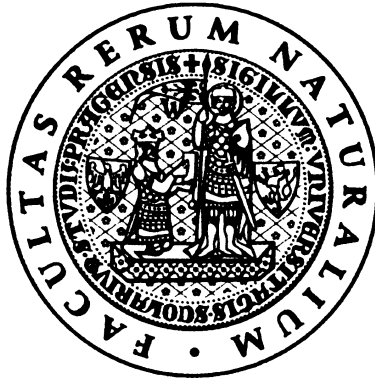


Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra antropologie a genetiky člověka



Bakalářská práce

Antioxidační účinky zeleniny

Antioxidative effects of vegetables

Martina Protivová

2009

Školitel: RNDr. Jiří Totušek, CSc.

ABSTRAKT

Tvorba volných radikálů je běžnou součástí metabolických procesů v našem těle. Pokud je však koncentrace těchto radikálů příliš vysoká, dochází k nerovnováze těchto radikálů a antioxidantů, což má za následek oxidační stres, který může způsobovat poškození řady tkání, vedoucích k rozvoji atherosklerózy, kardiovaskulárních a neurodegenerativních onemocnění a rakoviny. Zelenina obsahuje látky, které svým biologickým účinkem působí při ochraně před oxidačním stresem. Mezi antioxidanty, které tyto ochranné mechanismy mají a nacházejí se ve významném množství v zelenině, se řadí vitamíny C a E, fenolické sloučeniny, karotenoidy s i bez provitamin A aktivity a v neposlední řadě také glukosinoláty. Mnoho klinických studií i studií in vitro prokázalo příznivé účinky těchto látek obsažených v zelenině. A však značná část studií zároveň prokazovala i rozporuplné výsledky, kdy nebyla prokázána žádná závislost mezi příjmem těchto antioxidantů a redukcí oxidativního poškození. V některých případech dokonce docházelo ke zhoršování stavu sledovaných subjektů. Další studie se proto zaměřují na zjištění, za jakých okolností dochází k prooxidačnímu vlivu těchto látek. K podmínkám, které mohou měnit antioxidantní efekt na prooxidační, patří vysoké pH, vysoký parciální tlak O₂ a vysoká koncentrace antioxidantních látek. Je tedy zřejmé, že k negativním účinkům dochází převážně, pokud jsou antioxidanty podávány ve farmakologických dávkách, které mnohonásobně překračují množství přijímané stravou. Pokud se však příjem antioxidantů blíží úrovni příjmu ze stravy, můžeme pozorovat prospěšné účinky.

Klíčová slova: antioxidanty, oxidační stres, volné radikály, prooxidační účinek, polyfenoly, karotenoidy, askorbová kyselina, tokoferol, glukosinoláty,

ABSTRACT

The formation of free radicals is a common part of metabolic processes in our body. Too high concentration of these radicals leads to a disbalance of radicals and antioxidants what results in the oxidational stress that may cause a damage on many tissues and that can contribute to inception of an atherosclerosis, cardiovascular and neurodegenerative diseases and cancer. Vegetables contains agents, the biologic effect of which prevents the oxidational stress. Among those antioxidants which have the preventive mechanisms and are contained in a significant amount in vegetables belong the vitamins C and E, fenolic compounds, carotenoids with and without provitamin A activity and last but not least also glucosinolates. Many of clinical studies and studies in vitro showed positive effects of these agents contained in vegetables. On the other hand a significant part of studies showed a controversial results, where no independence between reception of antioxidants and reduction of oxidative damages were proved. In some cases the status of watched subjects even deteriorated. Following studies therefore want to find out under which circumstances of these agents have the prooxidative influence. To those circumstances that can change the antioxidative effect to oxidative effect belong high pH, high partial pressure O₂ and high concentration of antioxidative agents. It is evident that negative influences are mainly caused by serving antioxidants in farmacological amounts that many times exceed the amounts received in food. If the receipt of antioxidants is at about the same level to receipt of it from food, we can see the positive effects.

Keywords: antioxidants, oxidative stress, free radicals, prooxidative effect, polyphenols, carotenoids, ascorbic acid, tocopherol, glucosinolates

Poděkování

Děkuji svému školiteli RNDr. Jiřímu Totuškoví, CSc. za vedení mé bakalářské práce.

OBSAH

1. ÚVOD	2
2. VOLNÉ RADIKÁLY	3
3. ANTIOXIDANTY	4
3.1. ENZYMATICKÉ	5
3.1.1. SUPEROXIDDIZMUTÁZA	5
3.1.2. KATALÁZA	5
3.1.3. GLUTATHIONPEROXIDÁZA	6
3.2. NEENZYMATICKÉ	6
3.2.1. GLUTATHION	6
3.2.1. KAROTENOIDY	7
3.2.2. POLYFENOLY	12
3.2.3. VITAMIN C	19
3.2.3. VITAMIN E	22
3.2.4. GLUKOSINOLÁTY	24
4. ZÁVĚR	27
SEZNAM LITERATURY	28
PŘÍLOHY	38

1. ÚVOD

Nejčastější příčinou úmrtí ve vyspělých státech jsou kardiovaskulární onemocnění následované nádorovými onemocněními. Jednou z příčin vzniku těchto chorob je zvýšený oxidační stres (Breimer, 1990; Tappel, 1973). Vyšší příjem ovoce a zeleniny spojený se snížením rizika rakoviny a kardiovaskulárních onemocnění byl pozorován v řadě studií. Odhaduje se dokonce, že změnou složení stravy se dá zabránit vzniku rakoviny ze 30-40% (Szeto et al., 2006). Zelenina obsahuje řadu zdraví prospěšných látek, mezi něž se řadí i antioxidanty účinné při ochraně před oxidačním stresem. Za určitých podmínek se však tyto látky mohou působit negativně, kdy se jejich antioxidační účinek mění na prooxidační. Řada studií in vitro i in vivo se tak zabývá otázkou, za jakých okolností jsou jejich účinky ještě zdraví prospěšné a za jakých nikoliv. Je důležité znát mechanismus jejich působení pro stanovení těchto podmínek. Antioxidanty působí v kooperaci s dalšími antioxidanty, což nám může naznačit, s jakými dalšími nutrienty mají být přijímány a případně tak zabránit nežádoucím účinkům. Další otázkou, která je předmětem dohadů, je v jakém množství mají být tyto látky přijímány pro jejich optimální působení.

Předmětem této práce je přehled nejdůležitějších antioxidačních látek obsažených ve významném množství v zelenině a podílejících se na ochraně před oxidačním stresem s důrazem na jejich možné antioxidační a prooxidační účinky. Rovněž je zde shrnuta biologická dostupnost a metabolismus, což jsou faktory, které jsou rovněž důležité při zhodnocování jejich působení, neboť následně ovlivňují míru působení těchto látek v těle.

2. VOLNÉ RADIKÁLY

Volné radikály jsou velmi reaktivní atomy nebo molekuly s jedním nebo více nepárovými elektrony ve své valenční sféře. Mezi radikály jsou řazeny i neradikálové látky, které svým působením mohou rovněž vést k radikálovým reakcím (Auroma, 1998). Radikály s nepárovým elektronem ve valenční sféře mají snahu získat elektron od jiných látek, aby zvýšily svou stabilitu. Mohou tak napadat okolní látky v buňkách a poškozovat tkáň (Ji & Leichtweis, 1997). Přehled nejdůležitějších radikálů je uveden v tabulce 1.

Tab. 1. (Aruoma, 1998; Hlúbik et al., 2006)

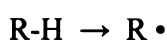
Reaktivní sloučeniny	
Radikálové	Neradikálové
Hydroxylový radikál OH•	Peroxid vodíku H ₂ O ₂
Superoxid O ₂ ^{•-}	Singletový kyslík ¹ O ₂
Hydroperoxylový radikál HO ₂ [•]	Ozón O ₃
Peroxylový radikál ROO [•]	Peroxyinitrit ONOO ⁻
Alkoxylový radikál RO [•]	
Oxid dusnatý NO [•]	
Oxid dusičitý NO [•]	

Volné radikály kyslíku a dusíku jsou běžnou součástí metabolických pochodů v těle. Mimo jiné mají důležitou roli jako signální molekuly. Účastní se usmrcování mikroorganismů makrofágy a tvorby ATP v mitochondriích. Radikály pochází také z vnějšího prostředí, kde jsou jejich zdrojem chemické látky, léky, cigaretový kouř a záření (Devasagayam et al., 2004). Zvýšená koncentrace má za následek oxidativní stres a poškozování molekul DNA, lipidů, sacharidů a proteinů, které může vést k mutagenезi, karcinogenезi, lipidové peroxidaci a poškození membrán (Sies, 1993). Dochází tak k rozvoji neurodegenerativních onemocnění, aterosklerózy s následnými kardiovaskulárními chorobami, artritidy a různých druhů rakoviny (Auroma, 1998).

Při oxidaci lipidů dochází k autooxidace uhlovodíkového řetězce mastných kyselin. Na tomto příkladu můžeme popsat základní schéma reakcí volných radikálů. Autooxidace je radikálová řetězová reakce, která probíhá ve třech stupních V první fázi vzniká volný vodíkový radikál (H•) a volný radikál mastné kyseliny (R•) během homolytického štěpení

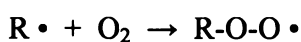
kovalentní vazby C-H uhlovodíku, ke kterému může docházet při reakci s jiným radikálem nebo s ionty přechodných kovů. Ve druhé fázi volný radikál mastné kyseliny snadno reaguje s molekulou kyslíku za vzniku peroxylového radikálu (R-O-O•). Reaktivní peroxylový radikál poté odebírá atom vodíku z další molekuly nenasycené mastné kyseliny, kdy vzniká hydroperoxid (R-O-O-H) a další volný radikál mastné kyseliny (R•). Reakce druhé fáze se mohou opakovat. Při dostatečné koncentraci mohou pak ve třetí fázi volné radikály reagovat spolu za vzniku poměrně stabilního neradikálového produktu. A tím řetězová reakce končí. Zjednodušený mechanismus je znázorněn níže (Velíšek, 1999).

Iniciační reakce:

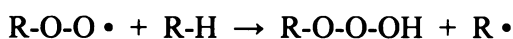


Propagační reakce:

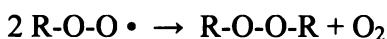
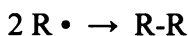
Tvorba peroxylového radikálu:



Tvorba hydroperoxidu:



Terminační reakce:



3. ANTIOXIDANTY

Antioxidanty jsou látky, které reagují s volným radikálem za vzniku méně reaktivního antioxidačního radikálu. Jejich antioxidační schopnosti jsou založeny na jejich redukčních účincích. Slouží jako donory vodíkového atomu (MacDonald-Wicks et al., 2006). Antioxidanty mohou působit na různých úrovních. Mohou ukončit radikálovou reakci poskytnutím elektronu. Dále mohou inhibovat tvorbu volných radikálů ještě před zahájením radikálových reakcí. Vážou ionty přechodných kovů (Cu, Fe), které katalyzují radikálové reakce. Mohou opravovat i poškození způsobené volnými radikály. Pro jejich působení je důležitá interakce s ostatními antioxidanty (viz příloha 1). Antioxidanty můžeme rozdělit na enzymatické a neenzymatické nízkomolekulární látky (Duthie, 1999), viz tabulka 2.

Tab. 2. Rozdělení antioxidantů (Hlúbik et al., 2006)

Antioxidanty	
Enzymatické	Neenzymatické
Superoxiddismutáza	Vitamín C, E, A
Glutathionperoxidáza	Polyfenoly
Kataláza	Karotenoidy
Glutathiontransferáza	Glukosinoláty
	Biirubin
	Glutathion
	Selen

3.1. ENZYMATICKÉ ANTIOXIDANTY

Neenzymatické antioxidanty se uplatňují hlavně v ochraně před vysoce reaktivními antioxidanty, ale tato ochrana nezahrnuje redukci superoxidu a peroxidu vodíku. To je hlavní úlohou enzymatických antioxidantů. Mezi tři hlavní antioxidační enzymy patří superoxiddismutáze, kataláza a glutathionperoxidáza. Vyskytují se převážně v erythrocytech, ledvinách a játrech (Chaudiere & Ferrari-Iliou, 1999).

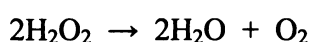
3.1.1. SUPEROXIDDIZMUTÁZA (SOD)

SOD katalyzuje dizmutaci superoxidu na méně reaktivní peroxid vodíku a molekulu kyslíku. Jejich účinnost je závislá na kofaktoru, kterým je atom kovu. U lidí se vyskytují 3 druhy SOD: cytosolická Cu, Zn-SOD; mitochondriální Mn-SOD a extracelulární Cu, Zn-SOD (Landis & Tower, 2005)



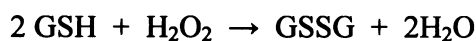
3.1.2. KATALÁZA

Kataláza katalyzuje rozklad peroxidu vodíku na molekuly vody a kyslíku. (Valko et al., 2006).



3.1.3. GLUTATIONPEROXIDÁZA (GPX)

GPX katalyzuje redukci peroxidu vodíku a hydroperoxidů za použití glutathionu. Jejich aktivita je závislá na přítomnosti selenu. U lidí se vyskytují 4 typy GPX. (Mates et al., 1999)

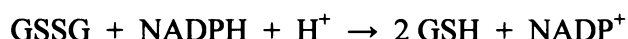


3.2. NEENZYMATICKÉ

Neenzymatické antioxidanty mají hlavní úlohu jako vychytávače (scavengery) následujících radikálů: OH^\bullet , $^1\text{O}_2$, ROO^\bullet , RO^\bullet a také iontů přechodných kovů. Jsou jak hydrofilní, tak lipofilní. Hydrofilní antioxidanty (vitamin C, glutathion, flavonoidy) se nacházejí ve vodné fázi v cytosolických, mitochondriálních a jaderných kompartmentech. Lipofilní antioxidanty (vitamin E, karotenoidy) se nacházejí v lipoproteinech a membránách. Některé antioxidanty jsou schopny působit v obou fázích (vitamin E) (Chaudiere & Ferrari-Iliou, 1999).

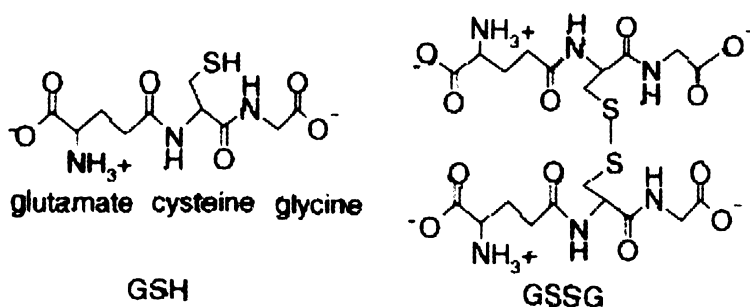
3.2.1. GLUTATHION

Glutathion se vyskytuje ve své redukované formě (GSH) a oxidované formě - glutathion disulfid (GSSG) (Obr. 1.). Účastní se ochrany bílkovin s thiolovými skupinami. Působí jako kofaktor několika detoxifikačních enzymů (GPX), přímo vychytává hydroxylové radikály a singletový kyslík a regeneruje další antioxidanty (vitamin C, E). Oxidovaný glutathion je redukován zpět pomocí NADPH v reakci katalyzované glutathionreduktázou (Valko et al., 2006).



Ačkoliv je glutathion syntetizován v těle de novo, může být zároveň zčásti absorbován střevní tkání z potravy při příjmu potravou (Fang et al., 2002). Glutathion se vyskytuje ve větším množství v živočišných tkáních, v menším množství pak také ve vyšších rostlinách. Vařením vznikají obrovské ztráty. V zelenině byly nejvyšší hodnoty nalezeny v růžičkové kapustě. Hodnoty obsahu glutathionu jsou uvedeny v tabulce 3.

Obr. 1. Struktura redukované a oxidované formy glutathionu (Valko et al., 2006)



Tab. 3. Obsah glutathionu ve vybraných druzích zeleniny (Mills et al., 1997)

Zelenina	μmol/100 g (čerst. hm.)
růžičková kapusta	112
chřest	93
špenát	44
brambory	35
květák	30
ředkev	15
zelená paprika	14
rajče	12
mrkev	6,2
celer	2,1

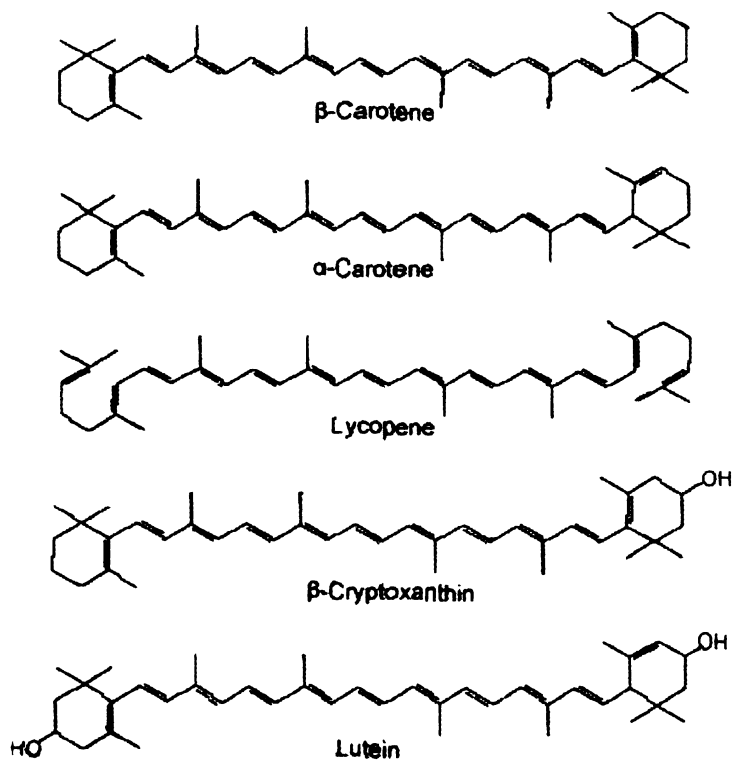
3.2.2. KAROTENOIDY

Karotenoidy jsou přírodní pigmenty syntetizované rostlinami a mikroorganismy. Přes 600 karotenoidů bylo nalezeno v přírodě. Přibližně 40 karotenoidů se vyskytuje v typické lidské stravě a přibližně jen 20 je jich přítomno v měřitelném množství v tkáních a krvi. V největších koncentracích se v krvi nacházejí: β-karoten, lykopen, α-karoten, lutein, zeaxantin a β-kryptoxantin (Cooper et al., 1999).

Karotenoidy patří mezi terpenoidy s osmi isoprenovými jednotkami a můžeme rozdělit do dvou hlavních skupin na karoteny, které se skládají pouze z uhlovodíkového řetězce. Druhou skupinu tvoří xanthofyly, což jsou kyslíkaté deriváty karotenů (Ambroggi et al., 2002). Biosyntéza karotenoidů vede od čtyřiceti uhlíkového fytoenu přes fytofluen, ζ-carotene, neurosporen, lycopen, γ-karoten a β-karoten, kdy dochází k řadě desatuačních reakcí vedoucí

ke vzniku konjugovaného systému dvojných vazeb. Biosyntéza po vzniku lykopenu zahrnuje cyklizaci koncových skupin. Cyklizací obou konců lykopenu vznikne β -karoten. Hydroxylací pak vznikají kyslíkaté karotenoidy xantofyly (Fraser & Bramley, 2004).

Obr. 2. Chemická struktura jednotlivých karotenoidů (Rao & Rao, 2007)



Karotenoidy se v přírodě nacházejí převážně v trans formě (Lessin et al., ex. Zechmeister, 1962). Teplem nebo světlem mohou být převedeny na cis formy. Vaření zeleniny tak působí izomerizaci části karotenoidů z trans formy na cis formu. Stupeň izomerizace závisí na intenzitě a době trvání tepelného procesu. Ačkoliv některé studie naznačují, že tepelná úprava může zlepšit biologickou dostupnost karotenoidů jako je lykopen (Stahl & Sies, 1992). Změny obsahu lykopenu jsou uvedeny v tab. 4. Na základě studií zjišťující koncentraci sledovaných látek v plazmě po jejich podání, bylo však zjištěno, že cis-forma β -karotenu je méně dostupná než jeho trans forma, což může být následkem izomerizace cis forem na all-trans- β -karoten nebo v důsledku rychlé absorpce. (Gaziano et al., 1995b).

Tab. 4. Srovnání obsahu lykopenu v rajčeti a jeho produktech (upraveno podle Rao & Agarwal, 1999).

Produkty	Obsah lykopenu ($\mu\text{g/g}$ čerstvé hmotnosti)
Čerstvé rajče	8,8 – 42,0
Rajská omáčka	62,0
Rajčatový protlak	54,0 – 1500,0
Kečup	99,0 – 134,4

Denní příjem karotenoidů se u evropské populace pohybuje v rozmezí 2-4 mg/den (Holeček et al., 2000). Nacházejí se především v barevném ovoci a zelenině (tab. 5). Meruňky, mrkev, dýně a sladké brambory jsou zdrojem α a β -karotenu. Grep, rajčata a meloun jsou zdrojem lykopenu, ζ -karotenu, β -karoten, fytofluenu a fytoenu. Mango, papája, broskve, švestky, dýně a pomeranče jsou zdroje luteinu, zeaxantinu, α - a β -kryptoxantinu, α -, β -, ζ -karotenu, fytofluenu a fytoenu. Zelené ovoce a zelenina, jako jsou kiwi, fazole, brokolice, růžičková kapusta, zelí, hlávkový salát, hrášek a špenát jsou zdrojem luteinu, zeaxantinu, α - a β -karotenu (Paiva & Russell, 1999).

Tab. 5. Obsah karotenoidů ve vybraných druzích zeleniny (Hart & Scott, 1995)

Druhy zeleniny	Obsah karotenoidů ($\mu\text{g}/100$ g čerst. hm.)					
	Celkový obsah	Zeaxantin	Lutein	α -karoten	β -karoten	Lykopen
růžičková kapusta	1163	—	610	—	553	—
brokolice	2533	—	1614	—	919	—
hlávkové zelí	139	—	80	—	59	—
hlávkový salát	201	—	110	—	91	—
petržel	10 335	—	5812	—	4523	—
hrách	2091	—	1633	—	458	—
špenát	9890	—	5869	—	4021	—
mrkev	14 693	—	283	3610	10 800	—
paprika	2784	1608	503	167	416	—
rajče	3454	—	78	—	439	2937

Biologické účinky

Karotenoidy používají vícenásobný mechanismus ochrany:

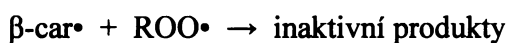
- Kolem 10% karotenoidů je převedeno na retinoidy a vykazují tak aktivitu vitamínu A. Tuto vlastnost má například β -karoten, β -kryptoxantin, α -karoten a zeaxantin (Olson, 1989).
- Regulují enzymatickou aktivitu lipoxygenáz
- Mají antioxidační vlastnosti, které jsou vyšší než u vitamínu A
- Aktivují expresi genů, které kódují informaci pro syntézu proteinu connexin 43, který je součástí gap junctions potřebných pro buněčnou komunikaci (Bendich, 1993).

Antioxidační účinky karotenoidů jsou založeny na jejich schopnosti vychytávat peroxylové radikály a zhaset singletový kyslík (Stahl & Sies, 1996). Při zhasení singletového kyslíku vzniká excitovaný karotenoid, který má schopnost rozptýlit nově získanou energii prostřednictvím řady rotačních a vibračních interakcí se solventem (rozpouštědlem). Takto se regeneruje původní neexcitovaný karotenoid, který může být znovu použit při dalším cyklu zhasení singletového kyslíku. Zhášecí aktivita karotenoidů závisí hlavně na počtu konjugovaných dvojných vazeb a je ovlivněna v menší míře koncovou skupinou (cyklická nebo acyklická) nebo charakterem substituentů u karotenoidů s koncovou cyklickou skupinou. Nejúčinnější karotenoid s touto vlastností je lykopen (Di Mascio et al., 1989).

Inhibice peroxidace lipidů

Karotenoidy rovněž reagují s peroxylovými radikály a mají tak schopnost chránit lipidy před oxidací. Mohou tak zabránit oxidativním modifikacím LDL vedoucím k ateroskleróze. LDL partikule obsahuje antioxidanty v přibližném množství jedné molekuly karotenoidu a 12 α -tokoferolových molekul. Což je malý počet ve srovnání s 2300 molekulami oxidovatelných lipidů v každé LDL partikuli (Romanchik et al., 1995).

Reakcí β -karotenu s peroxylovým radikálem ireversibilně vznikají relativně stabilní radikály β -karotenu. Dále radikály β -karotenu mohou reagovat s dalšími peroxylovými radikály a mohou ukončit radikálovou reakci (Burton, 1989).



Studie zkoumající efekt karotenoidů na inhibici peroxidace jsou však rozporuplné. Gaziano et al., 1995b, nepozorovali in vitro i in vivo zvýšenou rezistenci LDL, dokonce vysoké dávky β -karotenního doplňku vedly v in vivo studii k větší náchylnosti LDL k oxidaci. Naopak Lin et al., 1998, prokázali příznivý účinek. U žen, kterým byla podávána strava chudá na β -karoten docházelo ke zvýšení náchylnosti k oxidaci LDL, na rozdíl od skupiny, která dostávala stravu s β -karotenem. Další in vitro studie ukazuje, že směs karotenoidů je více účinná v ochraně liposomů při lipidové peroxidaci než jednotlivé karotenoidy. Tento ochranný efekt byl nejvíce patrný, pokud byl ve směsi přítomen lykopen nebo lutein (Stahl et al., 1998).

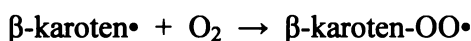
Prooxidační účinky

Vzhledem k tomu, že tlak kyslíku se liší mezi různými tkáněmi a normálními a tumorovými buňkami, byl zkoumán vliv tlaku kyslíku na vlastnosti β -karotenu. Ten působil jako antioxidant v myších normálních a tumorových thymocytech při tlaku 150 mm Hg pO_2 inhibicí peroxidace lipidů. Při zvýšení tlaku na 760 mmHg však β -karoten ztrácí své antioxidační účinky a dokonce projevil prooxidační efekt v tumorových thymocytech. Ačkoliv tlak v živých tkáních může být mnohem nižší než v použité studii, tyto údaje poukazují na klíčovou roli kyslíkového tlaku na antioxidační a prooxidační účinky β -karotenu (Palozza et al., 1997).

Tento prooxidační efekt může být vysvětlen zvýšenou tvorbou β -COO• přes tvorbu komplexu radikálu na centrálním uhlíku.



β -karoten• pak snadno a reversibilně reaguje s kyslíkem za vzniku nového řetězce nesoucí peroxylový radikál. Pokud je však tlak kyslíku nízký, koncentrace reaktivních β -karotenních radikálů je redukována (Burton & Ingold, 1984).



Rovněž vysoká koncentrace karotenoidů může mít za následek prooxidační efekt, který může být měněn interakcí s ostatními živinami (Gaziano et al., 1995a). Nežádoucí prooxidační vlivy mohou být potlačeny dalšími redukujícími činiteli. Použití in vitro studie mikrosomálních membrán myších jater ukázalo, že prooxidačnímu efektu β -karotenu bylo zabráněno přidáním α -tokoferolu (Palozza et al., 1995).

Klinické studie

Bylo provedeno několik důležitých intervenčních studií, které ukázaly protichůdné výsledky. Ve studii navržené pro přezkoumání vlivu β -karotenu a α -tokoferolu na výskyt rakoviny plic u silných kuřáků, byl jedné skupině podáván β -karoten (50 mg/den) a druhé α -tokoferol (50mg/den). U kuřáků, kteří přijímali β -karoten po 5 až 8 let, byla úmrtnost o 8% větší. Rovněž u těchto účastníků byla zaznamenána větší úmrtnost na ischemickou chorobu srdeční (Anonym, 1994). Také u další studie testující vliv β -karotenu a vitamínu A na incidenci rakoviny plic u bývalých kuřáků došlo k nárůstu úmrtnosti (až o 17%) při podávání kombinaci 30 mg/den β -karotenu a 25 000 IU/den vitamínu A. (Omenn et al., 1996).

Naopak studie prováděná v provincii Linxian v Číně, kde byl zaznamenán neobyčejně vysoký výskyt rakoviny horního trávicího traktu a nízký příjem testovaných živin. Zde byla podávána kombinace β -karotenu (15 mg/den), α -tokoferolu (30 mg/den) a selenu (50 μ g/den), což mělo po pěti letech za následek snížení celkové mortality o 9% a o 21% u rakoviny žaludku (Blot et al., 1993).

Negativní výsledky mohou vyplývat z nesprávného dávkování, neboť používané dávky jsou mnohem větší, než je jejich příjem ze stravy. Rovněž zahájení podávání těchto doplňků mohlo nastat pozdě, když již rakovina byla rozvinuta (Paiva et al., 1999). Doplňováním β -karotenu ve vysokých dávkách dochází u kuřáků ke zvýšení plicní funkce, což má za následek větší expozici tabákovým karcinogenům a dalším oxidačním sloučeninám vedoucí ke vzniku oxidačních produktů β -karotenu (Hu & Cassano, 2000).

Souhrnně se dá říci, že β -karoten a ostatní karotenoidy mají antioxidační vlastnosti, které se za určitých podmínek mohou měnit v nežádoucí prooxidační v závislosti na dalších podmínkách jako je tlak kyslíku a koncentrace karotenoidů. Z dat vyplývá, že ke škodlivým účinkům β -karotenu dochází při farmakologických dávkách. Směs karotenoidů nebo asociace s jinými antioxidanty (např. vitamín E) může předcházet negativním vlivům a může vést ke zvýšení jejich antioxidačních schopností (Paiva & Russell, 1999).

3.2.3. POLYFENOLY

Polyfenoly jsou nejhojněji zastoupené antioxidanty v potravě. Jejich celkový denní příjem je odhadován na 1 g/den (Scalbert & Williamson, 2000). Hlavními zdroji polyfenolů jsou především nápoje (káva, čaj, červené víno) a ovoce. Dále k příjmu polyfenolů přispívají obiloviny, luštětiny a zelenina (Manach et al., 2004). Je známo přes 8000

fenolických struktur. Polyfenoly jsou sekundární metabolity rostlin. Vyskytují se převážně v konjugované formě s jednou nebo více sacharidovými složkami připojenými k hydroxylovým skupinám. Sacharidovou složkou je nejčastěji glukóza, dále také rhamnosa, galaktóza, glukuronová kyselina a další sacharidy. Časté je také připojení dalších látek, jako jsou karboxylové a organické kyseliny, aminy, lipidy a další fenoly (Bravo, 1998).

Polyfenoly jsou děleny do 4 tříd podle počtu obsažených aromatických kruhů a podle typu jejich připojení na fenolové kyseliny, flavonoidy, stilbeny a lignany (Manach et al., 2004). Fenolických kyselin tvoří přibližně jednu třetinu celkového příjmu fenolů a zbylé dvě třetiny tvoří hlavně flavonoidy (Scalbert & Williamson, 2000).

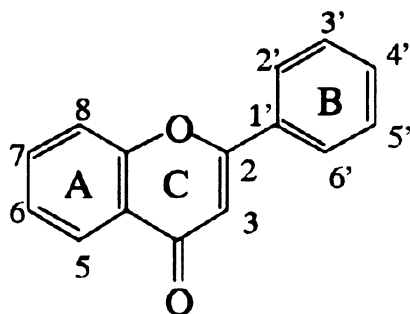
FENOLOVÉ KYSELINY

Můžeme je rozdělit na deriváty kyseliny benzoové (kyselina gallová) a častější deriváty kyseliny skořicové (kyselin p-kumarová, kávová, ferulová, sinapová). Vyskytují se ve volné i v esterifikované formě. Obsah hydroxybenzoových kyselin v jedlých rostlinách je však nízký s výjimkou některého červeného ovoce, černé ředkve a cibule. Hydroxybenzoové kyseliny jsou také součástí hydrolyzovaných taninů. Hydroxyskořicové kyseliny se výjimečně nacházejí ve volné formě. Kyselina kávová je nehojněji rozšířená fenolová kyselina. Její ester kyselina chlorogenová se nachází v mnoha druzích ovoce, v zelenině a kávě. Hlavním zdrojem kyseliny ferulové jsou obiloviny (Manach et al., 2004).

FLAVONOIDY

Flavonoidy jsou tvořeny dvěma aromatickými kruhy (A, B) spojenými tříuhlíkatým řetězcem, který je součástí heterocyklického pyranového kruhu (Manach et al., 2004). Chemickou strukturu můžeme vidět na obr. 3. Podle stupně oxidace kyslíkového heterocyklu je můžeme rozdělit na flavonoly, flavony, isoflavony, anthokyany, flavanoly, proanthokyanidiny, a flavanony (viz příloha 2), (Scalbert & Williamson 2000),

Obr. 3. Chemická struktura flavonoidů (Sakakibara et al., 2003)



Flavonoly

Flavonoly jsou nejvíce zastoupené flavonoidy v potravinách. Mezi hlavní zástupce patří kvercetin a kemferol. Vyskytují se v poměrně nízkých koncentracích (15-30 mg/kg čerstvé hmotnosti) a v převážně v glykosylované podobě. Nejbohatšími zdroji je cibule, kapusta, pórek, brokolice a borůvky. Obsahu flavonolů v červeném víně a čaji může být až 45 mg/l (Manach et al., 2004 ex. Macheix et al., 1990). Fenoly se hromadí ve vnějších vrstvách zeleniny a ovoce vzhledem k tomu, že jejich syntéza je stimulována světlem (Price et al., 1995).

Flavony

Flavony jsou v ovoci a zelenině mnohem méně časté než flavonoly. Hlavními flavony jsou glykosidy luteolin a apigenin. Jsou obsaženy hlavně v celeru a sladké paprice (Hertog et al., 1992).

Isoflavony

Mezi hlavní zástupce patří genistein a daidzein. Jejich obsah je nejvyšší v luštěninách a hlavním zdrojem je sója a její produkty. Isoflavony se řadí mezi fytoestrogeny a mohou hrát důležitou roli v prevenci rakoviny prsu a osteoporózy (Cassidy et al., 2000).

Flavanony

Flavanony se nacházejí v rajčatech a některých aromatických rostlinách jako je máta, ale ve vysokých koncentracích se nalézají jen v citrusových plodech. Hlavním aglycony jsou naringenin v grapefruitech, hesperetin v pomerančích a eriodictyol v citronech (Tomas-Barberan & Clifford, 2000).

Flavanoly

Flavanoly se na rozdíl od ostatních flavonoidů nenacházejí v glykosylované formě ve stravě. Mezi nejznámější flavanoly patří katechiny a epikatechiny, které jsou hlavní flavanoly v ovoci, zatímco gallokatechiny, epigallokatechiny a epigallokatechin gallát se vyskytují v semenech luštěnin, v hroznech a v čaji (Arts et al., 2000)

Proanthokyanidiny,

známé jako kondenzované taniny, jsou dimery, oligomery a polymery katechinů. Jsou zodpovědné za trpkou chuť ovoce a dalších produktů. Jejich hlavními zdroji jsou ovoce

(jablka, hrušky, hrozny) a nápoje (červené víno, čaj, čokoláda) (Santos-Buelga & Scalbert, 2000)

Anthokyany

Anthokyany jsou pigmenty ovoce (třešně, švestky, jahody, maliny) a červeného vína. Jsou obsaženy také v některých druzích zeleniny (lilek, zelí, fazole, cibule, ředkvička). Vzhledem k tomu, že jsou ve své aglykonové formě nestabilní, jejich rozkladu zabráněno glykosilací, esterifikací s organickými a fenolovými kyselinami (Clifford, 2000).

STILBENY

Stilbeny se vyskytují jen v malém množství v lidské stravě. Jejich zástupce resveratrol je studován pro své rozsáhlé biologické účinky. Jeho zdrojem jsou hrozny, řada druhů zeleniny (červené zelí, brokolice, červená řepa) a ořechy (Šmidrkal et al., 2001).

LIGNANY

Lignany jsou obsaženy v nejrůznějších semenech, celých zrnech, luscích zeleniny (česnek, chřest, mrkev), a v ovoci (hrušky, švestky). Nejvyšší obsah lignanů mají olejová semena, zejména lněná. Obsahují sekoisolariciresinol a malé množství matairesinolu. Další zdroji jsou obiloviny, luštěniny, zelenina (česnek, brokolice, mrkev) a ovoce (hrušky, jahody). Ve střevě jsou pak metabolizovány na enterodiol a enterolakton. Pro jejich estrogenní účinky jsou řazeny mezi fytoestrogeny (Meagher & Beecher, 2000).

Obsah polyfenolů ve vybraných druzích zeleniny je uveden v příloze 3.

Příjem a metabolismus polyfenolů

Hlavním místem resorpce polyfenolů je tenké a tlusté střevo. Některé polyfenoly přijímané v nápojích (např. katechiny) se mohou však částečně resorbovat již v ústní dutině. Ve slinách byla nalezena esteráza hydrolyzující epigalokatechingalát na epigalokatechin (Yang et al., 1999).

Absorpce polyfenolů záleží na jejich chemické struktuře. Aglykony mohou být absorbovány již z tenkého střeva. Většina polyfenolů je však v potravinách přítomna v podobě esterů, glykosidů a polymerů. Tyto látky jsou před svou absorpcí hydrolyzovány enzymy (Manach et al., 2004). V tenkém střevě tuto funkci plní pro některé glukosidy hlavně

enzym laktáza. Laktáza je relativně nespecifická β -glukosidáza na rozdíl od cytosolové β -glukosidázy, která je více specifická. Laktáza hydrolyzuje hlavně disacharid laktózu, ale rovněž i méně polární glykosidy. (Day et al., 2000). V krvi byly však nalezeny i některé glykosidy falovonidů (např. kvercetin). Hydrolyza sacharidové části není tak nutnou podmínkou resorpce všech polyfenolů (Paganga & Rice-Evans, 1997). Polyfenoly, které nejsou resorbovány v tenkém střevě, se dostávají do tlustého střeva, kde jsou metabolizovány střevními bakteriemi. Po hydrolyze se mohou vstřebávat nebo jsou dále metabolizovány. Aglykony flavonoidů jsou rozštěpeny v místě pyranového cyklu. Častými produkty jsou jednodušší fenolové kyseliny, které jsou dále metabolizovány na deriváty benzoové kyseliny (Scalbert et al., 2002).

Po resorpci jsou polyfenoly dále upravovány. Konjugují se s kyselinou glukuronovou, glycinem nebo podléhají methylaci, což vede k velkému počtu metabolitů. Methylace katechol-O-methyltransferázy probíhá v játrech a ledvinách. Rovněž mohou být v játrech a dalších tkáních sulfatovány v přítomnosti fenolsulfotransferáz (Scalbert & Williamson, 2000). UDP-glukuronyltransferasy účastníci se glukuronidace se nacházejí v buňkách střevní tkáně, ledvinách, ale největší koncentrace se nachází v játrech (Strassburg et al., 1999).

Tyto metabolické procesy jsou podobné metabolismu mnohých xenobiotik. Zde existují však rozdíly mezi podáním léčiv, které jsou obvykle podávány ve více než 100 mg na jednu dávku a mezi polyfenoly, jejíž příjem nepřekročí 100 mg. Podání léčiv má za následek zvýšenou saturaci konjugačních enzymů a vede ke zvýšené koncentraci nekonjugovaných látek. Koncentrace nekonjugovaných polyfenolů v krvi jsou však nízké, pokud nejsou podávány jako doplňky ve farmakologických dávkách (Scalbert & Williamson, 2000).

Koncentrace polyfenolů v krevní plazmě obvykle nepřekračuje $1 \mu\text{mol.l}^{-1}$ při příjmu obvyklého množství polyfenolů ve stravě (do 1 g). Rychlost absorpce závisí na struktuře, kdy se nejpomaleji vstřebávají polyfenoly, které jsou dekonjugovány až v tlustém střevě. Nejrychleji se absorbují proanthokianidiny a anthokyany (Manach et al., 2004).

Změny obsahu

Skladování může ovlivňovat obsah fenolických sloučenin, kdy dochází k oxidačním reakcím, které mají za následek vznik více či méně polymerizovaných sloučenin, které vedou ke změnám kvality potravin. Tyto změny mohou být prospěšné například u fenolických sloučenin obsažených v černém čaji. Avšak jako nežádoucí se projevují u ovoce (Manach et al., 2004). Při skladování v chladu však nedochází k významným změnám obsahu těchto látek

(Burda et al., 1990). Loupání ovoce a zeleniny rovněž může vést ke ztrátám vzhledem k tomu, že se tyto látky často nachází ve vysokých koncentracích ve vnějších vrstvách (Burda et al., 1990). Rovněž nižší koncentrace lignanů v mouce je následkem zpracování zrn, kdy jsou odstraněny vnější části s vlákninou, kde se lignany nachází ve vysoké koncentraci (Nilsson et al., 1997).

Vaření rovněž ovlivňuje obsah polyfenolů ve stravě. Ve studii zjišťující obsah kvercetinu při různých úpravách, byly zjištěny ztráty od 75% - 80% po 15 minutách vaření. Po použití mikrovlnné trouby s nízkým obsahem vody byly ztráty okolo 65% a při smažení přibližně 30% (Crozier et al, 1997). Vhodnější metodou je tedy vaření v páře, kdy je eliminováno vyluhování látek do vody (Vallejo et al., 2003).

Biologické účinky

Mnoho klinických studií poukazuje na korelaci mezi zvýšeným příjmem polyfenolů ve stravě a snížením rizika výskytu kardiovaskulárních onemocnění (Hertog et al., 1997) a různých druhů rakoviny (plic, trávicího traktu, prsu a prostaty) (Adlercreutz, 2002; Le Marchand et al., 2000). Mezi ochranné látky se řadí díky svým antioxidačním vlastnostem, které jsou důležité při ochraně lipoproteinů před oxidací a rozvojem aterosklerózy. Mohou se také podílet na redukci vzniku krevních sraženin a snižovat tak riziko infarktu myokardu a mozkové mrtvice (Maron, 2004). Rovněž se předpokládá působení při snižování rizika vzniku rakoviny na úrovni přenosu signálů, které mohou upravovat procesy apoptózy a angiogenéze (Ramos, 2007). Isoflavony, lignany a stilbeny se navíc řadí mezi fytoestrogeny (Moravcová & Kleinová, 2002).

Polyfenoly se účastní přímého zhášení volných radikálů, především OH radikálů. Také zabraňují peroxidaci lipidů přímým zhášením volných radikálů a chelatací iontů přechodných kovů, které mohou katalyzovat peroxidaci lipidů. Zabraňují tak iniciaci lipoperoxidace a iniciují terminaci radikálových reakcí. Rovněž inhibují tvorbu volných radikálů (Kondrová et al, 2006).

Hlavní charakteristiky antioxidačního působení polyfenolů:

- polyfenoly poskytují vodíkový atom:
 $ROO^{\bullet} + POLYF \rightarrow ROOH + POLYF^{\bullet}$
- stabilita vzniklých fenolových radikálů související s delokalizací nepárového elektronu

- chelatace iontů přechodných kovů (Fe, Cu)
- reakce s dalšími antioxidanty (Rice-Evans et al., 1997)

Účinnost polyfenolů zaleží na jejich chemické struktuře. Antioxidační schopnosti polyfenolů závisí na stupni hydroxylace a poloze OH skupin (Rice-Evans et al., 1997). Přítomnost glykosidů jejich antioxidační schopnosti snižuje (van der Sluis et al., 2000). Flavonoidy patří k neúčinnějším antioxidantům vzhledem k tomu, že obsahují následující strukturální prvky vhodné pro antioxidační aktivitu. Všechny následující prvky obsahuje flavonol kvercetin (Manach et al, 1996).

- o-dihydroxy struktura v kruhu B
- 2,3 dvojná vazba a 4-oxo funkční skupina v kruhu C
- 3 a 5 OH skupiny v kruzích A a C

Polyfenoly jsou méně hydrofóbní, než je vitamín E, který je značně hydrofobní. Rovněž jsou ale více hydrofobní než je vitamín C, který je naopak velmi hydrofilní. U polyfenolů se tak předpokládá působení na rozhraní vodní a lipidové fáze a působení při regeneraci vitamínu C a E. Glukuronidace a sulfatace činí polyfenoly více hydrofilní a může ovlivnit místa jejich působení a interakce s ostatními antioxidanty (Manach et al, 2004). Jejich redukční kapacita může být konjugací změněna. Například kapacita 3-O-methylkatechinu a 4-O-methylkatechinu při studiu jejich účinků při oxidaci LDL byla nižší než u katechinu (Cren-Olive et al., 2003).

Antioxidační aktivita bývá připisována hlavně rozpustným fenolickým sloučeninám. A však studie testující proantokyanidiny a hydrolyzované taniny ukázala větší účinky ve vychytávání peroxylových radikálů, než jednoduché fenoly. Protože tyto sloučeniny nejsou absorbovány, mohou uplatnit svou aktivitu uvnitř trávicího traktu během trávení (Hagerman et al, 1998). Polyfenoly se podílejí na antioxidační aktivitě i nepřímým působením, kdy inhibují aktivitu cyklooxygenáz a lipooxygenáz, které tvoří radikály lipidů enzymaticky (Kondrová et al., 2006).

Prooxidační účinky

Vzniklé fenolové radikály jsou relativně stabilní. Avšak za určitých podmínek mohou působit také jako prooxidanty. Mezi tyto podmínky patří vysoká koncentrace polyfenolů, vysoké pH nebo přítomnost iontů přechodných kovů (Bravo, 1998). Prooxidační účinky, které se za uvedených podmínek mohou objevit, rovněž stejně jako antioxidační vlastnosti závisí na

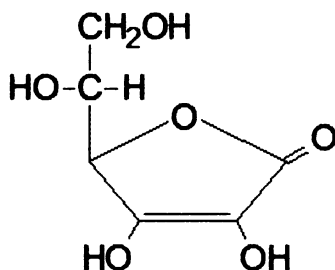
počtu hydroxylových skupin, kdy s větším počtem rovněž roste prooxidační aktivita. Také 2,3 dvojná vazba a 4-oxo funkční skupina mohou podporovat tvorbu kyslíkových radikálů indukovanou dvojmocným iontem mědi v přítomnosti kyslíku. Glykosilace a methylace OH skupin však mohou zmírnit prooxidační chování flavonoidů (Cao et al., 1997).

Ve fyziologických podmínkách však dvoumocný kation není tak dostupný jako jsou jeho koncentrace v in vitro studiích. Přítomnost iontů železa může urychlovat prooxidační procesy in vivo, ale chelatace železa flavonoidy může tento proces pozměnit. Navíc vysoké koncentrace askorbátu in vitro zmírňují tvorbu kyslíkových radikálů flavonoidy a předpokládá se, že vitamín C mění prooxidační aktivitu těchto látek i in vivo. Ačkoliv flavonoidy s více hydroxylovými skupinami mohou podporovat tvorbu volných radikálů ve farmakologických dávkách, metabolické změny struktury flavonoidů mohou zmírnit jejich reaktivitu v tomto ohledu (Heim et al., 2002).

3.2.3. VITAMÍN C

Vitamín C neboli kyselina askorbová (γ -lakton kyseliny 2-oxo-L-gulonové) je syntetizována z glukózy pomocí enzymu gulonolaktonoxidasy, který však chybí u lidí (Padayatty et al., 2003). Z možných isomerů kyseliny askorbové má však biologickou aktivitu vitamínu C pouze L-askorbová kyselina. Vitamín C je ve vodě rozpustný antioxidant. Je nestabilní, snadno se oxiduje. Rozkládá se při zvýšené teplotě a přítomnosti kyslíku (Iqbal et al., 2004).

Obr. 4. Chemická struktura L-askorbové kyseliny



Hlavními zdroji vitamínu C je ovoce (jahody, citrusové plody) a zelenina, kde jsou významnými zdroji brokolice, růžičková kapusta, květák, paprika a další (viz. tab. 6). Obsah však může být ovlivněn mnoha faktory, jako jsou klimatické podmínky, způsob pěstování,

skladování a další následné úpravy ovoce a zeleniny (Padayatty et al., 2003). Kyselina askorbová se ve stravě vyskytuje z většiny (80 – 90%) ve své redukované podobě (Vanderslice & Higgs, 1991).

Tab. 6. Obsah vitamínu C ve vybraných druzích zeleniny

Zelenina	mg/kg (čerstv. hm.)
mrkev	50-100
petržel kadeřavá	1500-2700
cibule	90-100
česnek	150-160
růžičková kapusta	1000-1030
brokolice	1100-1130
květák	47-1610
rajče	80-380
paprika	620-3000
brambory	80-400
zelí	170-700

Ztráty během tepelných úprav jsou závislé na intenzitě vaření, přítomnosti kyslíku, pH, přítomnosti iontů přechodných kovů, množství vody. K největším ztrátám stejně jako u předchozích antioxidantů docházelo při vaření ve vodě oproti vaření v páře, kde byly ztráty nejmenší (Rumm-Kreuter & Demmel, 1990).

Doporučený denní příjem byl zvýšen na 90 mg/den pro muže a 75 mg/den pro ženy (Naidu, 2003 *ex. Frei & Traber, 2001*). Klinické a epidemiologické studie ale ukazují spojitost mezi příjmem 100 mg/den a snížením rizika pro kardiovaskulární nemoci a rakoviny (Carr & Frei, 1999). Konzumace alkoholu, kouření a stres mají za následek snížení obsahu kyseliny askorbové v krvi. Doporučený příjem u lidí, kteří kouří, byl tak navýšen na 140 mg/den (Kallner et al., 1981). Výsledky mnohých studií se však v názoru na množství příjmu vitamínu C různí. Při vyšších dávkách než 500 mg/den se absorpce již dále nezvyšuje a dochází k vylučování (Naidu, 2003).

Absorpce kyseliny askorbové je závislá na přítomnosti sodíku při svém aktivním transportu (Wang et al., 1999), zatímco absorpce její oxidované formy (dehydroaskorbová

kyselina) probíhá cestou pasivní difuze prostřednictvím glukózových transportérů (Agus et al., 1999).

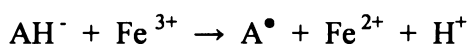
Biologické účinky

Vitamin C slouží jako donor elektronu, s čímž souvisí jeho biologická aktivita. Může poskytovat 2 elektrony ze své dvojnásobné vazby mezi 2. a 3. uhlíkem (Padayatty et al., 2003). Vzniklý ascorbový radikál (semidehydroaskorbový) je relativně stabilní. Po ztrátě druhého elektronu vzniká dehydroaskorbový radikál, jehož stabilita je závislá na řadě podmínek (teplota, koncentrace, pH). Obvykle je však dehydroaskorbový radikál stabilní pouze pár minut (Washko et al., 1993) a podléhá ireversibilní hydrolyzaci 2,3-diketogulon za vzniku 2,3-diketogulonové kyseliny (Deutsch, 1998), která je dále metabolizována za vzniku xylózy, xylonátu, lyxonátu a oxalátu. Tvorba oxalátu má klinický význam, neboť zvýšený příjem vitamínu C může ke vzniku ledvinových oxalátových kamenů, jak ukazují některé studie (Levine et al., 1996), které jsou ale v kontrastu s dalšími, které ukazují pouze nízké nebo žádné zvýšení tvorby oxalátu (Simon & Hudes, 1999). Část askorbového a dehydroaskorbového radikálu mohou být zpátky redukovány na askorbovou kyselinu (Deutsch, 1998).

Askorbová kyselina může také chránit membrány před peroxidací zesílením aktivity α -tokoferolu (hlavní hydrofobní antioxidant), tím že redukuje tokoferolperoxylový radikál zpět na α -tokoferol a udržuje tak antioxidační potenciál uvnitř membrány obnovením α -tokoferolu, kdy dochází k přenesení askorbového radikálu do vodné fáze (Sharma & Buettner, 1993).

Vitamín C účinně reaguje s kyslíkovými radikály (superoxid, hydroxylový radikál, peroxylový radikál, singletový kyslík) a také s radikály odvozenými od dusíku. Rovněž vycytává ionty přechodných kovů (Fe, Cu)

Vitamín C napomáhá vstřebávání iontů železa z potravy (Bendich & Cohen, 1990). V in vitro studii však vitamín C prokázal také prooxidační účinky. Kdy docházelo k jeho redukci a následné tvorbě hydroxylových radikálů (Samuni et al., 1983).



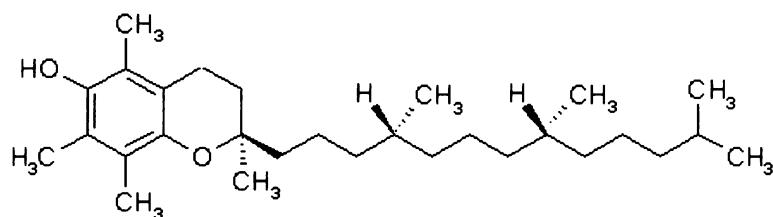
In vivo se však předpokládá nižší koncentrace volných iontů přechodných kovů v důsledku jejich vazby k proteinům (transferin, ferritin, hemoglobin) (Carr & Frei, 1999 *ex. Halliwell & Gutteridge, 1986*).

Kyselina askorbová funguje také jako kofaktor enzymatických reakcí. Uplatňuje se v reakcích vedoucích k syntéze kolagenu, kdy jsou přidávány hydroxylové skupiny k prolinu nebo lysinu molekuly kolagenu (Peterkofsky, 1991). Další na vitamínu C závislé enzymy jsou potřebné pro syntézu karnitinu nezbytného pro přenos mastných kyselin do mitochondrií pro tvorbu ATP (Rebouche, 1991). Další enzymy se za přítomnosti vitamínu C účastní syntézy norepinefrinu z dopaminu (Levine et al., 1992), přidávají amidové skupiny k peptidovým hormonům (Eipper, et al., 1993) a účastní se metabolismu tyrosinu (Lindbland et al, 1970). Tyto enzymy jsou monooxygenasy nebo dioxygenasy, které obsahují centrální kovové ionty (Fe, Cu). Pro svou aktivitu vyžadují vitamín C, který udržuje tyto ionty v redukovaném stavu.

3.2.4. VITAMIN E

Aktivitu vitamínu E vykazují osm příbuzných látek s chromanovým cyklem, které se dělí na tokoferoly a tokotrienoly. Tokoferoly obsahují postranní řetězec odvozený od diterpenoidního alkoholu fytolu. Tokotrienoly obsahují ve svém postranním řetězci navíc 3 dvojné vazby. Tokoferoly i tokotrienoly se vyskytují ve čtyřech formách (α , β , γ , δ) podle počtu a pozice methylových skupin na chromanovém cyklu. Nejrozšířenější a s největší známou antioxidační aktivitou je α -tokoferol (Niki & Noguchi, 2004).

Obr. 5. Chemická struktura α -tokoferolu



Hlavním zdrojem jsou rostlinné oleje. Vitamin E se nachází v zelenině, obilovinách a ořechách (Piironen et al., 1986). Obsah vitamínu E je uveden v tabulce 6. Vitamin E je při běžném vaření relativně stabilní a nedochází k větším ztrátám. Ty se vyskytují při smažení a pečení (Bunnell et al., 1965). Doporučený denní příjem byl stanoven na 15 mg (Institute of

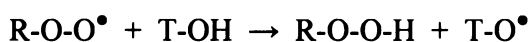
medicine, 2000). Vitamin E je vstřebáván spolu s lipidy a přenášen chylomikrony do jater (Rigotti, 2007).

Tab. 6. Obsah vitamínu E ve vybraných druzích zeleniny (upraveno podle Harris et al., 1950)

Zelenina	mg/100 g (čerstv. hm.)
kapusta	0,11
mrkev	0,45
celer	0,48
hlávkový salát	0,54
cibule	0,26
hrách	2,10
brambory	0,06
rajčata	0,36
ředkev	2,30

Biologické účinky

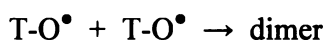
Lipofilní vitamín E je umístěn v lipofilní části membrán a lipoproteinů. Jeho hlavním úkolem je tak inhibice peroxidace lipidů (Niki & Noguchi, 2004). Tokoferol vycytává volné radikály a přerušuje průběh radikálových reakcí. Reaguje s peroxylovým radikálem za vzniku hydroperoxidu a tokoperoxylového radikálu (Sies & Stahl, 1995).



Hydroperoxydy jsou pak redukovány glutathionem v reakci katalyzované glutathionperoxidasou (Takahashi & Cohen, 1986).



Tokoferol radikál může být poté redukován kyselinou askorbovou a znovu použit (May et al., 1998). Nebo může reagovat s dalšími radikály za vzniku stabilních produktů, případně s dalším tokoferolovým radikálem za vzniku stabilního dimeru (Niki & Noguchi, 2004). Také může být úplně oxidován až na chinon (Liebler, 1993)



Vitamín E se také účastní reakcí s dalšími radikály jako jsou alkoxylové radikály, hydroxylové radikály a singletový kyslík. (Sies & Stahl, 1995). Vitamín E rovněž může

prokazovat prooxidační účinky za určitých podmínek, které jsou omezovány přítomností kyseliny askorbové a ubichinonu (Anitra et al., 2000).

3.2.4. GLUKOSINOLÁTY

Mnoho epidemiologických studií ukazuje příznivý vliv příjmu brukvovité zeleniny na výskyt rakoviny plic, slinivky, štítné žlázy, prostaty, kůže, žaludku, střeva a prsou (Verhoeven et al., 1996).

Glukosinoláty jsou tvořeny β -D-glukosou, postranním řetězcem a aglykonem, kterým je sulfonovaný oxim. Podle struktury postranního řetězce je můžeme rozdělit do čtyř základních skupin na alifatické (alkenylové, alkylové), sirné (s methylthioskupinou), aromatické a indolové. Více než 120 různých glukosinolátů bylo identifikováno v rostlinách. Jsou přítomny v 16 čeledích dvouděložných rostlin, z nichž nejvýznamnějším zdrojem je čeleď Brassicaceae (brukvovité) zahrnující například květák, kedluben, zelí, brokolici, růžičkovou kapustu, ředkev a křen. Kromě této čeledi bohaté na glukosinoláty, se ve stravě vyskytují čeledi Capparidaceae (kaporovité) a Caricaceae (papájořovité) (Fahey et al., 2001).

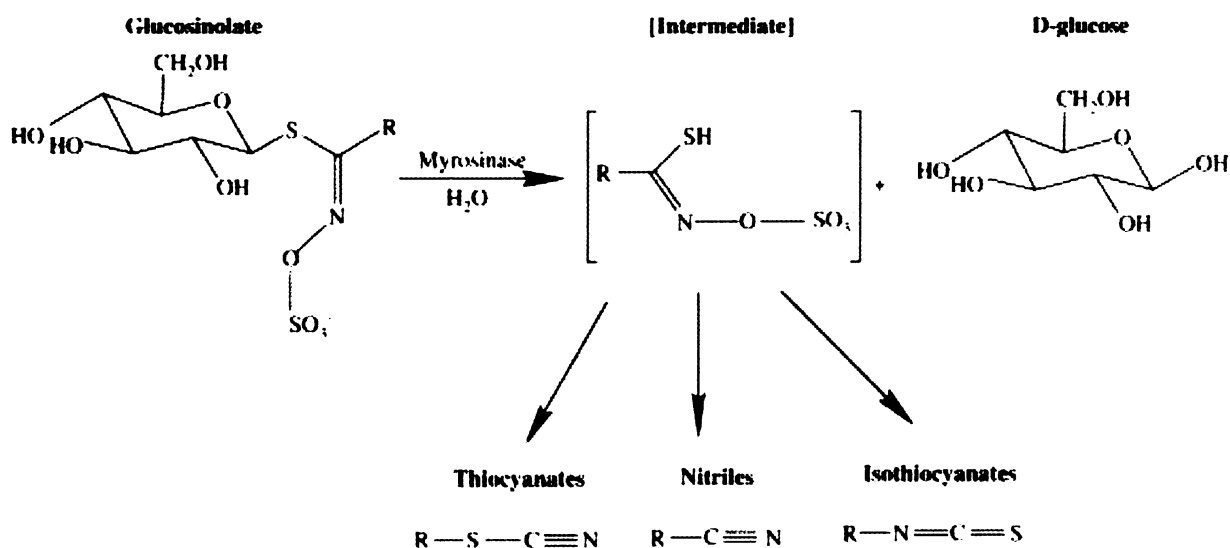
Obsah glukosinolátů a jejich dostupnost je ovlivněn skladováním a kulinární úpravou zeleniny. Vaření při vysokých teplotách denaturuje myrosinázu, což má za následek nižší přeměnu glukosinolátů na isothiokyanátů při žvýkání (Shapiro et al., 2001). Ve studii sledující změnu obsahu a stabilitu sedmi významných glukosinolátů v brukvovité zelenině, byl zjištěn menší úbytek (9-26%) glukosinolátů a nevýznamný rozdíl při skladování při pokojové teplotě a v chladničce po sedm dnů. Skladování při teplotě menší než -85°C vedlo ke snížení obsahu glukosinolátů až o 53% v důsledku poškození rostlinných pletiv vlivem zamražení. Vařením v páře, v mikrovlnce nebo smažením za stálého míchání nevznikaly významné ztráty glukosinolátů na rozdíl od vaření ve vodě, kde docházelo k vyluhování glukosinolátů do vody. Po 30 minutách vaření ve vodě došlo ke ztrátám v rozmezí 58-77%. Zvýšené biologické dostupnosti isothiokyanátů může být dosaženo tím, že se zamezí varu zeleniny (Song & Thornalley, 2007).

Tab. 7. Obsah glukosinolátů v čerstvých a vařených brukvovitých zeleninách (Velíšek, 1999)

Zelenina		mg/kg
zelí	syrové	360-2754
	vařené	315-1651
květák	syrový	138-2083
	vyřený	94-1111
růžičková kapusta	syrová	1455-3939
	vařená	597-2452
tuřín	syrový	392-1657
	vařený	205-944

Glukosinoláty nejsou biologicky aktivní, dokud nejsou hydrolyzovány. Glukosinoláty jsou hydrolyzovány rostlinným enzymem myrosinázou pokud jsou rostlinné buňky rozbity žvýkáním nebo krájením. Uvolňují se tak biologicky aktivní nestabilní aglykony, které dále podléhají degradaci na stabilnější produkty. Pokud je izomeráza inaktivována v důsledku vaření, glukosinoláty jsou pak přeměňovány až bakteriálními myrosinázami v tlustém střevě (Lampe & Peterson 2002). Hydrolyzou se tvoří nitrily, isothiokyanáty a thiokyanáty (Keck & Finley, 2004).

Obr. 6. Schéma hydrolyzy glukosinolátů (Rask et al., 2000)



Biologické účinky

Jako přímé antioxidanty se projevují jen v menší míře (Zhu et al. 2000). Jejich hlavní funkcí je především působení v roli nepřímých antioxidantů, které regulují aktivitu xenobiotických enzymů (Talalay & Fahey 2001). Isothiokyanáty působí změnu karcinogenního metabolismu prostřednictvím inhibice enzymů fáze I. nebo indukci enzymů fáze II. detoxikace xenobiotik (Hecht 1999). Enzymy fáze I. (cytochrom P450) zvyšují reaktivitu v tučných rozpustných sloučenin a v důsledku toho mohou být některé reaktivní molekuly více toxické. Zatímco enzymy fáze II. (glutathion-S-transferáza, S-methyltransferáza, aldehyd reduktáza, N-acetyltransferáza) zvyšují rozpustnost ve vodě a podporují vylučování metabolitů z těla. Geny pro enzymy fáze II. obsahují specifické sekvence DNA (antioxidant responsive element – ARE). Hydrolyzované produkty glukosinolátů zvyšují aktivitu enzymů fáze II. zvýšením transkripce ARE (Holst & Williamson, 2004).

Roli glukosinolátů jako přímých antioxidantů se nepřičítá velký význam. V in vitro studii zkoumající vliv přímých antioxidačních účinků některých glukosinolátů (sinalbin, glukonapin, glukoiiberin) na peroxidaci lipidů, byla zjištěna jen velmi slabá antioxidační aktivita (Plumb et al., 1996). V jiné studii testující glukoerucin a jeho metabolit erucin (hojně zastoupené v *Eruca sativa* – roketa setá) bylo však zjištěno přímé vychytávání volných radikálů - peroxidů vodíku a alkyl hydroperoxidů (Barillari et al., 2005)

Isothiokyanáty vytvořené z indolových glukosinolátů jsou nestabilní a samovolně se rozkládají na indol-3-karbinol, indol-acetonitril, thiokyanátový ion a 3,3'-diindolylmethan. Indol-3-karbinol pak může kondenzovat v kyselém prostředí žaludku do sloučenin podobajících se 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxinu (dioxin) strukturně a tudíž toxicitou. Ačkoliv je nepravděpodobné, že by při jeho normální denní dávce ve stravě mohli tyto vlastnosti hrát významnou roli (Bjeldanes et al., 1991). Navzdory této vlastnosti je indol-3-carbinol zkoumán pro jeho ochranné účinky proti rakovině (Coll et al., 1997).

Indolový glukosinolát glukobrassicin je zapojen také do metabolismu vitamínu C. Glukobrassicin hydrolyzovaný enzymem myrosinázou dává vzniku nestabilním meziproductům jako je indol-3-karbinol, jehož reakcí s L-askorbovou kyselinou vzniká askorbigen (Agerbirk et al. 1998). Askorbigen je stálejší než L-askorbová kyselina. Není přítomný v neporušených rostlinných tkáních. V brukvovité zelenině tvoří vázanou formu vitamínu C. Během rozkladu askorbigenu při vysokých teplotách a v kyselém prostředí se zčásti uvolňuje L-askorbová kyselina (Hrnčířik et al., 1997).

4. ZÁVĚR

Všechny uvedené antioxidanty prokazují antioxidantní účinky, které byly prokázány jak in vitro tak in vivo. Klinické studie ukázaly příznivý vliv na redukci mortality a vzniku některých onemocnění, mezi které se řadí kardiovaskulární choroby a řada rakovin. Rovněž bylo ale u všech těchto antioxidantů pozorováno prooxidační působení ať už in vitro nebo in vivo. Nesmíme, však opomenout skutečnost za jakých podmínek k těmto negativním vlivům dochází. Je to vysoká koncentrace samotných antioxidantních látek, vysoké pH, zvýšená parciální tlak kyslíku nebo vysoká koncentrace iontů přechodných kovů. In vitro studie však probíhají za podmínek, které nejsou úplně totožné s fyziologickým prostředím organismu, kde za normálních okolností tyto podmínky nevyskytují. Rovněž i klinické pozorování prokázalo dokonce zhoršení stavu sledovaných subjektů, které bylo značné u podávání doplňků s β -karotenem. Zde jsou důležité podmínky, za jakých byly antioxidantní látky podávány. Důležitý je stav subjektů před započítím podávání vysokých dávek doplňků s antioxidantní aktivitou. Rovněž i vnější faktory jsou důležité pro zhodnocení vlivu. U některých subjektů může docházet k většímu vystavení chemickým látkám, cigaretovému kouři, pesticidům a dalším faktorům, které mohou mít za následek změnu mechanismus působení těchto látek. Tento mechanismus může být tedy zcela jiný ve srovnání s těmi, kteří takovýmito podmínkám vystaveni nebyli a u nichž je pozorováno příznivé působení. Pro účinné působení těchto látek je důležitá také biologická dostupnost a s ní spojený metabolismus. Většina uvedených antioxidantů není navíc příliš stabilní a při tepelném zpracování dochází k významným ztrátám. V úvahu je třeba také vzít, že antioxidanty nepůsobí jednotlivě, ale tvoří komplexní systém. Závěrem se dá říct, že zelenina a látky v ní obsažené tedy nedokážou zcela zabránit rozvoji kardiovaskulárních chorob a rakovin a redukovat tak úmrtnost na tyto nemoci. Avšak jejich role při ochraně proti vzniku již zmíněných nemocí je nezanedbatelná. Předmětem dalších studií by tedy mělo být za jakých okolností, v jakém množství a s jakými dalšími doplňky by měly být tyto antioxidanty podávány. Je také důležité mít na paměti, že přísun zeleniny na úrovni konzumace ze stravy nepřináší žádné riziko a jeví se jako zdraví prospěšný.

POUŽITÁ LITERATURA

- Adlercreutz H. 2002.** Phyto-oestrogens and cancer. *The Lancet Oncology* 3: 364-373
- Agerbirk N., Olsen C. E., Sørensen H. 1998.** Initial and final products, nitriles and ascorbigens produced in myrosinase-catalyzed hydrolysis of indole glucosinolates. *Journal of agriculture and food Chemistry* 46:1563-1571
- Agus D. B., Vera J. C., Golde D. W. 1999.** Stromal cell oxidation: a mechanism by which tumors obtain vitamin C. *Cancer Research* 59: 4555-4558
- Aruoma, O. I. 1998.** Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and diseases. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75: 199-212
- Ambrogi A., Cardarelli D. A., Eggers R. 2002.** Fractional extraction of paprika using supercritical carbon dioxide and on-line determination of carotenoids. *Journal of Food Science* 67: 3236-3241
- Anonym. 1994.** The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. *The New England journal of medicine* 330: 1029-1035
- Arts I. C. W., van de Putte B., Hollman P. C. H. 2000.** Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 1746-1751.
- Barillari J., Canistro D., Paolini M., Ferroni F., Pedulli G. F., Iori R., Valgimigli L. 2005.** Direct antioxidant activity of purified glucoerucin, the dietary secondary metabolite contained in rocket (*Eruca sativa* Mill.) seeds and sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 2475-2482
- Bendich A. 1993.** Biological functions of dietary carotenoids. *Annals of the New York Academy of Sciences* 691: 61-67
- Bendich A., Cohen M. 1990.** Ascorbic acid safety: analysis factors affecting iron absorption. *Toxicology Letters* 51: 189-190
- Bjeldanes L. F., Kim J. Y., Grose K. R., Bartholomew J. C., Bradfield C. A. 1991.** Aromatic hydrocarbon responsiveness-receptor agonists generated from indole-3-carbinol in vitro and in vivo: comparisons with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88: 9543-9547
- Blot W. J., Li J. Y., Taylor P. R., Guo W., Dawsey S., Wang G. Q., Yang C. S., Zheng S. F., Gail M., Li G. Y., Yu Y., Liu B., Tangrea J., Sun Y., Liu F., Fraumeni J. F., Zhang Y. H., Li B. 1993.** Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *Journal of the National Cancer Institute* 85: 1483-1492
- Bramley P. M. 2000.** Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry* 54: 233-236

- Bravo L. 1998.** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56: 317-333
- Breimer L. H. 1990.** Molecular mechanism of oxygen radicals carcinogenesis and mutagenesis: The role of DNA base damage. *Molecular Carcinogenesis* 3: 188-197
- Bunnell R. H., Keating J., Quaresimo A., Parman G. K. 1965.** Alpha-tocopherol content of foods. *American Journal of Clinical Nutrition* 17: 1-10
- Burda S., Oleszek W., Lee C. Y. 1990.** Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38: 945-948
- Burton G. W., Ingold K. U. 1984.** β -Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science* 224: 569-573
- Burton G. W. 1989.** Antioxidant action of carotenoids. *The Journal of Nutrition* 119: 109-111
- Cao G., Sofic E., Prior R. L. 1997.** Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine* 22: 749-760
- Carr A. C., Frei B. 1999.** Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 69: 1086-1107
- Carr A. C., Frei B. 1999.** Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions? *The FASEB Journal* 13: 1007-1024
- ex. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. 1986.** Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problem and concepts. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 246: 501-514
- Cassidy A., Hansley B., Lamuela-Raventos R. M. 2000.** Isoflavones, lignans and stilbenes - origins, metabolism and potential importance to human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1044-1062
- Chaudiere J., Ferrari-Iliou R. 1999.** Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanism. *Food and Chemical Toxicology* 37: 949-962
- Clifford MN. 2000.** Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1063-1072
- Coll D.A., Rosen C.A., Auburn K., Potsic W.P., Bradlow H.L. 1997.** Treatment of recurrent respiratory papillomatosis with indole-3-carbinol. *American Journal of Otolaryngology* 18:283-285
- Cooper D. A., Eldridge A. L., Peters J. C. 1999.** Dietary carotenoids and lung cancer: a review of recent research. *Nutrition Reviews* 57:133-145
- Cren-Olive C. C., Teissier E., Duriez P., Rolando C. 2003.** Effect of catechin *O*-methylated metabolites and analogues on human LDL oxidation. *Free Radical Biology and Medicine* 34: 850-855

- Crozier A., Lean M. E. J., McDonald M. S., Black C. 1997.** Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 590-595
- Day A. J., Canada F. J., Díaz J. C., Kroon P. A., Mclauchlan R., Faulds C. B., Plumb G. F., Morgan M. R. A., Williamson G. 2000.** Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Letters* 468: 166-170
- Deutsch J. C. 1998.** Spontaneous hydrolysis and dehydration of dehydroascorbic acid in aqueous solution. *Analytical Biochemistry* 260: 223-229
- Devasagayam T. P., Tilak J. C., Bloor K. K., Sane K. S., Ghaskadbi S. S., Lele R. D. 2004.** Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *The Journal of the Association of Physicians of India* 52: 794-804
- Di Mascio P., Kaiser S., Sies H. 1989.** Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 274: 532-538
- Duthie G. G. 1999.** Determination of activity of antioxidants in human subjects. *Proceedings of the Nutrition Society* 58: 1015-1024
- Eipper B. A., Milgram S. L., Husten E. J., Yun H. Y., Mains R. E. 1993.** Peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase: a multifunctional protein with catalytic, processing, and routing domains. *Protein Science* 2: 489-497
- Fahey J. W., Zalcman A. T., Talalay P. 2001.** The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56: 5-51
- Fang Y. Z., Yang S., Wu G. 2002.** Free radical, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18: 872-879
- Fraser P.D., Bramley P. M. 2004.** The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* 43: 228-265
- Gaziano J. M., Hatta A., Flynn M., Johnson E. J., Krinsky N. I., Ridker P. M., Hennekens Ch., Frei B. 1995a.** Supplementation with beta-carotene in vivo and in vitro does not inhibit low density lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 112: 187-195
- Gaziano J. M., Johnson E. J., Russell R. M., Manson J. E., Stampfer M. J., Ridker P. M., Frei B., Hennekens C. H., Krinsky N. I. 1995b.** Discrimination in absorption or transport of β -carotene isomers after oral supplementation with either all-*trans*- or 9-*cis*- β -carotene. *The American Journal of Clinical Nutrition* 61:1248-1252
- Hagerman A. E., Riedl K. M., Jones G. A., Sovik K. N., Ritchard N. T., Hartzfeld P. W., Riechel T. L. 1998.** High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1887-1892
- Harris P. L., Quaife M. L., Swanson W. J. 1950.** Vitamin E content of foods. *The Journal of Nutrition* 40: 367-381
- Hart D. J., Scott K. J. 1995.** Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry* 54: 101-111

- Hecht S. S. 1999.** Chemoprevention of cancer by isothiocyanates, modifiers of carcinogen metabolism. *The Journal of nutrition* 129: 786-774
- Heim K. E., Tagliaferro A. R., Bobilya D. J. 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 572-584
- Hertog M. G. L., Hollman P. C. H., Katan M. B. 1992.** Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 2379-2383
- Hertog M. G. L., Sweetman P. M., Fehily A. M., Elwood P. C., Kromhout D. 1997.** Antioxidant flavonols and ischemic heart disease in a Welsh population of men: the Caerphilly Study. *The American Journal of Clinical Nutrition* 65: 1489-1494
- Hlúbik P., Střítecká H., Fajfrová J. 2006.** Antioxidanty v klinické praxi. *Interní medicína pro praxi* (2): 79-81
- Holeček V., Rokyta R., Vlasák R. 2000.** Antioxidanty a jejich gastrointestinální absorpce a interference jejich účinků. *Československá fyziologie* 57: 24-32
- Holst B., Williamson G. 2004.** A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. *Natural Product Reports* 21: 425-447
- Hrnčířik K., Valušek J., Velíšek J. 1997.** A study on the formation and stability of ascorbigen in an aqueous system. *Food Chemistry* 63: 349-355
- Hu G., Cassano P. A. 2000.** Antioxidant nutrients and pulmonary functions: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *American Journal of Epidemiology* 151: 975-981
- Iqbal K., Khan A., Muzaffar M., Khattak M. M. A. K. 2004.** Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health—A review. *Pakistan Journal of Nutrition* 3: 5-13
- Institute of Medicine. 2000.** *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*. Washington, DC: National Academy Press.
- Ji L. L., Leichtweis S. 1997.** Exercise and oxidative stress: sources of free radicals and their impact on antioxidant systems. *Age* 20: 91-106
- Kallner A., Hartmann D., Hornig D. 1981.** On the requirement of ascorbic acid in man: steady-state turnover and body pool in smokers. *The American Journal of Clinical Nutrition* 34: 1347-1355
- Keck A. S., Finley J. W. 2004.** Cruciferous vegetables: Cancer protective mechanisms of glucosinolate hydrolysis products and selenium. *Integrative cancer therapies* 3: 5-12
- Kondrová E., Ozgová Š., Gut I. 2006.** Přirozené fenolické látky jako antioxidanty a prooxidanty a mechanismy jejich působení. *České pracovní lékařství* 7: 195-200
- Lampe J. V., Peterson S. 2002.** Brassica, Biotransformation and Cancer Risk: Genetic Polymorphisms Alter the Preventive Effects of Cruciferous Vegetables. *The journal of nutrition* 132: 2991-2994

- Landis G. N., Tower J. 2005.** Superoxide dismutase evolution and life span regulation, *Mech. Ageing Dev.* 126: 365-379
- Le Marchand L., Murphy S. P., Hankin J. H., Wilkens L. R., Kolonel L. N. 2000.** Intake of flavonoids and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 92: 154-160
- Levine M., Dhariwal K. R., Washko P., Welch R., Wang Y. H., Cantilena C. C., Yu R. 1992.** Ascorbic acid and reaction kinetics in situ: a new approach to vitamin requirements. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)* Spec No: 169-172
- Levine M., Conry-Cantilena C., Wang Y., Welch R. W., Washko P. W., Dhariwal K. R., Park J. B., Lazarev A., Graunlich J. F., King J., Cantilena L. R. 1996.** Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 93: 3704-3709
- Lessin WJ, Catigani GI, Schwartz SJ. 1997.** Quantification of cis-trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 3728-3732 ex. **Zechmeister L. 1962.** *Cis-Trans Isomeric Carotenoids Vitamin A and Arylpolyenes*; Academic Press: New York.
- Liebler D. C. 1993.** The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Critical Reviews in Toxicology* 23: 147-169
- Lin Y., Burri B. J., Neidlinger T. R., Muller H. G., Dueker S. R., Clifford A. J. 1998.** Estimating the concentration of beta-carotene required for maximal protection of low-density lipoproteins in women. *The American Journal of Clinical Nutrition* 67: 837-845
- Lindblad B., Lindstedt G., Lindstedt S. 1970.** The mechanism of enzymic formation of homogentisate from p-hydroxyphenylpyruvate. *Journal of the American Chemical Society* 92: 7446-7449
- MacDonald-Wicks L. K., Wood L. G., Garg M. L. 2006.** Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 2046-2056
- Mills B. J., Stinson C. T., Liu M. C., Lang C. A. 1997.** Glutathione and cyst(e)ine profiles of vegetables using high performance liquid chromatography with dual electrochemical detection. *Journal of food composition and analysis* 10: 90-101
- Manach C., Regerat F., Texier O., Agullo G., Demigne C., Remesy C. 1996.** Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxo-flavonoids. *Nutrition Research* 16: 517-544
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79: 727-747
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79: 727-747 ex.
- Macheix J. J., Fleuriet A., Billot J. 1990.** *Fruit phenolics*. Boca Raton, FL: CRC Press
- Maron D. J. 2004.** Flavonoids for reduction of atherosclerotic risk. *Current Atherosclerosis Reports* 6: 73-78

- Mates J. M., Perez-Gomez C., De Castro I. N. 1999.** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry* 32: 595-603
- May J. M., Qu Z. C., Mendiratta S. 1998.** Protection and recycling of alpha-tocopherol in human erythrocytes by intracellular ascorbic acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 349: 281-289
- Meagher L. P., Beecher G. R. 2000.** Assessment of data on the lignan content of foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 13: 935-947
- Moravcová J., Kleinová T. 2002.** Phytoestrogeny ve výživě – přinášejí užitek nebo riziko? *Chemické listy* 96: 282-289
- Naidu K. A. 2003.** Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal* 2: 7 ex. **Frei B., Traber M. 2001.** The new US dietary reference for vitamins C and E. *Redox Report* 6: 5-9
- Niki E., Noguchi N. 2004.** Dynamics of antioxidant action of vitamin E. *Accounts of chemical research* 37: 45-51
- Nilsson M., Aman P., Harkonen H., Hallmans G., Knudsen K. E. B., Mazur W., Adlercreutz H. 1997.** Content of nutrients and lignans in roller milled fractions of rye. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 73: 143-148
- Olson J. A. 1989.** Provitamin A function of carotenoids: the conversion of beta-carotene into vitamin A. *The Journal of nutrition* 119: 105-108
- Omenn G. S., Goodman G. E., Thornquist M. D., Balmes J., Cullen M. R., Glass A., Keogh J. P., Meyskens F. L., Valanis B., Williams J. H., Barnhart S., Hammar S. 1996.** Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *The New England journal of medicine* 334: 1150-1155
- Padayatty S. J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J. H., PhD, Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta S. K., Levine M. 2003.** Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition* 22: 18-35
- Paganga G., Rice-Evans C. A. 1997.** The identification of flavonoids as glycosides in human plasma. *Federation of European Biochemical Societies* 401: 78-82
- Palozza P., Calviello G., Bartoli G. M. 1995.** Prooxidant activity of β -carotene under 100% oxygen pressure in rat liver microsomes. *Free Radical Biology & Medicine* 19: 887-892
- Palozza P., Luberto C., Calviello G., Ricci P., Bartoli G. M. 1997.** Antioxidant and prooxidant role of beta-carotene in murine normal and tumor thymocytes: effects of oxygen partial pressure. *Free Radical Biology & Medicine* 22:1065-1073
- Piironen V., Syvaöja E. L., Varo P., Salminen K., Koivistoinen P. 1986.** Tocopherols and tocotrienols in Finnish foods: vegetables, fruits, and berries. *Journal of agricultural and Food Chemistry* 34: 742-746

- Peterkofsky B. 1991.** Ascorbate requirement for hydroxylation and secretion of procollagen: relationship to inhibition of collagen synthesis in scurvy. *American Journal of Clinical Nutrition* 54: 1135-1140
- Plumb G. W., Lambert N., Chambers S. J., Wanigatunga S., Heaney R. K., Plumb J. A., Aruoma O. I., Halliwell B., Miller N. J., Williamson G. 1996.** Are whole extracts and purified glucosinolates from cruciferous vegetables antioxidants? *Free Radical Research* 25: 75-86
- Price S. F., Breen P. J., Valladao M., Watson B. T. 1995.** Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *American Journal of Enology Viticulture* 46:187-194
- Ramos S. 2007.** Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 18: 427-442
- Rask L., Andreasson E., Ekblom B., Eriksson S., Pontoppidan B., Meijer J. 2000.** Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology* 42: 93-113
- Rao A. V., Agarwal S. 1999.** Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic disease: a review. *Nutrition Research* 19: 305-323
- Rebouche C. J. 1991.** Ascorbic acid and carnitine biosynthesis. *American Journal of Clinical Nutrition* 54: 1147-1152
- Rumm-Kreuter D., and Demmel I. 1990.** Comparison of vitamin losses in vegetables due to various cooking methods. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 36: 7-15
- Romanchik J. E., Morel D. W., Harrison E. H. 1995.** Distributions of carotenoids and alpha-tocopherol among lipoproteins do not change when human plasma is incubated in vitro. *The Journal of Nutrition* 125: 2610-2617
- Romanchik J. E., Harrison E. H., Morel D. W. 1997.** Addition of lutein, lycopene, or beta-carotene to LDL or serum in vitro: Effects on carotenoid distribution, LDL composition, and LDL oxidation. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 8: 681-688
- Paiva S. A., Russell R. M. 1999.** Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition* 18: 426-433
- Rao A. V., Rao L. G. 2007.** Carotenoids and human health. *Pharmacological Research* 55: 207-216
- Rice-Evans C., Miller N., Paganga G. 1997.** Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2: 152-159
- Rigotti, A. 2007.** Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E. *Molecular Aspects of Medicine* 28: 423-436
- Sakakibara H., Honda Y., Satoshi N., Ashida H., Kanazawa K. 2003.** Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruit and teas. *Journal of agricultural and Food Chemistry* 51: 571-581

- Samuni A., Aronovitch J., Godinger D., Chevion M., Czapski G. 1983.** On the cytotoxicity of vitamin C and metal ions: A site specific Fenton mechanism. *European Journal of Biochemistry* 137: 119–124
- Santos-Buelga, C., Scalbert, A. 2000.** Proanthocyanidins and tannin-like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1094-1117
- Shapiro T. A., Fahey J. W., Wade K. L., Stephenson K. K., Talalay P. 2001.** Chemoprotective Glucosinolates and Isothiocyanates of Broccoli Sprouts. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 10: 501-508
- Sies H. 1993.** Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry* 215: 213-219
- Sies H., Stahl W. 1995.** Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition* 62: 1315-1321
- Simon J. A., Hudes E. S. 1999.** Relation of serum ascorbic acid to serum vitamin B12, serum ferritin, and kidney stones in US adults. *Archives of Internal Medicine* 159: 619-624
- Scalbert A., Morand C., Manach C., Rémésy C. 2002.** Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 56: 276-282
- Scalbert A., Williamson G. 2000.** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition* 130: 2073-2085
- Sharma M. K., Buettner G. R. 1993.** Interaction of vitamin C and vitamin E during free radical stress in plasma: An ESR study. *Free Radical Biology and Medicine* 14: 649-653
- Song L., Thornalley P. J. 2007.** Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of *Brassica* vegetables. *Food and Chemical Toxicology* 45: 216-224
- Stahl W., Junghans A., Deboer B., Driomina E. S., Briviba K., Sies H. 1998.** Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. *FEBS Letters* 427: 305-308
- Stahl W, Sies H. 1992.** Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *The Journal of Nutrition* 122: 2161-2166
- Stahl W., Sies H. 1996.** Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? *Archives of biochemistry and biophysics* 336: 1-9
- Strassburg C. P., Nguyen N., Manns M. P., Tukey R. H. 1999.** UDP-glucuronosyltransferase activity in human liver and colon. *Gastroenterology* 116: 149-160

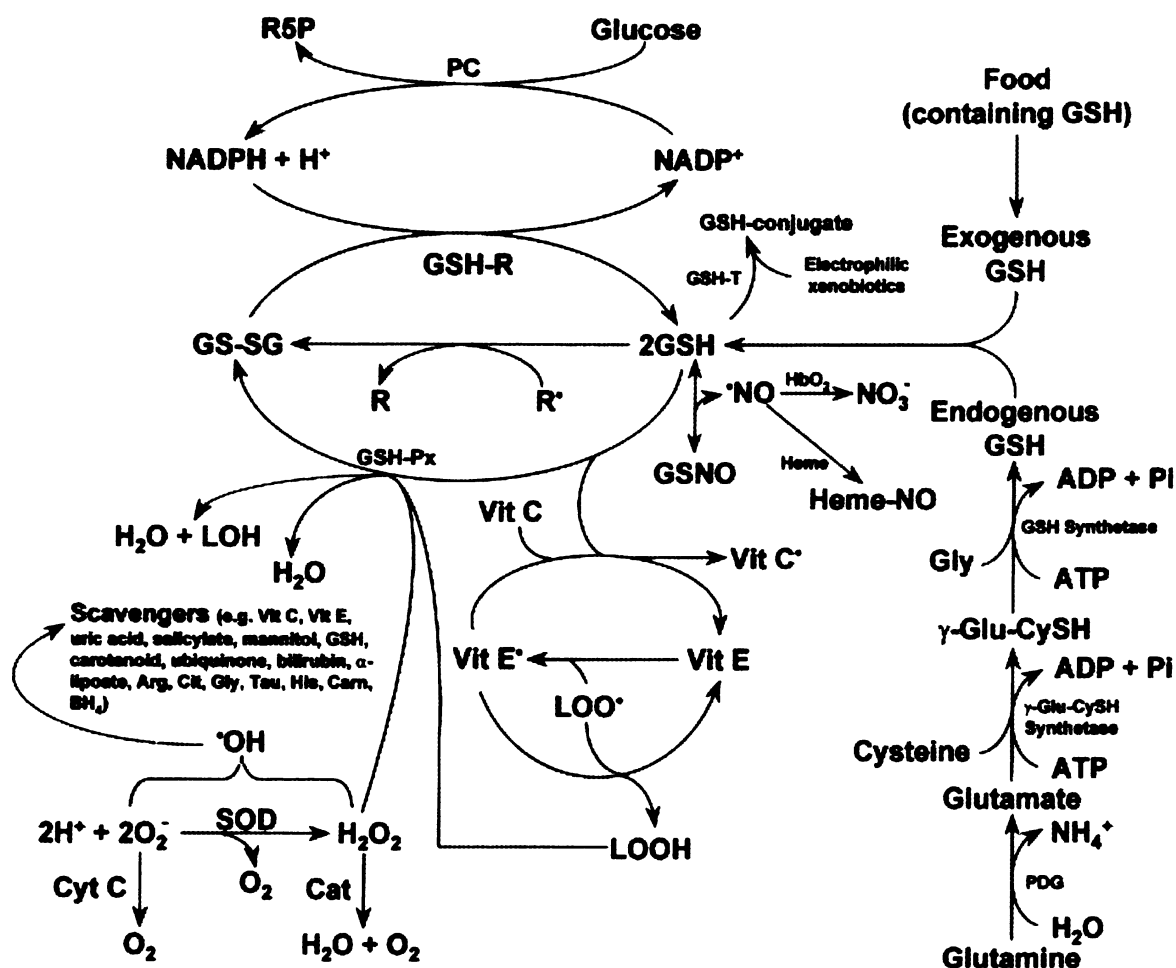
- Szeto Y. T., Chu W. K., Benzie I. F. F. 2006.** Antioxidants in fruit and vegetables: a study of cellular availability and direct effect on human DNA. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 70: 2551-2555
- Šmidrkal J., Filip V., Melzoch K., Hanzlíková I., Buckiová D., Křísá B. 2001.** Resverastrol. *Chemické listy* 95: 602-609
- Takahashi K., Cohen H. J. 1986.** Selenium-dependent glutathione peroxidase protein and activity: immunological investigation on cellular and plasma enzymes. *Blood* 68: 640-646
- Talalay P., Fahey J. W. 2001.** Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. *Journal of Nutrition* 131: 3027-3033
- Tappel A. L. 1973.** Lipid peroxidation damage to cell components. *Federation Proceedings* 32: 1870-1874
- Tomas-Barberan F. A., Clifford M. N. 2000.** Flavanones, chalcones and dihydrochalcones-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1073-1080
- van der Sluis A. A., Dekker M., Verkerk R., Jongen W. M. 2000.** An improved, rapid in vitro method to measure antioxidant activity. Application On selected flavonoids and apple juice. *Journal of agricultural and Food Chemistry* 48: 4116-4122
- Vanderslice J.T., Higgs D. J. 1991.** Vitamin C content of foods: sample variability. *American Journal of Clinical Nutrition* 54: 1323-1327
- Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160: 1-40
- Vallejo F., Tomas-Barberan F. A., Garcia-Viguera C. 2003.** Phenolic compound contents in edible parts of broccoli inflorescences after domestic cooking *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83: 1511-1516
- Velfšek J. 1999.** *Chemie potravin 1*. Tábor: Osis.
- Velfšek J. 1999.** *Chemie potravin 3*. Tábor: Osis.
- Verhoeven D. T., Goldbohm R. A., Van Popel G., Verhagen H., Van Den Beandt P. A. 1996.** Epidemiological studies on brassica vegetables and cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 5: 733-748
- Wang H., Dutta B., Huang W., Devoe L. D., Leibach F. H., Ganapathy V., Prasad P. D. 1999.** Human Na⁺-dependent vitamin C transporter 1 (hSVCT1): primary structure, functional characteristics and evidence for a non-functional splice variant. *Biochimica et Biophysica Acta* 1461: 1-9
- Washko P. W., Wang Y., Levine M. 1993.** Ascorbic acid recycling in human neutrophils. *The Journal of Biological Chemistry* 268: 15531-15535

Yang C. S., Lee M. J., Chen L. 1999. Human salivary tea catechin levels and catechin esterase activities: implication in human cancer prevention studies. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 8: 83-89

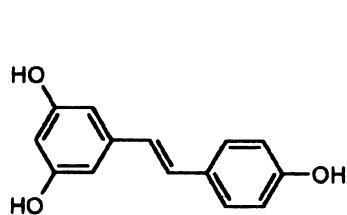
Zhu C., Poulsen H. E., Loft S. 2000. Inhibition of oxidative DNA damage *in vitro* by extracts of brussels sprouts. *Free Radical Research* 33: 187–196

PŘÍLOHY

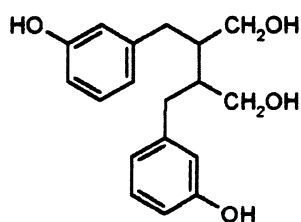
Příloha 1. Mechanismus odstraňování volných radikálů a spolupůsobení jednotlivých antioxidantů (Fang et al., 2002)



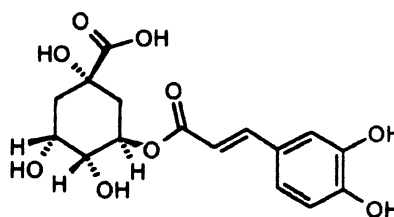
Příloha 2. Chemická struktura hlavních tříd polyfenolů (Scalbert & Williamson 2000)



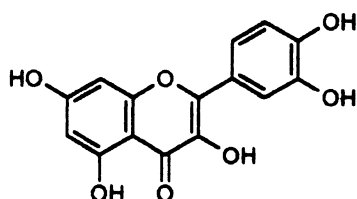
resveratrol
(stilbene)



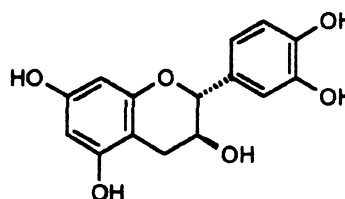
enterodiol
(lignan)



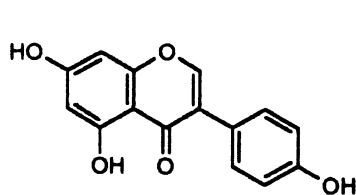
chlorogenic acid
(phenolic acid)



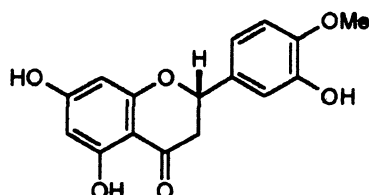
quercetin
(flavonol)



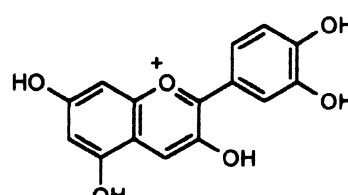
(+)-catechin
(flavanol)



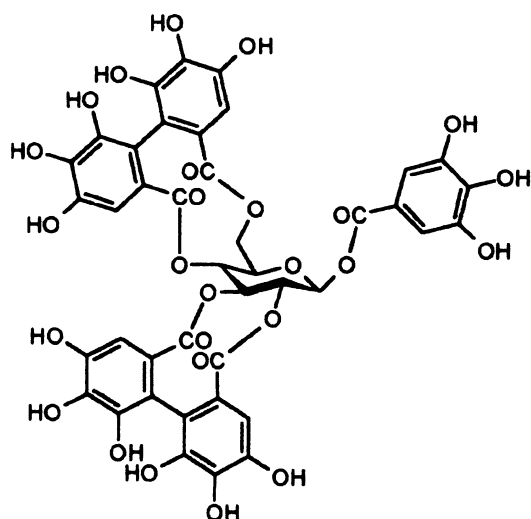
genistein
(isoflavone)



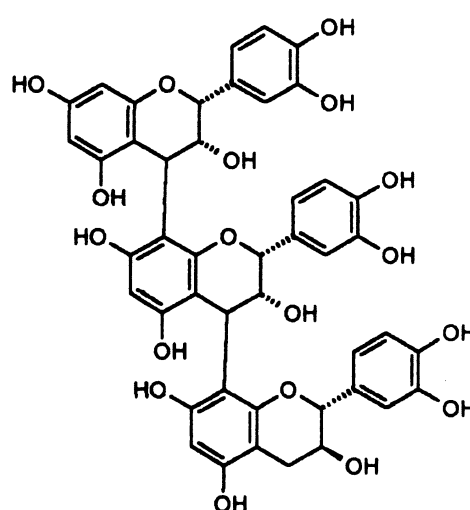
hesperetin
(flavanone)



cyanidin
(anthocyanidin)



casuarictin
(ellagitannin)



procyanidin trimer
(flavanol)

Příloha 3. Obsah polyfenolů ve vybraných druzích zeleniny (Sakakibara et al., 2003)

Polyfenoly	Zelenina	μmol/100g (čerst. hm.)
Fenolové kyseliny		
kyselina sinapová	mrkev	0,5-0,6
	ředkev	5,8-13
	brambory	18
	špenát	1,48-2,89
	chřest	1,7-16
	květák	8
kyselina chlorogenová	brokolice	2,8
	brambory	1,9
	zelí	11,1
	celer	17-50
	hlávkový salát	3-82
kyselina kávová	zelí	7,1
	hlávkový salát	16-86
	brokolice	9,4
Flavonoly		
kvercetin	cibule	92-178
	hlávkový salát	1,7-4,8
	ředkev	233
kaemferol	petržel	7,8-17
	ředkev	27
	brokolice	6,3
	zelí	1,6
Flavony		
apigenin	celer	5,3-16
	petržel	235-873
luteolin	zelí	1,2
	celer	7,1-21
	brokolice	13,3