oxidative DNA damage induced by sodium arsenite in rat model. *Food Chem. Toxicol.*, 2010; 48: 3398-3405
- [47] Saha S.S., Chakraborty A., Ghosh S., Ghosh M.: Comparative study of hypocholesterolemic and hypolipidemic effects of conjugated linolenic acid isomers against induced biochemical perturbations and aberration in erythrocyte membrane fluidity. *Eur. J. Nutr.*, 2012; 51: 483-495
- [48] Senderski M.: *Zioła. Praktyczny poradnik o ziołach i ziołolecznictwie*. Wyd. K.E Liber, 2009
- [49] Shinohara N., Tsuduki T., Ito J., Honma T., Kijima R., Sugawara S., Arai T., Yamasaki M., Ikezaki A., Yokoyama M., Nishiyama K., Nakagawa K., Miyazawa T., Ikeda I.: Jacaric acid, a linolenic acid isomer with a conjugated triene system, has a strong antitumor effect *in vitro* and *in vivo*. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012; 1821: 980-988
- [50] Szafer W., Kulczyński S., Pawłowski B.: *Rośliny polskie*. PWN, Warszawa 1986
- [51] Tsigos C., Hainer V., Basdevant A., Finer N., Fried M., Mathus-Vliegen E., Micic D., Maislos M., Roman G., Schutz Y., Toplak H., Zahorska-Markiewicz B.: Postępowanie w otyłości dorosłych: europejskie wytyczne dla praktyki klinicznej. *Endokrynologia Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii*, 2009; 5: 87-98
- [52] Tsuzuki T., Kawakami Y.: Tumor angiogenesis suppression by  $\alpha$ -eleostearic acid, a linolenic acid isomer with a conjugated tri-

ene system, via peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ . *Carcinogenesis*, 2008; 29: 797-806

[53] Tsuzuki T., Tokuyama Y., Igarashi M., Miyazawa T.: Tumor growth suppression by  $\alpha$ -eleostearic acid, a linolenic acid isomer with a conjugated triene system, via lipid peroxidation. *Carcinogenesis*, 2004; 25: 1417-1425

[54] Tsuzuki T., Tokuyama Y., Igarashi M., Nakagawa K., Ohsaki Y., Komai M., Miyazawa T.:  $\alpha$ -Eleostearic acid (9Z11E13E-18:3) is quickly converted to conjugated linoleic acid (9Z11E-18:2) in rats. *J. Nutr.*, 2004; 134: 2634-2639

[55] Tung oil tree. <http://plants.ifas.ufl.edu/node/31> (30.04.2013)

[56] Vroegrijk I.O., van Diepen J.A., van den Berg S., Westbroek I., Keizer H., Gambelli L., Hontecillas R., Bassaganya-Riera J., Zondag G.C., Romijn J.A., Havekes L.M., Voshol P.J.: Pomegranate seed oil, a rich source of punicic acid, prevents diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 2011; 49: 1426-1430

[57] Wang Y.W., Jones P.J.H.: Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2004; 28: 941-955

[58] Wink M., van Wyk B.-E.: *Rośliny lecznicze świata*. Wyd. I polskie, MedPharm Polska, Wrocław 2004

[59] Yang L., Cao Y., Chen Jing-Nan, Chen Zhen-Yu: Oxidative stability of conjugated linolenic acids. *J. Agric. Food Chem.*, 2009; 57: 4212-4217

[60] Yang L., Leung K.Y., Cao Y., Huang Y., Ratnayake W.M., Chen Z.Y.:  $\alpha$ -Linolenic acid but not conjugated linolenic acid is hypocholesterolaemic in hamsters. *Br. J. Nutr.*, 2005; 93: 433-438

[61] Yasui Y., Hosokawa M., Kohno H., Tanaka T., Miyashita K.: Growth inhibition and apoptosis induction by all-trans-conjugated linolenic acids on human colon cancer cells. *Anticancer Res.*, 2006; 26: 1855-1860

[62] Yasui Y., Hosokawa M., Kohno H., Tanaka T., Miyashita K.: Troglitazone and 9cis,11trans,13trans-conjugated linolenic acid: comparison of their antiproliferative and apoptosis-inducing effects on different colon cancer cell lines. *Chemotherapy*, 2006; 52: 220-225

[63] Yasui Y., Hosokawa M., Sahara T., Suzuki R., Ohgiya S., Kohno H., Tanaka T., Miyashita K.: Bitter melon seed fatty acid rich in 9c,11t,13t-conjugated linolenic acid induces apoptosis and up-regulates the GADD45, p53 and PPAR $\gamma$  in human colon cancer Caco2- cells. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2005; 73: 113-119

[64] Zhang T., Gao Y., Mao Y., Zhang Q., Lin C., Lin P., Zhang J., Wang X.: Growth inhibition and apoptotic effect of alpha-eleostearic acid on human breast cancer cells. *J. Nat. Med.*, 2012; 66: 77-84

---

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.