

Podstawy do zastosowania polifenoli roślinnych jako nutraceutyków o właściwościach przeciwplatekcyjnych**

¹Zakład Zaburzeń Krzepnięcia Krwi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Cezary Watała

²Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Jan Oszmiański

RATIONALE FOR THE USE OF PLANT POLYPHENOLS AS ANTIPLATELET NUTRACEUTICALS

SUMMARY

Nutraceuticals are foods which combine nutritional value and pharmaceutical properties. These are intermediate products between traditional food and medicine. Polyphenolic compounds are very popular as nutraceuticals. Observations describing the effect of diet rich in polyphenols have encouraged research into the molecular mechanisms of antiplatelet activity of these compounds. In vitro studies have demonstrated that these compounds block the various pathways of platelet activation, mainly cyclooxygenase and lipoxygenase activity. Both the results of basic research and epidemiological studies provide a basis to conclude that the preparations of plant origin exhibiting antiplatelet properties may become in the near future an important part of prevention of cardiovascular disease.

KEY WORDS: NUTRACEUTICALS – POLYPHENOLS – PLATELETS – FLAVONOIDS

Nutraceutyki

Pojęcie „nutraceutyki” (ang. *nutraceuticals*) jest połączeniem dwóch słów: *nutrition* (żywność) oraz *pharmaceutics* (farmaceutyki). Zostało ono wprowadzone po raz pierwszy w 1989 przez Fundację Innowacji w Medycynie (*Foundation for Innovation in Medicine*) w USA. Nutraceutyk to żywność lub substancja wyizolowana z matrycy produktu żywnościowego, zagęszczona, mająca działanie prozdrowotne, profilaktyczne, w postaci kapsułek, pigułek, ekstraktów i innych podobnych postaci leku (1). Jest to produkt pośredni między tradycyjną żywnością a lekiem. Są to związki obecne na półkach sklepowych jako produkty o pośrednich cechach między lekami a produktami tradycyjnej żywności, sprzedawane w różnych formach jako pigułki, kapsułki, tabletki, syropy i inne. Nie są

zalecane do spożycia jako żywność konwencjonalna w postaci posiłków czy diety, tylko jako dodatki żywnościowe. Sprzedawane są jako żywność bez specjalnych certyfikatów wymaganych dla leków.

Nutraceutyki w USA, jako dodatki do żywności, mają także inne określenia: żywność terapeutyczna, produkty fitochemiczne, substancje profilaktyczne, żywność farmaceutyczna (*pharmafood*), żywność funkcjonalna. W ustawie o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz.U. 2006, Nr 171, poz. 1225) wymienione są jedynie trzy kategorie: suplementy diety, środki spożywcze specjalnego przeznaczenia żywieniowego, dietetyczne środki spożywcze specjalnego przeznaczenia medycznego. Należy zaznaczyć, że w ustawodawstwie europejskim częściej używa się pojęć „suplementy diety” i „żywność funkcjonalna” (2). W polskim piśmiennictwie spotykamy także określenie „żywność wzbogacona” (3).

Prozdrowotne polifenole znajdują się we wszystkich z wyżej wymienionych środkach spożywczych, ale z uwagi na nastawienie niniejszej publikacji na konkretne zjawisko fizjologiczne (wzmózona reaktywność płytek krwi) występujące u osób zagrożonych chorobami sercowo-naczyniowymi, uznano że określenie nutraceutyki będzie najbardziej właściwe i pozwoli na ominięcie problemu w odróżnieniu suplementów diety od leków roślinnych. W opisywanym w pracy przypadku mamy do czynienia ze ściśle zdefiniowanym działaniem prozdrowotnym. W związku z powyższym, omawiane preparaty lokują się na granicy żywności i środków farmaceutycznych.

Należy przypuszczać, że rozgraniczenie tych dwóch kategorii powinno nastąpić w ciągu najbliższych lat, gdyż preparaty z kategorii „pogranicza” są stałym źródłem konfliktów między producentami suplementów diety a producentami leków roślinnych (4).

**Praca współfinansowana z projektu „Przygotowanie preparatów polifenolowych pochodzenia roślinnego o właściwościach przeciwplatekcyjnych i kardioprotekcyjnych (FLAWOPIRYNA)”, współfinansowanego przez Unię Europejską, ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, nr UDA-POIG.01.03.01-10-129/08.

Nie zagłębiając się w aspekty terminologiczne można stwierdzić, że zainteresowanie preparatami (nutraceutykami) zawierającymi prozdrowotne polifenole wynika z:

- profilaktyki chorób cywilizacyjnych,
- dążenia do poprawy jakości życia,
- starzenia się społeczeństw w Europie i USA,
- zainteresowania alternatywną medycyną,
- dążenia do obniżenia kosztów ochrony zdrowia,
- wzrostu badań naukowych o efektach leczniczych naturalnych substancji.

Nutraceutyki charakteryzują się specjalną recepturą i sposobem wytwarzania, przeznaczone są głównie dla osób, które z powodów terapeutycznych lub ze względu na dolegliwości mają ograniczoną lub upośledzoną zdolność przyjmowania zwykłych pokarmów, albo mają zalecenia lekarskie co do sposobu odżywiania. Stwierdza się, że w trzecim tysiącleciu żywność prozdrowotna, suplementy diety i leki roślinne stanowią będą integralny system ochrony zdrowia (5).

Wśród nutraceutyków na szczególną uwagę zasługują tzw. fitonutraceutyki, tj. substancje pochodzenia roślinnego, do których należą: flawonoidy, karotenoidy, saponiny i inne. Dotychczas zidentyfikowano ponad 900 substancji fitochemicznych, bada się je jako potencjalne nutraceutyki. W Unii Europejskiej sprzedaje się około 1400 rodzajów preparatów roślinnych stosowanych w celu poprawy zdrowia. Możliwości w zakresie zwiększenia użycia surowców roślinnych w produkcji nutraceutyków i leków roślinnych są bardzo duże. Spośród ponad 400 000 gatunków roślin poznanych na Ziemi za lecznicze uważa się około 40 000 gatunków, a dokładniej przebadane zostało zaledwie kilka tysięcy, czyli 1-1,5% (6). Podstawowe znaczenie w fitoterapii europejskiej odgrywa dotychczas tylko 25 surowców. Należy pamiętać, że rośliny lecznicze teoretycznie nie mogą być surowcem do produkcji suplementów diety, a jedynie do otrzymywania leków roślinnych.

Potencjalnym źródłem nutraceutyków roślinnych są następujące wtórne metabolity roślin:

- karotenoidy w zielonych i żółtych owocach oraz warzywach,
- glukozyzyny w kapuście i warzywach korzeniowych,
- polifenole w owocach, warzywach i ich przetworach,
- terpeny w owocach cytrusowych, przyprawach i ziołach,
- związki siarczkowe w cebuli, czosnku i porach,
- fitosterole w nasionach roślin oleistych,
- fitoestrogeny w soi, ziarnach zbóż i nasionach lnu (7).

W produkcji nutraceutyków przodują USA, Japonia i Szwajcaria. Japonia jest obecnie jedynym krajem, w którym produkcja i obrót tymi produktami jest ściśle kontrolowany. Tylko po dokładnym sprawdzeniu dopuszczane są one na rynek z napisem FOSHU – *Food for Specified Health Use* (żywność o specjalnych walorach zdrowotnych). W USA 60 milionów mieszkańców regularnie używa nutraceutyki, wydając rocznie 12 mld dolarów.

Moda na te produkty dotarła także do Europy. Wiedza o działaniu nutraceutyków na organizm ludzki nie jest w pełni poznana, w dalszym ciągu więcej jest pytań niż odpowiedzi (7).

Które nutraceutyki i w jakich chorobach wykazują działanie profilaktyczne i prozdrowotne?

Jakie są przeciwwskazania i ograniczenia ilościowe w ich stosowaniu?

Czy korzystne są pojedyncze związki czy mieszanki?

W jakim stopniu korzystne działanie bioaktywne nutraceutyków jest zachowane podczas procesu technologicznego?

W upowszechnianiu stosowania nutraceutyków pojawiają się także ostrzeżenia (8, 9): przeciwutleniacze w nadmiernych dawkach mogą być proutleniaczami, zmiatacze wolnych rodników mogą obniżać skuteczność terapii, np. przeciwnowotworowej. Mogą nadmiernie obniżać krzepliwość krwi w połączeniu z innymi lekami, np. ASA, a także utrudniać wstrzymanie krwawienia po operacjach chirurgicznych. Jednak do tej pory nie w pełni poznane są efekty uboczne stosowania nutraceutyków w dużych dawkach (efekt kumulacji) (10).

Szczególnie dużym zainteresowaniem, jako nutraceutyki, cieszą się związki polifenolowe. Związki te wykazują właściwości przeciwutleniające i zmiatające szkodliwe dla zdrowia wolne rodniki. Jako przeciwutleniacze zapobiegają utlenianiu cholesterolu powodującego zwężanie naczyń krwionośnych oraz hamują agregację płytek krwi, poprawiają wytrzymałość nabłonka i zwiększają średnicę naczyń, przepływ krwi i obniżają jej ciśnienie. Prozdrowotne właściwości związków polifenolowych opisane są w specjalistycznych bazach danych, np. Phenol-Explorer (11), lub w wielu innych przydatnych opracowaniach mówiących o znaczeniu polifenoli w profilaktyce i leczeniu chorób (12).

Systematyka związków polifenolowych i ich właściwości prozdrowotne

Polifenole są jednymi z najważniejszych naturalnych przeciwutleniaczy o silnej zdolności zmiatania wolnych rodników. Występują one tylko w organizmach roślinnych, które w przeciwieństwie do zwierzęcych,

zdolne są do wytworzenia pierścieni aromatycznych (13). Gromadzone są w różnych częściach roślin: owocach, kwiatach, liściach i korzeniach. Pełnią rolę ochronną przed promieniowaniem ultrafioletowym oraz różnymi drobnoustrojami chorobotwórczymi. Polifenole okazały się ważne nie tylko dla roślin, ale także dla zdrowia ludzkiego. Aktywność biologiczna oraz właściwości fizykochemiczne flawonoidów, najliczniejszej grupy polifenoli roślinnych, zależą od liczby, rodzaju oraz miejsca położenia podstawników w cząsteczce (13, 14).

Różnorodne właściwości chemiczne, fizyczne i biologiczne oraz ich wielokierunkowa aktywność biologiczna, wykazana w różnych modelach doświadczalnych prowadzonych na zwierzętach i ludziach, jest wynikiem bardzo zróżnicowanej struktury związków polifenolowych. Substancje te wykazują aktywność przeciwutleniającą, przeciwzapalną, przeciwalergiczną, antyhepatotoksyczną, antymutagenną, przeciwnowotworową i przeciwmiażdżycową (13, 14). Zastosowanie ekstraktów roślinnych w profilaktyce i leczeniu chorób sercowo-naczyniowych ma długą tradycję w medycynie wschodniej, tam też czynione są próby przygotowania preparatów o ściśle określonych właściwościach przeciwpłytkowych (15). W Polsce problematyka także została dostrzeżona, pojawiły się już pierwsze opracowania na ten temat (16-20).

Związki polifenolowe mają pierścień benzenowy z dwoma lub więcej grupami hydroksylowymi. Większość związków fenolowych występuje w połączeniu z cukrami, kwasami organicznymi oraz estrami; niewielka część występuje w postaci aglikonów (21). Charakteryzują się dużą różnorodnością budowy, dzielą się na kilkanaście różnych grup. Zidentyfikowano ponad 8000 tych związków. Występują one w postaci związków niskocząsteczkowych, jak fenolokwasy i wysoko-

cząsteczkowych spolimeryzowanych tanin. Zasadniczo są one w naturze obecne w postaci glikozydów, mogą łączyć się także z kwasami organicznymi, aminami, lipidami i innymi związkami (22).

Polifenole są klasyfikowane na różne grupy, zależnie od funkcji i liczby grup fenolowych w pierścieniu benzenowym i sposobu połączenia pierścieni. Wśród związków polifenolowych wyróżnia się główne klasy: fenolokwasy, flawonoidy, antocyjany, stilbeny i lignany (tab. 1 i 2) (23).

Fenolokwasy

Fenolokwasy występują powszechnie w żywności i stanowią około jednej trzeciej części związków polifenolowych naszej diety. Dzielą się one na dwie klasy: pochodne kwasu hydroksybenzoesowego i hydroksycynamonowego. Zawartość pochodnych kwasu hydroksybenzoesowego w żywności jest stosunkowo niska, z wyjątkiem pewnych czerwonych owoców, czarnej rzodkwi i cebuli, które zawierają je w ilości kilkudziesięciu miligramów na kilogram świeżej masy. Pochodne kwasu galusowego i elagowego powszechnie występują także w formie wysokocząsteczkowych tanin hydrolizujących (21). Pochodne kwasu hydroksycynamonowego są bardziej rozpowszechnione w produktach roślinnych niż pochodne kwasu hydroksybenzoesowego i zawierają głównie kwas p-kumarowy, kawowy, ferulowy i synapowy. Kwasy te występują głównie w postaci związanej, jako glikozydy lub estry kwasów: chinowego, szikimowego czy winowego. Kwas kawowy i chinowy tworzą kwas chlorogenowy, który jest najbardziej rozpowszechniony w owocach i kawie. Filiżanka kawy może zawierać 70-350 mg kwasu chlorogenowego. Podobnie dużo kwasów fenolowych zawierają owoce, takie jak borówka czernica, kiwi, śliwki, wiśnie, aronia, jabłka (0,5-2 g kwasów hydroksycynamonowych w 1 kg owoców) (24).

Tabela 1. Podział, struktura chemiczna, przedstawiciele polifenoli nieflawonoidowych oraz piśmiennictwo dotyczące ich właściwości przeciwpłytkowych (wg 13, 14).

Nazwa grupy	Przedstawiciele i ich struktura chemiczna	Piśmiennictwo dotyczące właściwości przeciwpłytkowych
Kwasy hydroksybenzoesowe	kwas wanilinowy kwas protokatechinowy kwas p-hydroksybenzoesowy	Brak doniesień
Kwasy hydroksycynamonowe	kwas kawowy kwas p-kumarynowy kwas ferulowy	45
Stilbeny	trans-resweratrol	42
Lignany	enterodiol	46

Tabela 2. Podział, struktura chemiczna, przedstawiciele głównych klas flawonoidów i piśmiennictwo dotyczące ich właściwości przeciwplytkowych (wg 47, 48).

Klasa flawonoidów	Przedstawiciele i ich struktura chemiczna	Piśmiennictwo dotyczące właściwości przeciwplytkowych
Izoflawonoidy	genisteina daidzeina	49
Flawonole	kwercetyna kemferol	50, 51, 52, 53
Flawony	apigenina luteolina	49, 51, 53, 54
Flawanony	hesperetyna naryngenina	55
Flawanole	(+)-katechina (-)-epikatechina	44, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63
Oligomery procyjanidynowe	oligomery katechin	64, 65
Antocyjanidy	pelargonidyna delfinidyna	66, 67

Flawonoidy

Flawonoidy obejmują największą grupę polifenoli roślinnych. Zbudowane są z dwu pierścieni aromatycznych C6 połączonych trójwęglowym heterocyklicznym pierścieniem C3 o różnym stopniu utlenienia (C6-C3-C6). W zależności od różnic budowy pierścienia heterocyklicznego flawonoidy można podzielić na sześć podklas: flawonole, flawony, flawanony, flawanole, antocyjany i izoflawony. Związki te w każdej grupie różnią się liczbą i rozmieszczeniem grup hydroksylowych, metylacją i glikozylacją. W naturze zidentyfikowano ponad 4000 tych związków (20, 23).

Flawonole

Flawonole są najbardziej rozpowszechnione w żywności wśród związków flawonoidowych. Kwercetyna i kemferol są głównymi reprezentantami tej grupy związków. Występują one powszechnie w owocach, ale w niewielkich ilościach – 15-30 mg/kg świeżej masy. Bogatym ich źródłem są warzywa, jak cebula (do 1,2 g/kg), kapusta brukselka, jarmuż, brokuły, por.

Flawonole występują w naturze, głównie w postaci glikozydów, w połączeniu z glukozą, ramnozą, rutynozą. Owoce często zawierają od 5 do 10 różnych glikozydów flawonoli. Związki te zawarte są głównie w skórce owoców chroniąc je przed promieniowaniem UV (25).

Flawony

Flawony są stosunkowo mniej rozpowszechnione w owocach i warzywach niż flawonole. Najczęściej występują one w postaci glikozydów luteoliny i apigeniny. Głównym źródłem tych związków jest pietruszka

i seler. Zboża, jak proso i pszenica, także zawierają pochodne C-glikozydowe flawonów. Bogate w te związki, w postaci pochodnych polimetoksylowych są również owoce cytrusowe (21).

Flawanony

Flawanony znajdują się w pomidorach i roślinach aromatycznych, jak np. mięta, ale w największych ilościach obecne są tylko w owocach cytrusowych. Głównym flawanonem w grejpfrutach jest naryngenina, hesperidyna w pomarańczach i eriodyktol w cytrynach. Związki te są odpowiedzialne za swoisty smak owoców cytrusowych. W przypadku grejpfrutów jest to smak gorzki. W stałej części owoców cytrusowych, w albedo i w błonach oddzielających segmenty owoców, zawartość tych związków jest znacznie większa niż w soku. Cały owoc zawiera do pięciokrotnie więcej flawanonów niż szklanka soku pomarańczowego (26).

Flawanole

Flawanole występują jako monomery i polimery. Przykładem monomerów flawanoli są katechiny. Związki te powszechnie występują w owocach pestkowych, jagodowych i ziarnkowych. Na przykład bogatym źródłem tych związków są morele, które zawierają katechiny w ilości do 250 mg/kg świeżych owoców. Występują one w dużych ilościach w czerwonym winie (300 mg/l), naparze z zielonej herbaty, czy gorzkiej czekoladzie (27). (+)-Katechina i (-)-epikatechina są głównymi flawanolami w owocach, podczas gdy (+)-galokatechina, (-)-epigalokatechina i (-)-epigalokatechinogalusan są obecne w nasionach roślin

strączkowych, winogronach i herbacie (28). W przeciwieństwie do innych flawonoidów, flawanole rzadko występują w formie glikozydowej. Procyjanidyny, zwane inaczej taninami, zbudowane są z cząsteczek flawan-3-oli ((+)katechiny) i (-)epikatechiny połączonych wiązaniami 4→8 lub 4→6. W owocach procyjanidyny występują w formie polimerów i oligomerów o różnym stopniu polimeryzacji. Mogą być również zestyfikowane kwasem galusowym. Taniny kształtują własności sensoryczne produktów roślinnych, nadając gorzki i cierpki smak owocom (kaki, jabłka, gruszki, winogrona, aronia), napojom (wina, herbata, piwo) oraz gorzkiej czekoladzie (29). Cierpkość owoców maleje podczas ich dojrzewania i często zanika gdy owoce osiągną pełną dojrzałość. Biologiczne właściwości procyjanidyn zależne są od ich struktury oraz stopnia polimeryzacji.

Antocyjany

Antocyjany są barwnikami rozmieszczonymi w zewnętrznych warstwach hipodermi, w skórcie owoców i warzyw, nadając im barwę różową, czerwoną, niebieską lub ciemnopurpurową. Zlokalizowane są w wakuolach komórkowych. Natomiast ściany komórkowe i tkanki mięszu nie zawierają tych barwników (30). Mogą one występować w różnych chemicznych formach barwnych i bezbarwnych, zależnie od pH środowiska. W diecie człowieka antocyjany pochodzą z owoców, czerwonego wina i niektórych warzyw, jak czerwona cebula, kapusta, rzodkiewka i innych zabarwionych na kolor czerwony. Zawartość antocyjanów w żywności jest proporcjonalna do intensywności czerwonej barwy; np. osiąga wartość 2-4 g/kg świeżej masy czarnych jagód. Zawartość tych związków wzrasta w okresie dojrzewania owoców. W czerwonym winie gronowym występuje 200-350 mg antocyjanów w 1l, tworzą one związki kompleksowe z taninami w okresie dojrzewania wina (31, 32).

Izoflawony

Izoflawony są to związki, które budową chemiczną przypominają estrogeny, chociaż nie są steroidami. Mają one grupę hydroksylową w pozycji 7 i 4' w konfiguracji analogicznej jak grupy hydroksylowe w cząsteczce estradiolu. Ten układ w budowie cząsteczek izoflawonów wpływa na ich właściwości pseudohormonalne i w konsekwencji przypisuje się im funkcję fitoestrogenów. Bogate w te związki są rośliny strączkowe. Soja i produkty z niej otrzymane są głównym źródłem izoflawonów w diecie ludzkiej. Zawierają one trzy główne cząsteczki izoflawonów: genisteinę, daidzeinę i gliceretynę, odpowiednio w stosunku 1:1:0,2. Soja zawiera od 580 do 3800 mg izoflawonów/kg świeżej masy; mleko sojowe od 30 do 175 mg/l (33, 34).

Stilbeny

Stilbeny spożywane są stosunkowo w niewielkiej ilości w ludzkiej diecie. Zawierają one dwie cząsteczki fenylowe połączone mostkiem dwuwęglowym. Większość stilbenów w roślinach spełnia funkcję fitoaleksyn przeciwgrzybiczych, są syntetyzowane tylko w odpowiedzi na zakażenie lub uszkodzenie. Związkom tym przypisuje się dużą korzystną aktywność prozdrowotną. Wykazują one działanie przeciwutleniające, stosunkowo silniejsze w porównaniu do innych związków polifenolowych. Jednym z najbardziej znanych naturalnie występujących stilbenów jest resweratrol (3,4',5-trihydroksystilben). Resweratrol znajduje się w dużych ilościach w winogronach i czerwonym winie gronowym. Dobrze znane jest działanie przeciwnowotworowe i przeciwzapalne resweratrolu. Ostatnio wykazano, że stilbeny mogą działać jako cząsteczki sygnałowe w tkankach i komórkach regulujących ekspresję genów i białek. Stymulowanie takich białek i enzymów może wyjaśnić ich międzykomórkowe właściwości przeciwutleniające. Modulowanie genów można wytłumaczyć na zasadzie działania stilbenów jako substancji chroniących komórki, wpływających na przepływ krwi, śmierć komórek i kaskadę przeciwzapalną (35). Winogrona, orzechy, owoce jagodowe i czerwone wino są głównym źródłem stilbenów.

Lignany

Lignany są to związki difenolowe, które zawierają strukturę 2,3-dibenzylbutanową. Powstają przez dimeryzację dwóch reszt kwasów cynamonowych. Występują powszechnie w naturze, niektóre z nich pełnią funkcję fitoestrogenów. Najbogatszym źródłem tych związków jest siemię lniane (do 3,7 g/kg suchej masy). Inne produkty zbożowe, owoce i warzywa zawierają śladowe ilości lignanów, w ilości około 1000 razy mniejszej niż len (36).

Lignany są metabolizowane do enterodiolu i enterolaktonu przez mikroflorę jelitową. Lignanom przypisuje się działanie ochronne przeciwnowotworowe. Jeśli ilość estrogenu w organizmie jest mała, lignany mogą działać jak słabe estrogeny, gdy poziom estrogenu w organizmie jest wysoki, lignany mogą obniżyć jego efekt usuwając go z komórek. Związkom tym przypisywana jest także aktywność przeciwutleniająca (37).

Przeciwpyłtkowe właściwości polifenoli roślinnych

Molekularne mechanizmy przeciwpyłtkowej aktywności polifenoli w badaniach *in vitro*

Obserwacje opisujące wpływ diety bogatej w polifenole na czynność płytek krwi zachęciły do badań nad molekularnymi mechanizmami przeciwpyłtkowej

aktywności tych związków. W badaniach *in vitro* udowodniono, że związki te blokują różne szlaki aktywacji płytek krwi, w tym głównie aktywność cyklooksygenazy i lipooksygenazy (izoflawony) (13) oraz kinazy tyrozynowych (kwercetyna) (38). W badaniach *in vitro* wykazano także, że kwercetyna i katechiny hamują agregację i degranulację płytek, ponadto ograniczają aktywność prokoagulacyjną oraz blokują kaskadę fosfoinozytoli (39). Szereg publikacji opisuje oddziaływanie flawonoidów z receptorami płytek krwi. Kwercetyna hamuje reaktywność płytek poprzez blokowanie aktywacji zależnej od receptora dla kolagenu (GPVI) (38). W badaniach modelowych wykazano, że flawony (apigenina) i izoflawony (genisteina) są antagonistami receptorów tromboksanu (40). Ponadto pochodne flawonowe (galangina) wykazują zdolność przyłączania się do trzech typów puryno receptorów; izoflawony (genisteina) są słabszymi antagonistami, wykazują zdolność blokowania jedynie receptorów A1 (41).

Związki polifenolowe mogą oddziaływać na płytkę krwi pośrednio, wpływając na inne komórki czy procesy odpowiedzialne za regulację ich reaktywności. W tej kategorii na pierwszym miejscu należy wymienić przeciwutleniające i ochronne wobec śródbłonna naczyniowego działanie polifenoli (13, 14). Związki te wzmagają generację NO, wpływając na hamowanie reaktywności płytek krwi (42, 43). Inkubacja płytek krwi z kwercetyną i katechiną znacznie wydajniej, niż w przypadku stosowania pojedynczego związku, hamowała stres oksydacyjny, przy jednoczesnym ograniczeniu aktywacji receptora dla fibrynogenu (43).

Flawanole, w tym procyjanidyny, wykazują zdolność jednoczesnego hamowania aktywacji leukocytów i płytek krwi, dzięki czemu ograniczają szybkość tworzenia agregatów płytkowo-leukocytarnych (44).

Szczególnie istotną pod względem właściwości przeciwplatekcyjnych klasą flawonoidów, są flawanole. Mogą występować w różnych częściach roślin w dwóch formach – monomerycznej, jako katechiny oraz polimerycznej, jako proantocyjanidyny (68, 69). Proantocyjanidyny oraz katechiny charakteryzują się wysoką aktywnością przeciwplatekową (14, 70). Ta grupa prozdrowotnych polifenoli cieszy się dużym zainteresowaniem naukowców (71). Podstawową strukturę chemiczną procyjanidyn przedstawiono na rycinie 1.

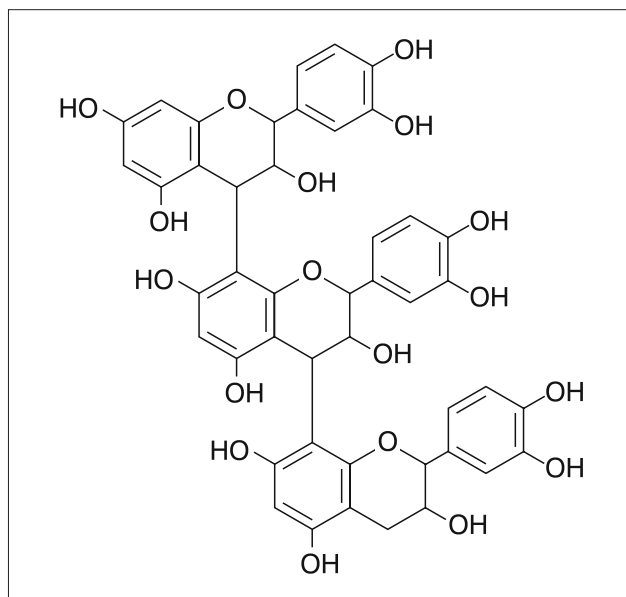
Wpływ surowców roślinnych bogatych w polifenole na reaktywność płytek krwi

Najlepiej opisanym surowcem roślinnym zasobnym w prozdrowotne polifenole są owoce winorośli właściwej (*Vitis vinifera* L.). Związki polifenolowe zawarte w owocach czerwonych winogron hamują aktywność płytek krwi (72), między innymi ze względu na to, iż

zawarte w nich flawonoidy hamują działanie cyklooksygenazy, redukują wytwarzanie tromboksanu A₂ i nadtlenu wodoru w płytkach krwi oraz hamują aktywność fosfolipazy C i kinazy białkowej C (73). Wykazano również, że resweratrol znajdujący się w ekstrakcie z owoców winogron, odpowiedzialny jest za zmniejszenie wytwarzania anionu ponadtlenkowego oraz zwiększenie wytwarzania NO• w płytkach krwi (74).

W badaniach *in vitro* potwierdzono powyższy mechanizm na modelach doświadczalnych z zastosowaniem zwierząt (75). Co najważniejsze, Freedman i wsp. (42) opisują, iż 14-dniowe spożycie soku winogronowego obniżało agregację płytek krwi u zdrowych ochotników. Dohadwała i wsp. (73) w swojej publikacji potwierdzają plejotropowe działanie polifenoli pochodzących z czerwonych winogron.

Kolejnym, dobrze opisanym surowcem roślinnym jest herbata chińska (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Rosnące zainteresowanie właściwościami zdrowotnymi herbaty, a co za tym idzie liczne badania naukowe, doprowadziły do zaklasyfikowania jej jako żywności funkcjonalnej. Jednak dane epidemiologiczne na temat skutków spożycia herbaty, związane z ryzykiem występowania chorób sercowo-naczyniowych, są sprzeczne. Herbata zawiera szereg biologicznie aktywnych substancji chemicznych, takich jak katechiny, których czołowym przedstawicielem jest galusan epigalokatechiny (EGCG). Katechiny herbaty biorą udział w eliminacji reaktywnych form tlenu w warunkach *in vitro*, jak również mogą działać jako przeciwutleniacze



Ryc. 1. Podstawowa struktura chemiczna proantocyjanidyn (wg 68).

pośrednio, poprzez oddziaływanie na czynniki transkrypcyjne i enzymy (76). Istnieje coraz więcej dowodów na ochronne działanie herbaty przed chorobami układu krążenia, jednak szczegółowe mechanizmy odpowiadające za to działanie nie zostały dotychczas poznane (77, 78). Katechiny zawarte w zielonej herbacie hamują reaktywność płytek krwi oraz wywierają ochronne działanie na naczynia krwionośne poprzez mechanizmy przeciwutleniające (61, 79).

Z kolei badania epidemiologiczne wskazują, iż umiarkowane spożycie kawy (*Coffea arabica* L.) obniża ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych. Badania *ex vivo* prowadzone przez Natella (80) wykazały, iż konsumpcja kawy hamuje w sposób istotny statystycznie agregację płytek krwi indukowaną kolagenem i kwasem arachidonowym. Badania dowiodły, iż działanie przeciwplatek kawy jest niezależne od kofeiny i może być wynikiem oddziaływania kwasów fenolowych kawy z siecią sygnalizacji wewnątrzkomórkowej prowadzącej do agregacji płytek krwi (80).

Odnotować także należy wieloletnie zainteresowanie związkami polifenolowymi zawartymi w różnych surowcach uzyskiwanych z owoców kakaowca (*Theobroma cacao* L.), czyli ziarnach, miądzdze kakaowej, proszku i innych produktach kakaowych (81). Wykazano, że w skład tych surowców wchodzi głównie flawonoidy, a wśród nich dominują monomery flawanoli i ich formy spolimeryzowane – prantocyjanidyny, zaś w mniejszym stopniu antocyjany i flawonole. Ilościowa zawartość tych związków zależy od stopnia przetworzenia ziaren kakao i zmienia się w trakcie procesów prażenia, fermentacji, suszenia, tłoczenia, alkalizacji i produkcji wyrobów czekoladowych (82). Zawartość procyanidyn oraz całkowita zawartość polifenoli w produktach czekoladowych zależy od ilości beztłuszczowej masy kakaowej w produkcji. Ciemna czekolada, o wysokiej zawartości masy kakaowej, będzie zatem zawierała większą ilość polifenoli (83). Pochodzenie ziaren kakaowca również odgrywa ważną rolę ze względu na zmienną zawartość polifenoli.

Istnieją przekonujące dowody świadczące o przeciwplatekowej aktywności produktów spożywczych uzyskanych z kakaowca (44, 84). Regularne spożywanie 25 g gorzkiej czekolady, zawierającej 220 mg katechin i procyanidyn, skutecznie hamowało tworzenie się zakrzepów, ale ubocznym skutkiem takiej terapii jest nadmierna podaż węglowodanów i nasyconych kwasów tłuszczowych (85).

Liczne badania wykazują, iż pomidory (*Lycopersicon esculentum* Mill.) wykazują wyższą aktywność przeciwplatekową w porównaniu do aktywności jaką mają grejpfruty, melony czy truskawki. Wykazano także, że wyciąg z pomidorów hamuje agregację płytek krwi in-

dukowaną ADP oraz kolagenem nawet o 70%. Stosując metody NMR oraz spektroskopię masową stwierdzono, iż wyciąg z pomidorów zawiera w swoim składzie związki przeciwplatekowe łączące się z adenozyną. Dowiedziono, iż w przeciwieństwie do działania kwasu acetylosalicylowego, związki pochodzące z pomidorów hamują agregację płytek krwi indukowaną trombiną. Naukowcy sugerują, że ze względu na zawartość w pomidorach związków silnie hamujących agregację płytek krwi, konsumpcja tego warzywa może być stosowana w ramach profilaktyki występowania chorób sercowo-naczyniowych (86, 87). Badacze wykazali, że większość związków o działaniu przeciwplatekowym znajduje się w soczystej części owocu. W pracy opublikowanej przez Dutta-Roy i wsp. (88) wykazano, iż ekstrakty, jak i frakcje pochodzące z pomidorów, nie hamują syntezy tromboksanu, tak jak ma to miejsce w przypadku aspiryny. Działanie tych związków może odbywać się na wcześniejszym etapie aktywacji płytek krwi. Jednak przeciwagregacyjne mechanizmy działania związków występujących w owocach pomidorów nie są jeszcze poznane ze względu na brak znajomości dokładnej ich struktury. Sugeruje się, iż związki przeciwplatekowe zawarte w pomidorach mogą stanowić bezpośrednie inhibitory trombiny, antagonistów receptora dla fibrynogenu, bądź swoiste inhibitory agregacji płytek krwi indukowanej ADP lub kolagenem. W pracy O'Kennedy i wsp. (89) wykazano, że hamowanie agregacji płytek krwi indukowanej ADP, kolagenem, kwasem arachidonowym oraz trombiną, może być związane z inhibicją glikoproteiny IIb/IIIa oraz z hamowaniem mechanizmów sekrecyjnych płytek krwi. Przeprowadzili oni również badania w warunkach *in vivo* na grupie zdrowych dawców. Wykazali, iż konsumpcja małych ilości mięszu ze świeżych owoców pomidorów powoduje zahamowanie agregacji płytek krwi indukowanej ADP.

Bogatym źródłem związków polifenolowych są owoce aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot). Głównymi reprezentantami polifenoli w dojrzałych owocach aronii są antocyjany (glikozydowe pochodne antocyjanidyny), flawony, flawonole, katechiny (dimery, trimery) oraz kwasy fenolowe (90). Wykazano, że polifenole pochodzące z owoców aronii wykazują właściwości przeciwplatekowe. Ryszawa i wsp. (91) oraz Olas i wsp. (92) wskazują, że ekstrakt z owoców aronii wykazuje właściwości antyagregacyjne. Opisany jest także efekt oddziaływań pośrednich tego ekstraktu. W badaniach *in vitro* poprawiał on przeciwplatekową aktywność śródbłonna naczyniowego (93). Kulling i wsp. (94) opisują wszechstronny, korzystny wpływ polifenoli pochodzących z owoców aronii czarnoowocowej na zdrowie człowieka, w tym na układ sercowo-naczyniowy.

Piknogenol – wyciąg z kory sosny śródziemnomorskiej (*Pinus pinaster* Sol.), pozyskiwany w południowej części Francji, stanowi bogate źródło katechin i proantocyjanidyn ((+)-katechiny, (-)-epikatechiny, monomerów, dimerów (+)-katechiny i (-)-epikatechiny, oligomerów procyanidyny) oraz kwasów fenolowych (ferulowego, kawowego). Zaobserwowano, że u palaczy tytoniu Piknogenol działa antyagregacyjnie oraz obniża stężenie tromboksanu w surowicy krwi (95). Również u osób niepalących preparat ten hamuje agregację i adhezję płytek krwi (96). Farmakologiczne właściwości Piknogenolu podsumowuje w swojej publikacji Rohdewald (97).

Cebula (*Allium cepa* L.) i czosnek (*Allium sativum* L.), w badaniach *in vitro*, hamują agregację płytek krwi (98), trudno jest jednak odtworzyć ten efekt u osób przyjmujących różne preparaty cebuli i czosnku (99). Zahamowanie funkcji płytek udało się wykazać jedynie po spożyciu dużej ilości kwercetyny zawartej w zupie cebulowej (100).

Chmiel zwyczajny (*Humulus lupulus* L.) jest rośliną wykorzystywaną do produkcji piwa. Jest on bogaty w glikozydy flawonowe, takie jak kemferol, kwercetyna i rutyna oraz katechiny (galusan (+)-katechiny, galusan (-)-epikatechiny). W badaniach *in vitro* wykazano antyoksydacyjne działanie ekstraktu z szyszek chmielowych. Dowiedziono, iż ekstrakt ten w stężeniu 12,5-50 $\mu\text{g/ml}$ obniża poziom karboksylacji i nitracji białek płytek krwi traktowanych ONOO⁻ (0,1 mmol). Jednakże w badaniach porównawczych, ekstrakt z szyszek chmielowych nie okazał się bardziej skutecznym przeciwutleniaczem w porównaniu do czystego roztworu resweratrolu ($\mu\text{g/ml}$) (82, 101).

Miłorząb japoński (*Ginkgo biloba* L.) stosowany jest w tradycyjnej medycynie chińskiej w chorobach układu krążenia. Ekstrakt z miłorzębu wykazuje właściwości przeciwagregacyjne. Wyniki badań klinicznych wskazują, że wyciągi z liści miłorzębu ograniczają nasilenie objawów zaburzeń pamięci, demencji oraz zaburzeń związanych z chorobą Alzheimera. Ponadto wstępne wyniki sugerują, że wyciąg ten może być stosowany w zapobieganiu i leczeniu chorób sercowo-naczyniowych (102, 103).

Podsumowanie

Zdaniem autorów przegląd aktualnego piśmiennictwa daje podstawy do stwierdzenia, że preparaty pochodzenia roślinnego, wykazujące właściwości przeciwplatektywne, mogą stać się w najbliższej przyszłości ważnym elementem profilaktyki chorób sercowo-naczyniowych. Ze względu na wielokierunkowe ochronne działanie polifenoli wobec układu krążenia, coraz częściej rozpatrywane jest przygotowanie nowej

profilaktyki i strategii leczenia w chorobach sercowo-naczyniowych z zastosowaniem polifenoli roślinnych. Należy jednak pamiętać, że istotnym elementem w ocenie ich właściwości biologicznych w warunkach *in vivo* jest biodostępność. Metabolizm związków polifenolowych jest wieloetapowy i przebiega przy udziale różnych mechanizmów, rodzi to obawy przed ograniczeniem wchłaniania w jelitach. Ponadto problemem może być również brak zgodności pomiędzy wynikami badań *in vitro* a *ex vivo* i niewystarczająca liczba wielośrodkowych badań klinicznych.

Zamierzeniem autorów było przedstawienie argumentów przemawiających za wykorzystaniem potencjału przeciwplatekowego polifenoli roślinnych, w kontekście wprowadzania na rynek farmaceutyczny nowych leków i suplementów diety zawierających te substancje.

Piśmiennictwo

1. Mueller C. The regulatory status of medical foods and dietary supplements in the United States. *Nutrit* 1999; 15:249-51.
2. Verhagen H, Vos E, Francel S i wsp. Status of nutrition and health claims in Europe. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501:6-15.
3. Błecha K, Wawer I. Żywność funkcjonalna: żywność wzbogacona, suplementy diety i środki spożywcze specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Prof Zdrowot Fitoter. Bonimed, Żywiec 2011; 13-6.
4. Gertig H. Suplementy diety – czas na zmiany. *Nowiny Lek* 2008; 77:236-8.
5. Kleter GA, Krieken WM, Kok EJ i wsp. Exploitation and regulation of plants genetically modified to express nutraceuticals and pharmaceuticals. 2001; <http://www.rikilt.wageningen-ur.nl/nutraceuticals>
6. Lamer-Zarawska E. Lek roślinny – współczesne definicje, Fitoterapia i leki roślinne (Red. E. Lamer-Zarawska i wsp.) PZWL, Warszawa 2007; 22-3.
7. Andlauer W, Furst P. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. *Food Res Internat* 2002; 35:171-6.
8. Skibola CF, Smith MT. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic Biol Med* 2000; 29:375-83.
9. Bloch AS. Pushing the envelope of nutrition support: complementary therapies. *Nutrition* 2000; 16:236-9.
10. Długosz A. Toksykologia roślin leczniczych, Fitoterapia i leki roślinne (Red. E. Lamer-Zarawska i wsp.). PZWL, Warszawa 2007; 449-69.
11. Neveu V, Perez-Jimenez J, Vos F i wsp. Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. 2010; doi:10.1093/database/bap024.
12. Scalbert A, Andres-Lacueva C, Arita M i wsp. Databases on food phytochemicals and their health-promoting effects. *J Agric Food Chem* 2011; 59:4331-48.
13. Williamson G, Manach C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *Am J Clin Nutr* 2005; 81:243S-55S.
14. Manach C, Williamson G, Morand C i wsp. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 2005; 81:230S-42S.
15. Zhao L, Gaudry L, Dunkley S i wsp. Modulation of platelet and leucocyte function by a Chinese herbal formulation as compared with conventional antiplatelet agents. *Platelets* 2008; 19:24-31.
16. Krauze-Baranowska M. Poszukiwania nowych surowców roślinnych o potencjalnych właściwościach przeciwagregacyjnych. *Panacea* 2006.
17. Oszmiański J. Prozdrowotne polifenole w chorobach serca i naczyń krwionośnych. *Przem Farm Owoc-Warz* 2007; 7-8:42-3.
18. Golański J, Golański R, Kuliczowski W i wsp. Laboratoryjna ocena skuteczności działania różnych dawek kwasu acetylosalicylowego oraz przydatności roślinnych preparatów polifenolowych jako wspomaganie leczenia

- przeciwpłytkowego u chorych po rewaskularyzacji mięśnia sercowego. *Kardiochir Torakoch Pol* 2011; 8:175-82. **19.** Syska K, Kosiorek A, Podsedek A i wsp. Propozycja procedury oceny przeciwpłytkowych właściwości preparatów polifenolowych pochodzenia roślinnego w badaniach *in vitro*. *Post Fitoter* 2012; 1:3-10. **20.** Lamer-Zarawska E. Flawonoidy, fitoterapia i leki roślinne. (Red. E. Lamer-Zarawska i wsp.). PZWL, Warszawa 2007; 64-7. **21.** Shahidi F, Naczek M: Food phenolics, sources, chemistry, effects, applications, 1 edition. Techn Publ Co Inc, Lancaster 2005. **22.** Kondratyuk TP, Pezzuto JM. Natural product polyphenols of relevance to human health. *Pharm Biol* 2004; 42:46-63. **23.** Spencer JP, Abd El Mohsen MM, Minihiene AM i wsp. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *Br J Nutr* 2008; 99:12-22. **24.** Clifford MN. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden. *J Sci Food Agric* 1999; 79:362-72. **25.** Price SF, Breen PJ, Valladao M i wsp. Cluster sun exposure and quercetin in pinot noir grapes and wine. *Am J Enol Vitic* 2005; 46:187-94. **26.** Tomas-Barberan FA, Clifford MN. Flavanones, chalcones and dihydrochalcones – nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric* 2000; 80:1073-80. **27.** Lakenbrink C, Lapczynski S, Maiwald B i wsp. Flavonoids and other polyphenols in consumer brews of tea and other caffeinated beverages. *J Agric Food Chem* 2000; 48:2848-52. **28.** Arts IC, van de Putte B, Hollman PC. Catechin contents of foods commonly consumed in The Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods. *J Agric Food Chem* 2000; 48:1746-51. **29.** Santos-Buelga C, Scalbert A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds: nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J Sci Food Agric* 2000; 80:1094-117. **30.** Mazza G, Maniati E. Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. Boca Raton, CRC Press 1993. **31.** Clifford MN. Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden. *J Food Sci Agric* 2000; 80:1063-72. **32.** Es-Safi NE, Cheynier V, Moutounet M. Interactions between cyanidin 3-O-glucoside and furfural derivatives and their impact on food color changes. *J Agric Food Chem* 2002; 50:5586-95. **33.** Cassidy A, Hainsley B, Lamuela-Raventos RM. Isoflavones, lignans and stilbenes – origins, metabolism and potential importance to human health. *J Sci Food Agric* 2000; 80:1044-62. **34.** Reinli K, Block G. Phytoestrogen content of foods – a compendium of literature values. *Nutr Cancer* 1996; 6:123-48. **35.** Dore S. Unique properties of polyphenol stilbenes in the brain: more than direct antioxidant actions; gene/protein regulatory activity. *Neurosignals* 2005; 14:61-70. **36.** Adlercreutz H, Mazur W. Phyto-oestrogens and Western diseases. *Ann Med* 1997; 9:95-120. **37.** Kitts DD, Yuan YV, Wijewickreme AN i wsp. Antioxidant activity of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglycoside and its mammalian lignan metabolites enterodiol and enterolactone. *Mol Cell Biochem* 1999; 202:91-100. **38.** Hubbard GP, Stevens JM, Cicmil M i wsp. Quercetin inhibits collagen-stimulated platelet activation through inhibition of multiple components of the glycoprotein VI signaling pathway. *J Thromb Haemost* 2003; 1:1079-88. **39.** Bucchi R, Pastore JJ, Giraud F i wsp. Flavonoid inhibition of platelet procoagulant activity and phosphoinositide synthesis. *J Thromb Haemost* 2003; 1:1820-8. **40.** Guerrero JA, Lozano ML, Castillo J i wsp. Flavonoids inhibit platelet function through binding to the thromboxane A2 receptor. *J Thromb Haemost* 2005; 3:369-76. **41.** Jacobson KA, Moro S, Manthey JA i wsp. Interactions of flavones and other phytochemicals with adenosine receptors. *Adv Exp Med Biol* 2002; 505:163-71. **42.** Freedman JE, Parker C3, Li L i wsp. Select flavonoids and whole juice from purple grapes inhibit platelet function and enhance nitric oxide release. *Circulation* 2001; 103:2792-8. **43.** Pignatelli P, Di Santo S, Buchetti B i wsp. Polyphenols enhance platelet nitric oxide by inhibiting protein kinase C-dependent NADPH oxidase activation: effect on platelet recruitment. *FASEB J* 2006; 20:1082-9. **44.** Heptinstall S, May J, Fox S i wsp. Cocoa flavanols and platelet and leukocyte function: recent *in vitro* and *ex vivo* studies in healthy adults. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47(Suppl)2:S197-S205. **45.** Park JB. 5-Caffeoylquinic acid and caffeic acid orally administered suppress P-selectin expression on mouse platelets. *J Nutr Biochem* 2009; 20:800-5. **46.** Coy-Barrera ED, Cuca-Suarez LE. *In vitro* anti-inflammatory effects of naturally-occurring compounds from two *Lauraceae* plants. *An Acad Bras Cienc* 2011; 83:1397-402. **47.** Nardini M, Natella F, Scaccini C. Role of dietary polyphenols in platelet aggregation. A review of the supplementation studies. *Platelets* 2007; 18:224-43. **48.** Holt RR, Actis-Goretta L, Momma TY i wsp. Dietary flavanols and platelet reactivity. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47(Suppl)2:S187-S196. **49.** Navarro-Nunez L, Rivera J, Guerrero J i wsp. Differential effects of quercetin, apigenin and genistein on signalling pathways of protease-activated receptors PAR(1) and PAR(4) in platelets. *Br J Pharmacol* 2009. **50.** Hubbard GP, Wolfram S, Lovegrove JA i wsp. Ingestion of quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in humans. *J Thromb Haemost* 2004; 2:2138-45. **51.** Petroni A, Blasevich M, Salami M i wsp. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb Res* 1995; 78:151-60. **52.** Chen Y, Deuster P. Comparison of quercetin and dihydroquercetin: antioxidant-independent actions on erythrocyte and platelet membrane. *Chem Biol Interact* 2009; 182:7-12. **53.** Dell'agli M, Maschi O, Galli GV i wsp. Inhibition of platelet aggregation by olive oil phenols via cAMP-phosphodiesterase. *Br J Nutr* 2008; 99:945-51. **54.** Navarro-Nunez L, Lozano ML, Palomo M i wsp. Apigenin inhibits platelet adhesion and thrombus formation and synergizes with aspirin in the suppression of the arachidonic acid pathway. *J Agric Food Chem* 2008; 56:2970-6. **55.** Jin YR, Han XH, Zhang YH i wsp. Antiplatelet activity of hesperetin, a bioflavonoid, is mainly mediated by inhibition of PLC-gamma2 phosphorylation and cyclooxygenase-1 activity. *Atherosclerosis* 2007; 194:144-52. **56.** Carnevale R, Loffredo L, Pignatelli P i wsp. Dark chocolate inhibits platelet isoprostanes via NOX2 down-regulation in smokers. *J Thromb Haemost* 2012; 10:125-32. **57.** Fang L, Wang JX, Liu MX i wsp. Effects of loaded buffer with epigallocatechin gallate on physiological functions of platelets. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2011; 19:764-8. **58.** Matsumura K, Takayama H, Bae JY i wsp. Preservation of platelets by adding epigallocatechin-3-O-gallate to platelet concentrates. *Cell Transplant* 2009; 18:521-8. **59.** Yang JA, Choi JH, Rhee SJ. Effects of green tea catechin on phospholipase A2 activity and antithrombus in streptozotocin diabetic rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1999; 45:337-46. **60.** Sabetkar M, Low SY, Bradley NJ i wsp. The nitration of platelet vasodilator stimulated phosphoprotein following exposure to low concentrations of hydrogen peroxide. *Platelets* 2008; 19:282-92. **61.** Son DJ, Cho MR, Jin YR i wsp. Antiplatelet effect of green tea catechins: a possible mechanism through arachidonic acid pathway. *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 71:25-31. **62.** Jin YR, Im JH, Park ES i wsp. Antiplatelet activity of epigallocatechin gallate is mediated by the inhibition of PLC-gamma2 phosphorylation, elevation of PGD2 production, and maintaining calcium-ATPase activity. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008; 51:45-54. **63.** de Lange DW, Verhoef S, Gorter G i wsp. Polyphenolic grape extract inhibits platelet activation through PECAM-1: an explanation for the French paradox. *Alcohol Clin Exp Res* 2007; 31:1308-14. **64.** Lopez JJ, Jardin I, Salido GM i wsp. Cinnamtannin B-1 as an antioxidant and platelet aggregation inhibitor. *Life Sci* 2008; 82:977-82. **65.** Ben-Amor N, Bouaziz A, Romera-Castillo C i wsp. Characterization of the intracellular mechanisms involved in the antiaggregant properties of cinnamtannin B-1 from

- bay wood in human platelets. *J Med Chem* 2007; 50:3937-44.
- 66.** Olas B, Kedzierska M, Wachowicz B i wsp. Effects of polyphenol-rich extract from berries of *Aronia melanocarpa* on the markers of oxidative stress and blood platelet activation. *Platelets* 2010; 21:274-81.
- 67.** Garcia-Alonso M, Rimbach G, Rivas-Gonzalo JC i wsp. Antioxidant and cellular activities of anthocyanins and their corresponding vitisins A – studies in platelets, monocytes, and human endothelial cells. *J Agric Food Chem* 2004; 52:3378-84.
- 68.** Fine AM. Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Altern Med Rev* 2000; 5:144-51.
- 69.** Rasmussen SE, Frederiksen H, Struntze KK i wsp. Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49:159-74.
- 70.** Vita JA. Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *Am J Clin Nutr* 2005; 81:292S-7S.
- 71.** Dixon RA, Xie DY, Sharma SB. Proanthocyanidins – a final frontier in flavonoid research? *New Phytol* 2005; 165:9-28.
- 72.** Keevil JG, Osman HE, Reed JD i wsp. Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation. *J Nutr* 2000; 130:53-6.
- 73.** Dohadwala MM, Vita JA. Grapes and cardiovascular disease. *J Nutr* 2009; 139:1788S-93S.
- 74.** Gresele P, Pignatelli P, Guglielmini G i wsp. Resveratrol, at concentrations attainable with moderate wine consumption, stimulates human platelet nitric oxide production. *J Nutr* 2008; 138:1602-8.
- 75.** Demrow HS, Slane PR, Folts JD. Administration of wine and grape juice inhibits *in vivo* platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 1995; 91:1182-8.
- 76.** Higdon JV, Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2003; 43:89-143.
- 77.** Deka A, Vita JA. Tea and cardiovascular disease. *Pharmacol Res* 2011; 64:136-45.
- 78.** Lorenz M, Wessler S, Follmann E i wsp. A constituent of green tea, epigallocatechin-3-gallate, activates endothelial nitric oxide synthase by a phosphatidylinositol-3-OH-kinase-, cAMP-dependent protein kinase-, and Akt-dependent pathway and leads to endothelial-dependent vasorelaxation. *J Biol Chem* 2004; 279:6190-5.
- 79.** Babu PV, Liu D. Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Curr Med Chem* 2008; 15:1840-50.
- 80.** Natella F, Nardini M, Belevi F i wsp. Effect of coffee drinking on platelets: inhibition of aggregation and phenols incorporation. *Br J Nutr* 2008; 100:1276-82.
- 81.** Cooper KA, Campos-Gimenez E, Jimenez AD i wsp. Rapid reversed phase ultra-performance liquid chromatography analysis of the major cocoa polyphenols and inter-relationships of their concentrations in chocolate. *J Agric Food Chem* 2007; 55:2841-7.
- 82.** Wollgast J, Pallaroni L, Agazzi ME i wsp. Analysis of procyanidins in chocolate by reversed-phase high-performance liquid chromatography with electrospray ionisation mass spectrometric and tandem mass spectrometric detection. *J Chromatogr A* 2001; 926:211-20.
- 83.** Miller KB, Stuart DA, Smith NL i wsp. Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United States. *J Agric Food Chem* 2006; 54:4062-8.
- 84.** Holt RR, Schramm DD, Keen CL i wsp. Chocolate consumption and platelet function. *JAMA* 2002; 287:2212-3.
- 85.** Rimbach G, Egert S, de Pascual-Teresa S. Chocolate: (un)healthy source of polyphenols? *Genes Nutr* 2011; 6:1-3.
- 86.** Dutta-Roy AK. Dietary components and human platelet activity. *Platelets* 2002; 13:67-75.
- 87.** Sesso HD, Wang L, Ridker PM i wsp. Tomato-based food products are related to clinically modest improvements in selected coronary biomarkers in women. *J Nutr* 2012; 142:326-33.
- 88.** Dutta-Roy AK, Crosbie L, Gordon MJ. Effects of tomato extract on human platelet aggregation *in vitro*. *Platelets* 2001; 12:218-27.
- 89.** O'Kennedy N, Crosbie L, van LM i wsp. Effects of antiplatelet components of tomato extract on platelet function *in vitro* and *ex vivo*: a time-course cannulation study in healthy humans. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:570-9.
- 90.** Wolski T, Kalisz O, Prasał M i wsp. Aronia czarnoowocowa – *Aronia melanocarpa* (Michx.) Eliot – zasobne źródło antyoksydantów. *Post Fitoter* 2007; 3:145-54.
- 91.** Ryszawa N, Kawczynska-Drozd A, Pryjma J i wsp. Effects of novel plant antioxidants on platelet superoxide production and aggregation in atherosclerosis. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57:611-26.
- 92.** Olas B, Wachowicz B, Tomczak A i wsp. Comparative anti-platelet and antioxidant properties of polyphenol-rich extracts from: berries of *Aronia melanocarpa*, seeds of grape and bark of *Yucca schidigera in vitro*. *Platelets* 2008; 19:70-7.
- 93.** Luzak B, Golanski J, Rozalski M i wsp. Extract from *Aronia melanocarpa* fruits potentiates the inhibition of platelet aggregation in the presence of endothelial cells. *Arch Med Sci* 2010; 6:141-4.
- 94.** Kulling SE, Rawel HM. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Med* 2008; 74:1625-34.
- 95.** Putter M, Grotemeyer KH, Wurthwein G i wsp. Inhibition of smoking-induced platelet aggregation by aspirin and Pycnogenol. *Thromb Res* 1999; 95:155-61.
- 96.** Golanski J, Muchova J, Golanski R i wsp. Does pycnogenol intensify the efficacy of acetylsalicylic acid in the inhibition of platelet function? *In vitro* experience. *Post Hig Med Dośw* 2006; 60:316-21.
- 97.** Rohdewald P. A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2002; 40:158-68.
- 98.** Rahman K. Effects of garlic on platelet biochemistry and physiology. *Mol Nutr Food Res* 2007; 51:1335-44.
- 99.** Wojcikowski K, Myers S, Brooks L. Effects of garlic oil on platelet aggregation: a double-blind placebo-controlled crossover study. *Platelets* 2007; 18:29-34.
- 100.** Hubbard GP, Wolfram S, de VR i wsp. Ingestion of onion soup high in quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in man: a pilot study. *Br J Nutr* 2006; 96:482-8.
- 101.** Olas B, Kolodziejczyk J, Wachowicz B i wsp. The extract from hop cones (*Humulus lupulus*) as a modulator of oxidative stress in blood platelets. *Platelets* 2011.
- 102.** Mahady GB. *Ginkgo biloba* for the prevention and treatment of cardiovascular disease: a review of the literature. *J Cardiovasc Nurs* 2002; 16:21-32.
- 103.** Kowal-Gierczak B. Fitoterapia schorzeń układu sercowo-naczyniowego, Fitoterapia i leki roślinne (Red. E. Lamer-Zarawska i wsp.). PZWŁ, Warszawa 2007; 159-77.

otrzymano/received: 23.01.2013
zaakceptowano/accepted: 05.02.2013

Adres/address:
*mgr Anna Kosiorek
Zakład Zaburzeń Krzepnięcia Krwi
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Żeromskiego 113, 90-549 Łódź
tel.: +48 (42) 639-34-71
e-mail: anna_kosiorek85@o2.pl