

## Rola polifenoli roślinnych w łagodzeniu niekorzystnego wpływu cukrzycy na homeostazę funkcjonowania mitochondriów\*\*

<sup>1</sup>Zakład Zaburzeń Krzepnięcia Krwi, Katedra Diagnostyki Laboratoryjnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Cezary Watała

<sup>2</sup>Katedra Termobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Kierownik Katedry: dr hab. Aneta Koceva-Chyła, prof. nadzw. UŁ

*THE ROLE OF PLANT POLYPHENOLS IN ALLEVIATE THE NEGATIVE IMPACT OF DIABETES ON THE FUNCTIONING OF MITOCHONDRIAL HOMEOSTASIS*

### SUMMARY

*Mitochondria are multifunctional organelle crucial for the proper cell homeostasis. State of chronic hyperglycaemia causes numerous changes in their structure and function, thus contributing to the formation of late complications associated with diabetes. The main reason of such failure are the processes of increased formation of advanced glycation end-products and reactive oxygen species. A diet rich in polyphenols, as well as prophylactic consumption of plant extracts, which are the source of these substances, may limit these adverse effects caused by diabetes or at least delay their emergence. Polyphenols can improve mitochondrial respiration and help in maintaining of the efficient production of ATP. Antioxidant properties of polyphenols and their ability to reduce formation of reactive oxygen species have protective effect on mitochondrial structures. Some polyphenols affect the regulation of gene expression and can enhance the mitochondrial biosynthesis. Polyphenolic extracts, in the form of dietary supplements, can help in a natural way in our combat with the growing epidemic of diabetes and prevent severe complications associated with this disease. It is possible that the use of such preparations could delay the emergence of late diabetic complications or even prevent the development of the disease complications.*

**KEY WORDS: DIABETES – MITOCHONDRIA – REACTIVE OXYGEN SPECIES – ADVANCED GLYCATION END-PRODUCTS – POLYPHENOLS – GREEN TEA – RESVERATROL – OLEUROPEIN – HYDROXYTYROSOL CURCUMINOIDS**

Cukrzyca jest przewlekłą chorobą metaboliczną związaną z powstawaniem wielu długofalowych komplikacji o charakterze mikro- i makroangiopatii, w tym retinopatii, neuropatii, nefropatii, czy zaćmy (katarakty). Dane Światowej Organizacji Zdrowia (WHO)

podają, że w sierpniu 2011 roku ponad 346 mln ludzi chorowało na cukrzycę (1). W porównaniu z danymi ze stycznia tego samego roku liczba ta wzrosła o 126 mln. Szacuje się, że co roku przybywać będzie 10 mln chorych. Oznacza to, że w 2030 roku na każde 10 osób jedna będzie chorowała na cukrzycę, a zatem 552 mln ludzi będzie wymagało do końca swojego życia stałego, mniej lub bardziej intensywnego leczenia (2). Problem przybrał już skalę epidemii, a cukrzyca i związane z nią powikłania stały się jednym z głównych zagrożeń dla zdrowia człowieka w XXI wieku.

W ostatnich latach wiele badań nad cukrzycą zarówno typu pierwszego, jak i drugiego, ujawniło zaburzenia w funkcjonowaniu mitochondriów. Również przekonanie, że pierwotne dysfunkcje mitochondrialne mogą mieć kluczowe znaczenie dla rozwoju insulinooporności, a nawet powstawania cukrzycy. Natomiast wtórne zaburzenia w pracy tych organelli, związane z przewlekłą hiperglikemią, mogą przyczyniać się do pogorszenia stanu chorobowego. Przypuszcza się, że zaburzenia w prawidłowym przebiegu oddychania mitochondrialnego mogą prowadzić do powstawania późniejszych powikłań związanych z cukrzycą (3, 4). Nieprawidłowości w funkcjonowaniu mitochondriów powodują niekorzystne z punktu widzenia całego organizmu zmiany w komórkach, mogące w konsekwencji prowadzić do zmian na poziomie tkankowym. Głównym sprawcą tych uszkodzeń jest przewlekła hiperglikemia i związane z nią procesy: autooksydacja glukozy, glikacja białek, wzmożone powstawanie końcowych produktów zaawansowanej glikacji (AGE) i nasilona produkcja reaktywnych form tlenu (RFT) (5).

\*\*Praca finansowana ze środków Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach projektu „Przygotowanie preparatów polifenolowych pochodzenia roślinnego o właściwościach przeciwpłytkowych i kardioprotekcyjnych – Flawopiryna”.

WHO jednoznacznie zaleca potrzebę regularnej aktywności fizycznej, zachowania zdrowej diety oraz utrzymania prawidłowej masy ciała, jako środek zapobiegawczy i opóźniający rozwój cukrzycy typu drugiego (1). Dieta bogata w owoce, warzywa oraz ich przetwory, ze względu na bogactwo substancji w nich zawartych, w tym polifenoli, może ograniczać niekorzystne zmiany spowodowane przewlekłą hiperglikemią. Hipotezę tę wspierają również badania epidemiologiczne (6).

Związki polifenolowe są obiektem niesłabnącego zainteresowania, m.in. związanego z ich antyoksydacyjnymi i antyglykacyjnymi właściwościami. Badania ostatnich lat wskazują, że są one również w stanie ograniczać niekorzystny wpływ cukrzycy na funkcjonowanie mitochondriów. Zdolności te związane są z różnorodnymi mechanizmami charakterystycznymi dla polifenoli zawartych w ekstraktach, czy też naparach konkretnych roślin. Polifenole mogą wykazywać ochronne działanie wobec struktur mitochondrialnych, poprawiać ich oddychanie oraz pomagać w zachowaniu wydajnej produkcji ATP. Ponadto, związki polifenolowe często wykazują właściwości antyoksydacyjne i zdolność do obniżania powstawania reaktywnych form tlenu (RFT) potocznie zwanych „wolnymi rodnikami”. Niektóre polifenole wpływają również na regulację ekspresji genów oraz mogą wzmacniać biosyntezę mitochondrialną.

### **Hiperglikemia i jej wpływ na prawidłowe funkcjonowanie mitochondriów**

Glukoza w organizmie jest obecna w stosunkowo wysokich stężeniach, zarówno w płynach zewnątrz- jak i wewnątrzkomórkowych, stanowiąc przede wszystkim substrat energetyczny pokrywający około 70% całkowitego zapotrzebowania organizmu. Ulega ona jednak również różnorodnym transformacjom, a niektóre produkty takich przemian mogą wykazywać efekty toksyczne i wpływać niekorzystnie na metabolizm komórkowy, szlaki sygnałowe oraz ekspresję genów. Niekorzystne działanie glukozy na komórki i tkanki zależy od jej stężenia (5), dlatego przewlekła hiperglikemia jest powszechnie łączona z powikłaniami późnocukrzycowymi (7). Za uszkodzenia wynikające z powodu utrzymującej się hiperglikemii odpowiada kilka mechanizmów, w tym m.in. wzmożone wytwarzanie końcowych produktów zaawansowanej glikacji białek (AGE) i stres oksydacyjny. Procesy te spletają się ze sobą powodując, m.in. obserwowane w cukrzycy zaburzenia funkcjonowania mitochondrialnego łańcucha oddechowego oraz upośledzone działanie systemów antyoksydacyjnych, nadprodukcję RFT i oksydacyjne uszkodzenia komponentów mitochondrialnych.

### **Powstawanie zaawansowanych produktów glikacji**

Reakcje nieenzymatycznej glikozylacji (glikacji białek) i glikooksydacji białek, prowadzące do powstawania końcowych produktów zaawansowanej glikacji (znane również pod nazwą reakcji Maillarda), to wieloetapowy proces zachodzący w organizmie w warunkach fizjologicznych i wzmagający się w następstwie długo utrzymującego się zwiększonego stężenia glukozy we krwi. Proces ten polega na nieenzymatycznym przyłączaniu cukru redukującego do wolnej grupy aminowej, co ostatecznie może prowadzić do powstania prekursorów, a następnie końcowych produktów zaawansowanej glikacji (AGE). Powstawanie prekursorów AGE prowadzi do naruszenia integralności funkcjonalnej komórki poprzez modyfikację białek prowadzącą do zmian w aktywności enzymów, zmniejszeniu ich zdolności do wiązania ligandów, modyfikowaniu okresu półtrwania oraz wpływaniu na ich immunogenność. Procesy glikacji przyczyniają się również do powstawania reaktywnych form tlenu, które mogą powodować fragmentację i utlenianie lipidów oraz kwasów nukleinowych (8).

Wzmożona glikacja oraz gromadzenie się w tkance struktur AGE zostało zarejestrowane, m.in. w mięśniach sercowych zwierząt z eksperymentalnie wywołaną cukrzycą, co – jak się uważa – było przyczyną powstawania różnych objawów kardiomiopatii cukrzycowej u tych zwierząt, w tym także zaburzeń w metabolizmie energetycznym komórki (9). Ponadto, glikacji mogą ulegać białka mitochondrialne (10), w wyniku czego dochodzi do uszkodzenia łańcucha oddechowego i zwiększenia produkcji RFT (11, 12). Głównym miejscem „ataku” glukozy wydają się być pompy protonowe łańcucha oddechowego, czyli kompleksy I, III i IV (13, 14, 15).

### **Hiperglikemia i powstawanie reaktywnych form tlenu**

Hiperglikemii zwykle towarzyszy zwiększona produkcja wolnych rodników, szczególnie anionorodnika ponadtlenkowego, jak również upośledzenie systemów obrony antyoksydacyjnej. Wskazuje to na szczególną rolę RFT w powstawaniu i rozwoju cukrzycy oraz jej późniejszych powikłań (7). Najbardziej prawdopodobna hipoteza, łącząca wzmożoną produkcję RFT przez mitochondria w stanie przewlekłej hiperglikemii sugeruje, że spowodowany wysokim stężeniem glukozy wzrost liczby zredukowanych form przenośników elektronów i protonów, takich jak zredukowany dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NADH) oraz zredukowany dinukleotyd

flawinoadeninowy (FADH<sub>2</sub>), powoduje zwiększenie przepływu elektronów przez mitochondrialny łańcuch oddechowy i w konsekwencji hiperpolaryzację wewnętrznej błony mitochondrialnej. Wysoka różnica potencjału elektrochemicznego wytworzona przez gradient protonów, powoduje częściowe zahamowanie działania łańcucha oddechowego na kompleksie III i akumulację elektronów na koenzymie Q. Sprzyja to wytwarzaniu anionorodnika ponadtlenkowego i jest prawdopodobnie głównym źródłem mitochondrialnych dysfunkcji w cukrzycy (16). Ponadto, wszystkie etapy glikacji prowadzące do powstania AGE również przyczyniają się do powstawania wolnych rodników tlenowych, a oba procesy – glikacja i stres oksydacyjny – określane są wspólnym mianem „glikooksydacji”. Dodatkowo, zglikowane białka aktywują swoiste receptory błonowe RAGE, indukując i pogłębiając wewnątrzkomórkowy stres oksydacyjny, a także wpływają na szlaki sygnałowe poprzez aktywację niektórych czynników transkrypcyjnych (5).

### **Glikacja białek, stres oksydacyjny i uszkodzenia mitochondrialne**

Mitochondria to wielofunkcyjne organelle, których prawidłowe funkcjonowanie jest kluczowe dla działania całej komórki. Odpowiedzialne są nie tylko za dostarczanie komórce energii zmagazynowanej w postaci wysokoenergetycznych wiązań ATP (17), ale również decydują o apoptotycznej lub nekrotycznej śmierci komórki (18). Regulują homeostazę wapniową (19), biosyntezę aminokwasów, kwasów tłuszczowych i kofaktorów witamin (20). Odgrywają rolę w syntezie grupy hemowej, steroidów oraz mocznika (21).

Mitochondria oprócz tego, że są głównym miejscem produkcji RFT w komórce, są również głównym miejscem ich działania (22). Stres oksydacyjny poprzez swoje oddziaływanie na mitochondrialny DNA może prowadzić do powstawania zmienionych białek łańcucha oddechowego i zaburzenia komórkowej bioenergetyki (23), doprowadzając nawet do śmierci komórki. Na uszkodzenia oksydacyjne podatne są również lipidy błon mitochondrialnych. Peroksydacja mitochondrialnych fosfolipidów powoduje zmiany w ich strukturze i w konsekwencji może powodować zaburzenia w organizacji dwuwarstwy lipidowej, wpływając na zmiany jej płynności, jak i przepuszczalności. Może mieć to wpływ na zdolność do utrzymywania potencjału mitochondrialnego, oddychanie mitochondrialne oraz proces fosforylacji oksydacyjnej (24). Reaktywne formy tlenu powodują także zmiany w strukturze białek, ich podatności na działanie proteaz i spontanicznej fragmentacji. Uszkodzenia oksydacyj-

ne dotyczą, m.in. białek mitochondrialnego łańcucha oddechowego, powodując zaburzenia w ich pracy, a nawet ich inaktywację.

Zaburzenia w funkcjonowaniu łańcucha oddechowego mogą prowadzić do depolaryzacji błony mitochondrialnej, zmniejszenia produkcji ATP oraz wzmożonej produkcji RFT (18). Nadprodukcja anionorodnika ponadtlenkowego wpływa na aktywność wielu enzymów komórkowych, czynników transkrypcyjnych oraz szlaków sygnałowych. Rodnik ten powoduje zahamowanie aktywności dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego – jednego z enzymów uczestniczących w glikolizie. Efektem tego jest akumulacja glukozy i włączenie jej w alternatywne szlaki metaboliczne oraz zwiększone wytwarzanie AGE. Nadmierny poziom anionorodnika ponadtlenkowego jest również przyczyną zaburzonego działania antyoksydacyjnych systemów komórkowych poprzez spadek stężenia glutationu, cysteiny, kwasu askorbinowego oraz rezerwy witaminy E. W wyniku takich zmian nasila się jeszcze bardziej proces nieenzymatycznej autooksydacji glukozy oraz glikacja białek, co prowadzi do masowego wytwarzania RFT (5), przekierowując metabolizm mitochondriów na tor „błędne koła” (18).

### **Ochronne działanie polifenoli na mitochondria w cukrzycy**

Polifenole są naturalnymi związkami o zróżnicowanej budowie, występującymi w warzywach, owocach, ziarnach, korzeniach, korze i liściach wielu roślin. Zawierają jeden lub więcej pierścieni aromatycznych, do których przyłączone są grupy hydroksylowe (więcej niż jedna). Polifenole zostały podzielone na różne grupy i kategorie ze względu na liczbę pierścieni fenolowych oraz grup chemicznych przyłączonych do pierścieni (25). Związki polifenolowe są produktami metabolizmu wtórnego i stanowią jedną z najliczniejszych grup substancji w królestwie roślin. W tym momencie znanych jest ponad 8000 struktur polifenolowych, z czego kilkaset pochodzi z roślin jadalnych (26, 27). Ludzie spożywają przeciętnie od 0,1 do 1,0 g polifenoli dziennie (28), a ich głównym źródłem jest dieta bogata w owoce i warzywa, jak również zioła, przyprawy, używki (herbata, kawa) oraz wino (29). Wykazano, że polifenole obecne w popularnych produktach spożywczych, takich jak zielona herbata, czerwone wino, kurkuma, oliwki i oliwa, mogą wykazywać ochronne działanie wobec mitochondriów, zwłaszcza w stanach patologicznych, w tym także w cukrzycy.

### **Polifenole z zielonej herbaty**

Zielona herbata (*Camellia sinensis*) to roślina, z której liści zaparza się popularny napój bogaty w

polifenole, w tym katechiny, epikatechiny, epigallokatechiny i gallusany (30). Katechiny wykazują silne właściwości antyoksydacyjne, nawet kilka razy silniejsze niż witaminy C i E. Związki te mogą stanowić do 1/3 suchej masy liści zielonej herbaty. Badania wskazują, że katechiny mogą zapobiegać peroksydacji lipidów oraz są zdolne do zmiatania anionorodnika ponadtlenkowego, jak również innych RFT. Katechiny wykazują również zdolności do zmiany aktywności niektórych enzymów oraz do chelatowania jonów miedzi i żelaza, co zapobiega powstawaniu nadmiernej liczby wolnych rodników (31). Badania epidemiologiczne donoszą, że spożywanie zielonej herbaty zapobiega rozwojowi cukrzycy typu drugiego (30).

Badania Mustaty i wsp. (31) wykazały, że picie zielonej herbaty poprawia funkcjonowanie mitochondriów u zwierząt z eksperymentalnie wywołaną cukrzycą streptozotocynową (STZ). Zwierzętom tym podawano napar z zielonej herbaty (10 g suchej masy herbaty na 750 ml wody) przez okres 12 miesięcy i zauważono, że ilość powstającego w komórkach nerek anionorodnika ponadtlenkowego spadała o 30-35%. W wyizolowanych od zwierząt cukrzycowych mitochondriach zaobserwowano ochronne działanie zielonej herbaty na oddychanie mitochondriów zależne od ADP, jak również poprawę sprzężenia procesów przepływu elektronów w łańcuchu oddechowym i fosforylacji oksydacyjnej. Grupa zwierząt, której podawano napar z zielonej herbaty wykazywała również wyraźną poprawę oddychania w stanie rozprężenia w stosunku do zwierząt chorych nieotrzymujących naparu, co sugerowało efekt ochronny w stosunku do enzymów mitochondrialnych, funkcjonowania cyklu Krebsa, jak również łańcucha oddechowego. W przypadku zwierząt z cukrzycą, których dieta nie była suplementowana naparem z zielonej herbaty, parametr ten uległ znacznemu obniżeniu w stosunku do zwierząt zdrowych, sugerując wpływ przewlekłej cukrzycy na funkcjonalność cyklu Krebsa lub łańcucha oddechowego. Zielona herbata wykazała też właściwości ochronne w stosunku do białek mitochondrialnych, chroniąc je przed zmianami wywołanymi stresem di-karbonylowym, gdyż liczba oznaczonych modyfikacji w stosunku do kontrolnej grupy zwierząt chorych była znacznie niższa. Herbata ograniczyła również negatywny wpływ cukrzycy na aktywność III kompleksu oddechowego, obniżoną o 20% u zwierząt cukrzycowych w stosunku do zwierząt zdrowych (31).

Wiele z dobroczynnych właściwości polifenoli zielonej herbaty jest przypisywanych najobficiej w niej występującej katechinie (galusanowi epigallokatechiny, EGCG). Przewlekłej hiperglikemii często towarzyszy zaburzona biogeneza mitochondriów, co

przyczynia się do zakłócenia energetyki komórek, stresu oksydacyjnego, a w konsekwencji do dysfunkcji tkanek i narządów. W badaniach na linii komórek adipocytarnych 3T3-L1 stwierdzono, że EGCG sprzyja zwiększonej biosyntezie mitochondriów poprzez wpływ na przyrost masy mitochondrialnej, wzmożoną ekspresję I, II oraz V kompleksu łańcucha oddechowego, przyrost kopii mtDNA, czy zwiększenie ilości kofaktora dla receptora aktywowanego przez proliferatory peroksyosomów (PGC-1 $\alpha$ , ang. *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*), głównego regulatora biosyntezy mitochondrialnej. Zebrane obserwacje sugerują, że EGCG może ponadto zapobiegać niekontrolowanemu przerostowi tkanki tłuszczowej związanemu z cukrzycą na drodze remodelingu mitochondriów oraz nasilenia utleniania kwasów tłuszczowych (32).

### Polifenole z czerwonego wina

Resweratrol (RSV) to polifenol występujący w około 70 gatunkach roślin, w tym w winogronach (*Vitis vinifera*), żurawinie (*Vaccinium macrocarpon*) i orzeszkach ziemnych (*Arachis hypogaea*). Jego dużą zawartość stwierdzono również w czerwonym winie (33, 34). Resweratrol jest polifenolem, któremu poświęcono chyba najwięcej uwagi w badaniach, toteż wachlarz jego aktywności został poznany szczególnie szeroko i dokładnie. Wiadomo na przykład, że resweratrol indukuje geny fosforylacji oksydacyjnej oraz wzmaga biosyntezę mitochondrialną w mięśniach szkieletowych u myszy karmionych dietą z jego wysoką zawartością. RSV, znany jako aktywator białek deacetylujących, zmniejsza acetylację aktywatora transkrypcji PGC-1 $\alpha$  oraz nasila jego aktywność, co sprzyja biosyntezie mitochondrialnej. Dodatkowo chroni przed indukowaną przy pomocy diety otyłością i insulinoopornością w modelu mysim (35). Badania nad wpływem RSV na liczbę mitochondriów w aortach myszy rasy db/db z cukrzycą typu drugiego wykazały, że 4-tygodniowa suplementacja resweratrolem powodowała znaczący wzrost zawartości mitochondrialnego DNA i wzmożoną ekspresję czynników biosyntezy mitochondriów, w tym PGC-1 $\alpha$  oraz czynnika transkrypcyjnego Nrf2 (ang. *nuclear erythroid 2-related factor*) na drodze aktywacji białek regulatorowych SIRT1 (ang. *silent mating type information regulation 2 homolog*) (36). Okazało się, że ochronny wpływ RSV przynajmniej w części wynika z aktywacji systemów antyoksydacyjnych (37). Dodatkowo, w badaniu myszy cukrzycowych rasy db/db, resweratrol znacznie obniżył ekspresję genów zależną od czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B, od którego zależy transkrypcja wielu genów prozapalnych, podwyższających stężenie

RFT w komórce. RSV poprzez wpływ na aktywację Nrf2 wykazuje również działanie antyoksydacyjne, nie tylko wobec mitochondriów, ale i całej komórki. Nrf2 to podstawowy czynnik transkrypcyjny, który reguluje ekspresję kluczowych antyoksydantów, wpływając na komórkowe i mitochondrialne stężenia RFT (34).

### Polifenole z oliwek

Hydroksytyrosol (HT) jest interesującym pod względem swoich właściwości polifenolem obficie występującym w oliwkach (*Olea europea* L.) oraz oliwie, które stanowią ważny składnik diety śródziemnomorskiej. Większość jego dobroczynnych właściwości związana jest ze zdolnością do zmiatania RFT oraz aktywacji endogennych systemów antyoksydacyjnych. Jego zdolność redukowania powstawania RFT została potwierdzona w badaniach na szczurach z cukrzycą indukowaną przy pomocy aloksanu, którym podawano oczyszczony związek (38). Ponadto, badania Hao i wsp. (39) na linii adipocytarnej 3T3-L1 wykazały zdolność hydroksytyrosolu do stymulacji biosyntezy mitochondriów, która w cukrzycy jest w naturalny sposób znacznie obniżona w tych komórkach. HT chroni również mitochondria przed obniżeniem syntezy mitochondrialnego DNA i czynników transkrypcyjnych, takich jak Nrf1 (ang. *nuclear respiratory factor 1*) oraz Tfam (ang. *transcription factor A, mitochondrial*). W adipocytach fizjologiczne stężenia HT skutkują zwiększeniem ekspresji wszystkich mitochondrialnych kompleksów, w tym syntezy ATP, jak również zintensyfikowaniem oddychania mitochondrialnego. HT wywołuje także zwiększenie biosyntezy mitochondrialnej poprzez ścieżkę związaną z PGC-1 $\alpha$ . Właściwości tego polifenolu sprawiają, że przypisuje mu się rolę związku potencjalnie zdolnego do obniżenia ryzyka rozwoju cukrzycy typu drugiego (39).

Dodatkowo badania Cumaoglu i wsp. (40) wykazały, że ekstrakty z liści i owoców oliwki oraz jeden z ich polifenolowych składników – oleuropeina – są w stanie chronić wytwarzające insulinę komórki  $\beta$  (INS-1, ang. *insulin-producing  $\beta$ -cell line*) przed niekorzystnym wpływem cytokin. Komórki linii INS-1 były preinkubowane przez 24 h z rosnącymi stężeniami oleuropeiny oraz ekstraktami z liści lub owoców oliwki. Następnie zostały one potraktowane mieszaniną interleukiny-1 $\beta$ , interferonu- $\gamma$  i czynnika martwicy nowotworu (TNF- $\alpha$ ) sprzyjającym powstawaniu dużych ilości RFT, a także zmniejszeniu stężenia glutationu, zmniejszeniu aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i wydzielaniu insuliny z komórek INS-1. Cytokiny wpływają również na wzmożenie procesu apoptozy wśród komórek. Przy użyciu testu MTT, opartego na działaniu mitochondrialnej dehydrogenazy burszty-

nianowej, sprawdzono żywotność takich komórek. Oba ekstrakty, jak i oleuropeina, zwiększyły stosunek żywych komórek po zadziałaniu mieszaniny cytokin w stosunku do próby kontrolnej, nie zawierającej polifenoli. Dodatkowo każdy z tych trzech preparatów wykazał znaczną redukcję powstających pod wpływem cytokin RFT. Ponadto ekstrakt z liści oliwnych niemal całkowicie ochronił wytwarzanie insuliny przez komórki  $\beta$ . Badacze ci przypuszczają, że polifenole pochodzące z liści i owoców oliwki są w stanie chronić komórki przed indukowaną przez cytokiny apoptozą komórek  $\beta$  trzustki (40).

### Polifenole z kurkumy

Kurkuminoidy to polifenole pochodzące z ostrzyżu długiego (*Curcuma longa* L.), nazywanego również kurkumą (długą), ostrzyżem indyjskim lub szafranem indyjskim. Rastogi i wsp. (41) badali wpływ doustnego podawania kurkuminooidów na stres oksydacyjny oraz zaburzenia w funkcjonowaniu mitochondriów izolowanych z mózgu szczurów z cukrzycą STZ. Zaobserwowali oni obniżenie peroksydacji lipidów oraz przywrócenie normalnego poziomu endogennych enzymów antyoksydacyjnych. Obniżona u zwierząt cukrzycowych ekspresja I i IV kompleksu oddechowego znacząco wzrosła, znacznie zwiększyła się też produkcja ATP. Zmiany pod wpływem polifenoli z kurkumy sugerują, że związki te wykazują działanie ochronne w stosunku do mitochondriów poprzez wzmocnienie ochrony antyoksydacyjnej, dzięki czemu są w stanie łagodzić uszkodzenia mózgu u szczurów z cukrzycą STZ.

### Podsumowanie

Mitochondria w komórkach organizmów z cukrzycą są upośledzone w dwojaki sposób: charakteryzują się pogorszeniem parametrów mitochondrialnych, co nierozzerwalnie wiąże się z obniżoną zdolnością do wytwarzania ATP, ale także – co nie mniej istotne – cechuje je zwiększone powstawanie reaktywnych form tlenu oraz upośledzenie ochrony antyoksydacyjnej komórek. Polifenole wykazują wiele właściwości, które mogą przyczynić się do ograniczenia tych niekorzystnych zmian, w tym poprzez ochronne działanie na integralność strukturalną oraz funkcjonalność mitochondriów. Badania nad właściwościami znanych już polifenoli oraz poszukiwanie nowych nieznanych struktur polifenolowych może w przyszłości przynieść duże korzyści. Polifenolowe ekstrakty roślinne pod postacią suplementów diety mogą wspomagać walkę z rosnącą epidemią cukrzycy oraz zapobiegać ciężkim powikłaniom związanym z tą chorobą. Niewykluczone, że przyjmowanie takich preparatów

zapobiegawczo mogłoby opóźnić powstanie powikłań późnocukrzycowych lub nawet zapobiegać rozwojowi samej choroby.

### Piśmiennictwo

1. www.who.int/diabetes/en 2. www.idf.org/diabetesatlas 3. Ulicna O, Vancova O, Bozek P i wsp. Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) partially prevents oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Physiol Res* 2006; 55:157-64. 4. Waczulikova I, Habodaszova D, Cagalinec M i wsp. Mitochondrial membrane fluidity, potential, and calcium transients in the myocardium from acute diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2007; 85:372-81. 5. Solnica B: Molecular mechanisms of the damaging effect of glucose on tissues. *Diabetol Dośw Klin* 2006; 5:1-8. 6. Thomas T, Pfeiffer AF. Foods for the prevention of diabetes: how do they work? *Diabet Metab Res Rev* 2012; 28:25-49. 7. Rolo AP, Palmeira CM. Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharm* 2006; 212:167-78. 8. Ahmed N. Advanced glycation endproducts – role in pathology of diabetic complications. *Diabet Res Clin Pract* 2004; 67:3-21. 9. Donaldson C, Taatjes DJ, Zile M i wsp. Combined immunoelectron microscopic and computer-assisted image analyses to detect advanced glycation end-products in human myocardium. *Histochem Cell Biol* 2010; 134:23-30. 10. Kang Y, Edwards L, Thornalley P. Effect of methylglyoxal on human leukemia 60 cell growth: modification of DNA, growth arrest and induction of apoptosis. *Leuk Res* 1996; 20:397-405. 11. Punkt K, Adams V, Linke A i wsp. The correlation of cytophotometrically and biochemically measured enzyme activities: changes in the myocardium of diabetic and hypoxic diabetic rats, with and without *Ginkgo biloba* extract treatment. *Acta Histochem* 1997; 99:291-9. 12. Wallace D. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999; 283:1482-8. 13. Bessman S, Mohan C. Insulin as a probe of mitochondrial metabolism *in situ*. *Mol Cell Biochem* 1997; 174:91-6. 14. Boquist L, Ericsson I, Lorentzon R i wsp. Alteration in mitochondrial acetylase activity and respiration and in concentration of citrate in some organs of mice with experimental or genetic diabetes. *FEBS Lett* 1985; 183:173-6. 15. Craven P, Melhem M, Phillis S i wsp. Overexpression of Cu<sup>2+</sup>/Zn<sup>2+</sup> superoxide dismutase protects against early diabetic glomerular injury in transgenic mice. *Diabetes* 2001; 50:2114-25. 16. Nishikawa T, Edelstein D, Brownlee M. The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int* 2001; 58:26-30. 17. Wojtczak L, Zabłocki K. Mitochondria w życiu, chorobie i śmierci komórki. *Post Biochem* 2008; 54:129-41. 18. Waldbaum S, Patel M. Mitochondria, oxidative stress, and temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 2009; 88:23-45. 19. Kuznetsov AV, Margreiter R. Heterogeneity of mitochondria and mitochondrial function within cells as another level of mitochondrial complexity. *Int J Mol Sci* 2009; 10:1911-29. 20. Logan DC. The mitochondrial compartment. *J Exp Bot* 2009; 5:1225-43. 21. Pinti M, Nasi M, Gibellini L i wsp. The role of mitochondria in HIV infection and its treatment. *J Exp Clin Med* 2010;

2:145-55. 22. Duchon MR. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology. *Mol Aspects Med* 2004; 25:365-451. 23. Stuart JA, Brown MF. Mitochondrial DNA maintenance and bioenergetics. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1757:79-89. 24. Paradies G, Petrosillo G, Paradies V i wsp. Oxidative stress, mitochondrial bioenergetics, and cardiolipin in aging. *Free Radic Biol Med* 2006; 48:1286-95. 25. Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998; 56:317-33. 26. Pandey KB, Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev* 1998; 2:270-8. 27. Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Ann Rev Nutr* 1998; 22:19-34. 28. Panickar KS, Anderson RA. Effect of polyphenols on oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neuronal death and brain edema in cerebral ischemia. *Int J Mol Sci* 1998; 12:8181-207. 29. Han X, Shen T, Lou H. Dietary polyphenols and their biological significance. *Int J Mol Sci* 2007; 8:950-88. 30. Tsuneki H, Ishizuka M, Terasawa M i wsp. Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. *BMC Pharmacol* 2007; 18:1-10. 31. Mustata GT, Rosca M, Biemel KM i wsp. Paradoxical effects of green tea (*Camellia sinensis*) and antioxidant vitamins in diabetic rats. Improved retinopathy and renal mitochondrial defects but deterioration of collagen matrix glycooxidation and cross-linking. *Diabetes* 2007; 54:517-26. 32. Liu J, Shen W, Zhao B i wsp. Targeting mitochondrial biogenesis for preventing and treating insulin resistance in diabetes and obesity: Hope from natural mitochondrial nutrients. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61:1343-52. 33. Han X, Shen T, Lou H. Dietary polyphenols and their biological significance. *Int J Mol Sci* 2007; 8:950-88. 34. Ungvar Z, Sonntag E, Cabo de R i wsp. Mitochondrial protection by resveratrol. *Exerc Sport Sci Rev* 2011; 39:128-32. 35. Lagouge M, Armann C, Gerhart-Hines Z i wsp. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* 2006; 127:1109-22. 36. Csiszar A, Labinskyy N, Pinto JT, i wsp. Resveratrol induces mitochondrial biogenesis in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297:13-20. 37. Ungvari Z, Labinskyy N, Mukhopadhyay P i wsp. Resveratrol attenuates mitochondrial oxidative stress in coronary arterial endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297:1876-81. 38. Jemai H, El Feki A, Sayadi S. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. *J Agric Food Chem* 2009; 57:8798-804. 39. Hao J, Shen W, Yu G i wsp. Hydroxytyrosol promotes mitochondrial biogenesis and mitochondrial function in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutr Biochem* 2009; 21:634-44. 40. Cumaoglu A, Ari N, Kartal M i wsp. Polyphenolic extracts from *Olea europaea* L. protect against cytokine-induced  $\beta$ -cell damage through maintenance of redox homeostasis. *Rejuven Res* 2011; 14:325-34. 41. Rastogi M, Ojha RP, Rajamanickam GV i wsp. Curcuminoids modulates oxidative damage and mitochondrial dysfunction in diabetic rat brain. *Free Radic Res* 2008; 42:999-1005.

otrzymano/received: 08.10.2012  
zaakceptowano/accepted: 29.11.2012

Adres/address:  
\*mgr Karolina Siewiera  
Zakład Zaburzeń Krzepnięcia Krwi  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
ul. Żeromskiego 113, 90-549 Łódź  
tel: +48 (42) 639-34-71  
e-mail: karolina.siewiera@umed.lodz.pl