

Pestki winogron jako cenne źródło związków chroniących układ krążenia

Katedra Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego
Kierownik Katedry: prof. dr hab. Barbara Wachowicz

GRAPE SEEDS AS A RICH SOURCE OF CARDIO- AND VASOPROTECTIVE SUBSTANCES

SUMMARY

A considerable interest in finding out about various phytonutrients, consumed in the habitual diet is observed. Consumption of grapes, grape extracts or grape products such as red wine has been showed to have many beneficial effects in preventing the cardiovascular diseases. However, also the grape seed may be considered as a rich source of a variety of biologically active substances, that may be important in health maintaining and preventing against various disorders, including diseases related to the cardiovascular system. Grape seed polyphenols mainly include catechins, procyanidins, phenolic acids and resveratrol. Grape seed oil is composed of about 90% poly- and monounsaturated fatty acids; unrefined oils contain also tocopherols (vitamin E). A wide range of bioactive substances present in grape seeds, determine their cardioprotective and vasoprotective properties. The favourable effects of these compounds are partly attributed to their antioxidative and anti-inflammatory activity. This review presents the available evidence suggesting that the biological actions of some grape seed components may be beneficial in the protection of the cardiovascular system.

KEY WORDS: GRAPE SEED – POLYPHENOLS – ANTIOXIDANT – CARDIOVASCULAR DISEASES

Wstęp

Winorośl właściwa (*Vitis vinifera* L.), roślina należąca do rodziny winoroślowatych (*Vitaceae*), pochodząca z Azji, uprawiana jest obecnie przede wszystkim w Europie, gdzie znajduje się ok. 2/3 jej upraw. Jest jedną z najstarszych roślin uprawianych przez człowieka, znaną od wielu tysięcy lat. Uprawę winorośli i produkcję wina znano już 6000 lat p.n.e. w Egipcie i 5000 lat p.n.e. w Syrii i Palestynie. Głównymi surowcami pozyskiwanymi z tej długowiecznej rośliny są owoce (służące do bezpośredniej konsumpcji lub produkcji win i soków), niemniej ważne są jednak również liście i nasiona, zawierające wiele biologicznie aktywnych substancji o korzystnym działaniu (1).

Dobroczynny wpływ związków zawartych w winogronach przypisywany jest najczęściej obecności resweratrolu (3,4',5-trihydroksystilben), występują-

cego przede wszystkim w skórce owoców. Polifenol ten jest niezwykle ważny w profilaktyce chorób układu krążenia. Intensywne badania nad aktywnością fizjologiczną resweratrolu wskazują m.in. na jego działanie antyoksydacyjne (2) i przeciwplatekcyjne (3). Wykazano również przeciwzapalną aktywność tego związku (4).

Pojawia się jednak coraz więcej danych potwierdzających, że źródłem korzystnych dla człowieka związków są nie tylko owoce, ale również nasiona winorośli. Pestki winogron, do niedawna stanowiące jedynie pozostałości przetwarzania winogron lub surowiec do produkcji oleju, zaczynają być badane i postrzegane jako bogate źródło różnorodnych substancji niezwykle cennych dla organizmu człowieka. Niektóre z tych związków (jak na przykład katechiny, resweratrol czy nienasycone kwasy tłuszczowe), są od lat przedmiotem wielu badań a ich mechanizmy działania dopiero zaczynają być poznawane.

Pestki winogron – źródło substancji biologicznie aktywnych

Winorośl jest długowiecznym pnączem, dorastającym do 30-40 metrów długości, o drewniejącej z wiekiem łodydze pokrytej dłoniastymi, ząbkowanymi na brzegach liśćmi i wąsami czepnymi. Owocem jest soczysta, kulista lub podłużna jagoda zawierająca kilka nasion, zwana winogronem. Badania nad właściwościami biologicznymi winorośli właściwej wskazały m.in. na obecność dużej zawartości związków polifenolowych, którym przypisuje się działanie antyoksydacyjne. Zawarte są nie tylko w owocach, ale również w liściach i nasionach winorośli. Owoce winorośli (winogrona) oprócz polifenoli, takich jak barwniki antocyjanowe nadające im barwę, zawierają także cukry, witaminy (A, B₁, B₂, C), garbniki i pektyny. Również pestki winogron bogate są w liczne związki o korzystnym dla organizmu człowieka działaniu, w tym antyoksydanty. Nasiona te zawierają lipidy, białka, 5-8% polifenoli oraz węglowodany, i służą do produkcji oleju jadalnego i ekstraktów. Głównymi związkami polifenolowymi obecnymi w pestkach są katechiny

(w tym epikatechina, gallokatechina, epigalokatechina i 3-O-galusan epikatechiny), procyjanidyny oraz kwasy fenolowe (m.in. kwas galusowy, kawowy, ferulowy, p-kumarynowy) (5). Olej z pestek winogron (ang. *grape seed oil*, GSO) zawiera około 90% nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym 58-78% kwasu linolowego i 3-15% kwasu oleinowego. Wysoka zawartość tych kwasów ma istotne znaczenie w profilaktyce i leczeniu miażdżycy (rola w obniżaniu wysokiego poziomu cholesterolu). Nasycone kwasy tłuszczowe stanowią natomiast mniej niż 10% oleju z pestek winogron. Nierafinowany olej zawiera tokoferole oraz liczne związki polifenolowe. GSO charakteryzuje się ponadto wysoką temperaturą dymienia (ok. 190-230°C) (6, 7).

Główne antyoksydacyjne i kardioprotekcyjne składniki pestek winogron

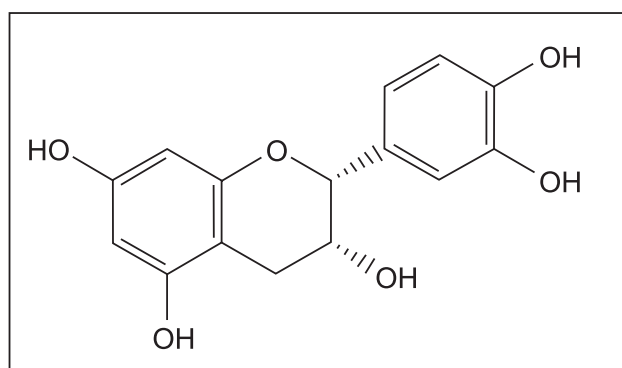
Katechiny

Katechiny stanowią grupę związków o działaniu przeciwmiażdżycowym, wynikającym głównie z ich aktywności przeciwutleniającej, antyplatekcyjnej i przeciwzapalnej. Stwierdzono, że związki te zapobiegają m.in. utlenianiu LDL efektywniej niż α -tokoferol, a poprzez hamowanie aktywacji płytek krwi mogą działać przeciwzakrzepowo (8). Jednym z głównych antyoksydantów zaliczanych do katechin obecnych w pestkach winogron jest (-)-epikatechina (ryc. 1). Polifenol ten jest zmiataczem nadtlenuazotynu (9). Wykazano ponadto, że ochronne działanie jest skierowane przede wszystkim przeciw reakcjom nitrowania. W badaniach *in vitro* epikatechina całkowicie zapobiega nitrowaniu tyrozyny, ale jej ochronna rola wobec oksydacyjnej inaktywacji dehydrogenazy 3-fosfoglicerolu jest znikoma (10). Badania nad antyoksydacyjnym działaniem epikatechiny dostarczają również dowodów na jego ochronną rolę wobec uszkadzającego działania nadtlenuazotynu, silnego endogennego czynnika nitrującego i utleniającego.

Nadtlenoazotyn (ONOO^-) powstaje w wyniku gwałtownej reakcji pomiędzy tlenkiem azotu (NO^*) i anionorodnikiem ponadtlenkowym ($\text{O}_2^{\cdot-}$), zachodzącej w warunkach *in vivo*, głównie w pobliżu komórek wytwarzających jednocześnie duże ilości tych rodników (komórki śródbłonna, aktywowane makrofagi/monocyty, neutrofile) (11, 12).

Ponieważ nadtlenuazotyn jest jednym z głównych czynników przyczyniających się do stresu oksydacyjnego w układzie krążenia, przeciwdziałanie skutkom jego działania jest bardzo istotne w ochronie układu sercowo-naczyniowego. Uważa się, że jednym z antyoksy-

dantów chroniących przed działaniem ONOO^- może być właśnie epikatechina, ponieważ jej cząsteczka ma charakter amfifilowy, co umożliwia przeciwdziałanie uszkodzeniom indukowanym nadtlenuazotynem zarówno w środowisku hydrofilowym, jak i hydrofobowym (13). Badania dotyczące fizjologicznych efektów katechin wykazały również, że galusan epigalokatechiny może mieć korzystny wpływ na przebieg procesu zapalnego w patogenezie zmian miażdżycowych. Zaobserwowano, że w procesie miażdżycowym związek ten działa przeciwzapalnie (14).



Ryc. 1. Struktura chemiczna (-)-epikatechiny.

Antocyjany, antocyjanidyny i procyjanidyny

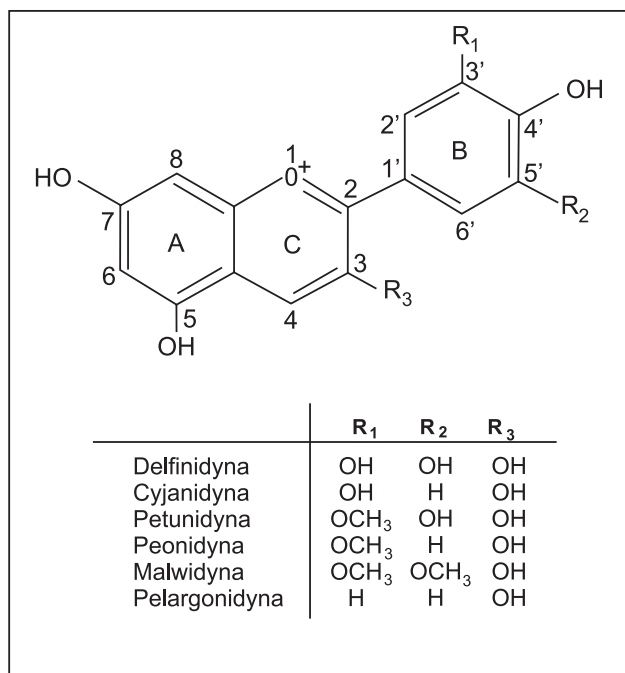
Antocyjany stanowią największą grupę rozpuszczalnych w wodzie barwników roślinnych szeroko rozpowszechnionych w świecie roślin. Występują głównie w kwiatach, owocach, nadając im barwę, ale obecne są też w nasionach, liściach, łodygach i korzeniach roślin. Struktura chemiczna antocyjanów oparta jest na szkielecie antocyjanidyny, do którego przyłączone są różne podstawniki. Obecność różnorodnych grup chemicznych jako podstawników determinuje szeroką aktywność biologiczną tych związków, obejmującą działanie przeciwzapalne, antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne, a nawet przeciwnowotworowe. Istnieje szereg danych wskazujących, że dieta obfitująca w antocyjany odgrywa istotną rolę w profilaktyce chorób układu krążenia i nowotworów (15).

Wykazano, że ekstrakty roślinne bogate w antocyjany mogą wpływać ochronnie na funkcjonowanie ściany naczyń krwionośnych, zapobiegając dysfunkcji śródbłonna i utracie jego aktywności regulatorowej (16). Dieta bogata w te związki ogranicza rozmiar martwicy wywołanej zawałem i przeciwdziała uszkodzeniom powodowanym niedokrwieniem i reperfuzją (17). Pod względem chemicznym antocyjany są glikozydami; glikozylacja sprawia, że są bardziej stabilne i lepiej rozpuszczalne w wodzie. Polifenole te występują

również w formie nieglikozylowanej (aglikony) – jako antocyjanidyny (ryc. 2).

W świecie roślin powszechne są także proantocyjanidyny, znane również jako taniny, oligomery proantocyjanidyn, pycnogenol czy leukocyjanidyny. Większość proantocyjanidyn stanowią związki zawierające w swojej strukturze jednostki epikatechiny, określane są one jako procyanidyny (18). Struktura polifenolu i liczne grupy -OH obecne w cząsteczkach proantocyjanidyn są odpowiedzialne za ich wysoką aktywność antyoksydacyjną (19). Jak wskazują dostępne dane, również procyanidyny stanowią grupę związków biologicznie czynnych o korzystnym wpływie na organizm człowieka.

Związki te wykazują ochronny wpływ na naczynia krwionośne (zapobiegają dysfunkcji nabłonka naczyniowego) ze względu na ich wysoki potencjał antyoksydacyjny (20) i hamujące oddziaływanie na enzymy odpowiedzialne za degradację substratów ścian naczyń krwionośnych (elastazę, kolagenazę, β -glukuronidazę, hialuronidazę) (21). Procyanidyny wykazują także działanie osłonowe w stosunku do witamin C i E. W obecności tych związków zmniejsza się zużycie α -tokoferolu biorącego udział w procesach oksydacyjnych, np. podczas peroksydacji lipidów (22).



Ryc. 2. Najczęściej występujące w roślinach związki zaliczane do antocyjanidyn.

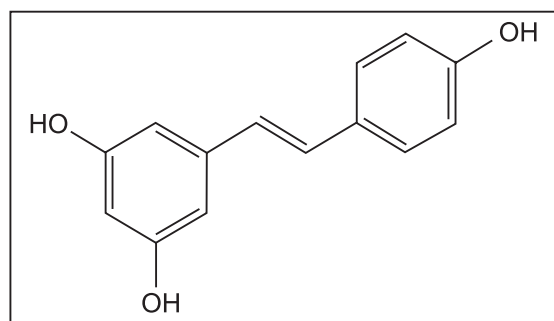
Nienasycone kwasy tłuszczowe i witamina E

Nienasycone kwasy tłuszczowe – głównie kwas linolowy (18:2, Ω 6), oleinowy (18:1) i linolenowy (18:3, Ω 3) stanowią około 90% składu oleju z pestek

winogron. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe Ω 6 znane są z korzystnego wpływu na organizm człowieka, przede wszystkim ze względu na swoje działanie przeciwmiażdżycowe (23, 24). Zaobserwowano także, że wielonienasycone kwasy Ω 3 wykazują właściwości przeciwzapalne, obniżając poziom uwalnianych cytokin prozapalnych, takich jak IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α (25). Badania Richarda i wsp. (26) sugerują, że kwasy te mogą wykazywać aktywność antyoksydacyjną, a połączenie ich przeciwzapalnej i antyoksydacyjnej aktywności może być istotne w zapobieganiu rozwojowi miażdżycy.

Witamina E jest głównym antyoksydantem rozpuszczalnym w lipidach, występującym w 8 formach: 4 tokoferole i 4 tokotrienole. Działanie antyoksydacyjne tych związków polega przede wszystkim na włączaniu się w reakcje wolnorodnikowe (antyoksydanty interwencyjne, usuwające wtórne rodniki). Ze względu na lipofilny charakter witaminy E, stanowi ona główny antyoksydant chroniący lipidy błon i organelli komórkowych. Poprzez reakcje z rodnikami nadtlenkowymi witamina E prowadzi do terminacji reakcji peroksydacji lipidów (27). Wykazano, że olej z pestek winogron jest jednym z głównych źródeł witaminy E; oleje pestek winogron, w zależności od odmiany winorośli zawierają od 1 do 56,06 mg witaminy E w 100 g oleju (28).

Resweratrol



Ryc. 3. Struktura chemiczna resweratrolu.

Należący do polifenoli resweratrol (3,4', 5-trihydroksystilben) występuje w skórce ($\approx 100 \mu\text{g}/100 \text{g}$ świeżej masy) i pestkach winogron (do $20 \mu\text{g}/100 \text{g}$ świeżej masy) (29). Związek ten zawiera w cząsteczce 3 grupy hydroksylowe oraz dwa pierścienie aromatyczne (ryc. 3); może występować w formie *cis* lub *trans*, ale większą aktywność biologiczną wykazuje forma *trans*.

Obecność resweratrolu stwierdzono w ponad 70 gatunkach roślin, w większości są to rośliny jadalne. Ze względu na najwyższą jego zawartość, głównym źródłem resweratrolu są winogrona i produkowane z nich wina czerwone (30). Dostępne dane wskazują, że korzystny wpływ resweratrolu na układ krążenia

może być wynikiem zarówno jego przeciwplatekcyjnych, jak i antyoksydacyjnych właściwości (31). Obecność podstawników hydroksylowych oraz sprzężone wiązania podwójne w pierścieniach mają znaczenie dla właściwości antyoksydacyjnych tego polifenolu. Jest on zmiataczem wolnych rodników i silnym antyoksydantem (wzmocnia działanie wielu enzymów antyoksydacyjnych), choć niektórzy badacze sugerują, że resweratrol w pewnych warunkach może mieć również właściwości prooksydacyjne (32).

Związek ten wpływa na aktywację płytek krwi na różnych jej etapach. Hamuje adhezję płytek krwi do kolagenu i fibrynogenu, a ponadto ogranicza sekrecję związków zmagazynowanych w ziarnistościach płytkowych oraz zmniejsza syntezę tromboksanu A_2 (33, 34). W warunkach *in vitro* resweratrol częściowo hamuje indukowaną trombiną i LPS agregację płytek krwi i osłabia ich adhezję do kolagenu typu I oraz fibrynogenu. Dzięki własnościom antyoksydacyjnym związek ten zapobiega powstawaniu wolnych rodników w płytkach krwi (35). W innych pracach stwierdzono także hamujący wpływ resweratrolu na wywołane ONOO⁻ utlenianie tioli w płytkach krwi (36).

Dokładne mechanizmy działania resweratrolu w płytkach krwi zostały opisane przez Olas (37). Potwierdzeniem skuteczności antyoksydacyjnego działania resweratrolu mogą być także badania na komórkach zwierzęcych. Wykazano, że polifenol ten efektywnie hamuje arytmie serca indukowaną stanem niedokrwienia i reperfuzji (38). Wiadomo również, że resweratrol wspomaga zwalczanie chorób zapalnych (np. zapalenia stawów) poprzez zahamowanie uwalniania mediatorów prozapalnych (na skutek inhibicji COX-1 i COX-2) i syntezy eikozanoidów (metabolitów kwasu arachidonowego). Wykazuje właściwości kardioprotekcyjne i przeciwmiażdżycowe, obniża utlenianie LDL, a także zwiększa uwalnianie tlenu azotu z śródbłonna naczyń krwionośnych. Ogranicza ekspresję białek adhezyjnych na powierzchni komórek śródbłonna oraz migrację leukocytów do miejsca toczącego się procesu zapalnego (39).

Aktywność biologiczna ekstraktu z pestek winogron w ochronie układu krążenia

Profilaktyka i leczenie chorób związanych z układem sercowo-naczyniowym

Pojawia się coraz więcej informacji potwierdzających korzystny wpływ związków obecnych w pestkach winogron na organizm człowieka i ich istotny udział w ochronie układu krążenia. Różnorodność składników zawartych w tych nasionach sprawia, że często trudno jest jednoznacznie określić, które ze związków odpowiadają za obserwowany efekt fizjologiczny.

Większość badaczy podkreśla jednak istotną ochronną rolę antyoksydantów, chociaż należy brać pod uwagę również udział innych właściwości biologicznych substancji występujących w pestkach (40).

Dostępne dane dowodzą, że ekstrakt z pestek winogron wykazuje silne właściwości ochronne wobec uszkodzeń serca wywołanych stanem niedokrwienia i reperfuzji oraz zawałem (41). Wykazano, że ekstrakt ten chroni kardiomiocyty przed działaniem egzogenego nadtlenu wodoru (H_2O_2) (42). Polifenole obecne zarówno w winie, jak i pestkach winogron mogą wykazywać także właściwości przeciwzapalne i antyproliferacyjne. Badania z wykorzystaniem hodowli komórkowych wykazały, że inkubacja komórek z ekstraktami z pestek winogron hamowała aktywność 5-lipooksygenazy (5-LOX), czynnika prozapalnego. Stwierdzono także spadek proliferacji badanych komórek, prawdopodobnie związany z inhibicją 5-LOX (43).

Pestki winogron wykazują także działanie przeciwplatekowe. Zaobserwowano, że ekstrakt z pestek hamuje funkcje płytek krwi i uwalnianie reaktywnych form tlenu towarzyszących ich aktywacji (44). Korzystny wpływ związków zawartych w pestkach winogron potwierdzają również wyniki uzyskane z badań klinicznych. Czterotygodniowa terapia ekstraktem z pestek winogron (150 lub 300 mg na dobę) u osób z zespołem metabolicznym powodowała znaczne obniżenie ciśnienia krwi u tych pacjentów (45). W innych badaniach zaobserwowano natomiast, że ekstrakt z pestek winogron stosowany w dawce 600 mg na dobę (przez 4 tygodnie) powoduje zmniejszenie poziomu markerów stanu zapalnego i glikemii u pacjentów chorych na cukrzycę typu 2. U pacjentów tych dochodziło również do zmniejszenia poziomu cholesterolu. Wyniki te wyraźnie wskazują na możliwość zastosowania ekstraktu jako leku zmniejszającego ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej (46).

Bagchi i wsp. (47) przeprowadzili doświadczenia mające na celu ocenę antyoksydacyjnych właściwości ekstraktu z pestek winogron IH636, zawierającego 54% dimerów proantocyjanidyn, 13% trimerów, 7% tetramerów, ponadto niewielkie ilości monomerów i oligomerów o dużej masie cząsteczkowej oraz flawonoidów (48). Oceniano efektywność zmiatania wolnych rodników przez badany ekstrakt w warunkach *in vitro* i *in vivo*, porównywano również jego działanie z efektami uznanych przeciwutleniaczy: witamin C, E i β -karotenu. Prace te wykazały wysoką biodostępność testowanego preparatu, a także jego silne właściwości antyoksydacyjne. Badany ekstrakt znacznie efektywniej niż poddawane ocenie witaminy zapobiegał uszkodzeniom lipidów i DNA powodowanym przez wolne rodniki.

Dalsze badania nad ekstraktem IH636 (49) wykazały jego kardioprotekcyjną aktywność. Stwierdzono, że suplementacja preparatem proantocyjanidyn wyraźnie poprawia funkcjonowanie serca po incydentach niedokrwiennych, zmniejsza rozmiar pozawałowej martwicy mięśnia sercowego, hamuje migotanie komór oraz tachykardię. Stwierdzono także ograniczenie generowania reaktywnych form tlenu (RFT) i spadek poziomu peroksydacji lipidów. Podobnie, ochronną rolę proantocyjanidyn z pestek winogron wykazały badania Liang i wsp. (50), w których podawanie ekstraktu zawierającego proantocyjanidyny przeciwdziało pozawałowym komplikacjom, takim jak tachykardia.

Jedną z głównych przyczyn śmiertelności w krajach rozwiniętych i rozwijających się jest miażdżycy i jej komplikacje. Patogeneza miażdżycy związana jest z długotrwałym procesem zapalnym rozwijającym się w tętnicach (głównie aorcie i tętnicach wieńcowych) oraz ogniskowym gromadzeniem się monocytów, makrofagów, cząstek LDL, limfocytów i cholesterolu w warstwie pomiędzy komórkami śródbłonna a komórkami mięśniowymi naczyń. Utlenione lipoproteiny LDL odgrywają istotną rolę w rozwoju miażdżycy, m.in. jako czynnik chemotaktyczny stymulujący napływ i gromadzenie się makrofagów. Makrofagi, które przeniknęły do błony wewnętrznej pochłaniają zmodyfikowane LDL, przekształcając się w komórki piankowe. Wynikiem tego nagromadzenia jest przejście zmian patologicznych w ścianie naczynia z etapu wczesnych nacieków tłuszczowych do blaszki miażdżycowej (51, 52). W badaniach *in vitro* dotyczących etapów rozwoju miażdżycy zaobserwowano, że wyciąg z pestek winogron ogranicza gromadzenie cholesterolu i tworzenie komórek piankowych (53). Również z przeprowadzonych badań klinicznych wynika, że zawarte w pestkach winogron procyjanidyny mogą stanowić ważny czynnik profilaktyczny i terapeutyczny w ochronie układu krążenia przed zmianami miażdżycowymi. Wykazano, że przyjmowanie w formie tabletek 200 lub 400 mg ekstraktu z tych nasion przez 12 tygodni powoduje obniżenie poziomu utlenionych LDL (54).

Ochrona przed skutkami ubocznymi chemioterapii

Istotnym zagrożeniem dla układu sercowo-naczyniowego jest również chemioterapia stosowana w leczeniu nowotworów. Działanie cytotoksyczne, indukujące uszkodzenia w tkance serca, stanowi często czynnik obniżający bezpieczną dla pacjenta dawkę leku, co w znacznym stopniu ma wpływ na skuteczność prowadzonego leczenia. Wiadomo, że jednym z toksycznych mechanizmów chemioterapii jest stres oksydacyjny, dlatego też ciągle trwają poszukiwania substancji o działaniu antyoksydacyjnym, które mogłyby chronić kardiomiocyty (55).

Jednym z leków najczęściej stosowanych w terapii przeciwnowotworowej jest doksorubicyna (DOX, adriamycyna). Kliniczne zastosowanie DOX jest jednak często ograniczane, ze względu na jej wysoką kardiotoxyczność, obejmującą zarówno zaburzenia obserwowane bezpośrednio po podaniu, jak i skutki uboczne o charakterze przewlekłym, które mogą prowadzić do niewydolności krążenia (56). Jednym z istotnych mechanizmów toksyczności tego leku jest tworzenie reaktywnych form tlenu i stres oksydacyjny. Dostępne dane sugerują, że związki zawarte w pestkach winogron mogą zapobiegać efektom ubocznym chemioterapii. W badaniach *in vitro* katechina i proantocyjanidyna B₄, polifenole zawarte w pestkach winogron, chroniły kardiomiocyty przed stresem oksydacyjnym wywołanym DOX. Zaobserwowano, że związki te ograniczają tworzenie reaktywnych form tlenu, jak również zmniejszają liczbę komórek serca ulegających apoptozie (57). Stwierdzono również, że ekstrakt z pestek winogron zawierający proantocyjanidyny może przeciwdziałać skutkom ubocznym chemioterapii cisplatyną. Opisujący ekstrakt skutecznie ogranicza zaburzenia będące efektem działania stosowanego leku. Zaobserwowano m.in., że badany preparat hamuje powodowany przez cisplatynę wzrost peroksydacji lipidów, a ponadto zapobiega indukowanemu chemioterapią silnemu spadkowi enzymów antyoksydacyjnych i zredukowanego glutationu (GSH) (58).

Piśmiennictwo

1. Strzelecka H, Kowalski J. Encyklopedia ziołolecznictwa. PWN, Warszawa 2000.
2. Olas B, Nowak P, Kołodziejczyk J i wsp. Protective effects of resveratrol against oxidative/nitrative modifications of plasma proteins and lipids exposed to peroxynitrite. *J Nutr Biochem* 2006; 17:96-102.
3. Olas B, Nowak P, Wachowicz B. Resveratrol protects against peroxynitrite-induced thiol oxidation in blood platelets. *Cell Mol Biol Lett* 2004; 9:577-87.
4. Shigematsu S, Ishida S, Hara M i wsp. Resveratrol, a red wine constituent polyphenol, prevents superoxide-dependent inflammatory responses induced by ischemia/reperfusion, platelet-activating factor, or oxidants. *Free Rad Biol Med* 2003; 7, 810-17.
5. Maier T, Schieber A, Kammerer DR i wsp. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chem* 2009; 112:551-9.
6. Göktürk-Baydar N, Akkurt M. Oil content and oil quality properties of some grape seeds. *Turk J Agric For* 2001; 25:163-8.
7. Bail S, Stuebiger G, Krist S i wsp. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chem* 2008; 108:1122-32.
8. Auger C, Al-Awwadi N, Bornet A i wsp. Catechins and procyanidins in Mediterranean diets. *Food Res Int* 2004; 37:233-45.
9. Wippel R, Rehn M, Gorren A i wsp. Interference of the polyphenol epicatechin with the biological chemistry of nitric oxide- and peroxynitrite-mediated reactions. *Biochem Pharmacol* 2004; 67:1285-95.
10. Schroeder P, Klotz L-O, Buchczyk D i wsp. Epicatechin selectively prevents nitration but not oxidation reactions of peroxynitrite. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285:782-7.
11. Beckman JS, Beckman TW, Chen J i wsp. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:1620-24.
12. Ischiropoulos H, Zhu L, Beckman JS. Peroxynitrite formation from macrophage-derived nitric oxide. *Arch Bio-*

- chem Biophys 1992; 298:446-51. **13.** Schroeder P, Klotz L-O, Sies H. Amphiphilic properties of (-)-epicatechin and their significance for protection of cell against peroxynitrite. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 307:69-73. **14.** Ramesha E, Geraldine P, Thomas PA. Regulatory effect of epigallocatechin gallate on the expression of C-reactive protein and other inflammatory markers in an experimental model of atherosclerosis. *Chem Biol Interact* 2010; 183:125-32. **15.** Lila MA. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach. *J Biomed Biotech* 2004; 306-13. **16.** Bell DR, Gochenaur K. Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *J Appl Physiol* 2006; 100:1164-70. **17.** Toufektsian M-C, de Lorgeril M, Nagy N i wsp. Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. *J Nutr* 2008; 138:747-52. **18.** Nandakumar V, Singh T, Katiyar SK. Multi-targeted prevention and therapy of cancer by proanthocyanidins. *Cancer Lett* 2008; 269:378-87. **19.** Bagchi D, Garg A, Krohn RL i wsp. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract *in vitro*. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997; 95:179-19. **20.** Ariga T. The antioxidative function, preventive action on disease and utilization of proanthocyanidins. *Biofactors* 2004; 21:197-201. **21.** Facino R, Carini M, Aldini G i wsp. Free radicals scavenging action and anti-enzyme activities of procyanidines from *Vitis vinifera*. A mechanism for their capillary protective action. *Arzneimittelforsch* 1994; 44:592-601. **22.** Facino R, Carini M, Aldini G i wsp. Sparing effect of procyanidins from *Vitis vinifera* on vitamin E: *In vitro* studies. *Planta Med* 1998; 64:343-47. **23.** Richard D, Bausero P, Schneider C i wsp. Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular disease. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66:3277-88. **24.** Das UN. Long-chain polyunsaturated fatty acids, endothelial lipase and atherosclerosis. *Prostagl Leukotr Essen Fatty Acids* 72 (2005) 173-9. **25.** Kang JX, Weylandt KH. Modulation of inflammatory cytokines by omega-3 fatty acids. *Subcell Biochem* 2008; 49:133-43. **26.** Richard D, Kefi K, Barbe U i wsp. Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. *Pharmacol Res* 2008; 57:451-5. **27.** Abidi SL. Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. *J Chromatogr A* 2000; 881:197-216. **28.** dos Santos-Freitas L, Jacques RA, Franc M i wsp. Pressurized liquid extraction of vitamin E from Brazilian grape seed oil. *J Chromatogr A* 2008; 1200:80-3. **29.** Li X, Wu B, Li S. Extractable amounts of trans-resveratrol in seed and berry skin *in vitis* evaluated at the germplasm level. *J Agric Food Chem* 2006; 54:8804-11. **30.** Frémont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* 2000; 66,8:663-73. **31.** Olas B, Wachowicz B. Resveratrol, a phenolic antioxidant with effects on blood platelet functions. *Platelets* 2005; 16:251-60. **32.** de la Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem Soc Trans* 2007; 35:1156-60. **33.** Żbikowska HM, Olas B, Wachowicz B i wsp. Response of blood platelets to resveratrol. *Platelets* 1999; 10:247-52. **34.** Żbikowska HM, Olas B. Antioxidants with carcinostatic activity (resveratrol, vitamin E and selenium) in modulation of blood platelet adhesion. *J Physiol Pharmacol* 2000; 3:513-20. **35.** Olas B, Wachowicz B, Saluk-Juszczak J i wsp. Effects of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on platelet activation induced by endotoxin or thrombin. *Thromb Res* 2002; 107:141-5. **36.** Olas B, Nowak, Wachowicz B. Resveratrol protects against peroxynitrite-induced thiol oxidation in blood platelets. *Cell Mol Biol Lett* 2004; 9:577-87. **37.** Olas B. Resveratrol jako dobroczynca w profilaktyce chorób układu krążenia. *Kosmos* 2006; 55:277-85. **38.** Hung L-M, Chen J-K, Huang S-S i wsp. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovasc Res* 2000; 47:549-55. **39.** Shigematsu S, Ishida S, Hara M i wsp. Resveratrol, a red wine constituent polyphenol, prevents superoxide-dependent inflammatory responses induced by ischemia/reperfusion, platelet-activating factor, or oxidants. *Free Rad Biol Med* 2003; 7:810-7. **40.** Yilmaz Y, Toledo R. Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends Food Sci Tech* 2004; 15:422-33. **41.** Sato M, Maulik G, Ray PS i wsp. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 1:1289-97. **42.** Shao ZH, Becker LB, Vanden-Hoek TL i wsp. Grape seed proanthocyanidin extract attenuates oxidant injury in cardiomyocytes. *Pharmacol Res* 2003; 47:463-9. **43.** Leifert WR, Abeywardena MY. Grape seed and red wine polyphenol extracts inhibit cellular cholesterol uptake, cell proliferation, and 5-lipoxygenase activity. *Nutr Res* 2008; 28:842-0. **44.** Vitseva O, Varghese S, Chakrabarti S i wsp. Grape seed and skin extracts inhibit platelet function and release of reactive oxygen intermediates. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46:445-50. **45.** Sivaprakasapillai B, Edirisinghe I, Randolph J i wsp. Effect of grape seed extract on blood pressure in subjects with the metabolic syndrome. *Metab Clin Exp* 2009; 58:1743-6. **46.** Kar P, Laight D, Rooprai HK i wsp. Effects of grape seed extract in type 2 diabetic subjects at high cardiovascular risk: a double blind randomized placebo controlled trial examining metabolic markers, vascular tone, inflammation, oxidative stress and insulin sensitivity. *Diabet Med* 2009; 26(5):526-31. **47.** Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ i wsp. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 2000; 48:187-97. **48.** Pataki T, Bak I, Kovacs P i wsp. Grape seed proanthocyanidins improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rat hearts. *Am J Clin Nutr* 2002; 75:894-9. **49.** Bagchi D, Sen CK, Ray SD i wsp. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutat Res* 2003; 523-524:87-97. **50.** Liang Y, Qiu J, Gao H-Q i wsp. Protective effect of grape seed proanthocyanidins extracts on reperfusion arrhythmia in rabbits. *J Nutr Sci Vitaminol* 2009; 55:223-30. **51.** Mallika V, Goswami B, Rajappa M. Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinical biochemistry perspective. *Angiology* 2007; 58:513-22. **52.** Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47:7-12. **53.** Terra X, Ferna J, Larrea F i wsp. Inhibitory effects of grape seed procyanidins on foam cell formation *in vitro*. *J Agric Food Chem* 2009; 57:2588-94. **54.** Sano A, Uchida R, Saito M i wsp. Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. *J Nutr Vitaminol* 2007; 53:174-82. **55.** Birtle AJ. Anthracyclines and cardiotoxicity. *Clin Oncol* 2000; 12:146-52. **56.** Doroshow JH. Doxorubicin-induced cardiac toxicity. *N Engl J Med* 1991; 324:808-15. **57.** Du Yu, Lou H. Catechin and proanthocyanidin B4 from grape seeds prevent doxorubicin-induced toxicity in cardiomyocytes. *Eur J of Pharmacol* 2008; 591:96-101. **58.** Yousef MI, Saad AA, El-Shennawy LK. Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. *Food Chem Toxicol* 2009; 47:176-83.

otrzymano/received: 28.05.2010
zaakceptowano/accepted: 21.06.2010

Adres/address:
*Joanna Kołodziejczyk
Katedra Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Łódzki
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź
tel./fax: (42) 635-44-82
e-mail: joannak@biol.uni.lodz.pl