

Przeciwnowotworowy potencjał roślinnych polifenoli w interakcjach z naprawą DNA

Anticancer potential of plant polyphenols in interaction with DNA repair

mgr Joanna Grzyb¹ prof. dr hab. Krzysztof L. Krzystyniak^{1,2}

¹Wyższa Szkoła Inżynierii i Zdrowia w Warszawie

²emerytowany profesor Université du Québec à Montréal, Québec (Kanada)

DOI: 10.57591/Lek.202502.05

E-ISSN 2353-8597; ISSN 1231-028X; nr art. Lek.202502.05 © P

Abstract

Numerous preclinical studies document the involvement of phytochemicals in increasing DNA repair and genome stabilization. On the other hand, the participation of known phytochemicals, such as berberine, resveratrol, sulforaphane, curcumin and others, has been documented in the mechanisms of sensitization of pre-cancerous and cancer cells to chemotherapeutic agents that destroy DNA and lead to the so-called "synthetic lethality" of transformed cells. The mechanism of sensitization through inhibition of DNA repair and/or causing DNA damage in pre-cancerous and cancer cells has proven to be particularly interesting. Phytochemicals as natural chemosensitizing agents can find an important place, supporting the main oncological treatment.

Keywords: dietary phytochemicals, DNA repair, DNA damage response (DDR), oncological treatment.

Streszczenie

Liczne badania przedkliniczne dokumentują udział fitochemikaliów w zwiększaniu napraw DNA i stabilizacji genomu. Z drugiej strony udokumentowano udział znanych fitochemikaliów, jak berberyna, resweratrol, sulforafan, kurkumina i innych, w mechanizmach uwrażliwiania komórek przedrakowych i nowotworowych na środki chemioterapeutyczne niszczące DNA i prowadzące do tzw. śmiertelności syntetycznej transformowanych komórek. Szczególnie interesujący okazał się mechanizm uwrażliwiania poprzez inhibicję napraw DNA i/lub powodowanie uszkodzeń DNA w stransformowanych komórkach. Fitochemikalia jako naturalne środki chemiosensybilizujące mogą zająć istotne miejsce, wspomagając zasadnicze leczenie onkologiczne.

Słowa kluczowe: fitochemikalia dietetyczne, naprawa DNA, odpowiedź na uszkodzenia DNA (DDR), leczenie onkologiczne.

Wprowadzenie

Fitochemikalia to ogólny termin oznaczający substancje pochodzenia roślinnego (z gr.: *fito* = roślinne), związki chemiczne, które obejmują szeroką gamę związków występujących naturalnie w roślinach. Wiele fitochemikaliów wywiera korzystny wpływ na zdrowie człowieka.

Chemioprewencja roślinnych związków fenolowych, których działanie może hamować lub wręcz cofać wczesne zmiany przednowotworowe, jako pojęcie, wyłoniła się w latach 70. XX w. Wraz z poznawaniem mechanizmów naprawy

DNA pojęcie chemioprewencji zostało rozszerzone o wspomaganie/udział niektórych fitozwiązków w tzw. syntetycznej śmierci (*synthetic lethality*) stransformowanych komórek, eliminowanych w zasadniczym leczeniu onkologicznym, tzn. w chemioterapii lub radioterapii. Hipoteza przeciwnowotworowego potencjału jadalnych polifenolowych związków roślinnych (*dietary phytochemicals*) została wzmocniona przez obserwacje oddziaływań tych związków z komórkową odpowiedzią napraw DNA (*DDR: DNA damage response*). Istniejące systemy napraw DNA są niezbędne

dla prawidłowego funkcjonowania genomu, stale narażonego na liczne uszkodzenia. Przykładowo: obliczono, że przy ekspozycji na silne światło słoneczne może powstać ok. 100 tys. uszkodzeń/godz. na komórkę. Powiązано już ponad 40 schorzeń z wadliwym funkcjonowaniem DDR, jak choroby neurodegeneracyjne (choroba Huntingtona, Alzheimer, Parkinsona), nowotwory piersi i jajników (defekt genu BRCA1/BRCA2), stwardnienie rozsiane boczne i inne [1].

System DDR jest bardzo złożony, obejmuje setki białek i enzymów: białka sensorowe, kinazy (przetworniki sygnału), białka efektorowe (np. BRCA1/2), enzymy napraw i inne. Można uznać, że podstawowy system DDR liczy 150–200 białek. Wszystkie te elementy DDR współpracują ze sobą, aby wykrywać, sygnalizować i naprawiać uszkodzenia DNA. W miarę starzenia się uszkodzenia DNA nieuchronnie kumulują się, negatywnie wpływając na prawidłowe funkcjonowanie i żywotność komórek.

Ilościowy pomiar uszkodzeń DNA

Uszkodzenia DNA skutkują wytworzeniem adduktów DNA w wyniku chemicznej reakcji, np. toksyn chemicznych z nukleotydami kwasów nukleinowych. Te kowalencyjne modyfikacje zasad azotowych DNA są wycinane podczas procesów naprawy DNA, a ich liczba świadczy o intensywności uszkodzeń i zarazem napraw DNA. Istnieje kilka metod określania uszkodzeń DNA, przy czym oznaczanie liczby adduktów DNA pozwala na śledzenie dynamiki uszkodzeń i napraw kwasów nukleinowych komórek w czasie rzeczywistym. Często w połączeniu z oznaczaniem liczby adduktów DNA stosowany jest pomiar tzw. miejsc apurynowych lub/i pirymidynowych, uważany za wskaźnik ogólnego uszkodzenia DNA i aktywności napraw. Znane są niszczące skutki ekspozycji na różne toksyny, objawiające się zwiększeniem liczby usuwanych adduktów DNA. Mogą to być np.: addukty benzo(a)+pirenu, markery oksydacyjnego utlenienia (8-okso-2'-deoksyguanozyna), czynników

alkilujących i etylujących [N7-(2-hydroksyetylo)guanina, N2-etyloguanina], narażenie na toksyny pleśni (aflatoksyno-N7-guanina) i inne. Identyfikacja adduktów DNA pozwala na precyzyjny, ilościowy pomiar naprawy uszkodzeń DNA powstałych w wyniku ekspozycji na kancerogeny chemiczne, jak np. benzo(a)piren. Przykładowo potraktowanie ekstraktem maliny czarnej (*Rubus occidentalis*) komórek poddanych działaniu benzo(a)pirenu zwiększało o ok. 24% naprawę DNA w mechanizmie wycinania nukleotydów (NER), mierzonych liczbą adduktów DNA (zarówno deoksyguanozyny i guanidynohydantoiny) [2]. Uszkodzenia DNA zazwyczaj wyrażane są jako liczba adduktów DNA na komórkę lub na miliard (10^9) nukleotydów (ryc. 1).

Można wymienić nieliczne przykłady suplementów (antyoksydanty/witamina C), które promują mechanizmy naprawy DNA lub działają poprzez inne ścieżki niż eliminacja reaktywnych form tlenu (ROS).

Prewencyjne działanie fitochemikaliów

Nikotynamid (witamina B₃) jest prekursorem dinukleotydu NAD⁺, który jest niezbędny do aktywności białek naprawy DNA, takich jak PARP [polimeraza poli(ADP-rybozy)] i SIRT1 (sirtuina-1). Wykazano, że nikotynamid promuje naprawę DNA poprzez zwiększenie dostępności NAD⁺ w komórkach. Jako suplement dostępny jest również dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy w formie zredukowanej (NADH).

Podobnie rybozyd nikotynamidu jest prekursorem NAD⁺ i działa poprzez zwiększanie stężenia NAD⁺ w komórkach, co z kolei aktywuje enzymy PARP i SIRT1. Rybozyd nikotynamidu znany jest jako suplement diety pod różnymi nazwami handlowymi.

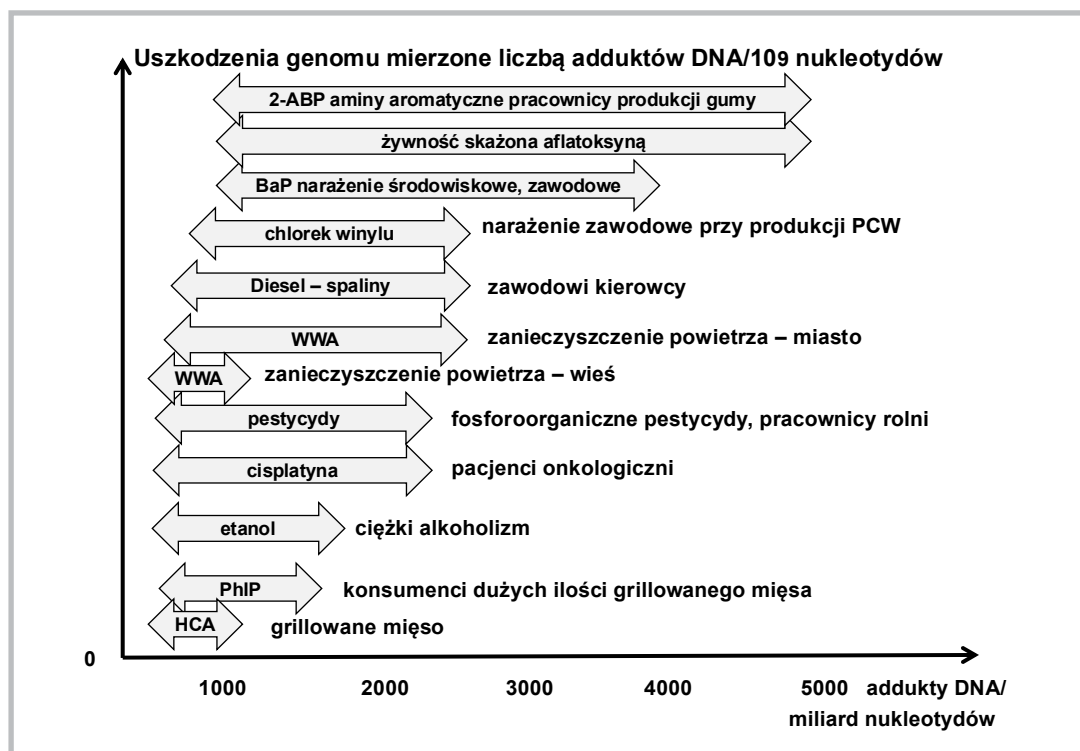
Ogólnie jest przyjęte, że korzystne mogą być te interwencje, które zapobiegałyby uszkodzeniom DNA lub wzmacniały naprawę DNA w komórkach, działając prozdrowotnie i wydłużając długość życia [3]. Możliwy jest udział związków chemicznych, farmaceutyków, fitochemikaliów w promowaniu

napraw DNA i tym samym w zachowaniu stabilności genomu w komórkach człowieka. Dla zbadania chemioprewencyjnych właściwości fitozwiązków zastosowano uproszczony model *in vitro* indukowania adduktów DNA za pomocą dibenzopirenu (DBP), przedstawiciela wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) o znanych właściwościach kancerogennych [4] (ryc. 2).

Istnieje wiele ścieżek metabolicznych prewencyjnego działania fitochemikaliów, np. poprzez hamowanie aktywności enzymów cytochromowych lub usuwanie metabolitów elektrofilowych. Przykładowo syntetyczny związek oltipraz o znanych właściwościach chemioprewencyjnych działa głównie poprzez hamowanie enzymów cytochromowych CYP1A1 i CYP1B1. Enzymy cytochromowe

I fazy detoksykacji przeprowadzają reakcje utleniania WWA; addukty DBP-DNA indukowane przez CYP1A1 były najbardziej znacząco redukowane przez oltipraz i resweratrol. Liczba adduktów DBP-DNA pośredniczonych przez CYP1A2 uległa znaczącej redukcji przez: delfinidynę, kwas elagowy, oltipraz.

Kwas elagowy może usuwać elektrofilowe metabolity WWA, co znalazło odzwierciedlenie w bezpośrednim hamowaniu tworzenia się adduktów DNA. Resweratrol działał specyficznie na CYP1A1 i miał umiarkowany wpływ na CYP1B1. Z kolei delfinidyna wykazała jedynie umiarkowany efekt w modulacji aktywności enzymatycznej CYP1A1 i CYP1A2, niemniej była w stanie zahamować tworzenie adduktów DBP-DNA ze względu na jej znaczący wpływ na aktywność CYP1B1. Co



Rycina 1. Ilościowy pomiar usuwanych z DNA adduktów nukleotydów uszkodzonych w wyniku ekspozycji na toksyny środowiskowe, cytostatyki (cisplatynę). Objasnienia: 2ABP – N-(2-metoksyfenilo)-2-aminobifenyl, biomarker narażenia na aminy aromatyczne; BaP – benzo(alfa)piren, biomarker kancerogennych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych; HCA – aminy heterocykliczne; PCW – polichlorek winylu, tworzywo sztuczne, PhIP, 2-amino-1-metylo-6-feniloimidazo[4,5-b]pirydyna, biomarker amin heterocyklicznych; WWA – wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne.

więcej, flawonoid delfinidyna może wsuwać się między pary zasad DNA (interkalować), co prowadzi do interakcji z jego strukturą [4].

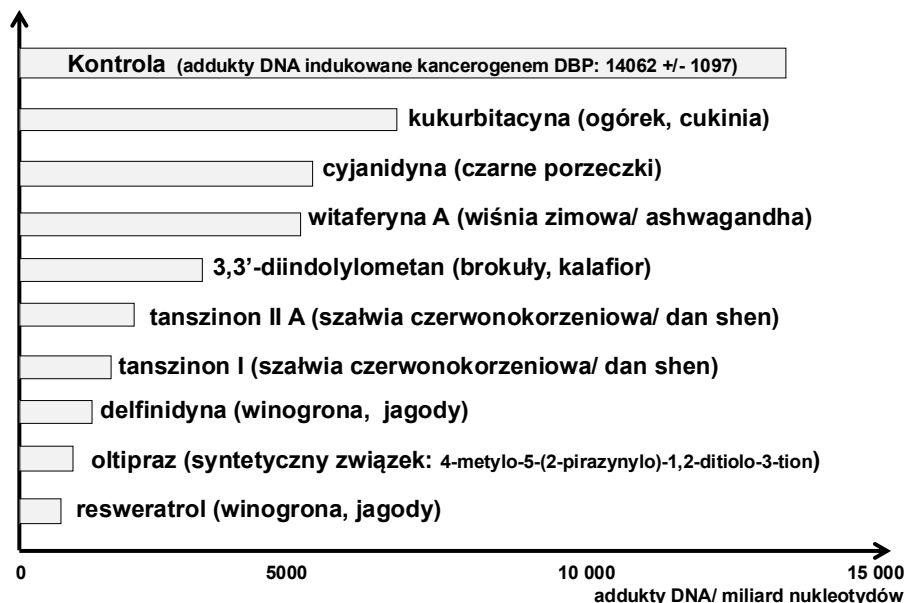
Badania interwencyjne u ludzi pod kątem hamowania adduktów DNA rozpoczęto stosunkowo niedawno, w pierwszej dekadzie XXI w. Stwierdzono np. zwiększoną o 27% aktywność napraw DNA w leukocytach palaczy płci męskiej, którym podawano witaminę C [5].

Przykładów korzystnych interwencji dietetycznych skutkujących obniżeniem poziomu adduktów DNA jest więcej: sok pozyskiwany z owoców rośliny *Morinda citrifolia*, powszechnie znanej jako *noni*, obniżał liczbę adduktów DNA oznaczanych w limfocytach krwi obwodowej u tzw. ciężkich palaczy tytoniu. Ta tropikalna roślina należy do rodziny kawowatych (*Rubiaceae*), zawiera flawonoidy, irydoidy (np. kwas deacetylasperulozydowy) i antrachinony, witaminę C, skopoletynę. Codzienne picie przez palaczy 29,5–118 ml soku noni o 44,6–57,4% zmniejszało liczbę adduktów

DNA w porównaniu do placebo. Również średnie stężenia markerów stresu oksydacyjnego w osoczu krwi nałogowych palaczy zostały znacząco obniżone o 24,5–26,9% po 4 tygodniach codziennego picia 29,5 ml soku noni [6].

W interwencji dietetycznej EPIC Italy notowano ok. 20% redukcji uszkodzeń DNA u częstych konsumentów warzyw krzyżowych w porównaniu z konsumentami rzadko je spożywającymi. Według innych badań dieta wzbogacona w warzywa krzyżowe (brukselka, brokuły) skutkowała obniżeniem o 28% poziomem adduktów DNA. Zalecane spożycie owoców i warzyw (ponad 400 g/dzień), jak to wykazano w badaniach MiBlend, wiązało się ze zmniejszonym ryzykiem chorób przewlekłych, zwiększoną zdolnością antyoksydacyjną osocza krwi, ochroną przed uszkodzeniami DNA. Tradycyjna tajska dieta (kohorta Map Tha Phut) skutkowała obniżeniem powstawaniem adduktów DNA związanych z peroksydacją lipidów. Przeciwnie – zanieczyszczenie produktów spożywczych

Chemioprewencyjne fitozwiązki skutecznie hamują tworzenie adduktów DNA *in vitro* w układzie mikrosomalnym wątroby szczura



Rycina 2. Hamowanie *in vitro* adduktów DNA wytworzonych przez kancerogen chemiczny dibenzopiren (DBP) przez fitochemikalia chemioprewencyjne w mikrosomalnej frakcji komórek wątroby szczura [4]

(np. herbatek ziołowych) i przewlekła ekspozycja na nienasycone alkaloidy pirolizydynowe, z zanieczyszczeń niektórymi chwastami (gatunki *Senecio*, *Crotalaria*), może stwarzać poważne zagrożenia zdrowia głównie ze względu na ich zdolność do tworzenia adduktów DNA.

Hamowanie napraw DNA

Rak jest postępującą chorobą genetyczną, z narastającą liczbą mutacji i niestabilnością genomu w komórkach przednowotworowych. Komórki na wczesnym etapie nieprawidłowego wzrostu, w których występują zmiany strukturalne i funkcjonalne poprzedzające rozwój nowotworu, zawierają dużą liczbę uszkodzeń DNA, wykazują wczesne zmiany genetyczne lub epigenetyczne, charakterystyczne dla postępu raka, ale nie osiągnęły jeszcze pełnego potencjału złośliwego. Komórki te mogą wykazywać dysplazję lub hiperplazję, ale nie są zdolne do autonomicznego wzrostu lub przerzutów. W przypadku komórek nowotworowych lub starzejących się komórek z narastającymi defektami DNA, *de facto* z istniejącymi już zmianami przednowotworowymi, możliwy jest mechanizm indukowania dalszych, nieodwracalnych uszkodzeń genomu i tym samym „syntetycznej śmierci”, np. wymuszenia apoptotycznej śmierci genetycznie transformowanych komórek.

Są już stosowane niektóre terapie przeciwnowotworowe, które polegają na hamowaniu napraw DNA (*DNA repair inhibition therapies*). Dostępne są niektóre leki w terapiach skojarzonych w eliminacji nowotworów z defektami w naprawie rekombinacji homologicznej, takich jak w przypadku mutacji BRCA1/2. Komórki prawidłowe naprawiają pęknięcia dwuniciowego DNA za pomocą homologicznej rekombinacji, mutacje BRCA1/2 upośledzają ten typ napraw DNA. Koncepcja terapeutyczna „syntetycznej śmierci” komórek nowotworowych wykorzystuje interakcję między dwoma genami lub ścieżkami. Gdy jeden z nich jest dysfunkcyjny, komórki mogą przetrwać, ale gdy oba są hamowane – komórki umierają.

Inhibitory napraw ścieżek DNA

W kontekście raka syntetyczna letalność powodowana inhibitorami ścieżek napraw DNA jest ukierunkowana konkretnie na komórki nowotworowe z wcześniej istniejącymi defektami w mechanizmach naprawy DNA. Inhibitory te są ukierunkowane na kluczowy enzym w naprawach pęknięć jednoniciowych (inhibitor polimerazy poli(ADP-rybozy) [*PARP: poly(ADP-ribose) polymerase*]). Inhibitory PARP: olaparib/Rynparza (AstraZeneca & Merck, rejestracja w 2014 r.), niraparib/Zejula (GlaxoSmithKline, rej. 2017 r.), rucaparib/Rubraca (Clovis Oncology, rej. 2018 r.), talazoparib/Talzenna (Pfizer, rej. 2018/2019 r.) są stosowane w leczeniu nowotworów prostaty, jajników i piersi [7]. Wprowadzane są terapie skojarzone, np. immunoterapia olaparib z przeciwciałem monoklonalnym pembrolizumab, stosowanym w terapiach inhibitorów punktów kontrolnych układu odpornościowego (ICI: *immune checkpoint inhibitors*).

Istnieją realne perspektywy blokowania innych ścieżek napraw DNA lub modyfikacji struktur chromatyny w leczeniu nowotworów. Inhibitory deacetylaz histonowych (HDAC: *histone deacetylase inhibitors*) to klasa leków, które działają na deacetylazy histonowe, enzymy odpowiedzialne za usuwanie grup acetylowych z białek histonowych. Ta modyfikacja zmienia strukturę chromatyny i wpływa na ekspresję genów. Hamując te enzymy, inhibitory HDAC pośrednio uszkadzają ścieżki napraw DNA: vorinostat/Zolinza (Merck, rejestracja 2006 r.) – chłoniak skórny komórek; belinostat/Beleodaq (Acrodech Biopharma, rej. 2014 r.) – chłoniak obwodowy komórek T; romidepsin/Istodax (Celgene, rej. 2009 r.) – chłoniak T-komórkowy skóry i tkanek obwodowych; panobinostat/Farydak (Novartis, rej. 2015 r.) – szpiczak mnogi, w leczeniu skojarzonym. Kontynuowane są badania inhibitora punktu kontrolnego CHK1/CHK2, kinazy niezbędnej do reakcji na uszkodzenia DNA i zatrzymania cyklu komórkowego: prexasertib (Array Biopharma & Eli Lilly, badania zawieszono w 2019 r., aktualnie Acrivon Therapeutics) – guzy lite, białaczka.

Temozolomid/Temodar (USA) lub Temodal w UE (Merck, rej. 1999 r., w 2023 r. powtórna rejestracja FDA) wywiera swoje działanie przeciwnowotworowe poprzez indukowanie śmiertelnych uszkodzeń DNA (poprzez metylację zasad guaniny), a jego skuteczność jest zwiększona w nowotworach z niedoborem systemów naprawy DNA. Pozostaje podstawową terapią glejaka wielopostaciowego, astrocytomu anaplastycznego i innych guzów mózgu.

Z kolei inhibitory ATR (*ataxia teleangiectasia*) to klasa leków, które specyficznie celują i hamują funkcję kinazy ATR, będącej krytycznym składnikiem szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA (DDR). Hamowanie kinazy ATR pozwala zwiększyć uszkodzenie DNA, szczególnie w komórkach nowotworowych.

Berzosertib (Merck, w fazie badań klinicznych) to badany inhibitor ATR, będący w fazie rozwoju w leczeniu nowotworów litych, w tym drobnokomórkowego raka płuc i raka jajnika. W randomizowanych badaniach klinicznych fazy II dodanie berzosertibu do topotekanu u pacjentów z nawrotowym rakiem płuc nie zwiększyło przeżycia bez progresji, ale znacząco wydłużyło całkowite przeżycie.

Ceralasertib (AstraZeneca, w fazie badań klinicznych) jest eksperymentalnym inhibitorem ATR, który został przetestowany w badaniach klinicznych w połączeniu z chemioterapią i innymi środkami uszkadzającymi DNA (rak jajnika, rak drobnokomórkowy płuc, glejak). Zastosowanie środków hamujących ścieżki naprawy DNA w leczeniu nowotworów jest nowym podejściem, które ma na celu wykorzystanie defektów w mechanizmach naprawy DNA. Środki te mogą uwrażliwić komórki nowotworowe na uszkadzające DNA terapie, takie jak chemioterapia, radioterapia, a nawet inne ukierunkowane terapie.

Ogólnie syntetyczna letalność/śmierć syntetyczna ma na celu szczególne wykorzystanie słabości komórek nowotworowych, przy jednoczesnym zminimalizowaniu szkód dla normalnych komórek. Według niektórych opinii stosowa-

wanie inhibitorów PARP, dzięki wykorzystaniu syntetycznej letalności, może stać się kluczowe w leczeniu podtrzymującym pierwszego rzutu w nowo zdiagnozowanych, zaawansowanych nowotworach jajników. Ich skuteczność jako podstawowej terapii podtrzymującej została potwierdzona trzema dużymi badaniami fazy III: SOLO-1 (olaparib), PRIMA (niraparib) i PAOLA-1 (olaparib + bevacizumab) [8].

Łączenie inhibitorów naprawy DNA z tradycyjnymi terapiami nowotworowymi, takimi jak chemioterapia lub radioterapia, stało się głównym obszarem zainteresowania medycyny. Ponieważ zarówno chemioterapia, jak i radioterapia powodują uszkodzenia DNA, łączenie tych metod leczenia z inhibitorami, które dodatkowo upośledzają naprawę DNA, może zmaksymalizować śmierć komórek nowotworowych. To podejście jest szczególnie przydatne w przypadku nowotworów z upośledzonymi mechanizmami naprawy, które są często bardziej wrażliwe na uszkodzenia DNA.

Przeciwnowotworowy potencjał fitochemikaliów interferujących z naprawą DNA

Postulowane terapeutyczne właściwości fitochemikaliów, zwłaszcza związków polifenolowych (spożywanych przez człowieka w dziennych dawkach 50–800 mg), wiąże się przede wszystkim z usuwaniem uszkodzeń DNA w komórkach prawidłowych. Z kolei koncepcja syntetycznej letalności dotyczy udziału wysokich stężeń wybranych polifenoli roślinnych w hamowaniu napraw uszkodzeń DNA w komórkach starzejących się lub genetycznie transformowanych w kierunku nowotworzenia. Na szczególną uwagę zasługują te fitozwiązki, dla których istnieją ugruntowane poglądy na temat ich właściwości prozdrowotnych i/lub leczniczych. Polifenole występujące w różnych owocach, warzywach i herbatach są szeroko badane pod kątem ich zdolności do wzmacniania szlaków napraw DNA drogą wycinania uszkodzonych nukleotydów (NER: *nucleotide excision repair*) i wycinania zasad azotowych (BER: *base excision repair*).

Flawonoidy uznawane są za przeciwutleniające, z drugiej strony znane są ich potencjalne właściwości prooksydacyjne, szczególnie w dużych dawkach. Ich właściwości przeciwutleniające pomagają redukować stres oksydacyjny, pośrednio ułatwiając skuteczniejszą naprawę DNA. Rozważane są różne mechanizmy oddziaływania fitochemikaliów, które prowadzą do zwiększenia efektywności napraw DNA. Postulowane jest modulowanie ekspresji genów zaangażowanych w szlaki naprawy DNA, na przykład poprzez elementy odpowiedzi antyoksydacyjnej (ARE: *antioxidant response element*) w regionach promotorycznych tych genów. Sądzi się, że fitochemikalia mogą również bezpośrednio oddziaływać z enzymami układu napraw DNA, zwiększając ich aktywność katalityczną lub stabilizując ich strukturę, a to zwiększa skuteczność napraw.

Kolejnym postulowanym działaniem fitozwiązków dietetycznych jest obniżenie genotoksyczności ksenobiotyków środowiskowych. Polifenole odgrywają ważną rolę w komórkowym układzie detoksykacyjnym i wykazują potencjalne działanie terapeutyczne w przypadku niektórych chorób u ludzi [9]. Zdaniem wielu autorów przeciwnowotworowy potencjał fitochemikaliów ma wynikać z plejotropowych oddziaływań wybranych fitozwiązków na wiele charakterystycznych cech transformacji nowotworowej, w tym regulację cyklu komórkowego, stres oksydacyjny, stany zapalne, angiogenezę, ścieżki apoptozy i inne. Paradoksalnie korzystna może być albo stymulacja napraw DNA (ochrona komórek normalnych), albo upośledzenie napraw DNA w komórkach raka, przejawiające się jako uwrażliwienie tych komórek na główne terapie przeciwnowotworowe. Uwrażliwienie na chemioterapię lub radioterapię miałyby polegać na podaniu czynnika chemicznego (tzw. chemiosensybilizatora, radiosensybilizatora), który wielokrotnie uszkodzenia DNA i/lub zahamuje naprawy DNA w komórkach nowotworowych [10]. Dobrym przykładem plejotropowego charakteru bioaktywnych związkówżeń-szenia (*Panax ginseng*) są ginsenozydy: ginse-

nozyd Rd działa ochronne przeciw uszkodzeniom mitochondrialnego i jądrowego DNA, ginsenozydy Rg1 i RG3 wykazują aktywność radio- i chemiosensybilizatorów [11].

Warto prześledzić działanie tych skomplikowanych mechanizmów na przykładzie kilku wybranych fitozwiązków, budzących coraz większe zainteresowanie jako kandydatów w działaniach pomocniczych do podstawowego leczenia onkologicznego.

Berberyna

To alkaloid izochinolinowy wielu ziół leczniczych, takich jak kłącze *Coptidis* i *Berberis vulgaris*. Należy do fitozwiązków, którym przypisuje się potencjał przeciwnowotworowy. W medycynie chińskiej berberynę stosowano przy wzroście polipów jelitowych u pacjentów z rodziną gruczolakowatą polipowatością, również celem hamowania nowotworzenia związanego z zapaleniem jelita grubego [12]. Berberyna hamuje syntezę DNA, cykl komórkowy, progresję i proliferację w komórkach raka trzustki [13]. W połączeniu z andrografolidem, jednym z głównych laktonów diterpenoidowych wyizolowanych z zioła *Andrographis paniculata*, berberyna hamowała wzrost komórek raka jelita grubego [12]. Okazała się chemiosensybilizatorem, uwrażliwiała komórki raka piersi na cisplatynę, kamptotecynę i metylometanosulfonian. Autorzy wnioskowali, że berberyna zakłócała naprawę DNA komórkowego, nie indukując bezpośrednio pęknięć DNA [14].

Ogólnie wpływa ona na mechanizmy naprawy DNA i zarazem może powodować uszkodzenia DNA w sposób zależny od kontekstu i stężenia: generuje stres oksydacyjny/reaktywne formy tlenu (ROS); działa jako inhibitor topoizomerazy, enzymów krytycznych dla replikacji i naprawy DNA, powodując gromadzenie się pęknięć nici DNA; powoduje interkalację, tzn. cząsteczki o kształcie podobnym do płytki (np. etydyna, doxorubicyna) wsuwają się pomiędzy pary zasad azotowych w strukturze podwójnej helisy DNA; obniża ekspresję kluczowych białek naprawy DNA, w tym enzymów zaangażowanych w szlaki rekombinacji

homologicznej (HR: *homologous recombination*) i łączenia końców niehomologicznych (NHEJ: *non-homologous end-joining*); hamuje aktywność polimerazy poli(ADP-rybozy) (PARP), kluczowy enzym w naprawie wycięcia zasad azotowych (BER); indukuje aktywację genu p53, krytycznego regulatora odpowiedzi na uszkodzenia DNA (DDR). Ta aktywacja może promować zatrzymanie cyklu komórkowego lub apoptozę w odpowiedzi na nienaprawione uszkodzenia DNA.

W zależności od stężenia berberyna może powodować kumulację uszkodzeń DNA, uwrażliwiać na leki onkologiczne i doprowadzić do śmierci transformowanych komórek. Selektywne ukierunkowanie berberyny polegałoby na indukowaniu uszkodzeń DNA w komórkach nowotworowych, podczas gdy normalne komórki często wykazują silniejszą odpowiedź naprawy DNA. Inaczej mówiąc, poprzez promowanie uszkodzeń DNA i upośledzanie mechanizmów naprawy DNA berberyna indukuje apoptozę w komórkach nowotworowych. Przy niższych stężeniach jej właściwości przeciwutleniające mogą wpływać na zmniejszenie oksydacyjnego uszkodzenia DNA i wspierać homeostazę komórkową.

Resweratrol

Resweratrol (*trans-3,5,4'-trihydroksystilben*) jest obecny w 70 roślinach, w tym w winogronach, jagodach, warzywach. Został uznany za jeden z najbardziej efektywnych naturalnych chemiosensybilizatorów [15]. W badaniach preklinicznych w chemioterapii raka jelita grubego (CRC) resweratrol przeciwdziałał lekooporności, działał jako chemiosensybilizator oraz łącznie z lekiem pareksoxyb (*parexoxib*) znacząco stymulował apoptozę komórek rakowych [16]. Dodanie resweratrolu i kapsaicyny do radioterapii w ksenografowanym modelu przedklinicznym myszy zwiększyło produkcję reaktywnych form tlenu (ROS: *reactive oxygen species*) i doprowadziło do znacznego zmniejszenia objętości guza. Co istotne, resweratrol i kapsaicyna zahamowały odpowiedź DDR (*DNA damage repair*) na uszkodzenia wywołane przez

radioterapię. Notowano ograniczenie pierwszych etapów naprawy podwójno-niciowych uszkodzeń DNA (DSB: *double strand breaking*), zatrzymywanie cyklu komórkowego i zaostrożoną apoptozę [17].

Resweratrol indukował uszkodzenia DNA, czemu towarzyszyła nadregulacja białka markera pęknięć podwójno-niciowych DNA i hamowanie ekspresji białek p-BRCA1 i RAD51 związanych z naprawą DNA. Resweratrol zahamował również objętość przeszczepionego guza w modelu ksenoprzeszczepu. Autorzy sugerują, że resweratrol indukował starzenie się komórek nowotworowych pośrednio przez uszkodzenie DNA, co może stanowić podstawę do stosowania tego fitozwiązku w profilaktyce raka i leczeniu klinicznym jako terapii adiuwantowych [18].

Ogólnie resweratrol, w uzupełnieniu do standardowych leków onkologicznych, jest oceniany jako skuteczny chemiosensybilizator komórek nowotworowych (dane przedkliniczne dotyczą głównie komórek raka jelita grubego). Jego stosowanie może być skuteczne w zapobieganiu lekooporności na chemioterapeutyki. Postulowane jest plejotropowe działanie przeciwnowotworowe resweratrolu, obejmujące blokowanie napraw DNA i/lub uszkodzenia DNA w komórkach nowotworowych, uwrażliwienie na chemioterapię, modulację szlaków apoptozy, regulację cyklu komórkowego, stany zapalne, angiogenezę, a także jego interakcję z komórkami macierzystymi nowotworu i mikrośrodowiskiem guza.

Sulforafan

Sulforafan (brokuły) 1-izotiocyjaniano-4-(metylsulfinylo)-butan, główny produkt hydrolizy glukozynolanów, zyskał zainteresowanie ze względu na jego wyraźny potencjał redukcji ryzyka zachorowania na raka i inne właściwości ochrony komórek. Mechanizm działania sulforafanu nie jest do końca wyjaśniony, obserwowano hamowanie napraw uszkodzeń DNA i zarazem selektywną ochronę DNA w zależności od tkanki/narządu (płuca, wątroba). Sulforafan hamował białko XPA niezbędne do rozpoznawania uszkodzeń DNA

i napraw typu wycięcie nukleotydów (NER) [19]. Bez funkcjonalnego białka XPA zdolność komórki do utrzymania integralności genomowej jest zagrożona, co prowadzi do zwiększonej mutagenyzy i choroby. W modelu linii komórkowych stwierdzono negatywny wpływ sulforafanu na naprawę adduktów DNA indukowanych przez kancerogen chemiczny, w ciągu pierwszych 12 godzin po wywołaniu uszkodzenia [19]. W komórkach raka prostaty sulforafan hamował wspomniane białko XPA, biorące udział w naprawie wycięcia nukleotydów NER. Autorzy sugerują, że zakłócenie napraw prowadzi do gromadzenia się licznych pęknięć podwójno-niciowego DNA, aż do momentu zniszczenia transformowanej komórki przez apoptozę [20]. Sugerowano, że sulforafan powodował pęknięcia podwójno-niciowego DNA, a następnie zapobiegał naprawie tych pęknięć w komórkach ludzkiego raka prostaty [21]. W modelu zwierzęcym po podaniu pojedynczej dawki sulforafanu 100 mg/kg zaobserwowano prawie dwukrotny wzrost aktywności w naprawie pirydyloksobutylowanego DNA w wątrobie. Znaczącą redukcję uszkodzeń oksydacyjnych DNA, mierzoną za pomocą 8-OHdG (biomarkera uszkodzeń oksydacyjnych DNA), zaobserwowano tylko w DNA z płuc. Zdaniem autorów sugeruje to, że zdolności tego fitozwiązku do masywnych napraw adduktów DNA są selektywne w stosunku do danego narządu [22].

W zależności od stężeń/dawek ochronna rola sulforafanu przed uszkodzeniami DNA może wiązać się z jego zdolnością do modulowania obrony antyoksydacyjnej i ścieżek detoksykacji. Inaczej mówiąc, w komórkach prawidłowych (nienowotworowych) sulforafan może przyczyniać się do zmniejszenia uszkodzeń DNA wywołanych stresem oksydacyjnym oraz do ochrony stabilności genomu. Ogólnie sądzi się, że wykazuje on właściwości chemioprewencyjne poprzez regulację stresu oksydacyjnego. Jako sensybilizator może zwiększyć skuteczność leków onkologicznych (takich jak np. cisplatyna) poprzez hamowanie naprawy DNA i zwiększanie uszkodzeń oksydacyjnych w komórkach nowotworowych. Jedno-

ześnie sulforafan potencjalnie może chronić normalne tkanki poprzez redukcję stanu zapalnego i markerów stanu zapalnego [23,24]. Efekt sulforafanu zależy od jego biodostępności: może być szybko metabolizowany i eliminowany z organizmu. Istnieje również szeroki zakres zmienności w zdolnościach poszczególnych osób do enzymatycznego przekształcania prekursora glukorafaniny w sulforafan, za pomocą merozynyzy w jelitach.

Galusan epigallokatechiny

Galusan epigallokatechiny (EGCG: *epigallocatechin gallate*), występujący w zielonej herbacie, podobnie jak inne katechiny herbaty w niskich stężeniach zapobiega uszkodzeniom DNA, z kolei interakcja EGCG-p53 przypuszczalnie stabilizuje przeciwnowotworowe działanie „strażnika genomu” p-53 [25,26]. Jako mechanizm działania zaproponowano efekt zwiększenia wymiany uszkodzonych zasad azotowych w DNA (BER) poprzez zwiększenie ekspresji glikozylaz DNA. Glikozylazy DNA są kluczowe dla usuwania utlenionych zasad, takich jak 8-oksoguanina. Ogólnie EGCG zapobiegał pęknięciom nici DNA wywołanym przez mutageny w limfocytach ludzkich przy niskich stężeniach, ale powodował przełamywanie nici DNA przy wyższych stężeniach [25].

Kurkumina

To związek polifenolowy pochodzący z kurkumy (*Curcuma longa*), który był szeroko badany pod kątem jego wpływu na uszkodzenia DNA, naprawę DNA i reakcję na uszkodzenia DNA (DDR). Kurkumina może indukować uszkodzenia DNA poprzez wiele ścieżek, takich jak: stres oksydacyjny; hamowanie topoizomerazy; interkalacja DNA; modulacja odpowiedzi na uszkodzenia DNA (DDR), szczególnie w odpowiedzi na pęknięcia podwójno-niciowe (DSB); hamowanie szlaków naprawy DNA poprzez obniżenie ekspresji kluczowych białek HR i NHEJ, zatrzymanie cyklu komórkowego w fazach G1 lub G2/M, co umożliwia apoptozę transformowanych komórek; inhibicja enzymów naprawy BER, takich jak glikozylazy

DNA i PARP1, uniemożliwiająca skuteczną naprawę uszkodzeń oksydacyjnych DNA; inhibicja acetylazy histonowej HDAC [26].

Deacetylazy HDAC usuwają grupy acetylowe z reszt lizyny w białkach histonowych i innych białkach niehistonowych, modulując ekspresję genów i różne funkcje komórkowe poprzez zmianę struktury chromatyny. Ogólnie kurkumina jest radio- i chemiosensybilizatorem, tzn. zwiększa skuteczność środków chemioterapeutycznych i radioterapii poprzez upośledzenie naprawy DNA w komórkach nowotworowych. Kurkumina oddziałuje na naprawę DNA i DDR poprzez wiele mechanizmów, indukując uszkodzenia DNA, hamując ścieżki naprawy i aktywując apoptozę. Ta podwójna rola – uszkodzanie komórek nowotworowych przy jednoczesnej ochronie komórek normalnych – sprawia, że kurkumina i/lub jej syntetyczne analogi mogą służyć jako adiuwanty w terapii nowotworowej. Jej niska biodostępność, tzn. ograniczona dystrybucja do tkanek docelowych i niskie stężenie w osoczu krwi, powoduje, że poszukiwane są alternatywne strategie przewyciężenia jej ograniczeń farmakokinetycznych. Przykładowo uzyskano syntetyczny analog kurkuminy, który w modelu zwierzęcym wykazywał lepszą biodostępność i większą stabilność we krwi w porównaniu z kurkumina [27].

Badania interwencyjne

Mówiąc o chemioprewencyjnym/przeciwnowotworowym potencjale polifenoli warto wielokrotnie przypominać, że: suplementacja fitozwiązków nie zastąpi zasadniczego leczenia onkologicznego zaawansowanych nowotworów.

Większość badań epidemiologicznych łączących zwiększone spożycie jadalnych fitozwiązków z niższym ryzykiem zachorowania na raka w większości typów nowotworów, co można wykazać w grupie flawonoidów [28]. Żadne z badań nad flawonoidami nie miało charakteru interwencyjnego w leczeniu onkologicznym. Pomimo obiecujących właściwości przeciwnowotworowych

fitozwiązków, takich jak resweratrol, sulforafan, kurkumina, wykazanych w badaniach przedklinicznych, ich bezpośrednie zastosowanie w leczeniu zdiagnozowanych nowotworów aktualnie pozostaje ograniczone.

Wśród przyczyn wymienia się: ograniczone dowody z dotychczasowych badań klinicznych; niską biodostępność fitozwiązków, słabą absorpcję, szybki metabolizm i ograniczoną dostępność ogólnoustrojową; wymogi stosowania wyższych dawek fitozwiązków w celu osiągnięcia efektów terapeutycznych zbliżonych do efektów konwencjonalnych chemioterapeutyków – jednak takie dawki mogą być niewskazane ze względu na ryzyko toksyczności; plejotropowe działanie fitozwiązków, ukierunkowane na wiele ścieżek metabolicznych – chociaż jest to korzystne w modelach przedklinicznych, komplikuje optymalizację dawki i zarządzanie ryzykiem u pacjentów; możliwe (niezbadane) interakcje fitozwiązków z lekami onkologicznymi terapii podstawowej.

Inaczej kształtuje się sytuacja z punktu widzenia medycyny prewencyjnej: według różnych ocen tylko 10–40% wszystkich typów nowotworów jest zasadniczo spowodowanych wrodzoną predyspozycją do nowotworów, taką jak tzw. podtyp rodzinny raka piersi, o którym wiadomo, że jest związany z mutacjami BRCA1 i BRCA2. Przeciwnie, zdaniem wielu specjalistów zdecydowana większość wszystkich typów nowotworów ma charakter sporadyczny, oparty na modyfikowalnych czynnikach ryzyka [29]. Nie jest kwestionowana zasadność działań prewencyjnych, w tym chemioprewencji suplementów roślinnych o znanych, plejotropowych właściwościach biologicznych. Wśród korzystnych modyfikacji epigenetycznych wymienia się: wzmocnienie napraw DNA, modyfikacje histonów, metylacje DNA, modyfikacje ekspresji miRNA, nadekspresję enzymów detoksykacji II fazy i inne. Istotna jest stabilizacja genomu w komórkach normalnych lub zagrożonych podwyższonym poziomem uszkodzeń DNA. Ochrona DNA, działania stabilizujące genom zostały wykazane dla wielu fitozwiązków w niskich stężeniach,

takich jak te uzyskiwane w odżywianiu bogatym w warzywa i owoce, chociaż efektywne mechanizmy tych działań mogą być różne.

Z badań przedklinicznych wynika jednoznacznie, że szczególnie polifenole roślinne, jak berberyna, resweratrol, kukumina, sulforafan i inne, w wysokich stężeniach uwrażliwiają komórki starzejące się lub transformowane, hamując naprawy DNA, a nawet uszkodzając DNA, tym samym kierując te komórki na drogę eliminacji przez apoptozę.

Podsumowanie

Uwrażliwienie komórek nowotworowych na konwencjonalne leki onkologiczne przy użyciu chemiosensybilizatorów jest nową strategią pokonywania lekooporności. W ciągu ostatnich kilku lat wprowadzono inhibitory ukierunkowane na kluczowy enzym w naprawach pęknięć jednoniciowych DNA [inhibitor polimerazy poli(ADP-rybozy) – PARP]. Leki-inhibitory deacetylaz histonowych (HDAC: *histone deacetylase inhibitors*) modulują ekspresję genów poprzez zmianę struktury chromatyny. Inhibitory ATR (*ataxia telangiectasia*) to klasa leków – kandydatów (w fazie badań klinicznych). Specyfiki te hamują funkcję kinazy ATR, która jest krytycznym składnikiem szlaku odpowiedzi na uszkodzenia DNA (DDR).

Do oceny radiowrażliwości wprowadza się ostatnio sondy *in situ*, śledzące procesy naprawy mitochondrialnego DNA (mtDNA), jako markery prognostyczne [30]. Pozwala to ocenić wrażliwość nowotworu na radioterapię, gdyż naprawa mtDNA decyduje o losie komórek nowotworowych.

Fitochemikalia, takie jak berberyna, kurkumina, resweratrol, sulforafan i inne, wyłaniają się jako potencjalne środki chemiosensybilizujące ze względu na ich mniej toksyczne i plejotropowe właściwości. Liczne badania przedkliniczne dokumentują ich potencjał zapobiegania lekooporności i uwrażliwiania komórek nowotworowych na środki chemioterapeutyczne poprzez modulację istotnych genów/białek lub ścieżek regulujących kluczowe czynniki podczas wzrostu i progresji nowotworów, takie jak: hamowa-

nie białek antyapoptotycznych, aktywacja białek proapoptotycznych, zmniejszona ekspresja różnych czynników transkrypcyjnych, chemiokin, enzymów, cząsteczek adhezji komórkowej, białkowych kinaz tyrozynowych i regulatorów cyklu komórkowego.

Szczególnie interesujący okazał się mechanizm uwrażliwiania poprzez inhibicję napraw DNA i/lub powodowanie uszkodzeń DNA w komórkach przednowotworowych i nowotworowych. Fitochemikalia jako naturalne środki chemiosensybilizujące mogą zająć istotne miejsce, wspomagając zasadnicze leczenie onkologiczne.

Słownik używanych skrótów:

- Deacetylazy histonowe – **HDAC** (*histone deacetylases*)
- Dibenzopiren – **DBP** (*dibenzopyrene*)
- Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy – **NAD** (*nicotinamide adenine dinucleotide*)
- Element odpowiedzi antyoksydacyjnej – **ARE** (*antioxidant response element*)
- Inhibitory punktów kontrolnych układu odpornościowego – **ICI** (*immune checkpoint inhibitors*)
- Naprawa DNA przez wycinanie nukleotydów – **NER** (*nucleotide excision repair*)
- Naprawa DNA przez wycinanie zasad azotowych – **BER** (*base excision repair*)
- Odpowiedź na uszkodzenia DNA – **DDR** (*DNA damage response*)
- Polimeraza poli(ADP-rybozy) – **PARP** [*poly(ADP-ribose) polymerase*]
- Sirtuina 1 (białko SIR1) – **SIRT1** (*sirtuin-1*)
- Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne – **WWA/PAH** (*polyaromatic hydrocarbons*).

Nadesłano: 07-01-2025

Adres do korespondencji: redakcja@lekwpolsce.pl

Piśmiennictwo:

1. Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*. 2009 Oct 22;461(7267):1071-8. doi: 10.1038/nature08467.
2. Sales AH, Kolbanovskiy M, Geacintov NE, et al. Treatment of human HeLa cells with black raspberry extracts enhances the removal of DNA lesions by the nucleotide excision repair mechanism. *Antioxidants* (Basel). 2022 Oct 26;11(11):2110. doi: 10.3390/antiox11112110.
3. Birkisdóttir MB, van Galen I, Brandt RMC, et al. The use of progeroid DNA

- repair-deficient mice for assessing anti-aging compounds, illustrating the benefits of nicotinamide riboside. *Front Aging*. 2022 Oct 12;3:1005322. doi: 10.3389/fragi.2022.1005322.
4. Russell GK, Gupta RC, Vadhanam MV. Effect of phytochemical intervention on dibenzo[a,h]pyrene-induced DNA adduct formation. *Mutat Res*. 2015 Apr;774:25-32. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2015.02.003.
 5. Guarnieri S, Loft S, Riso P, et al. DNA repair phenotype and dietary antioxidant supplementation. *Br J Nutr*. 2008 May;99(5):1018-24. doi: 10.1017/S0007114507842796.
 6. Wang MY, Peng L, Jensen CJ, et al. Noni juice reduces lipid peroxidation-derived DNA adducts in heavy smokers. *Food Sci Nutr*. 2013 Mar;1(2):141-9. doi: 10.1002/fsn3.21.
 7. Böhi F, Hottiger MO. Expanding the perspective on PARP1 and its inhibitors in cancer therapy: From DNA damage repair to immunomodulation. *Biomedicines*. 2024 Jul 20;12(7):1617. doi: 10.3390/biomedicines12071617.
 8. Tang H, Kulkarni S, Peters C, et al. The current status of DNA-repair-directed precision oncology strategies in epithelial ovarian cancers. *Int J Mol Sci*. 2023 Apr 14;24(8):7293. doi: 10.3390/ijms24087293.
 9. Li X, Zang N, Zhang N, et al. DNA damage resulting from human endocrine disrupting chemical exposure: Genotoxicity, detection and dietary phytochemical intervention. *Chemosphere*. 2023 Oct;338:139522. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.139522.
 10. Khatoun E, Banik K, Harsha C, et al. Phytochemicals in cancer cell chemosensitization: Current knowledge and future perspectives. *Semin Cancer Biol*. 2022 May;80:306-339. doi: 10.1016/j.semcancer.2020.06.014.
 11. Choi SG, Shin M, Kim WY. Targeting the DNA damage response (DDR) of cancer cells with natural compounds derived from Panax ginseng and other plants. *J Ginseng Res*. 2024 doi: 10.1016/j.jgr.2024.04.001.
 12. Zhao Y, Roy S, Wang C, Goel A. A combined treatment with berberine and andrographis exhibits enhanced anti-cancer activity through suppression of DNA replication in colorectal cancer. *Pharmaceuticals* 2022;15:262. <https://doi.org/10.3390/ph15030262>.
 13. Ming M, Sinnott-Smith J, Wang J, et al. Dose-dependent AMPK-dependent and independent mechanisms of berberine and metformin inhibition of mTORC1, ERK, DNA synthesis and proliferation in pancreatic cancer cells. *PLoS ONE* 2014;9(12):e114573. doi:10.1371/journal.pone.0114573.
 14. Gao X, Wang J, Li M, et al. Berberine attenuates XRCC1-mediated base excision repair and sensitizes breast cancer cells to the chemotherapeutic drugs. *J Cell Mol Med*. 2019 Oct;23(10):6797-6804. doi: 10.1111/jcmm.14560.
 15. Brockmueller A, Sajeev A, Koklesova L, et al. Resveratrol as sensitizer in colorectal cancer plasticity. *Cancer Metastasis Rev*. 2024 Mar;43(1):55-85. doi: 10.1007/s10555-023-10126-x.
 16. Chang WL, Peng JY, Hong CL, Li PC, Lu FJ, Chen CH. Parecoxib and 5-fluorouracil synergistically inhibit EMT and subsequent metastasis in colorectal cancer by targeting PI3K/Akt/NF- κ B signaling. *Biomedicines*. 2024 Jul 9;12(7):1526. doi: 10.3390/biomedicines12071526.
 17. Vendrely V, Amintas S, Noel C, et al. Combination treatment of resveratrol and capsaicin radiosensitizes pancreatic tumor cells by unbalancing DNA repair response to radiotherapy towards cell death. *Cancer Lett*. 2019 Jun 1;451:1-10. doi: 10.1016/j.canlet.2019.02.038.
 18. Ma F, Ma Y, Liu K, Gao J, Li S, Sun X, Li G. Resveratrol induces DNA damage-mediated cancer cell senescence through the DLG1-DYRK1A-EGFR axis. *Food Funct*. 2023 Feb 6;14(3):1484-1497. doi: 10.1039/d2fo01188c.
 19. Piberger AL, Köberle B, Hartwig A. The broccoli-born isothiocyanate sulforaphane impairs nucleotide excision repair: XPA as one potential target. *Arch Toxicol*. 2014 Mar;88(3):647-58. doi: 10.1007/s00204-013-1178-2.
 20. Sekine-Suzuki E, Yu D, Kubota N, et al. Sulforaphane induces DNA double strand breaks predominantly repaired by homologous recombination pathway in human cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 Dec 12;377(2):341-345. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.09.150.
 21. Mordecai J, Ullah S, Ahmad I. Sulforaphane and its protective role in prostate cancer: A mechanistic approach. *Int J Mol Sci*. 2023 Apr 10;24(8):6979. doi: 10.3390/ijms24086979.
 22. Harris CM, Zamperoni KE, Sernoskie SC, et al. Effects of In vivo treatment of mice with sulforaphane on repair of DNA pyridyloxylbutylation. *Toxicology*. 2021 Apr 30;454:152753. doi: 10.1016/j.tox.2021.152753.
 23. Kallio P, Novotny V, Jansson L, et al. Sulforaphane enhances DNA repair pathways and protects against oxidative DNA damage in human cells. *Frontiers Oncol*. 2021;11:741310. doi: 10.3389/fonc.2021.741310.
 24. Saw C. L, Yang A. Y, Huang MT, et al. Sulforaphane stimulates Nrf2-mediated responses and prevents genomic instability in vivo. *Nat Commun*. 2021;12:5384. doi: 10.1038/s41467-021-25112-8.
 25. Bacanly M, Ayydın S, Bařaran AA, Bařaran N. Are all phytochemicals useful in the preventing of DNA damage? *Food Chem Toxicol*. 2017 Nov;109(Pt 1):210-217. doi: 10.1016/j.fct.2017.09.012.
 26. Zhao, J., Blayney, A., Liu, X., et al. EGCG binds intrinsically disordered N-terminal domain of p53 and disrupts p53-MDM2 interaction. *Nat Commun*. 2021;12:986. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21258-5>
 27. Almalki E, Al-Amri A, Alrashed R, et al. The curcumin analog PAC is a potential solution for the treatment of triple-negative breast cancer by modulating the gene expression of DNA repair pathways. *Int J Mol Sci*. 2023 Jun 2;24(11):9649. doi: 10.3390/ijms24119649.
 28. Rudzińska A, Juchaniuk P, Oberda J, et al. Phytochemicals in cancer treatment and cancer prevention—Review on epidemiological data and clinical trials. *Nutrients* 2023;15:1896. <https://doi.org/10.3390/nu15081896>.
 29. Kapinova A, Kubatka P, Golubnitschaja O, et al. Dietary phytochemicals in breast cancer research: anticancer effects and potential utility for effective chemoprevention. *Environ Health Prev Med*. 2018 Aug 9;23(1):36. doi: 10.1186/s12199-018-0724-1.
 30. Chen L, Lai J, Dong S, et al. Mitochondria-targeted DNA-based nanoprobe for in situ monitoring of the activity of the mtDNA repair enzyme and evaluating tumor radiosensitivity. *Anal Chem*. 2025 Jan 1. doi:10.1021/acs.analchem.4c04408.