

BARBARA KUSZNIEREWICZ, ANITA PIASEK, JOANNA LEWANDOWSKA,
ANNA ŚMIECHOWSKA, AGNIESZKA BARTOSZEK

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWNOWOTWOROWE KAPUSTY BIAŁEJ

Streszczenie

W krajach rozwiniętych choroby nowotworowe stają się obecnie najbardziej znaczącym elementem kosztów leczenia społeczeństw oraz główną przyczyną przedwczesnych zgonów. Stąd też ogromne zainteresowanie profilaktyką przeciwnowotworową, które nabrało szczególnego znaczenia po stwierdzeniu, w wyniku badań epidemiologicznych, że żywność pochodzenia roślinnego zawiera liczne substancje przeciwdziałające powstawaniu nowotworów. Szczególnie cenne mogą być warzywa krzyżowe, w przypadku których obserwowano znaczną ujemną korelację pomiędzy poziomem spożycia a zapadalnością na nowotwory piersi, jelita grubego i płuc. W Europie Środkowej najważniejszym warzywem z rodziny krzyżowych jest kapusta biała (*Brassica oleracea* var. *capitata*), stanowiąca tradycyjny element diety krajów tego regionu. Ze względu na duże spożycie i dostępność przez cały rok, warzywo to może być potencjalnie znaczącym elementem chemoprewencji nowotworowej.

Na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej podjęto wielokierunkowe prace mające na celu ocenę przeciwnowotworowych właściwości zarówno świeżej kapusty, jak i poddanej obróbce kulinarnej, stosując różne modele badawcze, dawki i formę preparatów warzywnych, zbliżone do rzeczywistego spożycia. Jak się powszechnie uważa, jednym z czynników uruchamiających proces kancerogenezy są reaktywne formy tlenu (ROS), które reagując z ważnymi biomolekułami zmieniają ich strukturę i funkcję, co może przyczynić się do transformacji zdrowej komórki w nowotworową. Wiadomo także, że ROS mogą być przyczyną wielu innych chorób cywilizacyjnych oraz procesów starzenia. Jedną z linii badawczych nad przeciwnowotworowymi właściwościami kapusty, podjętych przez autorów, była ocena zdolności fitokompleksu tego warzywa do przeciwdziałania efektom ROS. Badania zostały zaplanowane tak, by umożliwić ocenę kapusty na różnych poziomach, począwszy od pomiaru właściwości przeciwutleniających *in vitro* i oznaczenia substancji przeciwutleniających, określenia zdolności ochrony innych składników żywności przed utlenieniem, poprzez ocenę zdolności ochrony komórek przed atakiem ROS, po wykazanie zdolności do indukcji endogennych mechanizmów komórkowych niwelujących zaistniałe efekty stresu oksydacyjnego.

Przedstawiona praca stanowi podsumowanie badań prowadzonych przez trzy zespoły badawcze. Stwierdzono, że składniki kapusty, zarówno świeżej, jak i poddanej obróbce kulinarnej, nie tylko chronią inne składniki żywności przed niekorzystnymi procesami termooksydacyjnymi, ale także wykazują szereg aktywności pozwalających organizmowi neutralizować reaktywne formy tlenu, a także zwalczać już zaistniałe szkodliwe efekty ich działania.

Słowa kluczowe: kapusta biała, profilaktyka nowotworowa, właściwości przeciwutleniające

Mgr inż. B. Kusznierewicz, mgr inż. A. Piasek, mgr inż. A. Śmiechowska, Katedra Chemii Analitycznej, mgr inż. J. Lewandowska, dr inż. A. Bartoszek, Katedra Technologii Leków i Biochemii, Wydz. Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk

Wprowadzenie

Wieloletnie badania, podsumowane wydaniem w 1997, a następnie w 2007, przez World Cancer Research Fund i American Institute for Cancer Research “Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: a Global Perspective” [25], dowiodły, że dieta bogata w białka i tłuszcze sprzyja procesom kancerogenezy, ale z kolei żywność pochodzenia roślinnego może być źródłem substancji przeciwdziałających rozwojowi nowotworów. Należą do nich m.in. polifenole i glukozytolany uprzednio uważane za obniżające wartość odżywczą lub co najwyżej obojętne dla ludzkiego zdrowia. Odkrycia te zawoocowały wieloma pracami poświęconymi przeciwnowotworowym składnikom żywności i doprowadziły do powstania nowej gałęzi badań nad rakiem, którą określa się mianem chemioprewencji lub coraz częściej, także w języku polskim, chemoprewencji nowotworowej. Chemoprewencja nowotworowa definiowana jest jako zapobieganie nowotworom przez podawanie jednej lub wielu substancji chemicznych albo w postaci preparatów, albo jako naturalnie występujących składników diety. Ogromne zainteresowanie chemoprewencyjnymi właściwościami różnych składników żywności wynika z faktu, że zagrożenie chorobami nowotworowymi, które w ostatnich latach stały się główną przyczyną przedwczesnych zgonów ludności w krajach rozwiniętych, mogłoby być znacząco zmniejszone poprzez właściwy sposób odżywiania. Z wcześniejszych oszacowań wynika bowiem, że nawet 70% nowotworów jest pochodzenia środowiskowego. Sugeruje się, że około 30% tych nowotworów byłoby do uniknięcia poprzez zmianę diety [20]. Ta zmiana miałaby na celu wzbogacenie jadłospisu w substancje przeciwdziałające procesom nowotworzenia i ograniczenie spożycia tych rodzajów żywności, które zawierają składniki sprzyjające kancerogenezie.

Szczególnie bogatym źródłem substancji przeciwnowotworowych są warzywa krzyżowe, w przypadku których obserwowano znaczną ujemną korelację pomiędzy poziomem spożycia a zapadalnością na nowotwory piersi, jelita grubego i płuc. Ich właściwości antykancerogenne zostały ostatnio podsumowane w obszernym opracowaniu wydanym przez International Agency of Research on Cancer w Lyonie [14]. W Europie Środkowej najważniejszym żywieniowo warzywem z rodziny krzyżowych jest kapusta biała (*Brassica oleracea* var. *capitata*), stanowiąca tradycyjny element diety krajów tego regionu. Warzywo to spożywane jest w stosunkowo dużych ilościach przez cały rok, przez wszystkie grupy ludności, zarówno w postaci surowej, jak i po obróbce cieplnej. W Polsce roczne spożycie kształtuje się na poziomie ok. 11 kg kapusty świeżej i 5 kg kapusty kiszzonej na osobę, co odpowiada około 44 g dziennie [29]. Co więcej, warzywa kapustne stanowią zwykle dodatek do mięsnych i wysokotłuszczowych produktów spożywczych sprzyjających transformacji nowotworowej. Ze względu na wysokie spożycie i dostępność przez cały rok, kapusta potencjalnie może być znaczącym elementem chemoprewencji nowotworowej. To przypuszczenie potwierdziły badania epidemiologiczne w grupie polskich imigrantek w USA wskazują-



ce, że częste spożywanie surowej lub krótko gotowanej kapusty znacząco obniża zagrożenie rakiem piersi [21].

Kapusta (świeża i kiszona) zawiera liczne wtórne metabolity, których przydatność ze względu na chemoprewencję nowotworową została udokumentowana w przypadku innych roślinnych składników żywności. Można tu wymienić następujące aktywności biologiczne:

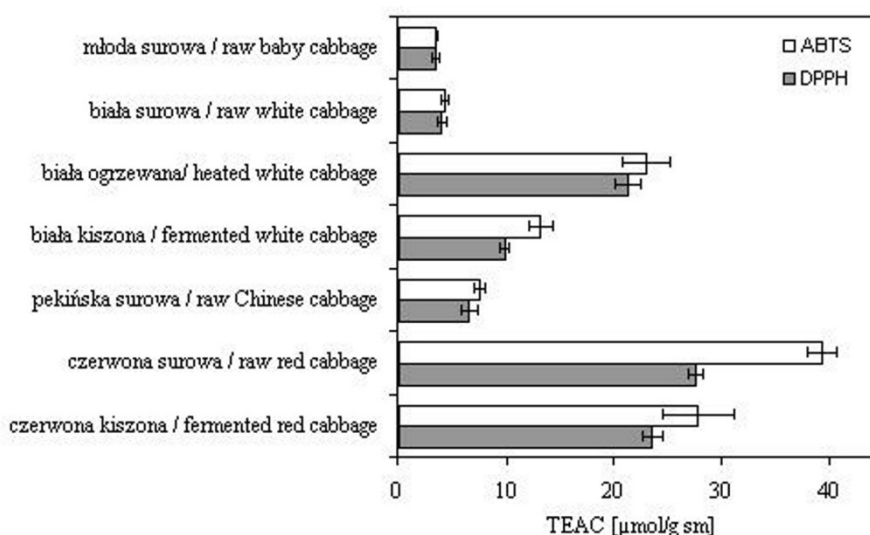
- właściwości przeciwutleniające wynikające z obecności witamin C oraz E, karotenoidów i polifenoli;
- właściwości przeciwmutagenne wynikające z obecności przeciwutleniaczy, a także związków siarkoorganicznych;
- zdolność indukowania enzymów detoksykacyjnych (tzw. enzymów II fazy), w tym przede wszystkim transferaz glutationowych, głównie przez izotiocyjaniany i indole będące produktami metabolizmu glukozynolanów [14];
- wpływ na ekspresję genów odpowiedzialnych za rozrost nowotworowy poprzez modulowanie komórkowej homeostazy redoks przez izotiocyjaniany i przeciwutleniacze [7, 10, 19];
- działanie indoli oraz być może także fitosteroli jako modulatorów receptorów estrogenowych [28].

Te potencjalnie cenne zalety kapusty spowodowały podjęcie na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej wielokierunkowych badań nad przeciwnowotworowymi jej właściwościami. W przeciwieństwie do większości publikowanych prac, doświadczenia prowadzone były nie z izolowanymi substancjami, ale z sokami zawierającymi naturalny fitokompleks, przy zastosowaniu dawek możliwie wiernie oddających rzeczywiste spożycie.

Właściwości przeciwutleniające i przeciwmutagenne kapusty

Aktywne formy tlenu (np. rodnik hydroksylowy czy anionorodnik ponadtlenkowy) są czynnikami powodującymi uszkodzenia wielu struktur komórkowych. Mogą one uszkadzać białka poprzez utlenianie np. grup sulfhydrylowych cystein do mostków disiarczkowych, niszczyć strukturę błon komórkowych indukując peroksydację wchodzących w ich skład lipidów, a także wiązać się z zasadami azotowymi w DNA do tzw. tlenowych adduktów DNA [1]. Wszystkie te reakcje upośledzają prawidłowe funkcjonowanie struktur komórkowych i są uważane za przyczynę licznych schorzeń degeneracyjnych z nowotworami włącznie [13]. Innym zagrożeniem są substancje mutagenne i rakotwórcze obecne w żywności wskutek niewłaściwego przechowywania (np. mikotoksyny) lub obróbki termicznej (np. heterocykliczne aminy aromatyczne, akryloamid, genotoksyczne produkty peroksydacji lipidów) [1, 2]. Obecność tych związków, obok zanieczyszczeń środowiskowych, jest uznanym czynnikiem ryzyka chorób nowotworowych [27].

W przypadku żywności pochodzenia roślinnego, właściwości przeciwutleniające wykazują przede wszystkim trzy klasy związków: witaminy przeciwutleniające, karotenoidy oraz polifenole. Szczególnie te ostatnie są szeroko badane w kontekście profilaktyki nowotworowej. Kapusta zawiera także substancje wykazujące właściwości przeciwutleniające w testach *in vitro* [3, 15]. Aktywność przeciwutleniająca warzyw kapustnych jest jednak kilkukrotnie niższa niż innych, bogatych w przeciwutleniacze, składników żywności, takich jak: burak ćwikłowy czy napar z herbaty [3]. Na rys. 1. przedstawiono wartości TEAC popularnych w Polsce rodzajów kapusty, wśród których najwyższą aktywność wykazuje kapusta czerwona. W przypadku kapusty białej, proces kiszenia podnosi zawartość przeciwutleniaczy.

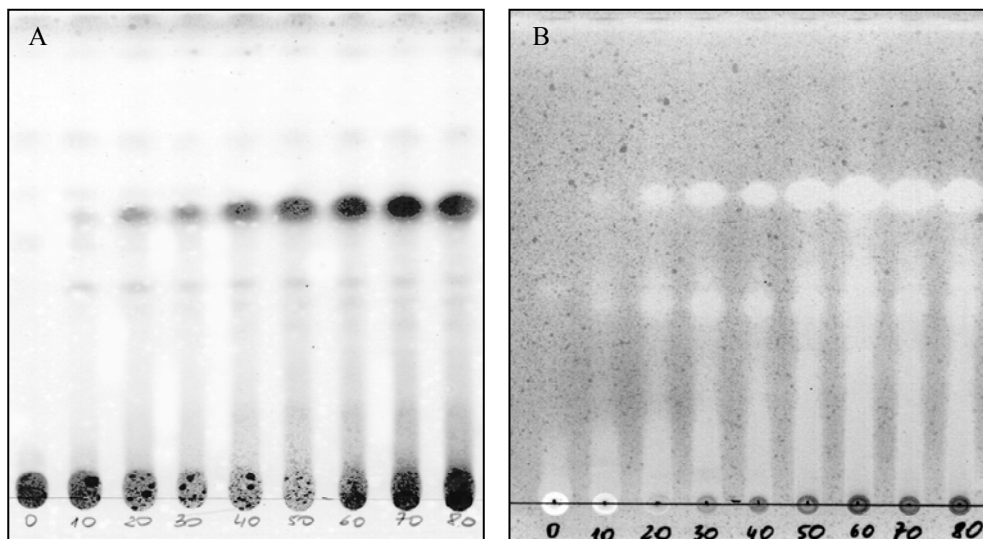


Rys. 1. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów metanolowych z liofilizatów popularnych rodzajów kapusty, oszacowana za pomocą metod spektrofotometrycznych wykorzystujących rodniki ABTS i DPPH.

Fig. 1. Antioxidative activity by methanol extracts from lyophilisates of popular varieties of cabbage assessed using the ABTS and DPPH radicals-aided spectro-photometric methods.

Źródło: / Source: [15,18]

Cenną cechą kapusty białej jest uwalnianie substancji o właściwościach przeciwutleniających w trakcie obróbki termicznej [16, 17]. Zastosowanie chromatografii TLC umożliwiło zaobserwowanie, w trakcie ogrzewania, uwalniania się wielu substancji zdolnych do reakcji ze związkami typu utleniaczy i z rodnikami. Nie są to związki polifenolowe i obecnie trwają prace nad ich chemiczną identyfikacją (rys. 2).



Rys. 2. Chromatogram TLC ekstraktów metanolowych z liofilizatów kapusty białej ogrzewanych przez 0 – 80 min w temp. 100°C. Chromatogramy wizualizowano przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteu'a – A lub roztworu rodnika DPPH – B.

Fig. 2. TLC chromatograms of methanol extracts from the cabbage lyophilisates heated during 0 – 80 min. at 100°C. The chromatograms were visualized using either a Folin-Ciocalteu reagent – A, or a DPPH radical solution - B.

Źródło: / Source: [18]

Obecność przeciwutleniaczy, a szczególnie ich uwalnianie w trakcie obróbki cieplnej sugerowało, że kapusta może skutecznie chronić inne składniki żywności przed niekorzystnymi zmianami termooksydacyjnymi. Taka możliwość w przypadku tłuszczu została potwierdzona, przy czym warto zauważyć, że we wszystkich kuchniach kapusta jest zazwyczaj gotowana z dodatkiem tłuszczu roślinnego lub zwierzęcego. Badania prowadzono przy zastosowaniu dwóch strategii badawczych. W pierwszej z nich wykorzystano układy modelowe oraz ekstrakty fitozwiązków z kapusty świeżej i kiszonej uzyskane działaniem 80% etanolu. W drugiej, podobny cykl doświadczeń został przeprowadzony nie z ekstraktem alkoholowym, ale z sokiem ze świeżej i kiszonej kapusty. Obróbce termicznej poddano tłuszcz tradycyjnie używany przy przyrządzaniu posiłków zawierających to warzywo, tzn. smalec oraz olej rzepakowy, w sposób możliwie zbliżony do typowych metod gotowania, a następnie określono stopień jego przemian oksydacyjno-termicznych. We wszystkich zastosowanych testach, soki z kapusty świeżej i kiszonej wywierały ochronny wpływ na utlenianie tłuszczów. Wpływ ten był wyraźniejszy w przypadku smalcu, który nie zawiera naturalnych przeciwutleniaczy. Lepsze właściwości ochronne wykazał sok z kapusty świe-

żej, której działanie było równie efektywne jak syntetycznego przeciwutleniacza BHA [23, 24].

Zdolność do przeciwdziałania niekorzystnym procesom oksydacyjnym nie jest jedynym mechanizmem wykazywanym przez fitokompleks kapusty, który może poprawiać jakość żywności. Soki z kapusty, zarówno świeżej, jak i poddanej obróbce kulinarnej wykazują bardzo silne właściwości przeciwmutagenne w stosunku do mutagenów spotykanych w pieczonym lub grillowanym mięsie - MeIQx (2-amino-3,8-dimetyloimidazo[4,5-f]chinoksalina) i PhIP (2-amino-1-metylo-6-fenylimidazo[4,5-b]pirydyna) [5].

Tabela 1

Właściwości przeciwmutagenne soków ze świeżej (SK) i kiszzonej (KK) kapusty białej w stosunku do mutagennych heterocyklicznych amin aromatycznych MeIQx oraz PhIP.

Antimutagenic properties of fresh cabbage (SK) and sauerkraut (KK) juices against the mutagenic heterocyclic aromatic amines MeIQx and PhIP.

Szczep Strain TA 98	+S	Mutagen Mutagen	SK surowa raw	SK gotowana cooked	KK surowa raw	KK gotowana cooked
	-S					
MeIQx	+	271,3 ± 112,7	59,6 ± 17,2	135,0 ± 39,3	82,5 ± 26,1	148,8 ± 69,8
	-	34,5 ± 1,9	18,7 ± 3,4	31,5 ± 2,1	38,7 ± 9,1	33,7 ± 3,4
PhIP	+	655,5 ± 114,1	74,0 ± 18,8	233,0 ± 15,5	355,0 ± 91,8	437,1 ± 121,5
	-	51,2 ± 4,1	54,3 ± 2,3	49,9 ± 5,9	60,2 ± 11,3	59,9 ± 8,6

Źródło: / Source: [5]

Potencjał przeciwmutageny soków był oceniany testem Ames z użyciem szczepu *Salmonella typhimurium* TA98 w obecności (+S) i pod nieobecność (-S) frakcji S9 izolowanej z wątroby szczura, przy użyciu stałej dawki mutagenów MeIQx (100 ng/płytkę) lub PhIP (5000 ng/ płytkę) i stężenia soków 10% v/v (tab. 1). Liczba rewertantów określana była po 48 godz. inkubacji w temp. 37°C.

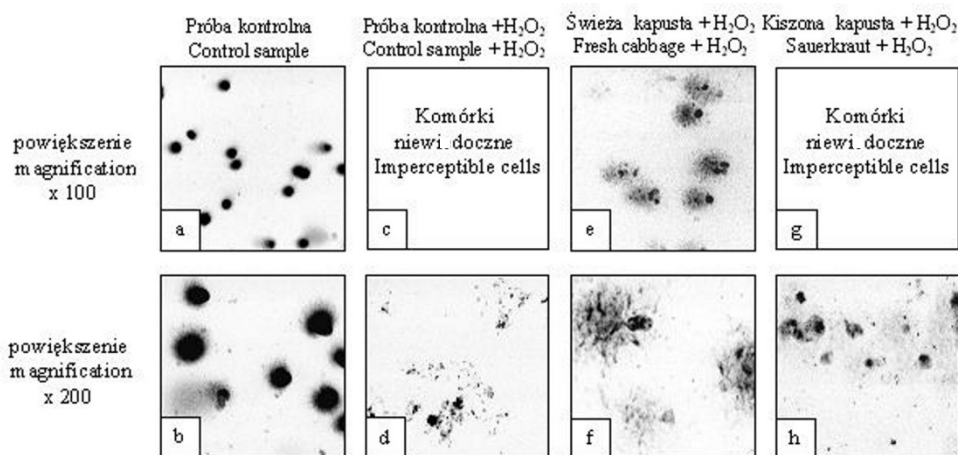
Wszystkie badane soki wykazywały silne właściwości przeciwmutagenne w stosunku do obu modelowych mutagenów. Zmniejszenie liczby rewertantów szczepu *S. typhimurium* TA98 mieściło się w zakresie od ok. 40% ochrony - sok z kapusty kiszzonej gotowanej, do ponad 80% ochrony - sok ze świeżej surowej kapusty. Co więcej, zmniejszenie częstości mutacji indukowanych przez oba mutageny było liniowo skorelowane z dawką soku [5].

Powyższe wyniki sugerują, że obecność kapusty w diecie może zmniejszać stopień narażenia ludzkiego organizmu na substancje genotoksyczne obecne w żywności. Wniosek ten wspierają obserwacje wskazujące, że spożywanie kapusty zmniejsza po-

ziom wiązania się aflatoksyny B₁ z DNA w wątrobie [26], a także podnosi wydajność wydalania związków typu MeIQx oraz PhIP z organizmu ludzkiego [9].

Ochrona komórek przed stresem oksydacyjnym

Obecność przeciwutleniaczy wskazywała, że soki z kapusty powinny wykazywać także zdolność ochrony komórkowego DNA przed atakiem ROS, tym bardziej że taką ochronę obserwowano w przypadku substancji izolowanych z warzyw krzyżowych [14]. Wstępne badania prowadzone przy użyciu testu kometowego potwierdziły te przypuszczenia [3]. Źródło ROS (0,15 mM H₂O₂) i soki (40% v/v) dodawano równocześnie do komórek zawieszonych w buforze PBS. Po 30 min ekspozycji w temp. 37°C prowadzono analizę uszkodzeń DNA. Komórki poddane działaniu nadtlenu wodoru w dawce powodującej całkowitą degradację DNA, w obecności soku z kapusty świeżej, w mniejszym stopniu z kiszzonej, mają znacząco mniej pofragmentowany materiał genetyczny (rys. 3).



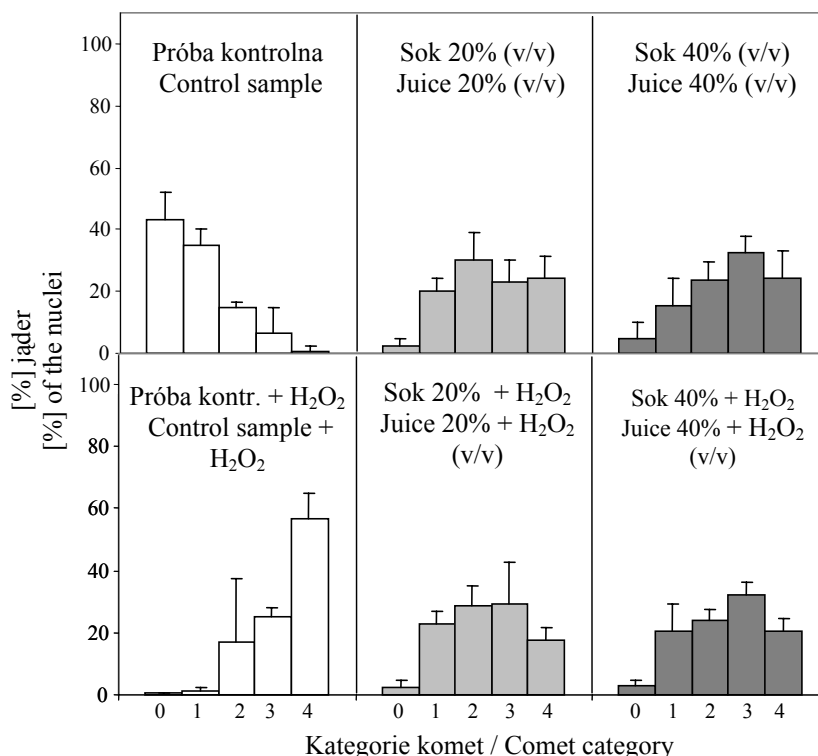
Rys. 3. Obraz mikroskopowy komórek ludzkiego raka okrężnicy HT29 poddanych stresowi oksydacyjnemu w obecności soków z kapusty świeżej lub kiszzonej uzyskany przy użyciu testu kometowego.

Fig. 3. Microscopic picture of the human colon cancer cells type HT29, obtained by a comet assay; the cells were exposed to oxidative stress in the presence of fresh cabbage or sauerkraut juices.

Źródło: / Source: [11]

Bardziej szczegółowe badania ujawniły, że same soki powodują silną fragmentację DNA w komórkach ludzkiego raka okrężnicy HT29. Po 30 min ekspozycji w temp. 37°C komórki odklejano z naczyń hodowlanych działaniem trypsyny i analizę uszkodzeń DNA prowadzono przy użyciu testu kometowego. Na rys. 4. przedstawiono dane dotyczące soku ze świeżej kapusty, ale podobne wyniki uzyskano także w przypadku kapusty kiszzonej. Włączenie nadtlenu wodoru nie powodowało zwiększenia uszko-

dzeń DNA. Genotoksyczne działanie soków, samych czy w kombinacji z H_2O_2 , nie znajdowało odzwierciedlenia w ich cytotoksyczności [4, 16]. Choć bez wnikliwszych badań trudno wnioskować o przyczynach wspomnianej fragmentacji DNA, taki wynik sugerował, że obecność fitozwiązków kapusty może stymulować procesy naprawcze DNA umożliwiając wzrost komórek.



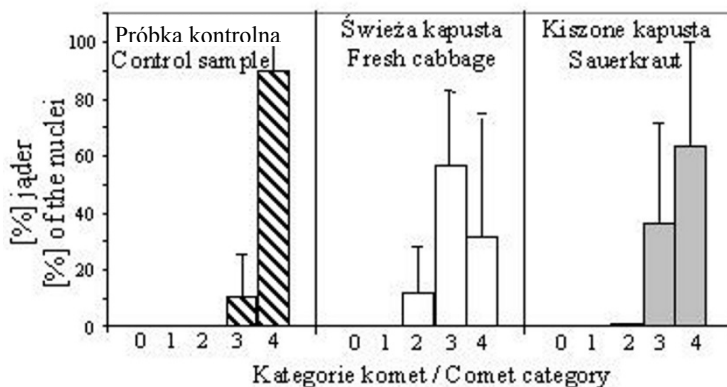
Rys. 4. Stopień uszkodzenia DNA komórek ludzkiego raka okrężnicy HT29 w wyniku traktowania sokiem ze świeżej surowej kapusty $\pm 0,3$ mM H_2O_2 .

Fig. 4. The degree of damage to the DNA of human colon cancer cells type HT29 resulting from the treatment using fresh raw cabbage juice $\pm 0,3$ mM H_2O_2 .

Źródło: / Source: [4]

Do oceny indukcji enzymów naprawczych DNA przez soki z kapusty wykorzystano test kometowy w wersji zmodyfikowanej. W tej wersji testu komórki podzielono na dwie populacje. Jedna z nich poddana została działaniu nadtlenu wodoru, druga soku z kapusty białej (świeżej lub kiszonej). Następnie komórki inkubowane z czynnikiem genotoksycznym (H_2O_2) były doprowadzone do etapu lizy zgodnie z procedurą testu kometowego, po czym dodano do nich cytozol wyizolowany z komórek traktowanych badanymi sokami potencjalnie indukującymi enzymy naprawcze DNA. Po 30

min, czyli okresie wystarczającym na usunięcie uszkodzeń przez enzymy naprawcze DNA, kontynuowana była procedura oznaczania uszkodzeń testem kometowym [4].



Rys. 5. Naprawa uszkodzeń DNA komórek ludzkiego raka okrężnicy HT29 poddanych działaniu 0,1 mM H₂O₂, a następnie inkubowanych z frakcjami cytozolowymi pochodzącymi z komórek nie-traktowanych lub traktowanych przez 6 godz. 10% (v/v) sokami z kapusty świeżej lub kiszonej.

Fig. 5. The repair of the DNA damage in human colon cancer cells type HT29 submitted to 0.1 mM H₂O₂, then, incubated using cytosolic fractions derived from the control cells or cells treated during 6 h with 10% (v/v) fresh cabbage juice or sauerkraut juice.

Źródło: / Source: [4]

Na rys. 5. przedstawiono porównanie poziomu uszkodzeń w komórkach poddanych działaniu cytozoli uzyskanych z komórek kontrolnych oraz komórek traktowanych sokami z kapusty. Nadmienić tu należy, że ocenie podlegał tylko poziom enzymów pochodzących z syntezy *de novo*, bowiem enzymy naprawcze DNA rezydują w jądrze komórkowym, a do doświadczeń stosowano frakcje cytozolowe. W tych frakcjach można było oczekiwać jedynie obecności enzymów pochodzących z syntezy konstytutywnej lub zaindukowanej obecnością bioaktywnych składników kapusty. Jak można zauważyć, oba badane soki wykazywały zdolność indukowania syntezy enzymów naprawczych DNA, dzięki czemu w wyniku ich działania zmniejszyła się liczba komet należących do najwyższej kategorii (4) na rzecz komet niższej kategorii (2, 3) odpowiadających mniej pofragmentowanemu DNA.

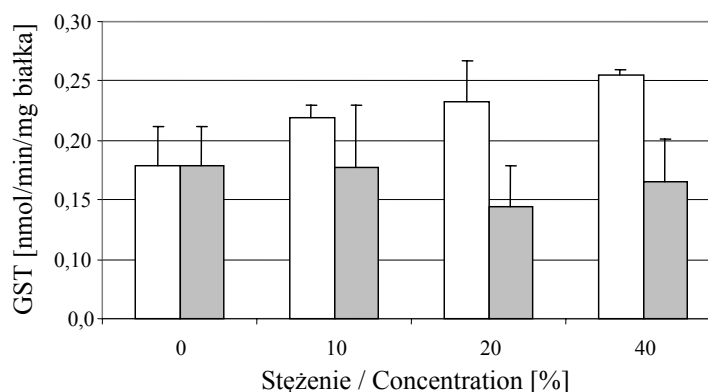
Fitokompleks kapusty wykazał nie tylko zdolność ochrony komórek przed stresem oksydacyjnym, ale także indukował endogenne mechanizmy odpowiedzialne za naprawę powstałych w DNA uszkodzeń.

Indukcja endogennych mechanizmów detoksykacyjnych

Glukozynolany występujące w roślinach krzyżowych mają szczególną wartość w przypadku chemoprewencji nowotworów. Związki te, a przede wszystkim produkty ich rozpadu (glukozynolany są związkami nietrwałymi, łatwo ulegającymi hydrolizie

enzymatycznej i nieenzymatycznej), którymi są m.in. izotiocyjaniiny, wykazują wiele cennych aktywności przeciwdziałających procesom nowotworzenia, ale za najistotniejszą uważa się ich zdolność do indukowania ekspresji enzymów fazy II, zaangażowanych w detoksykacyjny metabolizm związków rakotwórczych obecnych w środowisku człowieka, w tym w żywności [14, 30]. Istotne znaczenie ma fakt, że indukcja taka na ogół trwa pewien czas, a zatem w przeciwieństwie do przeciwutleniaczy, których działanie jest “jednorazowe”, efekt ochronny spowodowany obecnością izotiocyjaniinów jest przedłużony. Jedną z najważniejszych klas enzymów fazy II są S-transferazy glutationowe (GST) katalizujące sprzężanie elektrofilowych związków z glutationem poprzedzające ich wydalenie z organizmu. Indukowanie tych enzymów w wyniku spożycia warzyw krzyżowych wykazano także u ludzi.

Kolejnym etapem badań nad chemoprewencyjnymi właściwościami kapusty było określenie jej zdolności do indukowania GST *in vitro* w hodowli tkankowej oraz *in vivo* w badaniach zwierząt doświadczalnych. W przypadku badań w hodowli tkankowej użyte były komórki raka okrężnicy HT29 oraz komórki ludzkiego raka wątroby linii HepG2. Te ostatnie pomimo zrakowacenia zachowały pełną zdolność ekspresji genów enzymów uczestniczących w metabolizmie ksenobiotyków i dlatego stanowią podstawowy model *in vitro* wykorzystywany w badaniach nad wpływem substancji chemoprewencyjnych na ekspresję genów kodujących enzymy I i II fazy. Aktywność GST oznaczano po wyizolowaniu frakcji cytozolowej klasyczną metodą przy użyciu 1-chloro-2,4-dinitrobenzenu (CDNB) jako substratu.



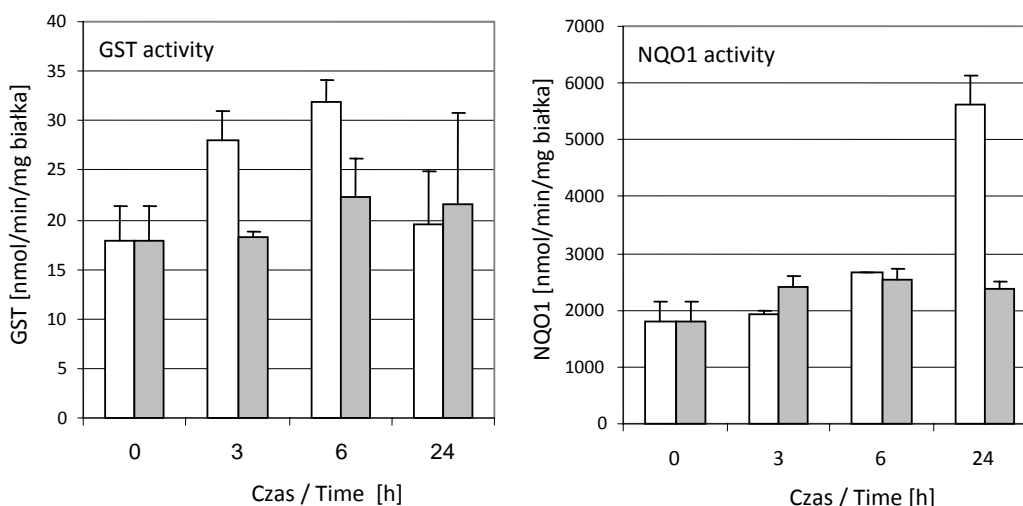
Rys. 6. Wpływ soków z kapusty świeżej i kiszonej na aktywność S-transferaz glutationowych w komórkach ludzkiego raka okrężnicy HT29.

Fig. 6. The impact of fresh cabbage juice or sauerkraut juice on the glutathione S-transferases activity in human colon cancer cells type HT29.

Źródło: / Source: [16]

Kapusta świeża będąca lepszym źródłem izotiocyjanianów, w porównaniu z kapustą kiszoną, wykazywała dużo silniejszą zdolność do indukowania GST. Przy 3-godzinnej inkubacji komórek z sokami, indukcja GST była skorelowana ze stężeniem soku i przy 40% (v/v) w pożywce wzrosła prawie dwukrotnie w porównaniu z poziomem oznaczonym w komórkach kontrolnych (rys. 6). W przypadku soku z kiszonej kapusty nie zaobserwowano znaczących zmian aktywności GST.

Wątroba jest narządem odpowiedzialnym za detoksykację szkodliwych substancji w organizmie ludzkim, stąd ważne było zbadanie czy soki z kapusty mogą potencjalnie wpływać na detoksykacyjną sprawność działania tego organu, stosując komórki HepG2 jako model. W tym przypadku oznaczono także indukcję aktywności innego enzymu fazy II DT-diaforazy (NQO1), oksydoreduktazy katalizującej dwuelektronową redukcję chinonów i tym samym przeciwdziałającej cyklicznej reakcji rodnikowej tych związków z tlenem cząsteczkowym generującej reaktywne formy tlenu. Kinytyki indukcji obu enzymów przez soki ze świeżej i kiszonej kapusty białej przedstawiono na rys 7.



Rys. 7. Kinytyka indukcji enzymów detoksykacyjnych S-transferaz glutationowych i DT-diaforazy w komórkach ludzkiego raka wątroby HepG2 przez 10% (v/v) soki z kapusty świeżej i kiszonej.

Fig. 7. Kinetics of the induction of detoxifying enzymes: glutathione S-transferases and DT-diaphorase in human hepatoma cells HepG2 by 10% (v/v) fresh cabbage juice or sauerkraut juice.

Źródło: / Source: [8]

Także w przypadku NQO1, sok ze świeżej kapusty wykazywał większą zdolność stymulacji aktywności enzymatycznej. Natomiast odmienna była kinytyka indukcji obu typów enzymów: w przypadku GST maksimum indukcji obserwowano po 6 godz. ekspozycji komórek na ten sok, a NQO1 dopiero po 24 godz.

W badaniach na szczurach wykazano, że także *in vivo* składniki kapusty mogą efektywnie indukować GST. Dożołądkowe podanie soku z kiszonej i świeżej kapusty w zróżnicowany sposób wpływało na aktywność GST i charakteryzowało się specyficznością narządową. W wątrobie po podaniu soku z kiszonej kapusty zaobserwowano zależne od czasu ekspozycji zwiększenie aktywności GST, która po 30 dniach była o ok. 60% wyższa niż u zwierząt kontrolnych. Pod wpływem soku ze świeżej kapusty indukcja GST utrzymywała się na stałym poziomie we wszystkich badanych punktach czasowych i była o około 30% wyższa od wartości oznaczonej w grupie zwierząt kontrolnych. W nerkach podwyższoną aktywność GST (o około 23-28%) stwierdzono jedynie po 4-dniowej ekspozycji na soki [22].

Z przedstawionych badań wynika, że indukcja aktywności enzymów II fazy udokumentowana głównie w odniesieniu do wyizolowanych związków lub ekstraktów z warzyw krzyżowych zachodzi także bardzo efektywnie przy użyciu naturalnej mieszaniny, jaką jest sok, w dawkach odpowiadających spożyciu w diecie.

Podsumowanie

W krajach półkuli północnej, w tym w Polsce, choroby nowotworowe stają się obecnie najbardziej znaczącym elementem kosztów leczenia społeczeństw oraz główną przyczyną przedwczesnych zgonów. Stąd też występuje ogromne zainteresowanie profilaktyką nowotworową. Prowadzone w wielu instytucjach naukowych badania eksperymentalne mają na celu sprawdzenie mechanizmu przeciwnowotworowego działania zarówno wybranych produktów żywnościowych, jak i substancji izolowanych z jadalnych roślin. Ma to na celu opracowanie takich rekomendacji dietetycznych, które pozwolą na zmniejszenie zagrożenia chorobami nowotworowymi.

Konsumenci XXI wieku, jak trafnie podkreśla Hardy [12] w artykule poświęconym żywności funkcjonalnej, potrzebują rekomendacji żywieniowych ze strony wykwalifikowanych dietetyków i farmakologów. I jak kontynuuje wspomniany autor, jeżeli ta potrzeba nie zostanie zaspokojona to niewykwalifikowani „znawcy“ będą mogli wypełnić tę lukę i na pewno to zrobią.

Badania prowadzone na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, we współpracy z innymi ośrodkami, wpisują się w działania nad rozwiązaniem tego ważnego społecznie problemu. Głównym obiektem zainteresowań autorów jest świeża i kiszona kapusta, ponieważ była i jest ona w tej części Europy warzywem spożywanym w największych ilościach przez cały rok, a więc przekonanie społeczeństwa do jej konsumpcji nie powinno budzić oporu jakiego nie sposób uniknąć np. w przypadku zalecania zielonej herbaty jako podstawowego napoju. Szczególnie, że badania wskazują na kapustę jako źródło licznych substancji o aktywności biologicznej, ważnych ze względu na chemioprotekcję nowotworową. Obserwuje się obecnie ogromne zmiany w preferencjach dietetycznych społeczeństwa wraz z nadejściem restauracji typu „fast

food“ i popularyzacji kuchni egzotycznych, dlatego ważne stają się uzasadnione wynikami badań rekomendowanie tradycyjnych, a sprzyjających zdrowiu produktów spożywczych, by pozostały one nadal istotnym elementem jadłospisu każdej rodziny.

Praca była prezentowana podczas VIII Konferencji Naukowej nt. „Żywność XXI wieku – Żywność a choroby cywilizacyjne”, Kraków, 21–22 czerwca 2007 r.

Literatura

- [1] Bartoszek A.: Genotoxic food components. In: Carcinogenic and anticarcinogenic food components – ed. W. Bear-Dubowska, A. Bartoszek i D. Malejka-Giganti. Ed. CRC Taylor & Francis Group, Boca Raton 2006, pp 69-96.
- [2] Bartoszek A.: Substancje mutagenne, rakotwórcze i przeciwrakotwórcze w żywności. W: Chemia żywności. Skład, przemiany i właściwości żywności - pod red. Z. E. Sikorskiego. WNT, Warszawa 2007, w druku.
- [3] Bartoszek A., Forc A., Grześkowiak J.: Antioxidative properties of selected food components traditional for diets in Central Europe. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **11/52**. 67-70.
- [4] Bartoszek A., Lewandowska J., Kruszyna A., Szukalska E., Tynek M.: Antioxidative activity of fresh white cabbage and sauerkraut provides essential protection of other food components (*ex vivo*) and cultured cells (stimulated *in vivo*). *Proc. of 35th Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society, Kos, Greece 2005*, p. 133.
- [5] Borowska A., Klajn P., Mielżyńska D., Siwińska E., Bartoszek A.: Antimutagenic activity of white cabbage, raw and processed, juices towards food mutagens MeIQx i PhIP. *Proc. 29. Conf. FEBS. Eur. J. Biochem. The FEBS J.*, 2004, **271**, 234.
- [6] Ciska E., Pathak R. D.: Glucosinolate derivatives in stored fermented cabbage. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 7938-7943.
- [7] Collins A. R.: Antioxidant intervention as a route to cancer prevention. *Eur. J. Cancer*, 2005, **41**, 1923-1930.
- [8] Czapiewska K.: Badanie aktywności enzymów detoksykacyjnych w komórkach ludzkiego raka wątroby HepG2 poddanych działaniu soków z kapusty. Praca dyplomowa, Katedra Technologii Leków i Biochemii, Politechnika Gdańska, (2007).
- [9] Demarini M. D.: Inhibition of fried meat-induced DNA damage: use of cruciferous vegetables, yogurt, and chlorophyllin in a dietary intervention study in humans. *Abstracts of 36th Annual Meeting of European Environmental Mutagen Society, Prague, Czech Republic 2006*, p. 94.
- [10] Eberhardt M. V., Jeffrey E. H.: Perspective. When dietary antioxidants perturb the thiol redox. *J. Sci. Food Agric.* 2006, **86**, 1996-1998.
- [11] Grześkowiak J.: Badanie biochemicznych i biologicznych aktywności soków z kapusty, ważnych z punktu widzenia profilaktyki przeciwnowotworowej. Praca dyplomowa, Katedra Technologii Leków i Biochemii, Politechnika Gdańska, Gdańsk 2002.
- [12] Hardy G.: Nutraceuticals and functional foods: introduction and meaning. *Nutrition*, 2000, **1**, 688-689.
- [13] Hussain S. P., Hofseth L. J., Harris C. C.: Radical causes of cancer. *Nature Rev. Cancer*, 2003, **3**, 276-285.
- [14] IARC Handbooks of cancer prevention. Part 9: Cruciferous vegetables, isothiocyanates and indoles. IARC Press, Lyon, Francja 2004.

- [15] Kusznierevicz B., Bartoszek A., Wolska L., Drzewiecki J., Gorinstein S., Namieśnik J.: Partial characterization of white cabbages (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba*) from different regions by glucosinolates, bioactive compounds, total antioxidant activities and proteins. *J. Food Sci. Technol.*, 2008, 41, 1-9.
- [16] Kusznierevicz B., Lewandowska J., Kruszyna A., Piasek A., Śmiechowska A., Wolska L., Namieśnik J., Bartoszek A.: Badania potencjału przeciwutleniającego kapusty białej przed i po obróbce kulinarnej oraz jej zdolności do indukowania komórkowych mechanizmów antyoksydacyjnych. *Mat. Konf. Nauk. Naturalne przeciwutleniacze - od surowca do organizmu*. Wyd. AR, Poznań 2007, s. 61.
- [17] Kusznierevicz B., Śmiechowska A., Bartoszek A., Wolska L., Namieśnik J.: The effect of heating and fermenting on antioxidant properties of white cabbage. *Food Chemistry* (w druku DOI:10.1016/j.foodchem.2007.11.049).
- [18] Kusznierevicz B., Śmiechowska A., Wolska L., Bartoszek A., Namieśnik J.: The influence of culinary processes on content of bioactive compounds in white cabbage from non-organic and organic farming. *Mat. Konf. Nauk. 50 Jubileuszowy Zjazd PTChem oraz SITPChem "Chemistry, Environment & Human Activity in Civilization Development"*, 2007, Toruń, 2007, s. 203
- [19] Loo G.: Redox-sensitive mechanisms of phytochemical mediated inhibition of cancer cell proliferation (Review). *J. Nutr. Biochem.*, 2003, 14, 64-73.
- [20] Peto J.: Cancer epidemiology in the last century and the next decade. *Nature*, 2001, 411, 390-395.
- [21] Rybaczuk-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 4th Annual Conference on Frontiers in Cancer Prevention Research*, Baltimore, Maryland, 2005, Abstract no 3697.
- [22] Szaefer H., Krajka- Kuźniak V., Bartoszek A., Baer-Dubowska W.: Modulation of the expression of enzymes metabolizing xenobiotics in rat liver and kidney by oral administration of cabbage and sauerkraut juice. *Mat. 15. Międzyn. Kongresu PTF. Pol. J. Pharmacol.*, 2004, 56 (Supl), 200-201.
- [23] Szukalska E., Tynek M., Dębecka J., Papiernik L.: Badanie przemian oksydacyjnych tłuszczu zachodzących w układzie tłuszcz-kapusta podczas obróbki termicznej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, XXXVII (Supl), 461-466.
- [24] Tynek M., Papiernik L.: Aktywność przeciwutleniająca polifenoli zawartych w sokach z kapusty surowej i kiszonej podczas ich obróbki termicznej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, XXXVII (Supl), 171-175.
- [25] WCRF/AICR: Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. *World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research*, Washington DC, AICR, 1997.
- [26] Whitty J. P., Bjeldanes L. F.: The effects of dietary cabbage on xenobiotic-metabolizing enzymes and the binding of aflatoxin B₁ to hepatic DNA. *Food Chem. Toxicol.*, 1987, 8, 581-587.
- [27] Wogan G. N., Hecht S. S., Felton J. S., Conney A. H., Loeb L.A.: Environmental and chemical carcinogenesis. *Seminars in Cancer Biol.*, 2004, 14, 473-486.
- [28] Yu Y. H., Carlson K. E., Sun J., Pathak D., Katzenellenbogen B. S., Katzenellenbogen J. A., Helferich W. G.: Estrogenic effects of extracts from cabbage, fermented cabbage, and acidified Brussels sprouts on growth and gene expression of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) cells. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48, 4628-4634.
- [29] Zduńczyk Z.: Przeciwdrożdzywe i/lub prozdrowotne właściwości wtórnych metabolitów roślin. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, 4 (29) (Supl), 150-155.
- [30] Zhang Y., Callaway E. C.: High cellular accumulation of sulphoraphane, a dietary anticarcinogen, is followed by rapid transporter-mediated export as a glutathione conjugate. *Biochem. J.*, 2002, 364, 301-307.

ANTI-CARCINOGENIC PROPERTIES OF WHITE CABBAGE

S u m m a r y

Presently, in the developed countries, oncological diseases have become the most significant factor of the medical treatment costs of the populations, as well as the main reason of premature deaths. This is why there is a huge interest in anti-carcinogenic prophylaxis; this interest has become particularly substantial upon the evidence provided by epidemiological studies that plant-derived foods contained numerous phyto-chemicals capable of preventing the development of neoplasms. Cruciferous vegetables can be particularly valuable, since, in their case, an essential, negative correlation between the level of their consumption and the level of incidence of breast, colorectal and lung neoplasms was found. In Central Europe, white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) is the most important vegetable of the cruciferous plant family; it is a traditional element of the diets in the countries in this region. Owing to its high consumption level and its availability all year round, this vegetable can be a potentially significant element in the chemoprevention against cancer diseases.

At the Chemical Faculty at the Gdańsk University of Technology, multifaceted research projects were initiated and accomplished, with the purpose of assessing the anti-carcinogenic properties of both the fresh and the culinary processed cabbage. In the research projects, various experimental models, diverse doses and forms of the vegetable preparations were applied; they all were as close to the real consumption as possible. The common opinion is that reactive oxygen species (ROS) are one of the triggers of carcinogenic processes; they react with important cellular bio-molecules, change their structure and function, and, thereby, contribute to the transformation of a healthy cell into a neoplastic one. ROS are also believed to be a cause of many other civilization diseases, as well as of the aging processes. Therefore, one of the project lines carried out by the authors of this paper and dealing with the anti-carcinogenic properties of cabbage, was the assessment of potentiality of phyto-complex of this vegetable to prevent the effects by ROS. The research project was designed so as to make it possible to assess the cabbage at different levels. To start with, its antioxidant activity was measured *in vitro* and antioxidant substances were determined; next, the capability of cabbage was assessed to: protect other food components against the oxidation; protect cells against the attack by ROS; and, finally, induce endogeneous mechanisms within cells that neutralize the resulting effects by oxidative stress.

The paper is a summary of the investigations carried out by three research groups. It was found that the components of both the fresh and the culinary processed cabbage did not only prevent other food components against unfavourable thermo-oxidative processes, but they also developed a number of activities allowing the human organism to neutralize reactive oxygen species, and, also, to overcome damaging effects resulting from the ROS activity.

Key words: white cabbage, anti-carcinogenic prophylaxis, antioxidative properties 