Antiproliferativna aktivnost fenolnih ekstrakata borovnice na stanične linije karcinoma

Ančić, Jasna

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:332336

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

ANTIPROLIFERATIVNA AKTIVNOST FENOLNIH EKSTRAKATA BOROVNICE NA STANIČNE LINIJE KARCINOMA

ZAVRŠNI RAD

JASNA ANČIĆ
Matični broj: 1393

Split, listopad 2017.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
STRUČNI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE
PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA

ANTIPROLIFERATIVNA AKTIVNOST FENOLNIH EKSTRAKATA BOROVNICE NA STANIČNE LINIJE KARCINOMA

ZAVRŠNI RAD

JASNA ANČIĆ
Matični broj: 1393

Split, listopad 2017.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
PROFFESIONAL STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
FOOD TECHNOLOGY

ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF BLUEBERRY PHENOL EXTRACTS ON CELLULAR CANCER LINES

BACHELOR THESIS

JASNA ANČIĆ
Parent number: 1393

Split, October 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Stručni studij kemijske tehnologije; smjer Prehrambena tehnologija

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Tema rada je prihvaćena na 21. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta
Mentor: Prof. dr. sc. Tea Bilušić
Pomoć pri izradi:

ANTIPROLIFERATIVNA AKTIVNOST FENOLNIH EKSTRAKATA BOROVNICE NA STANIČNE LINIJE KARCINOMA

Jasna Ančić, 1393

Sažetak: U životu suvremenog čovjeka hrana je jedan od najznačajnijih činitelja društvenog i socijalnog statusa, te zdravlja i načina života. Zbog velikog porasta kroničnih bolesti današnji se čovjek sve više orijentira ka zdravoj prehrani i prirodnim lijekovima u prevenciji različitih oboljenja. Upotrebljavamo li hranu u umjerenim količinama i raznoliko, ona nam je najbolje osiguranje otpornosti organizma prema bolestima. U ovom radu pripremljeni su fenolni ekstrakti borovnice (*lat. Vaccinium*). Fenolni ekstrakti korišteni su za određivanje antiproliferativne aktivnosti na stanice karcinoma mokraćnog mjehura (T24 i TCC SUP) te je MTT testom izmjerena njihova antiproliferativna aktivnost. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da postoje razlike u antiproliferativnoj aktivnosti uzoraka u odnosu na koncentraciju (5 g/L i 2,5 g/L) i na period inkubacije (4 h, 24 h, 48 h i 72 h). Najbolju antiproliferativnu aktivnost fenolnih ekstrakata borovnice pokazao je liofilizirani uzorak pri 4 h inkubacije pri koncentraciji 2,5 g/L na staničnoj liniji T24 (8,83% živih stanica).

Ključne riječi: zdrava prehrana, oboljenja, antiproliferativna aktivnost, MTT test

Rad sadrži: 31 stranica, 6 slika, 11 tablica, 0 priloga, 12 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc.dr.sc. Mila Radan — predsjednik
2. Doc.dr.sc. Ivica Blažević — član
3. Prof. dr. sc. Tea Bilušić — član-mentor

Datum obrane: (06. listopada 2017.)

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Proffesional study of Chemical Technology; Course: Food Technology

Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food Technology
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no.21
Mentor: Tea Bilušić Full professor
Technical assistance:

ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF BLUEBERRY PHENOL EXTRACTS ON CELLULAR CANCER LINES

Jasna Ančić, 1393

Abstract: In the life of a modern man, food is one of the most important factors of social and social status, and health and lifestyle. Due to the great increase in chronic diseases today, man is increasingly oriented towards healthy nutrition and natural medicines in the prevention of various diseases. If we use nutrients in moderate amounts and variety, it is the best way to ensure the resistance of the organism to disease. For this study were prepared phenolic extracts from blueberry (lat. *Vaccinium*). The phenolic extracts were used to determine the antiproliferative activity on bladder cancer cells (T24 and TCC SUP) and their antiproliferative activity was measured by the MTT test. From the results obtained, there are differences in antiproliferative activity of the samples compared to the concentration (5 g/L and 2.5 g/L) and incubation period (4 h, 24 h, 48 h and 72 h). The best antiproliferative activity of blueberry phenol extracts showed a lyophilized sample at 4 h incubation at a concentration of 2.5 g/L on the T24 cell line (8,83% of live cells).

Keywords: healthy diet,diseases, antiproliferative activity, MTT test

Thesis contains: 31 pages, 6 figures, 11 tables, 0 supplements, 12 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Mila Radan, Assistant professor — chair person
2. Ivica Blažević, Assistant professor — member
3. Tea Bilušić, Full professor — supervisor

Defence date: (October 06, 2017.)

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen na Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu i na Medicinskom fakultetu u Splitu pod mentorstvom prof. dr. sc. Tee Bilušić u razdoblju od svibnja do rujna 2017. godine.

Zahvaljujem se svojoj mentorici prof.dr.sc. Tei Bilušić na pomoći pri izradi ovog rada, te posvećenom vremenu i strpljenju.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Zadatak završnog rada je bio pripremiti fenolne ekstrakte borovnice (*lat. Vaccinium*) te odrediti antiproliferacijsku aktivnost pripremljenih fenolnih ekstrakata na dvije stanične linije karcinoma mokraćnog mjehura (T24 i TCC SUP) koristeći MTT test.

SAŽETAK

U životu suvremenog čovjeka hrana je jedan od najznačajnijih činitelja društvenog i socijalnog statusa, te zdravlja i načina života. Zbog velikog porasta kroničnih bolesti današnji se čovjek sve više orijentira ka zdravoj prehrani i prirodnim lijekovima u prevenciji različitih oboljenja. Upotrebljavamo li hranu u umjerenim količinama i raznoliko, ona nam je najbolje osiguranje otpornosti organizma prema bolestima.

U ovom radu pripremljeni su fenolni ekstrakti borovnice (*lat. Vaccinium*). Fenolni ekstrakti korišteni su za određivanje antiproliferativne aktivnosti na stanice karcinoma mokraćnog mjehura (T24 i TCC SUP) te je MTT testom izmjerena njihova antiproliferativna aktivnost.

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da postoje razlike u antiproliferativnoj aktivnosti uzoraka u odnosu na koncentraciju (5 g/L i 2,5 g/L) i na period inkubacije (4 h, 24 h, 48 h i 72 h). Najbolju antiproliferativnu aktivnost fenolnih ekstrakata borovnice pokazao je liofilizirani uzorak pri 4 h inkubacije pri koncentraciji 2,5 g/L na staničnoj liniji T24 (8,83% živih stanica).

Ključne riječi: zdrava prehrana, oboljenja, antiproliferativna aktivnost, MTT test

SUMMARY

In the life of a modern man, food is one of the most important factors of social and social status, and health and lifestyle. Due to the great increase in chronic diseases today, man is increasingly oriented towards healthy nutrition and natural medicines in the prevention of various diseases. If we use nutrients in moderate amounts and variety, it is the best way to ensure the resistance of the organism to disease.

For this study were prepared phenolic extracts from blueberry (lat. *Vaccinium*). The phenolic extracts were used to determine the antiproliferative activity on bladder cancer cells (T24 and TCC SUP) and their antiproliferative activity was measured by the MTT test.

From the results obtained, there are differences in antiproliferative activity of the samples compared to the concentration (5 g/L and 2.5 g/L) and incubation period (4 h, 24 h, 48 h and 72 h). The best antiproliferative activity of blueberry phenol extracts showed a lyophilized sample at 4 h incubation at a concentration of 2.5 g/L on the T24 cell line (8,83% of live cells).

Keywords: healthy diet,diseases, antiproliferative activity, MTT test

SADRŽAJ

1.0 UVOD 1
2.0 OPĆI DIO 2
2.1. Prehrana i zdravlje 2
2.2. Biološki aktivne komponente hrane – fenolni spojevi 5
2.2.1. Borovnica 8
2.3. Karcinom – bolest suvremenog doba 10
3.0 MATERIJALI I METODE 13
3.1. Priprema uzoraka 13
3.1.1. Određivanje antiproliferativne aktivnosti uzoraka 15
3.1.1.1. Stanična linija karcinoma 15
3.1.1.2. MTT test (određivanje antiproliferacijske aktivnosti) 15
4.0 REZULTATI 17
5.0 RASPRAVA 29
6.0 ZAKLJUČAK 30
7.0 LITERATURA 31

1.0 UVOD

Jedan od najvećih zdravstvenih problema suvremenog doba su zloćudne bolesti. Veće šanse za izlječenje raka je rano otkrivanje, no mnoge vrste raka se otkrivaju tek kada metastaziraju po cijelome tijelu.

Karcinom se smatra preventivno izlječivom bolešću. Mnoge studije pokazuju da polifenolni antioksidansi , kao što su flavonoidi u borovnici, te antioksidansi iz svježeg voća i povrća smanjuju rizik od nastanka raka.

Kao predmet ovog istraživačkog rada uzeta je borovnica (*lat. Vaccinium*) kao medicinski potencijalno interesantna biljna vrsta.

Zbog antioksidativnog svojstva i mogućnosti da uspori proces starenja i da prekine početnu fazu razvoja raka, borovnica se osim u kulinarstvu koristi i u narodnoj medicini. Kao prirodni lijek se mogu koristiti svježe i sušene bobice, te prerađene u obliku soka, vina, kompota, sirupa i raznih namaza.

Borovnica ima djelotvoran učinak u liječenju dijabetesa, kardiovaskularnih bolesti, probavnih tegoba, teškoćama s mokraćni mjehurom, ublažuje upalu bubrega, te jača imunološki sustav.

U ovom završnom radu odrediti ćemo antiproliferativnu aktivnost fenolnih ekstrakta borovnice (*lat. Vacciniu*) na dvije stanične linije karcinoma mokraćnog mjehura.

2.0 OPĆI DIO

2.1. Prehrana i zdravlje

Prema Zakonu o hrani: „*hrana je svaka tvar ili proizvod prerađen, djelomično prerađen ili neprerađen, a namijenjen je konzumaciji ili se može opravdano očekivati da će ga ljudi konzumirati. Pojam hrane uključuje i piće, žvakaću gumu i bilo koju drugu tvar, uključujući vodu, koja se namjerno ugrađuje u hranu tijekom njezine proizvodnje, pripreme ili obrade, pa i vodu za piće ili pakiranu vodu kao što je stolna voda, mineralna voda i izvorska voda.*

Hranom ljudski organizam svakodnevno dobiva prehrambene (hranjive) tvari: ugljikohidrate, masti, bjelančevine, minerale, vitamine i vodu, zastupljene u hrani u različitim udjelima".[1]

U životu suvremenog čovjeka hrana je jedan od najznačajnijih činitelja društvenog i socijalnog statusa, te zdravlja i načina života. Upotrebljavamo li hranu u umjerenim količinama i raznoliko, ona nam je najbolje osiguranje otpornosti organizma prema bolestima. Sprječavanje bolesti, kao i njihovo uzrokovanje krije se u našim nasljednim osobinama i navikama, prije svega u prehrani i načinu života. Znanosti kao što su prehrambena kemija, mikrobiologija, dijetetika, biokemija, molekularna biologija i genetika i još cijeli niz srodnih područja ostavljaju nam prostora za ozbiljna znanstvena istraživanja. Ove znanosti imaju veliki utjecaj na naš odnos prema hrani, prehrani i zdravlju. Na području prehrane i zdravlja veliki utjecaj ima Svjetska zdravstvena organizacija (WHO- World Health Organization). Preporuka Svjetske zdravstvene organizacije glasi: *" sve živežne namirnice, bez izuzetka, moraju biti zdravstveno besprijekorne i podesne za humanu upotrebu bez štetnih posljedica za zdravlje ljudi".* Ova preporuka nas dovodi do toga da je zaštita zdravlja ljudi uvijek ispred zaštite ekonomskih interesa potrošača. Kakvoća prehrane i namirnica za ljudsku upotrebu bitan je element sa stajališta zdravstvene ispravnosti i djelovanja na ljudsko zdravlje. Kakvoća prehrambenih proizvoda ovisi o mnogo različitih svojstava kao što su: boja, izgled, okus, miris, zdravstvena ispravnost. Okus, miris i boja ovise o kemijskom sastavu. Za prehranu ljudi ne smiju se upotrebljavati zdravstveno neispravne namirnice. Mnogo je činitelja koji utječu na kakvoću prehrambenih proizvoda: podrijetlo i kakvoća sirovina, tehnologija proizvodnje, način pakiranja i skladištenja. Također

kakvoća prehrane ovisi o načinu priprave obroka, o kakvoći upotrijebljenih namirnica, o dobnoj pripadnosti potrošača.[2]

Veliki utjecaj na odnos prema različitim namirnicama ili načinu prehrane imaju pripadnost različitim narodima, društvenima klasama, religijama i tradicijama. Te pripadnosti imaju razvijene sklonosti ili odbojnosti u odnosu prema različitim namirnicama ili načinu prehrane. Naše sklonosti ukorijenjene su u kulturnim pripadnostima, te u geografskim, klimatskim i vjerskim činiteljima. Sklonosti prema određenoj hrani ili jelu oblikuju se od rođenja u društvu obitelji. Stečene prehrambene navike vrlo se teško mijenjaju i postupno utječu na nasljedna svojstva budućih generacija. Pojedine bolesti i duljina životnog doba nije jednako rasprostranjena u različitim krajevima svijeta. Ako se rasprostranjenost neke bolesti podudara s određenim načinom prehrane vrlo je vjerojatna veza između prehrane i bolesti. Suvremeni način života te mijenjanje životne sredine dovodi do mijenjanja prehrambenih navika.[2]

Suvremeni način života, koji je brz, uvjetuje da čovjek ima manje vremena za pripremu namirnica za obrok. Stoga se sve više traži, a na tržištu nudi hrana koju je lako i brzo pripremiti, koja je praktična i štedi vrijeme. Kod mlađe populacije je popularna brza hrana (*eng. fast food*) i finger food. To je hrana koja štedi vrijeme, te se većinom jede prstima bez potrebe za priborom za jelo.[1]

Kronične bolesti ili bolesti životnog stila postale su jedan od najvećih zdravstvenih problema u razvijenim zemljama. Tjelesna neaktivnost i nepravilna prehrana su jedni od vodećih faktora koji uzrokuju pretilost. Zbog povećanja broja oboljelih od pretilosti ona se već smatra epidemijom. Prema podacima WHO-a broj pretilih ljudi u 2014. godini se popeo na 2 milijarde, a smatra se da će ih do 2025. biti preko 2,6 milijardi.[1]

„Do pretilosti dolazi zbog energetskog disbalansa, odnosno povećanog unosa visokokalorične hrane s puno masti i rafiniranih šećera, pri čemu se uz smanjenu tjelesnu aktivnost stvara višak energije koji se potom u tijelu pohranjuje kao mast.[1]

Anoreksija nervosa je vrlo teški psihijatrijski poremećaj s najčešće fatalnim ishodom. Ulazi u kategoriju poremećaja hranjenja, odnosno izgladnjivanja uzrokovanog najčešće strahom od debljanja. Osoba gubi apetit. Pojavljuje se u djevojaka od 17 godina, a praćena je depresijama i drugim psihičkim poremećajima.“[1]

Danas u svijetu se pojavljuju sve veće skupine potrošača “zdrave hrane”. Na takav način uzgojena hrana najčešće se proizvodi u malim količinama i na ograničenim površinama. Takva hrana je skupa i nedostupna većini potrošača. Hrana uzgojena u kontroliranim tehnološkim procesima prerade zajamčeno je zdravstveno ispravna te omogućuje veći broj potrošača kojima je dostupna.

Nepravilna prehrana s previše masnoća,alkohola i soli, te premalo voća i povrća veći je rizik za zdravlje. Bitno je kako se namirnice konzumiraju u kojim količinama i odnosima.[2]

Principi pravilne prehrane su: uravnoteženost, raznolikost i umjerenost. Unosom raznolikih namirnica iz različitih skupina namirnica prilagođavamo potrošnju energije i njezin unos, te ograničavamo unos namirnica koje imaju negativne učinke na naše zdravlje (sol, šećer, alkohol).[1]

2.2. Biološki aktivne komponente hrane – fenolni spojevi

U današnje doba ljudi sve više konzumiraju hranu zbog sastojaka koji se u njoj nalaze u malim količinama, a koji na zdravlje mogu imati povoljan utjecaj. Ti sastojci su biološki aktivne komponente hrane. Kvaliteta ovih sastojaka ovisi o tome koliko mogu neutralizirati štetne tvari u ljudskom organizmu tijekom svoje biološke aktivnosti.
Biološki aktivne komponente međusobno se razlikuju po kemijskoj strukturi i po funkciji u organizmu. U biološki aktivne komponente spadaju vitamini i minerali, fenolni spojevi, enzimi, tanini, flavonoidi, fitosteroli i dr. Unošenjem u odgovarajućim količinama ove sastojke u organizam oni mogu utjecati povoljno na zdravlje. Mogu da utječu na tokove prevencije i tokove liječenja mnogih bolesti, na suvremene bolesti, raka,bolesti koje su uzrokovane povećanjem ili manjkom nutrijenata u ishrani. Najvećim dijelom biološki aktivne tvari nalaze se u biljkama kao što su voće, povrće i žitarice. Hrana se sastoji od velikog broja poznatih i nepoznatih prirodnih biološki aktivnih sastojaka, koji mogu pridonijeti unapređenju zdravlja. Biološki aktivni sastojci u hrani najčešće se definiraju kao prirodni nenutritivni sastojci hrane koji mogu imati povoljne učinke na zdravlje ako se konzumiraju u adekvatnim količinama. Također biološka aktivnost se može odnositi i na štetne učinke po zdravlje, a tada je to toksičnost tih sastojaka. Pojam biološki aktivni sastojci hrane odnosi se na spojeve koji nemaju nutritivnu vrijednost nego djeluju kao pomoćna sredstva u sprječavanju i liječenju bolesti. Brojne biljne vrste sadrže tvari koje imaju utjecaja na ljudsko zdravlje. Najčešće biološki aktivne komponente u voću i povrću su: likopen u lubenici i rajčici, beta karoten u mrkvi, alicin u češnjaku, antocijan u borovnici. Ovi spojevi imaju značajnu ulogu u prehrani zbog svoje izražene zaštitne funkcije i zbog toga se ne svrstavaju u nutrijente.

Definicija ADA (američka dijabetička asocijacija) glasi da: *“ biološki aktivni sastojci hrane su fiziološki aktivni sastojci u hrani ili dodacima u prehrani koji potječu iz biljnih i životinjskih izvora, a uključuju i nutritivne sastojke koji su pokazali da imaju korisnu ulogu u sprječavanju bolesti i očuvanja zdravlja.“*
Mnoge kliničke studije pokazale su da pojedine komponente iz hrane imaju potencijal u smanjenju rizika od nekih bolesti: karcinoma, osteoporoze, bolesti probavnog sustava.
Biološki aktivni spojevi hrane prema podrijetlu mogu biti: biljnog, životinjskog i iz mikroorganizama. Biljnog podrijetla su: karotenoidi, polifenoli, flavonoidi, životinjskog

su: kolostrum, probiotici, protein sirutke, podrijetlom iz mikroorganizama su funkcionalne mikrobne kulture. Raznolikom prehranom osiguravamo prisustvo ovih po zdravlje korisnih spojeva, te se tako osigurava unos i ostalih korisnih spojeva za funkcioniranje organizma (vitamini, minerali, vlakna).

Različite vrste hrane utječu na različite sustave u ljudskom organizmu, a jedan od najjedinstvenijih sastojaka hrane su antioksidansi: vitamin C, zatim karotenoidi, flavonoidi, polifenoli.

U svježem voću i povrću značajno je prisustvo fenolnih kiselina, koje mogu biti jaki antioksidansi. [3]

Tablica 1: Fenolne kiseline u voću i povrću[4]

R.br	Naziv kiseline	Voće i povrće koje sadrži fenolne kiseline
1	Elaginska kiselina	Orasi, jagode, kupina, guava, grožđe
2	Galna	Mango, jagoda, soja
3	Salicilna	Pepermint, kikiriki
4	Taninska	Kopriva, čaj, jagodasto voće
5	Vanilin	Vanila, karanfilić
6	Capsaicin	Paprika, čili
7	Curcumin	Kari, slačica-senf

Fenolni spojevi su sekundarni biljni metaboliti prisutni u svim biljnim tkivima. Prema osnovnoj kemijskoj strukturi dijele se na: fenolne kiseline i flavonoide.

Fenolne kiseline su velika grupa fenolnih spojeva, koja se uglavnom nalaze u hrani biljnog podrijetla. Obavljaju različite funkcije u biljkama kao što je sinteza proteina, aktivnost enzima i fotosinteza. Fenolne kiseline se dijele na derivate cimetne i hidroksibenzojeve kiseline. Najzastupljeniji hidroksi derivati benzojeve kiseline su: p-hidroksibenzojeva, vanilinska, galna i elaginska kiselina.

Fenolne kiseline zbog svoje sposobnosti da predaju vodik ili elektron su antioksidanti. Također sprječavaju oksidaciju različitih komponenti (masne kiseline i ulja) svojim stabilnim radikalima. Hidroksi derivati benzojeve i cimetne kiseline prisutni su u hrani

biljnog podrijetla (voće, povrće, žitarice). Nalaze se u svim dijelovima biljaka: sjeme, korijen, lišće, stabljika. Različite koncentracije fenolnih kiselina se nalaze u različitim dijelovima biljaka i u različitim stadijima razvoja biljaka. Na koncentraciju fenolnih kiselina utječe temperatura tijekom razvoja biljke. Većina fenolnih kiselina je vezana esterskom ili acetatnom vezom sa strukturnim komponentama biljke: celulozom, proteinima; ili s manjim organskim molekulama: glukoza, vinska i kvinska kiselina, dok se manji dio nalazi u slobodnom obliku.

Hidroksibenzojeva kiselina pronađena je samo u nekim višim biljkama, kao što su bobičasto voće, rotkvica i luk, a cimetna je pronađena u svim dijelovima voća, a najveći sadržaj se nalazi u vanjskom omotaču zrelog ploda.[5]

Flavonoidi su građeni od dva benzenska prstena povezana piranskim prstenom koji sadrži kisik. Mogu se povezivati s monosaharidima ili polisaharidima i tvoriti glikozide ili funkcionalne derivate (estere i metil estere). Prema topljivosti dijele se na lipofilne i hidrofilne flavonoide. Nalaze se u voću, povrću, mahunarkama, žitaricama, orašastim plodovima, ljekovitom bilju, začinima i piću (pivo, vino, čaj). Flavonoidi se mogu podijeliti u 13 različitih skupina, a najpoznatije su flavoni, flavonoli, flavanoni, izoflavoni i antocijanini.

Glavna funkcija fenolnih spojeva prisutnih u voću, povrću i žitaricama je smanjenje štetnih učinaka oksidativnog stresa. Iako se sintetiziraju u biljkama, nemaju ulogu u rastu i razvoju. Flavonoidi (kvercetin, miricetin i kemferol) i flavoni (apigenin, luteolin) pokazuju antioksidacijska i antitumorska svojstva, koriste se kao antibiotici i u liječenju mnogih bolesti kao što su hipertenzija, vaskularne bolesti, te kod alergija i upalnih procesa. Flavonoidi mogu inhibirati enzime kao što su prostaglandini, lipoksigenaze i ciklooksigenaze, te enzime vezane za tumorogenezu. Antocijanini bojom privlače insekte za oprašivanje, te štite stanice od štetnih oksidacijskih spojeva.[6]

2.2.1. Borovnica

Borovnica je biljka iz porodice *Vaccinium*. To je maleni, višegodišnji grm koji naraste 10-60 cm. Listopadna biljka kojoj listovi izbijaju krajem travnja i početkom svibnja, a opadaju krajem rujna do listopada. Cvjeta u blijedorozim mnogobrojnim cvjetovima u svibnju i lipnju. Dozrijevanje plodova traje od kraja svibnja do srpnja. Plod borovnice je okrugla bobica promjera 5-10 mm, tamno plave boje koji je prekriven voštanim slojem.[7]

Najpoznatije su 2 vrste borovnica:

- Šumska borovnica (*lat. Vaccinium myrtillus*)- najviše raste u borovim, smrekovim i bukovim šumama. U Hrvatskoj je najzastupljenija u Gorskom Kotaru i na Velebitu.
- Američka borovnica (*lat. Vaccinium corymbosum*)- raste u Sjevernoj Americi po čemu je i dobila ime. Za razliku od šumske borovnice ona raste i do 2 metra.[8]

Kemijski sastojci plodova borovnice su: šećer, tanini, vitamin B i C. Plod sadrži mirtilin od kojeg potječe boja ploda, te organske kiseline: limunska, jabučna, benzojeva.[7]

Krije ljekovita svojstva jer je odličan izvor flavonoida, posebno antocijana kojima ima dobra antioksidativna svojstva. Obiluju vitaminom B2, C i E.
Borovnica je ljekovita biljka s ukusnim plodovima koji se osim u kulinarstvu koristi i u medicinske svrhe. U medicinske svrhe koriste se listovi, bobice i korijenje borovnice. Postoji više načina pripreme,a najčešće se koristi za pripravu čajeva i sokova. Kao narodni lijek listovi se koriste za liječenje šećerne bolesti,a bobice za dijareju. U vanjskoj primjeni koriste se protiv infekcije usta i gornjih dišnih puteva, kožnih bolesti i opekotina.[9]



Slika 1. Borovnica (lat.Vaccinium)

Tablica 2: Nutritivni sastav borovnice[7]

Jestivi dio borovnice (100 g)	
energetska vrijednost	56 kcal
voda	84,6 g
proteini	0,7 g
ukupne masti	0,4 g
ugljikohidrati	14,2 g
vlakna	2,7 g

Minerali	Vitamini
Kalcij 6 mg	Vitamin C 13 mg
Željezo 0,17 mg	Tijamin 0,048 mg
Magnezij 5 mg	Riboflavin 0,05 mg
Fosfor 10 mg	Nijacin 0,36 mg
Kalij 89 mg	
Natrij 6 mg	

2.3. Karcinom – bolest suvremenog doba

Jedan od najvećih zdravstvenih problema suvremenog doba su zloćudne bolesti. U zadnjih nekoliko desetljeća sve veća se važnost pridaje u otkrivanju mehanizama nastanka zloćudnih bolesti te poboljšanju dijagnostičkih mogućnosti. Veće šanse za izlječenje raka je rano otkrivanje, no mnoge vrste raka se otkrivaju tek kada metastaziraju po cijelome tijelu.

Tumor nastaje abnormalnim i nekontroliranim rastom stanica zbog nakupljanja specifičnih genetskih i epigenetskih nedostataka, mogu nastati utjecajem okoliša ili nasljednih osobina. Nekontrolirani rast stanica uzrokuje formiranje tumorske mase koja vremenom postaje neovisna. Tumorske stanice, u suštini postaju otporne na apoptozu (programirana smrt stanice) i druge antirastuće faktore.

Dva glavna mehanizma tumorogeneze su aktiviranje onkogena, gena koji snažno aktiviraju proces umnožavanja stanica tako da može nastati jedan tumor, i inaktiviranje tumor supresor gena (TSG), gen čiji gubitak funkcije rezultira razvitkom tumora. Aktivacija onkogena javlja se kroz mutaciju ili duplikaciju "normalnog" gena, proto-onkogena, uključenog u regulaciju rasta stanice. To obično rezultira aktivacijom ili povećanjem razine normalnog gena što dovodi do deregulacije staničnog rasta, povećanja stanične diobe i stvaranja tumora.[10]

Karcinom se smatra preventivno izlječivom bolešću. Mnoge studije pokazuju da polifenolni antioksidansi , kao što su flavonoidi u borovnici, te antioksidansi iz svježeg voća i povrća smanjuju rizik od nastanka raka. Flavonoidi djeluju na veliki broj regulacijskih mehanizama u organizmu kao što su regulacija rasta, dioba stanica, apoptoza, transkripcija,popravak gena, energija metabolizma, upale i odgovori na stres.[11]

Postoje dvije vrste tumora: benign i maligni tumor.

- Benigni ili dobroćudni tumor u principu ne ugrožavaju ljudski život,osim ako svojim rastom ne ugrožavaju neki vitalni organ. Benigni tumori ne daju metastaze nego svojim rastom potiskuju zdravo tkivo i mogu uzrokovati bolove. Uklanjaju se operativnim zahvatom.

- Maligni ili zloćudni tumor je vrsta tumora koja ugrožava život čovjeka. Prilikom širenja urasta u zdravo tkivo te ga razara, a putem limfe ili krvi može metastazirati u udaljenim organima. Tri su glavne karakteristike malignog tumora:
  Hiperplazija –povećan broj stanica koje se dijele
  Invazija tumora u susjedna tkiva
  Metastaziranje – prodiranje tumorskih stanica u ostale dijelove tijela

Metastaziranje je širenje bolesti iz jednog dijela tijela u drugi s kojim nije izravno povezan putem krvi i limfe. Metastazu razvijaju samo najmalignije tumorske stanice. To su stanice koje mogu preživjeti sve faze metastatskog procesa: prodor kroz bazalnu membranu, ulazak u krvnu žilu, preživljavanje u krvotoku, izlazak iz krvne žile i početak diobe kojom nastaje sama metastaza.[10]
Većina tumora, ukoliko se ne liječe, izaziva smrt. Uz bolesti srca i krvnih žila zloćudne bolesti su jedan od najvećih problema današnjice, među vodećim su uzrocima smrti u svijetu. U svijetu svake godine od raka oboli 11, a umre blizu 8 milijuna ljudi. U Hrvatskoj godišnje oboli 25 000 ljudi, a umire 12.500. S rakom u svijetu živi čak 25 milijuna ljudi.
Po broju oboljelih u Hrvatskoj, rak je treća bolest. U EU, prema statističkim podacima, Hrvatska je na drugom mjestu po broju smrtnosti od raka, zbog starosti populacije te kasnijeg otkrivanja raka. [12]

Faktore rizika za nastanak raka dijelimo u dvije skupine:
Genski faktori-nasljeđivanje-pospješuju nastanak određenih vrsta raka: rak dojke, jajnika, debelog crijeva
Faktori okoliša-mnoge vrste raka prouzrokovane su našim načinom života, prehrambenim navikama i okolinom
Po Međunarodnoj agenciji za istraživanje raka glavni uzroci nastajanja raka su:

- Nepravilna i nezdrava prehrana
- Pušenje
- Kancerogena industrija
- Virusne infekcije
- Mutacije

- Alkohol
- UV zračenje[12]

3.0 MATERIJALI I METODE

3.1. Priprema uzoraka

U istraživanju su korišteni uzorci plodova kultivirane borovnice koji su nabavljeni na tržnici u Splitu. Uzorci su raspodijeljeni u tri grupe: jedna skupina plodova koja se koristila kao uzorak borovnice u svježem stanju (korištena je odmah nakon nabavke na način da je ekstrahirana frakcija fenolnih spojeva koja je do daljnjih analiza pohranjena na temperaturi od – 20 °C). Druga grupa plodova odmah nakon nabavke je liofilizirana u uređaju Labconco, SAD (na Institutu za jadranske kulture i melioraciju krša u Splitu) pri temperaturi od – 55 °C. Nakon liofilizacije, uzorci su dodatno smrvljeni u prah iz kojih je dalje ekstrahirana frakcija fenola. Takvi uzorci mogu se čuvati na sobnoj temperaturi, s tim da se uzorcima dodaje vrećica silika gela da se ne skuplja vlaga. Treća grupa plodova je pohranjena na temperaturi od – 20 °C, do trenutka kada je u Laboratoriju za procesno-prehrambeno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu obrađena ultrazvučnim procesorom visokog intenziteta (model UP 400 S, proizvođač „dr. Hielscher“ GMBH, Tetlow, Njemačka). Karakteristike ovog ultrazvučnog procesora su: efektivna izlazna snaga – 400 W, 230 V strujnog napona, frekvencija ultrazvuka – 24 kHz, amplituda 12-260 μm. Ukupno 11 uzoraka smrvljenih plodova borovnice (kaša s kožicom ploda) obrađena je sondom pri čemu su korištene različite temperature tretmana, različita snaga te različito vrijeme trajanja postupka obrade.

Tablica 3. prikazuje eksperimentalni dizajn tretmana ultrazvukom visokog intenziteta (preuzeto iz diplomskog rada Zvonimira Mostarca, 2016).

Tablica 3: Dizajn tretmana uzoraka borovnice ultrazvukom visokog intenziteta

Uzorak	Amplituda (%)	Tretman vrijeme (min)	P (W)	T1 (°C)	T2 (°C)
A1	100	6	60	7	72
A2	50	6	37	10	50
A3	50	9	30	10	66
A4	100	9	52	12	78
A5	75	6	45	12	65
A6	50	3	45	15	45
A7	75	6	48	15	68
A8	75	3	57	17	45
A9	100	3	70	16	35
A10	75	6	47	19	50
A11	75	9	42	21	70

Ukupno 11 uzoraka smrvljenih plodova borovnice obrađeno je sondom pri čemu su korištene različite temperature tretmana, različita snaga te različito vrijeme trajanja postupka obrade.

P – Snaga (W)

T1 – Početna temperatura

T2 – Krajnja temperatura

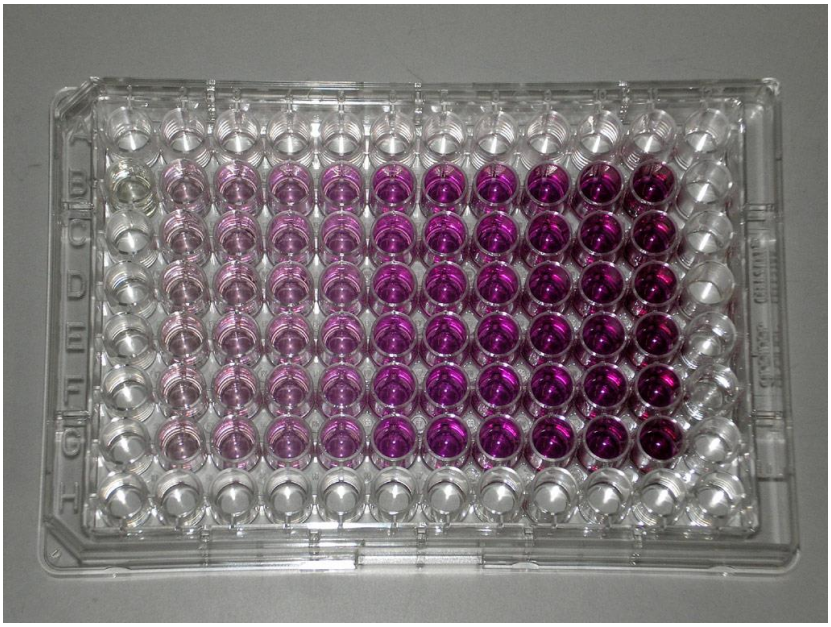
3.1.1. Određivanje antiproliferativne aktivnosti uzoraka

3.1.1.1. Stanična linija karcinoma

U radu su korištene dvije stanične linije karcinoma mokraćnog mjehura (T 24 i TCC SUP). Stanice su rasle i dijelile se u DMEM mediju (*Dulbecco's modified Eagle's medium*) koji je sadržavao 4,5 g/L glukoze , 10% FCS (*fetalcalf serum*) i 100 U/mL penicilina i 0,1 g/L streptomicina. Stanice su inkubirane na temperaturi od 37 °C uz 5% CO_2.

3.1.1.2. MTT test (određivanje antiproliferacijske aktivnosti)

Test određivanja antiproliferativne aktivnosti uzoraka borovnice na odabranim stanicama karcinoma mokraćnog mjehura proveden je koristeći MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide) reagens. Test se temelji na pretvorbi MTT-a u plavo obojeni formazan u prisutnosti živih i metabolički aktivnih stanica. Stanice su nasijane na pločice sa 96 jažica pri gustoći od 50 000 stanica po jažici. Stanice su brojane koristeći Neubauer komorice po mikroskopom (invertni binokularni, MIOTIC AE30). Korištena je sljedeća formula pri izračunu broja stanica: broj stanica $\times 10^4$/ml. Inkubirane su tijekom 24 h. Uzorci borovnice pripremljeni su u etanolu čija finalna koncentracija u mediju nije prelazila 0,5%. Stanice su tretirane različitim koncentracijama od 2,5 i 5 g/L uzorka tijekom perioda od 4h, 24h, 48h i 72h. Nakon toga je dodan svježi medij koji je sadržavao 1 gMTT/L i nakon toga su stanice inkubirane sljedećih pola sata. Potom je dodan jednaki volumen pufera (pH=4,7) s 10% SDS (natrijev-dodecil sulfat) (w/v) i 0,6% octene kiseline u DMSO (dimetil sulfoksid) otapalu i to je ostavljeno preko noći na inkubaciju. Stupanj tvorbe formazana mjeren je spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 560 nm, a rezultati su izraženi u odnosu na kontrolu (stanice s medijem bez uzorka) (100%). Eksperiment je proveden u tri ponavljanja. Postotak živih stanica izračunat je prema sljedećoj formuli: (ABS uzorka / ABS kontrole) × 100



Slika 2. Pločice sa jažicama

4.0 REZULTATI

U tablici 4 prikazani su podaci za apsorbancije za staničnu liniju T24

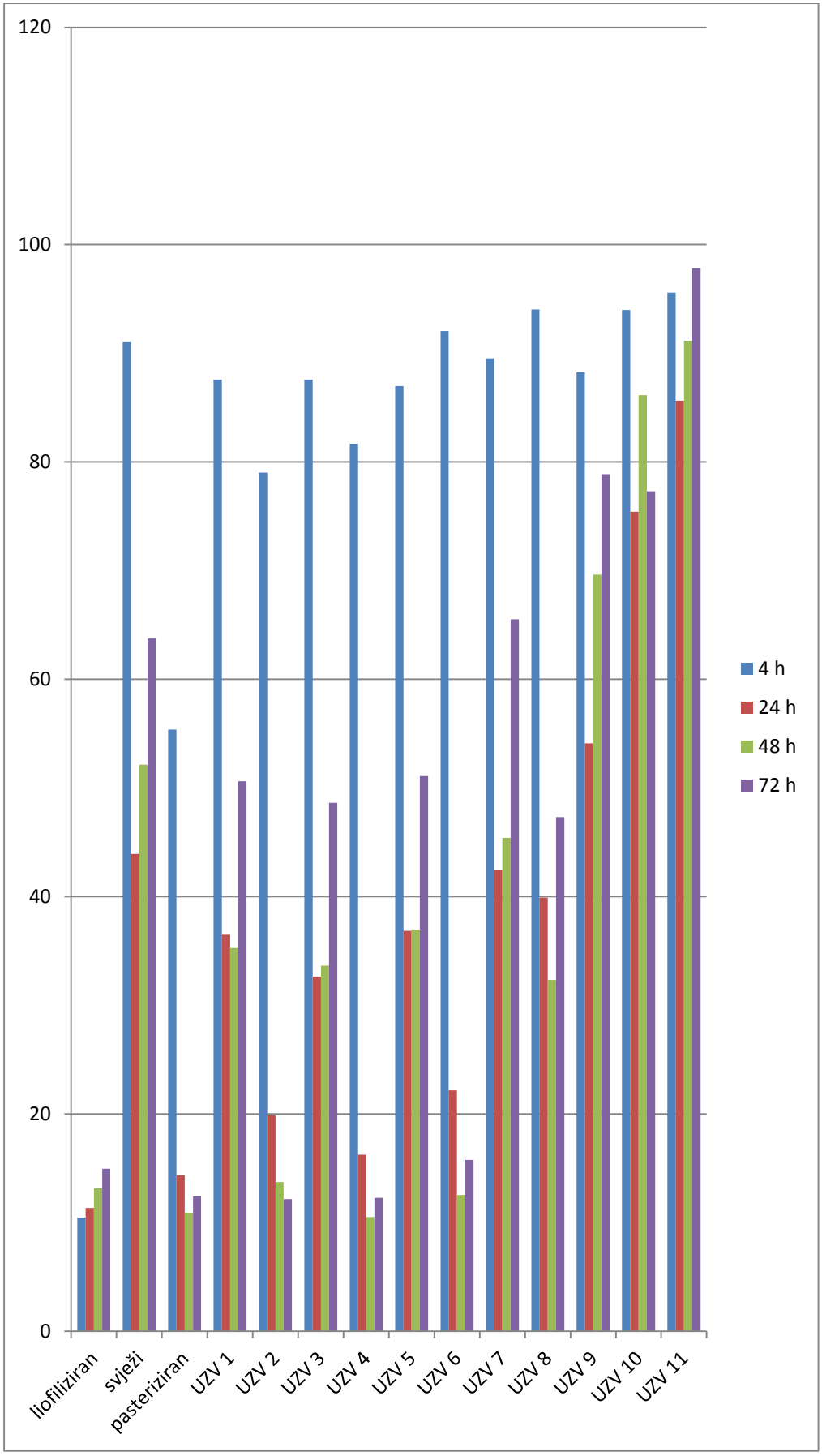
Tablica 4. Podaci za absorbancije za uzorke fenolnih ekstrakata borovnice za koncentraciju od 5 g/L.

5g/L				
	4h	24h	48h	72h
liofiliziran	0,110109	0,11923	0,138438	0,157088
svježi	0,955861	0,46125	0,547518	0,669629
pasteriziran	0,581554	0,150911	0,1144	0,130715
UZV 1	0,919791	0,38324	0,370354	0,531461
UZV 2	0,829932	0,208823	0,144224	0,127849
UZV 3	0,919791	0,342701	0,353439	0,510821
UZV 4	0,857776	0,170669	0,110394	0,128995
UZV 5	0,913463	0,386987	0,388159	0,53662
UZV 6	0,966619	0,23301	0,131761	0,165687
UZV 7	0,940358	0,446261	0,476742	0,687975
UZV 8	0,987502	0,419009	0,339639	0,497062
UZV 9	0,926752	0,568217	0,73136	0,828436
UZV 10	0,986869	0,792029	0,904518	0,81181
UZV 11	1,003639	0,899336	0,957044	1,027376

Tablica 5 prikazuje postotke živih stanica (%) za staničnu liniju T24. Za izračun postotka korištene su apsorbancije prikazane u Tablici 4. Apsorbancija kontrole iznosi 1,05. Postotak živih stanica izračunat je prema sljedećoj formuli: (ABS uzorka / ABS kontrole) × 100

Tablica 5. Koncentracija 5 g/L

	4h	24h	48h	72h
liofilizirani	10,48	11,35	13,18	14,96
svježi	91,03	43,92	52,14	63,77
pasteriziran	55,38	14,37	10,89	12,44
UZV 1	87,59	36,49	35,27	50,61
UZV 2	79,04	19,88	13,74	12,17
UZV 3	87,59	32,64	33,66	48,64
UZV 4	81,69	16,25	10,51	12,28
UZV 5	86,99	36,85	36,96	51,1
UZV 6	92,05	22,19	12,54	15,77
UZV 7	89,55	42,5	45,4	65,52
UZV 8	94,04	39,9	32,34	47,33
UZV 9	88,26	54,11	69,65	78,89
UZV 10	93,98	75,43	86,14	77,31
UZV 11	95,58	85,65	91,14	97,84



Slika 3. Postotak živih stanica pri koncentraciji 5g/L

U tablici 6 prikazani su podaci za apsorbancije za staničnu liniju T24

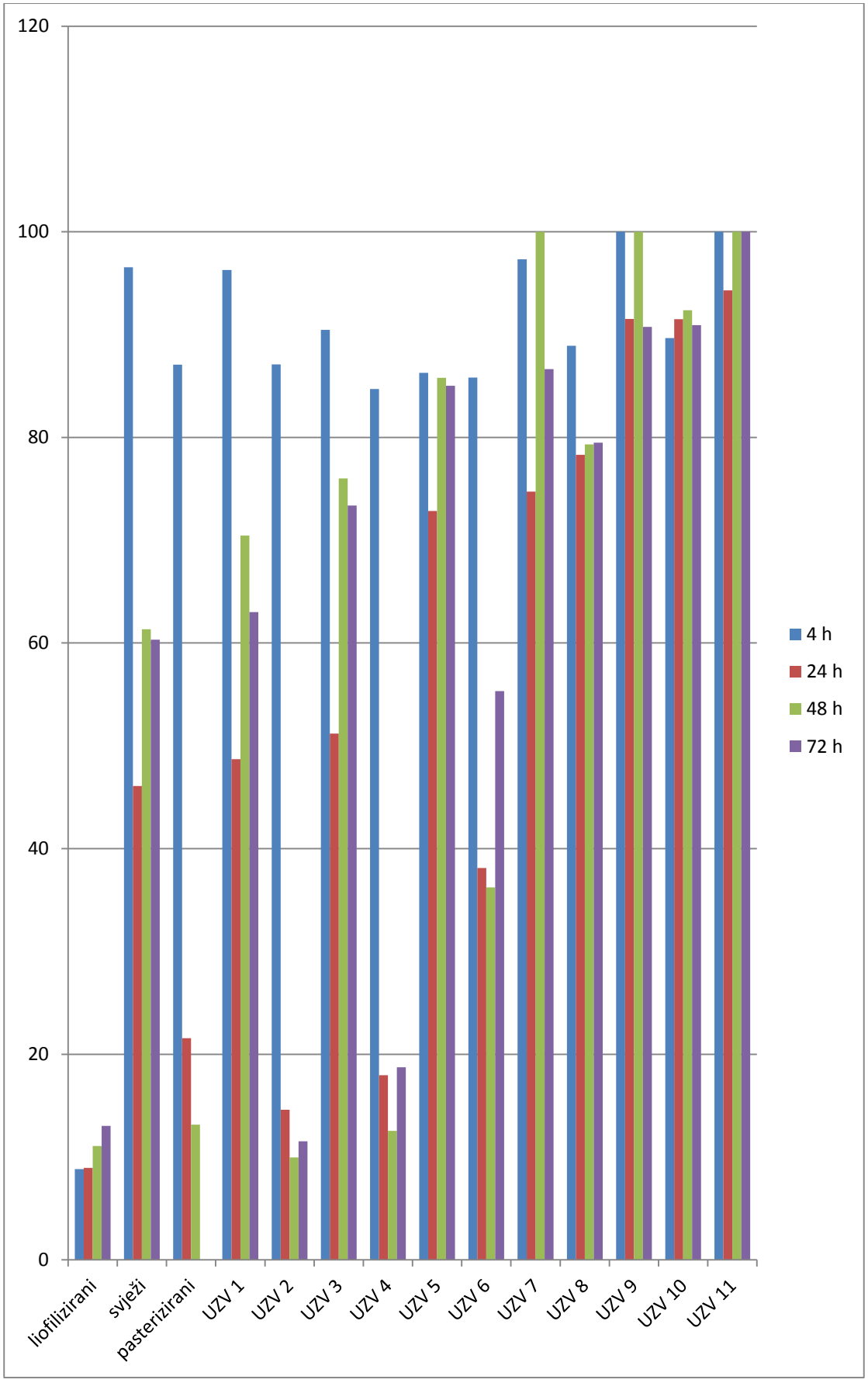
Tablica 6. Podaci za absorbancije za uzorke fenolnih ekstrakata borovnice za koncentraciju od 2,5 g/L.

2,5g/L				
	4h	24h	48h	72h
liofiliziran	0,092707	0,094021	0,116181	0,137022
svježi	1,013764	0,484074	0,644113	0,63351
pasteriziran	0,914412	0,226537	0,137992	0,133582
UZV 1	1,010916	0,511327	0,739817	0,661602
UZV 2	0,914729	0,153296	0,104607	0,120969
UZV 3	0,94985	0,537557	0,79813	0,770532
UZV 4	0,889416	0,188724	0,131761	0,196646
UZV 5	0,905869	0,764776	0,900957	0,892647
UZV 6	0,901123	0,400273	0,380592	0,580765
UZV 7	1,02199	0,784534	1,069219	0,909847
UZV 8	0,933713	0,822347	0,832851	0,834743
UZV 9	1,07483	0,960995	1,247274	0,952845
UZV 10	0,941623	0,960654	0,969953	0,954565
UZV 11	1,077045	0,990291	1,328288	1,221729

Tablica 7 prikazuje postotke živih stanica (%) za staničnu liniju T24. Za izračun postotka korištene su apsorbancije prikazane u Tablici 6. Apsorbancija kontrole iznosi 1,05. Postotak živih stanica izračunat je prema sljedećoj formuli: (ABS uzorka / ABS kontrole) × 100

Tablica 7. Koncentracija 2,5 g/L

	4h	24h	48h	72h
liofiliziran	8,83	8,95	11,06	13,04
svježi	96,54	46,1	61,34	60,33
pasterizirani	87,08	21,57	13,14	12,72
UZV 1	96,27	48,69	70,45	63
UZV 2	87,11	14,59	9,96	11,52
UZV 3	90,46	51,19	76,01	73,38
UZV 4	84,7	17,97	12,55	18,73
UZV 5	86,27	72,83	85,8	85,01
UZV 6	85,82	38,12	36,24	55,31
UZV 7	97,33	74,72	100	86,65
UZV 8	88,92	78,31	79,32	79,49
UZV 9	100	91,52	100	90,74
UZV 10	89,67	91,49	92,37	90,91
UZV 11	100	94,31	100	100



Slika 4. Postotak živih stanica pri koncentraciji 2,5 g/L

Tablica 8 prikazuje podatke za apsorbancije za staničnu liniju TCC SUP

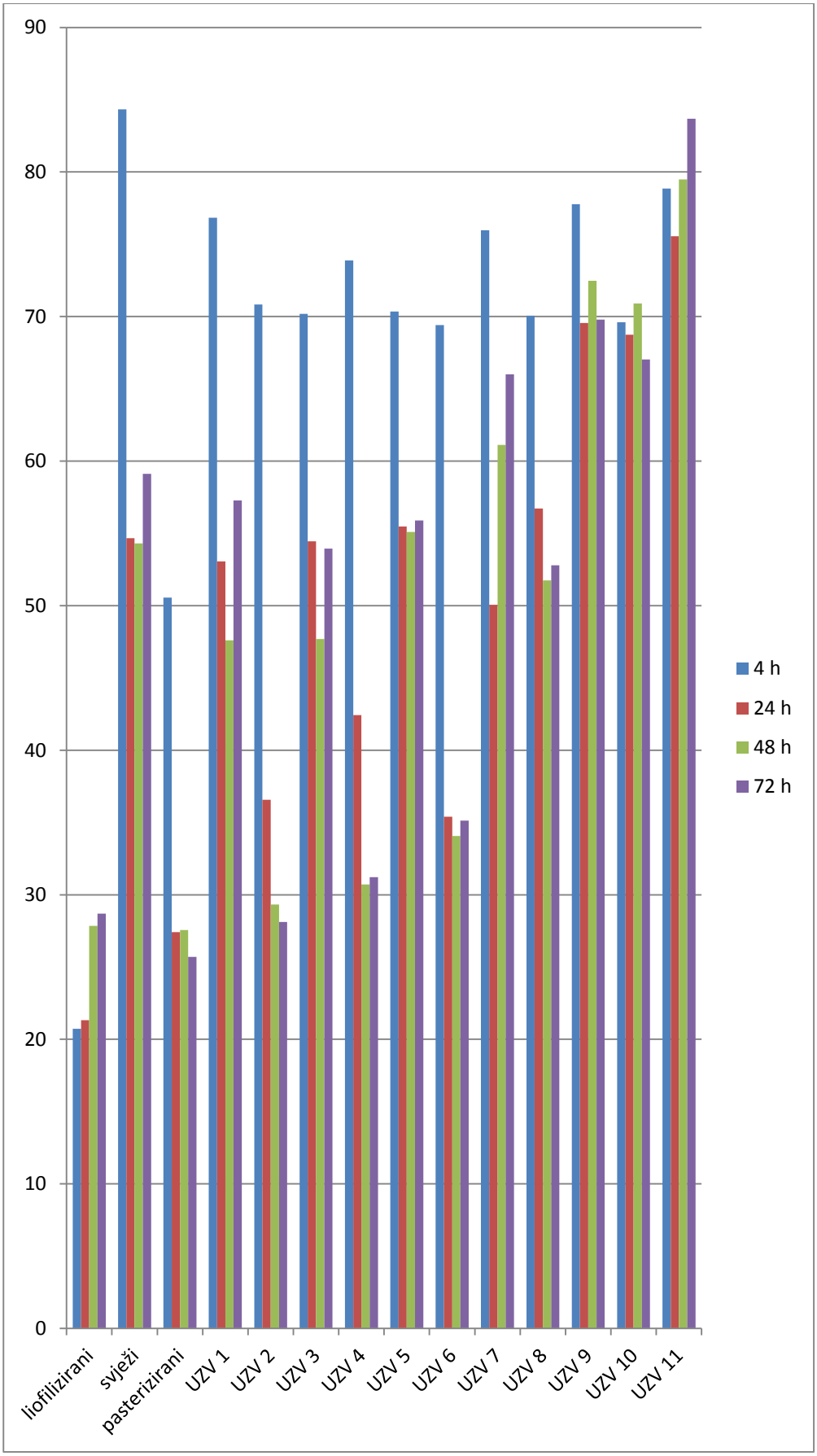
Tablica 8. Podaci za absorbancije za uzorke fenolnih ekstrakata borovnice za koncentraciju od 5 g/L.

5g/L				
	4h	24h	48h	72h
liofiliziran	0,254941	0,262339	0,342545	0,352983
svježi	1,037531	0,672526	0,668084	0,727144
pasteriziran	0,621808	0,337165	0,338901	0,316273
UZV 1	0,945148	0,652693	0,585484	0,704553
UZV 2	0,871419	0,449854	0,360765	0,345923
UZV 3	0,863424	0,669822	0,586699	0,663607
UZV 4	0,908728	0,521974	0,377771	0,384045
UZV 5	0,865201	0,682443	0,677801	0,68761
UZV 6	0,853653	0,435429	0,419071	0,432051
UZV 7	0,934488	0,615731	0,751898	0,81186
UZV 8	0,861648	0,697769	0,636502	0,649488
UZV 9	0,956696	0,855533	0,891588	0,858454
UZV 10	0,856318	0,845616	0,872153	0,824568
UZV 11	0,97002	0,929457	0,977832	1,029298

Tablica 9 prikazuje postotke živih stanica (%) za staničnu liniju TCC SUP. Za izračun postotka korištene su apsorbancije prikazane u Tablici 8. Apsorbancija kontrole iznosi 1,23. Postotak živih stanica izračunat je prema sljedećoj formuli: (ABS uzorka / ABS kontrole) × 100

Tablica 9. Koncentracija 5 g/L

	4h	24h	48h	72h
liofiliziran	20,72	21,32	27,84	28,69
svježi	84,33	54,67	54,31	59,11
pasteriziran	50,55	27,41	27,55	25,71
UZV 1	76,84	53,06	47,6	57,28
UZV 2	70,84	36,57	29,33	28,12
UZV 3	70,19	54,45	47,69	53,95
UZV 4	73,88	42,43	30,71	31,22
UZV 5	70,34	55,48	55,1	55,9
UZV 6	69,4	35,4	34,07	35,12
UZV 7	75,97	50,05	61,12	66
UZV 8	70,05	56,72	51,74	52,8
UZV 9	77,78	69,55	72,48	69,79
UZV 10	69,61	68,74	70,9	67,03
UZV 11	78,86	75,56	79,49	83,68



Slika 5. Postotak živih stanica pri koncentraciji 5 g/

Tablica 10 prikazuje podatke za apsorbancije za staničnu liniju TCC SUP

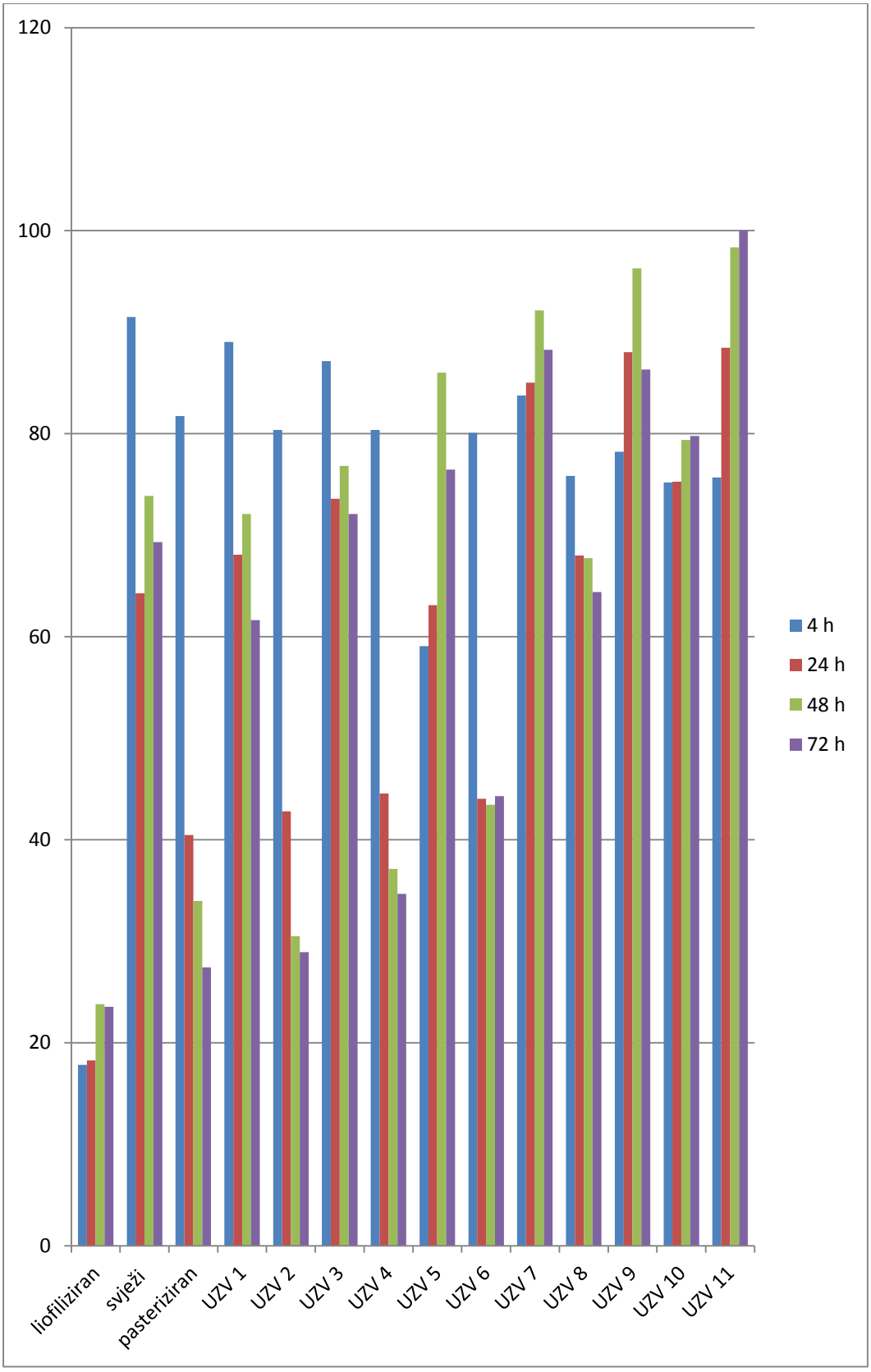
Tablica 10. Podaci za absorbancije za uzorke fenolnih ekstrakata borovnice za koncentraciju od 2,5 g/L.

2,5g/L				
	4h	24h	48h	72h
liofiliziran	0,219409	0,224476	0,292742	0,289446
svježi	1,125472	0,790624	0,908594	0,852806
pasteriziran	1,005552	0,497634	0,417856	0,337451
UZV 1	1,09527	0,837503	0,886729	0,758207
UZV 2	0,988674	0,526482	0,375342	0,355807
UZV 3	1,072174	0,905116	0,945035	0,886693
UZV 4	0,988674	0,548118	0,456726	0,426403
UZV 5	0,726627	0,7762	1,058002	0,940346
UZV 6	0,985121	0,541808	0,534467	0,545005
UZV 7	1,030424	1,045752	1,133313	1,085775
UZV 8	0,932712	0,836601	0,833283	0,792093
UZV 9	0,962025	1,082714	1,18433	1,061772
UZV 10	0,924717	0,925851	0,976617	0,981292
UZV 11	0,930935	1,088123	1,209839	1,284857

Tablica 11 prikazuje postotke živih stanica (%) za staničnu liniju TCC SUP. Za izračun postotka korištene su apsorbancije prikazane u Tablici 10. Apsorbancija kontrole iznosi 1,23. Postotak živih stanica izračunat je prema sljedećoj formuli: (ABS uzorka / ABS kontrole) × 100

Tablica 11. Koncentracija 2,5 g/L

liofiliziran	17,83	18,25	23,8	23,53
svježi	91,5	64,27	73,86	69,33
pasteriziran	81,75	40,45	33,97	27,43
UZV 1	89,04	68,08	72,09	61,64
UZV 2	80,38	42,8	30,51	28,92
UZV 3	87,16	73,58	76,83	72,08
UZV 4	80,38	44,56	37,13	34,66
UZV 5	59,07	63,1	86,01	76,45
UZV 6	80,09	44,04	43,45	44,3
UZV 7	83,77	85,02	92,13	88,27
UZV 8	75,83	68,01	67,74	64,39
UZV 9	78,21	88,02	96,28	86,32
UZV 10	75,18	75,27	79,39	79,77
UZV 11	75,68	88,46	98,36	100



Slika 6. Postotak živih stanica pri koncentraciji 2,5 gL

5.0 RASPRAVA

U ovom radu prikazani su rezultati antiproliferativnog učinka fenolnih ekstrakata borovnice (lat. *Vaccinium)* na dvije stanične linije karcinoma mokraćnog mjehura (stanične linije T24 i TCC SUP).

Rezultati antiproliferativne aktivnosti fenolnih ekstrakata borovnice prikazani su tablicama 5 i 7, te slikama 3 i 4 za staničnu liniju T24. Za staničnu liniju TCC SUP rezultati antiproliferativne aktivnosti fenolnih ekstrkata prikazani su tablicama 9 i 11, te slikama 5 i 6.
Uspoređujući rezultate na grafu, uočavamo drugačiji trend antiproliferativne aktivnosti fenolnih ekstrakata kod stanica karcinoma mokraćnog mjehura.

Za staničnu liniju T24 nakon 4 h inkubacije na stanicama karcinoma najbolju aktivnost pokazao je liofilizirani uzorak pri koncentraciji 2,5 g/L. Nakon 24 h inkubacije na stanice karcinoma mokraćnog mjehura uzorak UZV 2 pri koncentraciji 5 g/L i pasterizirani uzorak pri koncentraciji 2,5 g/L povećavaju svoju antiproliferativnu aktivnost i nastavljaju pozitivan učinak sve do perioda inkubacije 72 h. Uzorak UZV 11 pri obje koncentracije (2,5 i 5 g/L) na staničnoj liniji T24 pokazao je vrlo nisku antiproliferativnu aktivnost kroz sva četiri perioda inkubacije.

Za staničnu liniju TCC SUP nakon 4 h inkubacije na stanicama karcinoma najbolju aktivnost pokazao je liofilizirani uzorak pri koncentraciji 2,5 g/L. Svoju antiproliferativnu aktivnost nakon 24 h inkubacije povećavaju uzorak UZV 2 pri konc. 5 g/L, a pri konc. 2,5 g/L pasterizirani i UZV 2 uzorak, te nastavljaju pozitivan učinak sve do perioda inkubacije 72 h. Kao i kod stanične linije T24 tako je i kod stanične linije TCC SUP uzorak UZV 11 pokazao vrlo nisku antiproliferativnu aktivnost kroz sva četiri perioda inkubacije pri obje koncentracije (5 i 2,5 g/L).

6.0 ZAKLJUČAK

Rezultati eksperimentalnog određivanja antiproliferativne aktivnosti fenolnih ekstrakata borovnice MTT testom pokazali su ovisnost antiproliferativne aktivnosti o vremenu inkubacije.

Svoju najslabiju antiproliferativnu aktivnost fenolnih ekstrakata borovnice pokazao je, kod obje stanične linije, uzorak UZV 11 kroz sva četiri perioda inkubacije.

Najbolju antiproliferativnu aktivnost fenolnih ekstrakata borovnice pokazao je liofilizirani uzorak pri 4 h inkubacije pri koncentraciji 2,5 g/L na staničnoj liniji T24. Iako mu je početna antiproliferativnost bila najveća u odnosu na ostale uzorke, on nije nastavio svoj pozitivan učin, s porastom vremena inkubacije povećavao se i postotak živih stanica. Povećanje postotka živih vrijednosti ostalo je na malim vrijednostima, tako da je taj liofilizirani uzorak pokazao svoju najveću antiproliferativnu aktivnost u odnosu na ostale uzorke.

7.0 LITERATURA

[1] Alibabić, V., Mujić, I., 2016: Pravilna prehrana i zdravlje, Veleučilište u Rijeci

[2] Matasović, D., 1992: Hrana, prehrana i zdravlje, FOVIS Zagreb

[3] Jašić, M., 2010: Uvod u biološki aktivne komponente hrane, Univerzitet u Tuzli Tehnološki fakultet, Tuzla

[4] Jašić, M., 2010: Aktivni sastojci – fitokemikalije, Univerzitet u Tuzli Tehnološki fakultet, Tuzla

[5]https://agroekonomija.wordpress.com/2011/01/18/fenolne-kiseline/ (pristupljeno 15.6.2017.)

[6] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiméenez, L., 2008: Polyphenols: food sources and bioavailability. http://ajcn.nutrition.org/content/79/5/727.full (pristupljeno 18.6. 2017.)

[7] https://bs.wikipedia.org/wiki/Borovnica (pristupljeno 25.8.2017.)

[8] http://www.plantea.com.hr/borovnica/ (pristupljeno 25.8.2017.)

[9] https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/borovnica-2/ (pristupljeno 25.8.2017.)

[10]http://imunoterapija.net/op%C4%87enito-o-tumorima.html (pristupljeno 30.8.2017.)

[11] Mehanizmi protutumorskog djelovanja flavonoida, Prirodoslovno-matematički fakultet Zagreb, Sveučilište u Zagrebu

[12] http://hlpr.hr/informacije-zdravka/vijest/pojavnost-i-smrtnost-od-zlocudnih-bolesti (pristupljeno 30.8.2017.)

(literatura, Zvonimir Mostarac, diplomski rad, 2016, BIOLOŠKA AKTIVNOST BOROVNICE NAKON RAZLIČITIH NAČINA OBRADE)