Antiestrogeno djelovanje indola iz zelenog lisnatog povrća

Matuha, Josipa

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:451218

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Josipa Matuha

Antiestrogeno djelovanje indola iz zelenog lisnatog povrća

Završni rad

Mentor: dr.sc. Valentina Pavić, docent

Osijek, 2016. godina

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA **Završni rad**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za biologiju
Završni rad
Preddiplomski studij biologije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Biologija

Antiestrogeno djelovanje indola iz zelenog lisnatog povrća

Josipa Matuha

Mentor: dr.sc. Valentina Pavić

Kratak sadržaj: Zeleno lisnato povrće skupina je biljaka koja pripada porodici *Brassicaceaea*. Bogato je indolima, koji su produkt hidrolize glukozinolata. U potencijalno korisne aktivnosti glukozinolata i proizvoda njihove enzimatske hidrolize ubrajaju se antifungalna, antibakterijska, bioherbicidna, biopesticidna, antioksidativna, antimutagena i antikancerogena aktivnost. Indol 3-karbinol i i diindolilmetan (DIM) su ključne bioaktivne molekule zelenog lisnatog povrća. Djeluju kao antiestrogeni, odnosno antagonisti receptora estrogena, na način da blokiraju ili ometaju receptor za estrogen. Induciraju enzim koji pretvara estron u 2-OHE na trošak 16 α-OHE, a povećanje omjera 2:16 α-hidroksiestrona povezano je sa smanjenjem rizika od raka dojke.

Broj stranica: 25
Broj slika: 11
Broj tablica: 1
Broj literaturnih navoda: 47
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: indol, antiestrogeno djelovanje, zeleno lisnato povrće
Datum ocjene:

Rad je pohranjen u: knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju

BASIC DOCUMENTATION CARD **BSc thesis**

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Department of Biology
Bachelor's thesis
Undergraduate university study programme in Biology

Scientific Area: Natural Sciences
Scientific Field: Biology

Antiestrogenic effects of indoles from green leafy vegetables

Josipa Matuha

Supervisor: dr.sc. Valentina Pavić

Abstract: Green leafy vegetables are a group of plant families *Brassicaceaea*. They are rich in indoles, which are products of hydrolysis of glucosinolates. Potentially useful activities of glucosinolates and products of their enzymatic hydrolysis includes antifungal, antibacterial, bioherbicidal, biopesticidal, antioxidant, anticancer and antimutagenic activity. Indole 3-carbinol and the diindolilmetan (DIM) are a key bioactive molecules of green leafy vegetables. They act as antiestrogens or estrogen receptor antagonists, by blocking or counteract estrogen receptor.They induce an enzyme that converts estrone in 2 -OHE to cost 16 α-OHE , and an increase in the ratio of 2:16 α -hidroksiestron associated with reduced risk of breast cancer.

Number of pages: 25
Number of figures: 11
Number of tables: 1
Number of references: 47
Original in: Croatian

Key words:indole, antiestrogen action, green leafy vegetables

Date of grading:

Thesis deposited in: Library of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in National university library in Zagreb in electronic form. It is also available on the web site of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Sadržaj

1. Uvod 2
2. Osnovni dio 4
2.1 Glukozinolati i njihovi derivati 4
2.2 Estrogeni 11
2.3. Estrogen-povezana oboljenja 15
3. Zaključak 19
4. Literatura 20

1. Uvod

Zeleno lisnato povrće nalazi se u porodici *Brassicaceaea*, a najpoznatiji predstavnici su kelj, špinat, zeleni maslačak, kupus i blitva (Slika 1) (Martínez-Sánchez, 2008). Porodica krstašica ili kupusnjača (*Brassicaceae, Cruciferae*) je velika grupa biljaka u koju spada oko 3700 vrsta grupiranih u oko 330 rodova. Porodica ima kosmopolitsko rasprostranjenje, ali se najveći broj vrsta nalazi na sjevernoj Zemljinoj hemisferi i to u hladnom, odnosno borealnom i umjerenom pojasu. Krstašice naseljavaju raznovrsna staništa, a u planinskim pojasevima dopiru i do gornje granice prostiranja vegetacije.

Kada se govori o prehrani, zeleno lisnato povrće najvjerojatnije spada u najviše zanemareno i izbjegavano kao dobra namirnica. Ako se uzme u obzir snažna doza vitamina, minerala, antioksidansa i fitonutrijenata (lutein, beta-kriptoksantin, zeaksantin i beta- karoten) koje možemo dobiti iz špinata, kelja, blitve, maslačaka i drugih vrsta pravo je čudo da je moguće živjeti bez njih (Martínez-Sánchez i sur., 2008). Zeleno lisnato povrće čini značajan izvor vitamina A, C, E i K, kao i nekoliko vitamina B. Oni su bogat izvor minerala kao što su kalcij, magnezij, željezo i kalij, pružaju izvrstan izvor proteina, te su bogati vlaknima, a imaju izuzetno nisku razinu masti i ugljikohidrata (Martínez-Sánchez i sur., 2008), te su zbog toga vrlo korisni za smanjenje rizika od raka i srčanih bolesti. Idealno je za kontrolu težine jer ono obično ima jako malo kalorija. Zbog visokog sadržaja magnezija i niskog glikemijskog indeksa, zeleno lisnato povrće također je korisno za osobe s dijabetesom tipa 2 (Liu i sur., 2004). Visoka razina vitamina K čini ih važnim za proizvodnju osteokalcina, proteina esencijalnog za zdravlje kostiju (Vermeer i sur., 1995). Zbog visoke razine beta-karotena, koji se također može pretvoriti u vitamin A, korisno je za poboljšanje rada imunološkog sustava. Milijuni djece širom svijeta imaju povećani rizik od sljepoće i drugih bolesti zbog neadekvatne prehrane vitaminom A od zelenog lisnatog povrća (Raju i sur., 2007).

Lutein i zeaksantin, su karotenoidi koncentrirani u očnoj leći i makularnom području mrežnice i igraju zaštitnu ulogu u oku (Sommerburg i sur., 1998). Štite protiv katarakte i senilne makularne degeneracije, glavnog uzroka sljepoće u starijih osoba. Neke studije pretpostavljaju da lutein i zeaksantin mogu pomoći smanjiti rizik od određenih vrsta raka, kao što su rak dojke i rak pluća, a mogu pridonijeti prevenciji bolesti srca i moždanog udara (Sommerburg i sur., 1998).

Kupus, cvjetača, prokulica i brokula bogate su indolima i izotiocijanatima o čijem antiestrogenom djelovanju postoje mnoga istraživanja koja su pokazala kako će veća konzumacija zelenog lisnatog povrća značajno smanjiti rizik od raka dojke i raka kože (Poppeli sur., 1999).



Slika 1. Zeleno lisnato povrće (web 1).

2. Osnovni dio

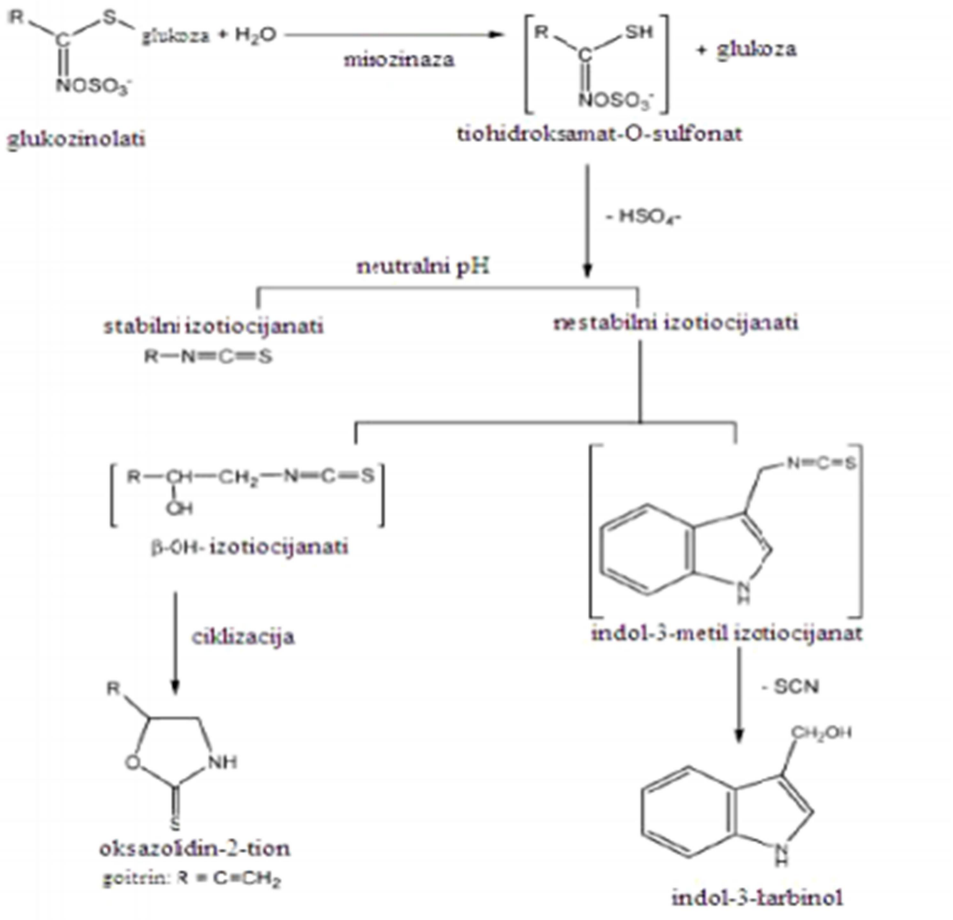
2.1. Glukozinolati i njihovi derivati

Heterociklička kemija je jedna od najvrjednijih izvora novih spojeva s različitim biološkim aktivnostima, uglavnom zbog jedinstvene sposobnosti dobivenih spojeva da oponašaju strukturu peptida i reverzibilnog vezanja na proteine (Dolle, 2001). Povrće porodice *Brassicaceae* bogato je glukozidima koji sadrže sumpor te se nazivaju glukozinolati (Fenwick i sur., 1983). Oko 120 različitih glukozinolata identificirani su u 15 porodica dvosupnica, ali je samo oko 20 nađeno u porodici *Brassicaceae* (Tablica 1) (Kushad i sur., 1999). Opća struktura glukozinolata sastoji se od glukonskog ostataka i varijabilne aglukonske R skupine (Magraht i sur., 1993). Glukozinolati su podijeljeni u skladu s njihovim biosintetskim prekursorima (Li i Kushad, 2004). Alifatski glukozinolati su najobilniji u kupusnjača, te s glukorafaninom (4 metilsulfinilbutil glukozinolat), sinigrinom (2- propinil glukozinolat), progoitrinom ((2R) -2- hidroksibut-3-enil glukozinolat), glukoerukinom (4-methiltiobutil glukozinolat) i glukoiberinom (3 metisulfinilpropil glukozinolat) predstavljaju između 55 i 90% od ukupnog broja, ovisno o vrsti tkiva, fazi razvoja i uvjetima za rast (Rosa i sur., 2001).Ovi spojevi imaju različite biološke aktivnosti, uključujući zaštitu od raznih patogena i korova u slučaju biljaka i kao moćan antikancerogen (Vig i sur., 2009). U potencijalno korisne aktivnosti glukozinolata i proizvoda njihove enzimatske hidrolize ubrajaju se antifungalna, antibakterijska, bioherbicidna, biopesticidna, antioksidativna, antimutagena i antikancerogena aktivnost (Vig i sur., 2009).

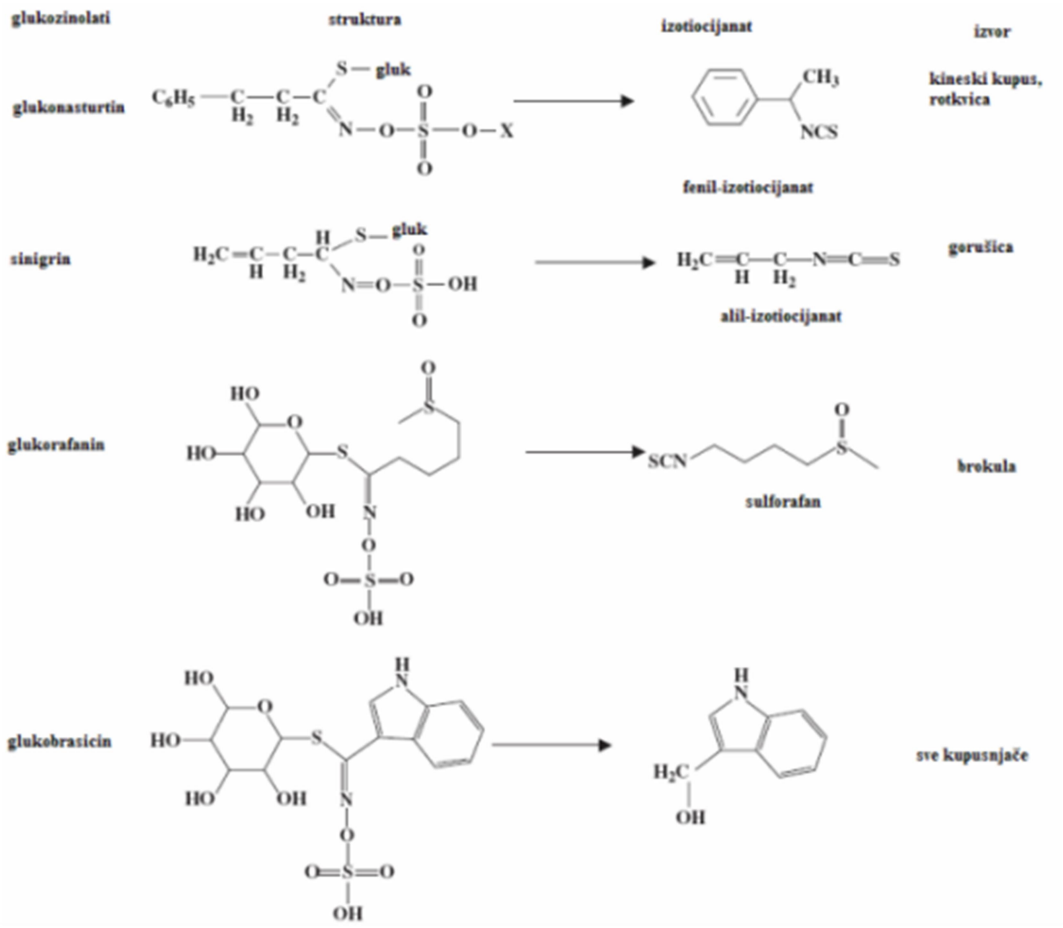
Semisistemsko ime R-skupine	Trivijalno ime glukozinolata	Povrće iz porodice *Brassicaceae*(+ prisutni; - nisu prisutni)				
		Kupus	Kelj pupčar	Cvjetača	Brokula	Kineski kupus
Alil	Sinigrin	+	+	+	+	-
But-3-enil	Glukonapin	+	+	+	+	+
Pent-4-enil	Glukobrasikanapin	-	-	+	+	+
(2R)-2-hidroksibut-3-enil	Progoitrin	+	+	+	+	+
3-metiltiopropil	Glukoibervirin	+	-	+	-	-
4-metiltiobutil	Glukoerucin	+	+	+	+	-
3-metilsulfinilpropil	Glukoiberin	+	+	+	+	-
4-metilsulfinilbutil	Glukorafanin	+	+	+	+	+
5-metilsulfinilpentil	Glukoalizin	-	-	-	-	+
4-metilsulfonilbutil	Glukoerisolin	+	-	-	-	-
Benzil	Glukotropaeolin	+	-	-	-	-
Fenetil	Glukonasturtin	+	+	-	+	+
Indol-3-ilmetil	Glukobrasicin	+	+	+	+	+
N-metoksiindol-3-ilmetil	Neoglukobrasicin	+	+	+	+	+
4-hidriksiindol-3-ilmetil	4-hidroksiglukobrasicin	+	+	+	+	+
4-metoksiindol-3-ilmetil	4-metoksiglukobrasicin	+	+	+	+	+

Tablica 1. Lista glukozionlata izoliranih iz različitog povrća porodice *Brassicaceae* (preuzeto i prilagođeno iz Hansen i sur., 1995).

Glukozinolati se pretvaraju u razne proizvode razgradnje (izotiocijanate, tiocijanate, indole i sl.), kada se povrće koje ih sadrže usitnjava ili žvače jer tijekom tog procesa dolaze u kontakt s enzimom mirozinaza koji ih hidrolizira (Vig i sur., 2009) (Slika 2). Biljke koje posjeduju glukozinolate sadrže enzim tioglukozid glukohidrolazu (mirozinaza). Kad glukozinolati i mirozinaza dolaze u kontakt jedan s drugim u prisutnosti vode, enzim odmah uzrokuje hidrolizu glukozinolata (Vig i sur., 2009). Produkt hidrolize sastoji se od aglikonske skupine, glukoze i sulfata.U biljnim stanicama glukozinolati su odvojeni od endogenih mirozinaza (Vig i sur., 2009). Kao rezultat mehaničke rane ili napada patogena, glukozinolat i enzim dolaze u kontakt i dolazi do stvaranja brojnih proizvoda hidrolize. Ovaj GSL-mirozinaza sustav je prisutan u svim krucifernim organima samo u drugačijim koncentracijama i ima važnu obrambenu funkciju (Vig i sur., 2009).



Slika 2. Hidroliza glukozinolata pomoću enzima mirozinaza (preuzeto i prilagođeno prema Higdon i sur., 2007).



Slika 3. Uobičajeni glukozionati i produkti njihove hdrolize. (preuzeto i prilagođeno prema Keck i Finley, 2004).

Proizvodi hidrolize glukozionlata imaju razne funkcije, tako su Walker, Morell i Foster (1937) promatrali antifungalno djelovanje ulja senfa i ekstrakta krucifernih biljaka koje sadrže alil i fenil izotiocijanate, što su potvrdili Hooker, Walker i Smith (1943). Osim toga, Greenhalgh i Mitchell (1976), te Gamliel i Stapleton (1993) su izvijestili da su izotiocijanati oslobođeni iz tkiva kupusa otrovni za *Peronospora parasitica, Pythium ultimum i Sclerotium rolfsii.*

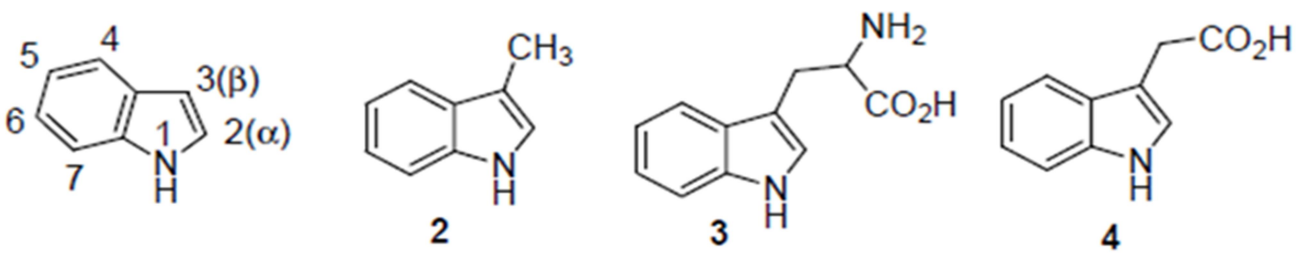
Proizvodi hidrolize glukozinolata snažni su inhibitori bakterijske aktivnosti, pa se tako alil izotiocijanat (AITC) koristi kao konzervans u prehrambenoj industriji (Tiedink i sur., 1991). Benzil izotiocijanat je korišten kao antibiotik za liječenje infekcija dišnih i urinarnih puteva (Mennicke i sur., 1988). Proizvodi hidrolize glukozinolata također su bioaktivni te imaju potencijal za upotrebu kao prirodno proizvedeni pesticidi za suzbijanje velikog broja nametnika u tlu, kao što su nematode, gljive i bakterije (Smolinska i sur., 2003).

Mnoga istraživanja rađena na brokuli *(Brassica oleracea* L. var. Italica) (Slika 4) su pokazala kako postoje značajne razlike u razini glukozinolata kod brokuli različitih sorti, varijacija u zaštiti okoliša i gospodarskih čimbenika kao što su dostupnost vode (navodnjavanje), sastavu tla (mineralne i organske hranjive tvari) i od intenziteta gnojidbe sumporom (Vallejo i sur., 2002). Vrlo malo se zna o sudbini bioaktivnih spojeva brokule, kao što su primjerice glukozinolati tokom procesa probave, a posebice njihovoj sudbini pod želučanim i crijevnim uvjetima, te učinku tih uvjeta na stabilnost ovih spojeva (Czapski, 2009). Istraživanja su pokazala da želučana probava brokule uzrokuje velike gubitke (69%) glukozinolata, dok su preostali glukozinolati tek neznatno utjecali na crijevne uvjete u probavnom sustavu (12% dodatnih gubitaka) (Czapski, 2009). Alifatski glukozinolati su mnogo stabilniji od derivata indola; samo se 27% gubi na želučanu probavu u usporedbi s indol derivatima, koji trpe gubitke od 73% (Vallejo i sur., 2004.). Visok gubitak glukozinolata tijekom želučane probave može se objasniti visokom degradacijom ovih spojeva do nitrila pri pH želuca (~ 3) i niskom stabilnošću na crijevni pH (~ 7), što dovodi do razgradnje u njihove sekundarne proizvode-izotiocijanate (Fenwick i sur. 1983). Interakcije između različitih spojeva u složenoj smjesi mogu biti pozitivne ili negativne (Czapski, 2009). Sulforafan oslobođen iz brokule može biti manje osjetljiv na vezivanje proteina, zbog čega je ta fitokemikalija otkrivena u većim koncentracijama u mokraći nakon hranjenja (Czapski, 2009). Ukupna nedavna istraživanja pokazuju da prehrambena brokula ili kruciferno povrće i pojedinačna komponenta, indol-3-karbinol, mogu ponuditi zaštitu od daleko šireg niza bolesti osim raka, uključujući kardiovaskularne i neurodegenerativne bolesti. Zajednička veza između tih oksidativnih degenerativnih bolesti i raka može biti pogoršanje upalom, a komponente brokule mogu zaštititi od upala, inhibirajući proizvodnju citokina (Kaushik i sur., 2013).



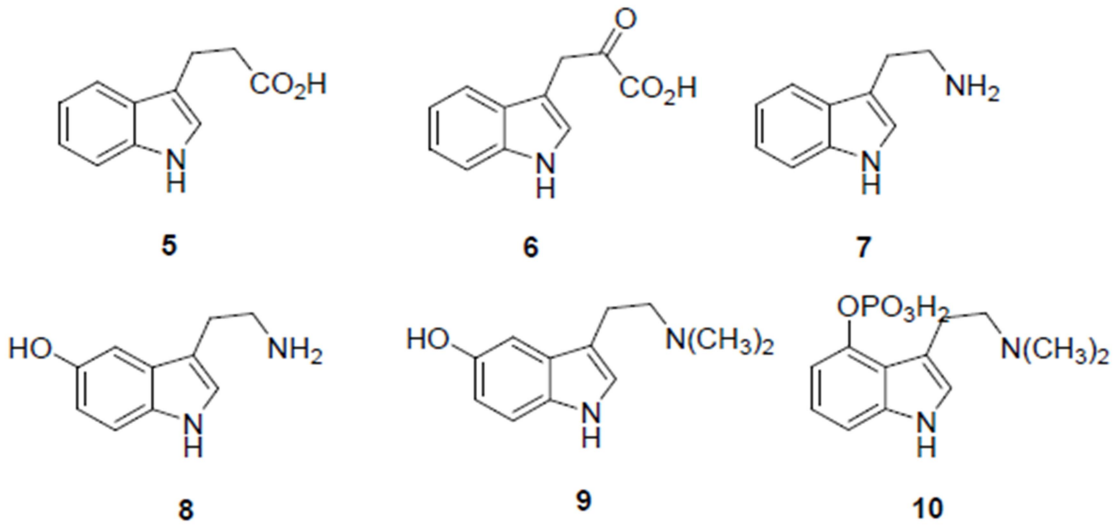
Slika 4. *Brassica oleracea* L. var. Italica (web 6)

Jedan od produkata hidrolize glukozinolata su i indoli, koji su sastavljeni od benzenskog prstena kondenziranog u prsten pirola. Molekulska formula indola je C_8H_7N. Indoli su široko rasprostranjeni heterociklički spojevi koji imaju ljekovitu važnost, te su skupina velikog broja značajnih spojeva koji nastaju u prirodi (Slika 5) (Kaushik i sur., 2013). Indol i jednostavni alkilindoli su bezbojne kristalne krutine s mirisnim rasponom od mirisa naftalena, kao u slučaju samog indola pa sve do fekalnog u slučaju skatola (3-metilindol) (Kaushik i sur.,2013). Triptofan (2-amino-3-(3'-indolil) propionska kiselina) je esencijalna aminokiselina koja se prirodno pojavljuje, a više biljke razgrađuju triptofan u heteroauksin (indol-3-octena kiselina) koji je biljni hormon (Kaushik i sur., 2013). Bakterije degradiraju triptofan u triptamin (2- (3'-indoil) etilamin) koji je osnova za neke od kondenziranih prstena alkaloida (Kaushik i sur., 2013).



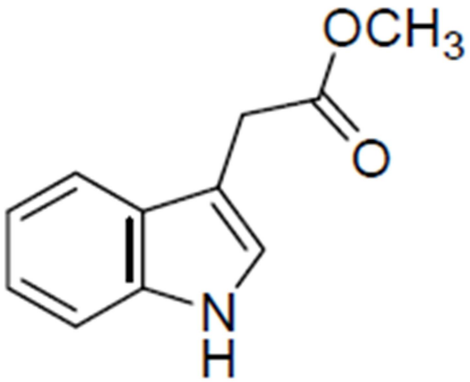
Slika 5. Indoli (preuzeto i prilagođeno prema Kaushik i sur., 2013).

Derivat indola, bufotenin koji se nalazi u koži žaba te otrovnim gljivama i psilocibin koji se javlja u određenim gljivama poznati su po svojim psihotropnim učincima (Chilton i sur., 1979). Alkaloid strihnin djeluje snažno uzrokujući mišićne kontrakcije, a toksiferin djeluje na opuštanje mišića (Kaushik i sur., 2013). Od klinički korisnih alkaloida važno je istaknuti tri skupine: (a) ergot alkaloid-ergometrin sa direktnim djelovanjem na kontrakcije mišića maternice, ergotamin za migrene i modificirani alkaloid, bromokriptin, koji smanjuje laktaciju i ima primjenu u liječenju karcinoma dojke; (b) Rauvolfia alkaloidi, a osobito rezerpin, koji je preteča sredstava za smirenje; (c) dimerni alkaloidi protiv leukemije vinblastin i vinkristin (Kaushik i sur., 2013). Neke biljke i gljivice su bogate indol sadržavajućim molekulama, uključujući indol -3- karbinol, harman, lizerginsku kiselinu, bufotenin, serotonin i triptamin (Kaushik i sur., 2013).



Slika 6. Derivati indola (preuzeto izKaushik i sur., 2013).

Indol 3-karbinol je ključna bioaktivna molekula zelenog lisnatog povrća i dobro istražena za prevenciju nekoliko vrsta raka (debelog crijeva i rektuma, limfoma, karcinoma dojke i raka prostate) (Lynn, 2006). Metil 3-indolacetat pronađen u krucifernom povrću, također inhibira invaziju stanica raka ciljanjem MEK1 / 2-ERK1 / 2 signalnog puta (Slika 7) (Kaushik i sur., 2013). Nedavno su istraživači zapazili da su metil-3- indolil acetat i derivati indola koji su prisutni u velikom broju različitog križanog povrća, uključujući kupus, brokulu, prokulice, senf, tajlandski kelj, itd. prisutni u koncentracijama u rasponu od 20 do 100 µg / g (Kaushik i sur., 2013).



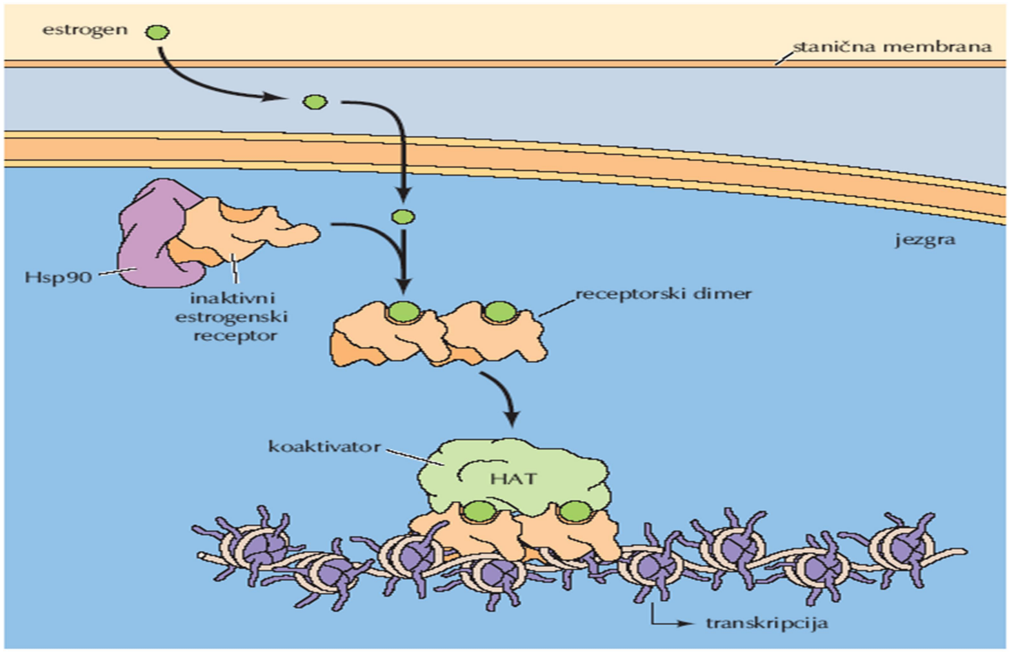
Slika 7. Metil 3-indolacetat (preuzeto iz Kaushik i sur., 2013)

2.2. Estrogeni

Estrogeni hormoni su odgovorni za rast i razvoj ženskih spolnih karakteristika i reprodukciju u ljudi i životinja (Guyton i Hall, 2012). Proizveden je u jajnicima, nadbubrežnoj žlijezdi i masnim tkivima. Točnije, estradiol i estron su oblici primarno proizvedeni u jajnicima u žena u premenopauzi, dok estriol proizvodi posteljica tijekom trudnoće (Guyton i Hall, 2012). Kod žena, estrogen cirkulira u krvotoku i veže se na estrogenske receptore na stanicama u ciljanim tkivima, koji utječu ne samo na grudi i maternicu, već i na mozak, kosti, jetru, srce i druga tkiva (Guyton i Hall, 2012). Estrogen kontrolira rast sluznice maternice tijekom prvog dijela menstrualnog ciklusa, uzrokuje promjene grudi tijekom puberteta i trudnoće i regulira razne druge metaboličke procese, uključujući rast kostiju i razinu kolesterola (Guyton i Hall, 2012).

Estrogeni moraju disocirati sa proteina za kojeg su vezani u plazmi i ući u stanicu kako bi se vezali za svoj receptor. Postoje dvije vrste estrogenskih receptora**,** a to su α i β (ER-α i ER-β). Pojedina tkiva imaju ekspresiju samo jednog tipa receptora, dok druga tkiva oba**.** ER–αnalazimo pretežito u maternici, jetri, bubrezima i srcu, dok ER-β u jajnicima, prostati, plućima, gastrointestinalnom traktu, hematološkim stanicama i u središnjem živčanom sustavu.

Vezanjem hormona za receptor dolazi do konformacijske promjene. Disocira stabilizirajući protein (uglavnom Hsp90) i kompleks hormon-receptor dimerizira. Nastali homodimer veže se za specifičan slijed nukleotida u promotorskoj regiji različitih gena (element reaktivan na estrogene, ERE) i regulira njihovu transkripciju. Na taj način preko prevođenja RNA i sinteze proteina estrogeni postižu genomske učinke. Također imaju i neizravne tj. autokrine i parakrine učinke, pri čemu djeluju kao čimbenici rasta i citokini.

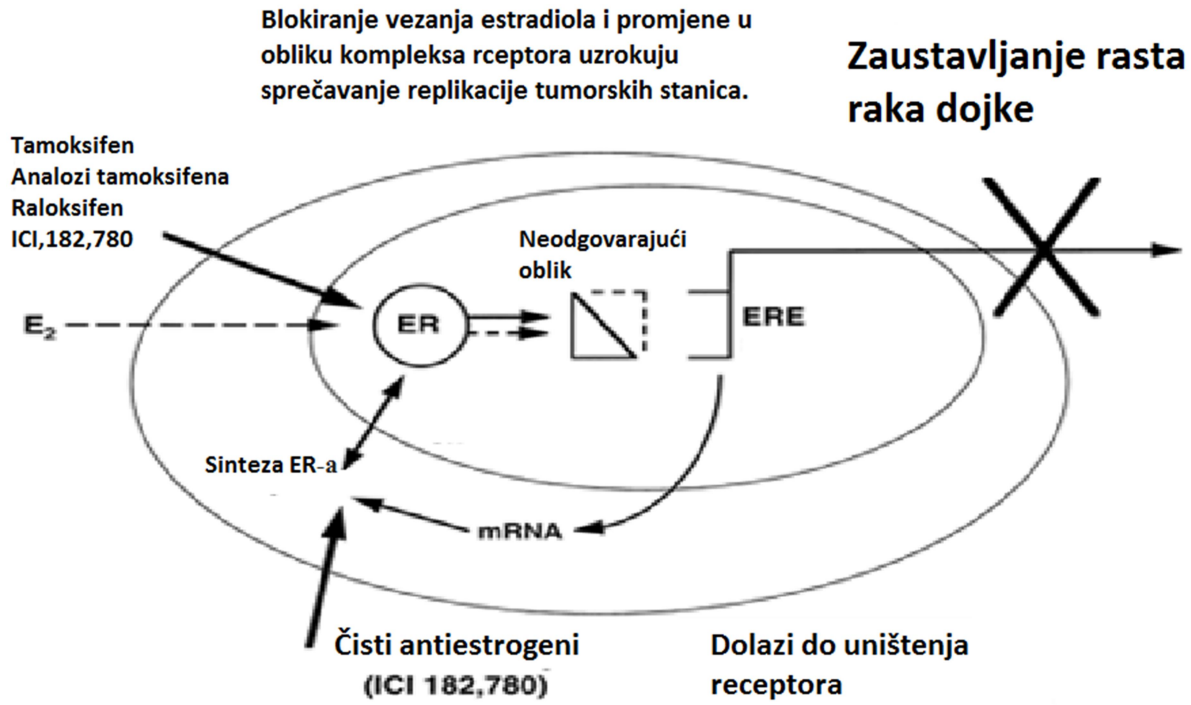


Slika 8. Mehanizam djelovanja estrogena (preuzeto iz Cooper i Hausmann, 2010).

Negenski učinci nastupaju puno brže jer za njih nije potrebna sinteza proteina, a postižu se vezanjem za receptore izvan stanične jezgre kao npr. vezanjem za receptore na staničnoj membrani. Tako pokreću transdukciju nizvodnog signala koji mijenja unutarstaničnu koncentraciju kalcija i cAMP ili aktivira nizvodne kinaze (Cooper i Hausmann, 2010).

Antiestrogeni su antagonisti receptora estrogena, tj. blokiraju ili ometaju receptor za estrogen (web 3). Antiestrogeni se smatraju kompetitivnim inhibitorima vezanja estrogena na estrogenski receptor (Jordan i sur., 1974). Antiestrogeni se mogu podijeliti u dvije glavne kategorije na temelju njihovog mehanizma djelovanja (Macgregor i sur., 1998). Tip I antiestrogeni su analozi tamoksifena ili strukturnih derivata tipa lijeka trifeniletilen, dok su tip II čisti antiestrogeni (Macgregor i sur., 1998). Nedavne studije pokazuju da tamoksifen i novi

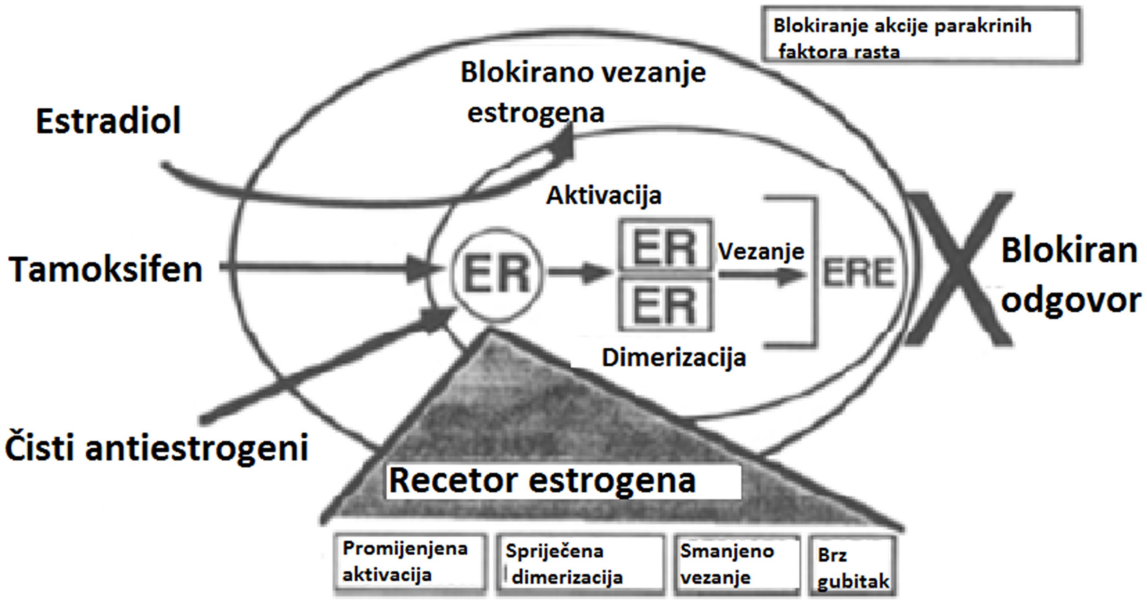
čisti antiestrogeni imaju različite mehanizme djelovanja: tamoksifen i srodni spojevi uzrokuju promjenu u presavijanju steroidne vezujuće domene koja sprečava aktivaciju gena, dok čisti antiestrogeni uzrokuju manje ometanje elemenata odgovora i izazivaju brzi gubitak receptorskog kompleksa (Jordan i sur., 1994). Trenutni molekularni model djelovanja estrogena (Slika 8) pruža nekoliko potencijalnih slabosti koje mogu iskoristiti antiestrogeni (Macgregor i sur., 1998).



Slika 9. Trenutni molekularni model antiestrogen djelovanja (preuzeto i prilagođeno prema Macgregor i sur., 1998).

Estradiol se veže na nuklearni receptor koji se potom aktivira, dimerizira i veže na estrogenske elemente odgovora (ERE), koji pak reguliraju aktivaciju (Slika 10). Estrogenski receptori stvaraju transkripcijski kompleks s RNA polimerazom interakcijom s aktivirajućim faktorima (Jordan i sur., 1994). Neki od načina na koje antiestrogeni mogu mijenjati mehanizam estrogenskih receptora također su prikazani na Slici 10. Brojne razlike u obliku estrogen i antiestrogen kompleksa receptora su prepoznati korištenjem antitijela na receptor estrogena, no te razlike nesumnjivo su pod kontrolom liganda koji utječe na slaganje proteina (Rochefort i sur., 1983). Studije povezanosti strukture i aktivnosti korištene su kako bi opisale jednostavan model na veznom mjestu steroida koji bi mogao predvidjeti koji spoj bi mogao

stimulirati ili inhibirati estrogensku akciju (Jordan i sur., 1994). Estrogenski i antiestrogenski kompleksi receptora će se onda natjecati za ERE (tada pod nazivom "mjesto nuklearnog akceptora„) (Katzenellenbogen i Ferguson, 1975). Studije *in vivo* pokazale su da se estrogen još uvijek može vezati u ciljnim tkivima kod antiestrogenom tretiranih životinja, ali odgovor je bio blokiran (Jordan i sur., 1994). Sadašnje poznavanje mehanizma djelovanja antiestrogena rezultat je nekoliko ključnih nalaza u laboratoriju. Godine 1976. otkriveno je da 4-hidroksitamoksifen ima visok afinitet prema receptoru estrogena (Jordan i sur., 1970), ali zadržava antiestrogeno i antitumorsko djelovanje. Do tog vremena, smatralo se kako su antiestrogeni bili nisko afinitetni spojevi koji brzo disociraju s receptora proteina pa je takav kompleks nesposoban za pokretanje punog estrogenskog odgovora (Korenman i sur., 1970). Činjenica je da se 4-hidroksitamoksifen veže na receptor s afinitetom ekvivalentom estradiolu, no blokira djelovanje estrogena, čime se utvrđuje farmakološki princip kod kojeg su afinitet vezanja i djelotvornost nepovezane osobine molekule.



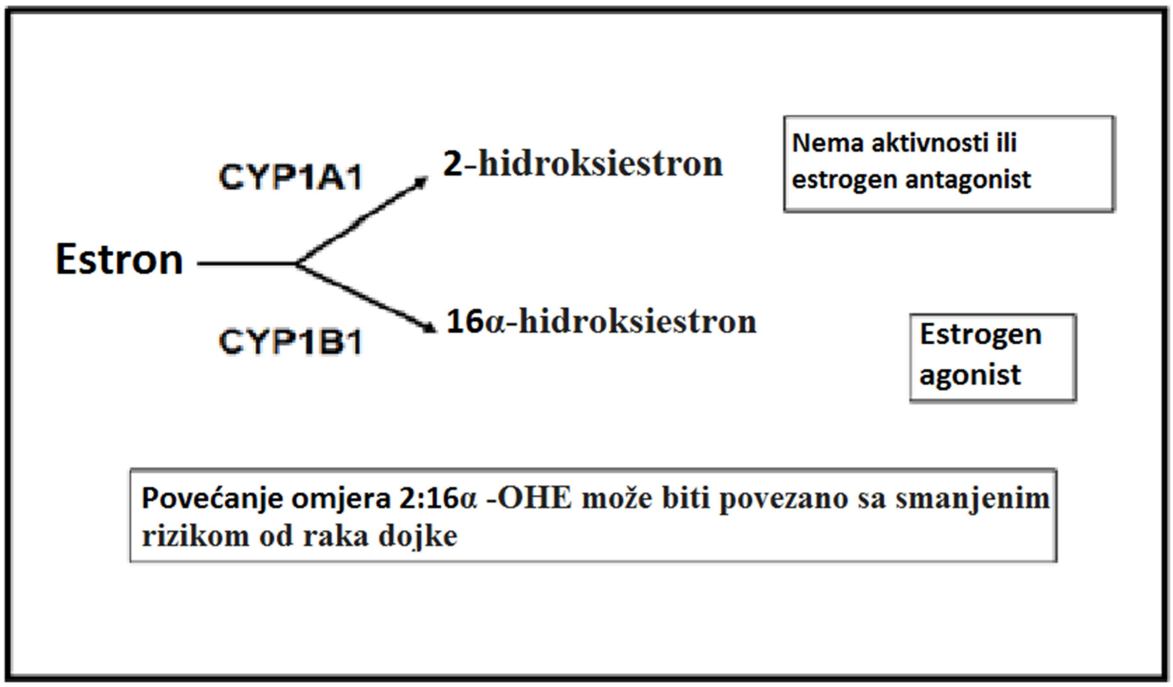
Slika 10. Potencijalni mehanizam antiestrogena u stanicama raka dojke (preuzeto i prilagođeno prema Macgregor i Jordan, 1998).

Nedavne studije s kloniranim estrogenskim receptorom za gen koji je transfektiran u kvascu pokazale su (Metzger i sur., 1988) da je hipoteza bila valjana, jer estradiol i 4-hidroksitamoksifen kompleks estrogenskog receptora mogu kompetitivno kontrolirati aktivaciju gena kroz ERE (Jordan i sur., 1994). Jednostavni model vezanja liganda na receptor predlaže da steroidna vezujuća domena može obuhvatiti estrogen te proizvesti potpuno aktivirani kompleks (Jordan i sur., 1994). Nasuprot tome, antiestrogen se želi vezati, ali alkilaminoetoksi bočni lanac sprječava savijanje dijela steroidne vezujuće domene (Jordan i sur., 1994).

2.3. Estrogen-povezana oboljenja

Dobro je poznato da su mnogi faktori rizika za karcinom dojke povezani s estrogenom ili reproduktivnim čimbenicima (Knight i sur, 2009). Dva estrogenska metabolita od posebnog su interesa 2-hidroksiestron (2-OHE) i 16α-hidroksiestron (16α-OHE) koji se često prikazuju zajedno kao omjer 2: 16α-hidroksiestron (2: 16α -OHE) (Knight i sur, 2009). Pokazano je u nekoliko studija da žene u postmenopauzi koje imaju veći rizik od raka dojke imaju povećanu razinu 16α-OHE ili smanjenu razinu 2-OHE u tijelu (Knight i sur, 2009).16α-OHE estrogenski metabolit ima visoku estrogensku aktivnost, dok 2-OHE ima antiestrogenu aktivnost (Obi i sur., 2011). Nedavne studije pokazale su da indol-3-karbinol (I3C), koji se nalazi se u kupusnjačama utječe na pretvaranje 2-OHE, poznatog kao "dobar estrogen" (Knight, 2009). Što je veći omjer "dobrog" 2-OHE i "lošeg" 16α-OHE to je značajno smanjen rizik od pojave raka dojke. Odnos tih dviju estrogenskih metabolita sada se naširoko smatra kao indikator za rizik od raka dojke i drugih hormonima povezanih rakova (Auborn i sur., 2003). 2- OHE: 16α-OHE omjer je također povezan sa rizikom od raka prostate. Iako rezultati istraživanja nisu uspjeli postići statističku značajnost, povišene razine 2-OHE u urina upućuju na smanjen rizik od raka prostate, dok su povišene razine 16α-OHE povezane s povećanim rizikom. Muškarci s visokim vrijednostima 16 α -OHE imaju dvaputa veću vjerojatnost da će imati rak prostate (Muti i sur., 2002). U križonosnom povrću spojevi, I3C i DIM, imaju funkciju pomicanja metabolizma estradiola na koristan puta čime se smanjuje razina toksičnog 16 α-OHE i povećanje razine zaštitnog 2-OHE. Ova korisna modulacija metabolizma estrogena povezana je sa smanjenjem rizika od raka dojke i drugih vrsta raka, uključujući rak vrata maternice i prostate (Fowke i sur., 2003).

Znanstvenici su usporedili mediteransku prehranu Talijana (sastoji se uglavnom od voća, sirovog povrća, kuhanog povrća, rakova, riba, maslinovog ulja i suncokretovog ulja) i više zapadnjačkog načina ishrane (sastoji se od alkohola, mesa i prerađene hrane), te su opazili da su načini ishrane povezani s rizikom od raka dojke u postmenopauzi: (1) veći rizik od raka dojke bio je povezane sa zapadnim tipom hrane i alkoholom; (2) smanjeni rizik od raka dojke povezan je s mediteranskim tipom ishrane sa visokim udjelom voća, povrća, ribe, te maslinovog i suncokretovog ulja (Cottet i sur. 2009). Kao što je već spomenuto, , kupusnjače, kao što su brokula, kupus, prokulica, cvjetača, kelj, repa i kelj, sadrže niz hranjivih tvari i fitokemikalija koje imaju prevencijska svojstva kao što su glukozinolati (koji se pretvaraju u izotiocijanate i indol), folna kiselina, vlakana, karotenoidi, vitamin C i klorofil u zaštiti protiv pojave raka (Higdon i sur., 2007). Enzimi odgovorni za pretvorbu estrona na 2-OHE ili 16alfa-OHE su citokrom P450 (CYP)(Knight i sur, 2009). Enzim CYP1A1 katalizira pretvorbu estrona u 2-OHE, dok pretvorbu estrona do 16α-OHE aktivira enzim CYP1B1 (Slika 11) (Lord i sur., 2002). Indol-3-karbinol (I3C) i diindolilmetan (DIM) induciraju enzim koji pretvara estron u 2- OHE na trošak 16α-OHE (Dalessandri i sur. 2004). Postoji nekoliko mehanizama koji mogu objasniti citotoksična svojstva I3C / DIM uključujući promjene u progresiji staničnog ciklusa, apoptozu, kancerogene aktivacije i popravak DNA (Kim i sur., 2005). Kupusnjače igraju važnu ulogu u ukupnom mehanizmu moduliranja aktivnosti staničnih enzima koji su odgovorni za formiranje estrogenskih metabolita (Maizes i sur., 2005).



Slika 11. Put metabolizma estrona (preuzeto i prilagođeno prema Lord i sur., 2002)

Neki autori smatraju kako je I3C posebno značajan u zaštiti protiv raka ovisnog o hormonima kao što je rak dojke, grlića maternice i prostate zbog svoje sposobnosti da pozitivno utječe naravnotežu estrogena u ljudskom tijelu (Aggarwal i sur., 2005). Na primjer I3C inhibira stanicu raka tako da ometa proizvodnju proteina koji su uključeni u nenormalnu staničnu reprodukciju i promiču proizvodnju tumor supresorskih proteina (Aggarwal i sur., 2005). I3C regulira mnoge gene koji su važni za kontrolu staničnog ciklusa, proliferaciju stanica, prijenos signala, te inducira apoptozu (programiranu smrt stanica) u stanicama raka ometanjem proizvodnje spojeva koje rak obično proizvodi radi zaštite od apoptoze (Sarkar i Li,2004). Vjeruje se da se I3C nalazi u jetri i crijevnoj sluznici radi poboljšanja funkcioniranja kritičnih enzimskih sustava koji su odgovorni za detoksikaciju tijela od štetnih kemikalija koje potencijalno izazivaju rak. Takve otrovne tvari mogu se progutati u hrani ili piću ili se mogu apsorbirati iz okoliša. Ovi enzimski sustavi, tehnički su poznati kao faze I i faze II enzimi, te djeluju tako da mijenjaju kemijsku strukturu otrovnih spojeva kako bi ih detoksicirali (Leibelt i sur., 2003). Neki istraživači sugeriraju da I3C također može spriječiti rak ometanjem angiogeneze, procesa ključnog za obranu tijela protiv raka (Wu i sur., 2005). Angiogeneza je proces stvaranja novih krvnih žila koje su tumoru potrebne za njihov opstanak i metastazu (širenje raka). I3C također uzrokuje da stanice raka postaju osjetljivije na gama interferona, koji je važni kemijski imunološki sustav povezan sa zaštitom tijela od bolesti

(Chatterji i sur., 2004). Korisni učinci I3C djelomično su povezani s proizvodom vlastite kondenzacije, 3,3'-diindolilmetan (DIM). On prekida sposobnost stanica raka da se reproduciraju i utječe na ekspresiju velikog broja gena koji se odnose na kontrolu karcinogeneze, preživljavanje stanica i fiziološko ponašanje (Pledgie-Tracy i sur., 2007). Najvažniji mehanizam djelovanja I3C i DIM je modulirajući metabolizam estrogena, zato što su na površini estrogenskih receptora kod gotovo svakog tipa tkiva u tijelima muškaraca i žena povezani s nekoliko vrsta raka ovisnih o hormonima. Tijelo modificira ili metabolizira estrogena kroz dva međusobno isključiva putova, što dovodi do spojeva s različitim biološkim aktivnostima.

3. Zaključak

Predstavnici skupine zelenog lisnatog povrća bogati su mineralima, vitaminima, raznim fitokemikalijama koje uvelike pridonose zdravlju čovjeka. Glukozinolati su velika skupina spojeva u čije produkte hidrolize ubrajamo indole. Indoli nastaju hidrolizom glukozinolata enzimom tioglukozid glukohidrolaza (mirozinaza). To su heterociklički spojevi, koji su sastavljeni od benzenskog prstena kondenziranog u prsten pirola, a molekulska formula im je C_8H_7N. Postoje brojni derivati indola za koje je dokazano kako imaju pesticidno, antifugalno, antibakterijsko i antikancerogeno djelovanje. Indol 3-karbinol je ključna bioaktivna molekula zelenog lisnatog povrća i korisna je za prevenciju nekoliko vrsta raka. Znanstveno je dokazano kako indol 3-karbinol ima antiestrogeno djelovanje, odnosno da je antagonist receptora estrogena, tj. da blokira ili ometa receptor za estrogen. Također je otkriveno kako I3C i diindolilmetan (DIM) induciraju enzim koji pretvara estron u 2-OHE na trošak 16α-OHE, te na taj način smanjuju rizik od razvitka raka dojke. Prema tome, kupusnjače igraju važnu ulogu u ukupnom mehanizmu moduliranja aktivnosti staničnih enzima koji su odgovorni za proizvodnju estrogenskih metabolita. Mogući su još brojni načini na koji ove bioaktivne molekule iz zelenog lisnatog povrća inhibiraju razvoj i rast stanica raka. Uz ove molekule, prisutni su još vitamini A, C, E i K, minerali kao što su magnezij, kalij, željezo, proteini, vlakna, niska razina masti i ugljikohidrata. Zbog ovakvog sastava trebalo bi puno više pozornosti obratiti ovoj skupini biljaka s obzirom da omogućuju smanjenje rizika od raka, srčanih bolesti, kontrolu težine zbog niske kalorijske vrijednosti, korisne su kod dijabetesa 2, te poboljšavaju rad imunološkog sustava.

4. Literatura:

Al–Gendy AA, El–gindi OD, Hafez AS, Ateya AM. 2010. Glucosinolates, volatile constituents and biological activities of *Erysimum corinthium* Boiss. (Brassicaceae). *Food Chem* 118:519–524.

Aggarwal BB, Ichikawa H. 2005. Molecular targets and anticancer potential of indole-3-carbinol and its derivatives. *Cell Cycle* 4:1201-1215.

Auborn KJ, Rosen EM, Goodwin L, Chandraskaren A, Williams DE, Chen D, Carter TH. 2003. Indole-3-carbinol is negative regulator of estrogen. *J. Nutr.* 133: 2470S-2475S.

Chatterji U, Riby JE, Taniguchi T, Bieldanes EL, Bieldanes LF, Firestone GL. 2004. Indole-3-carbinol stimulates transcription of the interferon gamma 1 gene and augments interferon responsiveness in human breath cancer cell. *Carcinogenesis* 25:1119-1128.

Chilton WS, Bigwood J, Gensen RE. 1979. Psilocin, bufotenine and serotonin: Historical andbiosynthetic observations. *J Psychedelic Drugs* 11:61–69.

Cooper GM, Hausmann E. 2010. *Stanica: Molekularni pristup*. Vol 5. Medicinska naklada d.o.o., Zagreb, 827 pp.

Czapski J. 2009. Cancer preventig properties of Cruciferous vegetables. *Vegetable Crops Research Bulletin* 70:5-18.

Dolle RE. 2001. Comprehensive survey of combinatorial library synthesis: 2000. *J Comb Chem* 3:477–517.

Fenwick GR, Heaney RK, Mullin WJ. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 18:123-201.

Fowke JH, Longcope C, Herbert JR. 2000. Brassica vegetable consumption shifts estrogen metabolism in healthy postmenopausal women. *Cancer Epidem Biomar Prev* 9(8):733-739.

Guyton AC, Hall JE. 2012. *Medicinska fiziologija*. Medicinska naklada d.o.o., Zagreb, 1113 pp.

Hansen M, Mřller P, Sřrensen H, de Trejo MC. 1995. Glucosinolates in broccoli stored under controlled atmosphere. *J Am Soc Horticu Sci* 120:1069–1074.

Higdeon JV, Delage B, Williams DE, Dashwood RH. 2007. Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiological evidence and mechanistic base. *Pharmacol Res* 3:224-36.

Jordan VC. 1994. Molecular mechanisms of antiestrogen action in breast cancer. *Breast Cancer Res Tr.* 31:41-52.

Jordan VC, Koerner S. 1975. Tamoxifen (IC146,474) and the human carcinoma 8S oestrogen receptor. *Eur J Cancer* 11:205-206.

Katzenellenbogen BS, Ferguson ER. 1975. Antiestrogen action in the uterus: biological ineffectiveness of nuclear bound estradiol after antiestrogen. *Endocrinology* 97:1-12.

Kaushik NK, Kaushik N, Attri P, Kumar N, Kim CH, Verma AK, Choi EH. 2013. Biomedical Importance of Indoles. *Molecules* 18:6620-6662.

Keck AS, Finley JW. 2004. Cruciferous vege-tables: cancer protective mechanisms of glucosinolate hydrolysis products and selenium. *Integr Cancer Ther* 3:5–12.

Kendrea K. 2014. Effect of Brassica Vegetable Intake on the 2:16α Estrogen Metabolite Ratio in Postmenopausal European American and African American Women.

Kushad MM, Brown AF, Kurilich AC, Juvik JA, Klein P, Wallig MA, Jeffery EH. 1999. Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica oleracea*. *J Agric Food Chem* 47:1541-1548.

Leibelt DA, Hedstrom OR, Fischer KA, Pereira CB, Williams DE. 2003. Evaluation of chronic dietary exposure to indole-3-carbinol and absorption enhances 3,3'-diindolylmethane in Sprague-dawley rats. *Toxicol Sci.* 74:10-21.

Li X, Kushad MM. 2004. Correlation of Glucosinolate Content to Myrosinase Activity in Horseradish (*Armoracia rusticana*). *J Agric Food Chem* 52:6950-6955.

Liu S, Serdula M, Janket S, Cook NR, Sesso HD, Willett WC, Manson JE, Buring JE. 2004. A Prospective Study of Fruit and Vegetable Intake and the Risk of Type 2 Diabetes in Women. *Diabetes Care* 27(12):2993-2996.

Lord RS, Bongiovanni B, Bralley JA. 2002. Estrogen Metabolism and the Diet-Cancer Connection: Rationale for Assessing the Ratio of Urinary Hydroxylated Estrogen Metabolites. *Alter Med Rev* 7(2):112-29.

Lynn A, Collins A, Fuller Z, Hillman K, Ratcliffe B. 2006. Cruciferous vegetables andcolo-rectal cancer. *Proc Nutr Soc* 65:135–144.

Magrath R, Herron C, Giamoustaris A, Mithen R. 1993. The inheritance of aliphatic glucosinolates in *Brassica napus*. *Plant Breeding* 111:55-72.

Martínez-Sánchez A, Gil-Izquierdo A, Gil M, Ferreres F. 2008. A Comparative Study of Flavonoid Compounds, Vitamin C, and Antioxidant Properties of Baby Leaf *Brassicaceae* Species. *J Agric Food Che*m *56*(7):2330–2340.

Mennicke WH, Gorler K, Krumbiegel G, Lorenz D, Rittmann N. 1988. Studies on the metabolism and excretion of benzyl isothiocyanate in man. *Xenobiotica* 18:441–447.

Metzger D, White JH, Chambon P. 1988. The human oestrogen receptor functions in yeast. *Nature* 334:31-36.

Obi N, Vrieling A, Heinz J, Chang-Claude J. 2011. Estrogen Metabolite Ratio: Is the 2-hydroxyestrone to 16α-hydroxyestrone Ratio Predictive for Breast Cancer*? International Journal of Women's Health* 3:37-51.

Pledgie-Tracy A, Sobolewski M, Davidson NE. 2007. Sulforaphane induces cell typespecific apoptosis in human breast cancer cells lines in vitro. *Mol. Cancer Ther*. 6: 1013-1021.

van Poppel G, Verhoeven DT, Verhagen H, Goldbohm RA. 1999. Brassica vegetables and cancer prevention. Epidemiology and mechanisms. *Adv Exp Med Biol* 472:159-68.

Raju M, Varakumar S, Lakshminarayana R, Krishnakantha TP, BaskaranV. 2007. Carotenoid composition and vitamin A activity of medicinally important green leafy vegetables. *J Agric Food Chem* 1598–1605.

Rochefort H, Borgna JL, Evans E. 1983. Cellular and molecular mechanisms of action of antiestrogens. *J Steroid Biochem* 19:69-74.

Rosa EA, Rodrigues AS. 2001. Total and individual glucosinolate content in 11 broccoli cultivars grown in early and late season. *HortScience* 36:56-59.

Sarkar FM, Li Y. 2004. Indole-3-carbinol and prostate cancer. *J. Nutr.* 134:3493S-3498S.

Smolinska U, Morra MJ, Knudsen GR, James RL. 2003. Isothiocyanates produced by Brassicaceae species as inhibitors of Fusarium oxysporum. *Plant Dis* 87:407–412.

Sommerburg O, Keunen JE, Bird AC, Kuijk F. 1988. Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human. *Br J Ophthalmol* 82:907-910.

Tiedink HGM, Malingre CE, van Broekhoven LW, Jongen WMF, Lewis J, Fenwick GR. 1991. Role of glucosinolates in the formation of N-nitrosocompounds. J Agric Food Chem 39:922–926.

Vallejo F, Tomas-Barberan FA, Garcia-Viguera C. 2002. Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. *J. Sci. Food Agric* 82:1293-1297.

Vallejo F, Gil-Izquierdo A, Perez-Vicnte A, Garcia-Viguera C. 2004. In vitro gastrointestinal digestion study of broccoli inflorescence phenolic compounds, glucosinolatesand vitamin *C. J Agric Food Chem* 52:135-138.

Vermeer C, Jie KSG, Knapen MHJ. 1995. Role of Vitamin K in Bone Metabolism. *Annu Rev Nutr* 15:1-22.

Vig AP, Rampal G, Thind TS, Arora S. 2008. Bio-protective effects of glucosinolates – A review. *Food Sci Technol* 42:1561–1572.

Wu HT, Lin SH, Chen YH. 2005. Inhibition of cell proliferation and in vitro markers of angiogenesis by indole-3-carbinol a major indole metabolite present in cruciferous vegetables. *J Agric Food Chem* 53:5164-5169.

Web izvori:

1. https://www.google.hr/search?q=green+leafy+vegetables&biw=1366&bih=667&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiJvKWGoYXPAhUBXhQKHfvnD3oQ_AUIBigB&dpr=1#imgrc=DnkzVPRjwIYIyM%3A 04.09.2016

2. https://www.google.hr/search?q=brokula+lat&biw=1366&bih=667&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjo7YOTr4LPAhXEcRQKHW_LBc8Q_AUIBigB#imgrc=CBAgAk5sLGxLEM%3A04.09.2106

3. http://www.ourstolenfuture.org/newscience/newsources/antiestrogens.html 07.09.2016