

©Borgis

*Magdalena Donejko¹, Elżbieta Galicka¹, Marek Niczyporuk¹, Jerzy Przyłipiak²,
Andrzej Przyłipiak¹

Mechanizmy regulacji masy tkanki tłuszczowej pod wpływem galusanu epigallokatechiny zawartego w zielonej herbacie

¹Samodzielna Pracownia Medycyny Estetycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
Kierownik Pracowni: dr hab. Andrzej Przyłipiak, prof. UMB

²Indywidualna Praktyka Lekarska

MECHANISMS OF REGULATION OF ADIPOSE TISSUE BY EPIGALLOCATECHIN GALLATE, CONTAINED IN GREEN TEA

SUMMARY

The increase in adipose tissue mass is caused by two phenomena. On the one hand it is the growth in the number of fat cells, but on the other hand it is the result of recruitment of new adipocytes from a pool of stem cells. Due to the development of research on the pathogenesis of obesity, bioactive substances contained in the daily diet, which could influence the reduction of fat mass growth are being sought. Epigallocatechin gallate contained in green tea exhibits an inhibitory effect on absorption and accumulation of fatty acids as well as according to the concentration it regulates different phases of adipogenesis by modulating the expression of key factors transcription.

KEY WORDS: ADIPOGENESIS – PREADIPOCYTES – EPIGALLOCATECHIN GALLATE – GREEN TEA

Tkanka tłuszczowa

Tkanka tłuszczowa to rozproszony organ, w którym w zależności od bilansu energetycznego są wychwytywane albo uwalniane kwasy tłuszczowe. Tkanka tłuszczowa spełnia również rolę narządu termozolującego i wydzielniczego. Nie należy zapominać, że jest największym organem człowieka, w którym syntetyzowane są adipokiny, zwane też adipocytokinami, substancje o szerokim działaniu endo-, para- i autokrynnym (1, 2). Adipokiny uczestniczą w procesie krzepnięcia i angiogenezy oraz w reakcjach biochemicznych, w tym w metabolizmie glukozy i lipidów. Zasięg działania adipocytokin obejmuje

mięśnie szkieletowe, wątrobę, komórki β trzustki, mózg, układ naczyniowy i płciowy (3, 4).

Tkankę tłuszczową dzieli się na białą (żółtą) i brunatną, w zależności od lipochromów barwiących komórki i ze względu na odrębne funkcje. W tkance tłuszczowej białej dominują adipocyty, których średnica osiąga 100-200 μm , a 95% objętości stanowią triglicerydy. W tkance tłuszczowej brunatnej adipocyty są bardziej rozproszone w obrębie podłoża, a rozmiary komórek są zdecydowanie mniejsze. Prawie 65-70% tłuszczu białego w organizmie gromadzi się w tkance podskórnej, pozostałe 30-35% stanowi tkanka tłuszczowa umiejscowiona w okolicach trzewi, pozaotrzewnowo, w rejonie narządów płciowych, gruczołów piersiowych, wątroby, trzustki i mięśni szkieletowych (2, 4). Biała tkanka tłuszczowa utworzona jest przez adipocyty osadzone na szkieletcie kolagenowym, pomiędzy którym znajdują się komórki macierzyste tkanki tłuszczowej (*adipose derived stem cells*; ADSC), preadipocyty, fibroblasty, komórki endotelialne oraz komórki układu odpornościowego, w tym makrofagi i leukocyty (1, 5, 6). Tkanka tłuszczowa u mężczyzn stanowi 9-18% prawidłowej masy ciała, u kobiet 14-28% masy ciała. Ilość tłuszczu, jaka może być zgromadzona w organizmie, jest nieograniczona (5).

Wzrost masy tkanki tłuszczowej w organizmie jest spowodowany dwoma zjawiskami, z jednej strony jest to wzrost wielkości komórek akumulujących krople tłuszczu (wzrost hipertroficzny), natomiast z drugiej strony wzrost tkanki jest spowodowany rekrutacją nowych komórek tłuszczowych z puli komórek macierzystych tkanki tłuszczowej (wzrost hiperplastyczny) (7).

Skutkiem nadmiaru tkanki tłuszczowej jest rozregulowanie wytwarzania adipokin, co z kolei może skutkować rozwojem szeregu chorób, m.in. choroby niedokrwiennej serca, cukrzyca typu 2, dyslipidemii, czy nadciśnienia tętniczego, określanych łącznie jako zespół metaboliczny. Otyłość zwiększa też ryzyko wystąpienia nowotworów, takich jak nowotwory sutka, pęcherzyka żółciowego, nerki, czy też chorób zwyrodnieniowych stawów (4). Niektórzy autorzy (8, 9) popierają tezę, że otyłość jest chorobą o cechach choroby zapalnej, co spowodowane jest utrudnionym dostarczaniem tlenu do przerośniętych, hipertoficznych adipocytów.

Wpływając na ograniczenie procesu wchłaniania tłuszczu, czy zmniejszenie lipogenezy na rzecz lipolizy oraz modulowanie procesów komórkowych, w tym różnicowanie preadipocytów i indukcję apoptozy w dojrzałych komórkach –można otyłość leczyć, a także jej zapobiegać. Dlatego też firmy farmaceutyczne prześcigają się we wprowadzaniu na rynek nowych preparatów leczących otyłość, czy ułatwiających utratę masy ciała. Bezpieczeństwo długotrwałego stosowania tych leków jest nieznane (10), natomiast wiadomo, że nawet krótkotrwałe ich stosowanie wpływa na zwiększenie ryzyka zaburzeń sercowo-naczyniowych, a także żołądkowo-jelitowych (11).

Oprócz metod farmakologicznych i inwazyjnych, do metod zachowawczych leczenia i zapobiegania otyłości należą metody niefarmakologiczne, i to one wraz ze zmianą nawyków żywieniowych i zwiększonym wysiłkiem fizycznym mogą być pomocne w procesie zapobiegania i leczenia tej choroby.

Zielona herbata

Liczne badania naukowe wskazują, że niektóre komponenty codziennej diety mogą oddziaływać na metabolizm tkanki tłuszczowej (12, 13). Takimi związkami są między innymi polifenole roślinne, które przyczyniają się do wzrostu aktywności podstawowych enzymów antyoksydacyjnych, poprzez zapobieganie ich utlenieniu, a także poprzez zahamowanie aktywności enzymów prooksydacyjnych (14, 15). Dowiedziono, że polifenole roślinne regulują wzrost, różnicowanie i proliferację tkanek, działając bezpośrednio na komórki docelowe (16-20). Badania prowadzone w kierunku wykazania prozdrowotnego wpływu naturalnych związków roślinnych na organizm człowieka potwierdziły ich korzystne działanie (12, 17, 19, 21).

Jednym z najbardziej obfitych źródeł polifenoli, w tym katechin, jest napój herbaciany parzony z liści niepoddanych procesowi fermentacji. Świeże, wysuszone liście herbaty zawierają średnio 36% po-

lifenu, 25% węglowodanów, 15% białek, 6,5% ligniny, 5% związków mineralnych, 4% aminokwasów, 2% tłuszczów, 1,5% kwasów organicznych, 0,5% chlorofilu, a także karotenoidy i substancje lotne (14, 15). W 250 ml napoju herbacianego znajduje się 50-100 mg katechin i około 35 mg kofeiny (22). Na skład chemiczny napoju ma wpływ długość czasu zaparzania liści i temperatura wody.

Napoje herbaciane mają właściwości antyoksydacyjne wynikające z obecności różnorodnych związków polifenolowych, w tym katechin. Obecność co najmniej pięciu grup hydroksylowych nadaje cząsteczce katechin silne właściwości antyoksydacyjne, dlatego też najsilniejsze właściwości wykazuje galusan epigallokatechiny i galusan epikatechiny. Należy nadmienić, że spośród polifenoli zawartych w zielonej herbacie, około 80% stanowią katechiny, a wśród nich galusan epigallokatechiny (EGCG) (15, 23).

Dowiedziono, że galusan epigallokatechiny wykazuje właściwości przeciwnowotworowe, przeciwcukrzycowe, kardioochronne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, a także reguluje masę tkanki tłuszczowej (18, 21, 22, 24).

Wpływ galusanu epigallokatechiny na wchłanianie tłuszczu

Katechiny zawarte w zielonej herbacie mają istotny i wielokierunkowy wpływ na redukcję tkanki tłuszczowej. Badania metabolizmu lipidowego na modelach zwierzęcych wskazują na wpływ katechin, w tym galusanu epigallokatechiny, na redukcję poziomu trigliceroli, cholesterolu i na spadek poziomu akumulacji tłuszczu przez wątrobę (8, 13, 25-27).

Katechiny oddziałują już na etapie wchłaniania składników pokarmowych. Hamują aktywność enzymów rozkładających wielocukry (m.in. α -amylazy) (23). Galusan epigallokatechiny hamuje w jelitach szczura wychwyt glukozy poprzez fosforylację substratu receptora insulinowego (IRS), co prowadzi do nasilenia lipolizy przez hormonozależną lipazę. Hamowanie jelitowego wchłaniania tłuszczów przejawia się też w powstrzymaniu ich emulsyfikacji przez żółć, w rezultacie zmniejsza się rozpuszczalność cholesterolu w kwasach żółciowych, co w końcu prowadzi do obniżenia poziomu triglicerydów i cholesterolu we krwi (25, 28). Katechiny, a szczególnie EGCG, znacząco obniżają wewnątrzkomórkowy poziom wchłaniania lipidów poprzez zahamowanie aktywności dehydrogenazy glicerolo-3-fosfatazy (28). Doświadczenia prowadzone na modelu mysim wykazały, że dieta bogata w katechiny hamuje odkładanie tłuszczu w trzewiach i wątrobie, przy stosowaniu diety wysokotłuszczowej (8, 25).

Wyniki badań prowadzonych na zwierzętach jednoznacznie wskazują, że EGCG obniża poziom lipogenezy i zwiększa intensywność utleniania tłuszczu, podczas gdy całkowita ilość pobieranego i strawionego pokarmu nie ulega zmianie (8, 13).

Badania randomizowane na grupie 12 mężczyzn z nadwagą i otyłością, którzy przez 3 dni spożywali trzy razy dziennie preparaty z różną zawartością EGCG, wykazały proporcjonalny do dawki, wzrost poziomu spalania tłuszczu po posiłku (29).

Pamiętać należy o dystansie do wyników badań prowadzonych na modelu zwierzęcym. Wątpliwości budzi rodzaj diety, która polega na regularnym karmieniu zwierząt pokarmem o wysokiej zawartości tłuszczu. Dowiedziono również, że istnieją różnice między ludźmi a zwierzętami w mechanizmach genetycznych regulacji gromadzenia tkanki tłuszczowej (26, 30).

Adipogeneza

W wielu badaniach wykazano hamujący wpływ naturalnych związków roślinnych, takich jak: kwercetyna, kapsaicyna, genisteina, luteolina, naringenina, eskulentyna, ajoen, piperyna, antocyjany, czy katechiny, na proces adipogenezy (16, 17, 31). Każdy z tych związków oddziałuje na kolejne stadia rozwoju komórek tłuszczowych, najczęściej poprzez hamowanie ich proliferacji i indukcję apoptozy. Odpowiednie dawkowanie tych związków w diecie może być sposobem na walkę z otyłością.

Między innymi katechiny, a szczególnie galusan epigallokatechiny, należą do związków roślinnych, które spożywane w odpowiednich ilościach są w stanie regulować proces wzrostu liczby komórek tkanki tłuszczowej (14, 15, 28, 32).

Aby zrozumieć etiopatogenezę otyłości na poziomie komórkowym, należy przyrzeć się dokładnie procesowi adipogenezy, czyli wieloetapowemu różnicowaniu się preadipocytów do dojrzałych komórek tłuszczowych (adipocytów).

Komórki macierzyste mezenchymy, obecne w tkance tłuszczowej, zdolne są do proliferacji w tkance z jednego listka zarodkowego (33). Oznacza to, że pod wpływem bodźców mogą zróżnicować się w kierunku kości, chrząstki, mięśni, czy w końcu tkanki tłuszczowej (34, 35). Badania *in vitro* wskazują, że substancjami uruchamiającymi mechanizm różnicowania mezenchymalnych komórek macierzystych na drogę adipogenezy są: insulina, IBMX (3-izobutyl-1-metyloksantyna), deksametazon, rozyglitazon i indometacyna, natomiast specyficznymi czynnikami transkrypcyjnymi odpowiedzialnymi za prawidłowy przebieg tego różnicowania są czynniki: PPAR

(*peroxisome proliferator activated receptors*; receptor jądrowy γ aktywowany przez proliferatory peroksysomów), ADD1/SREBP1c (*sterol regulatory element binding protein*; białko wiążące elementy regulatorowe genów enzymów biorących udział w syntezie steroli), rodzina C/EBP (*enhancer-binding protein*; białka wiążące sekwencję wzmacniającą CCAAT), SREBP-1 (*sterol regulatory element-binding protein*; białko wiążące się z elementem odpowiedzi na sterole), KLF-5 (*Krüppel-like factor 5*; czynnik transkrypcyjny z motywem palca cynkowego) i wiele innych (35-38).

Ukierunkowana na drogę adipogenezy komórka podlega stymulacji hormonalnej i ulega podziałom. Jest to moment, w którym komórki macierzyste tracą wielokierunkowe zdolności proliferacyjne i nabywają cechy fenotypowe charakterystyczne dla preadipocytów. Preadipocyty stanowią etap pośredni w cyklu różnicowania, charakteryzują się wrzecionowatym kształtem. Na tym etapie komórki wytwarzają białko wiążące lipidy (ALBP) i adiposynę. Kolejnym stadium adipogenezy jest zatrzymanie przez kontaktowe zahamowanie wzrostu, cyklu komórkowego preadipocytów w fazie G₁. Pod wpływem mitogenów (insulina, glukokortykoidy, induktory cAMP) i hormonów w warunkach *in vitro*, preadipocyty ponownie przechodzą do regionów wzrostu, gdzie wchodzi w cykl mitotycznej ekspansji klonalnej. Towarzyszą temu zmiany w kształcie komórek spowodowane akumulacją tłuszczu, początkowo w małych pęcherzykach rozproszonych w cytoplazmie. W końcowym punkcie różnicowania dochodzi do zatrzymania cyklu komórkowego i transkrypcyjnej aktywacji genów adipocytów odpowiedzialnych za metabolizm lipidów i węglowodanów oraz adipokin (5, 34, 39, 40). Dojrzałe adipocyty mają charakterystyczne cechy morfologiczne, m.in. lipidy magazynowane przez komórkę zlewają się w jedną kulę, która spycha na obwód jądro komórkowe (37).

Preadipocyty charakteryzują się ekspresją genów C/EBP α , GLUT4 (transporter glukozy typu 4), perilipin i genów enzymów lipolitycznych i lipogenicznych. Natomiast markerami dojrzałych adipocytów są: PPAR γ , C/EBP α i izoforma β , lipaza lipoproteinowa (LPL) oraz szereg wytwarzanych adipocytokin.

Apoptoza dojrzałych komórek tłuszczowych jest procesem złożonym, determinowanym przez ekspresję wielu genów. Z jednej strony jej wyrazem jest uwolnienie cytochromu C z mitochondriów, regulowane przez proapoptyczne białka Bad i Bax. Z drugiej strony występują antyapoptyczne białka Bcl-2 i Bcl-X_L. Równowaga pomiędzy ekspresją tych białek stanowi o regulacji cyklu życia komórki (41).

Czynniki transkrypcyjne

Najważniejsze spośród czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za prawidłowy przebieg adipogenezy są receptory aktywowane proliferatorami peroksydomów (PPAR). W tkance tłuszczowej najwyższą ekspresję wykazuje izoforma 2 izotypu γ (PPAR γ 2) (36, 39, 42, 43). Są to czynniki transkrypcyjne należące do rodziny jądrowych receptorów hormonów. Ich główną rolą jest kontrola metabolizmu kwasów tłuszczowych i utrzymanie homeostazy glukozy (36, 42). PPAR γ wpływają na takie geny, jak gen kodujący lipazę lipoproteinową, gen białek transportujących kwasy tłuszczowe i gen receptor 1 oksydowanych LDL. Poprzez regulację tych genów czynnik transkrypcyjny PPAR γ wpływa na glukoneogenezę, lipolizę, syntezę adipocytokin oraz wychwyt i magazynowanie triglicerydów. W tkance tłuszczowej podskórnej wzmacnia wychwyt wolnych kwasów tłuszczowych, proliferację preadipocytów i apoptozę dojrzałych adipocytów. Ekspresja PPAR γ w mysich fibroblastach jest niezbędna do ich różnicowania w kierunku adipocytów, a jego ekspresja wzrasta wraz ze stopniem różnicowania preadipocytów. O ogromnej roli PPAR γ świadczy też fakt, że dotychczas zidentyfikowano 5299 miejsc w genomie myszy 3T3-L1, do których PPAR γ może się przyłączyć i regulować ich ekspresję (37).

Równie ważną rolę odgrywa rodzina białek C/EBP (izotypy α , β , γ) wiążących sekwencję wzmacniającą CCAAT (44). C/EBP są czynnikami transkrypcyjnymi, których delecja powoduje nieprawidłowości w rozwoju tkanki tłuszczowej. Doświadczenia wskazują, że zwierzęta z wyłączonym genem C/EBP giną zaraz po narodzinach z powodu wad wątroby, hipoglikemii i zaburzeń związanych z brakiem akumulacji lipidów. Z kolei dorosłe osobniki z wyłączoną ekspresją genu dla C/EBP przeżywają, ale ze zredukowaną ilością białej tkanki tłuszczowej (40).

Izotyp α czynnika transkrypcyjnego C/EBP jest indukowany w późnej fazie adipogenezy. Najwyższy wzrost jego ekspresji obserwuje się w dojrzałych adipocytach, gdzie jest odpowiedzialny za zależny od insuliny wychwyt glukozy. Ekspresja czynnika stymuluje ekspresję białek wzrostu GADD45 i p21(WAF-1/CIP/SD1). Badania molekularne wykazują dużą zbieżność dla PPAR i C/EBP w miejscach wiązania i aktywacji genów. Potwierdzeniem tej tezy może być fakt, iż mimo zablokowania genu kodującego C/EBP α , u myszy następuje proces adipogenezy (18, 39). W momencie, gdy zostaną wyłączone wszystkie izoformy czynnika C/EBP, dochodzi do spadku ekspresji wielu genów istotnych dla prawidłowego funkcjonowania procesu różnicowania w kierunku adipocytów.

Ekspresja C/EBP β i δ następuje wcześniej niż czynnika izoformy α . Preadipocyty traktowane egzogennymi czynnikami różnicującymi, wykazują natychmiastową ekspresję czynników C/EBP β i δ (40).

Równie istotny w procesie formowania nowych komórek tłuszczowych jest czynnik transkrypcyjny SREBP-1, czyli białko wiążące się z elementem odpowiedzi na sterole. Ekspresja tego czynnika transkrypcyjnego nasila się pod wpływem insuliny. Jak sama nazwa wskazuje, czynnik ten jest odpowiedzialny za regulację ekspresji genów regulujących syntezę kwasów tłuszczowych i cholesterolu. Również zaktywowany SREBP prowadzi do ekspresji enzymów odpowiedzialnych za syntezę kwasów tłuszczowych (28).

Badania ostatnich lat wskazują na istnienie coraz to większej liczby czynników transkrypcyjnych i powiązań między nimi, które mogą regulować adipogenezę. Istnieją też wyniki badań świadczące o różnicach w ekspresji czynników transkrypcyjnych pomiędzy tkanką tłuszczową podskórną brzucha a tkanką tłuszczową trzewną, chociaż obie anatomicznie należą do białej tkanki tłuszczowej (11). Innym aspektem jest istnienie procesu rekompensacyjnego, który pozwala na prawidłowy przebieg adipogenezy, mimo braku kluczowych czynników transkrypcyjnych (40).

Obserwując proces adipogenezy przebiegający w modelowych mysich liniach komórkowych 3T3-L1 wykazano, że jako pierwsze, po stymulacji hormonalnej komórek macierzystych tkanki tłuszczowej, uruchamiane są czynniki transkrypcyjne C/EBP β i C/EBP δ i to one są uważane za wczesne stymulatory adipogenezy. Po 24 godz. od stymulacji hormonalnej, ekspresja tych czynników sprawia, że ponownie preadipocyty wchodzą w cykl komórkowy. Oba białka wiążące się z sekwencją CCAAT izoformy α i β , zaktywowane są najprawdopodobniej przez czynniki KROX 20 (*early growth response gene 2* – czynnik transkrypcyjny, który działa we wczesnej fazie adipogenezy, indukuje ekspresję C/EBP β). Uaktywniają one kolejno – C/EBP δ , czynnik KLF5, natomiast C/EBP β zarówno czynnik KLF5, jak i czynnik PPAR γ . PPAR γ może być zaktywowany zarówno przez czynniki C/EBP β , jak i KLF5. W końcowym etapie czynnik transkrypcyjny PPAR γ jest stymulowany przez czynnik C/EBP α (33). W tym czasie obserwuje się również wzmoczoną ekspresję czynnika SREBP1 (37). Czynnik transkrypcyjny C/EBP α , którego ekspresję obserwuje się podczas drugiego dnia od stymulacji hormonalnej, powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego (44). Po ośmiu dniach od stymulacji hormonalnej hodowli, około 90% komórek wykazuje morfologię dojrzałego adipocytu.

Wpływ galusanu epigallokatechiny na adipogenezę

Do badań prowadzonych nad przebiegiem adipogenezy są zwykle wykorzystywane różnorodne linie ludzkich, bądź mysich preadipocytów i adipocytów. Do najczęściej używanych należą: linie ludzkie AML-1 oraz mysie C3H10 T1/2 i 3T3-L1. Rezultatów doświadczeń *in vitro* na komórkach tłuszczowych nie można bezpośrednio ekstrapolować na efekty kliniczne, pomagają one jednak wyjaśnić różne molekularne mechanizmy, na które wpływają katechiny zielonej herbaty.

W badaniach prowadzonych na mysich liniach komórkowych 3T3-L1 wykazano, że polifenole roślinne mogą hamować różnicowanie i proliferację komórek tkanki tłuszczowej poprzez inhibicję ekspresji genów kodujących czynniki transkrypcyjne C/EBP, PPAR γ (11) oraz ADD1/SREBP-1 (28, 32). Badania Morikawy i wsp. (45) przeczą powyższym wynikom gdyż wykazały one, że galusan epigallokatechiny nie wpływa na konwersję preadipocytów w adipocyty; podczas eksperymentu nie zaobserwowano spadku ilości cytoplazmatycznych kropli tłuszczu w hodowlach z pożywką wzbogaconą w EGCG.

Chan i wsp. (32) badali wpływ różnych stężeń EGCG na proces adipogenezy linii komórkowej 3T3-L1. W pracy użyli zarówno stężeń fizjologicznych 0,1 μ M, 0,2 μ M, 0,5 μ M, 1 μ M, jak i farmakologicznych 5 μ M i 10 μ M tej substancji. Zaobserwowali, że najniższe stężenie 0,1 μ M katechiny wywoływało efekt w postaci redukcji liczby komórek. Największe natężenie tego zjawiska następowało przy najwyższym zastosowanym w badaniu stężeniu, przy czym poziom proliferacji obniżył się o 40,5% w porównaniu do kontroli. Szczegółowe analizy wykazały, że działanie hamujące proliferację EGCG preadipocytów wynika z zatrzymania rozwoju komórek w fazie G₁, przy jednoczesnym zwiększeniu liczby komórek znajdujących się w fazie G₂/M cyklu komórkowego. Z powyższych analiz wynika również, że efekt działania EGCG na proces adipogenezy był wprost proporcjonalny do dawki katechiny. Dodawanie przez 18 dni 10 μ M EGCG do hodowli zahamowało nie tylko wzrost hiperplastyczny, ale też akumulację kropli tłuszczu i przez cały czas trwania hodowli preadipocyty zachowały formę fibroblastu. Tymczasem niskie stężenia galusanu epigallokatechiny zawarte w podłożu hodowlanym nie wykazywały istotnego statystycznie wpływu na akumulację trigliceroli przez preadipocyty. Badania Chen i wsp. (8) potwierdziły tezę o braku wpływu cytotoksycznego dużych dawek EGCG (powyżej 10 μ M), jako czynnika powodującego zmniejszenie liczby komórek, ponieważ komórki dalej proliferowały.

Przeczą temu wnioski płynące z doświadczeń Sung i wsp. (27), które mówią o cytotoksycznym oddziaływaniu EGCG zarówno na preadipocyty, jak i adipocyty, w stężeniu powyżej 10 μ M. Poza tym EGCG, w zależności od dawki prowadziło do apoptozy ludzkich linii preadipocytów AML-1 (45). Działanie cytotoksyczne i proapoptyczne EGCG było najbardziej efektywne w 72 i 96 godz. od podania do hodowli katechiny. Katechina spowodowała akumulację proapoptotycznych białek Bad. Stymulacja apoptozy przez EGCG mogła wynikać z oddziaływania katechiny na spadek aktywności glutationu, co prowadziło do zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu, które z kolei są mediatorami indukowanej śmierci komórki (46). Z kolei badania Sung i wsp. (27) potwierdzają wcześniejsze prace wskazujące na zależny od dawki stymulujący wpływ EGCG na wzrost produkcji reaktywnych form tlenu, ale z tych badań wynika, że efekt ten jest obserwowany już przy pięciokrotnie niższym stężeniu katechiny.

Eksperymenty badawcze prowadzone na myszach C57BL/6J, które przez 8 tyg. były karmione dietą wysokotłuszczową, przy jednoczesnej suplementacji galusanem epigallokatechiny w ilości 0,2 lub 0,5%, wskazują na wzrost zależny od dawki katechiny, poziomu mRNA, kluczowych dla adipogenezy czynników transkrypcyjnych i genów odpowiedzialnych za adipogenezę, lipolizę, β -oksydację i termogenezę (25). Wykazano istotny spadek ekspresji mRNA dla czynników transkrypcyjnych PPAR γ i SREBP, wzrastający wraz ze zwiększeniem ilości EGCG zawartego w diecie. Natomiast ekspresja czynnika C/EBP α była istotnie niższa w stosunku do kontroli i nie zależała od ilości katechiny zawartej w pokarmie (25).

Próby prowadzone w Japonii na 38 ochotnikach płci męskiej, którzy spożywali przez 12 tyg. napój o zawartości 690 mg katechin, wskazują na istotną redukcję ilości tkanki tłuszczowej (47). Tymczasem eksperyment badawczy prowadzony na grupie kobiet, które przez okres 12 tyg. codziennie przyjmowały 302 mg ekstraktu z zielonej herbaty, wykazał w porównaniu do grupy kontrolnej, która przyjmowała placebo, brak różnic istotnych statystycznie w BMI i redukcji masy ciała (48). Meta-analiza przeprowadzona przez Hursel i wsp. (49) jednoznacznie wskazuje, że preparaty mające w swym składzie katechiny, bądź wyłącznie EGCG, wykazywały nieznaczny, ale istotny wpływ na zmniejszenie masy ciała.

Podsumowanie

Tkanka tłuszczowa jest najważniejszym składnikiem trzeciej warstwy skóry, tzn. tkanki podskórnej. Właściwie tkanka ta odpowiada za ostateczny kształt

ludzkiego ciała. Nieprzypadkowo właśnie tkanka tłuszczowa stała się w ostatnim czasie polem działań, mających na celu przywrócenie właściwych proporcji ciała i podniesienie jego estetyki. Najbardziej reprezentatywnym przykładem tych działań jest liposukcja, czyli odsysanie tłuszczu. Dzisiaj istnieją także inne metody, którymi próbuje się przywracać właściwe proporcje sylwetki. Jedną z nich jest stosowanie diety, co powoduje, że istnieją rozliczne warianty diet odchudzających. Niektóre z nich wydają się przynosić obiecujące rezultaty. Dlatego przedmiotem naszego zainteresowania stał się wybrany składnik diety, o którym wiadomo, że może być pomocny przy redukcji masy ciała.

Budowa, fizjologia i rozmieszczenie tkanki tłuszczowej sprawia, że skutki jej nadmiaru prowadzą do rozregulowania czynności wielu narządów, nawet bezpośrednio z nią niepołączonych.

Galusan epigallockatechiny (EGCG) jest związkiem polifenolowym występującym w największej ilości spośród katechin w naparze z zielonej herbaty. Związek ten wykazuje udowodnione właściwości przeciwutleniające, które są głównym powodem, dla którego prowadzone są wielokierunkowe badania kliniczne i eksperymentalne nad wykorzystaniem go w terapii wielu chorób. Szczególne nadzieje budzi możliwość zastosowania bogatego w EGCG ekstraktu z zielonej herbaty w leczeniu i zapobieganiu otyłości.

Wyniki badań eksperymentalnych zgodnie wskazują na ograniczanie przez EGCG wchłaniania tłuszczu, stymulacji termogenezy i hamowanie procesu tworzenia nowych naczyń krwionośnych. W dostępnych publikacjach naukowych brak jest natomiast informacji na temat wpływu katechin z zielonej herbaty na wytwarzanie adipocytokin przez tkankę tłuszczową. Jedyne opublikowane wyniki mówią o braku istotnego statystycznie oddziaływania EGCG na sekrecję wifatyny, leptyny i adiponektyny (50).

Zarówno eksperymenty prowadzone na liniach komórkowych, jak i modelach zwierzęcych, wskazują na istotny wpływ EGCG na zmniejszenie liczby i objętości komórek tkanki tłuszczowej. Badacze również są zgodni, że efekt oddziaływania związków zawartych w zielonej herbacie zależy od ich stężenia. Natomiast wnioski płynące z doświadczeń na modelach *in vitro* i zwierzętach laboratoryjnych nie zawsze da się odnieść do organizmu ludzkiego. Wydaje się, że wpływ na to mają zarówno różnice genetyczne w sterowaniu fizjologią tkanki tłuszczowej pomiędzy organizmem ludzkim a zwierzęcym, jak również wewnętrzne różnice dotyczące gromadzenia tłuszczu. Wyraźny jest też wpływ innych składników diety na modulowanie adipogenezy i wchłanianie tłuszczu. Stosowanie używek,

takich jak papierosy i alkohol, ma znaczący udział w obniżaniu potencjału przeciwutleniającego organizmu, w tym w ograniczaniu antyoksydacyjnego wpływu katechin. Nadzieje budzi możliwość stosowania substancji złożonych, których rezultat współdziałania byłby bardziej efektywny; przykładem takich związków może być galusan epigallockatechiny w kombinacji z kofeiną (51, 52).

Nie mniej jednak odnotowuje się istotny wpływ galusanu epigallockatechiny na poszczególne fazy adipogenezy, co w końcowym efekcie prowadzi do zahamowania tego procesu, a nawet indukcji programowanej śmierci adipocyty.

Piśmiennictwo

- Mazur A, Matusik P, Małecka-Tendera E. Tkanka tłuszczowa jako narząd wydzielania wewnętrznego. *Pol J Fiziol* 2010; 85(3): 255-64.
- Tchkonian T, Morbeck D, Zglinicki T i wsp. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging Cell* 2010; 9(5):667-84.
- Siemińska L. Tkanka tłuszczowa. *Patofizjologia, rozmieszczenie, różnice płciowe oraz znaczenie w procesach zapalnych i nowotworowych*. *Endokrynol Pol* 2007; 58(4):330-42.
- Zeve D, Tang W, Graff J. Fighting fat with fat: The expanding field of adipose stem cells. *Cell Stem Cell* 2009; 5:472-81.
- Dodson MV, Jiang Z, Du M i wsp. Adipogenesis: It is not just lipid that comprises adipose tissue. *J Genomics* 2012; 1:1-4.
- Jezińska-Woźniak K, Nosarzewska D, Tutas A i wsp. Wykorzystanie tkanki tłuszczowej jako źródła mezenchymalnych komórek macierzystych. *Post Hig Med Dośw* 2010; 64:326-32.
- Liu L, Li YY, Tollefsbol T. Gene-environment interaction and epigenetic basis of human disease. *Curr Issues Mol Biol* 2008; 10(1):25-36.
- Chen YK, Cheung C, Reuhl KR i wsp. Effects of green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate on newly developed high-fat/Western-style diet-induced obesity and metabolic syndrome in mice. *J Agric Food Chem* 2011; 59(21):11862-71.
- Olśzanecka-Glinianowicz M, Zahorska-Markiewicz B. Otyłość jako choroba zapalna. *Post Hig Med Dośw* 2008; 62:249-57.
- Zięba R. Otyłość: przegląd aktualnie stosowanych leków i nowych związków poddawanych ocenie klinicznej. *Post Hig Med Dośw* 2007; 61:612-26.
- Stępień M, Szulińska M, Bogdański P i wsp. Rola ekstraktu zielonej herbaty w leczeniu otyłości. *Forum Zab Metab* 2011; 2(4):256-62.
- Choudhary M, Grover K. Development of functional food products in relation to obesity. *FFHD* 2012; 2(6):188-97.
- Diepvens K, Westerterp KR, Westerterp-Plantenga MS. Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin and green tea. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292:77-85.
- Cabrera C, Artacho R, Gimenez R. Beneficial effects of green tea – a review. *J Am Coll Nutr* 2006; 25(2):79-99.
- Całka J, Zasadowski A, Juranek J. Niektóre aspekty leczniczego działania zielonej herbaty. *Bromat Chem Toksykol* 2008; 1: 5-14.
- Ando C, Takahashi N, Hirai S i wsp. Luteolin, a food-derived flavonoid, suppresses adipocyte-dependent activation of macrophages by inhibiting JNK activation. *FEBS Lett* 2009; 583(22):3649-54.
- Kowalska K. Naturalne związki zaangażowane w kontrolę masy tkanki tłuszczowej w badaniach *in vitro*. *Post Hig Med Dośw* 2011; 65:515-23.
- Moghaddasi MS, Kashani HH. Effect of tea in the treatment of obesity. *SRE* 2012; 7(13):1381-4.
- Majewska-Wierzbicka M, Czacot H. Flawonoidy w prewencji i leczeniu chorób układu sercowo-naczyniowego. *Pol Mer Lek* 2012; 32:50-4.
- Warnke I, Goralczyk R, Fuhrer E i wsp. Dietary constituents reduce lipid accumulation in murine C3H10 T1/2 adipocytes:

- A novel fluorescent method to quantify fat droplets. *Nut Metab* 2011; 8:30. **21.** Brown AL, Lane J, Holyoak C i wsp. Health effects of green tea catechins in overweight and obese men: a randomised controlled cross-over trial. *Br J Nutr* 2011; 106(12):1880-9. **22.** Rains TM, Agarwal S, Maki KC. Antiobesity effects of green tea catechins: a mechanistic review. *J Nutr Biochem* 2011; 22(1):1-7. **23.** Wolfram S, Wang Y, Thielecke F. Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench. *Mol Nutr Food Res* 2006; 50(2):176-87. **24.** Suzuki Y, Mityoshi N, Isemura M. Health-promoting effect of green tea. *Proc Jpn Acad Ser B* 2012; 88(3):88-101. **25.** Lee MS, Kim CT, Kim Y. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate reduces body weight with regulation of multiple genes expression in adipose tissue of diet-induced obese mice. *Ann Nutr Metab* 2009; 54(2):151-7. **26.** Sepe A, Tchkonina T, Thomou T i wsp. Aging and regional differences in fat cell progenitors – a mini review. *Gerontology* 2011; 57(1):66-75. **27.** Sung HY, Hong CG, Suh YS i wsp. Role of (-)-epigallocatechin-3-gallate in cell viability, lipogenesis, and retinol-binding protein 4 expression in adipocytes. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* 2010; 382(4):303-10. **28.** Kim H, Hiraishi A, Tsuchiya K i wsp. (-)-Epigallocatechin gallate suppresses the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes through transcription factors FoxO1 and SREBP1c. *Cytotechnology* 2010; 62(3):245-55. **29.** Thielecke F, Rahn G, Bohnke J i wsp. Epigallocatechin-3-gallate and postprandial fat oxidation in overweight/obese male volunteers: a pilot study. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64(7):704-13. **30.** Dodson MV, Hausman GJ, Guan LL i wsp. Lipid metabolism, adipocyte depot physiology and utilization of meat animals as experimental models for metabolic research. *Int J Biol Sci* 2010; 6(7):682-90. **31.** Park UH, Jeong HS, Jo EY i wsp. Piperine, a component of black pepper, inhibits adipogenesis by antagonizing PPAR γ activity in 3T3-L1 cells. *J Agric Food Chem* 2012; 60(15):3853-60. **32.** Chan CY, Wei L, Castro-Muñozledo F i wsp. (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks 3T3-L1 adipose conversion by inhibition of cell proliferation and suppression of adipose phenotype expression. *Life Sci* 2011; 89(21-22):779-85. **33.** Li H, Xiao L, Wang C i wsp. Epigenetic regulation of adipocyte differentiation and adipogenesis. *J Zhejiang Univ-Sci B* 2010; 11(10):784-91. **34.** Cawthorn WP, Scheller EL, Macdougald OA. Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: going back to the future. *J Lipid Res* 2012; 53(2):227-46. **35.** Locke M, Windor J, Dunbar R. Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and application in surgery. *ANZ J Surg* 2009; 79(4):235-44. **36.** Hojka A, Rapak A. Receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów (PPAR). Właściwości antyproliferacyjne. *Post Hig Med Dośw* 2011; 65:404-13. **37.** Lefterova M, Lazar MA. New development in adipogenesis. *Trends End Metabol* 2009; 20(3):107-14. **38.** Musri MM, Gomis R, Parrizas M. Chromatin and chromatin-modifying proteins in adipogenesis. *Cell Biol* 2007; 85(4):397-410. **39.** Lefterova MI, Zhang Y, Steger DJ i wsp. PPAR γ and C/EBP factors orchestrate adipocyte biology via adjacent binding on a genome-wide scale. *Genes Dev* 2008; 22(21):2941-52. **40.** Rosen ED, Walkey CJ, Puigserver P i wsp. Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev* 2000; 14:1293-307. **41.** Łabędzka K, Grzanka A, Izdebska M. Mitochondrium a śmierć komórki. *Post Hig Med Dośw* 2006; 60:439-46. **42.** Mrówka P, Głodkowska-Mrówka E. Struktura, działanie i rola receptora-gamma peroksysomów aktywowanego przez proliferatory – PPAR γ . *Post Biol Kom* 2011; 38:629-52. **43.** Siersbaek R, Nielsen R, Mandrup S. PPAR γ in adipocyte differentiation and metabolism – Novel insights from genome-wide studies. *FEBS Lett* 2010; 584: 3242-9. **44.** Musri MM, Parrizas M. Epigenetic regulation of adipogenesis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; 15(4):342-9. **45.** Morikawa K, Ikeda C, Nonaka M i wsp. Epigallocatechin gallate-induced apoptosis does not affect adipocyte conversion of preadipocytes. *Cell Biol Int* 2007; 31(11):1379-87. **46.** Wang CT, Chang HH, Hsiao CH i wsp. The effects of green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate on reactive oxygen species in 3T3-L1 preadipocytes and adipocytes depend on the glutathione and 67 kDa laminin receptor pathways. *Mol Nutr Food Res* 2009; 53(3):349-60. **47.** Nagao T, Komine Y, Soga S i wsp. Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malondialdehyde-modified LDL in men. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(1):122-9. **48.** Hsu CH, Tsai TH, Kao YH i wsp. Effect of green tea extract on obese women: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Clin Nutr* 2008; 27(3):363-70. **49.** Hursel R, Viechtbauer W, Westerterp-Plantega MS. The effects of green tea on weight loss and weight maintenance: a meta-analysis. *Int J Obes* 2009; 33(9):956-61. **50.** Derdemezis CS, Kiorstis DN, Tsimihodimos V i wsp. Effect of plant polyphenols on adipokine secretion from human SGBS adipocytes. *Biochem Res Int* 2011 (online) doi: 10.1155/2011/285618. **51.** Smith AE, Lockwood CM, Moon JR i wsp. Physiological effects of caffeine, epigallocatechin-3-gallate, and exercise in overweight and obese women. *Appl Physiol Nutr Metab* 2010; 35(5):607-16. **52.** Sugiura C, Nishimatsu S, Moriyama T i wsp. Catechins and caffeine inhibit fat accumulation in mice through the improvement of hepatic lipid metabolism. *J Obes* 2012; Article ID 520510.

otrzymano/received: 15.01.2013
zaakceptowano/accepted: 28.02.2013

Adres/address:
*mgr Magdalena Donejko
Samodzielna Pracownia Medycyny Estetycznej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Akademicka 3, 15-267 Białystok
tel.: +48 (85) 748-58-22
e-mail: donejko@gmail.com