

## Chemoprewencyjne i przeciwnowotworowe właściwości kurkuminy

Mariusz Andrzej Szczepański, Alina Grzanka

*Jednym z najbardziej obiecujących działań na rzecz zmniejszania ryzyka wystąpienia nowotworu jest chemoprewencja, która definiowana jest jako wykorzystanie naturalnych lub syntetycznych związków chemicznych celem hamowania, opóźnienia lub odwrócenia procesu karcynogenezy. Dzięki szerokiemu spektrum posiadanej aktywności biologicznej bardzo dobrym przykładem naturalnego związku chemoterapeutycznego jest kurkumina – wyizolowana z kłączy ostryżu długiego (*Curcuma longa* L.). Niniejsza praca przeglądowa podejmuje próbę przedstawienia właściwości chemoprewencyjnych oraz chemoterapeutycznych kurkuminy, z wyróżnieniem głównych mechanizmów działania, w oparciu o wybrane przykłady literaturowe.*

### Chemopreventive and anticancer properties of curcumin

*Chemoprevention, defined as the use of nontoxic natural or synthetic chemicals to repress, delay or reverse carcinogenesis, has emerged as one of the most promising medical approaches reducing the risk of cancer development. Curcumin, a natural component derived from the rhizome of turmeric (*Curcuma longa* L.) and possessing a wide spectrum of biological activities is a very good example of a natural chemopreventive agent. This review attempts to illustrate the chemopreventive and chemotherapeutic properties of curcumin, describing the primary mechanisms of these phenomena and presents selected references.*

**Słowa kluczowe:** kurkumina, kurkuminoidy, chemoprewencja, mechanizmy chemoprewencji, badania kliniczne z wykorzystaniem kurkuminy

**Key words:** curcumin, curcuminoids, chemoprevention, chemopreventive mechanisms, clinical studies with curcumin

### Wstęp

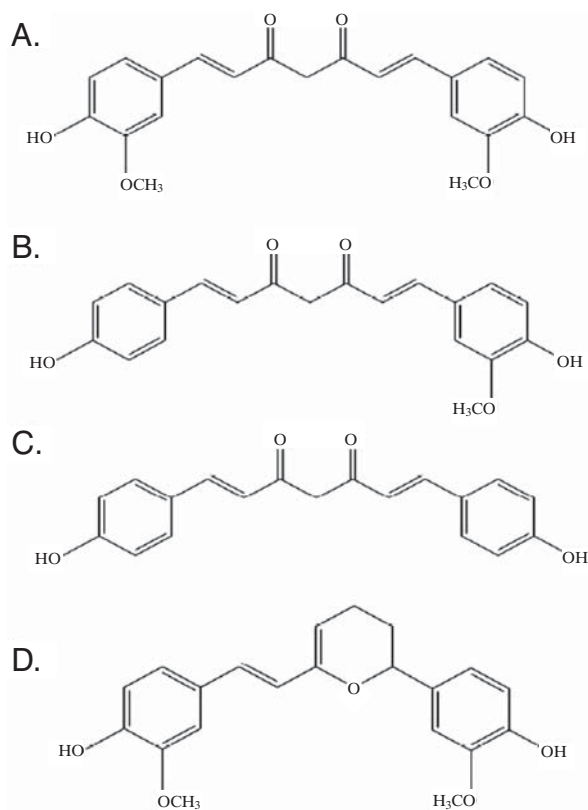
W ciągu ostatnich dziesięcioleci nastąpił ogromny postęp w zrozumieniu biologii molekularnej nowotworów. Niemniej jednak nie udało się jak dotąd wynaleźć cudownego lekarstwa, które pozwoliłoby ostatecznie zwalczyć tę poważną chorobę. Jednym z najbardziej obiecujących działań na rzecz zmniejszania ryzyka wystąpienia nowotworu jest chemoprewencja [1, 2]. Dzięki licznym obserwacjom klinicznym jak również modelom doświadczalnym wiadomo, że nowotworzenie jest procesem wieloetapowym, mogącym rozpocząć się mutacją onkogeną (protoonkogenu i/lub genu supresorowego) DNA pojedynczej komórki. Zjawisko chemoprewencji zostało zdefiniowane jako wykorzystanie naturalnych lub syntetycznych związków chemicznych w celu zahamowania, opóźnienia lub odwrócenia procesu karcynogenezy [3].

Związki chemoprewencyjne wykazują niskie działanie uboczne, charakteryzują się niską toksycznością,

zdolnością unieszkodliwienia karcynogenów, jak również negatywnych skutków wywoływanych przez nie w komórce. Większość poznanych dotąd związków chemoprewencyjnych to ekstrakty roślinne [4], które można podzielić na dwie klasy: pierwsze, tzw. związki blokujące – hamujące etap inicjacji poprzez inhibicję aktywacji karcynogenów, drugie, tzw. związki supresyjne – hamujące proliferację komórek złośliwych podczas etapów promocji i progresji karcynogenezy. Dzięki szerokiemu spektrum wykazywanej aktywności biologicznej związkiem zaliczanym do obydwu klas jest kurkumina. Obecna praca przeglądowa ma na celu przedstawienie właściwości chemoprewencyjnych oraz chemoterapeutycznych kurkuminy.

### Kurkumina – właściwości biologiczne

Kurkumina [(1E,6E)-1,7-bis(4-hydroksy-3-metoksyfenyl)-1,6-hepadien-3,5-dion] znana również jako diferuloilmetan jest polifenolem obecnym w kłączach kurkumy – ostryżu długiego (*Curcuma longa* L.), w której stanowi 5-10% suchej masy. Roślina ta występuje najpowszechniej w Indiach oraz Azji Wschodniej. Kurkumina o wzorze sumarycznym  $C_{21}H_{20}O_6$ , jest żółto-pomarańczowym kry-



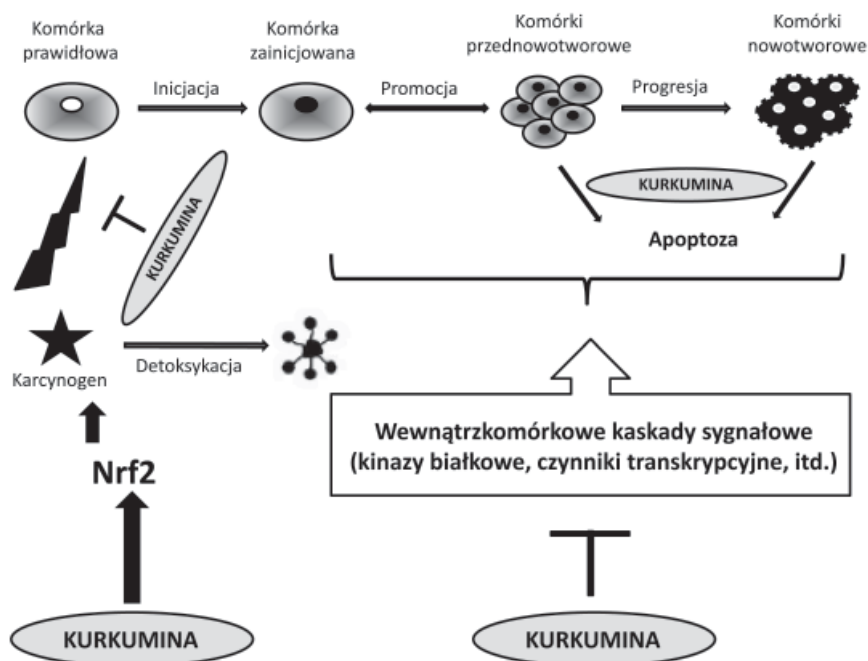
Ryc. 1. Chemiczna struktura kurkuminy (A.) i jej pochodnych demetoksykurkuminy (B.), bisdemetoksykurkuminy (C.) oraz cyklokurkuminy (D.)

stalczym pudrem, posiadającym temperaturę topnienia równą 183°C oraz masę cząsteczkową 368,37 g/mol. Najistotniejszą strukturą powyższej cząsteczki jest szkielet feruloilometanowy. Spośród wszystkich naturalnie występujących kurkuminoidów (związków chemicznych

wyzisolowanych z gatunków *Curcuma*) do najważniejszych zaliczamy: kurkuminę, demetoksykurkuminę, bisdemetoksykurkuminę oraz niedawno zidentyfikowaną cyklokurkuminę [5]. Chemiczną strukturę powyższych związków przedstawia Rycina 1. Ze względu na intensywny żółty kolor kurkumina była tradycyjnie wykorzystywana jako barwnik tkanin, później odkryto jej zastosowanie kulinarne. Obecnie trwają bardzo intensywne badania nad wykorzystaniem szafranu indyjskiego w medycynie, którego właściwości przeciwzapalne były już znane 2000 lat p.n.e. Przeprowadzono szereg badań, które potwierdziły korelację pomiędzy obecnością kurkuminoidów, a występowaniem różnorodnej aktywności biologicznej [6-8]. Stwierdzono, że kurkumina wykazuje aktywność: antyoksydacyjną, przeciwzapalną, przeciwwirusową, antibakteryjną, przeciwgrzybiczą, a także przeciwnowotworową. Powyższe właściwości kurkuminy wykorzystywane są w leczeniu wielu chorób, takich jak: cukrzyca, astma, alergia, artretyzm, miażdżyca, choroby neurodegeneracyjne oraz inne choroby przewlekłe, takie jak nowotwory [9]. Potwierdzono także bezpieczeństwo farmakologiczne stosowania kurkuminy – w indyjskiej medycynie ludowej pacjentom z bólem gardła od wieków podaje się dawki dochodzące do 100 mg/dzień. Poszczególne rodzaje aktywności biologicznej kurkuminy zostały obszernie przedstawione w wielu pracach przeglądowych [6-8].

#### Chemoprewencyjne i przeciwnowotworowe właściwości kurkuminy

Wypadkowa różnorodnych mechanizmów przedstawionych na Rycinie 2 określa pełne chemoprewencyjne właściwości kurkuminy. Mechanizmy, dzięki którym kurkumina najprawdopodobniej wywołuje swój hamujący



Ryc. 2. Chemoprewencyjne i przeciwnowotworowe właściwości kurkuminy, przedstawione na wybranych etapach procesu karcynogenezy. Objasnienia wybranych szlaków z podanymi przykładami znajdują się w tekście

Tab. I. Mechanizmy, które wpływają na właściwości chemoprewencyjne i przeciwnowotworowe kurkuminy

Efekt chemoprewencyjny lub przeciwnowotworowy	Przykładowy mechanizm działania
Hamowanie aktywacji karcynogenu	– hamowanie aktywności/ekspresji cytochromu P450
Stymulacja detoksykacji karcynogenu	– indukcja aktywności GST – indukcja aktywności UGT – zwiększenie aktywności/ekspresji HO-1
Przeciwwzpalny	– supresja ekspresji lub aktywności COX-2 – supresja ekspresji lub aktywności iNOS
Indukcja śmierci komórkowej (apoptoza, katastrofa mitotyczna)	– stymulacja aktywności kaspaz – supresja szlaków sygnalizacyjnych odpowiedzialnych za przeżycie komórki – zaburzenia cytoskieletu – zaburzenia wrzeciona podziałowego – inhibicja ekspresji surwiwiny
Zahamowanie cyklu komórkowego	– w zależności od rodzaju komórek możliwość zatrzymania cyklu komórkowego we wszystkich fazach
Zahamowanie angiogenezy	– zahamowanie ekspresji VEGF
Zahamowanie przerzutowania i naciekania	– zahamowanie ekspresji lub aktywności MMP

efekt na wybranych etapach karcynogenezy, zawarte są w Tabeli I.

#### Hamowanie aktywacji karcynogenu

Modulacja enzymów zaangażowanych w metaboliczną aktywację i detoksykację karcynogenów jest jednym z reprezentatywnych mechanizmów działania związków chemoprewencyjnych [10]. Enzymy fazy I, włączając te, które należą do nadrodziny cytochromu P450 (CYP450), mają na celu ułatwienie eliminacji toksycznych ksenobiotyków poprzez dodawanie grup funkcyjnych, zwiększając rozpuszczalność tych substancji w wodzie. Choć reakcje funkcjonalizacji fazy I mogą być niezbędne dla przeprowadzenia skutecznej detoksykacji, indukcja ksenobiotycznych enzymów metabolizujących może być również szkodliwa. Istnieje bowiem ryzyko, że powstaną ostateczne produkty o charakterze elektrofilowym, zdolne do oddziaływać z DNA, w wyniku czego może dojść do inicjacji karcynogenezy [11]. Wpływ kurkuminoidów na powstawanie adduktów DNA z pochodnych benzo[a]pirenu [B[a]P] został zbadany *in vitro*, przy użyciu postmitochondrialnej frakcji S9 pochodzącej z wątroby szczura [12]. Dawkozależne zmniejszenie wiązania metabolitów B[a]P do DNA izolowanego z grasicy cielęcej zostało zaobserwowane pod wpływem działania kurkuminy. Ponadto demetoksykurkumina oraz bisdemetoksykurkumina wykazały także dawko-zależne hamowanie tworzenia adduktów B[a]P-DNA.

W przypadku badań prowadzonych na ludzkich komórkach nabłonkowych sutka linii nowotworowej MCF-7 wykazano, że kurkumina kompetycyjnie hamowała aktywność CYP1A1, indukowaną 7,12-dimetylbenz[a]antracenenem (DMBA) [13]. CYP1A1 jest jednym z najbardziej konserwatywnych filogenetycznie enzymów nadrodziny CYP450, który zaangażowany jest w metaboliczną aktywację węglowodorów aromatycznych. W komórkach linii MCF-7, traktowanych 1  $\mu$ M DMBA przez 24h, dochodzi do zwiększenia aktywności enzy-

matycznej CYP1A1. Wykazano, że w tak aktywowanych komórkach podanie 1  $\mu$ M kurkuminy wpływało na 50% inhibicję aktywności CYP1A1 frakcji mikrosomalnej. Ponadto kurkumina blokowała metaboliczną aktywację DMBA, ponieważ zmniejszała ilość tworzonych adduktów DMBA-DNA oraz zmniejszała cytotoksyczność indukowaną DMBA. Z kolei Thapliyal i Maru zbadali wpływ kurkuminy, demetoksykurkuminy oraz bisdemetoksykurkuminy na aktywność izoenzymów CYP1A1: CYP1A2 oraz CYP2B1, zaangażowanych głównie w metabolizmie B[a]P [14]. Inkubacja wszystkich kurkuminoidów z frakcją mikrosomalną wątroby szczura wykazała dawko-zależne zmniejszenie wiązania tlenu węgla do mikrosomów, a także inhibicję aktywności CYP1A1, CYP1A2 oraz CYP2B1, indukowanych B[a]P oraz 4-(metylnitrozamino)-1-(3-pirydy)-1-butanonem – NKK. Podawanie w diecie 1% kurkuminy szczurom rasy Sprague-Dawley skutkowało znaczącym spadkiem aktywności CYP1A1 i CYP1A2, indukowanych B[a]P, a także zmniejszeniem aktywności CYP2B1, indukowanego fenobarbitonem (PB) [15]. Podobne efekty wykazano u samic myszy A/J. Podawano im przez dwa tygodnie w diecie 2% kurkuminy, co wpłynęło na 25% spadek aktywności katalitycznej CYP1A1, jednakże nie odnotowano zmniejszenia poziomu białka. Z kolei Valentine i współpracownicy wykazali, że podawanie samicom myszy rasy Swiss Webster kurkuminy (200 mg/kg lub 400 mg/kg) przez dwa tygodnie w diecie, wpłynęło na 25% spadek aktywności katalitycznej wątrobowego CYP1A1. Nie odnotowano natomiast zmian aktywności katalitycznej wątrobowych enzymów katechol-O-metyltransferazy (COMT) oraz UDP-glukuronozyltransferazy (UGT), a także aromatazy ulokowanej w jajnikach [16]. Dodatkowo zaobserwowano w tych badaniach 20% spadek aktywności katalitycznej, z równoczesnym spadkiem poziomu komórkowego enzymu CYP3A, które były następstwem podawania przez dwa tygodnie kurkuminy w stężeniu 400 mg/kg masy zwierzęcia. Kolejnym potwierdzeniem wpływu kurkuminy na izoenzymy cytochromu P450 są badania przeprowadzone

na samcach myszy rasy Swiss. Podawanie w diecie 1% kurkuminy hamowało aktywność katalityczną CYP1A1 i CYP1A2 w przedłożadku, wątrobie i płucach [17].

### Stymulacja detoksykacji karcynogenu

Enzymy detoksykacyjne fazy II poprzez łączenie aktywowanych związków chemicznych do endogennych ligandów, takich jak glutation (GSH), kwas glukuronowy, kwas octowy, czy kwas siarkowy, ułatwiają ich wydalanie. Wykazano, że wiele związków chemoprewencyjnych (np. kurkuminoidy, izotiocyjaniiny, epikatechiny) wpływa na zwiększenie poziomu komórkowego enzymów metabolizujących fazy II, takich jak: transferaza S-glutationu (GST), oksydoreduktaza NAD(P)H chinonowa-1 (NQO1), transferaza UDP-glukuronozylu, dehydrogenaza aldehydowa, aldoketoreduktaza, mikrosomalna hydrolaza epoksydowa, ligaza glutaminianowo-cysteinowa (GCL), syntetaza glutationu, transpeptydaza  $\gamma$ -glutamylowa, oksygenaza hemowa-1 (HO-1) [18]. Geny kodujące powyższe enzymy w regionach flankujących w orientacji 5' zawierają czynnik ARE [4]. Aktywność tak oflanowanych genów jest regulowana po części przez czynnik transkrypcyjny Nrf2, który w cytoplazmie wychwytywany jest przez białko Keap1. W komórkach poddanych działaniu związków indukujących czynnik ARE dochodzi do oddysocjowania Nrf2 od Keap1, dzięki czemu Nrf2 ulega translokacji do jądra komórkowego [19].

Badania Singh'a i współpracowników doniosły, że podawanie myszom rasy A/J 2% kurkuminy przez dwa tygodnie wywołuje ponad dwukrotny wzrost aktywności enzymatycznej wątrobowego GST [15]. Natomiast podawanie kurkuminy w tym samym stężeniu samcom rasy ddY przez trzydzieści dni wzmacniało aktywność katalityczną GST oraz reduktazy chinonowej w nerkach, w porównaniu do zwierząt kontrolnych [20]. Z kolei samce szczurów rasy F344, odżywiane kurkumina ponad pięć dni, wykazywały wzrost całkowitego poziomu GST oraz wzrost aktywności katalitycznej mikrosomalnej frakcji GST z gruczołu krokowego [21]. Natomiast dwutygodniowe podawanie kurkuminy prowadziło do 20% wzrostu aktywności enzymatycznej GST [16]. Ponadto podawanie samcom szczurów rasy Wistar 1% kurkuminy przez dwa tygodnie skutkowało wzrostem aktywności katalitycznej UGT zarówno w wątrobie, jak i jelitach [22]. Potwierdzono także, że kurkumina wpływa negatywnie na kompleks Nrf2-Keap1, prowadząc do uwalniania i translokacji jądrowej czynnika Nrf2, który ulega zwiększonemu wychwytywaniu przez czynnik ARE. Efektem takich oddziaływań jest znaczący wzrost ekspresji HO-1 czy też GCL [23, 24]. Wykazano także, iż kurkumina indukuje ekspresję oraz aktywność katalityczną HO-1 w ludzkich hepatocytach, komórkach śródbłonna naczyniowego i komórkach kanalików bliższych nerkowych [25-27].

### Supresja prozapalnych kaskad sygnałowych

Zaburzenia w regulacji ważnych enzymów, pośredniczących w procesach zapalnych, związana jest zarówno ze schorzeniami zapalnymi, jak również z patofizjologią pewnych typów nowotworów człowieka. Do takich enzymów zaliczyć możemy cyklooksygenazę-2 (COX-2) oraz indukowalną syntazę tlenku azotu (iNOS). Z uwagi na fakt, iż przewlekłe procesy zapalne są blisko skorelowane z rozwojem nowotworów, uważa się, że związki wykazujące silne właściwości przeciwzapalne wywierają chemoprewencyjny efekt w procesie karcynogenezy, w szczególności w fazie promocji [28].

Miejscowe podawanie kurkuminy silnie hamowało aktywność katalityczną COX-2 i lipooksygenazy w komórkach epidermy mysiej [29]. Zhang i współpracownicy wykazali, że traktowanie kurkumina kilku ludzkich linii komórkowych układu żołądkowo-jelitowego, indukowanych kwasami żółciowymi lub estrami forbolu, prowadziło do supresji ekspresji COX-2 (zarówno białka, jak i mRNA) oraz produkcji prostaglandyny E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) [30]. Stwierdzono również, że w mysich komórkach linii RAW 264.7 stymulowanych bakteryjnym lipopolisacharydem (LPS) oraz interferonem- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), odpowiedzią na działanie kurkuminy było zahamowanie powstawania tlenku azotu (NO) oraz ekspresji iNOS (zarówno białka, jak i mRNA) [31]. Divya i Pillai zbadali inhibicyjny efekt działania kurkuminy na ekspresję genów prozapalnych, która związana była z inaktywacją czynników transkrypcyjnych – białka aktywatorowego 1 (AP-1) oraz inaktywacją cząsteczek jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B [32]. Wykazano także, iż w hodowanych komórkach nabłonkowych raka okrężnicy oraz skóry mysiej, indukowanych TNF- $\alpha$ , dochodziło do znacznej inhibicji COX-2 (zarówno białko oraz mRNA) oraz do zmniejszenia zdolności wiązania NF- $\kappa$ B do DNA [33, 34]. Stwierdzono również, że kurkumina hamowała ekspresję prozapalnych genów: genu kodującego cząsteczkę adhezji międzykomórkowej 1 (ICAM-1) oraz genu interleukiny 8 (IL-8), która była następstwem spadku aktywacji NF- $\kappa$ B [35].

### Indukcja śmierci w komórkach nowotworowych

Do znanych mechanizmów śmierci komórki zaliczyć możemy: apoptozę, autofagię, katastrofę mitotyczną, nekrozę czy też starzenie. Apoptoza oraz autofagia zaliczane są do mechanizmów programowanych, podczas gdy katastrofa mitotyczna oraz nekroza uważane są za procesy pasywne. Do nieapoptotycznych rodzajów śmierci zalicza się również starzenie [36]. Obecnie głównym celem terapii przeciwnowotworowej jest selektywna walka z komórkami nowotworowymi na drodze apoptozy. Ponadto indukcja tego rodzaju programowanej śmierci komórki jest bardziej pożądana niż indukcja nekrozy, ponieważ nie jest związana z procesami zapalnymi i nie wywołuje uszkodzenia komórek sąsiadujących.



Wykazano, że kurkumina indukuje apoptozę w różnych liniach nowotworowych, jednakże w zależności od pochodzenia i stopnia złośliwości komórek nowotworowych obraz uruchamianej apoptozy był różnorodny. Klasyyczna apoptoza (obkurczanie komórki, kondensacja chromatyny, fragmentacja DNA) indukowana była w unieśmiertelnionych komórkach embrionalnych mysich fibroblastów linii NIH 3T3, stransformowanych komórkach NIH 3T3 onkogenem *erb B2*, mysich komórkach mięsaka linii S180, ludzkich komórkach raka okrężnicy HT29, komórkach raka nerki pochodzenia ludzkiego linii 293 oraz komórkach raka wątrobowokomórkowego linii ludzkiej HepG2. Jednakże takiej indukcji nie zaobserwowano w pierwotnych hodowlach komórkowych: komórkach embrionalnych mysich fibroblastów linii C3H 10T1/2, komórkach embrionalnych szczurzych fibroblastów oraz fibroblastach napletka pochodzenia ludzkiego [37].

Jeden z głównych szlaków metabolicznych, zaangażowanych w apoptotyczną śmierć komórki, obejmuje rodzinę strukturalnie powiązanych proteaz cysteinowych – kaspaz [38]. Aktywność katalityczna kaspaz odpowiedzialna jest zarówno pośrednio jak i bezpośrednio za cięcie pewnych białek komórkowych, które są charakterystyczne dla tego rodzaju śmierci komórki. Przykładem jest poli(ADP-rybozo) polimeraza-1 (PARP-1), która jest rozcinana przez kaspazy -2, -3, -6, -7 i -9 [39]. Jedną z najlepiej poznanych rodzin białkowych, odpowiedzialnych za regulację apoptozy, jest rodzina białek Bcl-2. Stosunek białek antyapoptotycznych (np. Bcl-2) do proapoptotycznych (np. Bax) określa częściowo, w jaki sposób komórka odpowie na apoptotyczne, czy przeżyciowe sygnały [40]. Istnieje szereg mechanizmów prowadzących do indukcji apoptozy w odpowiedzi na działanie kurkuminy. Zaliczamy do nich uwalnianie cytochromu-c oraz modulację szlaków sygnałowych poprzez wpływ na NF- $\kappa$ B, AP-1, kinazę białkową B (PKB/Akt) oraz kinazy JNK. Ponadto wpływa ona również na regulację genów odpowiedzialnych za przetrwanie, czy też regulację inhibitora apoptozy (IAP) [41]. Poza tym kurkumina indukuje apoptozę poprzez defosforylację PKB/Akt, inhibicję Bcl-2, Bcl-xl, IAP, uwalnianie cytochromu-c i aktywację kaspazy-3 w ludzkich komórkach nowotworu nerki bądź w monocytach chłoniaka linii U937 [42-44]. Ponadto wykazano, że w komórkach linii U937 pod wpływem działania kurkuminy dochodziło do znoszenia indukowanej czynnikiem martwicy nowotworu aktywacji PKB/Akt, co prowadziło do apoptozy. Duvoix i wsp. wykazali, że kurkumina skutecznie indukuje proteolityczne cięcie prokaspaz -8 i -9, PARP-1, prowadząc do apoptozy w komórkach linii białaczkowej K562 [45]. Potwierdzeniem faktu, że kurkumina może indukować apoptotyczną śmierć komórki poprzez aktywację kaspazy-8 i -9 są wyniki badań przeprowadzonych na komórkach czerniaka ludzkiego [46]. Ten naturalny polifenol w komórkach mysich linii Neuro-2A hamował aktywność proteasomalną, wywołując apoptozę najprawdopodobniej poprzez aktywację kaspazy-9 [47]. Wykazano, że kurkumina hamuje aktywację NF- $\kappa$ B i AP-1, które to z kolei

regulują geny antyapoptotyczne oraz geny odpowiedzialne za proliferację. W komórkach raka gruczołu krokowego linii DU145 hamowała konstytutywną aktywację NF- $\kappa$ B i AP-1, co zwrótnie regulowało Bcl-2 – zmniejszając jego poziom [48].

Powyższe przykłady świadczą o indukcji apoptotycznej śmierci komórki w komórkach nowotworowych pod wpływem działania kurkuminy. Istnieją również dowody potwierdzające, że ten naturalny polifenol może uruchamiać katastrofę mitotyczną. Jon Holy wykazał w swoich badaniach z 2002 r. [49], że kurkumina (10-20  $\mu$ M przez 24-48 h) może zatrzymać proliferację komórek linii MCF-7 na ponad sześć dni, ale zastosowane stężenia nie były wystarczające do indukcji apoptotycznej śmierci komórek. Zatrzymane komórki w fazie G2/M przejawiały jednakże jednobiegunowe wrzeciona podziałowe, zaś chromosomy nie podlegały prawidłowej anafazie. Po upływie 48 godzin większość komórek ostatecznie opuściła fazę M, tworząc zamiast potomnego pojedynczego jądra – wielokrotne mikrojąderka. Kurkumina indukowała montaż nieprawidłowych jednobiegunowych wrzecion podziałowych, niezdolnych do pełnienia swojej podstawowej funkcji, jaką jest prawidłowa segregacja chromosomów. Ten naturalny fitozwiązek w danych warunkach indukował w komórkach linii MCF-7 katastrofę mitotyczną. Badania Wolanin i współpracowników prowadzone na klonach progenitorowych komórek pochodzenia mysiego linii 32D (klony C2 i C4, przejawiających różne poziomy ekspresji Bcr-Abl – modelu dla chronicznej białaczki szpikowej) potwierdziły również, że kurkumina wywoływała w badanych komórkach typowe zmiany morfologiczne dla katastrofy mitotycznej [50]. Badania potwierdziły także, że badany związek obniżał ekspresję surwiwiny – składnika kompleksu białek pasażerskich CPC.

#### Wpływ na cykl komórkowy

Zaburzenia kontroli cyklu komórkowego mają istotny wpływ na wszystkie etapy karcynogenezy – zarówno inicjację, promocję, jak i progresję. Kurkumina może wpływać na białka regulatorowe oraz punkty kontrolne cyklu komórkowego, które są niezbędne do prawidłowej proliferacji komórki. Przeprowadzone badania na wybranych liniach komórek nowotworowych wskazują, że związek ten posiada właściwości antyproliferacyjne, nie tylko dzięki zdolności do indukcji śmierci komórki, ale także dzięki zdolności do zatrzymania cyklu komórkowego [41], przez co staje się dobrym kandydatem w kontekście terapii przeciwnowotworowej.

Proliferacja szczurzych osteoblastów była wyraźnie hamowana pod wpływem 5–10  $\mu$ M kurkuminy, jednakże nie indukowała w tych warunkach apoptozy, prowadząc do zatrzymania powyższych komórek w fazie G1 cyklu komórkowego. Ponadto badany polifenol stymulował ekspresję mRNA dla p21<sup>WAF1/CIP1</sup>, którego produkt białkowy hamuje aktywność kinaz cyklinozależnych oraz hamuje fosforylację histonu H1 [51]. Ponadto wykazano, iż kurkumina w prawidłowych nabłonkowych komórkach ssaków odwracalnie hamowała rozwój cyklu komórkowego,

poprzez obniżenie ekspresji cykliny D1 oraz blokując jej oddziaływanie z kompleksem kinaz Cdk4/Cdk6, jak również zmniejszała fosforylację, a także inaktywację białka retinoblastoma (Rb). Ponadto w komórkach chłoniaka linii U937 pochodzenia ludzkiego dowiedziono, iż kurkumina wpływała na obniżenie tempa proliferacji poprzez zmniejszenie poziomu ekspresji cykliny D1 [52]. Wykazano także, że ten związek chemiczny, poprzez hamowanie aktywności kinazy tymidynowej, może zatrzymać w fazie S cyklu traktowane nim komórki. W komórkach śródbłonna ludzkiej żyły pępowinowej (HUVEC) obniżanie syntezy DNA wywołane było akumulacją około 50 procent komórek pod wpływem działania kurkuminy [53]. Z kolei w przypadku płaskonabłonkowego raka głowy i szyi wykazano, że kurkumina zatrzymywała komórki w fazie G1/S cyklu poprzez supresję genów dla COX-2, IL-6, cykliny D1, Bcl-2, a także żelatynazy B (MMP-9) [54]. Natomiast w przypadku chłoniaka z komórek płaszczka hamowanie aktywacji NF- $\kappa$ B leżało u podstaw zatrzymania w fazie G1/S [55].

Oprócz podanych zdolności kurkuminy do supresji proliferacji w fazach G1 – S cyklu komórkowego można wymienić również przykłady świadczące o wpływie polifenolu na fazę G2/M cyklu. Do nich zaliczyć możemy badania przeprowadzone na komórkach linii HL-60, czy też MCF-7. W pierwszym przypadku traktowanie komórek linii HL-60 25  $\mu$ M kurkuminy przez 48 godzin wywoływało wstępne zatrzymanie około 60 procent badanych komórek w fazie G2/M. Następnie powodowało zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G0/G1, w wyniku czego dochodziło do zahamowania syntezy DNA i różnicowania, co prowadziło do indukcji apoptozy w badanych komórkach [56]. W przypadku komórek linii MCF-7 oraz 32D C2 i C4 traktowanie ich kurkumina prowadziło do zatrzymania proliferacji w fazie G2/M cyklu oraz indukcji wcześniej opisanej katastrofy mitotycznej [49, 50].

### Wpływ na angiogenezę i przerzutowanie

Angiogeneza jest istotnym i krytycznym procesem, związanym ze wzrostem oraz ekspansją nowotworu. Jedyne guz mniejszy niż 2 mm<sup>3</sup> może być zaopatrywany w tlen na zasadzie dyfuzji z sąsiadujących tkanek. W miarę wzrostu masy guza, komórki pozbawione naczyń krwionośnych stają się niedotlenowane. Do głównych czynników stymulujących angiogenezę zalicza się: rodzinę cytokin naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu VEGF, angiopoetyny-1 i -2, zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów bFGF, płytkowy czynnik wzrostu PDGF oraz czynnik martwicy nowotworu TNF $\alpha$  [57]. Już w 1998 r. Arbiser i wsp. wykazali, że kurkumina jest bezpośrednim inhibitorem angiogenezy, poprzez obniżanie ekspresji kluczowych proangiogennych białek VEGF i bFGF [58]. Cui i wsp. na komórkach chłoniaków linii U937 oraz Raji potwierdzili supresyjne działanie kurkuminy na wydzielanie VEGF [59].

Metaloproteiny macierzy (MMP) są rodziną zależnych od cynku endopeptydaz, które posiadają zdolność degradacji komponentów macierzy pozakomórko-

wej, ułatwiając w ten sposób przerzutowanie komórek nowotworowych do miejsc wtórnych poprzez naczynia krwionośne i limfatyczne [60]. Wykazano, że kurkumina znacząco hamowała aktywność żelatynazy A (MMP-2) w linii komórek czerniaka B16F10 pochodzenia mysiego [61]. Dodatkowo zastosowanie kurkuminy w stężeniu 10  $\mu$ M w przypadku ludzkich komórek raka wątrobowokomórkowego linii SK-Hep-1 wpływało na obniżenie ich migracji oraz zdolności do przerzutowania, dzięki supresji wydzielania żelatynazy B (MMP-9) [62].

### Zastosowanie kurkuminy w walce z rakiem – badania kliniczne

Powyższe podrozdziały opisują konkretne przeciwnowotworowe działanie kurkuminy na wybranych liniach nowotworowych ssaczy – zarówno ludzkich, jak i zwierzęcych. W tym podrozdziale zostaną przedstawione przykłady badań klinicznych z wykorzystaniem kurkuminy. Istnieje pewna liczba badań klinicznych, głównie otwartych badań jednoramiennych fazy II, które sugerują, że kurkumina, poprzez wykorzystanie jej właściwości chemoprewencyjnych i przeciwnowotworowych, może mieć zastosowanie w leczeniu schorzeń, takich jak: zapalenia przewlekłe, choroby nowotworowe, czy zmiany przednowotworowe. Kuttan i wsp. zbadali wpływ miejscowego podawania kurkuminy w przypadkach nowotworów ust i leukoplakii na grupie sześćdziesięciu dwóch pacjentów. U 10% pacjentów wykazano zmniejszenie rozmiarów uszkodzonych tkanek [63]. Z kolei Sharma i wsp. przeprowadzili dwa badania fazy I, określając wpływ kurkuminy na pacjentów z zaawansowanym rakiem okrężnicy. W pierwszej serii badań pacjentom codziennie przez cztery miesiące podawano ekstrakty z szafranu indyjskiego, zawierające 36-180 mg kurkuminy [64]. Pięciu spośród piętnastu pacjentów wykazało stabilną radiologicznie chorobę przez okres dłuższy niż trzy miesiące. Jeden pacjent spośród całej grupy wykazał znaczące obniżenie poziomu antygenu rakowo-rodowego (CEA). W kolejnych badaniach Sharma i wsp. wykorzystano kapsułkę kurkuminoiów (każda zawierała 450 mg kurkuminy, 40 mg desmetoksykurkuminy, 10 mg bisdesmetoksykurkuminy) [65]. Tym razem dwóch spośród piętnastu pacjentów wykazało stabilną radiologicznie chorobę przez okres dłuższy niż cztery miesiące. Powyższe doświadczenia mogą sugerować cytostatyczny efekt działania kurkuminy w pewnych przypadkach zaawansowanego nowotworu okrężnicy. Jednakże dla potwierdzenia tej tezy niezbędna jest większa liczba przeprowadzonych doświadczeń. W badaniach fazy I, przeprowadzonych przez Cheng'a i wsp., ocenie histologicznej zostały poddane biopsje wykonane pacjentom posiadającym zmiany przednowotworowe, zarówno przed, jak i po traktowaniu kurkumina [66]. W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano histologiczną poprawę u jednego spośród dwóch pacjentów po resekcji raka żołądka, u dwóch spośród siedmiu pacjentów z leukoplakią jamy ustnej, u jednego z sześciu z metaplastją nabłonka żołądka oraz jednej pacjentki spośród czterech z rozrostem śródbłonna szyjki macicy,

a także u dwóch z sześciu pacjentów dotkniętych chorobą Bowen'a. Trzeba jednocześnie podkreślić, że u jednej pacjentki z rozrostem śródbłonna szyjki macicy, a także u jednego pacjenta z leukoplakią jamy ustnej zaobserwowano progresję zmian nowotworowych pod wpływem stosowania kurkuminy. Z kolei, w badaniach przeprowadzonych w grupie dwudziestu dziewięciu pacjentów ze szpiczakiem mnogim przez Vadhan'a i wsp. [67] potwierdzono, że kurkumina podawana drogą doustną jest związkiem bardzo dobrze tolerowanym przez organizm ludzki. U dwunastu pacjentów leczonych przez ponad trzy miesiące oraz u pięciu pacjentów leczonych przez rok różnymi dawkami kurkuminy (2-12 gram/dzień) wykazano stabilny przebieg choroby w okresie roku od rozpoczęcia badań. Istnieją również naukowe doniesienia świadczące o hamującym działaniu kurkuminy na rozwój komórek raka trzustki, m.in. wykonane przez badaczy pod kierunkiem Aggarwal'a [68]. W badaniach dwudziestu pięciu pacjentów z zaawansowanym rakiem trzustki po doustnym podaniu kurkuminy (8 gram/dzień do etapu progresji nowotworu) u dwudziestu jeden chorych w surowicy krwi wykryto kompleksy kurkuminy, jednakże na niskim poziomie, świadczącym o niskiej biodostępności kurkuminy podanej tą drogą. U żadnego z badanych nie zaobserwowano efektu toksycznego. U dwóch pacjentów odnotowano przedłużony stabilny stan przebiegu choroby (8 oraz ponad 18 miesięcy). Zaskakująco u jednego z pacjentów odnotowano krótkotrwałą, ale znaczną regresję nowotworu (73%). Dla potwierdzenia chemoprewencyjnego efektu działania kurkuminy na zmiany nowotworowe niezbędne jest przeprowadzenie badań na o wiele szerszą skalę.

## Podsumowanie

Chemoprewencja z wykorzystaniem fitozwiązków jest uzasadnionym działaniem w walce z rakiem i zmianami przednowotworowymi. Związki te cechuje: duża dostępność i gotowość zastosowania, niski koszt użycia, a także niska cytotoksyczność w stosunku do komórek zdrowego organizmu. Niniejsza praca miała na celu przedstawienie głównych właściwości chemoprewencyjnych i przeciwnowotworowych kurkuminy wraz z wybranymi przykładami mechanizmów i układów, na których zbadano poszczególne właściwości. Większość badań klinicznych fazy I jak i II, dotyczących przeciwnowotworowego zastosowania kurkuminy, przeprowadzona została jak dotąd na zbyt niskiej liczbie pacjentów. Niezbędne jest wykonanie nowych badań na znacznie większej liczbie chorych, celem wykazania rzeczywistej wartości kurkuminy, jako związku terapeutycznego. Należy w tym miejscu wspomnieć, iż na obecną niską liczbę badań klinicznych (badania prowadzone m.in. w USA, Indiach, Chinach, natomiast brak tego typu badań w Polsce) wpływ ma również mała rozpuszczalność w wodzie oraz niska biodostępność związku podawanego drogą doustną. Dlatego niezbędny jest rozwój nowych strategii formułacji, jak również rozwój badań nad bardziej biodostępnymi analogami kurkuminy. Dzięki takim działaniom większa liczba badaczy będzie

miała szansę przekonać się o dobrodziejstwach, jakie niesie ze sobą stosowanie „złota Indii”, co może przyczynić się do wzrostu liczby prób klinicznych z użyciem kurkuminy.

### Mgr Mariusz Andrzej Szczepański

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii  
Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy UMK  
w Toruniu  
ul. Karłowicza 24  
85-092 Bydgoszcz  
e-mail: mariusz.szczepanski@cm.umk.pl



## Piśmiennictwo

- Greenwald P. From carcinogenesis to clinical interventions for cancer prevention. *Toxicology* 2001; 166: 37-45.
- Kellogg GJ, Crowell JA, Steele VE i wsp. Progress in Cancer Chemoprevention: Development of Diet-Derived Chemopreventive Agents. *J Nutr* 2000; 130: 467S-471S.
- Kellogg GJ, Boone CW, Steele VE i wsp. Mechanistic considerations in chemopreventive drug development. *J Cell Biochem Suppl* 1994; 20: 1-24.
- Surh YJ. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nature Rev Cancer* 2003; 3: 768-780.
- Kiuchi F, Goto Y, Sugimoto N i wsp. Nematocidal activity of turmeric: synergistic action of curcuminoids. *Chem Pharm Bull* 1993; 41: 1640-43.
- Joe B, Vijaykumar M, Lokesh BR. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004; 44: 97-111.
- Jayaprakasha GK, Jagan-Mohan-Rao L, Sakariah KK. Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends Food Sci Technol* 2005; 16: 533-48.
- Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N i wsp. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 1-75.
- Duvoix A, Blasius R, Delhalle S i wsp. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett* 2005; 223: 181-190.
- Prester T, Talalay P. Electrophile and antioxidant regulation of enzymes that detoxify carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8965-9.
- Chiocci EA, Waxman DJ. Cytochrome P450-based gene therapies for cancer. *Methods Mol Med* 2004; 90: 203-22.
- Deshpande SS, Maru GB. Effects of curcumin on the formation of benzo[a]pyrene derived DNA adducts in vitro. *Cancer Lett* 1995; 96: 71-80.
- Ciolino HP, Daschner PJ, Wang TT i wsp. Effect of curcumin on the aryl hydrocarbon receptor and cytochrome P450 1A1 in MCF-7 human breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 197-206.
- Thapliyal R, Maru GB. Inhibition of cytochrome P450 isozymes by curcumin in vitro and in vivo. *Food Chem Toxicol* 2001; 39: 541-7.
- Singh SV, Hu X, Srivastava SK i wsp. Mechanism of inhibition of benzo[a]pyrene-induced for stomach cancer in mice by dietary curcumin. *Carcinogenesis* 1998; 19: 1357-60.
- Valentine SP, Le Nedelec MJ, Menzies AR i wsp. Curcumin modulates drug metabolizing enzymes in the female Swiss Webster mouse. *Life Sci* 2005; 78: 2391-8.
- Thapliyal R, Deshpande SS, Maru GB. Effects of turmeric on the activities of benzo(a)pyrene-induced cytochrome P-450 isozymes. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2001; 20: 59-63.
- Lee JS, Surh YJ. Nrf2 as a novel molecular target for chemoprevention. *Cancer Lett* 2005; 224: 171-84.



19. Numazawa S., Yoshida T. Nrf2-dependent gene expressions: A molecular toxicological aspect. *J Toxicol Sci* 2004; 29: 81-9.
20. Iqbal M, Sharma SD, Okazaki Y i wsp. Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacol Toxicol* 2003; 92: 33-8.
21. Jones SB, Brooks JD. Modest induction of phase 2 enzyme activity in the F-344 rat prostate. *BMC Cancer* 2006; 6: 62.
22. van der Logt EM, Roelofs HM, Nagengast FM i wsp. Induction of rat hepatic and intestinal UDP-glucuronosyltransferases by naturally occurring dietary anticarcinogens. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1651-6.
23. Balogun E, Hoque M, Gong P i wsp. Curcumin activates the haem oxygenase-1 gene via regulation of Nrf2 and the antioxidant-responsive element. *Biochem J* 2003; 371: 887-95.
24. Dickinson DA, Iles Ke, Zhang H i wsp. Curcumin alters EpRE and AP-1 binding complexes and elevates glutamate-cysteine ligase gene expression. *FASEB J* 2003; 17: 473-5.
25. McNally SJ, Harrison EM, Ross JA i wsp. Curcumin induces heme oxygenase-1 in hepatocytes and is protective in simulated cold preservation and warm reperfusion injury. *Transplantation* 2006; 81: 623-6.
26. Motterlini R, Foresti R, Bassi R i wsp. Curcumin, an antioxidant and anti-inflammatory agent, induces heme oxygenase-1 and protects endothelial cells against oxidative stress. *Free Radical Biol Med* 2000; 28: 1303-12.
27. Hill-Kapturczak N, Thamilselvan V, Liu F i wsp. Mechanism of heme oxygenase-1 gene induction by curcumin in human renal proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 281: F851-9.
28. Surh YJ, Chun KS, Cha HH i wsp. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF- $\kappa$ B activation. *Mutat Res* 2001; 480-1: 243-68.
29. Huang MT, Lysz T, Ferraro T i wsp. Inhibitory effects of curcumin on in vitro lipoygenase and cyclooxygenase activities in mouse epidermis. *Cancer Res* 1991; 51: 813-9.
30. Zhang F, Altorki NK, Mestre JR i wsp. Curcumin inhibits cyclooxygenase-2 transcription in bile acid- and phorbol ester-treated human gastrointestinal epithelial cells. *Carcinogenesis* 1999; 20: 445-51.
31. Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 206: 533-40.
32. Divya CS, Pillai MR. Antitumor action of curcumin in human papillomavirus associated cells involves down regulation of viral oncogenes, prevention of NF $\kappa$ B and AP-1 translocation, and modulation of apoptosis. *Mol Carcinog* 2006; 45: 320-32.
33. Plummer SM, Holloway KA, Manson MM i wsp. Inhibition of cyclooxygenase-2 expression in colon cells by the chemopreventive agent curcumin involves inhibition of NF- $\kappa$ B activation via the NIK/IKK signalling complex. *Oncogene* 1999; 18: 6013-20.
34. Chun KS, Keum YS, Han SS i wsp. Curcumin inhibits phorbol ester-induced expression of cyclooxygenase-2 in mouse skin through suppression of extracellular signal-regulated kinase activity and NF- $\kappa$ B activation. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1515-24.
35. Jobin C, Bradham CA, Russo MP i wsp. Curcumin blocks cytokine-mediated NF- $\kappa$ B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I- $\kappa$ B kinase activity. *J Immunol* 1999; 163: 3474-83.
36. Stepień A, Grzanka A, Izdebska M. Rodzaje śmierci komórki. *Post Hig Med Dośw* 2007; 61: 463-68.
37. Jiang MC, Yang-Yen HF, Yen JJ i wsp. Curcumin induces apoptosis in immortalized NIH 3T3 and malignant cancer cell lines. *Nutr Cancer* 1996; 26: 111-20.
38. Stennicke HR, Salvesen GS. Biochemical characteristics of caspases-3, -6, -7, and -8. *J Biol Chem* 1997; 272: 25719-23.
39. Sakahira H, Enari M, Nagata S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature* 1998; 391: 96-9.
40. Farrowand SN, Brown R. New members of the Bcl-2 family and their protein partners. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 6: 45-9.
41. Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1955-68.
42. Aggarwal S, Ichikawa H, Takada Y i wsp. Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates expression of cell proliferation and antiapoptotic and metastatic gene products through suppression of I $\kappa$ Ba kinase and Akt activation. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 195-206.
43. Bae JH, Park JW, Kwon TK. Ruthenium red, inhibitor of mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uniporter, inhibits curcumin-induced apoptosis via the prevention of intracellular Ca<sup>2+</sup> depletion and cytochrome c release. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 303: 1073-9.
44. Woo JH, Kim YH, Choi YJ i wsp. Molecular mechanisms of curcumin-induced cytotoxicity: induction of apoptosis through generation of reactive oxygen species, down-regulation of Bcl-XL and IAP, the release of cytochrome c and inhibition of Akt. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1199-1208.
45. Duvoix A, Morceau F, Schnekenburger M i wsp. Curcumin-induced cell death in two leukemia cell lines: K562 and Jurkat. *Ann NY Acad Sci* 2003; 1010: 389-92.
46. Bush JA, Cheung KJ Jr., Li G. Curcumin induces apoptosis in human melanoma cells through a Fas receptor/caspase-8 pathway independent of p53. *Exp Cell Res* 2001; 271: 305-14.
47. Jana NR, Dikshit P, Goswami A. Inhibition of proteasomal function by curcumin induces apoptosis through mitochondrial pathway. *J Biol Chem* 2004; 279: 11680-5.
48. Mukhopadhyay A, Bueso-Ramos C, Chatterjee D i wsp. Curcumin downregulates cell survival mechanisms in human prostate cancer cell lines. *Oncogene* 2001; 20: 7597-7609.
49. Holy JM. Curcumin disrupts mitotic spindle structure and induces micronucleation in MCF-7 breast cancer cells. *Mutat Res* 2002; 518, 71-84.
50. Wolanin K, Magalska A, Mosieniak G i wsp. Curcumin affects components of the chromosomal passenger complex and induces mitotic catastrophe in apoptosis-resistant Bcr-Abl expressing cells. *Mol Cancer Res* 2006; 4: 457-69.
51. Notoya M, Nishimura H, Woo JT i wsp. Curcumin inhibits the proliferation and mineralization of cultured osteoblasts. *Eur J Pharmacol* 2006; 534: 55-62.
52. Kwon YK, J, Jun JM, Shin SW i wsp. Curcumin decreases cell proliferation rates through BTG2-mediated cyclin D1 down-regulation in U937 cells. *Int J Oncol* 2005; 26: 1597-603.
53. Singh AK, Sidhu GS, Deepa T i wsp. Curcumin inhibits the proliferation and cell cycle progression of human umbilical vein endothelial cell. *Cancer Lett* 1996; 107: 109-15.
54. Aggarwal S, Takada Y., Singh S. i wsp. Inhibition of growth and survival of human head and neck squamous cell carcinoma cells by curcumin via modulation of nuclear factor-kappaB signaling. *Int J Cancer* 2004; 111, 679-92.
55. Shishodia S, Amin HM, Lai R. i wsp. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF- $\kappa$ B activation, induces G1/S arrest, suppresses proliferation, and induces apoptosis in mantle cell lymphoma. *Biochem Pharmacol* 2005; 7: 700-13.
56. Wu Y, Chen Y i He M. The influence of curcumin on the cell cycle of HL-60 cells and contrast study. *J Tongji Med Univ* 2000; 20: 123-5.
57. Markowska J, Szala S. Znaczenie angiogenezy w raku szyjki macicy. Czy ma związek z terapią tego raka? *Nowotwory J Oncol* 2005; 5: 390-4.
58. Arbiser JL, Klauber N, Rohnan R i wsp. Curcumin as *in vivo* inhibitor of angiogenesis. *Mol Med* 1998; 4: 376-83.
59. Chen WH, Chen Y, Cui GH. Effects of TNF- $\alpha$  and curcumin on the expression of VEGF in Raji and U937 cells on angiogenesis in ECV304 cells. *Chin Med J* 2005; 118: 2052-7.
60. Liotta LA, Stetler-Stevenson WG. Tumor invasion and metastasis: An imbalance of of positive and negative regulation. *Cancer Res* 1991; 51: 5054-9.
61. Banerji A, Chakrabarti J, Mitra A i wsp. Effect of curcumin on gelatinase A (MMP-2) activity in B16F10 melanoma cells. *Cancer Lett* 2004; 211: 235-42.
62. Lin LL, Ke YF, Ko YC i wsp. Curcumin inhibits SH-Hep-1 hepatocellular carcinoma cell invasion *in vitro* and suppress matrix metalloproteinase-9 secretion. *Oncology* 1998; 55: 349-53.
63. Kuttan R, Sudheeran PC, Joseph CD. Turmeric and curcumin as topical agents in cancer therapy. *Tumori* 1987; 73: 29-31.
64. Sharma RA, McLelland HR, Hill KA i wsp. Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of oral Curcuma extract in patients with colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1894-900.
65. Sharma RA, Euden SA, Platton SL i wsp. Phase I clinical trial of oral curcumin: Biomarkers of systemic activity and compliance. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6847-54.
66. Cheng AL, Hsu CH, Lin JK i wsp. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res* 2001; 21(4B): 2895-900.
67. Vadhan VS, Weber D, Giral S i wsp. Curcumin downregulates NF- $\kappa$ B and related genes in patients with multiple myeloma: results of a phase 1/2 study. 49th American Society of Hematology Meeting. *Blood* 200; 110: 357a, (abstr 1177).
68. Dhillon N, Aggarwal BB, Newman RA i wsp. Phase II trial of curcumin in patients with advanced pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 4491-9.

Otrzymano: 4 grudnia 2008 r.

Przyjęto do druku: 2 marca 2009 r.