

ALICJA A. MIRECKA, JOANNA KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS, BARBARA WACHOWICZ

*Katedra Biochemii Ogólnej
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki
Pomorska 141/143, 90-236 Łódź
e-mail: joannak@biol.uni.lodz.pl*

KATECHINY – AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA I ROLA W PROFILAKTYCE CHOROÓB UKŁADU KRAŻENIA

WSTĘP

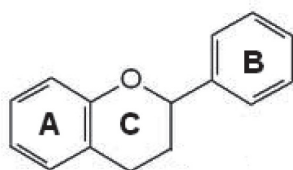
Patogeneza chorób układu sercowo-naczyniowego ma charakter wieloczynnikowy, wiadomo jednak, że głównymi czynnikami ryzyka zachorowania są: podwyższone stężenie cholesterolu, palenie papierosów, otyłość, cukrzyca oraz zwiększone stężenie homocysteiny w osoczu krwi. Istotne znaczenie mają też nieprawidłowości w diecie, w szczególności nadmierne spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych i cholesterolu, natomiast niewielkie witamin antyoksydacyjnych i błonnika (KUŻNICKI 2006). Ludzie odżywiają się zbyt kalorycznie, spożywają zbyt dużą ilość produktów o dużej zawartości cukru i tłuszczów; według WHO zapotrzebowanie energetyczne jest przekraczane o ponad 10% (KWIATKOWSKA 2007). W zapobieganiu chorobom układu sercowo-naczyniowego bardzo ważnym czynnikiem jest profilaktyka żywieniowa. W diecie człowieka, obok cennych składników odżywczych, istnieje szereg substancji nieodżywczych, które mogą działać zapobiegawczo lub

lecniczo w różnych chorobach, między innymi w miażdżycy (KWIATKOWSKA i BAWA 2007). Składniki nieodżywcze mogą zarówno przeciwdziałać wystąpieniu zmian chorobowych (profilaktyka pierwotna), jak i wspomagać leczenie oraz ograniczać pojawianie się komplikacji w przebiegu różnych schorzeń (profilaktyka wtórna) (JEW i współaut. 2009). Poszukuje się naturalnych substancji pomocnych m.in. w zapobieganiu rozwojowi miażdżycy, zwalczających stany zapalne, działających przeciwzakrzepowo i przeciwdziałających stresowi oksydacyjnemu. Przedmiotem prezentowanej pracy jest krótki przegląd dostępnych danych dotyczących aktywności biologicznej katechin – naturalnych związków polifenolowych wchodzących zarówno w skład diety człowieka, jak i licznych suplementów, mających na celu poprawę ogólnego stanu zdrowia oraz ich działanie profilaktyczne w przeciwdziałaniu chorobom układu sercowo-naczyniowego.

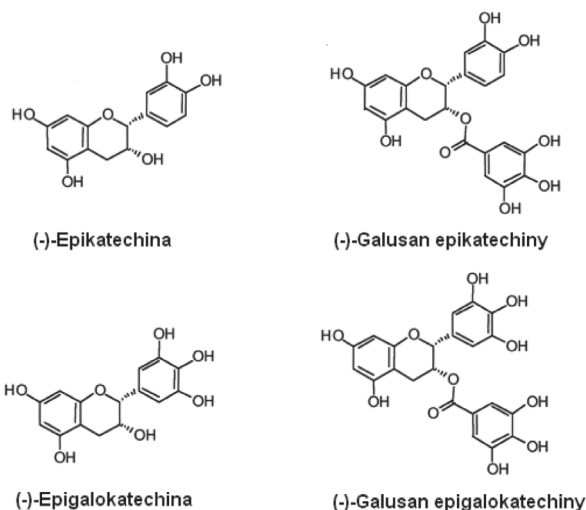
KATECHINY W DIECIE CZŁOWIEKA – OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA I GŁÓWNE ŹRÓDŁA

Katechiny stanowią grupę związków polifenolowych zaliczanych do flawanoli, których budowa oparta jest na układzie flawonu (Ryc. 1). Flawanole występują jako agli-

kony, w formie monomerycznej (katechiny) lub spolimeryzowanej (taniny). Podstawowy szkielet flawanoli zbudowany jest z 15 atomów węgla, tworzących ugrupowanie C_6-C_3 .



Ryc.1 Wzór chemiczny flawonu.



Ryc. 2. Struktury najczęściej występujących katechin.

-C₆, a jego modyfikacje w obrębie heterocyklicznego pierścienia C prowadzą do powstania różnych związków, między innymi katechin: (-)-epikatechiny, (-)-epigalokatechiny, galusanu epikatechiny i galusanu 3-epigalokatechiny (Ryc. 2) (YILMAZ 2006).

Spośród flawanoli, szczególnie katechiny zyskały dużą popularność wskutek odkrycia szerokiego spektrum ich działania farmakologicznego, obejmującego aktywność przeciwutleniającą, przeciwmutagenną i przeciwnowotworową (SANG i współaut. 2003). Jednocześnie, przeprowadzone badania nie wykazały toksycznego działania lub innych skutków ubocznych spożycia tych polifenoli (TAKAMI i współaut. 2008). Katechiny wzbudzają zainteresowanie również ze względu na dużą zawartość w diecie człowieka. Występują one m.in. w kakao, czekoladzie, herbacie, czerwonym winie, owocach (jabłka, śliwki, brzoskwinie, truskawki, wiśnie) i roślinach strączkowych (bób, fasola, soczewica). Najbardziej znanym źródłem katechin są herbaty; zawartość tych polifenoli w herbatach różni się znacznie w zależności od sposobu ich produkcji. Czarna herbata (250 mg/l), w porów-

Tabela 1. Zawartość katechin i procyjanidyn w poszczególnych produktach (STEINBERG i współaut. 2003, CORTI i współaut. 2009).

Produkt	Zawartość katechin i procyjanidyn (mg/100 g produktu)
Kakao	1400
Gorzka czekolada	170
Mleczna czekolada	70
Jabłka	106
Czerwone wino	22
Zielona herbata	100-800
Czarna herbata	60-500

naniu do zielonej (420 mg/l), zawiera znacznie mniej związków polifenolowych. Spadek stężenia tych związków związany jest z ich degradacją w procesie fermentacji, któremu podlega czarna herbata. Stopień degradacji zależy od temperatury, wraz z jej wzrostem maleje ilość substancji aktywnych w produkcie końcowym. Zawartość katechin i procyjanidyn w wybranych produktach została przedstawiona w Tabeli 1.

Ponieważ flawanole nie występują w formie glikozydów, aktywność β -glikozydazy (kluczowa dla absorpcji glikozydów flawonoidów) nie ma wpływu na proces wchłaniania katechin. W pierwszym etapie po pobraniu pokarmu zawierającego katechiny może dochodzić do odłączenia reszty kwasu galusowego z galusanu epigalokatechiny. Możliwe jest także wiązanie podstawników hydroksyloowych z ugrupowań galoilowych do białek powierzchniowych nabłonka jamy ustnej i przełyku. Procesy te zmniejszają biodostępność katechin (ZHU i współaut. 2000). Stwierdzono natomiast, że utlenianie galusanu epikatechiny, zachodzące w trakcie przechodzenia treści pokarmowej z żołądka do jelita cienkiego, prowadzi do wytworzenia dimerów o wyższej zdolności zmiana wolnych rodników i chelatowania jonów żelaza, w porównaniu do monomerycznego galusanu epikatechiny (STAHL i współaut. 2002). W jelicie cienkim zachodzi sprzężanie flawan-3-oli z kwasem glukuronowym, prowadzące do wytworzenia bardziej polarnych koniugatów: 5- lub 7-O-glukuronidowych oraz 3'- lub 4'-O-metyloglukuronidów (RECHNER i współaut. 2002). W procesach katalizowanych przez metylotransferazy mogą powstawać 3'-O-metylowe pochodne o mniejszej aktywności przeciwutleniającej (MAKOWSKA-WAŚ i JANECKO 2004).

BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ I ROLA KATECHIN W PROFILAKTYCE ORAZ LECZENIU WYBRANYCH CHORÓB I ZABURZEŃ UKŁADU KRĄŻENIA

EFEKT ANTYOKSYDACYJNY

Korzystny wpływ roślinnych polifenoli w znacznym stopniu związany jest z ich aktywnością antyoksydacyjną, którą w latach 30. XX w. odkrył Albert Szent-Györgyi, laureat Nagrody Nobla. Późniejsze prace badawcze określiły główne, biochemiczne mechanizmy działania związków flawonoidowych w organizmie człowieka: hamowanie peroksydacji lipidów, usuwanie wolnych rodników i ograniczanie powstawania nowych reaktywnych form tlenu (RFT) (MAKOWSKA-WĄS i JANECZKO 2004). Obecnie wiadomo, że związki polifenolowe zmniejszają ryzyko wystąpienia chorób układu sercowo-naczyniowego i innych schorzeń, mających swoje podłoże w zaburzeniu równowagi między działającymi w organizmie substancjami utleniającymi a przeciwutleniaczami (LUTOMSKI i MŚCISZ 2003). Badania porównawcze przeciwutleniającej aktywności różnych katechin, występujących w zielonej herbacie: (-)-epikatechiny, (-)-epigalokatechiny, galusanu epikatechiny (ECG) i galusanu 3-epigalokatechiny, wskazały na najwyższą aktywność antyoksydacyjną (-)-epigalokatechiny (KANG i współaut. 2010). Katechiny charakteryzują się silnymi właściwościami przeciwutleniającymi ze względu na obecność grup -OH, ułożonych w sąsiednich pozycjach w pierścieniu B, co znacząco zwiększa ich działanie antyoksydacyjne, obejmujące zmiatanie wolnych rodników, chelatowanie jonów metali przejściowych, a także hamowanie peroksydacji lipidów. Wiele badań wskazuje na skuteczne działanie flawanoli w ograniczaniu peroksydacji lipidów w tkankach biologicznych lub frakcjach subkomórkowych, takich jak mikrosomy. Ocena aktywności przeciwutleniającej katechin wykazała m.in. ich zdolność do zmiatania wolnych rodników, takich jak: DPPH[•], anionorodnik ponadtlenkowy, rodniki lipidowe, a także rodniki hydroksylowe.

(-)-Epikatechyna jest skutecznym przeciwutleniaczem ograniczającym oksydacyjne uszkodzenia wywołane m.in. przez nadtlenoazotyn (ONOO⁻), a szczególne znaczenie ochronne przypisuje się zdolności tego związku do hamowania reakcji nitrowania. Nadtlenoazotyn, silny czynnik utleniający i nitrujący, powstaje w układzie krążenia *in vivo*. W wyniku jego działania na białka może dochodzić do tworzenia 3-nitrotyrozyny, która jest nie tylko markerem stresu oksydacyj-

nego, ale również aktywnym biologicznie produktem. Sugeruje się, że ONOO⁻ może zaburzać działanie układu hemostazy; za prawdopodobne podłoże molekularne tych zmian uważa się właśnie nitrowanie reszt tyrozynowych w białkach hemostatycznych (NIELSEN i współaut. 2004). Powstawanie 3-nitrotyrozyny wydaje się być także czynnikiem hamującym aktywność fibrynolizy (NOWAK i współaut. 2004, HATHUC i współaut. 2006). Modyfikacja ta może przyczynić się do wystąpienia stanu hiperkoagulacyjnego w osoczu krwi i sprzyjać występowaniu powikłań zakrzepowo-zatorowych. (-)-Epikatechyna efektywnie hamuje tworzenie 3-nitrotyrozyny lub dityrozyny w białkach, a jej przeciwnitrujące działanie polega na zmiataniu rodnika tyrozylowego, powstającego w wyniku ataku ONOO⁻ na reszty tyrozyny (SCHROEDER i współaut. 2001).

Chociaż znaczna ilość doniesień potwierdza korzystne, przeciwutleniające właściwości katechin, pojawiają się także dane wskazujące na możliwy prooksydacyjny efekt działania tych związków (LU i współaut. 2011). Opublikowana w 2003 r. praca CREN-OLIVE i współaut. poddawała w wątpliwość biologiczną efektywność ochronnej roli katechin w przeciwdziałaniu utlenianiu lipoprotein LDL, które jest jednym z kluczowych etapów patogenezы miażdżycy. Wspomniane kontrowersje dotyczyły głównie zbyt wysokich stężeń tych związków, jakie są niezbędne do efektywnego zapobiegania utlenianiu LDL, a ich rzeczywistym poziomem, osiąganym w osoczu krwi w warunkach *in vivo*. Pomimo tych krytycznych sugestii, prowadzone liczne badania *in vitro* i *in vivo* potwierdzają wysoką aktywność biologiczną katechin, w tym ich działanie antyoksydacyjne.

DZIAŁANIE PRZECIWPLYTKOWE

Aktywacja płytek krwi jest złożonym procesem biochemicznym, prowadzącym do zmiany kształtu tych komórek, adhezji, sekrecji zmagazynowanych związków i tworzenia agregatów. Fizjologiczna aktywacja płytek krwi z tworzeniem agregatów płytkowych, zachodząca w odpowiedzi na uszkodzenie ściany naczynia stanowi główny etap hemostazy pierwotnej. Natomiast powstawanie agregatów płytkowych w odpowiedzi na działanie czynników patofizjologicznych, takich jak stan zapalny lub pęknięcie blaszki

miażdżycowej, jest zaangażowane w patogenezę powikłań zakrzepowo-zatorowych, pojawiających się m.in. w przebiegu miażdżycy i chorób naczyń obwodowych. Dlatego też hamowanie czynności płytek stanowi ważny aspekt w projektowaniu strategii profilaktycznych, zapobiegających rozwojowi chorób układu sercowo-naczyniowego (SON i współaut. 2004). Katechiny mogą wykazywać działanie przeciwpłytkowe. Wyniki uzyskane przez KANG i współaut. (1999) sugerują, że katechiny pochodzące z zielonej herbaty (ang. green tea catechins, GTC) oraz galusan epigalokatechiny (ang. (-)-epigallocatechin gallate, EGCG) posiadają właściwości przeciwwakrzepowe, związane z hamowaniem agregacji płytek krwi poprzez blokowanie napływu jonów Ca^{2+} . Wykazano, że GTC hamuje agregację płytek krwi indukowaną kolagenem (*in vitro*) lub kwasem arachidonowym (*in vitro, ex vivo*) w sposób zależny od stężenia. Mieszanina ta znacząco zmniejszała sekrecję nukleotydów z płytkowych ziarnistości o dużej gęstości elektronowej. Katechiny hamowały także hydrolizę fosfolipidów błony płytkowej i uwalnianie kwasu arachidonowego – prekursora prostaglandyn, tromboksanu A_2 (TXA_2) oraz innych eikozanoidów. W opisywanych badaniach, GTC w znacznym stopniu ograniczały powstawanie tromboksanu B_2 i prostaglandyny D_2 z kwasu arachidonowego, zachodzące przy udziale cyklooksygenazy (COX) i syntazy tromboksanu. Jednocześnie, katechiny nie wpływały na powstawanie kwasu 12-hydroksyeikozotetraenowego (ang. 12-hydroxyeicosatetraenoic acid, 12-HETE), katalizowane przez 12-lipoksygenazę (12-LOX). Jak sugerują autorzy, przeciwpłytkowe działanie GTC przynajmniej częściowo związane jest z hamowaniem tworzenia TXA_2 , na skutek inhibicji uwalniania kwasu arachidonowego (przy udziale fosfolipazy A_2) i spadku aktywności syntazy TXA_2 .

MODULOWANIE PROCESÓW ZAPALNYCH

Badania z zastosowaniem układów modelowych, w tym doświadczenia *in vivo* na zwierzętach (przeszczep serca, niedokrwienie mięśnia sercowego, miażdżyca, zapalenie mięśnia sercowego), pozwoliły stwierdzić, że katechiny zawarte w zielonej herbacie działają supresyjnie na ekspresję genów dla cytokin prozapalnych, metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. matrix metalloproteinases, MMPs), a także hamują syntezę białek adhezyjnych: ICAM-1 (ang. intercellular adhesion molecule) i VCAM-1 (ang. vascular

cell adhesion molecule) (SUZUKI i współaut. 2009). EL BEDOUTI i współaut. (2005) wykazała, że katechiny uzyskiwane z zielonej herbaty hamując proliferację komórek mięśni gładkich ściany naczynia krwionośnego, stanowiąc jeden z istotnych etapów progresji miażdżycy. W opisywanych pracach badawczych stwierdzono, że katechiny wpływają na aktywność proteolityczną metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej. Związki te znacząco ograniczają degradację macierzy zewnątrzkomórkowej, niezbędną do rozrostu tkanki mięśniowej ściany naczynia. Katechiny mogą hamować syntezę MMP-2 — głównej kolagenazy zaangażowanej w przebudowę ściany naczynia bądź blokować jej aktywację przy udziale metaloproteinazy MT-MMP-1 (metaloproteinaza typu błonowego, ang. membrane-type matrix metalloproteinase). Dostępne informacje wskazują także na ochronny efekt katechin w ograniczaniu patologicznych zmian, zachodzących w mięśniu sercowym po niedokrwieniu. Korzystny efekt tych polifenoli jest również wynikiem hamowania ekspresji genów dla czynników prozapalnych i enzymów z grupy MMPs (SUZUKI i współaut. 2007).

Molekularne mechanizmy aktywności biologicznej katechin nie są jeszcze dokładnie poznane. Substancje te wpływają na kilka szlaków przekazywania sygnałów komórkowych, w tym hamowanie aktywności czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (ang. nuclear factor kappa B), zaangażowanego w regulację ekspresji genów czynników prozapalnych. Flawanole mają wpływ na aktywność kinaz białkowych i fosfataz oraz na regulację transkrypcji endogennych mechanizmów antyoksydacyjnych. Wykazano, że związki obecne w zielonej herbacie (głównie galusan epigalokatechiny) stymulują aktywność czynnika transkrypcyjnego Nrf2/NFE2L2 [ang. nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2]. Nrf2 przyłącza się do regionów promotorowych genów kodujących enzymy II fazy detoksykacji i białka biorące udział w ograniczaniu stresu oksydacyjnego, związanego ze stanem zapalnym (FRAGA i OTEIZA 2011). W badaniach na hodowlach komórkowych zaobserwowano, że również (-)-epikatechina pobudza aktywację szlaków przekazywania sygnałów z udziałem czynnika Nrf2 (BAHIA i współaut. 2008).

PRZECIWDZIAŁANIE MIAŻDŻYCY I CHOROBI WIEŃCOWEJ SERCA

Badania epidemiologiczne wskazały na istnienie istotnej zależności pomiędzy spożyciem zielonej herbaty (źródła katechin) a

ryzykiem rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego (MOORE i współaut. 2009). Na przykład, analiza wpływu spożycia herbaty na wybrane parametry ryzyka miażdżycy wykazała znaczące zmniejszenie poziomu całkowitego cholesterolu w osoczu krwi oraz wzrost poziomu lipoprotein HDL (lipoproteiny o wysokiej gęstości, ang. high-density lipoproteins). W badanej grupie mieszkańców Japonii zaobserwowano ponadto spadek poziomu lipoprotein frakcji LDL (lipoproteiny o niskiej gęstości, ang. low-density lipoproteins) (IMAI i NAKACHI 1995). W innych badaniach, przeprowadzonych również w Japonii stwierdzono istnienie korelacji pomiędzy pić zielonej herbaty a spadkiem śmiertelności na skutek chorób układu krążenia (KURIYAMA i współaut. 2006). Wyniki uzyskane z badań klinicznych (2011) potwierdzają korzystny wpływ zarówno monomerów, jak i oligomerów flawanoli na funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego. Przyjmowanie przez 8 tygodni po 200 mg/dzień suplementu uzyskanego z pestek winogron, bogatego we flawanole, może znacząco obniżać poziom cholesterolu i lipoprotein frakcji LDL w osoczu krwi. U badanych osób stwierdzono ponadto wzrost glutationu zredukowanego kosztem utlenionego oraz przeciwzapalne efekty badanej mieszaniny flawanoli (WESELER i współaut. 2011). Flawanole wpływają na ekspresję genów zaangażowanych w procesy metaboliczne komórki związane z gospodarką lipidową i energetyczną. Doświadczenia AUCLAIR i współaut. (2009), przeprowadzone na myszach z niedoborem apolipoproteiny E (apoE) sugerują, że katechiny mogą regulować ekspresję wielu genów modulujących kluczowe etapy patogeny miażdżycy, co powoduje zahamowanie zmian miażdżycowych. Związki te działają supresyjnie na aktywność genu kodującego LPL (lipazę lipoproteinową, ang. lipoprotein lipase), enzymem hydrolizującym triglicerydy lipoprotein frakcji VLDL (ang. very low-density lipoproteins) i chylomikronów, uwalniając kwasy tłuszczowe oraz frakcję lipoprotein LDL. Zwiększona aktywność LPL związana jest ze spadkiem poziomu lipoprotein VLDL, jak również ze wzrostem stężenia cholesterolu w osoczu krwi. Zwiększenie zawartości lipidów w osoczu krwi powoduje ich odkładanie się w ścianie tętnic i jest jednym z głównych czynników ryzyka zapadalności na choroby układu krążenia (AUCLAIR i współaut. 2009). Ze względu na istotną rolę utleniania lipidów lipoprotein LDL w rozwoju miażdżycy

cy i choroby niedokrwiennej serca, ważne wydaje się dostarczanie katechin. Substancje te, jako związki o silnym działaniu przeciwutleniającym, mogą być pomocne w utrzymaniu optymalnego poziomu antyoksydantów w przypadku wyczerpywania się obecnych w osoczu egzogennych przeciwutleniaczy, takich jak: α -tokoferol czy β -karoten (LOTITO i FRAGA 1998). KAWAI i współaut. (2008) sugerują, że galusan epikatechiny może hamować ekspresję genów dla receptora CD36. Ponieważ ligandami tego receptora, należącego do receptorów typu „scavenger”, są m.in. utlenione LDL, posiada on istotne znaczenie w przekształcaniu makrofagów w komórki piankowate. Kluczową rolę CD36 w patogenie zmian miażdżycowych potwierdziły doświadczenia, w których zaobserwowano, że brak ekspresji CD36 na komórkach makrofagów może hamować rozwój miażdżycy (NOZAKI i współaut. 1995). W badaniach KAWAI i współaut. (2008) stwierdzono wyraźną tendencję galusanu epikatechiny do akumulacji w makrofagach, co, jak sugerują autorzy, może stanowić jeden z mechanizmów przeciwmiażdżycowego działania tego związku.

(-)Epikatechina może chronić śródbłonek ściany naczynia zarówno poprzez zmiatanie wolnych rodników, jak i utrzymywanie aktywności śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (ang. endothelial nitric oxide synthase, eNOS) (STEFFEN i współaut. 2005). Przy udziale L-argininy jako substratu, eNOS wytwarza tlenek azotu (NO) – wtórny przekaźnik sygnału, który jest czynnikiem o działaniu wazorelaksacyjnym, przeciwpłytkowym i przeciwzkrzepowym. Wytwarzanie NO przez komórki śródbłonek ściany naczynia stanowi jeden z mechanizmów odpowiedzialnych za utrzymanie przeciwzkrzepowego charakteru ściany naczyniowej. Fizjologiczna rola NO w układzie krążenia obejmuje wiele mechanizmów przeciwdziałających rozwojowi miażdżycy i pojawianiu się powikłań zakrzepowozatorowych, w tym zapobieganie migracji i adhezji leukocytów, hamowanie proliferacji komórek mięśni gładkich oraz adhezji i agregacji płytek krwi (CORTI i współaut. 2009). (-)Epikatechina jest także silnym inhibitorem oksydazy NADPH śródbłonek, odpowiadającej za wytwarzanie anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\cdot-}$). Anionorodnik ponadtlenkowy może wchodzić w reakcję z tlenkiem azotu (NO), prowadząc do zmniejszenia jego biodostępności i generowania nadtlenoazotynu. Hamowanie aktywności oksydazy NADPH powoduje zwiększenie ilości dostępnego NO

(STEFFEN i współaut. 2007). W badaniach na zwierzętach stwierdzono, że również galusan epigalokatechiny wykazuje działanie ochronne na śródbłonek ściany naczynia. Polifenol ten stymuluje wytwarzanie tlenu azotu przez eNOS (aktywując szlak przekazywania sygnału z udziałem kinazy 3-fosfatydyloinozytolu) i obniża ciśnienie krwi (POTENZA i współaut. 2007). Ponadto, galusan epigalokatechiny może regulować aktywność indukowalnej syntazy tlenu azotu (ang. inducible nitric oxide synthase, iNOS). W doświadczeniach z wykorzystaniem komórek śródbłonna zaobserwowano hamujący wpływ tego związku na aktywność iNOS, indukowaną angiotensyną II. Ze względu na istotną rolę iNOS w procesach zapalnych, stanowiących element patofizjologii chorób układu sercowo-naczyniowego, badania te zwracają uwagę na możliwość korzystnego działania galusanu epigalokatechiny, także poprzez ograniczanie aktywności tej izoformy syntazy tlenu azotu (AHN i KIM 2011). Prace badawcze RAMIREZ-SANCHEZ i współaut. (2010), prowadzone na hodowlach komórek śródbłonna wykazały, że (-)-epikatechina stymuluje aktywność eNOS. Stwierdzono, że zwiększa ona aktywność eNOS poprzez aktywację szlaków przekazywania sygnału, prowadzących do fosforylacji reszt seryny 633 i 1177 oraz defosforylacji treoniny 495 w cząsteczce enzymu. Bezpośrednich dowodów na wazorelaksacyjny efekt (-)-epikatechiny dostarczają też wyniki badań na komórkach linii HUVEC (ang. human umbilical vein endothelial cells). W omawianych doświadczeniach, inkubacja komórek z (-)-epikatechiną (0,3–10 μ M) powodowała wzrost uwalniania tlenu azotu, oceniany poprzez zastosowanie fluoroforu wrażliwego na tlenek azotu (BROSETTE i współaut. 2011). U osób ze stwierdzonym występowaniem czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego (m.in. palenie tytoniu), spożywanie napoju bogatego we flawanole kakao (176–185 mg flawanoli dziennie) znacząco zwiększa osoczną pulę biodostępnego tlenu azotu. Korzystny wpływ flawanoli zawartych w kakao na syntezę tlenu azotu potwierdzono także poprzez zastosowanie inhibitora syntazy tlenu azotu, który niwelował korzystny wpływ spożywania kakao (CORTI i współaut. 2009).

WPLYW KATECHIN NA CIŚNIENIE KRWI

Badania przeprowadzone wśród Indian Kuna żyjących na wyspach w pobliżu Panamy wykazały efekty diety bogatej w produk-

ty uzyskiwane z ziaren kakaowca (*Theobroma cacao*) w przeciwdziałaniu nadciśnieniu. Ziarna kakaowca są bogatym źródłem katechin (460-610 mg/kg), a badana grupa ludności charakteryzowała się ich wysokim spożyciem. Stwierdzono, że Indianie Kuna są jedną z niewielu grup etnicznych chronionych przed tendencją do wzrostu ciśnienia krwi wraz z wiekiem i rozwojem nadciśnienia. Zaobserwowano również, że opisywana grupa Indian charakteryzuje się znacznie mniejszym odsetkiem śmiertelności z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego, w porównaniu z innymi grupami ludności zamieszkującymi ten region Ameryki Środkowej (CORTI i współaut. 2009). Hipotensyjne działanie produktów bogatych we flawanole (napoje z kakao i ciemna czekolada) potwierdzają wyniki uzyskane z meta-analizy 10 losowych badań klinicznych, obejmujących grupę kontrolną (DESCH i współaut. 2010). Badania te przeprowadzono w grupach osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym lub w pierwszym stadium nadciśnienia, nie przyjmujących leków przeciwnadciśnieniowych. Od 2 do 18 tygodni spożywania flawanoli (dobowo: 1,7–62 mg oraz 5,1–174 mg) powodowało obniżenie skurczowego ciśnienia tętniczego o 4,5 mmHg (95% CI -5,9 do -3,2), a rozkurczowego o 2,5 mmHg (95% CI -3,9 do -1,2). Prawdopodobnym mechanizmem obserwowanego efektu hipotensyjnego jest wzrost aktywności śródbłonkowej syntazy tlenu azotu. Analizy porównawcze dotyczące efektów spożywania ciemnej i białej czekolady dowiodły, że już niewielka dzienna porcja ciemnej czekolady (6 g wieczorem) efektywnie redukuje skurczowe ciśnienie krwi o około $2,9 \pm 1,6$ mm Hg, a rozkurczowe o około $1,9 \pm 1,0$ mm Hg, przy jednoczesnym braku zmiany wagi ciała oraz osocznego stężenia glukozy i lipidów. Jednocześnie, u osób spożywających ciemną czekoladę występował wzrost stężenia S-nitrozoglutationu, produktu reakcji tlenu azotu z grupami tiolowymi białek (CORTI i współaut. 2009). Również wyniki badań na zwierzętach, przeprowadzonych przez JAFFRI i współaut. (2011) potwierdzają hipotensyjny efekt katechin. Doświadczenia te wskazują ponadto na palmę olejową (olejowiec gwinejski, *Elaeis guineensis*), jako nowy surowiec roślinny zawierający flawanole. W badaniach przeprowadzonych przez cytowanych autorów, bogaty w katechiny ekstrakt uzyskiwany z liści palmy olejowej wykazywał działanie hipotensyjne, zwiększał syntezę tlenu azotu oraz działał antyoksydacyjnie,

m.in. ograniczał peroksydację lipidów osocza krwi. Poza stymulacją aktywności eNOS, jako inny mechanizm hipotensyjnego działania flawanoli sugeruje się ich hamujący wpływ na konwertazę angiotensyny (aktywność inhibitora konwertazy angiotensyny) (ACTIS-GORETTA i współaut. 2006).

OTYŁOŚĆ I ZESPÓŁ METABOLICZNY – EFEKTY SPOŻYWANIA KATECHIN

Prowadzone są różnorodne prace badawcze dotyczące działania różnych substancji pochodzenia naturalnego w zwalczaniu nadwagi i otyłości, rośnie także liczba doniesień podkreślających potencjał katechin/suplementów bogatych w te związki jako substancji skutecznych w przeciwdziałaniu otyłości (KOMINE i współaut. 2001, CHAN i współaut. 2006). Zespół metaboliczny (ZM) jest definiowany jako grupa objawów obejmująca co najmniej 2 lub więcej z następujących czynników: otyłość brzuszna (obwód talii >102 cm u mężczyzn, >88 cm u kobiet), podwyższone stężenie triglicerydów we krwi (≥ 150 mg/dl), dyslipidemia (zmniejszone stężenie

HDL-cholesterolu: mężczyźni <40 mg/dl, kobiety <50 mg/dl), ciśnienie tętnicze $\geq 130/\geq 85$ mmHg, glikemia na czczo ≥ 100 mg/dl. U osób z zespołem metabolicznym znacznie zwiększa się ryzyko rozwoju miażdżycy, zaburzeń układu sercowo-naczyniowego, cukrzycy typu 2, nowotworów i innych schorzeń (SAE-TAN i współaut. 2011).

Wykazano, że włączenie suplementacji katechin do diety (o obniżonej podaży kalorii) osób z nadwagą znacząco wpływa na zmniejszenie zawartości tkanki tłuszczowej i może obniżać wagę ciała badanych pacjentów, w porównaniu do osób pozostających tylko na diecie (NAGAO i współaut. 2005). Doświadczenia prowadzone na zwierzęcym modelu ZM wykazały korzystny wpływ galusanu epigalokatechiny na zmniejszenie zawartości tkanki tłuszczowej, będące wynikiem hamowania absorpcji lipidów. Związek ten może mieć udział w poprawie homeostazy glukozy poprzez znaczne obniżenie poziomu glukozy, insuliny i insulinooporności (BOSE i współaut. 2008).

PODSUMOWANIE

Ze względu na silny związek pomiędzy stanem zdrowia, a składem diety człowieka, szczególną uwagę zwrócono na katechiny, które dostarczane wraz z pokarmami mogą uzupełniać i wzmacniać ochronną aktywność endogennych antyoksydantów oraz zapewniać prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Molekularne mechanizmy działania katechin nie są do końca poznane, jednak rośnie liczba danych literaturowych wskazujących na prozdrowotne i lecznicze właściwości tych

związków w profilaktyce i wspomaganiu leczenia chorób układu krążenia. Ich ochronny wpływ na układ krążenia jest wynikiem głównie aktywności antyoksydacyjnej i przeciwzapalnej. Katechiny, ze względu na szeroki zakres działania są bardzo obiecującymi związkami, niezbędne są jednak dalsze badania pozwalające na wyjaśnienie biochemicznych mechanizmów leżących u podstaw obserwowanych efektów.

KATECHINY – AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA I ROLA W PROFILAKTYCE CHOROÓB UKŁADU KRĄŻENIA

Streszczenie

Celem prezentowanej pracy jest krótki przegląd dostępnych informacji dotyczących roli katechin – naturalnych antyoksydantów polifenolowych, obecnych w diecie człowieka, w aspekcie ich zastosowania w przeciwdziałaniu chorobom układu krążenia. Katechiny wzbudzają zainteresowanie ze względu na ich dużą zawartość w diecie człowieka. Związki te występują naturalnie w owocach (śliwki, jabłka, truskawki, brzoskwinie), warzywach (fasola, soczewica), herbacie, kakao i czerwonym winie. Katechiny wykazują szeroki zakres działania biologicznego, obejmujący m.in. aktywność przeciwutleniającą,

przeciwzapalną, właściwości przeciwnowotworowe oraz ochronę układu krążenia. Pod względem chemicznym, katechiny stanowią grupę związków polifenolowych, których struktura oparta jest na szkieletie flawanu. Podstawową strukturę katechin tworzy ugrupowanie $C_6-C_3-C_6$, a jego modyfikacje w obrębie heterocyklicznego pierścienia prowadzą do powstania różnych związków, które są klasyfikowane jako wolne katechiny: (+)-katechyna, (-)-galokatechyna, (-)-epigalokatechyna lub katechiny w formie związanej: galusan (+)-epikatechiny, galusan (-)-epigalokatechiny, a także galusanu (-)-galokatechiny.

CATECHINS – BIOLOGICAL ACTIVITY AND ROLE IN THE PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASES

Summary

The aim of the present review was to shortly describe the main aspects of the role of natural phenolic antioxidants - catechins in the counteracting cardiovascular diseases. The scientific interest in these substances is a result of both their significant amounts in human diet, and a wide range of biological activity. Catechins are naturally present in fruits (plums, apples, strawberry, peach), vegetables (like beans, lentil), tea, cacao and red wine. The biological activity of catechins includes antioxidant, anti-inflammatory, antimutagenic effects, as well as cardiovascular disease-preventive properties.

Chemically, catechins constitute a group of polyphenolic compounds, based on the flavanol structure. These avonoids consist of two polyphenolic aromatic rings (C₆-C₃-C₆) with hydroxyl groups. In regard to the variations of the heterocyclic ring, catechins are categorized as free catechins: (+)-catechin, (+)-gallocatechin, (-)-epicatechin and (-)-epigallocatechin, as well as galloyl catechins: (-)-epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin gallate and (-)-gallocatechin gallate.

LITERATURA

- ACTIS-GORETTA L., OTTAVIANI J. I., FRAGA C. G., 2006. *Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods*. J. Agric. Food Chem. 54, 229-234.
- AHN H. Y., KIM C. H., 2011. *Epigallocatechin-3-gallate regulates inducible nitric oxide synthase expression in human umbilical vein endothelial cells*. Lab. Anim. Res. 27, 85-90.
- AUCLAIR S., MILENKOVIC D., BESSON C., CHAUVET S., GUEUX E., MORAND C., MAZUR A., SCALBERT A., 2009. *Catechin reduces atherosclerotic lesion development in apo E-deficient mice: A transcriptional study*. Atherosclerosis 2004, 21-27.
- BAHIA P. K., RATTRAY M., WILLIAMS R. J., 2008. *Dietary flavonoid (-)epicatechin stimulates phosphatidylinositol 3-kinase-dependent anti-oxidant response element activity and up-regulates glutathione in cortical astrocytes*. J. Neurochem. 106, 2194-2204.
- BOSE M., LAMBERT J. D., JU J., REUHL K. R., SHAPSES S. A., YANG C. S., 2008. *The major green tea polyphenol, (-)epigallocatechin-3-gallate, inhibits obesity, metabolic syndrome, and fatty liver disease in high-fat-fed mice*. J. Nutr. 138, 1677-1683.
- BROSSETTE T., HUNSDÖRFER C., KRÖNCKE K. D., SIES H., STAHL W., 2011. *Direct evidence that (-)epicatechin increases nitric oxide levels in human endothelial cells*. Eur. J. Nutr. 50, 595-599.
- CHAN C. C., KOO M. W., NG E. H., TANG O. S., YEUNG W. S., HO P. C., 2006. *Effects of Chinese green tea on weight, and hormonal and biochemical profiles in obese patients with polycystic ovary syndrome – a randomized placebo-controlled trial*. J. Soc. Gynecol. Investig. 13, 63-68.
- CORTI R., FLAMMER A. J., HOLLENBERG N. K., LÜSCHER T. F., 2009. *Cocoa and cardiovascular health*. Circulation 119:1433-1441.
- CREN-OLIVE C., TEISSIER E., DURIEZ P., RONALDO C., 2003. *Effect of catechin o-methylated metabolites and analogues in human LDL oxidation*. Free Rad. Biol. Med. 34, 850-855.
- DESCH S., SCHMIDT J., KOBLER D., SONNABEND M., EITEL I., SAREBAN M. i współprac., 2010. *Effect of cocoa products on blood pressure: systematic review and meta-analysis*. Am. J. Hypertens. 23, 97-103.
- EL BEDOUI J., OAKA M.-H., ANGLARD P., SCHINI-KERTH V. B., 2005. *Catechins prevent vascular smooth muscle cell invasion by inhibiting MT1-MMP activity and MMP-2 expression*. Cardiovasc. Res. 67, 317-325.
- FRAGA C. G., OTEIZA P. I., 2011. *Dietary flavonoids: Role of (-)epicatechin and related procyanidins in cell signaling*. Free Rad. Biol. Med. 51, 813-823.
- HATHUC C., HERMO R., SCHULZE J., GUGLIUCCI A., 2006. *Nitration of human plasminogen by RAW 264.7 macrophages reduces streptokinase-induced plasmin activity*. Clin. Chem. Lab. Med. 2, 213-219.
- IMAI K., NAKACHI K., 1995. *Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases*. BMJ 310, 693-696.
- JAFFRI J. M., MOHAMED S., ROHIMI N., AHMAD I. N., NOORDIN M. M., MANAP Y. A., 2011. *Antihypertensive and cardiovascular effects of catechin-rich oil palm (Elaeis guineensis) leaf extract in nitric oxide-deficient rats*. J. Med. Food. 14, 775-783.
- JEW S., ABUMWEIS S. S., JONES P. J., 2009. *Evolution of the human diet: linking our ancestral diet to modern functional foods as a means of chronic disease prevention*. J. Med. Food 12, 925-934.
- KANG K. W., OH S. J., RYU S. Y., SONG G. Y., KIM B. H., KANG J. S., KIM S. K., 2010. *Evaluation of the total oxy-radical scavenging capacity of catechins isolated from green tea*. Food Chem. 121, 1089-1094.
- KANG W. S., LIM I.-H., YUK D.-Y., CHUNG K.-H., PARK J.-B., YOO H.-S., YUN Y.-P., 1999. *Antithrombotic activities of Green Tea Catechins and (2)-Epigallocatechin Gallate*. Thromb. Res. 96, 229-237.
- KAWAI Y., TANAKA H., MUROTA K., NAITO M., TERAOKA J., 2008. *(-)Epicatechin gallate accumulates in foamy macrophages in human atherosclerotic aorta: Implication in the anti-atherosclerotic actions of tea catechins*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 374, 527-532.
- KOMINE H. T., MEGURO Y., TAKEDA S., TAKAHASHI Y., MATSUI H., INAOKA Y., KATSURAGI S., TOKIMITSU Y., SHIMASAKI I., ITAKURA H., 2001. *Anti-obesity effects of tea catechins in humans*. J. Oleo. Sci. 50, 599-605.
- KURIYAMA S., SHIMAZU T., OHMORI K., KIKUCHI N., NAKAYA N., NISHINO Y., TSUBONO Y., TSUJI I., 2006. *Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer, and all causes in Japan: the Ohsaki study*. JAMA 296, 1255-1265.
- KUŹNICKI D., 2006. *Antyoksydanty i środki obniżające poziom cholesterolu zawarte w surowcach roślinnych wykazujące działanie przeciwnadciężycowe*. Post. Fitoter. 4, 206-212.

- KWIATKOWSKA E., 2007. *Składniki czerwonego wina w prewencji chorób układu krążenia*. Med. Rodzinna 1, 7–9.
- KWIATKOWSKA E., BAWA S., 2007. *Znaczenie substancji uznanych za antyodżywcze w profilaktyce chorób cywilizacyjnych*. Med. Rodzinna 2, 36–40.
- LOTTITO S. B., FRAGA C. G., 1988. *(+)-catechin prevents human plasma oxidation*. Free Rad. Biol. Med. 24, 435–441.
- LU N., CHEN P., YANG Q., PENG Y. Y., 2011. *Anti- and pro-oxidant effects of (+)-catechin on hemoglobin-induced protein oxidative damage*. Toxicol. in Vitro 25, 833–838.
- LUTOMSKI J., MŚCISZ A., 2003. *Znaczenie prewencyjne związków polifenolowych zawartych w winogronach*. Post. Fitoter. 1, 6–10.
- MAKOWSKA-WAŚ J., JANECKO Z., 2004. *Biodostępność polifenoli roślinnych*. Post. Fitoter. 3, 126–147.
- MOORE R. J., JACKSON K. G., MINIHADE A. M., 2009. *Green tea (Camellia sinensis) catechins and vascular function*. Br. J. Nutr. 102, 1790–1802.
- NAGAO T., KOMINE Y., SOGA S., MEGURO S., HASE T., TANAKA Y., TOKIMITSU I., 2005. *Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malondialdehyde-modified LDL in men*. Am. J. Clin. Nutr. 81, 122–129.
- NIELSEN V. G., CROW J. P., MOGAL A., ZHOU F., PARKS D. A., 2004. *Peroxynitrite decreases hemostasis in human plasma in vitro*. Anesth. Analg. 99, 21–26.
- NOWAK P., KOŁODZIEJCZYK J., WACHOWICZ B., 2004. *Peroxynitrite and fibrinolytic system; The effect of peroxynitrite on plasmin activity*. Mol. Cell. Biochem. 267, 141–146.
- NOZAKI S., KASHIWAGI H., YAMASHITA S., NAKAGAWA T., KOSTNER B., TOMIYAMA Y., NAKATA A., ISHIGAMI M., MIYAGAWA J., KAMEDA-TAKEMURA K., KURATA Y., MATSUZAWA Y., 1995. *Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-derived macrophages from CD36-deficient subjects*. J. Clin. Invest. 96, 1859–1865.
- POTENZA M. A., MARASCIULO F. L., TARQUINIO M., TIRAVANTI E., COLANTUONO G., FEDERICI A., KIM J. A., QUON M. J., MONTAGNANI M., 2007. *EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR*. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 292, 1378–1387.
- RAMIREZ-SANCHEZ I., MAYA L., CEBALLOS G., VILLARREAL F., 2010. *(-)-epicatechin activation of endothelial cell endothelial nitric oxide synthase, nitric oxide, and related signaling pathways*. Hypertension 55, 1398–1405.
- RECHNER A. R., KUHNLE G., BREMNER P., HUBBARD G. P., MOORE K. P., RICE-EVANS C. A., 2002. *The metabolic fate of dietary polyphenols in humans*. Free Rad. Biol. Med. 33, 220.
- SAE-TAN S., GROVE K.A., LAMBERT J.D., 2011. *Weight control and prevention of metabolic syndrome by green tea*. Pharmacol. Res. 64, 146–154.
- SANG S., TIAN S., WANG H., STARK R. E., ROSEN R. T., YANG C. S., HO C. T., 2003. *Chemical studies of the antioxidant mechanism of tea catechins: radical reaction products of epicatechin with peroxy radicals*. Bioorg. Med. Chem. 11, 3371–3378.
- SCHROEDER P., ZHANG, H., KLOTZ L., KALYANARAMAN B., SIES H., 2001. *(2)-Epicatechin inhibits nitration and dimerization of tyrosine in hydrophilic as well as hydrophobic environments*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 289, 1334–1338.
- SON D. J., CHO M. R., JIN Y. R., KIM S. Y., PARK Y. H., LEE S. H., AKIBA S., SATO T., YUN Y. P., 2004. *Antiplatelet effect of green tea catechins: a possible mechanism through arachidonic acid pathway*. Prostagl. Leukot. Essent. Fatty Acids 71, 25–31.
- STAHL W., VAN DEN BERG H., ARTHUR J., BAST A., DAINTY J., FAULKS R. M., GÄRTNER C., HAENEN G. i współprac., 2002. *Bioavailability and metabolism*. Mol. Aspects Med. 23, 39.
- STEFFEN Y., SCHEWE T., SIES H., 2005. *Epicatechin protects endothelial cells against oxidized LDL and maintains NO synthase*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 331, 1277–1283.
- STEFFEN Y., SCHEWE T., SIES H., 2007. *(-)-Epicatechin elevates nitric oxide in endothelial cells via inhibition of NADPH oxidase*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 359, 828–833.
- STEINBERG F. M., BEARDEN M. M., KEEN C. L., 2003. *Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health*. J. Am. Diet Assoc. 103, 215–223.
- SUZUKI J., OGAWA M., MAEJIMA Y., ISOBE K., TANAKA H., SAGESAKA Y. M., ISOBE M., 2007. *Tea catechins attenuate chronic ventricular remodeling after myocardial ischemia in rats*. J. Mol. Cell. Cardiol. 42, 432–440.
- SUZUKI J., ISOBE M., MORISHITA R., NAGAI R., 2009. *Tea polyphenols regulate key mediators on inflammatory cardiovascular diseases*. Mediators Inflamm. 2009, 1–5.
- TAKAMI S., IMAI T., HASUMURA M., CHO Y.-M., ONOSE J., HIROSE M., 2008. *Evaluation of toxicity of green tea catechins with 90-day dietary administration to F344 rats*. Food Chem. Toxicol. 46, 2224–2229.
- WESELER A. R., RUIJTERS E. J. B., DRITTIJ-REIJNDERS M.-J., REESINK K. D., HAENEN G. R. R. M. i współprac., 2011. *Pleiotropic benefit of monomeric and oligomeric flavanols on vascular health – a randomized controlled clinical pilot study*. PLoS ONE 28460, 1–12.
- YILMAZ Y., 2006. *Novel uses of catechins in food*. Trends Food Sci. Technol. 17, 64–71.
- ZHU M., CHEN Y., LI R. C., 2000. *Oral absorption and bioavailability of tea catechins*. Planta Med. 66, 444–447.