

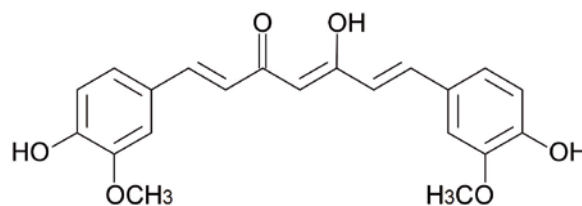
KAMILA WOLANIN, KATARZYNA PIWOCKA

Instytut Biologii Doświadczalnej PAN im. M. Nenckiego
Pasteura 3, 02-093 Warszawa
E-mail: k.wolanin@nencki.gov.pl
k.piwocka@nencki.gov.pl

KURKUMINA – OD MEDYCYNY NATURALNEJ DO KLINIKI

WPROWADZENIE

Kurkumina jest związkiem pochodzenia roślinnego, uzyskiwanym z kłączy azjatyckiej byliny ostryżu długiego (*Curcuma longa*, Zingiberaceae), powszechnie stosowanym jako przyprawa w kuchni orientальной oraz w przemyśle spożywczym i tekstylnym jako barwnik. Jednakże wykorzystanie kurkuminy wykracza dalece poza tradycyjne zastosowania kulinarne, a związek ten, ze względu na swoje właściwości lecznicze, znany jest w medycynie Dalekiego Wschodu od ponad 4000 lat. Od najdawniejszych czasów stosowano ją m.in. w leczeniu miejscowym trudno gojących się ran, stanów zapalnych różnych narządów oraz w dolegliwościach ze strony przewodu pokarmowego i wątroby (AGGARWAL i współaut. 2007). Warto podkreślić, iż struktura chemiczna tego związku (Ryc. 1) została poznana i przedstawiona w 1910 r. przez Polaków: K. Kostaneckiego, J. Miłobędzką i W. Lampe (LAMPE i współaut. 1910).



Ryc. 1. Wzór strukturalny kurkuminy.

Pierwsze prace o charakterze badawczym poświęcone kurkuminie pojawiły się w latach 70. XX w. Liczba prac opisujących efekty wywoływane w komórkach ludzkich oraz organizmach zwierzęcych przez kurkuminę rośnie z roku na rok. Zainteresowanie tym związkiem wynika z jego różnorodnych, korzystnych działań oraz niskiej toksyczności. Obecnie w internetowej bazie danych PubMed figuruje ponad 1000 prac badawczych i przeglądowych poświęconych właściwościom kurkuminy.

WŁAŚCIWOŚCI FARMAKOKINETYCZNE I TOKSYCZNOŚĆ KURKUMINY

Kurkumina jest niezwykle obiecującym związkiem o potencjalnie bardzo szerokim spektrum działania. Jednakże poważnym problemem opóźniającym wprowadzenie go do kliniki jest jego niska biodostępność. Kurkumina słabo wchłania się z przewodu pokarmowego po podaniu doustnym, co wynika z hydrofobowego charakteru cząsteczki, która jest metabolizowana w wątrobie. Proces ten

uniczynnia znaczną część podanej doustnie kurkuminy, zanim osiągnie ona krążenie ogólne (IRESON i współaut. 2001).

Wyniki badań klinicznych I fazy wskazują, że kurkumina w surowicy krwi jest niemal niewykrywalna, a efekty terapeutyczne są ograniczone do miejscowego działania w przewodzie pokarmowym (głównie w obrębie jelita grubego). Dane

otrzymane przez inne grupy badawcze wykazały, że w warunkach *in vitro* stężenie kurkuminy w komórkach waha się w granicach 10^{-4} – 10^{-5} M (IRESON i współaut. 2001). Pytanie, czy w warunkach *in vivo* osiągnięcie efektu terapeutycznego wymaga podobnych, czy być może niższych stężeń kurkuminy, pozostaje otwarte. CHENG i współaut. (2001) donoszą, że stężenie kurkuminy w surowicy krwi po zastosowaniu dawek 4, 8 i 12 g wynosi odpowiednio: $0,51 \pm 0,11 \mu\text{M}$, $0,63 \pm 0,06 \mu\text{M}$ i $1,77 \pm 1,87 \mu\text{M}$. Po podaniu kurkuminy w niższych dawkach jej stężenie w surowicy jest na granicy detekcji.

Rozbieżności w wartościach opisywanych stężeń w surowicy krwi wynikać mogą zarówno z czułości i dokładności stosowanych metod analitycznych, czasu pobierania próbek przed/po bezpośrednim podaniu związku, czasu trwania całego badania (przyjmowania kurkuminy), formy preparatu, jego składu i czystości (czy jest to „czysta” kurkumina, czy też występuje tam domieszka pochodnych kurkuminy).

Wielką zaletą kurkuminy, wykazaną w badaniach na zwierzętach oraz ludziach, jest jej niska toksyczność. Mieszkańcy rejonów Azji, z których pochodzi kurkumina, stale spożywają dziennie średnio 1,5 g surowego ekstraktu z kłączy ostryżu długiego zwanego kurkumą (2–8% stanowi kurkumina). Długotrwałe przyjmowanie niewielkich ilości kurkuminy nie tylko nie wywołuje niekorzystnych efektów, ale wręcz jest uznawane za jeden z powodów mniejszej zachorowalności na nowotwory, zwłaszcza przewodu pokarmowego (MOHANDAS i DESAI 1999). Najnowsze badania wskazują, że dawki jednorazowe rzędu 12 g nie wywołują efektów toksycznych (LAO i współaut. 2006). Jednakże podawanie tej wielkości dawek nastręcza pewne problemy natury technologicznej przy przygotowywaniu postaci preparatu. Ponadto, ponieważ nie jest określona dawka kurkuminy efektywna biologicznie (lub odkryty marker jej aktywności na poziomie komórki), próby zwiększania podawanych dawek nie są do końca uzasadnione.

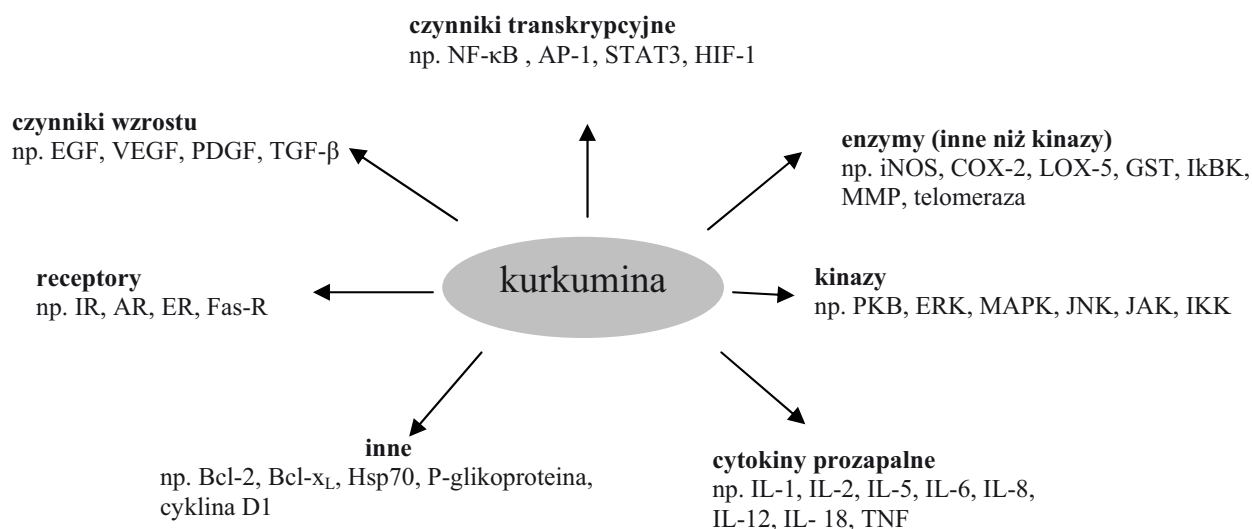
WŁAŚCIWOŚCI BIOLOGICZNE KURKUMINY – WIELOKIERUNKOWOŚĆ DZIAŁANIA

Kurkumina jest związkiem wykazującym niezwykle szerokie spektrum działania zarówno na poziomie komórki, jak i całego organizmu. Zjawisko, w którym jeden czynnik wywołuje więcej niż jeden efekt działania nosi nazwę pleiotropii.

Najbardziej znane i najszerzej udokumentowane w piśmiennictwie jest jej działanie przeciwzapalne, antyoksydacyjne i przeciwnowotworowe (w tym hamujące angiogenezę i powstawanie przerzutów). Szereg prac poświęcono również jej działaniu chemoprewencyjnemu, przeciwmutagennemu, antyproliferacyjnemu, a ostatnio również modulującemu funkcjonowanie układu odpornościowego i neuroprotekcynemu. Bardziej szczegółowy opis ważniejszych efektów biologicznych wywoływanych przez kurkuminę zawarty jest w kolejnych podrozdziałach.

Na Ryc. 2 przedstawiono białka, których aktywność lub ekspresja jest regulowana przez kurkuminę. Podzielono je na kilka grup pod względem funkcji, jakie pełnią w komórce, podając tylko wybrane przykłady.

Wielokierunkowość działania jest w pewnym stopniu wyrazem niskiej selektywności danej substancji. W przypadku kurkuminy, wydaje się być ona z jednej strony dużą wadą, z drugiej zaś, może być największą zaletą tego związku. Z punktu widzenia badacza, znaczna ilość efektów biologicznych nakładających się na siebie nastręcza trudności w ustalaniu charakteru zmian wywołanych przez kurkuminę (które z nich mają charakter pierwotny, a które są zdarzeniami następczymi, wtórnymi). Komórki nowotworowe posiadają wiele mechanizmów oporności na apoptozę, wynikających zarówno z nadekspresji związków prożyciowych i antyapoptotycznych, jak i obniżenia lub braku ekspresji cząsteczek proapoptotycznych. Obecnie wiadomo, że w komórkach obok najbardziej znanej, apoptotycznej, funkcjonują inne ścieżki przekazywania sygnału do zainicjowania śmierci komórkowej. Wielokierunkowość działania kurkuminy zwiększa szansę, że wśród jej celów działania znajdzie się ścieżka nie zablokowana w wyniku transformacji nowotworowej lub oporności nabytej.



Ryc. 2. Wybrane białka będące celem działania kurkuminy (wg AGGARWALA i współaut. 2007).

Rozwinięcie skrótów i objaśnienia: NF- κ B: jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B; AP-1: czynnik transkrypcyjny aktywowany w odpowiedzi na sygnały zewnątrzkomórkowe; STAT3: czynnik transkrypcyjny regulujący ekspresję szeregu genów warunkujących przeżycie komórki; HIF-1: czynnik transkrypcyjny indukowany w stanie niedotlenienia; iNOS: indukowalna syntaza tlenu azotu; COX-2: cyklooksygenaza 2; LOX-5: lipooksygenaza 5; GST: transferaza S-glutationowa; IKK: kinaza fosforylująca IkB, tj. inhibitor kompleksu NF- κ B; MMP: metaloproteiny; PKB: kinaza białkowa B; ERK: kinaza regulująca sygnały zewnątrzkomórkowe; MAPK: kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny; JNK: jedna z kinaz należących do rodziny MAPK; JAK: kinaza tyrozynowa należąca do rodziny kinaz Janus; IL: interleukina; TNF: czynnik martwicy nowotworu; Bcl-2 i Bcl-x_L: białka antyapoptotyczne; Hsp70: białko szoku cieplnego Hsp70; P-glikoproteina: białko odpowiedzialne za oporność wielolekową komórek nowotworowych; IR: receptor dla integrzyn; AR: receptor dla androgenów; ER: receptor dla estrogenów; Fas-R: jeden z tzw. błonowych receptorów śmierci; EGF: czynnik wzrostu naskórka; VEGF: czynnik wzrostu komórek nabłonka naczyń; PDF: czynnik wzrostu pochodzący z płytek krwi; TGF- β : czynnik transformujący β .

WPŁYW KURKUMINY NA PROCESY ZAPALNE W ORGANIZMIE

Jedną z pierwszych właściwości kurkuminy, rzutującą na jej wykorzystanie w medycynie Dalekiego Wschodu, był jej dobroczynny wpływ na gojenie się ran, łagodzenie dolegliwości wynikających z urazów, którym towarzyszył stan zapalny.

Stan zapalny jest podstawową reakcją organizmu na infekcje, urazy i zranienia, stres o różnej etiologii oraz szereg innych czynników. W warunkach fizjologicznych zapalenie jest przejawem niespecyficznej odpowiedzi układu odpornościowego. Proces zapalny ma charakter dynamiczny i przebiega według ściśle określonego schematu. W świetle dzisiejszej wiedzy przedłużający się, przewlekły stan zapalny leży u podstaw szeregu chorób, w tym również niektórych typów nowotworów. Ograniczenie i zahamowanie tego procesu jest jednym z poważniejszych wyzwań stojących przed współczesną medycyną i nauką.

Jednym z kluczowych elementów odpowiadających za rozwój stanu zapalnego jest aktywność jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Badania prowadzone na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat wykazały, że warunkuje ona ekspresję genów związanych nie tylko z przeżyciem, wzrostem i różnicowaniem komórek, ale także z indukcją stanu zapalnego (SHISHODIA i AGGARWAL 2002). Do grupy białek, których ekspresja jest regulowana przez czynnik transkrypcyjny NF- κ B należą m.in. interleukiny: IL-1- α , IL-1- β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12 (p40); interferony: INF γ i INF β ; cząsteczki adhezyjne: ELAM-1, ICAM-1 i VCAM-1 oraz enzymy: cyklooksygenaza 2 (COX-2), lipooksygenaza 5 (LOX-5), indukowalna syntaza tlenu azotu (iNOS), dysmutaza ponadtlenukowa (MnSOD) (PAHL 1999). Zahamowanie aktywności NF- κ B skutkuje obniżeniem ekspresji genów kodujących wymienione białka.

Czynnik transkrypcyjny NF- κ B jest dimerem zbudowanym z białek należących do rodziny Rel: p50 (NF- κ B1), p52 (NF- κ B2), c-Rel, v-Rel, Rel A (p65) i Rel B (SHISHODIA i AGGARWAL 2004). Wspólną cechą tych białek jest obecność na N-końcu cząsteczki ok. 300-aminokwasowego regionu RDH, który jest odpowiedzialny za wiązanie z DNA, dimeryzację podjednostek, translokację do jądra i interakcje z innymi czynnikami transkrypcyjnymi. W warunkach braku sygnału do aktywacji, NF- κ B występuje w cytoplazmie w połączeniu z białkowym inhibitorem I κ B (I κ B α , I κ B β , I κ B ϵ , p100, p105). Obecność tego białka hamuje translokację NF- κ B do jądra komórkowego (BALDWIN 1996). NF- κ B jest aktywowany w odpowiedzi na szeroką gamę sygnałów, które prowadzą do fosforylacji I κ B, wskutek czego ulega on dysocjacji z kompleksu, a następnie ubiquitylacji i degra-

dacji. Usunięcie I κ B z kompleksu powoduje odsłonięcie sekwencji lokalizacji jądrowej w obrębie dimeru, co umożliwia przemieszczenie się aktywnego NF- κ B do jądra komórki, wiązanie z DNA i aktywację transkrypcji wielu genów (PAHL 1999). Fosforylacja I κ B jest krytycznym etapem prowadzącym do aktywacji NF- κ B, katalizowanym przez kompleks kinazy I κ B (IKK) (KARIN 1999).

Jednym z celów komórkowych kurkuminy jest hamowanie aktywacji NF- κ B poprzez hamowanie aktywności kinazy I κ B (IKK) (PLUMMER i współaut. 1999). Przeciwwzapalne właściwości kurkuminy wynikają właśnie z upośledzenia aktywacji NF- κ B, a tym samym obniżenia ekspresji wielu białek biorących udział w procesie zapalnym, m.in. cyklooksygenazy-2 (COX-2), interleukiny 8, indukowalnej izoformy syntazy tlenu azotu (iNOS) i wielu innych.

NEUROPROTEKCYJNE WŁAŚCIWOŚCI KURKUMINY

Jedną z niedawno rozpoznanych właściwości kurkuminy jest jej działanie neuroprotektoryjne, ujawniające się m.in. w kontekście choroby Alzheimera (AD). Zmianom patologicznym zachodzącym w mózgu osób na nią cierpiących towarzyszą uszkodzenia wywołane przez stres oksydacyjny oraz stan zapalny związany z aktywacją komórek mikrogleju i wzmożoną produkcją cytokin prozapalnych. Badania epidemiologiczne wykazały obniżenie ryzyka wystąpienia tego schorzenia lub istotne spowolnienie postępu choroby u osób przewlekłe przyjmujących niesteroidowe środki przeciwzapalne, np. ibuprofen, naproksen, ketoprofen. Jednakże długotrwałe przyjmowanie leków ze wspomnianej grupy działa toksycznie na przewód pokarmowy, nerki i wątrobę na skutek upośledzenia fizjologicznej roli cyklooksygenazy I (COX-I) (LIM i współaut. 2001). W odróżnieniu od klasycznych leków przeciwzapalnych, kurkumina jest związkiem nietoksycznym i bezpiecznym również podczas długotrwałego przyjmowania. Obok hamowania reakcji zapalnych, z perspektywy potencjalnego zastosowania w chorobie Alzheimera, istotne są właściwości antyoksydacyjne kurkuminy oraz jej wpływ na obniżenie poziomu cholesterolu. Wykazano, że przyjmowanie substancji o właściwościach przeciwtłeniowych oraz niski poziom cholesterolu sprzyjają obniże-

niu ryzyka wystąpienia AD. Doświadczenia w warunkach *in vitro* pokazały, że kurkumina w bardzo niskich stężeniach (rzędu 0,1–1 μ M) hamuje agregację β -amyloidu. Ten sam efekt obserwowano w hodowlach komórkowych (RINGMAN i współaut. 2005).

LIM i współaut. (2001) wykazali, że w mózgach transgenicznym myszy ze zmutowanym ludzkim genem *APP* kodującym białko prekursorowe β -amyloidu i wyrażonymi objawami AD, karmionych przez pół roku kurkumina, dochodzi do zahamowania stanu zapalnego i ograniczenia ilości uszkodzeń wywołanych przez stres oksydacyjny. W odniesieniu do stanu początkowego, zaobserwowano znaczący spadek ilości IL-1 β , jak i białek, które uległy procesom oksydacji oraz redukcję nagromadzonej ilości β -amyloidu o 43–50%. Stwierdzono również zahamowanie aktywacji komórek mikrogleju w mózgach badanych myszy. Zastosowanie kurkuminy jako związku o działaniu pleiotropowym wydaje się być jak najbardziej zasadne w odniesieniu do chorób o wieloczynnikowej i nie do końca wyjaśnionej etiologii, do których z pewnością należą choroby neurodegeneracyjne, w tym choroba Alzheimera. Wyniki badań na zwierzętach okazały się na tyle obiecujące, że obecnie trwają badania kliniczne II fazy prowadzone na osobach dotkniętych łagodną i umiarkowaną postacią tego schorzenia.

KURKUMINA JAKO ZWIĄZEK CHEMOPREWENCYJNY

Chemoprewencja, a raczej chemoprotektyka, jest pojęciem nie do końca tożsamym z profilaktyką w tradycyjnym tego słowa znaczeniu. Definiuje się ją jako świadome zastosowanie naturalnych bądź syntetycznych związków chemicznych o aktywności biologicznej skierowanej na zapobieganie chorobom nowotworowym, poprzez tłumienie i hamowanie zmian o charakterze przednowotworowym. Związki o tej aktywności wykazują znikomą toksyczność i brak efektów niepożądanych. Większość znanych i stosowanych związków chemoprewencyjnych to substancje pochodzenia roślinnego. Dzieli się je na kilka klas: (1) związki hamujące etap inicjacji transformacji nowotworowej, (2) związki hamujące proliferację komórek prenowotworowych i nowotworowych na etapie promocji i progresji nowotworu oraz (3) związki wykazujące jednocześnie działanie opisane w punktach 1 i 2, do których zaliczana jest kurkumina oraz m.in. resweratrol – polifenol występujący m.in. w winogronach (DUVOIX i współaut. 2005).

Chemoprewencyjne właściwości kurkuminy są ściśle związane z hamowaniem aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Jak wcześniej wspomniano, uczestniczy on w ekspresji genów zaangażowanych w proces zapalny. Dane literaturowe wskazują jednak, że nie jest to jedyna grupa genów docelowych tego białka. NF- κ B jest często określany mianem aktywatora odpowiedzi stresowej w komórce, gdyż reguluje ekspresję ponad 150 genów związanych z przeżyciem, proliferacją oraz odpowiedzią na warunki stresowe (SHISHODIA i AGGARWAL 2002).

Ciekawym zagadnieniem jest również udział procesu zapalnego w powstawaniu nowotworów. Niefizjologiczny, przedłużony stan zapalny może być, zdaniem niektórych badaczy, punktem wyjścia dla transformacji nowotworowej. Wykazano, że NF- κ B reguluje ekspresję białek zaangażowanych w transformację nowotworową, m.in. c-myc, interleukin: IL-1 α , IL-1 β , IL-6 i IL-8, IL-18, cykliny D1, zewnątrzkomórkowych metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 (ang. matrix metalloproteinase-2/9), receptora dla epidermalnego czynnika wzrostu EGFR (ang. epidermal growth factor receptor), wspomnianego wcześniej czynnika wzrostu VEGF, cykloksygenazy-2 (COX-2) oraz białek Bcl-2 i Bcl-x_L (AGGARWAL i współaut. 2006). Ponadto stwierdzono, że w wielu typach komórek nowotworowych

NF- κ B jest aktywny konstytutywnie, co dodatkowo może wskazywać na jego udział w rozwoju chorób nowotworowych. W literaturze można znaleźć przykłady badań, w których, po zahamowaniu aktywności lub ekspresji tego białka, obserwowano zarówno zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych, jak i wzrostu guza w warunkach *in vivo* (AGGARWAL i współaut. 2006).

Należy również pamiętać, że szereg powszechnie stosowanych chemioterapeutyków takich jak: taksol, doksorubicyna, daunorubicyna, etopozyd, winkrystyna, winblastyna, cisplatyna, AZT, kamptotecyna, a także terapeutyczne dawki promieniowania gamma, indukują ekspresję NF- κ B. Tak więc związki, których zasadniczą rolą jest indukcja śmierci komórki nowotworowej, mogą jednocześnie prowadzić do aktywacji szlaków antyapoptotycznych przebiegających z udziałem NF- κ B, co w konsekwencji może doprowadzić do wyeliminowania oporności na stosowaną terapię.

Kurkumina i inne polifenole pochodzenia roślinnego hamują również aktywację czynnika transkrypcyjnego AP-1, który uczestniczy w regulacji ekspresji genów zaangażowanych w procesy apoptozy i proliferacji komórek. AP-1 może promować proliferację komórki w drodze aktywacji ekspresji genu cykliny D1 i hamować ekspresję genów supresorowych nowotworów: jak *p53*, *p21* i *p16* (SHISHODIA i współaut. 2007).

Od kiedy wiadomo, że kurkumina i inne związki pochodzenia roślinnego, jak np. resweratrol, kapsaicyna, sylimaryna, hamują aktywność NF- κ B, a tym samym ekspresję regulowanych przez ten czynnik genów, proponuje się stosowanie terapii skojarzonej, w skład której, oprócz klasycznych chemioterapeutyków czy radioterapii, wchodziłyby związki chemoprewencyjne. Co więcej, w przypadku kurkuminy wykazano, że hamuje ona ekspresję genu *Mdr-1* (LIMTRAKUL i współaut. 2004). Produkt tego genu, P-glikoproteina, jest białkiem zdolnym do aktywnego usuwania (wypompowywania) z komórki wielu związków, w tym przeciwnowotworowych, co może powodować narastanie oporności na cytostatyki (tzw. fenotyp oporności wielolekowej) i skazywać terapię na niepowodzenie. Tak więc, zastosowanie kurkuminy może uwrażliwiać komórki nowotworu na cytostatyki i potęgować ich działanie. W praktyce mogłoby to skutkować zmniejszaniem dawek

klasycznych leków przeciwnowotworowych, a tym samym osłabiać efekty uboczne terapii oraz zmniejszać prawdopodobieństwo indukcji lekooporności. Warto również pamiętać, że wchodzące w skład takich terapii związki

chemoprewencyjne jak kurkumina, znane są jako związki indukujące apoptozę w wielu typach nowotworów, co dodatkowo przemawia za stosowaniem jej w terapii przeciwnowotworowej.

KURKUMINA JAKO ZWIĄZEK PRZECIWNOWOTWOROWY

Transformacja nowotworowa jest procesem kilkietapowym i obejmuje powstanie pierwotnych zmian prenowotworowych (ang. tumor promotion stage), utrwalenie tych zmian, a następnie angiogenezę i wzrost nowotworu. Liczne dane literaturowe wskazują, że kurkumina, zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo*, hamuje proces nowotworzenia na wszystkich wymienionych etapach, jak również wywiera efekt cytotoksyczny, tj. indukuje różne typy śmierci komórek nowotworowych lub hamuje ich proliferację (efekt cytostatyczny). Zdecydowana większość opracowań dotyczących właściwości kurkuminy, skupia się właśnie na jej aktywności przeciwnowotworowej. Poniżej przedstawiono wyniki niektórych badań prowadzonych *in vitro* i *in vivo* (na zwierzętach), wskazujące na przeciwnowotworowe właściwości kurkuminy.

PRZECIWNOWOTWOROWE WŁAŚCIWOŚCI KURKUMINY – BADANIA *IN VIVO*

Dopełnieniem badań wskazujących na przeciwnowotworowe właściwości kurkuminy prowadzonych w warunkach *in vitro* są badania na zwierzętach. Bardzo użyteczne w badaniach *in vivo* są modele z wykorzystaniem ksenograftów, tj. pozbawionych odporności zwierząt laboratoryjnych, którym przeszczepiono komórki nowotworowe człowieka (ang. xenografts). W tych warunkach, dochodzi do rozwoju nowotworu typowego dla komórek, które zostały wprowadzone do organizmu zwierzęcia; umożliwia to badanie rozwoju nowotworu i skuteczności terapii na żywych organizmach. Wykazano, że kurkumina poprzez obniżenie aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, hamuje wzrost guza i angiogenezę u myszy, którym przeszczepiono komórki nowotworowe raka jajnika (LIN i współaut. 2007). Podobnie w mysim modelu raka trzustki, zastosowanie kurkuminy wywołuje zahamowanie zarówno tworzenia nowych naczyń krwionośnych w otoczeniu guza jak i proliferacji komórek nowotworowych oraz uwrażliwia je na chemioterapię. Postuluje się, że obserwowane efekty są

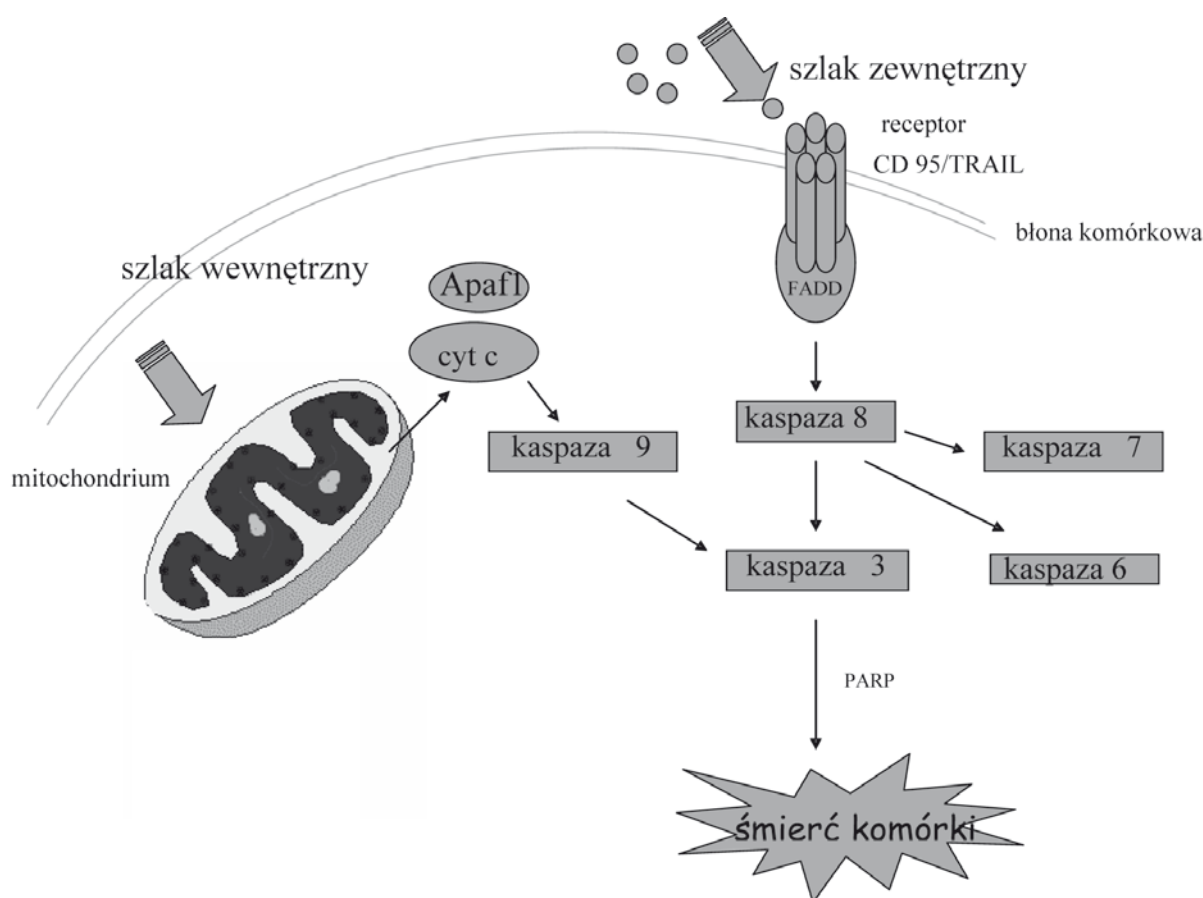
związane z zahamowaniem aktywności czynnika NF- κ B (KUNNUMAKKARA i współaut. 2007).

Wykazano, że u myszy, którym wszczepiono komórki raka okrężnicy, po podaniu kurkuminy dochodzi do znaczącego spadku masy guza oraz zahamowania angiogenezy w jego otoczeniu. Podawanie kurkuminy myszom, którym uprzednio wszczepiono komórki ludzkiego glejaka U87, powodowało zahamowanie wzrostu guza, jak również indukcję śmierci komórkowej o znamionach autofagii (AOKI i współaut. 2007). Zmniejszenie się rozmiaru guza i zahamowanie angiogenezy obserwowano również w przypadku mysich modeli ksenograftów raka pęcherza (LI i współaut. 2005a). Efekt działania kurkuminy jest skutkiem hamowania przez nią aktywności czynnika transkrypcyjnego HIF-1 (ang. Hypoxia-inducible factor-1), co powoduje obniżenie ekspresji genów zależnych od HIF-1 (CHOI i współaut. 2006). Bardzo często stan hipoksji jest generowany wewnątrz guzów litych, a odpowiedzią na niego jest aktywacja czynnika transkrypcyjnego HIF-1. Indukuje on ekspresję genów, których produkty są zaangażowane w angiogenezę, proliferację, przeżycie, metabolizm glukozy i migrację. W praktyce oznacza to udział w adaptacji komórek nowotworu do niekorzystnych warunków panujących wewnątrz guza (PATIAR i HARRIS 2006).

MECHANIZMY PRZECIWNOWOTWOROWEGO DZIAŁANIA KURKUMINY – BADANIA *IN VIVO*

Celem chemioterapii jest doprowadzenie do śmierci komórek, które uległy transformacji nowotworowej. Rozwój i progresja nowotworu wymaga obecności szeregu białek, które promują proliferację oraz hamują apoptozę (białka antyapoptotyczne lub inhibitory białek proapoptotycznych). W komórkach ssaków scharakteryzowano dwa podstawowe szlaki sygnałowe prowadzące do apoptozy. Ich uproszczony przebieg opisano poniżej oraz przedstawiono na Ryc. 3.

Pierwszy ze szlaków, określany mianem zewnętrznego (ang. extrinsic), przebiega z



Ryc. 3. Uproszczony schemat szlaków prowadzących do apoptozy.

udziałem błonowych receptorów śmierci należących do rodzin: TNFR (ang. tumor necrosis factor receptor), takich jak CD95/Fas, TRAIL-R1 (ang. TNF related apoptosis inducing ligand-R1,) oraz TRAIL-R2. Połączenie wymienionych receptorów z ligandami prowadzi do ich oligomeryzacji i przyłączenia cytoplazmatycznego białka adaptorowego FADD (ang. Fas associated death domain), a w konsekwencji do aktywacji prokaspazy 8 w drodze proteolizy. Substratami dla aktywnej formy kaspazy 8 są m.in. prokaspazy efektorowe: 3, 6 i 7. W przebiegu szlaku wewnętrznego (ang. intrinsic) dochodzi do uwolnienia z mitochondriów do cytoplazmy cytochromu c. Związanie uwolnionego cytochromu c z proapoptotycznym białkiem Apaf-1 (ang. apoptotic protease activating factor 1) i prokaspazą 9 prowadzi do aktywacji kaspazy 9 i zapoczątkowania egzekutorowego etapu procesu z udziałem aktywnej kaspazy 3. Oprócz cytochromu c, uwolnienie z mitochondriów innego aktywatora kaspaz, białka Smac/Diablo, dodatkowo przyczynia się do aktywacji

tej grupy proteaz (KARUNAGARAN i współaut. 2005). Oba szlaki prowadzą do aktywacji kaspazy 3 – głównej egzekutorowej proteazy; mogą również ulegać wzajemnemu pobudzaniu i wzmacnianiu. Kaspaza 3 inaktywuje inhibitor DFF45/ICAD endonukleazy DFF40/CAD, która jest odpowiedzialna za hydrolizę DNA do oligonukleosomalnych fragmentów. Warto również wspomnieć o istnieniu szlaku prowadzącego od zaburzeń równowagi wapniowej w komórce do apoptozy, który przebiega w drodze aktywacji zlokalizowanej w siateczce śródplazmatycznej kaspazy 12 (NAKAGAWA i współaut. 2000). Można go zaliczyć do szlaku wewnętrznego, aktywowanego stresem.

Mimo tego, że molekularne mechanizmy antyproliferacyjnych i proapoptotycznych właściwości kurkuminy wciąż pozostają nie do końca wyjaśnione, próby tworzenia terapii wieloskładnikowych z jej udziałem, podejmowane są coraz częściej. Znanych jest szereg przykładów indukcji apoptozy przez kurkuminę w wielu zwierzęcych i ludzkich

nowotworowych liniach komórkowych, m.in. w komórkach linii białaczkowych, raka piersi, płuc, prostaty, okrężnicy, nerek, wątroby i jajników. W zależności od typu komórek nowotworowych (udział tzw. „tła genetycznego”) kurkumina indukuje apoptozę zarówno przez szlak zewnętrzny, jak i mitochondrialny. Przykładowo, w komórkach ludzkiego czerniaka traktowanych kurkumina dochodzi do pobudzenia receptora Fas i aktywacji kaspazy 8 (szlak zewnętrzny). W komórkach raka żołądka i okrężnicy traktowanych kurkumina obserwowano wzrost aktywności kaspazy 8, aktywację kaspazy 3 i związaną z nią hydrolizę białka PARP [ang. poly (ADP) ribose polymerase] oraz spadek poziomu antyapoptotycznego białka Bcl- x_L (MORAGODA i współaut. 2001). Z kolei apoptoza w komórkach HL-60 przebiega z uwolnieniem cytochromu c z mitochondriów oraz aktywacją kaspaz 3 i 8 i specyficzną dla apoptozy fragmentacją białek: syntazy poli-ADP-rybozy (PARP) oraz Bid (ANTO i współaut. 2002). BIELAK-ŻMIJEWSKA i współaut. (2004) wykazali, że apoptoza w tych samych komórkach przebiega bez udziału kaspazy 8. Obserwowane różnice mogą być wynikiem stosowania różnych stężeń lub warunków, w których prowadzono doświadczenia. Tym niemniej, większość prac dotyczących indukcji apoptozy w różnych nowotworowych liniach komórkowych z udziałem kurkuminy wskazuje na udział szlaku mitochondrialnego w tym procesie. Udział szlaku zewnętrznego wymaga dalszych badań.

Odbiegając nieco od klasycznych, przedstawionych powyżej szlaków, „wersją” programowanej śmierci komórki jest apoptoza niezależna od kaspaz. Uczestniczą w niej m.in. mitochondrialny czynnik indukujący apoptozę AIF (ang. apoptosis inducing factor) i endonukleaza G. Po zadziałaniu bodźca proapoptotycznego, czynnik AIF ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie wywołuje kondensację chromatyny i wielkocząsteczkową fragmentację DNA. Mitochondrialna endonukleaza G również ulega translokacji do jądra komórkowego i odpowiada tam za nukleosomalną fragmentację DNA, niezależną od kaspaz (JOZA i współaut. 2001). Stwierdzono, że niezależna od kaspaz apoptoza, związana z uwolnieniem AIF z mitochondriów, może być odpowiedzią komórek na działanie kurkuminy (CIPRIANI i współaut. 2001).

Ciekawym, ale słabo poznanym procesem jest indukcja apoptozy z udziałem reaktywnych form tlenu. Złożoność i niespójność

zjawisk natury oksydoredukcyjnej, obserwowanych w komórkach traktowanych kurkumina, nie pozwalają jeszcze na wyjaśnienie podstawowego mechanizmu indukcji przez kurkuminę apoptozy przebiegającej z udziałem reaktywnych form tlenu.

W niektórych nowotworowych liniach komórkowych kurkumina indukuje inną niż apoptozę śmierć komórki. Wyniki badań prowadzonych przez nasz zespół wskazują, że śmierć indukowana kurkumina w białaczkowej linii nowotworowej Jurkat przebiega bez charakterystycznej dla apoptozy oligosomalnej fragmentacji chromatyny (PIWOCKA i współaut. 1999, SIKORA i współaut. 2006). Śmierć, której towarzyszą tylko niektóre symptomy apoptozy, zachodzi pod wpływem kurkuminy w szczurzych spoczynkowych tymocytach, splenocytach, ludzkich limfocytach obwodowych, proliferujących, zależnych od IL-2 ludzkich komórkach T oraz ludzkich i mysich komórkach białaczkowych (BIELAK-ŻMIJEWSKA i współaut. 2000).

Oporność komórek nowotworowych na powszechnie stosowane chemioterapeutyki jest poważnym problemem w terapii nowotworów. Może ona być zarówno pierwotna, jak i nabyta w czasie terapii przeciwnowotworowej. Istotnym problemem jest więc poszukiwanie nowych substancji, które byłyby w stanie przełamywać oporność na chemioterapię i indukować apoptozę w komórkach nowotworowych. Alternatywą dla tego postępowania są próby indukcji innych niż apoptoza mechanizmów prowadzących do śmierci komórki. Badania prowadzone na przestrzeni kilkunastu ostatnich lat wyraźnie wskazują, że apoptoza nie jest jedynym szlakiem prowadzącym do śmierci. W komórkach nowotworowych, które mają zablokowane szlaki prowadzące do apoptozy, można wyindukować procesy takie jak katastrofa mitotyczna, autofagia czy różnicowanie i starzenie, których efektem jest śmierć lub zatrzymanie proliferacji i zahamowanie ekspansji nowotworowo zmienionych komórek.

Badania naszego zespołu wykazały, że kurkumina może wywoływać śmierć komórek nowotworowych podczas mitozy w procesie tzw. katastrofy mitotycznej (MAGALSKA i współaut. 2006, WOLANIN i współaut. 2006). W mysich komórkach z ekspresją BCR-ABL katastrofa mitotyczna jest konsekwencją obniżenia przez kurkuminę poziomu surwiwiny – białka regulującego przebieg mitozy zarówno na etapie kario-, jak i cytokinezy (WOLANIN i współaut. 2006). Należy zaznaczyć, iż śmierć

komórek w drodze katastrofy mitotycznej jest alternatywą dla apoptozy, gdyż podlegać jej mogą komórki nowotworowe odporne na apoptozę, w których doszło do zablokowania szlaków sygnałowych prowadzących do tego procesu. W literaturze opisane są również przykłady indukcji przez kurkuminę autofagii – procesu zwanego programowaną śmiercią komórki typu II-go (AOKI i współaut. 2007).

Powyżej przedstawiono jedynie wybrane przykłady indukcji śmierci komórek nowotworowych przez kurkuminę, tym niemniej wskazują one na jej duży potencjał jako związku przeciwnowotworowego. Znacznie szersze spojrzenie na omawiany problem zawarto w kilku obszernych, poświęconych właściwościom kurkuminy pracach przeglądowych (np. KARUNAGARAN i współaut. 2005, DUVOIX i współaut. 2005).

STATUS KLINICZNY KURKUMINY JAKO ZWIĄZKU PRZECIWNOWOTWOROWEGO I CHEMOPREWENCYJNEGO

Przeciwnowotworowe i chemoprewencyjne właściwości kurkuminy weryfikowane są obecnie w badaniach klinicznych. Pionierami tych badań byli Azjaci, w życie i kulturę których, związek ten był wpisany od wieków. Badacze z krajów wysoko rozwiniętych początkowo wyrażali pewną dezaprobatę w stosunku do tych badań. Obiecujące wyniki doświadczeń na zwierzętach na tyle zmieniły podejście do kurkuminy, że badania kliniczne z zastosowaniem tego związku obecnie prowadzone są również w ośrodkach europejskich i amerykańskich.

Pod poniższym adresem internetowym znajduje się wykaz zakończonych, prowadzonych, bądź planowanych badań z zastosowaniem kurkuminy przedstawionych w serwisie amerykańskiego Narodowego Instytutu Zdrowia (NIH) (ang. National Institutes of Health) (<http://clinicaltrials.gov/ct/search?term=curcumin&submit=Search>).

W zdecydowanej większości badań, kurkumina wchodzi w skład tzw. terapii skojarzonej, opierającej się na zastosowaniu kilku związków działających na komórki nowotworowe według odmiennych mechanizmów. Jednoczesne zaburzenie kilku procesów, bądź upośledzenie szlaków sygnałowych, znacząco zwiększa szansę na eliminację komórek nowotworowych. Najbardziej obiecujące wydaje się zastosowanie kurkuminy w leczeniu szpiczaka mnogiego, dających przerzuty, zaawansowanych i nieoperacyjnych nowotworów trzustki (II i III faza) oraz leczeniu (III faza) i zapobieganiu (faza I i II) nowotworów jelita grubego.

Niezwykle interesującym zagadnieniem są badania wpływu kurkuminy (I i II faza) na stan pacjentów dotkniętych chorobą Alzheimera, u podłoża której leżą najprawdopodobniej uszkodzenia związane ze stresem oksydacyjnym i przewlekły stan zapalny. Wstępne dane wskazują, że kurkumina hamuje powstawanie i agregację złożeń β -amyloidu, przez co spowalnia progresję choroby (YANG i współaut. 2005).

SUGEROWANE, NADRZĘDNE MECHANIZMY DZIAŁANIA KURKUMINY

Jedno z pierwszych pytań, jakie nasuwają się w czasie studiów nad działaniem kurkuminy, dotyczy wielokierunkowości jej działań. Różnorodność obserwowanych efektów może świadczyć o tym, że mają one charakter zmian następczych, drugorzędnych i są konsekwencją kilku nadrzędnych i wspólnych dla różnych typów komórek mechanizmów działania tego związku. Określenie charakteru tych nadrzędnych mechanizmów, aktywowanych bądź hamowanych przez kurkuminę, pozwoliłoby na usystematyzowanie wiedzy i racjonalne stosowanie preparatów zawierających ten związek oraz być może uniknięcie niepożą-

danych zmian na poziomie komórkowym, których zachodzenia nie możemy dziś wykluczyć.

Obecnie proponuje się, że nadrzędny mechanizm działania kurkuminy może dotyczyć jej wpływu na procesy oksydoredukcyjne w komórce. Dane literaturowe wskazują, że zmiany statusu redoks wpływają na procesy acetylacji histonów i białek niehistonowych, a tym samym na regulację transkrypcji wielu genów i funkcjonowania szeregu białek w komórce; co ciekawe mogą być również przyczyną opisanego wcześniej hamowania aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B.

WPŁYW KURKUMINY NA ACETYLACJĘ

Interesującym, ale słabo poznanym zagadnieniem jest wpływ kurkuminy na procesy acetylacji w komórce. Acetylacja jest, obok fosforylacji, metylacji i ubikwitylacji, kolejną modyfikacją regulującą przebieg szeregu szlaków sygnałowych i zmieniającą niektóre właściwości białek (KOUZARIDES 2000). Odwracalna acetylacja specyficznych reszt lizyny w N-końcowych ogonach histonów rdzeniowych jest jednym z kluczowych mechanizmów zaangażowanych w regulację ekspresji genów w komórkach eukariotycznych. Modyfikacja ta prowadzi do zmian w organizacji struktury przestrzennej chromatyny: dochodzi do jej rozluźnienia, przez co, staje się ona bardziej dostępna dla maszyneryi transkrypcyjnej. Acetylacja jest ponadto procesem regulującym stabilność i funkcje szeregu białek niehistonowych.

W literaturze spotyka się zarówno dane dotyczące wzrostu, jak i zahamowania acetylacji w komórkach traktowanych kurkumina.

BALASUBRAMANYAM i współaut. (2004) w badaniach prowadzonych na linii komórkowej HeLa wykazali, że kurkumina w warunkach *in vitro* jest specyficznym inhibitorem acetylotransferazy p300/CBP; nie wpływa przy tym na aktywność deacetylaz. Traktowanie tych komórek kurkumina prowadzi do zahamowania acetylacji białek niehistonowych, histonów i związanego z tym zahamowania transkrypcji.

KANG i współaut. (2005) wykazali, że kurkumina hamuje aktywność acetylotransferaz zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. W hamowaniu acetylotransferaz przez kurku-

minę mogą pośredniczyć reaktywne formy tlenu, generowane przez nią w stężeniach wyższych niż 20 μM . Wykazano również, że kurkumina wywołuje hypoacetylację histonów oraz zależną od kaspazy 3 śmierć komórek nowotworowych mózgu (KANG i współaut. 2006).

Z drugiej strony, istnieją prace wskazujące, że 25 μM kurkumina hamuje ekspresję deacetylaz HDAC1, HDAC3, HDAC8, wywołując wzrost poziomu acetylowanej formy histonu H4 i apoptozę w komórkach chłoniaka linii B-NHL Raji (LIU i współaut. 2005). Nowsza praca dotycząca tej samej linii komórkowej i tego samego stężenia kurkuminy wskazuje, że indukuje ona również acetylację histonu H3 w promotorze genu p21 i wzmacnia transkrypcję białka p21, będącego inhibitorem cyklinozależnych kinaz (LI i współaut. 2006). Wykazano, że kurkumina w stężeniach powyżej 25 μM wywołuje hyperacetylację histonu H3, z towarzyszącym wzrostem ekspresji białka p53 oraz wzrostem poziomu jego acetylowanej formy. W konsekwencji obserwowano zahamowanie proliferacji komórek linii nowotworowej NB4 (LI i współaut. 2005b).

Udział kurkuminy w procesach acetylacji nie jest jednoznaczny; dostępne dane literaturowe zawierają sprzeczne informacje. Badania naszego zespołu wskazują, że czynnikiem decydującym o kierunku zmian w statusie acetylacji jest stężenie kurkuminy: niższe wywołuje hyperacetylację histonów i wzrost ekspresji białek regulowanych w drodze acetylacji, wyższe hamuje procesy acetylacji w komórce (dane niepublikowane).

KURKUMINA JAKO ZWIĄZEK MODULUJĄCY REAKCJE OKSYDOREDUKCYJNE

Stres oksydacyjny odgrywa istotną rolę w patogenezie wielu chorób, m.in. chorobie niedokrwiennej mięśnia sercowego, pourazowych niedokrwieniach mózgu, niedotlenieniu i nowotworach. Pierwsze badania dotyczące właściwości oksydoredukcyjnych kurkuminy wskazywały na jej silne właściwości przeciwutleniające. Wykazano, że związek ten neutralizuje w komórce reaktywne formy tlenu, w tym anionorodnik ponadtlenkowy, rodnik hydroksylowy oraz tlenek azotu. Kurkumina powoduje wzrost poziomu wewnątrzkomórkowego glutationu, związku o silnych właściwościach przeciwutleniających. Ponadto, w badaniach na różnych modelach zwierzęcych

wykazano, że kurkumina hamuje peroksydację lipidów (KARUNAGARAN i współaut. 2005).

Z drugiej jednak strony zaobserwowano, że w określonych warunkach kurkumina może działać jako prooksydant, a efekt ten może odpowiadać za jej właściwości antyproliferacyjne. Mimo pozornej sprzeczności, aktywności kurkuminy w kierunku pro- i antyoksydacyjnym nie muszą się wykluczać. Wykazano, że niektóre związki o charakterze polifenoli, znane ze swych silnych właściwości przeciwutleniających, bezpośrednio po podaniu do hodowli wywołują przejściowy wzrost produkcji wolnych rodników i mimo tego, że efekt ten ma charakter krótkotrwa-

ły, może w istotny sposób zmieniać przebieg procesów w komórce (SHARMA i współaut. 2005). Możliwość powstawania reaktywnych form tlenu w komórkach traktowanych kurkumina wydaje się o tyle interesująca, że stres oksydacyjny jest jednym z czynników regulujących acetylację histonów i transkrypcję wielu genów (RAHMAN i współaut. 2002). Okazuje się, że wpływem kurkuminy na produkcję i usuwanie reaktywnych form tlenu można by tłumaczyć większość znanych efektów jej działania, włączając zmiany ekspresji genów, stabilności i funkcji białek, zaham-

wanie proliferacji, indukcję śmierci komórkowej, zmiany w statusie acetylacji, hamowanie aktywności czynników transkrypcyjnych NF- κ B i AP-1 i wiele innych.

Zagadnienia związane z równowagą oksydoredukcyjną w komórce są niezwykle złożone, a ich badanie, ze względu na dynamikę jaką charakteryzują się reakcje z udziałem reaktywnych form tlenu, znacznie utrudnione. Tym niemniej szereg danych wskazuje, że to właśnie one leżą u podstaw wielokierunkowego działania kurkuminy.

PODSUMOWANIE

Kurkumina jest jednym z lepiej poznanych pod względem aktywności biologicznej związków naturalnym pochodzenia roślinnego. Jej właściwości przeciwzapalne, chemoprewencyjne i przeciwnowotworowe, wykazane w badaniach *in vitro* oraz na zwierzętach, stawiają ją w szeregu związków o potencjalnie bardzo szerokim zastosowaniu. Na przestrzeni ostatnich lat odkryto wiele białek będących celem działania tego związku i ścieżek sygnałowych upośledzanych przez kurkuminę. Wielokierunkowość działania kurkuminy jest niezwykle istotna w zapobieganiu i leczeniu schorzeń o złożonej etiologii, w tym nowotworów i chorób neurodegeneracyjnych. Obecnie prowadzone są również badania kliniczne na ludziach. Jednakże najpoważniejszym ograniczeniem rzutującym na powodzenie terapii z jej zastosowaniem jest bardzo słaba biodostępność po podaniu doustnym; problem ten dotyczy zresztą wielu substancji pochodzenia roślinnego. Wydaje się, że najrozsądniejszym rozwiązaniem jest udoskonalanie formy podania związku do or-

ganizmu z wykorzystaniem najnowszych zdobyczy dynamicznie rozwijającej się dziedziny jaką jest technologia postaci leku, bądź też poszukiwanie i synteza pochodnych i analogów tego związku o zmienionych właściwościach farmakokinetycznych. W tym przypadku istnieje jednak ryzyko, że poprawa biodostępności, poprzez wprowadzenie lub usunięcie określonych grup funkcyjnych z cząsteczki, nastąpi kosztem osłabienia aktywności biologicznej, czy wzrostu toksyczności. Warto też pamiętać, że droga z laboratorium chemicznego do kliniki nie jest prosta, tania ani krótka.

Autorki serdecznie dziękują Pani Prof. Ewie Sikorze, pionierowi badań nad kurkumina w Polsce, za wszechstronną pomoc i opiekę oraz Pani Prof. Barbarze Grzelakowskiej-Sztabert za cenne uwagi i komentarze w trakcie pisania tej pracy. Praca powstała w ramach realizacji projektu badawczego MNiSW N301/008 32/0549.

CURCUMIN – FROM TRADITIONAL MEDICINE TO THE CLINIC

Summary

Curcumin (diferuloylmethane), a polyphenolic compound derived from turmeric, known as a spice and food-coloring agent, has been used for centuries to treat various illnesses. For the last few decades, extensive work has been done to establish the biological activities and pharmacological actions of curcumin. Curcumin possesses diverse pharmacological activities including anti-inflammatory, antioxidant, antiproliferative, pro-apoptotic and antiangiogenic. It is a well-known chemopreventive agent with potent anticarcinogenic activity in a wide variety of tu-

mor cells. Moreover, it is known for antiarthritic and neuroprotective properties with a big potential role in the treatment of Alzheimer's disease. Curcumin has an outstanding safety profile and its lack of toxicity has been documented in the Phase I and II clinical trials. Although curcumin is poorly absorbed after ingestion and its low systemic bioavailability seems to limit the potential effects, multiple studies have documented that even low levels of physiologically achievable concentrations of curcumin may be sufficient for its chemopreventive and therapeutic activity against

various human diseases. Recently, numerous approaches have been undertaken to improve the bioavailability of curcumin. This review summa-

rizes the pleiotropic effects of curcumin and describes the recently identified molecular targets of curcumin.

LITERATURA

- AGGARWAL B. B., SHISHODIA S., SANDUR S. K., PANDEY M. K., SETHI G., 2006. *Inflammation and cancer: how hot is the link?* Biochem. Pharmacol. 72, 1605–1621.
- AGGARWAL B. B., SUNDARAM C., MALANI N., ICHIKAWA H., 2007. *Curcumin: the Indian solid gold*. Adv. Exp. Med. Biol. 595, 1–75.
- ANTO R. J., MUKHOPADHYAY A., DENNING K., AGGARWAL B. B., 2002. *Curcumin (diferuloylmethane) induces apoptosis through activation of caspase-8, BID cleavage and cytochrome c release: its suppression by ectopic expression of Bcl-2 and Bcl-xl*. Carcinogenesis 23, 143–150.
- AOKI H., TAKADA Y., KONDO S., SAWAYA R., AGGARWAL B. B., KONDO Y., 2007. *Evidence that curcumin suppresses the growth of malignant gliomas in vitro and in vivo through induction of autophagy: role of Akt and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways*. Mol. Pharmacol. 72, 29–39.
- BALASUBRAMANYAM K., VARIER R. A., ALTAF M., SWAMINATHAN V., SIDDAPPA N. B., RANGA U., KUNDU T. K., 2004. *Curcumin, a novel p300/CREB-binding protein-specific inhibitor of acetyltransferase, represses the acetylation of histone/nonhistone proteins and histone acetyltransferase-dependent chromatin transcription*. J. Biol. Chem. 279, 51163–51171.
- BALDWIN A. S., 1996. *The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights*. Annu. Rev. Immunol. 14, 649–683.
- BIELAK-ŻMIJEWSKA A., KORONKIEWICZ M., SKIERSKI J., PIWOCKA K., RADZISZEWSKA E., SIKORA E., 2000. *Effect of curcumin on the apoptosis of rodent and human nonproliferating and proliferating lymphoid cells*. Nutr. Cancer. 38, 131–138.
- BIELAK-ŻMIJEWSKA A., PIWOCKA K., MAGALSKA A., SIKORA E., 2004. *P-glycoprotein expression does not change the apoptotic pathway induced by curcumin in HL-60 cells*. Cancer Chemother. Pharmacol. 53, 179–185.
- CHENG A. L., HSU C. H., LIN J. K., HSU M. M., HO Y. F., SHEN T. S., KO J. Y., LIN J. T., LIN B. R., MING-SHIANG W., YU H. S., JEE S. H., CHEN G. S., CHEN T. M., CHEN C. A., LAI M. K., PU Y. S., PAN M. H., WANG Y. J., TSAI C. C., HSIEH C. Y., 2001. *Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions*. Anticancer Res. 21, 2895–2900.
- CHOI H., CHUN Y. S., KIM S. W., KIM M. S., PARK J. W., 2006. *Curcumin inhibits hypoxia-inducible factor-1 by degrading aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator: a mechanism of tumor growth inhibition*. Mol. Pharmacol. 70, 1664–1671.
- CIPRIANI B., BORSSELLINO G., KNOWLES H., TRAMONTI D., CAVALIERE F., BERNARDI G., BATTISTINI L., BROSANAN C. F., 2001. *Curcumin inhibits activation of Vgamma9Vdelta2 T cells by phosphoantigens and induces apoptosis involving apoptosis-inducing factor and large scale DNA fragmentation*. Immunology 107, 3454–3462.
- DUVOIX A., BLASIUS R., DELHALLE S., SCHNEKENBURGER M., MORCEAU F., HENRY E., DICATO M., DIEDERICH M., 2005. *Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin*. Cancer Lett. 223, 181–190.
- IRESON C., ORR S., JONES D. J., VERSCHOYLE R., LIM C. K., LUO J. L., HOWELLS L., PLUMMER S., JUKES R., WILLIAMS M., STEWARD W. P., GESCHER A., 2001. *Characterization of metabolites of the chemopreventive agent curcumin in human and rat hepatocytes and in the rat in vivo, and evaluation of their ability to inhibit phorbol ester-induced prostaglandin E2 production*. Cancer Res. 61, 1058–1064.
- JOZA N., SUSIN S. A., DAUGAS E., STANFORD W. L., CHO S. K., LI C. Y., SASAKI T., ELIA A. J., CHENG H. Y., RAVAGNAN L., FERRI K. F., ZAMZAMI N., WAKEHAM A., HAKEM R., YOSHIDA H., KONG Y. Y., MAK T. W., ZUNIGA-PFLUCKER J. C., KROEMER G., PENNINGER J. M., 2001. *Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death*. Nature 410, 549–554.
- KANG J., CHEN J., SHI Y., JIA J., ZHANG Y., 2005. *Curcumin-induced histone hypoacetylation: the role of reactive oxygen species*. Biochem. Pharmacol. 69, 1205–1213.
- KANG S. K., CHA S. H., JEON H. G., 2006. *Curcumin-induced histone hypoacetylation enhances caspase-3-dependent glioma cell death and neurogenesis of neural progenitor cells*. Stem Cells Dev. 15, 165–174.
- KARIN M., 1999. *How NF-kappaB is activated: the role of the IkappaB kinase (IKK) complex*. Oncogene 18, 6867–6874.
- KARUNAGARAN D., RASHMI R., KUMAR T. R., 2005. *Induction of apoptosis by curcumin and its implications for cancer therapy*. Curr. Cancer Drug Targets 5, 117–129.
- KOUZARIDES T., 2000. *Acetylation: a regulatory modification to rival phosphorylation?* EMBO J. 19, 1176–1179.
- KUNNUMAKKARA A. B., GUHA S., KRISHNAN S., DIAGARADJANE P., GELOVANI J., AGGARWAL B. B., 2007. *Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor-kappaB-regulated gene products*. Cancer Res. 67, 3853–3861.
- LAMPE V., MILOBEDZKA J., KOSTANECKI S. V., 1910. *Berichte* 43, 2163.
- LAO C. D., RUFFIN M. T., NORMOLLE D., HEATH D. D., MURRAY S. I., BAILEY J. M., BOGGS M. E., CROWELL J., ROCK C. L., BRENNER D. E., 2006. *Dose escalation of a curcuminoid formulation*. BMC Complement. Altern. Med. 17, 6–10.
- LI L., BRAITEH F. S., KURZROCK R., 2005a. *Liposome-encapsulated curcumin: in vitro and in vivo effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis*. Cancer 104, 1322–1331.
- LI X. G., CHEN Y., WU Q., LIU H. L., 2005b. *Effects of curcumin on the acetylation of histone H3, P53 and the proliferation of NB4 cells*. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi 26, 551–553.
- LI X. G., CHEN Y., WU Q., SUN C. Y., 2006. *Effect of curcumin on acetylation of histone H3 in human lymphoma cell line Raji*. Ai Zheng 25, 582–586.
- LIM G. P., CHU T., YANG F., BEECH W., FRAUTSCHY S. A., COLE G. M., 2001. *The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology*.

- gy in an Alzheimer transgenic mouse. *J. Neurosci.* 21, 8370–8377.
- LIMTRAKUL P., ANUCHAPREEDA S., BUDDHASUKH D., 2004. *Modulation of human multidrug-resistance DR-1 gene by natural curcuminoids.* *BMC Cancer* 4, 13.
- LIN Y. G., KUNNUMAKKARA A. B., NAIR A., MERRITT W. M., HAN L. Y., ARMAIZ-PENA G. N., KAMAT A. A., SPANNUTH W. A., GERSHENSON D. M., LUTGENDORF S. K., AGGARWAL B. B., SOOD A. K., 2007. *Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in ovarian carcinoma by targeting the nuclear factor-kappaB pathway.* *Clin. Cancer Res.* 13, 3423–3430.
- LIU H. L., CHEN Y., CUI G. H., ZHOU J. F., 2005. *Curcumin, a potent anti-tumor reagent, is a novel histone deacetylase inhibitor regulating B-NHL cell line Raji proliferation.* *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao* 26, 603–609.
- MAGALSKA A., SLIWINSKA M., SZCZEPANOWSKA J., SALVOLI S., FRANCESCHI C., SIKORA E., 2006. *Resistance to apoptosis of HCW-2 cells can be overcome by curcumin- or vincristine-induced mitotic catastrophe.* *Int. J. Cancer* 119, 1811–1818.
- MOHANDAS K. M., DESAI D. C., 1999. *Epidemiology of digestive tract cancers in India. V. Large and small bowel.* *Indian J. Gastroenterol.* 18, 118–121.
- MORAGODA L., JASZEWSKI R., MAJUMDAR A. P., 2001. *Curcumin induced modulation of cell cycle and apoptosis in gastric and colon cancer cells.* *Anticancer Res.* 21, 873–878.
- NAKAGAWA T., ZHU H., MORISHIMA N., LI E., XU J., YANKNER B. A., YUAN J., 2000. *Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta.* *Nature* 403, 98–103.
- PAHL H. L., 1999. *Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors.* *Oncogene* 18, 6853–6866.
- PATIL S., HARRIS A. L., 2006. *Role of hypoxia-inducible factor-1alpha as a cancer therapy target.* *Endor. Relat. Cancer Suppl.* 1, 61–75.
- PIWOCKA K., ZABLOCKI K., WIECKOWSKI M. R., SKIERSKI J., FEIGA I., SZOPA J., DRELA N., WOJTCZAK L., SIKORA E., 1999. *A novel apoptosis-like pathway, independent of mitochondria and caspases, induced by curcumin in human lymphoblastoid T (Jurkat) cells.* *Exp. Cell Res.* 249, 299–307.
- PLUMMER S. M., HOLLOWAY K. A., MANSON M. M., MUNKS R. J., KAPTEIN A., FARROW S., HOWELLS L., 1999. *Inhibition of cyclo-oxygenase 2 expression in colon cells by the chemopreventive agent curcumin involves inhibition of NF-kappaB activation via the NIK/IKK signalling complex.* *Oncogene* 18, 6013–6020.
- RAHMAN I., GILMOUR P. S., JIMENEZ L. A., MACNEE W., 2002. *Oxidative stress and TNF-alpha induce histone acetylation and NF-kappaB/AP-1 activation in alveolar epithelial cells: potential mechanism in gene transcription in lung inflammation.* *Mol. Cell Biochem.* 234/235, 239–248.
- RINGMAN J. M., FRAUTSCHY S. A., COLE G. M., MASTERMAN D. L., CUMMINGS J. L., 2005. *A potential role of the curry spice curcumin in Alzheimer's disease.* *Curr. Alzheimer Res.* 2, 131–136.
- SHARMA R. A., GESCHER A. J., STEWARD W. P., 2005. *Curcumin: the story so far.* *Eur. J. Cancer* 41, 1955–1968.
- SHISHODIA S., AGGARWAL B. B., 2002. *Nuclear factor-kappaB activation: a question of life or death.* *J. Biochem. Mol. Biol.* 35, 28–40.
- SHISHODIA S., AGGARWAL B. B., 2004. *Nuclear factor-kappaB: a friend or a foe in cancer?* *Biochem. Pharmacol.* 68, 1071–1080.
- SHISHODIA S., SINGH T., CHATURVEDI M. M., 2007. *Modulation of transcription factors by curcumin.* *Adv. Exp. Med. Biol.* 595, 127–148.
- SIKORA E., BIELAK-ZMIJEWSKA A., MAGALSKA A., PIWOCKA K., MOSIENIAK G., KALINOWSKA M., WIDLAK P., CYMERMAN I. A., BUJNICKI J. M., 2006. *Curcumin induces caspase-3-dependent apoptotic pathway but inhibits DNA fragmentation factor 40/caspase-activated DNase endonuclease in human Jurkat cells.* *Mol. Cancer Ther.* 5, 927–934.
- WOLANIN K., MAGALSKA A., MOSIENIAK G., KLINGER R., MCKENNA S., VEJDA S., SIKORA E., PIWOCKA K., 2006. *Curcumin affects components of the chromosomal passenger complex and induces mitotic catastrophe in apoptosis-resistant Bcr-Abl-expressing cells.* *Mol. Cancer Res.* 4, 457–469.
- YANG F., LIM G. P., BEGUM A. N., UBEDA O. J., SIMMONS M. R., AMBEGAOKAR S. S., CHEN P. P., KAYED R., GLABE C. G., FRAUTSCHY S. A., COLE G. M., 2005. *Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo.* *J. Biol. Chem.* 280, 5892–5901.