

Resweratrol jako związek chemoprewencyjny w terapii nowotworów

Resveratrol as a chemopreventive compound in cancer therapy

MARTYNA ZAGÓRSKA-DZIOK^{1/}, DOMINIKA FURMAN-TOCZEK^{1/}, MARCIN KRUSZEWSKI^{1,2,3/},
LUCYNA KAPKA-SKRZYPCZAK^{1,2/}

^{1/} Katedra Biologii Medycznej i Badań Translacyjnych, Wydział Medyczny, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie

^{2/} Zakład Biologii Molekularnej i Badań Translacyjnych, Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie

^{3/} Centrum Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie

Badania populacyjne wskazują, iż obniżone ryzyko zachorowania na nowotwory powiązane jest z wysokim spożyciem warzyw i owoców. Chemoprewencja jest jedną z metod profilaktyki raka, w której zaleca się stosowanie naturalnych lub syntetycznych substancji w celu opóźnienia lub zakłócenia wszystkich trzech etapów nowotworzenia: promocji, inicjacji oraz progresji. Obecnie poszukuje się naturalnie występujących związków, które same bądź w połączeniu z chemioterapią mogłyby poprawić wyniki leczenia nowotworów.

Celem pracy było przedstawienie chemoprewencyjnych właściwości resweratrolu, który zyskał popularność głównie za sprawą tzw. paradoksu francuskiego. Liczne badania dowodzą, że polifenol ten ma szeroki zakres aktywności biologicznej w wielu chorobach o podłożu nowotworowym. Wpływa on m.in. na komórkowe szlaki sygnalizacyjne biorące udział w regulacji cyklu komórkowego i indukowaniu apoptozy; reguluje także białka zaangażowane w syntezę DNA oraz wpływa na aktywność czynników transkrypcyjnych zaangażowanych w proliferację oraz odpowiedź na stres. Bez wątplenia resweratrol wykazuje ogromny potencjał, nie tylko w profilaktyce, ale także w leczeniu nowotworów.

Słowa kluczowe: chemoprewencja, resweratrol, nowotwory

Population studies suggest that reduced risk of cancer is associated with high consumption of vegetables and fruit. Chemoprevention is one of the cancer prevention approaches wherein natural or synthetic agents are advised with the aim to delay or disrupt the three steps of carcinogenesis, i.e., initiation, promotion, and progression of cancer. Many researchers are currently looking for naturally occurring compounds which alone or in combination with chemotherapy would improve the results of cancer treatment.

The aim of the study was to present the chemopreventive properties of resveratrol, which has gained popularity mainly because of the French paradox. Numerous studies have shown that this polyphenol has a wide range of biological activities in a variety of cancers. It affects multiple pathways involved in the regulation of cell cycle and the induction of apoptosis. Resveratrol also regulates proteins involved in the DNA synthesis and cell cycle and affects the activity of transcriptional factors involved in proliferation and stress response. There is no doubt that resveratrol has a huge potential, not only in prevention but also in the treatment of cancer.

Key words: chemoprevention, resveratrol, cancer

© Probl Hig Epidemiol 2016, 97(4): 308-317

www.phie.pl

Nadesłano: 26.04.2016

Zakwalifikowano do druku: 06.10.2016

Adres do korespondencji / Address for correspondence

mgr Martyna Zagórska-Dziok

Katedra Biologii Medycznej i Badań Translacyjnych

Wydział Medyczny, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania

ul. Sucharskiego 2, 35-225 Rzeszów

tel. 78 823 47 17, e-mail: mzagorska@wsiz.rzeszow.pl

Wprowadzenie

Ostatnie lata przyniosły znaczący wzrost zainteresowania tematem chemoprewencji nowotworów. Wynika to głównie z faktu, iż obecnie stosowane metody leczenia często okazują się niewystarczające i poszukuje się alternatywnych terapii. Jedną z metod wspomagających terapię nowotworów jest przyjmowanie różnych, nietoksycznych dla organizmu środków farmakologicznych lub wykorzystywanie składników naturalnie obecnych w pożywieniu. Stosuje się je w celu zatrzymania lub spowolnienia przebiegu kancerogenezy lub cofnięcia już powstałych zmian nowotworowych. Skuteczność potencjalnych związków chemoprewen-

cyjnych oraz ich selektywność jest w pierwszym etapie oceniana z badaniami z wykorzystaniem hodowli komórkowych. W doświadczeniach *in vitro* przeprowadza się klasyczne testy, pozwalające na określenie zdolności badanych substancji do zahamowania wzrostu wybranych komórek, zatrzymania ich cyklu komórkowego czy też możliwości skierowania ich na drogę apoptozy. Dopiero po wstępnych badaniach *in vitro* i otrzymaniu obiecujących wyników, prowadzone są badania przedkliniczne na wybranych modelach zwierzęcych. Jedynie te związki, które wykazują odpowiednią efektywność oraz brak poważnych skutków ubocznych mają szansę być wykorzystane w badaniach klinicznych.

Chemoprewencja

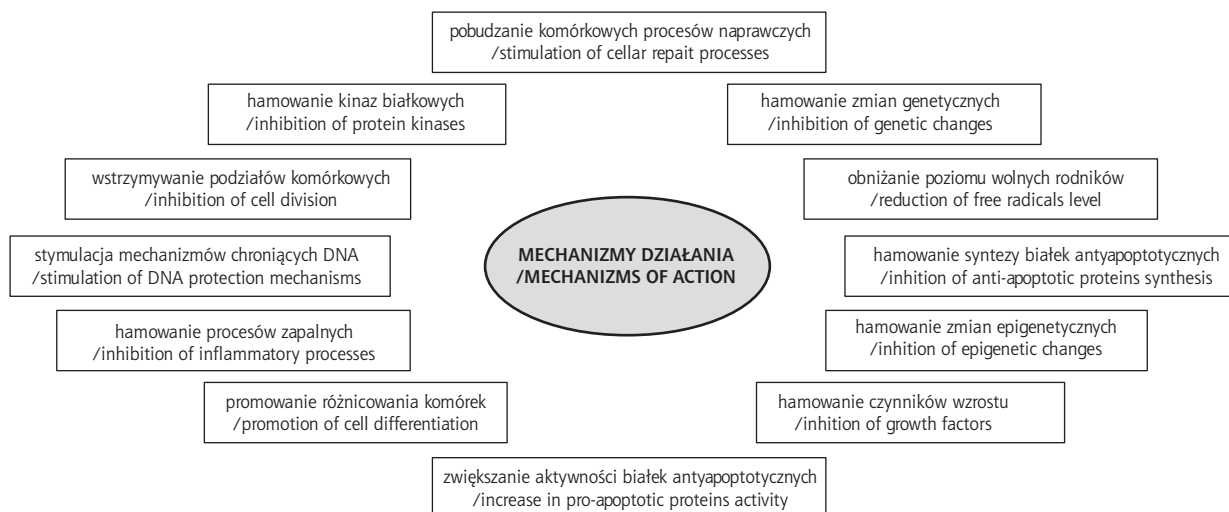
Termin chemoprewencja został użyty po raz pierwszy w 1976 r. [1]. W ciągu ostatnich kilku dekad wiele badań klinicznych i przedklinicznych uwidoczniło zasadność jej stosowania, gdyż udowodniono jej związek ze spadkiem współczynnika zachorowalności i umieralności na choroby nowotworowe. Chemoprewencja polega na zastosowaniu farmakologicznych bądź naturalnie występujących czynników w celu odwrócenia lub zahamowania procesu kancerogenezy. Zadaniem chemoprewencji jest ingerencja we wczesne etapy procesu powstawania nowotworów, głównie w inicjację i promocję. Wśród związków, które mogą hamować wczesne etapy nowotworzenia są zarówno uznane leki, jak i składniki zawarte w owocach, warzywach czy też napojach. Wśród związków posiadających aktywność chemoprewencyjną znajdują się m.in. retinoidy, polifenole oraz flawonoidy [2]. Związki te, nazywane przez niektórych lekami XXI w., hamują kancerogenezę na wiele sposobów, dzięki temu istnieje możliwość doboru właściwego związku do wybranego sposobu leczenia, przez co zwiększa się skuteczności jego oddziaływania (ryc. 1).

W celu uniknięcia inicjacji kancerogenezy aktywność stosowanych związków skupia się m.in. na ich ingerencji w metabolizm czynników rakotwórczych. Związki takie powinny hamować aktywację czynników do aktywnych metabolitów, bądź pobudzać ich usuwanie. Nadmierna aktywacja metaboliczna kancerogenów oraz upośledzenie ich usuwania prowadzi do akumulacji wysoce reaktywnych substancji rakotwórczych, które mogą aktywować różne onkogeny i inaktywować geny supresorowe, co prowadzi do rozpoczęcia transformacji komórek. Związki o działaniu chemoprewencyjnym posiadają także możliwość wyłapywania wolnych rodników oraz innych czynników mogących wywoływać uszkodzenia DNA [3].

Bardzo ważnym aspektem działania tych związków jest również zdolność do pobudzania procesów naprawczych w komórkach. W komórkach, które nie są podatne na etapach promocji i progresji na ochronny wpływ czynników chemoprewencyjnych, obserwuje się powstawanie wielu zmian genetycznych i epigenetycznych. W czasie dwóch ostatnich etapów kancerogenezy związki chemoprewencyjne są zdolne hamować procesy zapalne, promować różnicowanie komórek, wstrzymywać podziały komórkowe, zmniejszać ilość wolnych rodników a także sprzyjać apoptozie. Reakcje biochemiczne, obejmujące niewłaściwe wzmocnienie lub inaktywację szlaków sygnalizacji komórkowej, powodują przejście kancerogenezy w etap promocji. Toteż normalizacja nieprawidłowych szlaków sygnalizacji komórkowej poprzez stosowanie chemicznych środków zapobiegawczych może spowolnić lub zatrzymać ten proces. Biorąc pod uwagę liczne badania, wskazujące na zmniejszanie ryzyka zachorowania na nowotwory w przypadku stosowania chemoprewencji można stwierdzić, że jest ona pierwszą linią obrony przed kancerogenezą [4].

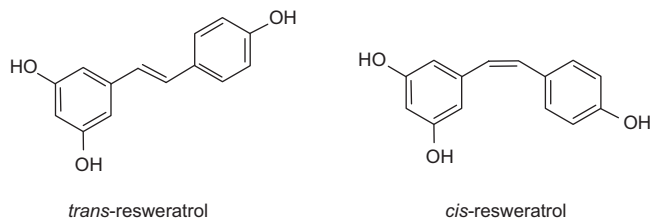
Resweratrol

Resweratrol, związek który zyskał popularność przede wszystkim za sprawą tzw. paradoksu francuskiego [5]. Jest syntetyzowany przez roślinny, głównie wskutek infekcji grzybiczej bądź zadziałania silnego czynnika stresogennego [6]. Czynnikiem tym może być np. niedobór wody, uszkodzenie tkanki czy narażenie na promieniowanie UV. Resweratrol jest polifenolem, naturalną fitoaleksyną o budowie stilbenu (3,5,4'-trihydroksystilben). Ze względu na podobieństwo struktury chemicznej do syntetycznego estrogeny (dietylostilbestrolu), resweratrol zaliczany jest do fitoestrogenów, hormonów roślinnych wykazujących działanie podobne do estrogeny [7, 8]. Występuje on zarówno w postaci *cis*-, jak i *trans*-izomeru (ryc. 2). Po



Ryc. 1. Wybrane mechanizmy działania związków chemoprewencyjnych [2-4]

Fig. 1. Mechanisms of action of chemopreventive compounds [2-4]

Ryc. 2. Struktura chemiczna *trans*- i *cis*-resweratrolu [7, 8]Fig. 2. Chemical structure of *trans*- and *cis*-resveratrol [7, 8]

raz pierwszy został wyizolowany z korzenia rośliny z rodzaju ciemiężyc w 1940 r. [9]. Rośliną, której korzeń jest bogatym źródłem resweratrolu jest rdestowiec ostrokończysty (*Reynoutria japonica*); najlepszym naturalnym źródłem tej fitoaleksyny są ciemne odmiany winogron, których świeże skórki zawierają 50-100 mg tego związku na 1 g ich biomasy. Polifenol ten występuje także w winie, szczególnie czerwonym oraz w wielu owocach, m.in. w żurawinie, borówce, morwie, czarnej porzeczce, truskawkach, jabłkach, orzechach, orzeszkach ziemnych, a także w niektórych ziołach [10]. Jego obecność została także potwierdzona w liściach oraz kwiatkach wielu roślin. Znajdują się wśród nich m.in. ciemiężca biała, orchidea, gniot czy sosna zwyczajna [11]. Syntetyzowany jest ponadto przez niektóre drzewa, takie jak świerk czy eukaliptus [12]. Wykryto również jego obecność w kakao, czekoladzie i skórkach pomidorów [12, 13].

Biodostępność i metabolity resweratrolu

W ludzkim organizmie polifenol jest wchłaniany w świetle jelita cienkiego [14]. Absorbacja tego związku jest bardzo niska, głównie za sprawą jego szybkiego rozkładu w wątrobie i jelicie. Resweratrol po wchłonięciu bardzo szybko ulega metabolizmowi w hepatocytach, dlatego czas jego połowicznego rozpadu jest bardzo krótki i wynosi 8-14 min. Jak wykazały prowadzone *in vitro* badania zostaje on prawie całkowicie zmetabolizowany w hepatocytach przy udziale cytochromu P450, w efekcie czego przekształcany jest do piceatannolu i tetrahydroksystilbenu [15]. U ludzi metabolizowany jest do siarczanowych i glukuronowych form *trans*-resweratrolu [14]. Po upływie ok. 30 min od pojawienia się go w krwiobiegu zamieniany jest na siarczynowe pochodne, które krążą we krwi maksymalnie przez 9 godzin, po czym są wydalane z moczem i kałem [16, 17].

Wybrane analogi resweratrolu

Zainteresowanie analogami resweratrolu wzrosło, głównie ze względu na niską biodostępność i metabolizm tego polifenolu [18]. Poszukując związków o silniejszym działaniu, a także lepszej biodostępności zaczęto analizować aktywność biologiczną naturalnych oraz syntetycznych stilbenów. W przeprowadzanych badaniach analizowano jak położenie różnych grup

funkcyjnych, głównie hydroksylowych i metoksylo- wych, wpływa na farmakologiczne parametry tych związków i ich właściwości ochronne [19]. Analogami, które dzięki swoim właściwościom biologicznym zasługują na szczególną uwagę są piceatannol i pterostilben.

Szczególnie obiecującą naturalną fitoaleksyną wydaje się być piceatannol (3,5,3',4'-tetrahydrok- sy-*trans*-stilben). Występuje on m.in. w orzeszkach ziemnych, winogronach, jagodach oraz powstaje w wyniku metabolizmu resweratrolu z udziałem cytochromów P450 1A2 i 1B1 [20]. Z badań wynika, że wykazuje on właściwości przeciwbiałaczkowe [21]. Piceatannol działa także cytotoksycznie i antyproli- feracyjnie w stosunku do komórek nowotworowych jelita grubego w warunkach *in vitro*, co jest związane z zatrzymaniem cyklu komórkowego w fazie S [22].

Kolejnym analogiem o chemoprewencyjnym działaniu jest pterostilben (3,5-dimetoksy-4'-hydrok- sy-*trans*-stilben). Jest on naturalnym eterem metylo- wym resweratrolu występującym przede wszystkim w owocach jagodowych i skórce winogron. Związek ten działa antyoksydacyjnie [23] oraz hipolipemicz- nie [24]. W licznych badaniach *in vitro* wykazano również jego działanie cytotoksyczne w stosunku do wielu nowotworowych linii komórkowych [24]. W przypadku skórno-ego modelu kancerogenezy u myszy, związek ten hamował aktywację czynników transkrypcyjnych NF- κ B i AP-1, czego rezultatem było obniżenie ekspresji i aktywności iNOS (indukowanej formy syntazy tlenku azotu) oraz COX-2 (jednej z izoform cyklooksygenazy) [25].

Pleiotropowe działanie resweratrolu

W ciągu ostatnich kilkunastu lat naukowcy wykazali, iż resweratrol posiada niezwykle szerokie spektrum właściwości farmakologicznych. Jest polife- nolem, który odgrywa istotną rolę zarówno w zapobie- ganiu, jak i leczeniu wielu chorób. Już setki lat temu lekarze Dalekiego Wschodu dostrzegli właściwości lecznicze tej substancji mimo, iż nie byli świadomi, że to właśnie ta fitoaleksyna, zawarta w korzeniach używanego przez nich rdestowca ostrokończystego odpowiedzialna jest za efekt leczniczy. Od początku lat 90. XX w. wzrosło zainteresowanie resweratrolem, przede wszystkim za sprawą paradoksu francuskiego. Paradoks ten związany jest z tym, iż Francuzi mimo diety bogatej w tłuszcze a ubogiej w warzywa oraz wysokiego spożycia alkoholu (głównie wina) znacz- nie rzadziej cierpią na zawały serca niż mieszkańcy innych krajów europejskich. Badania wykazały, że to właśnie wino, bogate w polifenole i przeciwutleniacze, przyczynia się do zmniejszenia zachorowalności na chorobę wieńcową wśród mieszkańców Francji [4].

Choroby układu krwionośnego od dawna sta- nowiły poważny problem ze względu na bardzo

powszechne ich występowanie oraz skomplikowane metody leczenia. Wśród czynników ryzyka schorzeń układu krążenia wymienia się m.in. wysoki poziom cholesterolu, nadciśnienie, cukrzycę, nadużywanie alkoholu, nadwagę czy palenie papierosów [26]. Jak wynika z badań, resweratrol działa ochronnie na układ naczyniowo-sercowy poprzez zapobieganie incydom niedokrwiennym, zwiększanie relaksacji mięśni gładkich naczyń krwionośnych oraz działanie przeciwmiażdżycowe. Wykazuje on także właściwości ochronne w stosunku do śródbłonna naczyniowego oraz hamuje agregację płytek krwi oraz oksydację LDL (*low-density lipoprotein* – lipoproteiny o niskiej gęstości) [27]. Hamuje on peroksydację lipidów oraz zmniejsza wnikanie utlenionych LDL do ścian naczyń krwionośnych [28]. Wpływa na syntezę tlenku azotu, czego skutkiem jest poszerzenie naczyń krwionośnych i przeciwdziałanie nadciśnieniu tętniczemu [29].

Bardzo duże nadzieje wiąże się także z przeciwnowotworowymi właściwościami resweratrolu jak pokazują liczne badania, oczekiwania te nie są bezpodstawne. Z roku na rok wzrasta liczba osób cierpiących na różnego typu nowotwory, a do najczęstszych zalicza się raka skóry, płuc, jelita grubego, piersi, prostaty oraz szyjki macicy. Jak już wcześniej wspomniano resweratrol odgrywa istotną rolę nie tylko w prewencji, ale także w terapii nowotworów. Działanie to można przypisać temu, iż fitofenol ten ma zdolność blokowania wszystkich trzech etapów procesu nowotworzenia. Usuwając wolne rodniki hamuje inicjację kancerogenezy, a jego aktywność przeciwmutagenna udowodniona została z wykorzystaniem bakteryjnego modelu mutagenyzy [17]. Ma on także zdolność do indukcji reduktazy chinonowej (QR-2), która należąc do enzymów II fazy umożliwia detoksykację czynników kancerogennych [8, 17]. Podczas progresji nowotworu resweratrol zmniejsza aktywność związków należących do rodziny cytochromów 450 oraz hamuje ich transkrypcje [30]. W trzeciej fazie nowotworzenia działa cytotoksycznie poprzez hamowanie polimerazy DNA i reduktazy rybonukleotydowej. Resweratrol hamuje proliferację komórek nowotworowych poprzez zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1/S, co skutkuje apoptozą [10, 17, 31]. Polifenol ten inaktywuje także czynnik transkrypcyjny NF- κ B, którego podwyższona aktywność zwiększa proliferację komórek nowotworowych i ich oporność na chemioterapię [10]. Stwierdzono także, że stosowanie wysokich dawek resweratrolu uwrażliwia komórki raka szyjki macicy, przewlekłej białaczki szpikowej oraz rumienia szpiczaka mnogiego na promieniowanie X [32]. Resweratrol powoduje także zmniejszenie liczby adduktów DNA w komórkach poddanych działaniu różnych kancerogenów chemicznych. Fitoestrogen ten ma także zdolność do hamowania m.in. miejscowego naciekania, przerzutów komórek nowotworowych oraz angiogenezy [33].

Resweratrol wykazuje ponadto wiele innych właściwości. Wpływa na poziom ekspresji wielu genów zaangażowanych w proliferację czy programowaną śmierć komórki, m.in. p53, Bcl-2, Bak, Bax, kinaz cyklinozależnych, cyklin oraz na wiele komórkowych szlaków sygnałowych [34]. Resweratrol posiada właściwości przeciwzapalne, głównie dzięki hamowaniu uwalniania mediatorów prozapalnych: interleukiny 8 (IL-8), limfotoksyny, GM-CSF (*granulocyte macrophage colony stimulating factor* – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów) i histaminy [35]. Pobudzając lipolizę, hamując różnicowanie preadipocytów oraz stymulując apoptozę dojrzałych adipocytów zmniejsza ilości ogólnej tkanki tłuszczowej [36]. Dzięki właściwościom antyoksydacyjnym oraz usuwaniu wolnych rodników, polifenol ten ogranicza także negatywne skutki stresu oksydacyjnego w układzie nerwowym [37]. Hamuje śmierć neuronów i zwiększanie powierzchni martwicy powstałej w wyniku niedotlenienia czy działania czynników toksycznych [38]. Poprzez blokowanie indukowanej wirusem aktywacji receptora EGF (*epidermal growth factor* – naskórkowy czynnik wzrostu) i przekazywania sygnału przez kinazę fosfatydyloinozytolu-3 ma zdolność do hamowania replikacji wirusa cytomegalii (CMV) [39].

Przeciwnowotworowe właściwości resweratrolu w warunkach *in vitro*

Przeciwnowotworowe właściwości resweratrolu są od kilku dziesięcioleci intensywnie badane. Zostały one potwierdzone w wielu doświadczeniach, zarówno *in vitro* (tab. I) jak i *in vivo* na zwierzętach. Prowadzone są także próby kliniczne mające na celu potwierdzenie lub zaprzeczenie antynowotworowych właściwości tego polifenolu [40].

Badania Gokbulut i wsp. pokazały, iż poddanie komórek ludzkiej przewlekłej białaczki limfocytarnej 232B4 działaniu resweratrolu i kwercetyny powoduje zależne od dawki zahamowanie cyklu komórkowego w fazie GO/G1 oraz indukcję apoptozy poprzez aktywację kaspazy-3 [41].

Eksperymenty prowadzone przez Leonard i wsp. na białaczkowej linii komórkowej mysich makrofagów RAW 264.7 wskazały hamujący wpływ resweratrolu na produkcję wolnych rodników. Eksperymenty te pokazały również, iż zmiana on rodniki produkowane przez te komórki na skutek działania jonów Cr⁶⁺. Resweratrol hamował także peroksydację lipidów błon komórkowych i powstawanie uszkodzenia DNA w komórkach prawidłowych. Ponadto polifenol ten hamował aktywację czynnika NF- κ B spowodowaną ekspozycją na działanie jonów Cr⁶⁺ [42].

Surh i wsp. prowadząc eksperymenty na linii komórkowej ostrej białaczki promielocytowej HL60 wykazali, iż resweratrol zmniejsza żywotność tych ko-

mórek oraz ich zdolność do syntezy DNA. Jak podają autorzy, związane jest to prawdopodobnie z indukcją apoptozy, gdyż traktowanie komórek HL60 tym polifenolem powodowało stopniowy spadek ekspresji antyapoptotycznego białka Bcl-2 [43]. Także badania Clément i wsp. prowadzone na tej linii komórkowej udowodniły, iż resweratrol indukuje apoptozę poprzez aktywację kaspaz. Eksperymenty te wykazały również, iż resweratrol zwiększa ekspresję receptora CD95 (FAS/APO-1) na powierzchni komórek HL60, co skutkuje indukcją apoptozy zależnej od tego receptora. Stwierdzono także, iż resweratrol nie indukuje apoptozy normalnych ludzkich limfocytów krwi obwodowej, co tłumaczono brakiem wpływu resweratrolu na ekspresję receptora CD95 na powierzchni normalnych limfocytów [44].

Kim i wsp. wykazali hamujący wpływ resweratrolu na proliferację ludzkiej linii nowotworowej jelita grubego HCT116, co tłumaczono zwiększeniem apoptozy w wyniku podwyższenia produkcji endogennego NO[•] [45]. Także Fuggetta i wsp. wykazali hamujący wpływ resweratrolu na proliferację komórek nowotworowych dwóch linii nowotworu jelita grubego HT-29 i WiDr [46]. Demoulin i wsp. prowadzący badania na linii HCT-116 p53 wt zaobserwowali, że resweratrol indukuje apoptozę poprzez rozszczepienie poly(ADP-ribozo)polimerazy I (PARP-1), aktywację białka supresorowego p53 i kondensację chromatyny. Polifenol ten powodował także uszkodzenia DNA obejmujące dwuniciowe pęknięcia nici, o czym świadczyła obecność licznych ognisk immunofluorescencji γ -H2AX w 50% komórek poddanych 24-godz. działaniu 25 μ M resweratrolu. Autorzy ci sugerowali, że uszkodzenia DNA badanych komórek są rezultatem wpływu resweratrolu na topoisomerazę II, która zmieniając swoją aktywność generuje pęknięcia nici DNA. Ekspozycja komórek HCT-116 na działanie resweratrolu prowadziła również do aktywacji kinazy ATM, która z kolei odgrywa kluczową rolę w aktywacji białka p53 [47]. Opisane powyżej wyniki wskazują na możliwość wykorzystania resweratrolu w chemoprewencji raka jelita grubego i mogą stanowić cenną wskazówkę przy opracowaniu nowych terapii tego nowotworu.

Zou i wsp. badali możliwość zastosowania resweratrolu w leczeniu kostniakomięśaka wykorzystując jako cel terapii β -kateninę. Wykazano bowiem, że resweratrol znacząco zmniejsza ekspresję tego białka hamując tym samym proliferację komórek kostniakomięśaka MG-63. Efekt ten zależny jest zarówno od czasu inkubacji, jak i stężenia polifenolu. Badacze ci uzyskali również zahamowanie proliferacji tych komórek poprzez inhibicję kanonicznego (klasycznego) szlaku sygnałowego Wnt. Szlak ten odgrywa znaczącą rolę w procesie nowotworzenia, w szczególności na etapie progresji. Mutacje powodujące stałą aktywację tej ścieżki sygnałowej prowadzą do powstania nowotworów. Rozregulowanie tego szlaku

skutkuje translokacją i akumulacją β -kateniny w jądrze, co przyczynia się do aktywowania onkogenów. Eksperymenty przeprowadzone z wykorzystaniem cytometrii przepływową pokazały, iż traktowanie komórek MG-63 resweratrolom skutkuje wzrostem liczby komórek apoptotycznych [48].

Jak wskazują odrębne doniesienia naukowe, resweratrol może znaleźć zastosowanie również w terapii raka płaskonabłonkowego jamy ustnej. Yu i wsp. przeprowadzili badania na trzech liniach komórkowych tego nowotworu (SCC-VII, SCC-25 i YD-38). Wykazali oni zależne od stężenia, jak i czasu ekspozycji zahamowanie proliferacji komórek wszystkich trzech linii. Pokazali również, że badany polifenol indukuje zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M. Jest to głównie spowodowane zmianami w poziomie ekspresji takich białek, jak cyklina A2 czy cyklina B1. Dowiedzono także, iż aktywuje on ufosforylowaną kinazę Cdc2(Tyr15), przy czym ekspresja cdc2 pozostaje niezmienną. W badanych liniach komórkowych resweratrol skutkował także pojawieniem się licznych komórek apoptotycznych oraz znaczącym wzmocnieniem fosforylacji białek histonowych H2AX [49].

Eksperymenty prowadzone przez Tyagi i wsp. dowiodły, iż resweratrol w stężeniach 5-50 mM hamuje żywotność oraz indukuje uszkodzenia DNA w liniach komórkowych płaskonabłonkowego raka głowy i szyi – Fadu i Cal27. Nie zaobserwowano podobnego działania na normalne ludzkie keratynocyty naskórka oraz fibroblasty napletka, co wskazuje na selektywność resweratrolu skierowaną w kierunku linii nowotworowych. Jednak inna linia komórkowa pochodząca z tego nowotworu (Det562) wykazywała oporność na działanie tego polifenolu, nawet w stężeniu 100 mM. W doświadczeniach *in vivo* dowiedziono, że podawanie resweratrolu myszom w ilości 50 mg/kg masy ciała powoduje zahamowanie zmian nowotworowych. Naukowcy ci dowiedli także, że działanie resweratrolu na raka płaskonabłonkowego głowy i szyi jest niezależne od poziomu białka Smad4, zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* [50].

Martinez i Moreno wykazali, iż resweratrol w stężeniu 3 i 30 μ M, posiada silne właściwości antyoksydacyjne i hamuje produkcję reaktywnych form tlenu (O^{2•-} czy H₂O₂) będących wynikiem stymulacji mysich makrofagów przez lipopolisacharyd (LPS) czy estry forbolu (PMA – *phorbol esters*). Stwierdzono także, że antyoksydacyjne działanie resweratrolu może być związane m.in. z hamowaniem mobilizacji kwasu arachidonowego czy nadekspresją COX-2 w odpowiedzi na działanie LPS lub PMA na mysie makrofagi otrzewnowe [51].

Zhou i wsp. zbadali zależność pomiędzy wchodzeniem w apoptozę komórek raka przełyku linii EC-9706, a ekspresją białek Bcl-2 i Bax. Badania dowiodły, że resweratrol hamuje proliferację komórek

EC-9706 w sposób zależny zarówno od czasu działania, jak i zastosowanej dawki. Badania te dowiodły, że poddanie komórek EC-9706 działaniu resweratrolu w stężeniu 10 mM przez okres 24, 48, 72 i 96 godzin powoduje zmniejszenie poziomu antyapoptotycznego białka Bcl-2, a podwyższenie ilości proapoptotycznego białka Bax i pojawienie się komórek ze zmianami morfologicznymi typowymi dla śmierci apoptotycznej [52].

Również badania prowadzone przez Sgambato i wsp. na kilku liniach nowotworowych wskazują na silne właściwości przeciwnowotworowe resweratrolu. Związane są one z zapobieganiem powstawaniu oksydacyjnych uszkodzeń DNA, które odgrywają kluczową rolę w aktywności kancerogennej wielu związków genotoksycznych. Prowadząc eksperymenty na różnych liniach nowotworowych zaobserwowali oni nawet 50% zahamowanie wzrostu tych komórek po poddaniu ich działaniu resweratrolu w stężeniach 20 do 100 μM . W doświadczeniach tych nie zaobserwowano znaczącego wzrostu liczby komórek apoptotycznych, a zaobserwowano wiele komórek w fazie G2/M cyklu komórkowego. Stwierdzono także, iż resweratrol może zapobiegać zwiększeniu produkcji reaktywnych form tlenu powstałych w skutek ekspozycji tych komórek na działanie dymu tytoniowego czy H_2O_2 [53].

Aby zrozumieć potencjalne przeciwnowotworowe właściwości resweratrolu na raka nerki na poziomie molekularnym Shi i wsp. przeanalizowali ekspresję 2059 genów związanych z rozwojem tego nowotworu. Wykorzystali oni w tym celu linię komórkową raka nerki RCC54. Przeprowadzone badania wykazały, że resweratrol powoduje istotne zmiany w ekspresji badanych genów, czego skutkiem jest zahamowanie proliferacji tych komórek RCC54 oraz indukcja ich śmierci apoptotycznej. Efekt działania był zależny od stężenia resweratrolu. Otrzymane wyniki wskazują na istotny wpływ resweratrolu na profil ekspresji genów potencjalnie związanych z rozwojem nowotworu nerki. Chociaż rola wielu genów, których ekspresję zmienia resweratrol nie jest do końca wyjaśniona, eksperymenty te mogą stanowić cenną wskazówkę w prewencji czy terapii raka nerki [54].

Z kolei Sandeep i wsp. w prowadzonych przez siebie eksperymentach z wykorzystaniem linii komórkowej nowotworu prostaty PC-3M-MM2 dowiedli, że resweratrol w stężeniach 25 i 50 μM zmniejsza ekspresję wielu mikroRNA (miRNA) związanych z rozwojem tego nowotworu, m.in. miRNA-21. Dodatkowo w przypadku tych komórek resweratrol zwiększał ekspresję czynnika supresorowego PDCD4, który jest ujemnie regulowany przez miRNA-21. Wyniki te sugerują, że przeciwnowotworowe działanie resweratrolu w przypadku komórek raka prostaty związane jest m.in. z hamowaniem szlaku sygnałowego AKT/miRNA-21 [55].

Deregulacja szlaku kinazy PI3/AKT odgrywa bardzo ważną rolę także w patogenezie chłoniaka rozlanego z dużych komórek B, który jest odmianą chłoniaka nieziarnicznego. Azhar i wsp. w swoich badaniach z użyciem linii komórkowych SU-DHL-4 i SU-DHL-10 zaobserwowali, że resweratrol zmniejsza żywotność tych komórek i indukuje ich śmierć apoptotyczną w wyniku zahamowania konstytutywnie aktywowanej kinazy AKT poprzez stymulację wytworzenia reaktywnych form tlenu (ROS). Jednocześnie zaobserwowali oni także zależne od poziomu ROS zwiększenie poziomu antygenów zgodności tkankowej DR5 [56].

Mo-Li i wsp. prowadzili badania mające na celu zbadanie możliwości zastosowania resweratrolu w pooperacyjnym leczeniu raka pęcherza. Komórki ludzkiej linii komórkowej TCC poddawano działaniu resweratrolu w stężeniach 100, 150 oraz 200 μM . Wyniki eksperymentów pokazały, że resweratrol prowadzi w tych komórkach do znaczącego zahamowania cyklu komórkowego w fazie S i apoptozy. Towarzyszyło temu także zmniejszenie fosforylacji, translokacji jądrowej oraz transkrypcji STAT3. Dodatkowo zaobserwowano także obniżenie ekspresji genów surwiwiny, cykliny D1, c-Myc i VEGF oraz translokację do jądra Sirt1 i p53 [57].

Jak już wcześniej wspomniano, ze względu na szybki metabolizm resweratrolu w warunkach *in vivo*, prowadzone są liczne eksperymenty z wykorzystaniem różnych analogów resweratrolu, które cechują się większą biostabilnością. Często wykazują one także silniejszym działanie przeciwnowotworowe. Wieder i wsp. stwierdzili, że resweratrol, jak i jego hydroksylowany analog piceatannol w stężeniach w zakresie 15-100 μM , są silnymi induktorami apoptozy w linii komórkowej chłoniaka Burkitta BJAB. Traktowanie komórek BJAB tymi związkami powodowało, zależną od dawki, aktywację kaspazy-3 i wzrost przepuszczalności błony mitochondrialnej. Wykazano także, iż śmierć komórkowa powodowana przez te związki jest niezależna od szlaku sygnałowego CD95/Fas. By uzyskać bardziej szczegółowe informacje przeprowadzono eksperymenty *ex vivo* na pacjentach chorych na dziecięcą białaczkę limfoblastyczną. Badania te wykazały, iż piceatannol powoduje indukcję apoptozy komórek zmienionych nowotworowo [58].

Współdziałanie resweratrolu z innymi związkami

Przeciwnowotworowe działanie resweratrolu może być wykorzystane w terapii kombinowanej w połączeniu ze stosowanymi obecnie w leczeniu nowotworów chemioterapeutykami. Rzeczywiście działanie takie zaobserwowano w przypadku terapii raka płuc oraz czerniaka [59]. Poddanie pacjentów działaniu resweratrolu hamuje cykl komórkowy w fazie S, tym samym zwiększa indukcję apoptozy będącej

Tabela I. Przeciwnowotworowe właściwości resweratrolu w warunkach *in vitro*
 Table I. Anticancer properties of resveratrol *in vitro*

Linia komórkowa /Cell line	Mechanizm działania /Mechanism of action	Bibliografia /References
232B4	hamowanie cyklu komórkowego w fazie G0/G1 /cell cycle arrest in the G0/G1 phase indukcja apoptozy poprzez aktywację kaspazy-3 /induction of apoptosis through caspase-3 activation	Gokbulut i wsp. [41]
RAW 264.7	hamowanie produkcji wolnych rodników, peroksydacji lipidów, aktywacji czynnika NF- κ B oraz powstawania uszkodzeń DNA w komórkach prawidłowych /inhibition of free radical production, lipid peroxidation, NF- κ B activation and DNA damage formation in normal cells	Leonard i wsp. [42]
HL60	zmniejszenie żywotności komórek i zdolności do syntezy DNA /reduction in cell viability and ability to synthesize DNA spadek ekspresji białka Bcl-2 /decrease in Bcl-2 protein expression	Surh i wsp. [43]
HL60	indukcja apoptozy poprzez aktywację kaspaz /induction of apoptosis through caspase-3 activation wzrost ekspresji receptora CD95 (FAS/APO-1) /increase in CD95 (FAS/APO-1) receptor expression	Clément i wsp. [44]
HCT116	indukcja apoptozy w wyniku podwyższenia produkcji endogennego NO /induction of apoptosis resulting from increased production of endogenous NO	Kim i wsp. [45]
HT-29 WiDr	zahamowanie proliferacji /inhibition of proliferation	Fuggetta i wsp. [46]
HCT-116 p53 wt	indukcja apoptozy poprzez rozszczepienie PARP-1 i aktywację białka p53 /induction of apoptosis by PARP-1 cleavage and p53 protein activation uszkodzenie DNA obejmujące dwuniciowe pęknięcia nici spowodowane zmianą aktywności topoiizomerazy II /DNA damage, including double strand breaks caused by change of topoisomerase II activity aktywacja kinazy ATM /ATM kinase activation	Demoulin i wsp. [47]
MG-63	zmniejszenie ekspresji β -kateniny /decrease in β -catenin expression zahamowanie proliferacji /inhibition of proliferation inhibicja szlaku sygnałowego Wnt /inhibition of Wnt signaling pathway indukcja apoptozy /induction of apoptosis	Zou i wsp. [48]
SCC-VII SCC-25 YD-38	zahamowanie proliferacji /inhibition of proliferation zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M /cell cycle arrest in G2/M phase wzrost ekspresji cyklin A2 i B1 /increase in A2 and B1 cyclins expression aktywowanie ufosforylowanej kinazy Cdc2(Tyr15) /activation of phosphorylated Cdc2 (Tyr15) kinase indukcja apoptozy /induction of apoptosis	Yu i wsp. [49]
Fadu Cal27	zmniejszenie żywotności /reduction in cell viability indukcja uszkodzeń DNA /induction of DNA damage	Tyagi i wsp. [50]
mysie makrofagi /murine macro- phages	hamowanie produkcji reaktywnych form tlenu /inhibition of reactive oxygen species production hamowanie mobilizacji kwasu arachidonowego /inhibition of arachidonic acid mobilization nadekspresja COX-2 /COX-2 overexpression	Martinez, Moreno [51]
EC-9706	hamowanie proliferacji /inhibition of proliferation zmniejszenie poziomu białka Bcl-2 /reduction of Bcl-2 protein level podwyższenie poziomu białka Bax /increase in Bax protein level indukcja apoptozy /induction of apoptosis	Zhou i wsp. [52]
HC11 Rat-1 MCF-7 HCT116 HeLa	zapobieganie powstawaniu oksydacyjnych uszkodzeń DNA /prevention of oxidative DNA damage zahamowanie wzrostu komórek /inhibition of cell growth hamowanie produkcji reaktywnych form tlenu /inhibition of reactive oxygen species production	Sgambato i wsp. [53]
RCC54	istotne zmiany w ekspresji genów związanych z rozwojem nowotworu nerki /significant changes in gene expression associated with development of kidney cancer indukcja śmierci apoptotycznej /induction of apoptosis	Shi i wsp. [54]
PC-3M-MM2	zmniejszenie ekspresji wielu miRNA związanych z rozwojem nowotworu prostaty /reduction in expression of multiple miRNAs associated with development of prostate tumor zwiększenie ekspresji czynnika supresorowego PDCD4 /increase in PDCD4 suppressor factor expression hamowanie szlaku sygnałowego AKT/miRNA-21 /inhibition of AKT/miRNA-21 signaling pathway	Sandeep i wsp. [55]
SU-DHL-4 SU-DHL-10	zmniejszenie żywotności /reduction in cell viability indukcja apoptozy /induction of apoptosis hamowanie kinazy AKT /inhibition of AKT kinase indukcja produkcji reaktywnych form tlenu /induction of reactive oxygen species production zwiększenie poziomu DR5 /increase in DR5 level	Azhar i wsp. [56]
TCC	zahamowanie cyklu komórkowego w fazie S /cell cycle arrest in S phase indukcja apoptozy /induction of apoptosis zmniejszenie fosforylacji, translokacji jądrowej oraz transkrypcji STAT3 /reduction of STAT3 phosphorylation, nuclear translocation and transcription obniżenie ekspresji genów survivaliny, cykliny D1, c-Myc i VEGF /decrease in survivin, cyclin D1, c-Myc and VEGF gene expression translokacja do jądra Sirt1 i p53 /translocation of SIRT1 and p53 into nucleus	Mo-Li i wsp. [57]
BJAB	aktywacja kaspazy-3 /activation of caspase-3 wzrost przepuszczalności błony mitochondrialnej /increase in mitochondrial membrane permeability indukcja śmierci komórkowej /induction of cell death	Wieder i wsp. [58]

wynikiem działania chemioterapeutyków [59, 60]. Ponadto stwierdzono, iż wysokie stężenia resweratrolu uwrażliwiają komórki przewlekłej białaczki szpikowej, raka szyjki macicy i szpiczaka mnogiego na promieniowanie X, chociaż mechanizm takiego działania nie jest do końca poznany [61].

Jak już wspomniano, resweratrol występuje naturalnie w wielu gatunkach roślin. Oprócz tego polifenolu znajdują się w nich także inne związki należące do tej rodziny. Obecnie jeszcze niewiele wiadomo na temat możliwych synergistycznych lub antagonistycznych interakcji biochemicznych pomiędzy poszczególnymi polifenolami, a poznanie tych interakcji mogłoby dostarczyć informacji na temat ich potencjalnych właściwości w profilaktyce przeciwnowotworowej.

Mertens-Talcott i Pereival przeprowadzili badania, których celem była ocena jednoczesnego działania kwasu elagowego lub kwercetyny i resweratrolu. Doświadczenia te pokazały, że połączenie tych związków skutkuje zwiększoną indukcją apoptozy oraz spadkiem żywotności komórek białaczkowych MOLT-4. Działanie to było znacznie słabsze w przypadku zastosowania każdego z tych związków z osobna. Wyniki te wskazują, że potencjalne właściwości nowotworowe żywotności zawierającej polifenole mogą być wynikiem synergistycznego działania kilku związków polifenolowych, a nie tylko jednego z nich [62].

Także doświadczenia, w których analizowano wino o wysokiej i niskiej zawartości resweratrolu, wskazały na synergistyczne działanie różnych polifenoli. Po przeprowadzeniu doświadczeń stwierdzono, iż wino o dużej zawartości resweratrolu wykazuje znaczne działanie antyoksydacyjne. Działanie to jednak nie różni się znacząco od efektu wywoływanego przez wino o niskiej zawartości tego polifenolu, co wskazuje, iż resweratrol jest bardzo ważnym składnikiem win odpowiedzialnym za hamowanie powstawania wolnych rodników, ale z pewnością nie jedynym [10].

Awad i wsp. przeprowadzili doświadczenia, których celem było określenie mechanizmów za pomocą których resweratrol i β -sitosterol (sterol pochodzenia

roślinnego) hamują wzrost ludzkich komórek raka prostaty PC-3. Dowiedli oni, że mechanizmy te obejmują wpływ tych związków na indukcję apoptozy, cykl komórkowy, syntezę prostaglandyn oraz wytwarzanie reaktywnych form tlenu. Poddanie komórek PC-3 działaniu 50 μ M resweratrolu lub 16 μ M β -sitosterolu powodowało zmniejszenie ich żywotności. Zaobserwowano także, iż połączenie obu tych związków wywołuje znacznie lepszy efekt hamujący na wzrost tych komórek niż zastosowanie każdego z tych związków z osobna [63]. Wyniki te sugerują, iż resweratrol stosowany łącznie ze sterolami powszechnie występującymi w roślinach może w znaczący sposób zwiększyć ich skuteczność w leczeniu nowotworów.

Podsumowanie

Biorąc pod uwagę doniesienia dotyczące mechanizmów działania resweratrolu można stwierdzić, iż jego chemoprewencyjny czy też terapeutyczny potencjał, nie jest związany z pojedynczym mechanizmem. Przeciwnowotworowe właściwości resweratrolu zostały potwierdzone szczegółowymi badaniami na poziomie molekularnym i komórkowym [64-69]. Na ich podstawie stwierdzono, że właściwości tego polifenolu związane są z jego wpływem na wiele procesów biologicznych i biochemicznych związanych z powstawaniem nowotworów. Biorąc pod uwagę obiecujące wyniki badań wydaje się, iż warto sięgnąć po ten polifenol, czy to w postaci naturalnej czy też suplementu farmaceutycznego. Bez wątplenia, każdy aspekt działania resweratrolu powinien być jeszcze niejednokrotnie zbadany. Należy także przeprowadzić dalsze badania oraz próby kliniczne, by w pełni dowieść bezpieczeństwa stosowania tego związku. Badania te potrzebne są również w celu ustalenia odpowiednich dawek przeznaczonych do stosowania w prewencji i leczeniu różnych nowotworów. Z całą pewnością dotychczasowe wyniki badań są bardzo obiecujące i istnieją mocne przesłanki, iż resweratrol w przyszłości znajdzie zastosowanie w leczeniu szerokiego spektrum chorób, nie tylko nowotworowych.

Piśmiennictwo / References

1. Chun KS, Kim EH, Lee S, Hahm KB. Chemoprevention of gastrointestinal cancer: the reality and the dream. *Gut Liver* 2013, 7(2): 137-149.
2. Gerhauser C. Cancer chemoprevention and nutriepigenetics: state of the art and future challenges. *Top Curr Chem* 2013, 329: 73-132.
3. Namasivayam N. Chemoprevention in experimental animals. *Ann NY Acad Sci* 2011, 1215: 60-71.
4. Arisan ED, Palavan-Unsal N. Resveratrol: chemoprevention with red wine. *Adv Mol Biol* 2007, 1: 13-22.
5. Yang X, Li X, Ren J. From French Paradox to cancer treatment: anti-cancer activities and mechanisms of resveratrol. *Anticancer Agents Med Chem* 2014, 14(6): 806-825.
6. Ndiaye M, Philippe C, Mukhtar H, Ahmad N. The grape antioxidant resveratrol for skin disorders: promise, prospects, and challenges. *Arch Biochem Biophys* 2011, 508(2): 164-170.
7. Kopp P. Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'? *Eur J Endocrinol* 1998, 138(6): 619-620.
8. Gu X, Chu Q, O'Dwyer M, Zeece M. Analysis of resveratrol in wine by capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 2000, 881(1-2): 471-481.
9. Khanna D, Sethi G, Ahn KS, et al. Natural products as a gold mine for arthritis treatment. *Curr Opin Pharmacol* 2007, 7(3): 344-351.

10. Zdrojewicz Z, Belowska-Bień K. Resweratrol – działanie i znaczenie kliniczne. *Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 5: 1051-1056.
11. Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv* 2006, 6(1): 36-47.
12. Pervaiz S. Resveratrol: from grapevines to mammalian biology. *FASEB J* 2003, 17(14): 1975-1985.
13. Medina-Bolivar F, Condori J, Rimando AM, et al. Production and secretion of resveratrol in hairy root cultures of peanut. *Phytochemistry* 2007, 68(14): 1992-2003.
14. Kuhnle G, Spencer JP, Chowrimootoo G, et al. Resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, 272(1): 212-217.
15. Piver B, Fer M, Vitrac X, et al. Involvement of cytochrome P450 1A2 in the biotransformation of trans-resveratrol in human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 2004, 68(4): 773-782.
16. Espin JC, Garcia-Conesa MT, Tomás-Barberán FA. Nutraceuticals: facts and fiction. *Phytochemistry* 2007, 68(22-24): 2986-3008.
17. Saiko P, Szakmary A, Jaeger W, Szekeres T. Resveratrol and its analogs: defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad? *Mutat Res* 2008, 658(1-2): 68-94.
18. Cottart CH, Nivet-Antoine V, Laguillier-Morizot C, Beaudeau JL. Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol Nutr Food Res* 2010, 54(1): 7-16.
19. Mikstacka R, Ignatowicz E. Działanie chemoprewencyjne i terapeutyczne trans-resweratrolu i jego analogów w chorobach nowotworowych. *Pol Merk Lek* 2010, 28(168): 496-500.
20. Roupe KA, Remsberg CM, Yáñez JA, Davies NM. Pharmacometrics of stilbenes: segueing towards the clinic. *Curr Clin Pharmacol* 2006, 1(1): 81-101.
21. Roberti M, Pizzirani D, Simoni D, et al. Synthesis and biological evaluation of resveratrol and analogues as apoptosis-inducing agents. *J Med Chem* 2003, 46(16): 3546-3554.
22. Wolter F, Clausnitzer A, Akoglu B, Stein J. Piceatannol, a natural analog of resveratrol, inhibits progression through the S phase of the cell cycle in colorectal cancer cell lines. *J Nutr* 2002, 132(2): 298-302.
23. Rimando AM, Cuendet M, Desmarchelier C, et al. Cancer chemopreventive and antioxidant activities of pterostilbene, a naturally occurring analogue of resveratrol. *J Agric Food Chem* 2002, 50(12): 3453-3457.
24. Grover JK, Vats V, Yadav SS. Pterocarpus marsupium extract (Vijayasar) prevented the alteration in metabolic patterns induced in the normal rat by feeding an adequate diet containing fructose as sole carbohydrate. *Diabetes Obes Metab* 2005, 7(4): 414-420.
25. Remsberg CM, Yáñez JA, Ohgami Y, et al. Pharmacometrics of pterostilbene: preclinical pharmacokinetics and metabolism, anticancer, antiinflammatory, antioxidant and analgesic activity. *Phytother Res* 2008, 22(2): 169-179.
26. Kopeć A, Piątkowska E, Leszczyńska T, Bieżanowska-Kopeć R. Prozdrowotne właściwości resweratrolu. *Żywn Nauk Technol Jakość* 2011, 5(78): 5-15.
27. Hao HD, He LR. Mechanisms of cardiovascular protection by resveratrol. *J Med Food* 2004, 7(3): 290-298.
28. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992, 339(8808): 1523-1526.
29. Hung LM, Su MJ, Chen JK. Resveratrol protects myocardial ischemia-reperfusion injury through both NO-dependent and NO-independent mechanism. *Free Radic Biol Med* 2004, 36(6): 774-781.
30. Berge G, Øvrebø S, Botnen IV, et al. Resveratrol inhibits benzo[a]pyrene-DNA adduct formation in human bronchial epithelial cells. *Br J Cancer* 2004, 91(2): 333-338.
31. Mgbonyebi OP, Russo J, Russo IH. Antiproliferative effect of synthetic resveratrol on human breast epithelial cells. *Int J Oncol* 1998, 12(4): 865-869.
32. Baatout S, Derradji H, Jacquet P, et al. Enhanced radiation-induced apoptosis of cancer cell lines after treatment with resveratrol. *Int J Mol Med* 2004, 13(6): 895-902.
33. Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, et al. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2004, 24(5A): 2783-2840.
34. Gatouillat G, Balasse E, Joseph-Pietras D, et al. Resveratrol induces cell-cycle disruption and apoptosis in chemoresistant B16 melanoma. *J Cell Biochem* 2010, 110(4): 893-902.
35. Donnelly LE, Newton R, Kennedy GE, et al. Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells: molecular mechanism. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004, 287(4): 774-783.
36. Szkudelska K, Nogowski L, Szkudelski T. Resveratrol, a naturally occurring diphenolic compound, affects lipogenesis, lipolysis and the antilipolytic action of insulin in isolated rat adipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2009, 113(1-2): 17-24.
37. Candelario-Jalil E, de Oliveira AC, Gräfs, et al. Resveratrol potentially reduces prostaglandin E2 production and free radical formation in lipopolysaccharide-activated primary rat microglia. *J Neuroinflammation* 2007, 4: 25.
38. Della-Morte D, Dave KR, DeFazio RA, et al. Resveratrol pretreatment protects rat brain from cerebral ischemic damage via a sirtuin 1-uncoupling protein 2 pathway. *Neuroscience* 2009, 159(3): 993-1002.
39. Evers DL, Wang X, Huong SM, et al. 3,4',5-Trihydroxy-trans-stilbene (resveratrol) inhibits human cytomegalovirus replication and virus-induced cellular signaling. *Antiviral Res* 2004, 63(2): 85-95.
40. Bishayee A. Cancer prevention and treatment with resveratrol: from rodent studies to clinical trials. *Cancer Prev Res (Phila)* 2009, 2(5): 409-418.
41. Gokbulut AA, Apohan E, Baran Y. Resveratrol and quercetin-induced apoptosis of human 232B4 chronic lymphocytic leukemia cells by activation of caspase-3 and cell cycle arrest. *Hematology* 2013, 18(3): 144-150.
42. Leonard SS, Xia C, Jiang BH, et al. Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochem Biophys Res Commun* 2003, 309(4): 1017-1026.
43. Surh YJ, Hurh YJ, Kang JY, et al. Resveratrol, an antioxidant present in red wine, induces apoptosis in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells. *Cancer Lett* 1999, 140(1-2): 1-10.
44. Clément MV, Hirpara JL, Chawdhury SH, Pervaiz S. Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. *Blood* 1998, 92(3): 996-1002.
45. Kim MY, Trudel LJ, Wogan GN. Apoptosis induced by capsaicin and resveratrol in colon carcinoma cells requires nitric oxide production and caspase activation. *Anticancer Res* 2009, 29(10): 3733-3740.

46. Fuggetta MP, Lanzilli G, Tricarico M, et al. Effect of resveratrol on proliferation and telomerase activity of human colon cancer cells in vitro. *J Exp Clin Cancer Res* 2006, 25(2): 189-193.
47. Demoulin B, Hermant M, Castrogiovanni, et al. Resveratrol induces DNA damage in colon cancer cells by poisoning topoisomerase II and activates the ATM kinase to trigger p53-dependent apoptosis. *Toxicol In Vitro* 2015, 29(5): 1156-1165.
48. Zou Y, Yang J, Jiang D. Resveratrol inhibits canonical Wnt signaling in human MG-63 osteosarcoma cells. *Mol Med Rep* 2015, 12(5): 7221-7226.
49. Yu XD, Yang JL, Zhang WL, Liu Dx. Resveratrol inhibits oral squamous cell carcinoma through induction of apoptosis and G2/M phase cell cycle arrest. *Tumour Biol* 2016, 37(3): 2871-2877.
50. Tyagi A, Gu M, Takahata T, et al. Resveratrol selectively induces DNA Damage, independent of Smad4 expression, in its efficacy against human head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2011, 17(16): 5402-5411.
51. Martinez J, Moreno JJ. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochem Pharmacol* 2000, 59(7): 865-870.
52. Zhou HB, Yan Y, Sun YN, Zhu JR. Resveratrol induces apoptosis in human esophageal carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2003, 9(3): 408-411.
53. Sqambato A, Ardito R, Faraglia B, et al. Resveratrol, natural phenolic compound, inhibits cell proliferation and prevents oxidative DNA damage. *Mutat Res* 2001, 496(1-2): 171-180.
54. Shi T, Liou LS, Sadhukhan P, et al. Effects of resveratrol on gene expression in renal cell carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2004, 3(9): 882-888.
55. Sheth S, Jajoo S, Kaur T, et al. Resveratrol reduces prostate cancer growth and metastasis by inhibiting the Akt/MicroRNA-21 pathway. *PLoS One* 2012, 7(12): e51655.
56. Hussain AR, Uddin S, Bu R, et al. Resveratrol suppresses constitutive activation of AKT via generation of ROS and induces apoptosis in diffuse large B cell lymphoma cell lines. *PLoS One* 2011, 6(9): e24703.
57. Wu ML, Li H, Yu LJ, et al. Short-term resveratrol exposure causes in vitro and in vivo growth inhibition and apoptosis of bladder cancer cells. *PLoS One* 2014, 9(2): e89806.
58. Wieder T, Prokop A, Baqci B, et al. Piceatannol, a hydroxylated analog of the chemopreventive agent resveratrol, is a potent inducer of apoptosis in the lymphoma cell line BJAB and in primary, leukemic lymphoblasts. *Leukemia* 2001, 15(11): 1735-1742.
59. Fulda S, Debatin KM. Sensitization for anticancer drug-induced apoptosis by the chemopreventive agent resveratrol. *Oncogene* 2004, 23(40): 6702-6711.
60. Kubota T, Uemura Y, Kobayashi M, Tauchi H. Combined effects of resveratrol and paclitaxel on lung cancer cells. *Anticancer Res* 2003, 23(5A): 4039-4046.
61. Baatout S, Derradji H, Jacquet P, et al. Enhanced radiation-induced apoptosis of cancer cell lines after treatment with resveratrol. *Int J Mol Med* 2004, 13(6): 895-902.
62. Mertens-Talcott SU, Percival SS. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells. *Cancer Lett* 2005, 218(2): 141-151.
63. Awad AB, Burr AT, Fink CS. Effect of resveratrol and beta-sitosterol in combination on reactive oxygen species and prostaglandin release by PC-3 cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005, 72(3): 219-226.
64. Udeniqwe CC, Ramprasath VR, Aluko RE, Jones PJ. Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutr Rev* 2008, 66(8): 445-454.
65. Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. *J Nutr Biochem* 2005, 16(8): 449-466.
66. Hsieh TC, Wu JM. Resveratrol: biological and pharmaceutical properties as anticancer molecule. *Biofactors* 2010, 36(5): 360-369.
67. Nakata R, Takahashi S, Inoue H. Recent advances in the study on resveratrol. *Biol Pharm Bull* 2012, 35(3): 273-279.
68. Carter LG, D'Orazio JA, Pearson KJ. Resveratrol and cancer: focus on in vivo evidence. *Endocr Relat Cancer* 2014, 21(3): R209-R225.
69. Cal C, Garban H, Jazirehi A, et al. Resveratrol and cancer: chemoprevention, apoptosis, and chemo-immunosensitizing activities. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2003, 3(2): 77-93.