Antioksidansi u aterosklerozi

Vehtersbah-Stojan, Petar

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:439178

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Petar Vehtersbah-Stojan

Antioksidansi u aterosklerozi

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2015.

Diplomski rad je prijavljen na kolegiju Biokemija prehrane Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za kemiju prehrane pod stručnim vodstvom dr. sc. Lovorke Vujić.

Zahvaljujem svojoj mentorici, dr. sc. Lovorki Vujić na strpljenju, savjetima i vodstvu tijekom izrade diplomskog rada.

Veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima na pruženoj podršci tijekom cijelog obrazovanja.

KRATICE

AA (eng. *ascorbic acid*) - askorbinska kiselina (vitamin C)

ABCA1 i ABCG1 (eng. *ATP-binding cassette transporters A1 and G1*) - ABC proteini

ACAT (eng. *acyl-CoA cholesterol acyltransferase*) - acil-CoA kolesterol O-aciltransferaza

ACE (eng. *angiotensin converting enzyme*) - angiotenzin konvertirajući enzim

AKT (eng. *serine/threonine-specific protein kinase*) - serin/treonin-specifična protein kinaza

ALA (eng. *alpha lipoic acid*) - alfa-lipoična kiselina

BCDO2 (eng. *beta-carotene dioxygenase 2*) - beta-karoten dioksigenaza 2

CETP (eng. *cholesteryl ester transfer protein*) - kolesteril-ester transportnog proteina

COX (eng. *cyclooxygenase*) - ciklooksigenaza

CSF (eng. *colony stimulating factor*) - čimbenik stimulacije kolonija

DHA (eng. *dehydroascorbic acid*) - dehidroaskorbinska kiselina

DHLA (eng. *dihydrolipoic acid*) - dihidrolipoična kiselina

DNA (eng. *deoxyribonucleic acid*) - deoksiribonukleinska kiselina

ecSOD (eng. *extracellular superoxide dismutase*) - izvanstanična superoksid-dismutaza

EGCG (eng. *epigallocatechin-3-gallate*) - epigalokatehin-3-galat

eNOS (eng. *endothelial NO synthase*) - endotelna NO sintaza

GM-CSF (eng. *granulocyte macrophage colony-stimulating factors*) - faktor stimulacije kolonije granulocita i makrofaga

GMS - glatke mišićne stanice

GSH - reducirani oblik glutationa

GSSG - oksidirani oblik glutationa

HDL (eng. *high-density lipoprotein*) - lipoprotein visoke gustoće

HIF1α (eng. *hypoxia inducible factor 1 alpha*) - hipoksija-inducibilni faktor 1α

HMG-CoA-reduktaza - hidroksimetilglutaril-koenzim A-reduktaza

Hsp70 (eng. *heat shock protein70*) - proteini toplinskog šoka 70

ICAM-1 (engl. intercellular adhesion molecule-1) - međustanična adhezijska molekula -1

IDL (eng. *intermediate-density lipoprotein*) - lipoprotein srednje gustoće

IL (eng. *interleukin*) - interleukin

KVB - kardiovaskularne bolesti

LDL (eng. *low-density lipoprotein*) - lipoprotein niske gustoće

LOX-1 (eng. *lectin-like oxLDL receptor 1*) - lektinu sličan receptor oksidiranog LDL-a 1

LPL (eng. *lipoprotein lipase*) - lipoprotein lipaza

Mac-1 (eng. *macrophage-1 antigen*) - makrofag-1-antigen

MAPK (eng. *mitogen-activated protein kinase*) - mitogen-aktivirana protein kinaza

MCP-1 (eng. *monocyte chemoattractant protein-1*) - monocit-kemotaksični protein

MTP (eng. *microsomal triglyceride transfer protein*) - mikrosomalni transporter triglicerida

NAD(P)H (eng. *nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate)*) - nikotinamid adenin dinukleotid (fosfat)

NF-κB (eng. *nuclear factor kappa B*) - nuklearni faktor kapa B

NOS (eng. *nitrogen oxide synthase*) - NO sintaza

PAI-1 (eng. *plasminogen activator inhibitor-1*) - inhibitor aktivacije plazminogena 1

PDGF (eng. *plateled derived growth factor*) - trombocitni čimbenik rasta

PKC (eng. *protein kinase C*) - protein kinaza C

PPA2 (eng. *Protein phosphatase 2*) - protein-fosfataza 2

PPARα (eng.*peroxisome proliferator activated receptor*) - peroksisom proliferator-aktivirani receptor alfa

RCT (eng. *reverse cholesterol transport*) - reverzni transport kolesterola

RDA (eng. *Recommended Dietary Allowance*) - preporučena dnevna doza

RNS (eng. *reactive nitrogen species*) - reaktivni dušikovi spojevi

ROS (eng. *reactive oxygen* species) - reaktivni kisikovi spojevi

RS (eng. resveratrol) - resveratrol

SOD (eng. *superoxide dismutase*) - superoksid-dismutaza

TAP (eng. *tocopherol associated proteins*) - tokoferol-vezujući proteini

TG - trigliceridi

TGF-β (eng. *transforming growth factor beta*) - transformirajući faktor rasta beta

Th-stanice (eng. *T helper cells*) - pomoćne T-stanice

TNF-α (eng. tumor necrosis factor alpha) - faktor nekroze tumora alfa

Treg stanice (eng. *regulatory T cell*) - regulatorne T stanice

VCAM-1 (engl. *vascular cell adhesion molecule-1*) - vaskularna stanična adhezijska molekula 1

VEGF (eng. *vascular endothelial growth factor*) - vaskularni endotelni faktor rasta

VLDL (eng. *very low-density lipoprotein*) - lipoprotein vrlo niske gustoće

α-TOH (eng. *alpha tocopherol*) - alfa-tokoferol (vitamin E)

α-TTP (eng. *alpha-tocopherol transfer protein*) - α-tokoferol transportni protein

Sadržaj

1. UVOD 1

1.1. ATEROSKLEROZA 1

1.1.1. ATEROGENEZA 1

1.1.2. POSLJEDICE ATEROSKLEROZE 4

1.1.3. ČIMBENICI RIZIKA I SIMPTOMI ATEROSKLEROZE 4

1.1.4. DIJAGNOZA, LIJEČENJE I PREVENCIJA ATEROSKLEROZE 7

1.2. OKSIDATIVNI STRES 9

1.2.1. SLOBODNI RADIKALI 9

1.2.2. ANTIOKSIDANSI 13

1.2.2.1. PODJELA ANTIOKSIDANSA 14

1.2.2.2. IZVORI ANTIOKSIDANSA 14

2. OBRAZLOŽENJE TEME 15

3. MATERIJALI I METODE 16

4. REZULTATI I RASPRAVA 17

4.1. KAROTENOIDI 17

4.1.1. LUTEIN 20

4.1.2. LIKOPEN 21

4.1.3. BETA-KAROTEN 22

4.1.4. VITAMIN A 24

4.1.5. NEGATIVNO DJELOVANJE KAROTENOIDA 24

4.2. VITAMIN E 26

4.2.1. VITAMIN E I BOLESTI POVEZANE S OKSIDATIVNIM STRESOM 27

4.2.2. NEANTIOKSIDATIVNI MEHANIZMI DJELOVANJA VITAMINA E 28

4.2.3. VITAMIN E I RIZIK OD KARDIOVASKULARNIH BOLESTI 31

4.2.4. NEGATIVNI UČINCI VITAMINA E 32

4.2.4.1. SMANJENJE KOLIČINE PROTEINA TOPLINSKOG ŠOKA 32

4.2.4.2. PROOKSIDATIVNO DJELOVANJE VITAMINA E 32

4.3. KOENZIM Q_{10} 34

4.3.1. UTJECAJ COQ_{10} NA ENDOTELNU FUNKCIJU 35

4.3.2. UTJECAJ COQ_{10} NA LIPIDNI PROFIL ... 36
4.3.3. PROTUUPALNI UČINCI COQ_{10} ... 38
4.3.4. UČINCI COQ_{10} NA ZAŠTITU DNA ... 38
4.4. ALFA-LIPOIČNA KISELINA (ALA) ... 40
4.4.1. MEHANIZAM DJELOVANJA ALA/DHLA NA DRUGE ANTIOKSIDATIVNE SUSTAVE ... 42
4.4.2. UČINCI ALA NA OKSIDACIJU LDL-a, LIPIDNI PROFIL I FORMACIJU ATEROMA ... 43
4.5. VITAMIN C ... 44
4.5.1. FIZIOLOŠKE FUNKCIJE VITAMINA C ... 45
4.5.2. VITAMIN C I ATEROSKLEROZA ... 46
4.6. POLIFENOLI ... 49
4.6.1. DJELOVANJE POLIFENOLA ... 49
4.6.2. FLAVONOIDI ... 53
4.6.2.1. KVERCETIN ... 56
4.6.2.2. KEMFEROL ... 57
4.6.2.3. MIRICETIN ... 58
4.6.2.4. RUTIN ... 59
4.6.2.5. NARINGENIN ... 60
4.6.2.6. KATEHINI ... 61
4.6.3. FENOLNE KISELINE ... 64
4.6.3.1. ELAGIČNA KISELINA ... 64
4.6.3.2. GALNA KISELINA ... 66
4.6.3.3. TANIČNA KISELINA ... 67
4.6.4. RESVERATROL ... 68
4.6.4.1. ANTIOKSIDATIVNI UČINAK RESVERATROLA ... 69
4.6.4.2. OSTALI UČINCI RESVERATROLA ... 69
4.6.4.3. SIGURNOSNI ASPEKTI TERAPIJE RESVERATROLOM ... 72
5. ZAKLJUČCI ... 73
6. LITERATURA ... 75
7. SAŽETAK/SUMMARY ... 86
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD

1. UVOD

1.1. ATEROSKLEROZA

Ateroskleroza je specifičan tip arterioskleroze (općeniti pojam za zadebljanje i očvrsnuće arterija) (www.heart.org) karakteriziran suženjem lumena žila zbog lokalnog zadebljanja stijenke arterije koje se zove aterom ili plak (franc. *plaque*-ploča). Aterom ima kašastu jezgru koja se sastoji od lipida iz serumskih lipoproteina i pjenastih stanica makrofagnog podrijetla, te "kapu" građenu od veziva (kolagena vlakna, elastin), proteoglikana te umnoženih i izmjenjenih glatkih mišićnih stanica (Kujundžić i sur., 2003). Najčešće je oštećenje arterija te predstavlja patološku osnovu najznačajnijih bolesti kardiovaskularnog sustava, uključujući koronarnu bolest srca (infarkt miokarda, angina pektoris) kardiomiopatiju, fibrilaciju atrija i perifernu arterijsku bolest (Mirić i sur., 1997). Riječ ateroskleroza potječe od grčkih riječi athera-kaša (odnosi se na jezgru ateroma) i skleros-otvrdnuće (odnosi se na otvrdnuće ateroskleroznih žila) (Vrhovac i sur., 2003). Nastaje kao posljedica reakcije imunološkog sustava na oštećenje krvnih žila, tj. endotelnih stanica (Mirić i sur., 1997). Sve arterije mogu biti zahvaćene procesom ateroskleroze, ali najintenzivnije su zahvaćene koronarne arterije (Kujundžić i sur., 2003). Nema točnih podataka o učestalosti ateroskleroze, već se svi epidemiološki podaci odnose na klinička očitovanja ateroskleroze, tj. njezine najvažnije posljedice: koronarnu bolest srca (posebno infarkt miokarda) i moždani udar. Desetljećima su te bolesti u značajnom porastu (Vrhovac i sur., 2003).

1.1.1. Aterogeneza

Ateroskleroza je kronična, progresivna, upalna bolest koja se može početi razvijati već i u djetinjstvu. Započinje oštećenjem endotelnih stanica krvnih žila. Više je faktora koji mogu utjecati na ozljedu endotela: hiperlipidemija, hipertenzija, pušenje, dijabetes, homocisteinemija, infekcije... (www.heart.org; Vrhovac i sur., 2003). Na mjestu ozljede endotela dolazi do ulaska proteina iz plazme, poglavito apoproteina B iz LDL čestica (eng.

low-density lipoprotein- lipoprotein niske gustoće), te njihovog gomilanja u subendotelnom prostoru, gdje oksidiraju (pod utjecajem slobodnih radikala kisika) djelujući toksično na okolne stanice (Kujundžić i sur., 2003). Na mjestu ozljede endotela luči se kemotaksični čimbenik 1 (citokin) koji privlači monocite iz plazme, dok endotelne stanice aktiviraju adhezijske mehanizme što rezultira nakupljanjem monocita i T-limfocita kod mjesta ozljede, koji zatim migriraju u subendotelni prostor. Aktivacija adhezijskih mehanizama označava povećanu ekspresiju molekula stanične adhezije, tj. adhezijskih molekula. To su proteini koji se nalaze na površini stanica te imaju funkciju vezanja drugih stanica i molekula, a uključuju VCAM-1 (eng. *vascular cell adhesion molecule-1*), ICAM-1 (eng. *intercellular adhesion molecule-1*) i E-selektin (Vrhovac i sur., 2003). Monociti pod utjecajem čimbenika stimulacije kolonija (eng. *colony stimulating factor* – CSF) diferenciraju u makrofage, koji putem receptora nakupljaju u sebi oksidirani LDL (jaku aterogenu supstancu), pretvarajući se u pjenastu stanicu prepunu kolesteril-estera (Kujundžić i sur., 2003). Nazivaju se pjenastim stanicama jer pod svjetlosnim mikroskopom mjehurići lipida kojima su prepunjeni izgledaju poput pjene. Naime, te stanice nemaju regulacijske mehanizme nadzora ulaska kolesterola sadržanog u LDL-česticama, tj. ne stvaraju to manje LDL-receptora što više kolesterola LDL-česticama ulazi u njih. Oksidirani LDL u njih ulazi i preko LDL-receptora, ali i preko posebnih "receptora-hvatača" (eng. *"scavenger receptors"*) koji imaju osobit afinitet za oksidirane LDL čestice (Vrhovac i sur., 2003).

Na mjestu ozljede endotela smanjena je sinteza prostaciklina (prostaglandina I2), što rezultira smanjenom vazodilatacijom i pojačanim nakupljanjem i agregacijom trombocita, koji luče tromboksan A2 i trombocitni čimbenik rasta PDGF (eng. *plateled derived growth factor*). Potonji uz inzulin i druge čimbenike rasta, koje luče aktivirani makrofazi i oštećene endotelne stanice, potiče migraciju glatkih mišićnih stanica iz medije u intimu te njihovu proliferaciju. Nakupljanje trombocita potiče i to što hiperlipidemija, posebice hipertrigliceridemija, potiče sintezu inhibitora aktivacije plazminogena 1 (PAI-1) u endotelnim stanicama, koji smanjuje fibrinolitičku aktivnost i potiče stvaranje ugrušaka (Vrhovac i sur., 2003).

Oksidirani LDL ometa sintezu dušikovog monoksida (NO) (tako djeluje i hipertenzija) rezultirajući promjenom funkcije oštećenog endotela, što dovodi do lučenja vazokonstrikcijskih činitelja (endotelini, tromboksan A2) (Vrhovac i sur., 2003). Također potiče lučenje citokina iz aktiviranih makrofaga i djeluje na čimbenike rasta preko T-limfocita te tako ubrzava umnažanje glatkih mišićnih stanica i sintezu kolagena, koji skupa s

raspadnutim pjenastim stanicama čine fibrolipidnu nakupinu. Napredovanjem procesa, broj pjenastih stanica se povećava kao i količina slobodnih lipidnih čestica, proširujući međustanični prostor što ima za posljedicu suženje lumena krvne žile (Kujundžić i sur., 2003). Masne pruge (nakupine glatkih mišićnih stanica, pjenastih stanica i umnoženog veziva, koje uključuje kolagena vlakna, elastin i mukopolisaharide) predstavljaju rani stupanj razvitka ateroskleroze i mogu nestati ako se obnovi integritet, odnosno funkcija endotela. Međutim, ako se oštećenje endotela ponavlja (činitelji koji uzrokuju oštećenje su trajno/često prisutni), a osobito ako je količina LDL-a u krvi stalno povišena, opisana promjena ne nestaje, već se povećava i širi (Vrhovac i sur., 2003). Stvaranje masnih pruga može se smatrati fiziološkim procesom u kojem makrofagi štite intimu od citotoksičnosti oksidiranog LDL-a. U toj fazi proces je reverzibilan, a masna pruga ne sužava lumen arterije niti izaziva promjene u optoku krvi (Kujundžić i sur., 2003).

Pjenaste stanice propadaju apoptozom, pri čemu iz njih izlaze tvari koje potiču umnožavanje glatkih mišićnih stanica i fibroblasta, koji u obliku kape počinju prekrivati lipidnu jezgru nakupine. Pod utjecajem činitelja rasta, posebno transformirajućeg činitelja rasta-beta (TGF-beta), čije je izlučivanje potaknuto slobodnim radikalima kisika, u proliferiranim glatkim mišićnim stanicama počinje sinteza kolagena, elastina i proteoglikana. Time postupno prvotno lipidna nakupina sastavljena od pjenastih stanica postaje fibrolipidna, odnosno nastaje aterom ili plak. Zbog smanjene elastičnosti stijenke arterije uzrokovane nakupljanjem veziva te suženjem lumena arterije, povećava se krvni tlak i mogućnost da tako promijenjena stijenka pukne. Aterosklerozna nakupina može kalcificirati i tada stijenka postaje osobito krhka pa su pucanja stijenke česta (Vrhovac i sur., 2003).

Danas se zna da za kliničko očitovanje ateroskleroze nije toliko važna veličina ateroma, već njegov sastav. Mali ateromi se pretežito sastoje od lipida i pjenastih stanica te imaju tanku vezivnu "kapu" koja je manje otporna na mehaničke pritiske pa lakše pukne. Takvi se ateromi nazivaju nestabilnima. Za razliku od malih, relativno veliki ateromi, koji značajno sužavaju lumen krvne žile, ako imaju veliku vezivnu "kapu" i sadrže manje lipida, stabilni su i rijetko pucaju. Stoga i rijeđe uzrokuju po život opasne kliničke posljedice. Čini se da su glavni uzrok pucanja kape nestabilnih ateroma metaloproteaze (npr. kolagenaze, elastaze) koje izlučuju makrofazi pod utjecajem upalnih stanica, posebno T-limfocita. Ti enzimi mogu razgraditi vezivo koje je tanko kod nestabilnih ateroma (Vrhovac i sur., 2003). Također, pucanjem pjenastih stanica u jezgri ateroma, pri čemu se oslobađaju slobodni

radikali, produkti oksigenacije lipida, i razne proteaze, može se iznutra narušiti stabilnost strukture plaka. Pri pucanju kape dolazi do prodiranja krvi iz lumena u aterom, a kako su pjenaste stanice iz jezgre plaka jako trombogene, na mjestu rupture nakupljaju se trombociti, aktiviraju se koagulacijski mehanizmi te dolazi do stvaranja tromba. Nastanak luminalne tromboze je dinamički proces (Kujundžić i sur., 2003). Danas se smatra da se već formirani aterom povećava nizom povremenih pucanja, na način da se taj mali tromb na ateromu organizira, tj. uklopi u nakupinu (Vrhovac i sur., 2003).

1.1.2. Posljedice ateroskleroze

Ateroskleroza je najčešći i najvažniji uzrok oboljenja kardiovaskulamog sustava. Aterosklerotski plak može izazvati djelomično začepljenje arterije koje dovodi do akutnog koronarnog sindroma (angine pektoris) ili potpuno, fiksno začepljenje (kod težeg oštećenja žile) pa kao rezultat može nastupiti infarkt miokarda ili cerebrovaskularni inzult, te rjeđe zatajenje bubrega ili gangrena. U kojem pravcu se proces razvija, ovisi o stabilnosti plaka (www.heart.org; Kujundžić i sur., 2003).

1.1.3. Čimbenici rizika i simptomi ateroskleroze

Epidemiološka istraživanja su već prije više desetljeća pokazala da postoje brojni čimbenici rizika za nastanak ateroskleroze. To su specifične značajke osoba i njihovih životnih navika povezane s nastankom i progresijom tog stanja (Vrhovac i sur., 2003). Čimbenici rizika (hipertenzija, pušenje, hiperlipidemija, nasljeđe, šećerna bolest, pretilost, smanjena fizička aktivnost, životna dob, spol, infekcije, imunološka reakcija i psihološka obilježja ličnosti) uzrokuju oksidativni stres endotelnih stanica što je prvi korak u cijelom procesu. Razvoj ateroskleroze osobito je ubrzan ako je istovremeno prisutno više čimbenika rizika (Kujundžić i sur., 2003).

Nasljeđe je važan čimbenik rizika za nastanak ateroskleroze koronarnih arterija, a djeluje neovisno od drugih čimbenika rizika. Također djeluje na nastanak nekih bolesti koje su također čimbenici rizika: hipertenzija, hiperlipoproteinemija, dijabetes melitus, homocisteinemija (Kujundžić i sur., 2003).

Hiperlipidemija je jedan od najistraženijih i najznačajnijih čimbenika rizika. Nedvojbeno je dokazano da povećane koncentracije LDL-kolesterola u krvi i snižene koncentracije HDL-kolesterola (eng. *high-density lipoprotein* - lipoprotein visoke gustoće), ubrzavaju aterosklerozu. Lipoprotein (a) je lipoproteinska čestica veće gustoće od LDL-a, čija je proteinska komponenta sastavljena od 2 proteina: apo (a) i apo B100 (Kujundžić i sur., 2003). Posebna je po tome što nema uže veze s ostalim lipoproteinima, a povećana koncentracija te čestice čimbenik je rizika za koronarnu bolest. To se objašnjava strukturnom sličnošću apo (a), glukoproteina, s plazminogenom te sadržajem kolesterola i apoproteina B100 u česticama. Lipoprotein (a) potiče stvaranje mikrotromba i proliferaciju glatkih mišićnih stanica kompetitivnom inhibicijom vezanja plazminogena za njegova vezna mjesta na endotelu (Vrhovac i sur., 2003).

Povišen krvni tlak (hipertenzija) mehanički oštećuje endotelne stanice zbog promijenjene hemodinamike, odnosno veće snage protoka krvi i stvaranja vrtloga na mjestu račvanja (upravo na tim mjestima su aterosklerozne promjene najranije i najizraženije). Hipertenzija je uz hiperlipoproteinemiju najvažniji čimbenik rizika za nastanak aterosklerotskih promjena te je direktno povezana s povećanom učestalošću kliničkih manifestacija ateroskleroze kao što su infarkt miokarda i cerebrovaskularni inzult (Vrhovac i sur., 2003).

Pušenje je važan faktor u aterogenezi i pojavi koronarne bolesti srca, kao posljedici ateroskleroze. Ono smanjuje koncentraciju zaštitnih HDL-a i proteina S, a povećava razinu fibrinogena i razinu aglutinacije trombocita pa je ubrzano stvaranje mikrotromba. Također pojačava tonus koronarnih žila zbog jačeg lučenja noradrenalina. Iako je ustanovljeno da pušenje kemijski oštećuje endotel, još se ne zna pouzdano koja je od komponenti duhanskog dima za to odgovorna (Kujundžić i sur., 2003; Vrhovac i sur., 2003).

Dijabetes (Diabetes mellitus, šećerna bolest) je značajan čimbenik rizika razvoja i progresije ateroskleroze. Odavno je poznato da su učestalost i intenzitet aterosklerozne bolesti arterija znatno povećani u dijabetičara (Vrhovac i sur., 2003). Dijabetes ima utjecaj na razinu lipida u plazmi te je kod dijabetičara česta hipertrigliceridemija i hiperlipoproteinemija. Potonja je okarakterizirana visokim razinama VLDL-čestica i aterogenih LDL-čestica koje iz njih nastaju te smanjenom razinom HDL-čestica. Navedeno koči popravak endotela zbog smanjenog umnožavanja stanica (Kujundžić i sur., 2003). Hiperglikemija može ubrzati

oksidaciju LDL-a, a uočeno je i da su koncentracije vitamina C, koji je snažan antioksidans, kod dijabetičara niske. Neenzimska glukozilacija kolagena uslijed hiperglikemije snažan je poticaj agregaciji trombocita i stvaranju mikrotromba, a glukozilirani LDL makrofazi brže i intenzivnije fagocitiraju (Vrhovac i sur., 2003). Inzulin također snažno stimulira rast glatkih mišićnih stanica na mjestu ozljede endotela uz aktivaciju njihovih LDL-receptora, ubrzavajući tako proces ateroskleroze (Kujundžić i sur., 2003). Problem kod dijabetičara, i onih ovisnih o inzulinu (kod primjene prevelikih doza inzulina) i onih neovisnih o inzulinu (u početnom razdoblju bolesti ili pretilih), su često povišene koncentracije inzulina u krvi, što potiče aterogenezu (Vrhovac i sur., 2003).

Nedostatna tjelesna aktivnost je također činitelj rizika razvoja ateroskleroze. Redovita tjelovježba ima antiaterogeno djelovanje jer smanjuje krvni tlak, tjelesnu težinu, poboljšava toleranciju glukoze, pozitivno utječe na sustav zgrušavanja krvi, povećava koncentraciju HDL-a te tako znatno smanjuje učestalost koronarne bolesti i infarkta miokarda (Vrhovac i sur., 2003).

Psihološki stres (kronični) oponaša metaboličko stanje metaboličkog sindroma (Sindrom X), tj. rezultira povišenom razinom kortizola u krvi što može pospješiti razvoj ateroskleroze (Kujundžić i sur., 2003).

Homocisteinemija, tj. povećana razina homocisteina u krvi (najčešće uzrokovana homocisteinurijom, kongenitalnim poremećajem metabolizma aminokiselina) također ubrzava nastanak ateroskleroze. Pretpostavljeni mehanizmi koji potiču aterogenezu su oštećenje i smanjena reepitelizacija endotela, poticanje oksidacije LDL-a i povećano posredovanje tromboksana u agregaciji trombocita (Kujundžić i sur., 2003).

Povišena koncentracija fibrinogena u plazmi je također čimbenik rizika razvoja ateroskleroze, jer povećava viskoznost krvi i agregaciju trombocita čime potiče trombogenezu. Uzrokuje i porast razine citokina koji izravno oštećuju endotelnu stanicu. Također, povećana količina faktora zgrušavanja VII i XIII te smanjena fibrinolitička aktivnost predstavljaju rizik za aterosklerozu (Kujundžić i sur., 2003; Vrhovac i sur., 2003).

Čimbenik rizika razvoja ateroskleroze je i starija životna dob, zbog smanjene učinkovitosti popravka endotela te zbroja ostalih čimbenika rizika (Kujundžić i sur., 2003).

Brojnim epidemiološkim istraživanjima utvrđeno je da je viši rizik od razvoja ateroskleroze kod muškog spola, bez obzira na učestalost ostalih čimbenika rizika. Do aterosklerotskih promjena u žena dolazi prosječno 15 godina kasnije nego u muškaraca, što se dijelom objašnjava povoljnim djelovanjem estrogena na profil lipoproteina: povećavaju udio HDL-a, smanjuju udjele LDL-a i Lp(a), smanjuju oksidaciju LDL-a te snižavaju razine fibrinogena i homocisteina (Vrhovac i sur., 2003).

Uzročnici infekcija (Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, herpes virusi) mogu interferirati u metabolizmu nekih spojeva što može dovesti do neravnoteže pa i oštećenja endotela kao posljedice, čime se stvori plodno tlo za inicijaciju ateroskleroze (Kujundžić i sur., 2003).

Simptomi ateroskleroze se javljaju u kasnijoj fazi, kad je bolest već dosta razvijena i proširena, tj. kad je stvorena blokada prolasku krvi kroz žilu. Simptomi su:

- bol u prsima (angina)
- kratkoća daha
- umor
- zbunjenost (ako se radi o blokadi cirkulacije u mozgu)
- bol u ekstremitetima (ako se radi o blokadi perifernih arterija)
- mišićna slabost (www.healthline.com)

1.1.4. Dijagnoza, liječenje i prevencija ateroskleroze

Najpouzdanija dijagnoza aterosklerotskog suženja lumena arterije postavlja se vizualizacijom tog suženja kvantitativnom angiografijom. Međutim, tom se tehnikom ne može dobiti uvid u građu ateroma, tj. radi li se o stabilnome ili nestabilnome ateromu. To se može procijeniti uz pomoć intravaskularnog ultrazvuka. Postoje i neinvazivne metode kojima se može uočiti blokada žile, a to su Doppler-ultrazvuk, nuklearna magnetska rezonanca (kojom bi se mogao i utvrditi sadržaj lipida i veziva u ateromu), kompjuterizirana tomografija, elektrokardiogram, scintigrafija,... (Kujundžić i sur., 2003).

Zasad ne postoji mogućnost liječenja uznapredovale ateroskleroze, u pravom smislu te riječi, već se liječe samo posljedice, odnosno komplikacije ateroskleroze.

Protektivan učinak na endotel pokazali su samo statini, tj. inhibitori HMG-CoA-reduktaze, enzima uključenog u put sinteze kolesterola (hidroksi-metil-glutaril-koenzim A-reduktaza), i donekle inhibitori kalcijevih kanala (lacidipin) (Vrhovac i sur., 2003).

Glavni cilj je spriječiti nastanak ateroskleroze, a ako ona već postoji, smanjiti mogućnost komplikacija. Prevencija ateroskleroze se dijeli na primarnu i sekundarnu. Primarna prevencija znači prevenciju pojave čimbenika rizika, a odnosi se na usvajanje zdravih životnih navika što je poželjno od djetinjstva (pravilna prehrana, tjelesna aktivnost, bez pušenja) te tretiranje postojećih bolesti koje su čimbenici rizika (terapija hipertenzije, dijabetesa, hiperlipidemije...), jer se na taj način sprječava ili barem usporava razvoj ateroskleroze. Sekundarna prevencija se odnosi na zaštitu pacijenta od komplikacija koronarne bolesti, a označava smanjenje čimbenika rizika lijekovima i promjenom životnih navika (iako oštećenje već postoji) te uvođenje nekih lijekova koji smanjuju mogućnost komplikacija (recimo aspirin, kao antiagregacijski lijek da se reducira tromboza, i ACE inhibitori koji sprječavaju suženje žile). U nekim slučajevima radi se i operativni zahvat: endarterektomija (kirurško odstranjenje ateroma iz arterije), aterektomija (endovaskularna operacija kojom se odstranjuje aterom), angioplastika, operacija aortokoronarnog premoštenja (bypass operacija) (www.healthline.com; Vrhovac i sur., 2003).

1.2. OKSIDATIVNI STRES

Oksidativni stres definira se kao pomak ravnoteže u staničnim oksidativno-redukcijskim reakcijama u smjeru oksidacije. Riječ je o stanju prekomjernog stvaranja slobodnih radikala kisika pri čemu dolazi do gubitka ravnoteže između stvaranja slobodnih radikala i mogućnosti neke stanice da ih ukloni što rezultira njezinim oštećenjem. Do pomaka ravnoteže može doći ukoliko je smanjena antioksidativna zaštita organizma ili ako je stvaranje radikala pojačano. U stanjima oksidativnog stresa dolazi do porasta ROS-a u organizmu ili tkivima, što rezultira oštećenjem nukleinskih kiselina, proteina i lipida stanične membrane (www.irb.hr). Stoga se oksidacijski stres može definirati kao oštećenje tkiva uvjetovano poremećajem ravnoteže pro- i anti- oksidativnoga sustava (Čakarić, 2009). Prooksidans je tvar koja inducira razna oksidativna oštećenja bioloških meta (nukleinskih kiselina, proteina, lipida). Antioksidans je tvar koja uklanja prooksidans stvarajući produkte koji nisu toksični i ne uzrokuju oštećenja (Segundo i sur., 2007).

Smatra se da je oksidativni stres uključen u patofiziologiju mnogih različitih kliničkih oboljenja kao što su: bolesti kardiovaskularnog sustava (ateroskleroza, hipertenzija, kardiomiopatija), poremećaji imunološkog sustava (autoimune bolesti: reumatoidni artritis, multipla skleroza), bolesti pluća, probavnog sustava, bubrega, središnjeg živčanog sustava (Parkinsonova bolest, Alzheimerova demencija), oštećenje vida, uvjeti ishemije/reperfuzije (infarkt miokarda), dijabetes melitus, razvoj malignih bolesti, ali i fiziološki proces starenja (Vrhovac i sur., 2003).

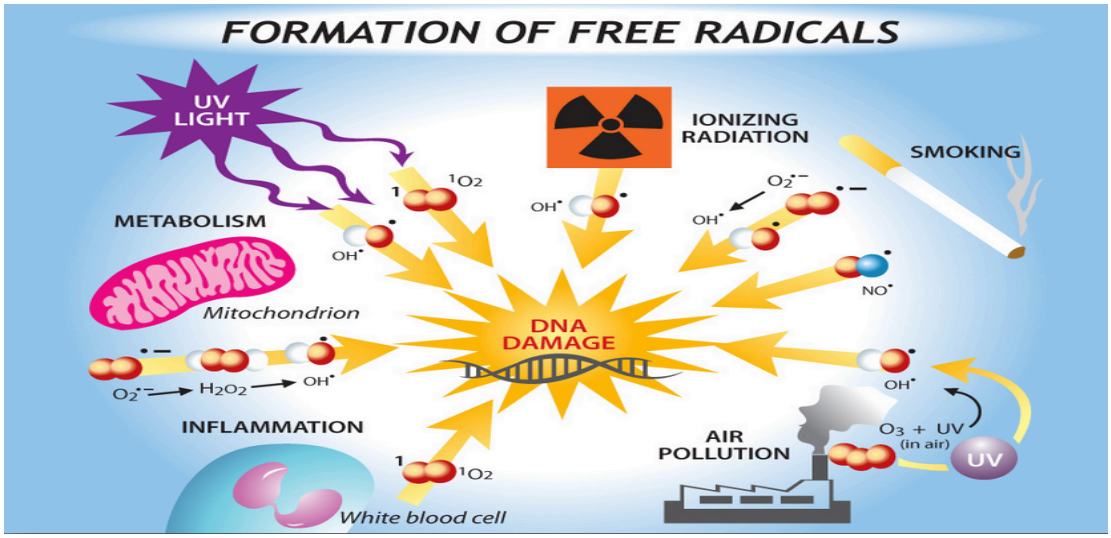
Kao i oksidativni stres koji se temelji na ROS (eng. *reactive oxygen species*), postoji i "nitrosative" stres kojem su uzrok RNS (eng. *reactive nitrogen species*). U praksi, pojam "oksidativni stres" se koristi općenito, i za oksidativni, i za "nitrosative" stres, tj. on uključuje i kisikove i dušikove reaktivne spojeve (ROS i RNS) (Klandorf i Van Dyke, 2012).

1.2.1. Slobodni radikali

Slobodni radikal je bilo koji atom, odnosno molekula koji sadrži jedan ili više nesparenih elektrona u vanjskoj orbitali (Ghodbane i sur., 2013). Slobodni radikali su visokoreaktivni, energetski nestabilni te imaju nisku specifičnost za reaktante, tj. podložni su reakcijama s brojnim molekulama. Njihovo obilježje je lančana reakcija, odnosno jedan

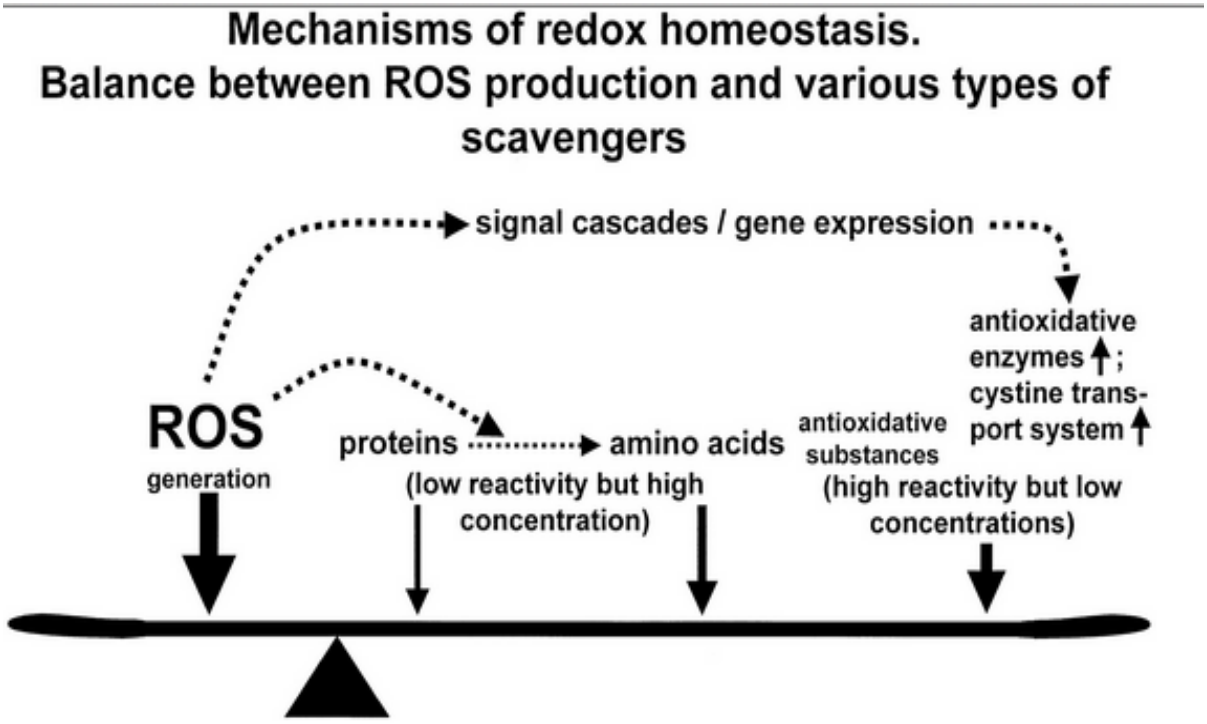
radikal potiče stvaranje drugog. Stoga mnogi novonastali spojevi također imaju svojstva radikala (Gamulin i sur., 2005; Vrhovac i sur., 2003).

Izvori nastajanja slobodnih radikala mogu biti endogeni i egzogeni. Endogeni mogu biti fiziološki i patofiziološki: proces oksidativne fosforilacije, aktivacija imunosnih stanica, kemotaksija, apoptoza, koagulacija, mentalni stres, ishemija, infekcija, proces starenja, patološka stanja. Egzogeni uključuju zagađenje zraka ili vode, dim cigareta, alkohol, metale, neke lijekove, industrijska otapala, zračenje. Slobodni radikali nastaju enzimskim (respiracijski lanac, fagocitoza, sinteza prostaglandina, sustav citokrom P450) i neenzimskim reakcijama kisika s organskim molekulama (slika 1). Kao što je spomenuto, najvažnije klase slobodnih radikala su reaktivni kisikovi spojevi (ROS) te reaktivni dušikovi spojevi (RNS). Od ROS najbitniji su: superoksidni radikal ($O_2^{\cdot-}$), hidroksilni radikal ($^{\cdot}OH$) koji je i najreaktivniji, peroksilni radikal ($ROO^{\cdot}$), hidroperoksilni radikal ($HO_2^{\cdot}$) te vodikov peroksid (H_2O_2), hipoklorna kiselina (HOCl) i singletni kisik. Od RNS najbitniji su dušikov oksid ($NO^{\cdot}$) i peroksinitrit ($ONOO^-$) (www.pharma.hr).



Slika 1. Načini nastanka slobodnih radikala (www.vibrantlikeme.com)

Organizam u normalnim, fiziološkim procesima stvara slobodne radikale u malim količinama te sve dok njihova produkcija ne nadilazi sposobnost njihova kataboliziranja, organizam je u stanju ravnoteže (slika 2) (Vrhovac i sur., 2003).



Slika 2. Mehanizam redoks homeostaze (Dröge, 2002)

Postoji mehanizam odgovora na povišene razine ROS-a, a on uključuje povišenu koncentraciju glutationa ili povećanu ekspresiju proteina/enzima koji imaju sposobnost hvatanja ROS-a (slika 3). Taj proces se naziva "odgovor na oksidativni stres". Povećano odstranjenje ROS-a omogućava stanicama i tkivima održavanje redoks homeostaze (Dröge, 2002).

Slobodni radikali u tkivu nastaju na više načina:

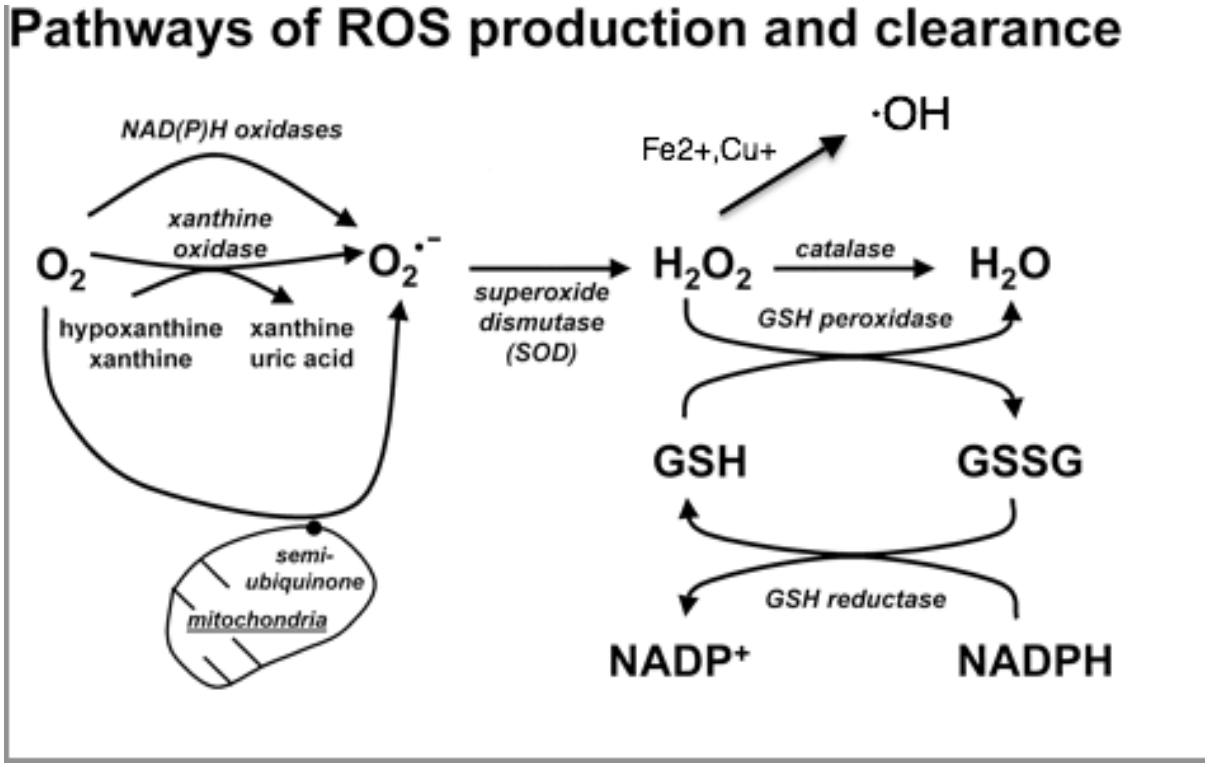
a) nepotpunom redukcijom kisika (npr. neutrofili i makrofazi uz NADPH-oksidazu i mijeloperoksidazu ciljano stvaraju slobodne radikale koje koriste kao oružje u procesu fagocitoze)

b) reakcijama kataliziranim enzimima ili metalima (npr. reakcija ksantin-oksidaze, Fentonova reakcija)

c) radiolizom malih molekula (voda, kisik...)

d) kao međuprodukt metabolizma egzogenih i endogenih molekula (aktivnost citokroma P450, sinteza prostaglandina, stanično disanje)

e) u signalnim putevima (aktivacija trombocita, proliferacija stanica...) (Gamulin i sur., 2005)



Slika 3. Putevi stvaranja i uklanjanja ROS-a (Dröge, 2002)

Pri visokim koncentracijama slobodni radikali i njihovi neradikalni derivati su štetni za organizam jer oštećuju glavne stanične dijelove. No, pri umjerenim, fiziološkim koncentracijama, NO i superoksidni anion (najvažniji radikali u biološkoj regulaciji) te druge ROS vrste imaju važnu ulogu:

- kao regulatorni posrednici u signalnim putevima važnima za mnoge stanične funkcije
- kao prva linija obrane od patogena imunološkim stanicama ("oksidativni prasak"- masivna proizvodnja antimikrobnih i tumoricidnih ROS) u regulaciji vaskularnog tonusa, inhibiciji adhezije trombocita... (Gamulin i sur., 2005; Dröge, 2002)

Reaktvni spojevi se stvaraju konstantno, i ciljano i slučajno. Ciljana proizvodnja NO i ROS je najviše pod utjecajem NOS (NO-sintaza) i NAD(P)H-oksidaze. U mitohondrijima, ROS nastaju kao nusprodukti procesa oksidativne fosforilacije (Dröge, 2002). U stanju oksidativnog stresa, lipidi, proteini i DNA su mete oksidativnog napada. Oksidativnim oštećenjem mijenjaju se njihova fizikalno-kemijska svojstva, što ima posljedice na staničnoj razini (Tablica 1) (Gamulin i sur., 2005).

Tablica 1. Molekularne i stanične posljedice reakcije fizioloških molekula i slobodnih radikala (Gamulin i sur., 2005)

Vrsta molekule	Molekularne promjene	Stanična posljedica
Lipidi	lipidna peroksidacija	-perforacija membrane s povećanom propusnošću -smrt stanice -nakupljanje peroksidiranih lipida u postupku starenja
Proteini	karbonilacija križno vezivanje AK	-ubrzan katabolizam proteina -snižena enzimska aktivnost -promijenjena antigeničnost molekula
DNA	mutacije	-promijenjen genski sadržaj -gubitak heterozigotnosti

Budući da je prirodni poluživot staničnih proteina od nekoliko minuta do nekoliko dana, oštećenja radikalima se često ne očituju. Naime, novosintetizirane molekule proteina brzo preuzimaju ulogu oštećenih, zbog čega se sustavna disfunkcija ne mora uvijek očitovati ili je to očitovanje prolazno. Međutim, ukoliko se te promjene kumuliraju, dolazi do anatomskih i fizioloških poremećaja, tj. raznih bolesti, stanja i starenja (Medić-Šarić i sur., 2000).

1.2.2. Antioksidansi

Kao što je ranije rečeno, antioksidans je tvar koja uspješno može ukloniti prooksidans uz stvaranje produkata koji nisu toksični i ne oštećuju stanice. Antioksidansi štite organizam od prooksidativnog djelovanja na više načina: inhibicijom stvaranja ROS/RNS, smanjenjem oksidativne sposobnosti prooksidansa, keliranjem s metalnim ionima, inhibicijom oksidativnih enzima (Segundo i sur., 2007). Dakle, funkcija antioksidansa je neutralizacija slobodnih radikala i zaštita stanice od njihovog toksičnog djelovanja čime se sprječava pojava i razvoj bolesti, vezanih za oksidativni stres.

Antioksidansi nastaju u stanici ili se u organizam unose hranom ili putem suplemenata. Djeluju tako da onemogućuju stvaranje novih slobodnih radikala u organizmu, uništavaju u

organizmu već stvorene radikale (eng. *scavengers* – "hvatači") ili popravljaju oštećenja u stanici nastala njihovim djelovanjem (Wotton-Beard i Ryan, 2011).

1.2.2.1. Podjela antioksidansa

Antioksidanse prema sastavu djelimo na enzime (superoksid-dismutaza, katalaza, glutation-peroksidaza, glutation-transferaza, enzimi koji obnavljaju slobodnim radikalima oštećene molekule DNA i proteina oštećene), proteine (feritin, albumin, transferin, laktoferin) te male molekule (vitamin E, karotenoidi, vitamin C, glutation, alfa-lipoična kiselina, ubikinon, flavonoidi...) (www.pharma.hr).

Prema načinu djelovanja antioksidanse možemo podijeliti na primarne, sekundarne i tercijarne. Primarni (preventivni) sprječavaju nastanak slobodnih radikala (albumin, transferin...). Sekundarni (čistači) uklanjaju nastale slobodne radikale (superoksid-dismutaza, katalaza, glutation-peroksidaza, glutation, vitamin C, vitamin E, karotenoidi, flavonoidi). Tercijarni (enzimi popravka) popravljaju nastala oštećenja ili uklanjaju biomolekule oštećene radikalima prije nego njihovo nakupljanje uzrokuje nova oštećenja (fosfolipaze, proteaze, peptidaze, DNA polimeraza I...) (Huang i sur., 2005).

Aktivnost antioksidansa ovisi o mnogim faktorima među kojima su najvažniji biodostupnost, oksidativni potencijal, brzina reakcije sa slobodnim radikalom te stabilnost i mala reaktivnost nastalog derivata antioksidans-slobodni radikal (Bisby i sur., 2008.).

1.2.2.2. Izvori antioksidansa

Voće i povrće su dominantan izvor polifenola, karotenoida, vitamina i minerala, ali s obzirom da se modernom prehranom ne unose dovoljne količine antioksidansa, suplementacija dobiva na važnosti. Antioksidansi iz hrane se definiraju kao supstancije koje mogu 'očistiti' ROS/RNS te zaustaviti lančane reakcije koje uzrokuju slobodni radikali, odnosno zaustaviti njihov prvotni nastanak. Antioksidansi iz hrane se razlikuju po aktivnosti i afinitetu prema različitim tvarima; neki su potentni čistači slobodnih radikala, a neki imaju jači kelirajući učinak (Wotton-Beard i Ryan, 2011). Primjerice, vitamin E iz hrane djeluje tako da prekida lančanu reakciju slobodnih radikala te na taj način štiti polinezasićene masne kiseline u mastima i lipidima od peroksidativne razgradnje (Bisby i sur., 2007).

Antioksidansi prirodnog podrijetla mogu biti: fenoli (flavonoidi, fenolna kiselina i tanini), tvari koje sadrže dušik (alkaloidi, derivati ciklopropila, aminokiseline, peptidi), karotenoidi, tokoferoli, vitamin C i njegovi derivati. (Shahidi, 2000)

2. OBRAZLOŽENJE TEME

O važnosti ateroskleroze i njene prevencije i terapije dovoljno govori činjenica da je ona često temelj kardiovaskularnih bolesti koje su vodeći uzrok smrti u svijetu. Ateroskleroza je kronična, progresivna bolest koja se asimptomatski razvija desetljećima, a pojavljuje se kod većine ljudi. Kliničke manifestacije ateroskleroze uključuju koronarnu arterijsku bolest, cerebrovaskularne bolesti i perifernu arterijsku bolest.

Nastanak i razvoj ateroskleroze ovisi o mnogim čimbenicima kao što su dislipidemija, hipertenzija, šećerna bolest, genetska predispozicija, starija životna dob i dr. Optimalna prevencija ateroskleroze se temelji na zdravom načinu života, a to znači pravilnu prehranu, redovitu fizičku aktivnost, apstinenciju od pušenja te identifikaciju i terapiju faktora rizika koji pogoduju razvoju ateroskleroze, kao što su hipertenzija i dijabetes melitus.

Opće je prihvaćena hipoteza oksidativnog stresa kao temelja ateroskleroze, stoga se smatra da u sprječavanju njenog razvoja značajnu ulogu imaju antioksidansi. Mnogim istraživanjima je dokazano da je konzumacija velikih količina voća i povrća (koji su bogati različitim andioksidansima) povezana s nižom stopom razvoja kardiovaskularnih bolesti. Također, studije s pojedinačnim antioksidansima su potvrdile njihove pozitivne učinke na zdravlje.

Stoga je cilj ovog diplomskog rada dati pregled najnovijih saznanja o učincima pojedinih antioksidansa na razvoj ateroskleroze te staviti naglasak na važnost njihova unosa prehranom ili preko suplemenata, da bi se odgodio nastanak bolesti te usporilo njeno napredovanje, a time i smanjio rizik nastanka drugih kardiovaskularnih bolesti, kasnije u životu.

3. MATERIJALI I METODE

U ovom teorijskom diplomskom radu korištena je stručna i znanstvena literatura na temu ateroskleroze i antioksidansa. Uz velik broj originalnih i preglednih radova objavljenih u znanstvenim i stručnim časopisima, korištene su i stručne knjige te preglednici znanstvene literature (PubMed, SpringerLink, ScienceDirect, Cochrane Library). Pregledavanje znanstvenih i stručnih članaka u bibliografskim bazama radilo se prema ključnim riječima: *atherosclerosis, lipoproteins, oxLDL, free radicals, ROS, oxidative stress, macrophage, vascular, nitric oxide, antioxidants, vitamin C, vitamin E, carotenoids, flavonoids, coenzyme* CoQ_{10}*, alpha-lipoic acid.*

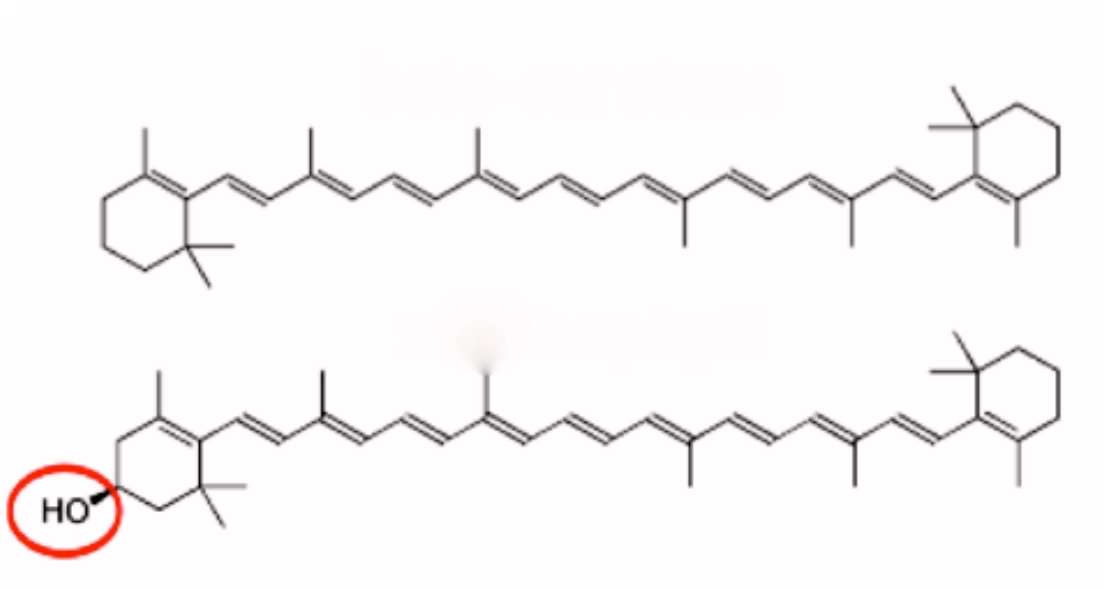
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. KAROTENOIDI

Karotenoidi su žuti, narančasti i crveni pigmenti sintetizirani u biljkama. U organizam ih unosimo apsorpcijom iz voća i povrća u prehrani (Carpenter i sur., 1999). Postoji preko 600 poznatih karotenoida, te ih prema strukturi dijelimo u 2 skupine:

- ksantofili (sadrže kisik) : lutein, zeaksantin...
- karoteni (ne sadrže kisik, čisti su ugljikovodici) : α-karoten, β-karoten, likopen...

Svi karotenoidi su tetraterpenoidi, što znači da se sastoje od 8 izoprenoidnih jedinica (sadrže 40 ugljikovih atoma) (slika 4) (www.wikipedia.org).



Slika 4. Struktura karotena (gore) i ksantofila (dolje) (www.wikipedia.org)

Najčešći karotenoidi u zapadnjačkoj prehrani su α-karoten, β-karoten, β-kriptoksantin, lutein, zeaksantin i likopen. Provitamin A karotenoidi su α-karoten, β-karoten i β-kriptoksantin. Oni se u organizmu mogu konvertirati u retinol (vitamin A), dok lutein, zeaksantin i likopen nemaju vitamin A aktivnost (http://oregonstate.edu/).

Pregledom velikih epidemioloških studija uočena je povezanost između prehrane bogate voćem i povrćem, odnosno povišenih vrijednosti karotenoida u plazmi, te smanjenog

rizika kardiovaskularnih bolesti, raka i drugih poremećaja vezanih za starenje (Carpenter i sur., 1999). Mehanizam djelovanja karotenoida je funkcionalna modulacija potencijalno aterogenih procesa vezanih za endotel. Pet najučestalijih karotenoida u ljudskoj plazmi su α-karoten, β-karoten, β-kriptoksantin, lutein i likopen (Martin i sur., 2000). Studijom (Martin i sur., 2000) je proučavan utjecaj karotenoida na adheziju monocita na endotel te se pokazalo da β-karoten, lutein i likopen značajno smanjuju ekspresiju VCAM-1 i malo slabije ICAM-1. Također, β-karoten i lutein značajno smanjuju ekspresiju E-selektina. Za razliku od ostalih karotenoida, likopen, osim spontane adhezije monocita, smanjuje i IL-1β-stimuliranu adheziju monocita na endotelne stanice. Stoga, čini se da je likopen najefektivniji u smanjenju ekspresije adhezivnih molekula na površini stanica te usmanjenju adhezije monocita. Neki karotenoidi (β-karoten, lutein i likopen) potiskuju aktivnost tkivnog faktora (pojačavanjem fosforilacije Akt) i gensku ekspresiju u humanim endotelnim stanicama. Pojačana proizvodnja tkivnog faktora povezana je s razvojem kardiovaskulanih bolesti uslijed aktivacije endotela, što rezultira trombozom u krvnim žilama. Prema tome, ovi antioksidansi mogu usporiti ili odgoditi razvoj kardiovaskularnih bolesti (Leea i sur., 2006).

Karotenoidi (likopen, α-karoten i β-karoten) i oksokarotenoidi (β-kriptoksantin zeaksantin i lutein) u LDL-u su u interakciji s peroksinitritom, produktom reakcije dušikovog monoksida i superoksida. Studijom je pokazano da su karotenoidi efektivni čistači peroksinitrita *in vivo* (Panasenko i sur., 2000). Oksidacija LDL-a je mnogo veća u prisutnosti stanica nego u odsutnosti, a karotenoidi u načelu imaju mali značaj sprječavanja oksidacije u odsutnosti stanica (Carpenter i sur., 1997). β-karoten, kantaksantin, zeaksantin inhibiraju oksidaciju LDL-a posredovanu humanim makrofagima *in vitro* (oksidacija LDL-a makrofagima je važna u progresiji aterosklerotskih lezija). Likopen, lutein i β-kriptoksantin su pod istim uvjetima pokazali slabije i varijabilnije antioksidativno djelovanje (Carpenter i sur., 1999). Likopen i lutein, za razliku od β-karotena, nemaju antioksidativnu funkciju u obrani LDL-a od oksidacije preko endotelnih stanica (Dugas i sur., 1998). Karotenoidi učinkovitije štite kolesterol nego polinezasićene masne kiseline od oksidacije. Imaju rigidnu lipofilnu strukturu pa i veću tendenciju da se vežu s kolesterolom (ili neesterificiranim u oklopu LDL-a ili samom/kolesterol esteru u jezgri LDL čestice) (Carpenter i sur., 1997).

Različiti karotenoidi mogu preferabilno hvatati različite radikale: neki bolje hvataju tiolne radikale, neki lipidne peroksi radikale. Pretpostavlja se da su u oksidaciji LDL-a ovisnoj o makrofagu važni lipidni peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$), tiolni radikali ($RS^{\cdot}$) i superoksid

radikal kation ($O^{\bullet -}_2$) i postoje dokazi da β-karoten može hvatati te radikale tvoreći β-karoten-radikal komplekse. Mehanizam hvatanja radikala je kompleksan i nepotpuno poznat, ali se zna da karotenoid postaje radikal, hvatajući nesparen elektron na konjugiranom polien kromoforu, što ima stabilizirajući efekt. Efikasnost hvatanja ovisi o mnogim faktorima: vrsti radikala, samom karotenoidu, steričkim smetnjama, raspodjeli elektronskog naboja, mikrookolišu. Stoga je prehrambeni unos mješanih karotenoida vjerojatno bolja opcija nego uzimanje jednog dominantnog karotenoida, pošto se *in vivo* pojavljuju različiti radikali i različiti mikrookoliši. Karotenoid-radikali kratko žive i oksidativni raspad završava stvaranjem neradikalnih produkata (obezboje se zbog pucanja kromofora). Karotenoidi su bolji hvatači radikala pri nižem pO_2 što može biti značajno u arterijskom zidu i arterijskoj krvi. U korist dokazanom antioksidativnom učinku karotenoida ide i činjenica da je oksidacija LDL-a *in vitro* vjerojatno mnogo jača nego u aterosklerotskim lezijama koje se razvijaju desetljećima (mala, ali kumulativna oštećenja). K tomu, ukupni stupanj oksidacije u lezijama je mnogo manji od onog postignutog *in vitro*. Stoga, *in vivo* koncentracije karotenoida ne moraju biti tako visoke kao u *in vitro* uvjetima da bi imale isti antioksidativni učinak. Doduše, promjenom mikrookoliša u leziji, u određenim uvjetima mogu se pojaviti "hot spots" oksidacije, odnosno naglo i jako povećanje stupnja oksidacije (Carpenter i sur., 1997).

Protektivno djelovanje se pripisuje antioksidativnom hvatanju radikala. Ali uočeno je da karotenoidi imaju i druge biološke učinke kao što su antiproliferativni i antineoplastični učinak na mnoge stanične linije. Proliferacija glatkih mišićnih stanica (GMS) ima važnu ulogu u promjeni arterijskog zida u aterosklerozi. Inhibicija proliferacije GMS je mehanizam kojim karotenoidi usporavaju progresiju ateroskleroze (Carpenter i sur., 1999).

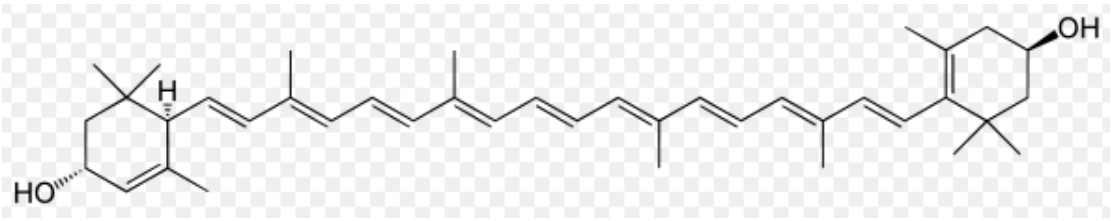
U ispitivanju (Carpenter i sur., 1999) je proučavan utjecaj najčešćih karotenoida u prehrani na sintezu DNA u humanim GMS aorte. β-karoten, zeaksantin, likopen, β-kriptoksantin inhibiraju DNA sintezu u GMS, dok lutein nema značajan učinak na sintezu DNA. Nijedan od karotenoida nije mitogen za GMS u testiranim uvjetima. Mogući mehanizmi djelovanja karotenoida uključuju inhibiciju aktivnosti protein kinaze C (PKC) u inhibiciji proliferacije GMS. PKC je važna u putu trandsukcije signala koji dovodi do proliferacije stanice. Inhibicija proliferacije može biti povezana s antioksidativnim učinkom ili formacijom karotenoidnih produkata (epoksi-, peroksi-, hidroksi-derivata) ili metabolita (retinoida). Također, mogu imati i učinak na gensku ekspresiju i interferirati s faktorima rasta. Antioksidativni učinak može, u načelu, biti uključen u inhibiciju proliferacije, pošto lipidni

peroksidi, kao i oksidativno fragmentirani fosfolipidi i njihov produkt lizofosfatidilkolin (dobiven enzimskom hidrolizom), jesu mitogeni za GMS.

Likopen ima jači učinak od drugih karotenoida u hvatanju radikala, ali i u drugim učincima, npr. protekcija limfocita od NO_2-radikala, inhibicija sinteze DNA u tumorskim stanicama i inhibicija sinteze kolesterola u makrofagima. Likopen je najvažniji karotenoid što se tiče antiproliferativnog učinka. Iako karotenoidi imaju antioksidativnu aktivnost, taj doprinos protektivnom učinku je upitan, jer čini se da je antiproliferativan učinak mnogo važniji *in vivo* (Carpenter i sur., 1999).

4.1.1. Lutein

Lutein (slika 5), uz zeaksantin, se može naći u raznom voću i povrću. Najzastupljeniji je u tamnozelenom lisnatom povrću: špinatu i kelju, a nalazi se i u žutanjku jaja (http://oregonstate.edu/).



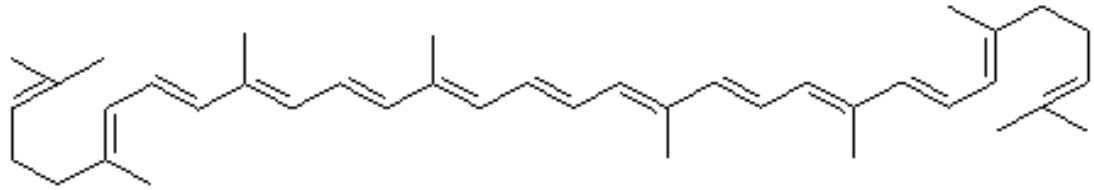
Slika 5. Lutein (http://oregonstate.edu/)

Lutein inhibira upalni odgovor monocita na LDL zarobljen u arterijskom zidu, tj. smanjuje migraciju monocita te također smanjuje veličinu aterosklerotske lezije. Redukcija indikatora oksidativnog stresa (lipidni hidroperoksidi u plazmi i fragilnost crvenih krvnih stanica) sugerira da je protektivan učinak luteina barem djelomično ostvaren putem antioksidativnog učinka. Rezultat djelovanja luteina je rezistencija LDL-a na oksidaciju, inhibicija LDL-inducirane migracije monocita te smanjenje koncentracije VLDL-a i IDL-a u plazmi. Epidemiološka *in vivo* i *in vitro* istraživanja (The Los Angeles Atherosclerosis Study autora Dwyer i suradnika, 2001) pokazuju da lutein može biti potentan protektivni faktor u sprječavanju progresije ateroskleroze kod ljudi i životinja. Antiaterogeni učinak je ostvaren smanjenjem VLDL-a i IDL-a, radije nego LDL-a, te preko putova koji uključuju smanjenje upale i oksidativnog stresa u arterijskom zidu (Dwyer i sur., 2001).

Lutein je hvatač superoksida i H_2O_2 pa smanjuje njihovu intracelularnu akumulaciju te tako inhibira NF-κB-ovisnu ekspresiju gena koji imaju važnu ulogu u upali i preživljavanju stanice (Kima i sur., 2008).

4.1.2. Likopen

Likopen (slika 6) daje crvenu boju rajčicama, crvenom grejpu, lubenici i guavi. Procjenjuje se da 80% likopena u prehrani Amerikanaca dolazi iz rajčica i proizvoda od rajčica (http://oregonstate.edu/).



Slika 6. Likopen (http://oregonstate.edu/)

Likopen se pokazuje kao faktor smanjenja rizika akutnih koronarnih događaja te faktor usporenja razvoja ateroma (tj. debljine kompleksa intima-media) u arterijskom zidu (Rissanen i sur., 2002).

Likopen je potentan antioksidans (pogotovo važan kao zamka za singletni kisik) te umanjuje mutagenezu. Uz to, sve je više dokaza da djeluje i drugim mehanizmima: inhibira rast humanih stanica raka interferirajući u signalizaciji putem receptora za faktor rasta i progresiji staničnog ciklusa (bez dokaza o toksičnim učincima ili apoptozi stanica), pospješuje ekspresiju gena connexin 43 što rezultira međustaničnom komunikacijom kroz gap-junction. Gap-junction komunikacija je deficijentna u mnogih tumora kod ljudi i njena pojava djeluje negativno na proliferaciju stanica. Ostali potencijalni mehanizmi su: stimulacija metabolizma ksenobiotika, inhibicija kolesterogeneze, modulacija puteva ciklooksigenaze, smanjenje upale (Heber i Lu, 2002).

4.1.3. Beta-karoten

β-karoten je crveno-narančasti pigment zastupljen u voću i povrću. Najčešći je od svih karotena u biljkama. Bogati izvori β-karotena su mrkva, bundeva, batat, špinat, dinja, mango, papaja i drugi. U prirodi, β-karoten je prekursor (neaktivan oblik) vitamina A, u koji se prevodi djelovanjem enzima β-karoten-monooksigenaze (http://en.wikipedia.org).

Autori su proučavali učinak β-karotena u LDL-u i makrofazima na makrofazima-posredovanu oksidaciju LDL-a. Primjenom β-karotena putem suplemenata došlo je do povećanja njegove koncentracije u LDL-u i makrofazima. Rezultat toga bila je smanjena lipidna peroksidacija u plazmi te smanjena podložnost LDL-a oksidaciji (Levy i sur., 1996). Antiaterosklerotsko djelovanje β-karotena posljedica je i ostalih njegovih učinaka, a to su smanjenje sposobnosti makrofaga da oksidira LDL, smanjenje mogućnosti modifikacije LDL-čestica djelovanjem u glatkim mišićnim stanicama i stanicama endotela (sprječavanjem stvaranja oksidirajućih intermedijara u stanicama), povišenje koncentracije HDL-a u plazmi, smanjenje koncentracije LDL-a i ukupnog kolesterola te smanjenje aterosklerotske lezije, odnosno debljine intime (Sun i sur., 1997; Reaven i sur., 1994).

Djelovanje β-karotena na oksidativni status ovisi o parcijalnom tlaku kisika. Antioksidativni učinak ima pri značajno nižem tlaku kisika nego što je u zraku. Pri višim vrijednostima pokazuje čak i prooksidativno djelovanje. Doduše, te vrijednosti se ne mogu postići u tkivima (Paolini i sur., 2001). Dodatno, jako velike doze β-karotena (plazma LDL obogaćen β-karotenom 5-35 puta više nego LDL kod placeba) ne djeluju inhibicijski prema oksidaciji. Razlog tome je jedinstveno svojstvo β-karotena da bolje gasi singletni kisik radikal nego ostale radikale pa je možda oksidativno okruženje u ispitivanju bilo nepogodno za maksimalno antioksidativno djelovanje β-karotena. S druge strane, podložan je autooksidaciji pa stvara metabolite koji također mogu generirati slobodne radikale. Stoga, primjena β-karotena u prevelikim količinama, ne djeluje antioksidativno (Reaven i sur., 1994).

β-karoten se pokazao kao dobar hvatač lipidnih radikala *in vitro* (Grune i sur., 2010). Hvatanje radikala uključuje donaciju vodikovog atoma ili elektrona, što dovodi do formacije karotenoid radikala (Car•) ili karotenoid radikal kationa (Car^{+}•). Ti spojevi se stabiliziraju delokalizacijom elektrona sustavom dvostrukih veza. β-karoten izložen lipidnim radikalima, troši se i ne može biti regeneriran.

U prvom koraku dolazi do reakcije karotenoida s lipidnim radikalom pri čemu nastaje radikal-kompleks:

$$Car + LOO\cdot \rightarrow LOO\text{-}Car\cdot$$

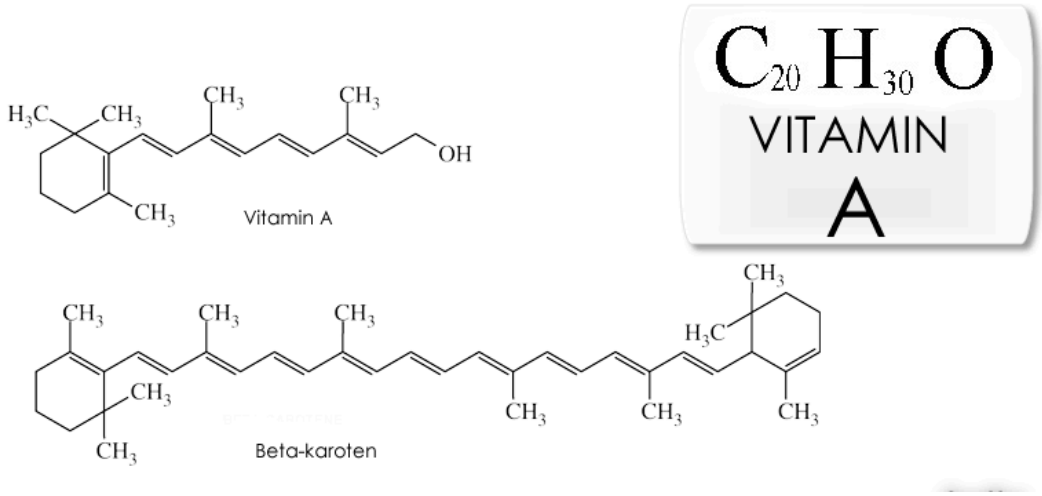
U drugom koraku hvatanja lipidnih radikala, nastaje neutralna kompleksna molekula:

$$LOO\text{-}Car\cdot + LOO\cdot \rightarrow LOO\text{-}Car\text{-}LOO$$

Stoga, jedna molekula β-karotena može uhvatiti dva lipidna radikala pri čemu ona postaje neaktivna zbog kemijske modifikacije.

4.1.4.Vitamin A

Vitamin A označava grupu nezasićenih, organskih molekula: retinol, retinal i retinoična kiselina (Slika 7). Vitamin A ima ulogu u mnogim funkcijama u tijelu: vid, transkripcija gena, rast i razvoj embrija, metabolizam kostiju, hematopoeza, metabolizam kože i antioksidativna aktivnost (hr.wikipedia.org).



Slika 7. Kemijska struktura vitamina A i njegovog provitamina β-karotena (hr.wikipedia.org)

Također, vitamin A i njegovi aktivni metaboliti imaju važnu ulogu u imunološkom sustavu. Uključeni su u diferencijaciju stanica imunološkog sustava i održavanje imunološke homeostaze. Na primjer, mogu smanjiti upalu kod nekih bolesti kao što su dijabetes melitus tip 1, reumatoidni artritis i ateroskleroza (Mottaghi i sur., 2012).

Ispitivano na svježim, fitohemaglutinin-aktiviranim T-stanicama i oxLDL-aktiviranim T-stanicama, pokazano je da vitamin A smanjuje broj Th-stanica čime je smanjeno otpuštanje proupalnog citokina IL-17. Također, povećava ekspresiju FoxP3 (modulatora u razvoju i funkciji Treg stanica), TGF-β te broj Treg-stanica. Zbog antiinflamatornog i aterom-stabilizirajućeg efekta (indukcijom sinteze ekstracelularnog matriksa) TGF-β i antiinflamatornog efekta IL-10 (iz Treg-stanica) te supresivnog djelovanja Treg-stanica na efektorne-T-stanice (kojih ima mnogo u aterosklerotskom plaku) vitamin A ima ulogu u usporenju razvoja bolesti (Mottaghi i sur., 2014; Mottaghi i sur., 2012).

Toksičnost farmakoloških doza vitamina A ne pojavljuje se unosom visokih doza β-karotena, jer se količina β-karotena regulira se mehanizmom povratne sprege. To znači da ovisno o potrebi tijela za retinolom, dio β-karotena se prevede metabolizmom u retinol. Stoga, preporuča se da se prehrambene potrebe vitamina A zadovolje uzimanjem β-karotena (Grune i sur., 2010).

4.1.5. Negativno djelovanje karotenoida

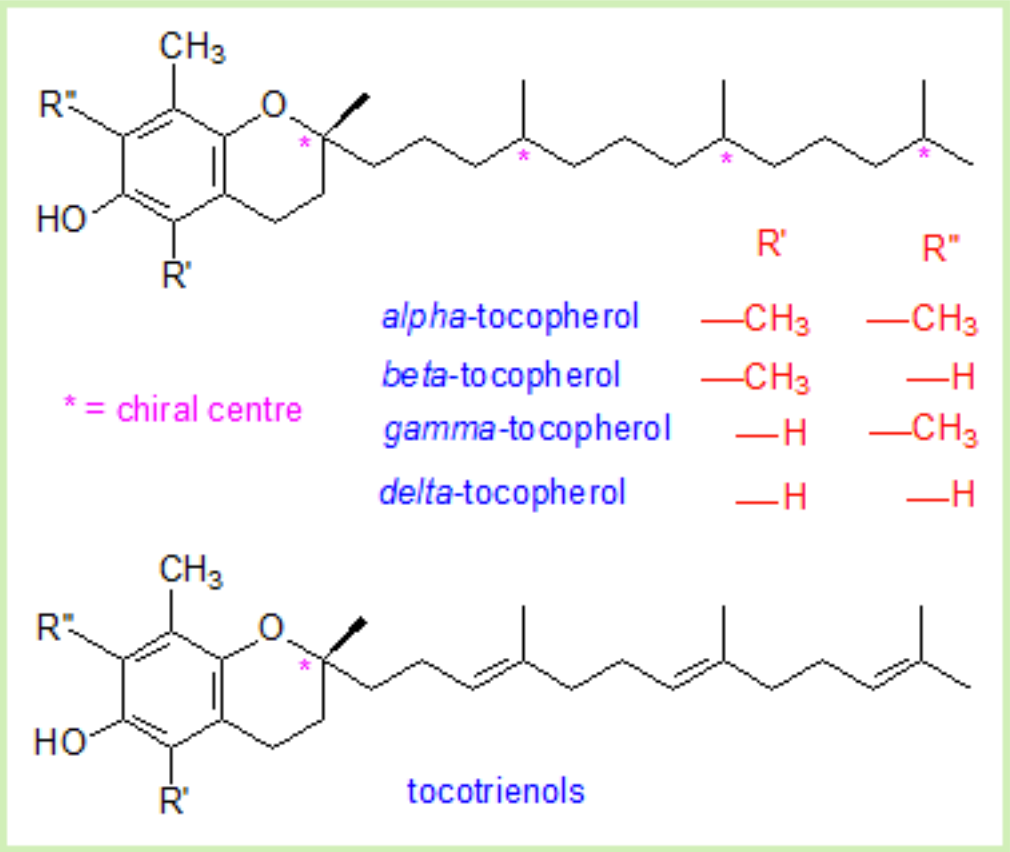
ROS aktiviraju ključne signalne puteve za staničnu proliferaciju i upalu, koje su povezane s rakom i kardiovaskularnim bolestima (KVB). Glavne komponente signalnih puteva reguliranih oksidativnim stresom su HIF1α (hipoksija-inducibilni faktor 1α), MAPK (mitogen-aktivirana protein kinaza) i AKT (serin/treonin-specifična protein kinaza). Ovi proteini su markeri oksidativnog stresa i inducirani su u tkivima gdje se akumuliraju karotenoidi. Akumulacija karotenoida narušava mitohondrijsku respiraciju depolarizacijom mitohondrijske membrane i potiče stanične signalne puteve koji dovode do oksidativnog stresa i bolesti. Stoga, kao kontrast protektivnoj ulozi, karotenoidi mogu i ometati normalne funkcije mitohondrija. Stanice sisavaca eksprimiraju određene proteine, mitohondrijske karotenoid-oksigenaze, koje štite vitalne organele od karotenoida (efikasan mehanizam za kontrolu homeostaze karotenoida). Spomenuti proteini ključni su čimbenici u putevima, potaknutim oksidativnim stresom, koji reguliraju mnoge stanične aktivnosti: proliferaciju, preživaljavanje/apoptozu. BCDO2 (eng. *beta-carotene dioxygenase 2*) ima kritičnu ulogu u zaštiti tkiva od mitohondrijske disfunkcije izazvane karotenoidima, koja može rezultirati oksidativnim stresom i bolešću. Radi tako da degradira karotene i ksantofile do apokarotenoidnih raspadnih produkata i tako sprječava akumulaciju karotenoida u

mitohondriju. Kod BCDO2-deficijentnih miševa pokazano je da su u hepatičkim mitohondrijima akumulirani karotenoidi djelovali na ključne markere mitohondrijske disfunkcije: inducirana mangan-superoksid dismutaza i smanjena razina ADP-ovisne respiracije. Ta promjena bila je povezana indukcijom fosfor-MAPK i fostor-AKT, markera puteva stanične signalizacije ovisne o oksidativnom stresu. Dodatno, karotenoidi su depolarizirali mitohondrijsku membranu što je dovelo do produkcije ROS-a. Velike doze karotenoida, usprkos obrambenom mehanizmu, mogu biti štetne, posebno za pušače, jer ti mehanizmi mogu biti nadjačani u određenim uvjetima. Stoga, pri velikim dozama može se javiti stanična proliferacija i rak (Amengual i sur., 2011).

Dodatno, karotenoidi mogu izgubiti svoje antioksidativno djelovanje pri visokim koncentracijama i visokom parcijalnom tlaku kisika (pO_2). *In vitro* je moguće uspostaviti takve uvjete da djeluju čak i kao prooksidansi, ali smatra se da tako visoke vrijednosti tlaka kisika i koncentracije nisu vjerojatne u biološkom sustavu, stoga *in vivo* djeluju kao antioksidansi ili nemaju antioksidativni učinak (Young i Lowe, 2001).

4.2. VITAMIN E

Vitamin E uključuje 8 različitih formi: α-, β-, γ- i δ-tokoferol i α-, β-, γ- i δ-tokotrienol. Tokotrienoli imaju nezasićeni bočni ogranak, dok tokoferoli sadrže rep s 3 kiralna centra koji su prirodno RRR konfiguracije (slika 8) (Brigelius-Flohé R i sur., 2002).



Slika 8. Strukture formi vitamina E

Kao lipofilna molekula, vitamin E je slabo topljiv u hidrofilnom mediju: plazmi, izvanstaničnoj tekućini, citosolu. Kao i drugi lipofilni vitamini, veže se za specifične proteine ili lipoproteine tijekom apsorpcije, transporta i distribucije. Unos apsorbiranog vitamina E u cirkulaciju se odvija preko hilomikrona, a sljedeća stanica je jetra. U jetri se α-oblik tokoferola odvaja od ostalih formi pomoću proteina α-TTP (α-tokoferol transportni protein), koji specifično veže α-tokoferol za ugradnju u VLDL. Druge forme se kraće zadržavaju i uglavnom izlučuju putem žuči ili urina (kao karboksil hidroksikromani). Transport vitamina E plazmom se odvija vezanjem za lipoproteine, a unutar stanice tokoferol-vezujućim

proteinima (TAP; eng. *tocopherol associated proteins*). Za održavanje normalne koncentracije α-tokoferola u plazmi, ključna je uloga α-TTP-a. Vitamin E se apsorbira zajedno s lipidma pa je važno da se unese uz obrok s dovoljnom količinom masnoća da bi se ostvarila optimalna biodostupnost (Brigelius-Flohé R i sur., 2002).

4.2.1. Vitamin E i bolesti povezane s oksidativnim stresom

Sposobnost α-tokoferola da inhibira oksidaciju LDL-a *in vitro* je nedvojbena. Ta spoznaja je temelj pretpostavke da vitamin E može prevenirati aterosklerozu, a inhibicija oksidacije LDL-a bi trebala dovesti do inhibicije ranih događaja ateroskleroze. S obzirom da većina kliničkih studija uključuje pacijente s prisutnom aterosklerozom, te studije ne pokazuju jasno da vitamin E odgađa početni napredak bolesti. Ako je antioksidativna hipoteza točna, vitamin E prevenira oksidativno oštećenje endotela i oksidaciju LDL-a te time sprječava rane procese u aterosklerozi. Prema toj hipotezi, prevencija ateroskleroze i KVB bi trebala početi već u ranoj dobi, odnosno djetinjstvu. Stoga, pacijenti nisu idealna ciljna populacija za proučavanje djelovanja vitamina E. S druge strane, ni mladi nebi bili dobra populacija za proučavanje djelovanja vitamina E, jer u takvom ispitivanju nebi bile prisutne krajnje točke uključujući smrt, moždani udar i infarkt miokarda. Stoga, nebi mogli dobiti potpune i statistički ispravne podatke. Primjereniji pristup je praćenje debljine intima-medije (Brigelius-Flohé R i sur., 2002).

Kada α-tokoferol djeluje kao antioksidans *in vivo,* konvertira se u tokoferoksil radikal i prekida lančanu reakciju. Ako se ne reducira koantioksidansom, tokoferoksil radikal može reagirati s lipidima i generirati lipidne radikale, time promovirajući novu lančanu reakciju. Stoga, α-tokoferol nužno treba koantioksidans da bi imao povoljan učinak. Dokazana je inhibicija progresije ateroskleroze u ASAP studiji (Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention) zajedničkom korištenjem vitamina E i vitamina C zajedno (Salonen JT i sur., 2000).

U plazmi se α-tokoferol nalazi u LDL-česticama. U prosjeku, svaka LDL-čestica nosi 5 do 9 molekulaα-tokoferola za koje se smatra da djeluju protektivno na LDL od oksidativnog oštećenja. *In vivo,* slobodni radikali generirani u endotelnim stanicama arterijskog zida i aktiviranim makrofazima oksidiraju LDL-čestice i tako ih čine kemotaktičnima što rezultira privlačenjem monocita. *In vitro* studije ukazuju da viši udio vitamina E u LDL-česticama povećava njihovu rezistenciju na oksidaciju i smanjuje njihov unos u makrofage u humanim

arterijskim lezijama. Vitamin E u LDL-česticama djeluje antioksidativno prekidajući lančanu reakciju i prevenirajući lipidnu peroksidaciju polinezasićenih masnih kiselina i modifikaciju proteina u LDL-u, uzrokovanu ROS. Osim što se prenosi LDL-česticama koje pritom štiti od oksidativnih modifikacija, vitamin E je inkorporiran i u druge komponente vaskularnog sustava: endotelne stanice, glatke mišićne stanice, trombocite i imune stanice. Također, vitamin E modulira mnoštvo upalnih procesa koji su uključeni u aterogenezu (tablica 2). On inhibira produkciju proupalnih citokina u endotelnim i imunosnim stanicama te potiskuje ekspresiju adhezijskih molekula na endotelnim stanicama i liganada na monocitima, tako reducirajući njihove adhezivne interakcije što je važan rani događaj u inicijaciji formacije masnih pruga i aterogeneze (Meydani, 2001).

Tablica 2. Potencijalni mehanizmi inhibicije ateroskleroze vitaminom E (Meydani, 2001)

↓ oksidaciju LDL-a, ↓ unos oksidiranog LDL-a u makrofage
↓ oštećenje endotelnih stanica
↓ ekspresiju adhezijskih molekula, ↓ adheziju imunosnih i endotelnih stanica
↓ koncentraciju upalnih citokina i kemokina
↓ proliferaciju glatkih mišićnih stanica
↓ agregaciju trombocita
↑ proizvodnju NO, ↑ dilataciju arterija
↑ produkciju PGI_2, ↓ TXA_2

PGI_2 (prostaciklin), TXA_2 (tromboksan A_2)

Važna *in vivo* funkcija α-tokoferola je hvatanje peroksil radikala, čime se održava integritet dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina u membranama stanica, odnosno njihova bioaktivnost (Trabera MG i Atkinson J, 2007).

4.2.2. Neantioksidativni mehanizmi djelovanja vitamina E

Kad bi vitamin E djelovao samo kao antioksidans, α-tokoferol bi inhibirao i prevenirao samo korake bolesti povezane s oksidativnim stresom. Štoviše, i drugi antioksidansi koji su po antioksidativnom kapacitetu jednaki vitaminu E trebali bi imati jednak učinak. No obzirom da to nije slučaj, proučene su alternativne funkcije vitamina E, posebno α-tokoferola (Brigelius-Flohé R i sur., 2002). Dokazi upućuju da vitamin E, osim inhibicije oksidacije LDL-a, može inhibirati aterogenezu i kroz razne druge mehanizme na

molekularnoj i staničnoj razini koje uključuju i njegove neantioksidativne funkcije (Meydani, 2001).

Antiaterogeni mehanizmi:

1) Modulacija stanične signalizacije α-tokoferolom
2) Regulacija transkripcije α-tokoferolom
3) Modulacija vaskularne reaktivnosti α-tokoferolom

1) Modulacija stanične signalizacije α-tokoferolom

α-tokoferol inhibira mnoge ključne događaje u procesu upale:
1) otpuštanje upalnih citokina IL-1β, IL-6 i TNF-α iz aktiviranih monocita
2) adheziju monocita na endotelne stanice
3) produkciju kemokina: monocit-kemotaksičnog proteina (MCP-1), inhibitora aktivacije plazminogena 1 (PAI-1, engl. plasminogen activator inhibitor-1) i IL-8 u endotelnim stanicama (privlačenje monocita na mjesta upale na arterijskom zidu)
4) LDL-induciranu proliferaciju glatkih mišićnih stanica
5) agregaciju trombocita (α-tokoferil kinon je jačeg djelovanja)
6) aktivaciju NADPH-oksidaze, time i produkciju superoksida (O_2^-)

Svi ti učinci rezultat su djelovanja α-tokoferola, dok drugi tokoferoli iste antioksidativne učinkovitosti nemaju te učinke ili ih pokazuju u mnogo manjoj mjeri. Stoga, efikasnost djelovanja α-tokoferola ne ovisi samo o njegovoj antioksidativnoj sposobnosti. Veza između mnogostrukih funkcija i α-tokoferola je najvjerojatnije protein kinaza C (PKC), ključna karika u signalizaciji citokina i hormona, s obzirom da se većina učinaka α-tokoferola na staničnu signalizaciju može opisati inhibicijom PKC. Inhibicija se javlja ili zbog prevencije autofosforilacije enzima što je važno za aktivnost, ili zbog defosforilacije PKC-a protein-fosfatazom 2A (PP2A), koja je aktivirana α-tokoferolom (Brigelius-Flohé R i sur., 2002).

2) Regulacija transkripcije α-tokoferolom

α-tokoferol pozitivno regulira (engl. up-regulation) α-tropomiozin. Ekspresija α-tropomiozina mogla bi imati ulogu u α-tokoferol induciranoj inhibiciji proliferacije glatkih

mišićnih stanica. Dalje, α-tokoferol posreduje u inhibiciji ekspresije "scavenger" receptora-A i "scavenger" receptora CD36 u glatkim mišićnim stanicama aorte, monocitima i makrofagima. Prateća inhibicija unosa oksidiranog LDL u te stanice može prevenirati formaciju pjenastih stanica *in vivo*. Navedeno je podržano time da poremećaj CD36 rezultira smanjenim razvojem aterosklerotskih lezija kod miševa (Brigelius-Flohé R i sur., 2002).

α-tokoferol još smanjuje adheziju inhibicijom:

1) citokin-inducirane ekspresije adhezijske molekule-1 u humanim vaskularnim endotelnim stanicama
2) ekspresije adhezijske molekule 1 (potaknutu vaskularnim stanicama) u makrofagima
3) ekspresije L-selektina u makrofagima pluća
4) oxLDL-inducirane ekspresije Mac-1 (eng. *macrophage-1 antigen*) (CD11/CD18) u monocitima
5) oxLDL-inducirane ekspresije adhezijske molekule-1 u humanim vaskularnim endotelnim stanicama

Dodatno, koncentracije α-TTP mogu biti modulirane tokoferolima. Pokazano je da se TAP translocira iz citosola u jezgru stanica, ovisno o α-tokoferolu. Također, djeluje i na aktivaciju transkripcije reporter-gena (gena koji se ubaci u regulatornu regiju drugog gena koji se istražuje) ovisno o α-tokoferolu. Ti rezultati potvrđuju da α-tokoferol funkcionira ne samo kao antioksidans, već i kao transkripcijski regulator genske ekspresije (utječe i na ekspresiju integrina, kolagenaza te matriks-metaloproteinaze-19) (Brigelius-Flohé R i sur., 2002).

3) Modulacija vaskularne reaktivnosti α-tokoferolom

Vitamin E modulira aktivnost ciklooksigenaze-2 (COX-2) i inhibira formaciju tromboksana koji potiče vazokonstrikciju i agregaciju trombocita. Također, povećava produkciju prostaciklina koji ima antiagregacijska i vazodilatacijska svojstva (Meydani, 2001). U mnogim animalnim te nekim humanim studijama dokazano je da vitamin E normalizira bioaktivnost NO (važnu komponentu vaskularne homeostaze koja je abnormalna u aterosklerozi). Mehanizam takvog djelovanja vitamina E je inhibicija stimulacije PKC (Freedman JE i Keaney Jr JF, 2001). Ti učinci vitamina E mogu modulirati vaskularnu

reaktivnost u odgovoru na fizički stres te time mogu doprinijeti smanjenom riziku ishemične bolesti srca (Meydani, 2001).

4.2.3. Vitamin E i rizik od kardiovaskularnih bolesti (KVB)

Mnoge studije ukazuju da je vitamin E povezan sa sniženim rizikom ateroskleroze. Komparativne studije u Europi prijavljuju povezanost viših razina vitamina E u plazmi s nižim stupnjem mortaliteta od KVB. Prospektivne kohortne studije na muškarcima i ženama također pokazuju niži rizik KVB pri dugoročnoj suplementaciji vitaminom E. Primjenom vitamina E pokazana je i smanjena incidencija infarkta miokarda i angine pektoris. Klinički pokazatelji KVB, debljina intima-medija kompleksa arterijskog zida karotide i angiografski rezultat koronarne arterijske stenoze obratno su povezani sa statusom vitamina E, tj. primjenom vitamina E usporena je progresija koronarnih lezija.

Suprotno tome, 2 studije (GISSI i HOPE iz 1999. godine) su prijavile izostanak učinka vitamina E kod pacijenata s KVB na smanjenje primarnih (end-points) krajnjih ishoda koji uključuju smrt, infarkt miokarda i moždani udar. Pretpostavlja se da genetska pozadina, tip i doza vitamina E, prehrambene navike i stil života subjekata u studiji doprinose drugačijim rezultatima. Iako su te 2 studije dovele u sumnju efikasnost vitamina E kod prevencije progresije aterosklerotskih lezija, prevladavaju eksperimentalne i observacijske studije koje snažno podržavaju pozitivne efekte na smanjenje rizika aterogeneze. Dodatno, u mnogim studijama gdje su uočeni pozitivni učinci vitamina E, unos drugih vitamina i mikronutrijenata te njihova interakcija s vitaminom E mogli bi imati utjecaj na opažene pozitivne učinke (Meydani, 2001).

4.2.4. Negativni učinci vitamina E

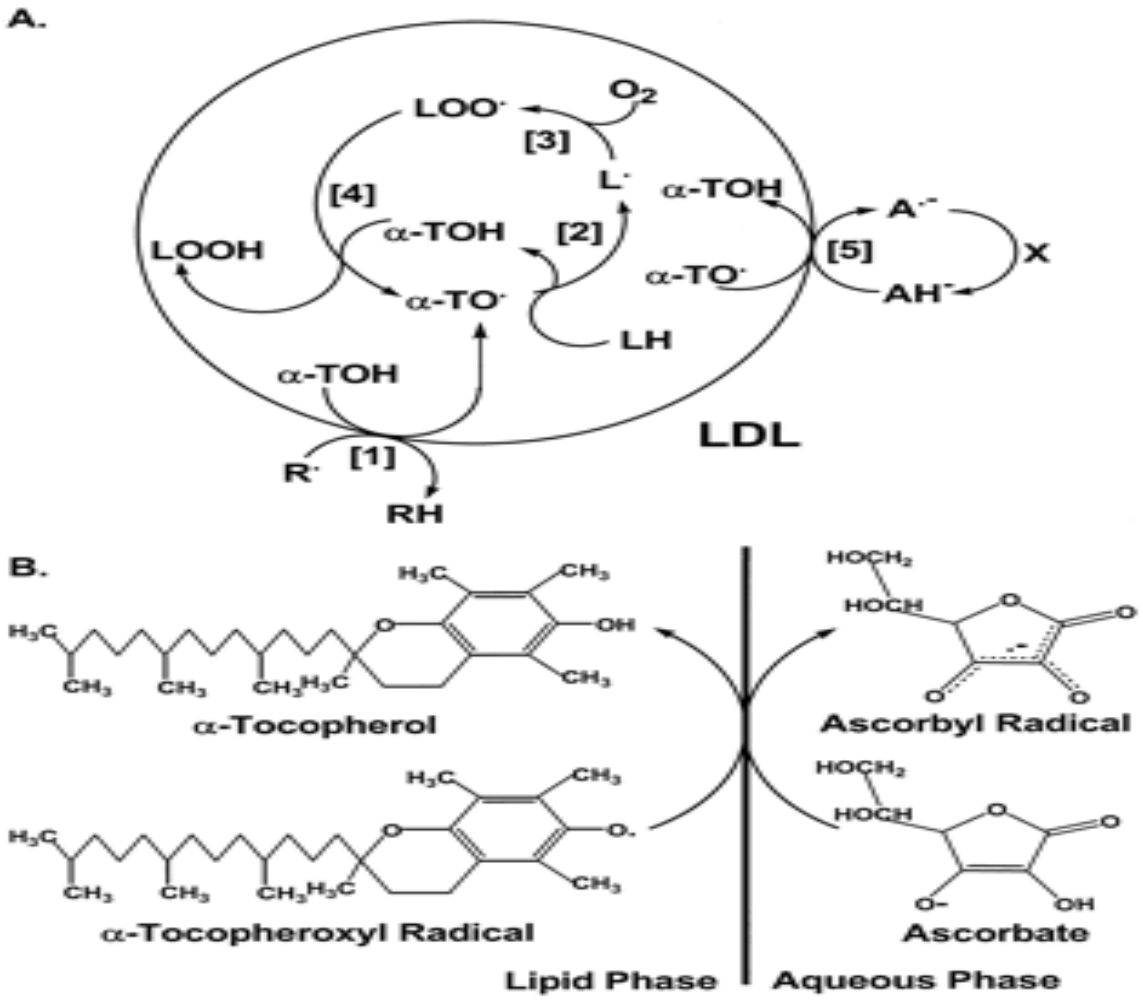
Negativni učinci vitamina E se očituju smanjenjem količine proteina toplinskog šoka, kao i njegovog prooksidativnog djelovanja:

4.2.4.1. Smanjenje količine proteina toplinskog šoka

Vitamin E izaziva pojačanu apoptozu hvatanjem ROS čime smanjuje količinu proteina toplinskog šoka 70 (Hsp70; eng. *heat shock protein70*). Hsp70 štiti stanične elemente od oštećenja odmatanjem oštećenih proteina, kao i smanjenjem oksidacije, upale i apoptoze. Pojačana apoptoza glatkih mišićnih stanica i upalnih stanica u aterosklerotskim lezijama može dovesti do nestabilnosti ateroma. Iako oksidacija ima veliku ulogu u oštećenju stanice i progresiji ateroskleroze, njena inhibicija vitaminom E može imati negativne učinke na pojačanje apoptoze, time sveukupno umanjujući korisne učinke. Tako vitamin E ima ulogu Trojanskog konja. U početku se predstavlja kao prijateljski poklon stanici, a kasnije uklanja obrambene zaštitnike stanice, proteine toplinskog šoka, ostavljajući stanicu ranjivijom na stres (Hooper i Hooper, 2004).

4.2.4.2. Prooksidativno djelovanje vitamina E

Postoje dokazi da *in vitro* peroksidacija lipida u LDL-u započinje djelovanjem α-tokoferoksil radikala nastalih u lipoproteinu prilikom napada slobodnih radikala ili drugih reaktivnih spojeva. Stoga, α-tokoferol može djelovati kao prooksidans, prije nego antioksidans, u *in vitro* inkubiranom LDL-u. Kao što je i ranije spomenuto, isto je primjećeno i *in vivo*. Potrebna je prisutnost koantioksidansa da bi vitamin E imao antioksidativne učinke (Carr i sur., 2000).

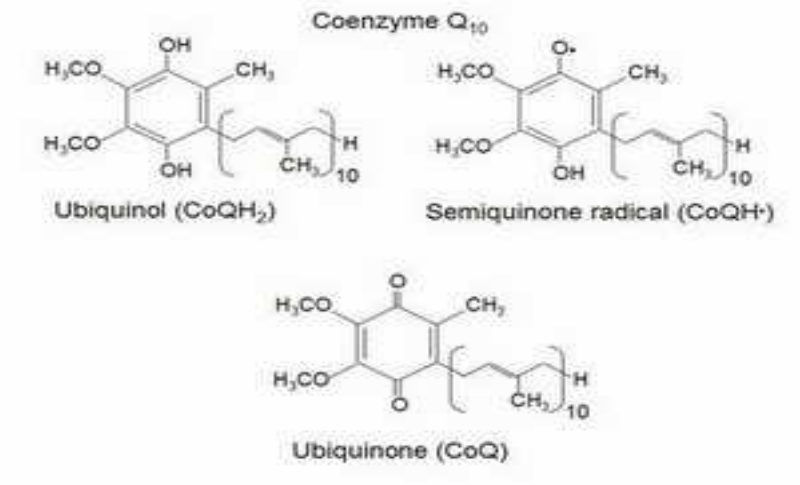


Slika 9. Prooksidativno djelovanje vitamina E (A) i regeneracija α -tokoferola iz α -tokoferoksil radikala vitaminom C (B) (Carr i sur., 2000)

α-tokoferol-posredovana peroksidacija LDL-a *in vitro* započinje reakcijom prijenosa faze α-tokoferolom (α-TOH). Tom reakcijom α-tokoferol prenosi reakcije radikala iz vodene faze u LDL (reakcija 1) te time nastaje α -tokoferoksil radikal. Potonji reagira s LH, lipidnom molekulom s polinezasićenom masnom kiselinom kao bočnim lancem, uzrokujući stvaranje lipidnih hidroperoksida čime započinje lipidna peroksidacija (reakcija 2). Reakcije 3 i 4 održavaju lančanu reakciju. Askorbat (AH-) reagira s α-tokoferoksil radikalom (α-TO·) pri čemu se regenerira α-TOH. Tako AH- inhibira tokoferol-posredovanu peroksidaciju (reakcija 5). AH- se zatim može regenerirati iz askorbil radikala (A-) dismutacijom, kemijskom redukcijom ili enzimskom redukcijom (reakcija X) (Slika 9) (Carr i sur., 2000).

4.3. KOENZIM Q_{10}

Postoje razni homolozi koenzima Q, koji sadrže različit broj izoprenoidnih jedinica u lancu, a u ljudskoj plazmi su prisutni CoQ_9 i CoQ_{10} (dominantan homolog) (Molyneux i sur., 2008).



Slika 10. Koenzim Q_{10} (Molyneux i sur., 2008)

CoQ_{10} je prisutan tri oksidativna stanja: upotpuno reduciranom (ubikvinol, $CoQ_{10}H_2$), djelomično reduciranom (radikal semikinon, $CoQ_{10}H_*$) i potpuno oksidiranom (ubikinon, CoQ_{10}) obliku (slika 10). Reducira se flavoenzimima u $CoQ_{10}H_2$ u mitohondriju, mitohondrijskom sukcinat-dehidrogenazom i NADH-dehidrogenazom. CoQ_{10} je lipofilan i transportira se plazmom lipoproteinima, stoga ne iznenađuje da plazmatski CoQ_{10} korelira pozitivno s ukupnim kolesterolom i LDL-kolesterolom u plazmi. CoQ se sintetizira u organizmu i unosi putem hrane (meso, riba, soja, orašasti plodovi) (Molyneux i sur., 2008). Jedini je liposolubilni antioksidans koji se endogeno sintetizira (Littarru i Tiano, 2007).

CoQ_{10} ima fundamentalnu ulogu u prizvodnji energije u mitohondriju, unutar respiratornog lanca u procesu oksidativne fosforilacije. U toj ulozi, CoQ_{10} se ponaša kao mobilni nosač elektrona prenoseći elektrone iz kompleksa I (NADH-CoQ-reduktaza) ili kompleksa II (sukcinat-dehidrogenaza) do kompleksa III (citokrom bc_1 kompleks) (Molyneux i sur., 2008).

Godinama je poznata uloga CoQ_{10} u mitohondrijskoj bioenergetici. Novija saznanja su dokazala njegovu prisutnost i u drugim staničnim odjeljcima i u plazmi te se intenzivno

istražuje njegova antiksidativna uloga. Također, u unutarnjoj mitohondrijskoj membrani, CoQ_{10} je prepoznat kao obavezan kofaktor za funkciju nevezanih proteina i alosterički modulator pora, odnosno kanala u staničnoj membrani. Nedavni podaci otkrivaju da CoQ_{10} sudjelujei u ekspresiji nekih gena uključenih u staničnu signalizaciju, metabolizam i transportu stanici (Littarru i Tiano, 2007). CoQ_{10} ima i ulogu u redoks aktivnosti stanične membrane (izvan mitohondrija). Kao antioksidans, učinkovito hvata slobodne radikale (antioksidativni učinak CoQ_{10} snažniji je od antioksidativnog učinka vitamina E) te tako povećava dostupnost drugih antioksidansa: vitamina C, vitamina E i β-karotena (Ahmadvand i Ghasemi-Dehnoo, 2014). CoQ_{10} također učinkovito reducira alfa-tokoferoksil radikal u alfa-tokoferol i tako eliminira potencijalno prooksidativni učinak radikala i regenerira aktivni oblik vitamina E (Littarru i Tiano, 2007).

4.3.1. Utjecaj CoQ_{10} na endotelnu funkciju

Noviji podaci su pokazali da CoQ_{10} ima izravan učinak na endotelnu funkciju. Kod pacijenata s kongestivnim zatajenjem srca, suplementacija s CoQ_{10} je imala pozitivan učinak na kontraktilnost srca i endotelnu funkciju. Također, utvrđena je i jaka korelacija između izvanstanične SOD (superoksid dismutaza) vezane za endotel (ecSOD; eng. *extracellular superoxide dismutase*) (na čiju aktivnost značajno utječe CoQ_{10}) i endotel-posredovane dilatacije ovisne o toku (funkcionalni parametar koji se često koristi kao biomarker vaskularne funkcije) (Littarru i Tiano, 2007). Oba učinka najvjerojatnije proizlaze iz antioksidativnih svojstava CoQ_{10}, koji štiti NO od oksidativne inaktivacije. NO ima kritičnu ulogu u homeostazi endotela, uključen je u regulaciju arterijskog krvnog tlaka te ima antiaterogena svojstva. Oksidativni stres smanjuje biodostupnost NO, koji međuostalim može inducirati ekspresiju ecSOD. Stoga, antioksidansi koji mogu sprječiti inaktivaciju NO, mogu poboljšati endotelnu funkciju povećanjem aktivnosti ecSOD, koja ima ulogu u regulaciji vaskularnog redoks stanja u izvanstaničnom prostoru (Tiano i sur., 2007).

Dodatno, $MitoQ_{10}$ je derivat CoQ_{10}, odnosno mitohondrijski antioksidans dizajniran tako da se akumulira u mitohondriju *in vivo* da bi se mitohondrij zaštitio od oksidativnog oštećenja, a time i održala pravilna vaskularna funkcija endotela. Terapija s $MitoQ_{10}$ značajno povećava biodostupnost NO te primjena $MitoQ_{10}$ rezultira zaštitom od razvoja hipertenzije, endotelne disfunkcije i srčane hipertrofije (Graham i sur., 2009).

4.3.2. Utjecaj CoQ_{10} na lipidni profil

U reduciranom obliku koenzim Q_{10} inhibira oksidaciju DNA i proteina te peroksidaciju lipida staničnih membrana i lipoproteina u plazmi. Suplementacija CoQ_{10} rezultira povećanom količinom ubikvinola-10 u cirkulirajućim lipoproteinima i povećanom rezistencijom LDL-a na inicijaciju lipidne peroksidacije. Podaci o peroksidabilnosti LDL-a indiciraju da je u ranoj fazi oksidativnih procesa ubikvinol najaktivniji antioksidans. CoQ_{10} ima izravan antiaterogeni učinak, koji je pokazan na apolipoprotein E-deficijentnim miševima na prehrani s visokim udjelom masti. U tom modelu, suplementacija s CoQ_{10} u farmakološkim dozama je rezultirala smanjenjem apsolutne koncentracije lipidnih hidroperoksida u aterosklerotskim lezijama te smanjenjem veličine lezija u cijeloj aorti (Littarru i Tiano, 2007). Dodatno, studijom na dijabetičkim životinjama Ahmadvand i Ghasemi-Dehnoo su pokazali pozitivan učinak CoQ_{10} na profil serumskih lipida i aterogeni indeks. Dijabetes značajno povećava serumske vrijednosti triglicerida, ukupnog kolesterola, VLDL-a i LDL-a, a liječenje dijabetičkih životinja koenzimom Q10 značajno smanjuje navedene vrijednosti, aterogeni indeks, aterogeni koeficijent i rizik srčanih bolesti u usporedbi s neliječenim životinjama. Također, CoQ_{10} inhibira smanjenje serumske koncentracije HDL-a, ali i smanjuje serumske vrijednosti lipoproteina (a) kod pacijenata s visokim vrijednostima TG i koronarnom arterijskom bolešću. Kao liposolubilna molekula, CoQ_{10} je prisutan u dostatnim količinama u lipoproteinu (a) te može inhibirati ekspresiju receptora lipoproteina (a). Stoga, CoQ_{10} ima i hipolipidemična svojstva. No, mehanizam smanjenja povišenih serumskih lipida nije poznat. Hipolipidemični i antiaterogeni učinak prirodnog antioksidansa mogli bi biti rezultat inhibicije apsorpcije lipida iz hrane u crijevima ili zbog stimulacije bilijarne sekrecije kolesterola. Također, ti učinci mogli bi biti rezultat inhibicije glikacije lipoproteina, enzima i proteina uključenih u metabolizam lipida i lipoproteina (Ahmadvand i Ghasemi-Dehnoo, 2014).

Proučavanjem protuupalnih i antiapoptotičkih učinaka CoQ_{10} *in vitro,* pokazano je da $CoQ_{10}H_2$ izaziva karakterističnu promjenu u genskoj ekspresiji nuklearnog receptora PPARα (peroksisom proliferator-aktiviranog receptora α) što rezultira specifičnim smanjenjem koncentracije LDL kolesterola. Suplementacija $CoQ_{10}H_2$ uzrokuje značajno smanjenje LDL subfrakcija B, C i E, ali ne izaziva promjene za A i D subfrakcije LDL-a, što znači da

$CoQ_{10}H_2$ ima reducirajući učinak na razinu LDL-a s jačim efektom na aterogene, male čvrste LDL-čestice (eng. *small dense LDL*) (Schmelzer i sur. 2011).

Jedan od načina smanjenja ateroskleroze je povećanje uklanjanja viška kolesterola iz perifernih stanica i lezija putem reverznog transporta kolesterola (RCT, eng. *reverse cholesterol transport*). Ukratko, RCT uključuje transport kolesterola iz perifernih tkiva (pjenaste stanice iz aterosklerotskih lezija) u jetru pomoću HDL-a, a zatim se kolesterol izlučuje putem žuči. Taj put je posredovan mnogim transporterima lipida, uključujući i kolesterol-efluks pumpe ABCA1 i ABCG1 (eng. *ATP-binding cassette transporters A1 and G1*) (Allen i Vickers, 2014). U studiji (Wang i sur., 2014) na apolipoprotein E-deficijentnim miševima (*Apoe*$^{-/-}$ miševi) pokazalo se da suplementacija CoQ_{10} povećava RCT preko jetre i fecesa, smanjuje formaciju pjenastih stanica i stimulira regresiju lezija. Rezultati ove studije podupiru teorije regulatorne osi koja povezuje CoQ_{10} i efluks kolesterola iz makrofaga u HDL. CoQ_{10} inhibira miR-378 (mikroRNA-378) čime je povećana ekspresija ABCG1, proteina koji sudjeluje u efluksu kolesterola što povećava njegov prijenos iz makrofaga u HDL. Da CoQ_{10} promovira efluks kolesterola dokazano je i *in vitro*. Podaci iz ove studije impliciraju da su CoQ_{10} i miR-378 obećavajući kandidati za prevenciju i liječenje ateroskleroze.

Također, proučavan je učinak *in vitro* zaštite LDL-a od djelovanja peroksil radikala raznim liposolubilnim antioksidansima uključujući $CoQ_{10}H_2$, likopen, beta-karoten i alfa-tokoferol. Tijekom izlaganja radikalima, dogodila se brza i potpuna oksidacija $CoQ_{10}H_2$ praćena smanjenjem drugih antioksidansa, što upućuje na to da je $CoQ_{10}H_2$ prvi antioksidans u borbi protiv slobodnih radikala i oksidativnog stresa (Stocker i sur., 1991). Jedna studija (Bowry i sur., 1992) sugerira da su LDL-čestice učinkovito zaštićene od oksidacije peroksil radikalima sve do potpunog iskorištenja $CoQ_{10}H_2$. Stoga, pretpostavlja se da $CoQ_{10}H_2$ sprječava inicijaciju i/ili progresiju lipidne peroksidacije u lipoproteinima plazme i biološkim membranama.

S obzirom da se CoQ_{10} sintetizira istim metaboličkim putem kao i kolesterol, postaje meta djelovanja statina, inhibitora HMG-CoA reduktaze, koji inhibiraju konverziju HMG-CoA do mevalonata. Statini drastično smanjuju biosintezu CoQ_{10} te se preporuča suplementacija CoQ_{10} tijekom terapije statinima (Allen i Vickers, 2014; Molyneux i sur., 2008).

4.3.3. Protuupalni učinci CoQ_{10}

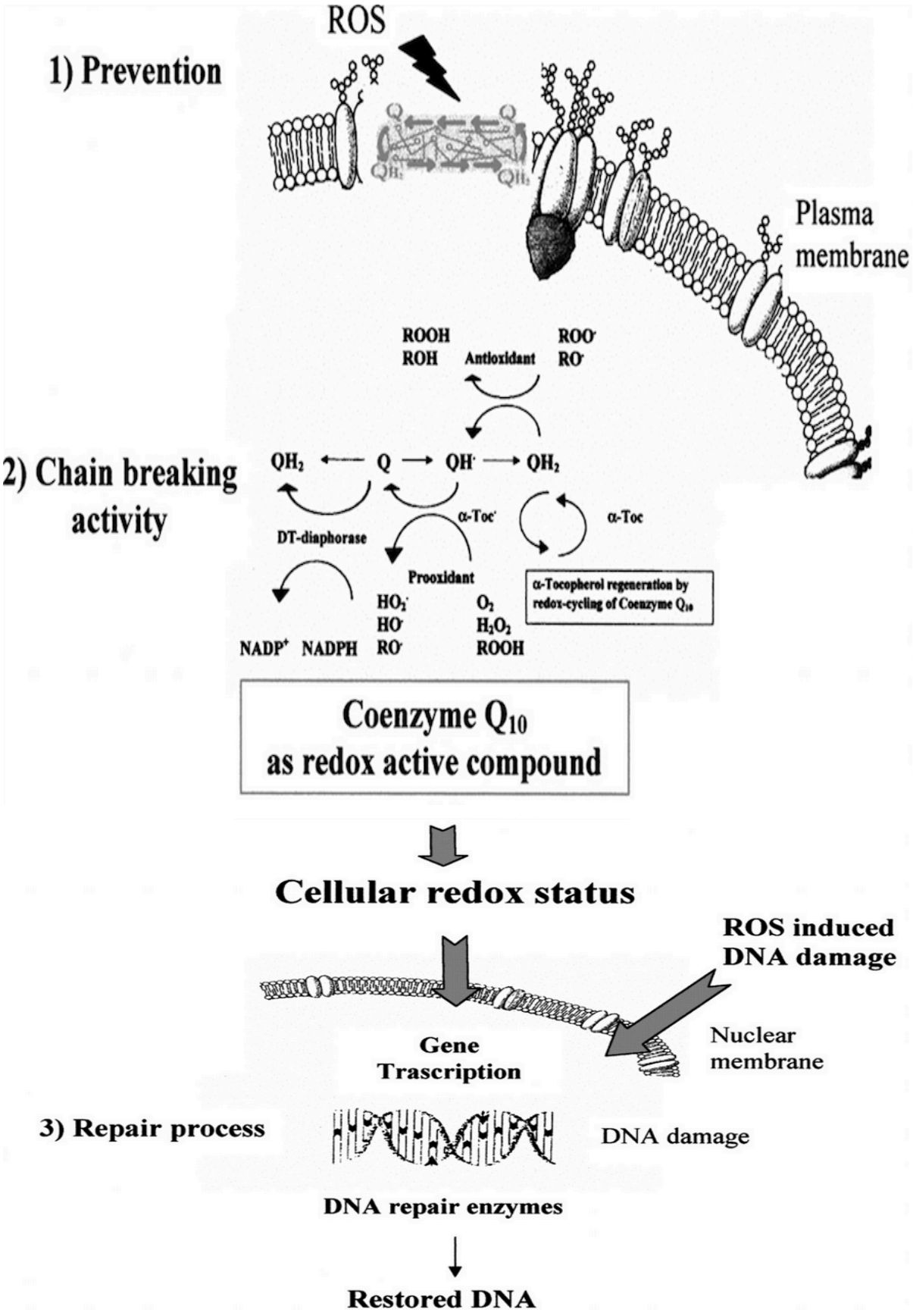
Smatra se da reducirani oblik koenzima Q_{10} ima protuupalne učinke barem dijelom kroz snažna antioksidativna svojstva. Ti bi učinci mogli biti dodatno pojačani djelovanjem CoQ_{10} na ekspresiju gena. Rezultati studije (Schmelzer i sur., 2009) ukazuju na protuupalne efekte reduciranog oblika djelovanjem na razne proupalne citokine i kemokine *in vitro.* Stimulacija stanica lipopolisaharidima (LPS) rezultira otpuštanjem brojnih proupalnih citokina i kemokina što je značajno smanjeno preinkubacijom stanica ubikvinolom.

4.3.4. Učinci CoQ_{10} na zaštitu DNA

U studiji (Tomasetti i sur., 2001) je istraživan utjecaj suplementacije s CoQ_{10} na zaštitu DNA u limfocitima od oksidativnog oštećenja. Praćena je i obnova DNA nakon oksidativnog oštećenja. *In vitro* obogaćenje limfocita s CoQ_{10} inhibira kidanje DNA lanaca pod utjecajem atmosferskog kisika te je popravak štete na DNA lancima ubrzan, u odnosu na limfocite bez CoQ_{10}. Suplementacija CoQ_{10} *in vivo* povećava endogenu razinu ubikvinola-10 u limfocitima, koji inhibira kidanje lanaca DNA te poboljšava popravak pokidanih DNA lanaca, zbog poboljšane enzimske aktivnosti. Iznenađujuće, CoQ_{10} ne prevenira formaciju oksidiranih purinskih i pirimidinskih baza, niti djeluje na popravak tih oštećenja u *in vitro* i *in vivo* eksperimentu. Zaključak ove studije je da CoQ_{10} ima pozitivne učinke na zaštitu DNA od slobodnih radikala.

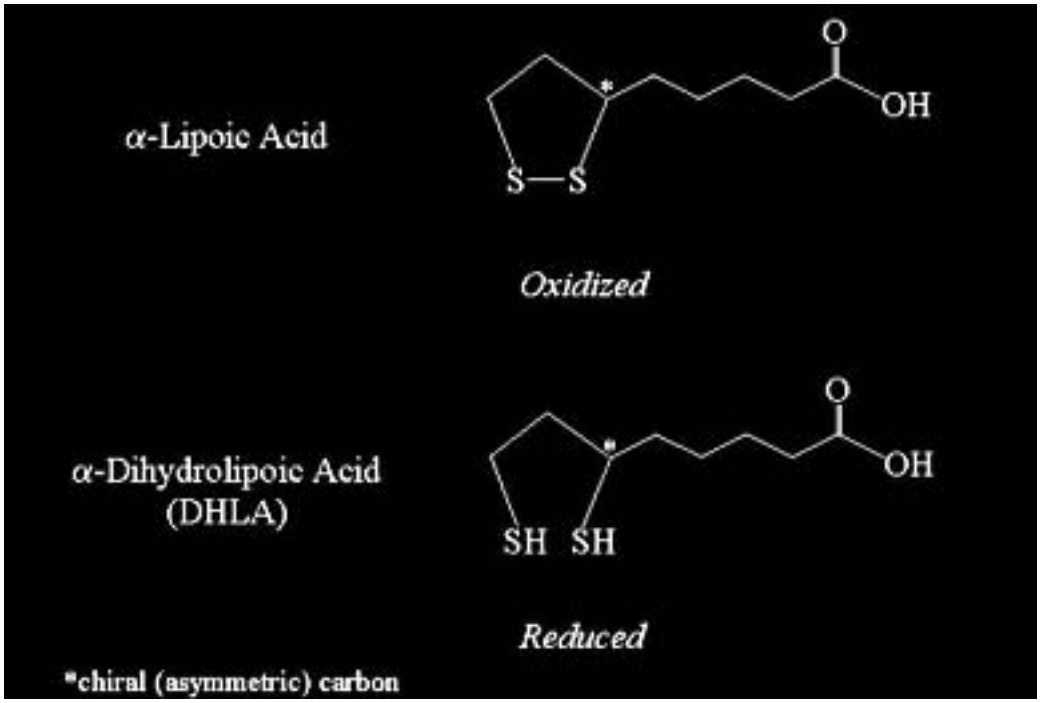
Mehanizam djelovanja CoQ_{10} u zaštiti DNA od oksidativnog oštećenja (slika 11):

1) direktno hvatanje ROS u lipidnom dvosloju (manji broj ROS dolazi do DNA)
2) prekidanje lančane reakcije čime se sprječava daljnja peroksidacija lipida kojom nastaju štetni radikali koji mogu djelovati na DNA te također obnova alfa-tokoferola
3) djelovanje na stanični redoks status uključen u regulaciju transkripcijskih faktora i regulatornih proteina te sudjelovanje u *trans*-aktivaciji enzima-popravljača DNA (Tomasetti i sur., 2001).



Slika 11. Hipotetska shema kojom se prikazuje uloga CoQ_{10} u prevenciji oksidativnog oštećenja DNA (3 mjesta/mehanizma) (Tomasetti i sur., 2001)

4.4. ALFA-LIPOIČNA KISELINA (ALA)



Slika 12. Alfa-lipoična kiselina (ALA) (oksidirani oblik- disulfid) i dihidrolipoična kiselina (DHLA) (reducirani oblik- ditiol) (Wollin i Jones, 2003)

Alfa-lipoična kiselina (ALA) je prirodna supstanca kemijski nazvana 1,2-ditiolan-3-pentanonska kiselina ($C_8H_{14}O_2S_2$). Njen reducirani oblik je dihidrolipoična kiselina (DHLA) (slika 12). ALA je snažan antioksidans te slabo zastupljena u prehrani. Kod ljudi se sintetizira uglavnom u jetri, ali i u drugim tkivima. ALA je nužna za oksidativnu dekarboksilaciju piruvata u acetil-CoA, kritični korak koji povezuje glikolizu i Krebsov ciklus, a djeluje i u Krebsovom ciklusu pa je stoga važna i za aerobni metabolizam. Djeluje kao kofaktor piruvat-dehidrogenaze i alfa-ketoglutarat-dehidrogenaze. S obzirom da je ALA i hidrofilna i lipofilna, njene biološke funkcije nisu ograničene samo na jednu okolinu. Utvrđeno je da ALA ima pozitivan utjecaj na profil lipida u krvi, oksidaciju LDL-a, formaciju ateroma i modulaciju hipertenzije (Wollin i Jones, 2003).

Stoga, ALA bi mogla imati važnu ulogu u smanjenju faktora rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti. ALA/DHLA redoks par su jedan od najjačih bioloških antioksidativnih sustava (jači i od GSH/GSSG redoks sustava). Njihove funkcije su:

1) hvatanje reaktivnih kisikovih spojeva

-ALA: hidroksil radikal, singletni kisik, vodikov peroksid, hipoklorna kiselina, peroksinitrit i dušikov oksid

-DHLA: peroksil radikal, hidroksil radikal, superoksid anion radikal, hipoklorna kiselina

2) regeneracija egzogenih i endogenih antioksidansa, uključujući vitamine C i E te glutation koji obnavlja koenzim Q10, NADPH te NADH u stanicama (Sola i sur., 2005)

3) keliranje metalnih iona (bakar, željezo, drugi prijelazni metali)

4) reparacija oksidiranih proteina

5) sprječavanje adhezije monocita inhibicijom ekspresije adhezijskih molekula:
E-selektina, VCAM-1, ICAM-1, MCP-1. Takvo djelovanje je rezultat inhibicije NF-κB/IκB signalnog puta čime se utječe na količinu TNF-α, faktora indukcije adhezije monocita. Vitamin C i glutation nemaju taj učinak (Zhang i Frei, 2001)

6) povećanje aktivnosti eNOS (endotelne NO sintaze) te poboljšanje iskorištenja glukoze što je značajno u terapiji dijabetesa tipa 2

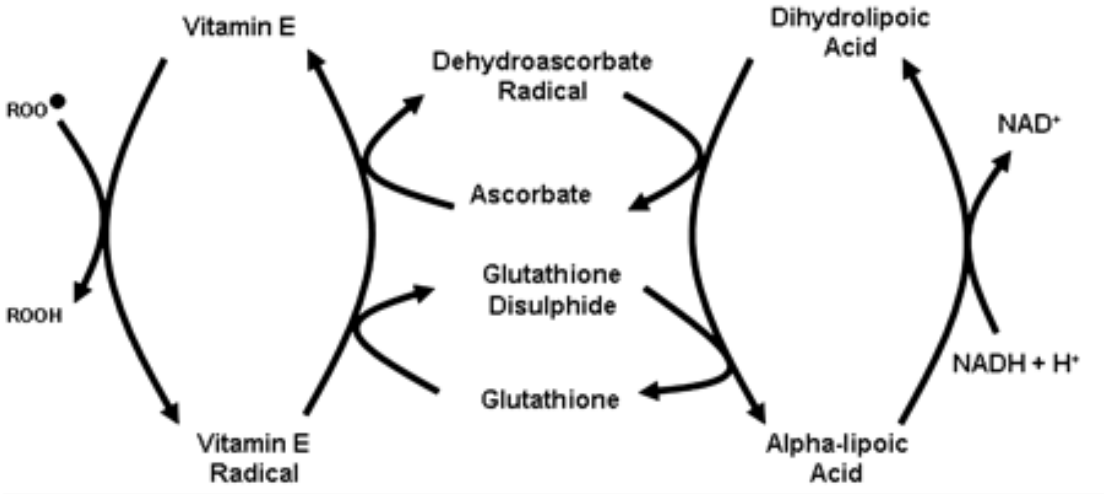
7) smanjenje proliferacije i migracije vaskularnih glatkih mišićnih stanica stimulanih faktorom rasta iz trombocita (Lee i sur., 2012)

U hrani, ALA je jako zastupljena u životinjskim tkivima s visokom metaboličkom aktivnošću (srce, jetra, bubrezi), a manje u voću i povrću (špinat, brokula, rajčica, grašak, prokulica). ALA dobivena prehranom prenosi se u krvotok i zatim do tkiva gdje ulazi u stanice. Unutar stanice, translocira se u mitohondrij, gdje se nalaze enzimski kompleksi potrebni ALA. U mitohondrijima se reducira u DHLA lipoamidnom-dehidrogenazom ovisnom o NADH. U stanicama bez mitohondrija, redukcija ide uz NADPH, glutation-reduktazom i tioredoksin-reduktazom. Nakon redukcije, DHLA može biti prebačena u

okolinu stanice te djelovati u izvanstaničnim tekućinama. Smatra se da u toj formi ima najveći antioksidativni potencijal (Wollin i Jones, 2003). ALA se može sintetizirati *de novo* u mitohondriju sintazom lipoične kiseline iz oktanske kiseline i cisteina. S obzirom da se u sisavaca prehranom ne mogu unijeti dovoljne količine ALA, *de novo* sinteza u srcu, jetri i testisima je vrlo važna, jer se tako zadovoljava potrebna količina za inkorporaciju u postojeće enzimske komplekse. Zapravo, jedino suplementacijom se mogu postići terapijske vrijednosti ALA u cirkulaciji (Petersen Shay K i sur. 2008).

4.4.1. Mehanizam djelovanja ALA/DHLA na druge antioksidativne sustave

Zna se da ALA ima sposobnost recikliranja drugih antioksidansa, stoga se svaki učinak tih antioksidansa može poboljšati suplementacijom uz ALA. ALA je učinkovita u obnavljanju vitamina E sinergističkom reakcijom s vitaminom C pa se tako mogu održavati visoke koncentracije vitamina E. Stoga ALA indirektno, pojačavanjem djelovanja drugih antioksidansa, ima važnu ulogu u zaštiti LDL-a od oksidacije (slika 13).



Slika 13. Uloga ALA u recikliranju drugih antioksidativnih sustava (Wollin i Jones, 2003)

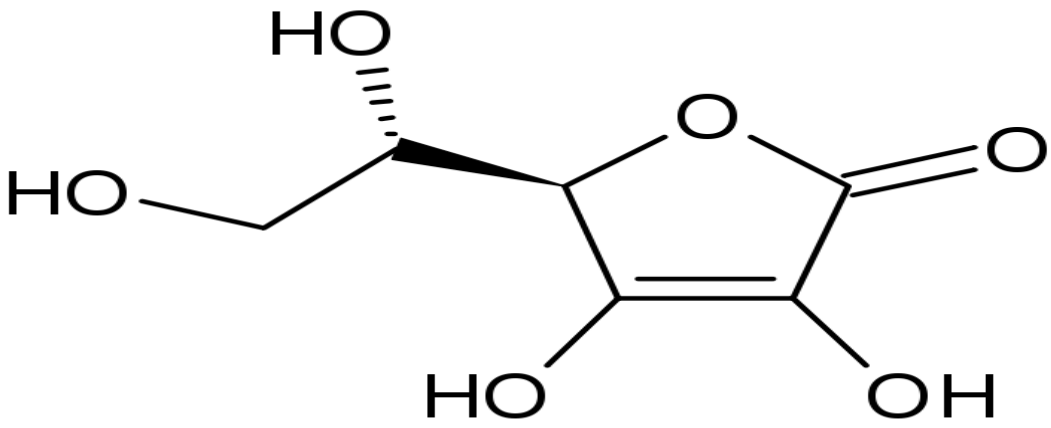
ALA povisuje ili održava stanične vrijednosti GSH *in vivo* pojačavajući transkripciju gena koji upravljaju sintezom GSH te povećavajući dostupnost cisteina, supstrata za sintezu GSH, povećanjem njegova unosa (Wollin i Jones, 2003).

4.4.2. Učinci ALA na oksidaciju LDL-a, lipidni profil i formaciju ateroma

Mjerenjem oksidativnog stresa, pokazalo se da ALA smanjuje vrijednosti karbonila u plazmi, dok alfa-tokoferol nema taj učinak. Obje molekule samostalno smanjuju vrijednosti F_2-izoprostana (marker oksidativnog stresa *in vivo*) u ureji, a zajednički učinak na smanjenje je jači. ALA odgađa oksidaciju LDL-a uzrokovanu lipidnim peroksidima nastalima u oksidaciji kataliziranoj bakrom. DHLA također odgađa oksidativnu modifikaciju LDL-a peroksidacijom i tiolnom kelacijom bakrom, ali nakon što se postigla neka kritična vrijednost DHLA, efekt je inhibiran. Iz navedenog se može zaključiti da ALA prevenira preuranjenu aterosklerozu antioksidativnim učinkom (Wollin i Jones, 2003).

U studiji (Ivanov, 1974) na zečevima pokazano je da 1mg/kg ALA smanjuje razinu ukupnog kolesterola i lipoproteine 40-ak% u serumu i tkivu aorte, ali i pojavačava obnovu tkiva, uključujući srce, jetru i krvne žile. ALA ima protektivan učinak u prevenciji povišene razine lipida u krvi i ateroskleroze. U studiji (Ford i sur., 2001) na štakorima s dijabetes melitusom, unos 300mg/kg ALA rezultirao je smanjenjem triglicerida u krvi, što je dovelo do poboljšanja endotelne funkcije. U drugoj studiji (Amom i sur., 2008) ALA je usporila progresiju ateroskleroze (praćeno kao formacija aterosklerotskog plaka) kod životinja na prehrani s visokim udjelom kolesterola. Utvrđeno je da ALA ima i hipokolesterolemična svojstva, iako mehanizam kojim ALA reducira vrijednosti TG i LDL nisu poznate. Pretpostavlja se da se radi o modulaciji aktivnosti lipoprotein-lipaze ili povećanju metabolizma kolesterola u jetri, tako da inicira sintezu LDL-receptora u jetri što rezultira pojačanim unosom kolesterola u jetru te povećanjem sinteze apoproteina A (koji je dio HDL-čestica), tj. povećanom sintezom HDL-a *in vivo*.

4.5. VITAMIN C (ASKORBINSKA KISELINA)



Slika 14. Askorbinska kiselina (en.wikipedia.org)

Askorbinska kiselina (AA) (slika 14) je vrlo važan hidrosolubilni vitamin. Esencijalna je za biosintezu kolagena, karnitina i neurotransmitera. Većina biljaka i životinja sintetizira askorbinsku kiselinu iz D-glukoze i D-galaktoze. Međutim, zamorci, šišmiši koji jedu voće, neki majmuni i ljudi ne mogu sintetizirati askorbinsku kiselinu zbog nedostatka enzima gulonolakton-oksidaze te se stoga ona mora unositi prehranom. Mnogi blagotvorni učinci na zdravlje pripisani su askorbinskoj kiselini, a uključuju antioksidativna, antiaterogena, antikarcinogena i imunomodulatorna svojstva te prevenciju prehlade... Askorbinska kiselina je rasprostranjena u svježem voću i povrću: agrumi, lubenica, papaja, jagoda, dinja, mango, ananas, bobičasto voće, trešnje, zeleno lisnato povrće, rajčica, brokula, paprika, kupus, cvjetača...

AA iz hrane se lako apsorbira (80-90%) aktivnim transportom u crijevima. Osjetljiva je na zrak, svjetlost, toplinu i lako se uništava predugim skladištenjem i obradom hrane. AA se ne pohranjuje u tijelu, a poluživot joj je 10-20 dana, stoga se mora redovito unositi u organizam. Glavni metaboliti su dehidroaskorbinska kiselina (DHA), 2,3-diketogulonska kiselina i oksalna kiselina. Eliminacija metabolita i nemetabolizirane AA je putem urina (Akhilender Naidu K, 2003).

Preporučena dnevna doza (RDA; eng. *Recommended Dietary Allowance*- količina nutrijenta koja se smatra nužnom za održavanje dobrog zdravlja) za AA iznosi 90 mg/d za muškarce i 75 mg/d za žene, s tim da je 100 mg/d dovoljno da zasiti tjelesne rezerve vitamina C u zdravih pojedinaca. Unos 100 mg/d je povezan sa smanjenom incidencijom mortaliteta od srčanih oboljenja, moždanog udara i karcinoma. Doduše, stres, pušenje, alkoholizam, vrućica i infekcije značajno smanjuju nivo AA u krvi. Pušenje povećava metaboličku razgradnju AA zbog mnoštva oksidansa i slobodnih radikala prisutnih u dimu cigareta. Preporuka je da unos AA kod pušača bude povećan na 140 mg/d kako bi se ostvario isti učinak kao kod nepušača sa 100 mg/d. Nema znanstvenih dokaza o toksičnim ili štetnim učincima visokih doza vitamina C na zdravlje.. *In vivo* podaci ne ukazuju na povezanost prekomjernog unosa vitamina C i stvaranja bubrežnih kamenaca, prooksidativnih učinaka ili prekomjerne apsorpcije željeza (Akhilender Naidu K, 2003).

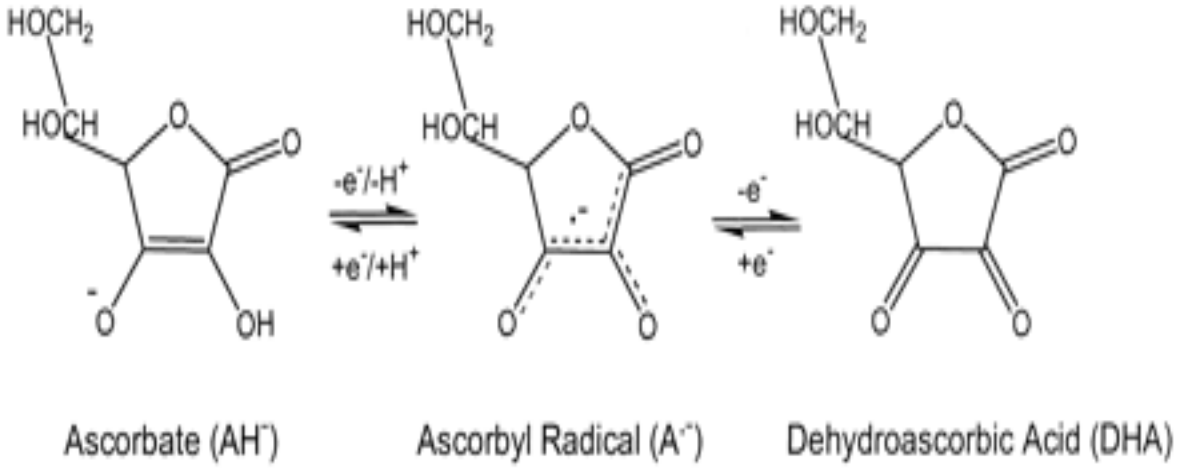
4.5.1. Fiziološke funkcije vitamina C

Fiziološka funkcija vitamina C ovisi o oksido-redukcijskim svojstvima ovog vitamina. L-askorbinska kiselina je kofaktor za hidroksilaze i monooksigenaze, enzime uključene u sintezu kolagena, karnitina i neurotransmitera. Ona ubrzava reakcije hidroksilacije tako da održava metalne ione u aktivnom centru enzima u reduciranom stanju te time osigurava optimalnu aktivnost enzima. Ti redoks-aktivni prijelazni metalni atomi su željezo i bakar. Kao što je prije navedeno, AA ima važnu ulogu u sintezi kolagena, koji predstavlja trećinu ukupnih proteina tijela. Kolagen je osnovni protein kože, zubiju, kostiju, hrskavica, tetiva, krvnih žila, međukralježničnih diskova, srčanih zalistaka te rožnice i leće oka. Izgrađuju ga četiri aminokiseline, uključujući glicin, prolin, hidroksiprolin i hidroksilizin. Hidroksiprolin i hidroksilizin su neproteinogene aminokiseline, tj. nastaju posttranslacijskom modifikacijom iz prolina i lizina djelovanjem prolil-hidroksilaze i lizil-hidroksilaze. AA sudjeluje u tim reakcijama hidroksilacije kao kofaktor spomenutim enzimima. Stoga, nedostatak AA rezultira smanjenom hidroksilacijom aminokiselina, čime je narušena sinteza kolagena te posljedično nastaje skorbut. Askorbinska kiselina je esencijalna za sintezu mišićnog karnitina (β-hidroksimaslačna kiselina), koji je potreban za prijenos masnih kiselina u mitohondrij, gdje se one koriste za dobivanje energije. AA djeluje kao kofaktor u hidroksilaciji uključenoj u sintezu karnitina. Također, važna je za sintezu katekolamina, odnosno sudjeluje u konverziji neurotransmitera dopamina u noradrenalin, kao kofaktor enzima dopamin-β-hidroksilaze. AA

katalizira i reakciju amidacije, koja je važna za maksimalnu aktivnost hormona oksitocina, vazopresina, kolecistokinina i α-melanotripina. Također sudjeluje u transformaciji kolesterola u žučne kiseline tako što modulira mikrosomsku 7-α-hidroksilaciju, limitirajuću reakciju katabolizma kolesterola u jetri. U nedostatku AA ta reakcija bude usporena, rezultirajući nakupljanjem kolesterola u jetri, hiperkolesterolemijom, formacijom žučnih kamenaca, itd. (Akhilender Naidu K, 2003).

4.5.2. Vitamin C i ateroskleroza

Vitamin C djeluje kao potentan, hidrosolubilan antioksidans u biološkim tekućinama, hvatajući fiziološki važne reaktivne spojeve (ROS i RNS). To su slobodni radikali, kao što su hidroksil radikal, alkoksil radikal, hidroperoksil radikal, superoksid anion te dušikov monoksid, ali i neradikalni spojevi kao hipoklorna kiselina, ozon, singletni kisik, nitrozirajući spojevi (N_2O_3/N_2O_4), nitroksid i peroksinitrit. Hvatanjem reaktivnih spojeva AA sprječava oksidativnu štetu na značajnim biološkim makromolekulama, a to su DNA, lipidi i proteini. Vitamin C je efektivan antioksidans iz više razloga. Prvo, askorbat i askorbil radikal, koji je stvoren hvatanjem jednog elektrona na askorbat, imaju niske redukcijske potencijale i mogu reagirati s većinom drugih biološki važnih radikala i oksidansa. Drugo, askorbil radikal je slabo reaktivan zbog rezonantne stabilizacije nesparenog elektrona i brzo se prevodi u askorbat ili dehidroaskorbinsku kiselinu (DHA) (slika 15).



Slika 15. Oksidacija askorbata u 2 sukcesivna koraka (oksidacija jednim elektronom u svakom koraku) preko askorbil radikala do dehidroaskorbinske kiseline (Carr i Frei, 1999)

Dodatno, askorbat može biti regeneriran iz askorbil radikala i iz DHA enzimskim i neenzimskim putem. Askorbil radikal može biti povratno reduciran neenzimski dismutacijom te enzimski, uz NADH-ovisnu semidehidroaskorbat-reduktazu i NADPH-ovisnu selenoenzim-tioredoksin-reduktazu. Dismutacijom iz askorbil radikala može nastati i DHA, koja se može reducirati natrag u askorbat neenzimski uz GSH i lipoičnu kiselinu, te enzimski uz tioredoksin-reduktazu i GSH-ovisni enzim glutaredoksin (Carr i sur., 2000, Carr i Frei, 1999).

Osim hvatanja reaktivnih spojeva, vitamin C može regenerirati druge antioksidanse: α-tokoferol, glutation (GSH), urat i β-karoten. Askorbat regenerira α-tokoferol redukcijom α-tokoferoksil radikala, tako da premješta radikale iz lipidne faze u vodenu te time prevenira tokoferol-ovisnu peroksidaciju. Askorbat djeluje kao koantioksidans α-tokoferolu u lipoproteinima i stanicama. Ne zna se da li askorbat reciklira ili prije štedi α-tokoferol, no zna se da u stanjima povećanog oksidativnog stresa djeluje štedeći GSH *in vivo* (Carr i sur., 2000).

Kao što je već rečeno, adhezija leukocita na endotel je važan korak u inicijaciji ateroskleroze. *In vivo* studije pokazuju da AA inhibira interakciju leukocita i endotela induciranu cigaretnim dimom (Lehr i sur., 1997; Lehr i sur., 1994) ili oksidiranim LDL-om (Lehr i sur., 1995). Dalje, lipofilni derivati AA pokazuju protektivne učinke na oštećenje endotela izazvano lipidnom peroksidacijom. (Kaneko i sur., 1993). AA također poboljšava narušenu endotel-ovisnu vazodilataciju kod pacijenata s aterosklerozom (Heller i sur., 1999).

Vitamin C također štiti LDL od oksidacije potaknute različitim oksidativnim stresorima, uključujući metal ovisne i neovisne procese. U *in vitro* istraživanju je utvrđeno da dodatak željeza plazmi bez AA rezultira lipidnom peroksidacijom, dok endogeni i egzogeni AA inhibira lipidnu oksidaciju u ljudskoj plazmi u prisutnosti željeza. Slično je i s bakrom (Akhilender Naidu K, 2003). Uvjerljivi su dokazi iz *in vitro* studija (Carr i sur., 2000; Martin i Frei, 1997) da fiziološke koncentracije vitamina C snažno inhibiraju oksidaciju LDL-a preko vaskularnih stanica i neutrofila, kao i u sustavu bez stanica. Askorbat sprječava oksidativnu modifikaciju LDL-a primarno suzbijajući slobodne radikale u vodenom okruženju. Direktno i brzo hvatanje tih vodenih reaktivnih spojeva askorbatom sprječava njihovu interakciju s LDL-om te time i njegovu oksidaciju (Carr i sur., 2000).

Podaci iz *in vitro* studije (Heller i sur., 1999) pokazuju da AA poboljšava sintezu NO u endotelnim stanicama. Istraživanjem prekursorske molekule L-gulonolaktona i različitih derivata askorbinskih kiselina otkriveno je da enediolna struktura askorbata ima esencijalnu

ulogu u sintezi NO. AA ne inducira ekspresiju NO sintaze, niti povećava unos L-arginina, supstrata NO sintaze, u endotelnu stanicu, već ona pojačava agonist-induciranu sintezu NO u endotelu. To je pokazano pratećim promjenama formacije citrulina, koji je koprodukt NO, i akumulacijom cGMP-a, koji je efektorna molekula NO. Iako, akumulacija cGMP-a može također indicirati povećanje u biološkoj aktivnosti NO. Također, AA može ili povećati biodostupnost tetrahidrobiopterina, koji regulira produkciju NO, ili povećati njegov afinitet za endotelnu NO sintazu. Također, protektivni vaskularni učinci AA se pripisuju i suzbijanju radikala što rezultira povećanjem biodostupnosti NO. Ti mehanizmi bi mogli biti vrlo važni *in vivo* i mogu objasniti poboljšanje endotel-ovisne vazodilatacije kod pacijenata s narušenom vaskularnom funkcijom pri akutnoj primjeni AA. Pretpostavlja se da zasićenje tkiva s AA pruža optimalne uvjete za adekvatnu sintezu NO u endotelnim stanicama i da smanjenje staničnog sadržaja AA može doprinijeti razvoju endotelne disfunkcije.

Studije (Hornig i sur., 1998; Ting i sur., 1997; Solzbach i sur. 1997; Ting i sur., 1996; Levine i sur., 1996; Heitzer i sur., 1996) pokazuju da akutna primjena AA povećava endotel-ovisnu vazodilataciju i kod pacijenata s dijabetesom, koronarnom bolesti arterija, hipertenzijom, hiperkolesterolemijom, kroničnim zatajenjem srca te kod pušača.

4.6. POLIFENOLI

Polifenoli su organske molekule koje karakterizira prisutnost više fenolnih skupina. Trenutno je poznato preko 8000 polifenolnih struktura. U prirodi ih ima u izobilju: u voću (najviše bobičasto voće i citrusi), povrću, kavi, čaju, čokoladi (Zern i Fernandez, 2005).

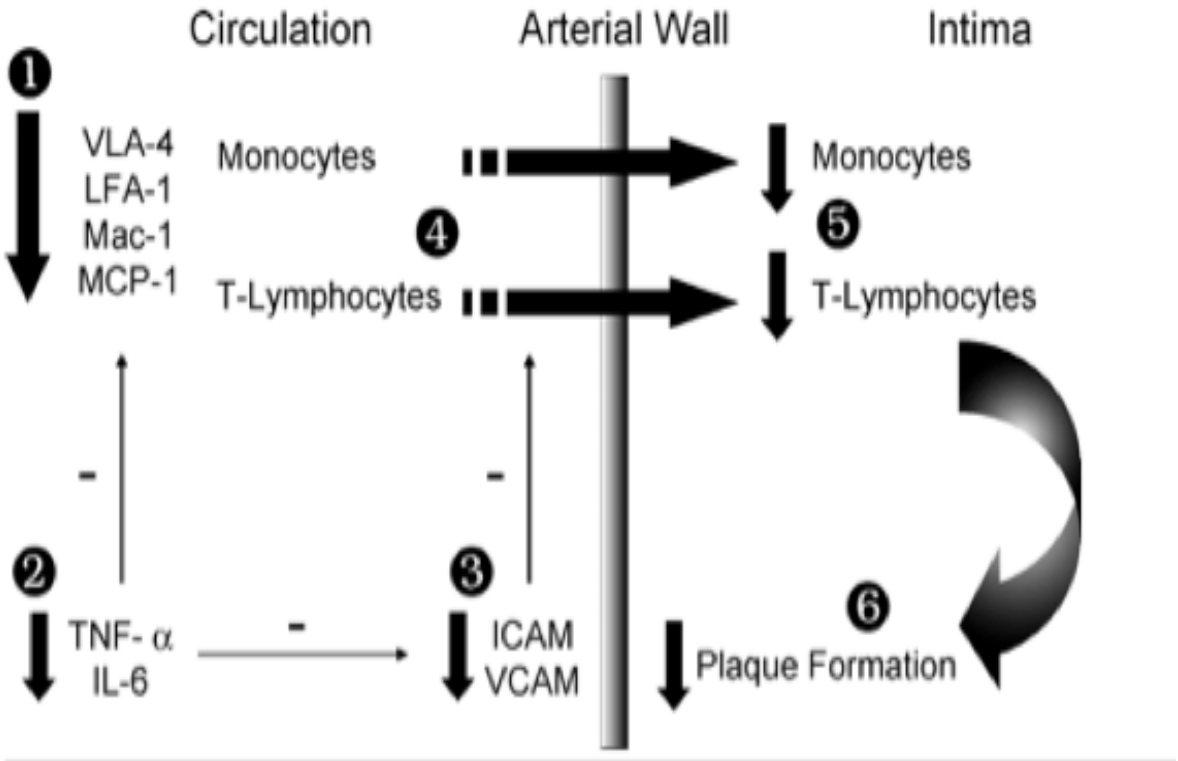
Mnoge od tih molekula imaju antioksidativnu aktivnost *in vitro*, ali nije vjerojatno da je imaju *in vivo*. Važne uloge *in vivo* mogu imati različita druga djelovanja polifenola. Oni mogu biti uključeni u međustaničnu signalizaciju, osjetljivost receptora, aktivnost upalnih enzima i gensku regulaciju (www.wikipedia.org).

Danas su poznati brojni pozitivni učinci polifenola. Najpoznatiji primjeri pozitivnih učinaka polifenola izcrnog vina na kardiovaskularno zdravlje su fenomen francuskog paradoksa te mediteranska prehrana. Francuski paradoks opisuje nisku pojavnost koronarne srčane bolesti usprkos prehrani bogatoj zasićenim mastima. Mediteranska prehrana, bogata voćem, povrćem i vinom, također pokazuje protektivno djelovanje na bolesti srca, uključujući reverzibilnost hiperlipidemije, smanjenu aterogenost LDL-čestica tezaštitu kolesterola u LDL-u od oksidacije (Zern i Fernandez, 2005).

4.6.1. Djelovanje polifenola

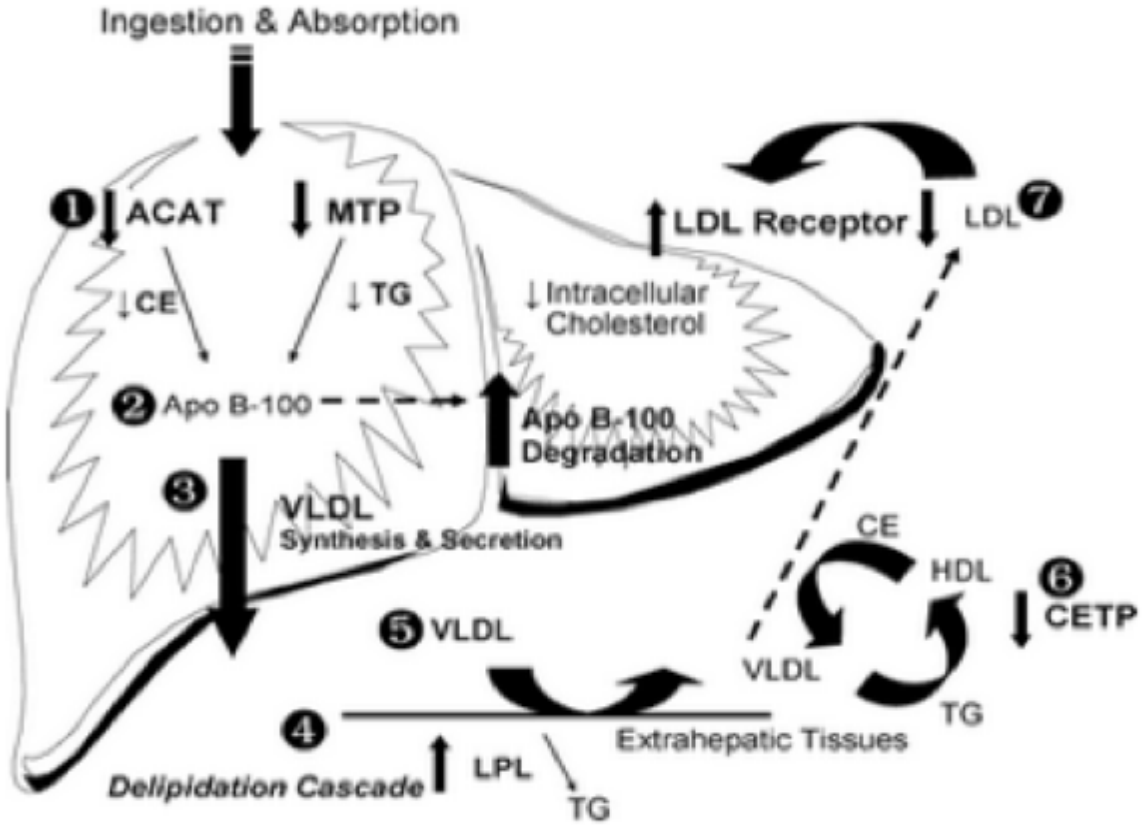
Osim protektivnog djelovanja polifenola protiv koronarnih bolesti, oni djeluju i na jetreni metabolizam kolesterola i lipoproteina te reduciraju upalni odgovor. Mogu djelovati tako da smanjuju apsorpciju kolesterola (interakcijom s nosačima kolesterola) i masnih kiselina, što rezultira smanjenim unosom kolesterola u jetru hilomikronima. Navedeno dovodi do povećanja broja LDL-receptora na površini stanica jetre (kompenzacija za smanjenu dostupnost supstrata) te do smanjenja koncentracije kolesterola u plazmi (iz plazme je prebačen u jetru). Također, polifenoli mogu imati utjecaj na razinu sekrecije apo B (vezanjem za membranski transportni P-glikoprotein, čime se inhibira esterifikacija kolesterola te tako smanjuje inkorporacija kolesteril-estera u VLDL) te na aktivnost MTP (eng. *microsomal triglyceride transfer protein*) i ACAT (acil-CoA: kolesterol O-aciltransferaza), što rezultira modificiranom VLDL-česticom. Smanjenje koncentracije TG u plazmi je rezultat snižene aktivnosti MTP i povećane aktivnosti LPL (lipoprotein-lipaza). Dalje, smanjenje koncentracije TG u plazmi dovodi i do delipidacijske kaskade što rezultira smanjenjem

koncentracije LDL-a u cirkulaciji. Osim utjecaja na lipidni profil, polifenoli imaju i antiinflamatorna svojstva, smanjujući produkciju citokina uključenih u staničnu adheziju (Zern i Fernandez, 2005).



Slika 16. Utjecaj polifenola na proces upale (Zern i Fernandez, 2005)

Slika 16 prikazuje djelovanje polifenola iz grožđa u procesu upale. Oni djeluju tako da smanjuju adhezivnost proteina na površini monocita i T-limfocita (1), koncentracije proupalnih citokina TNF-α i IL-6 (2), prisutnost adhezivnih molekula na arterijskom zidu (3), razinu ulaska monocita i T-limfocita u intimu (4, 5) te posljedično formaciju ateroma (6), odnosno razvoj ateroskleroze (Zern i Fernandez, 2005).



Slika 17. Mjesta djelovanja polifenola u metabolizmu lipida (Zern i Fernandez, 2005).

Kao što je već spomenuto, polifenoli i njihovi metaboliti modificiraju metabolizam kolesterola i lipoproteina u jetri (slika 17). Oni smanjuju aktivnost proteina uključenih u izgradnju lipida potrebnih za ugradnju u VLDL (eng. *very low density lipoprotein*) (ACAT, MTP) (1) što dovodi i do povećane razgradnje apo-B100 (2). Smanjena biodostupnost supstrata za izgradnju VLDL-a rezultira njegovom smanjenom sintezom i sekrecijom (3). Manjak VLDL-a u cirkulaciji pokreće delipidacijsku kaskadu (4). Promjena strukture VLDL-čestice, uz značajno smanjenje koncentracije apoE, povećava aktivnost lipoprotein-lipaze (LPL) što rezultira smanjenjem koncentracije triglicerida (TG) u plazmi (5). Smanjenje koncentracije VLDL-a dovodi do značajnog smanjenja koncentracije LDL-a u plazmi, a to potiče povećanje broja LDL-receptora na površini stanica jetre, da bi se održala jetrena homeostaza kolesterola (7) (Zern i Fernandez, 2005).

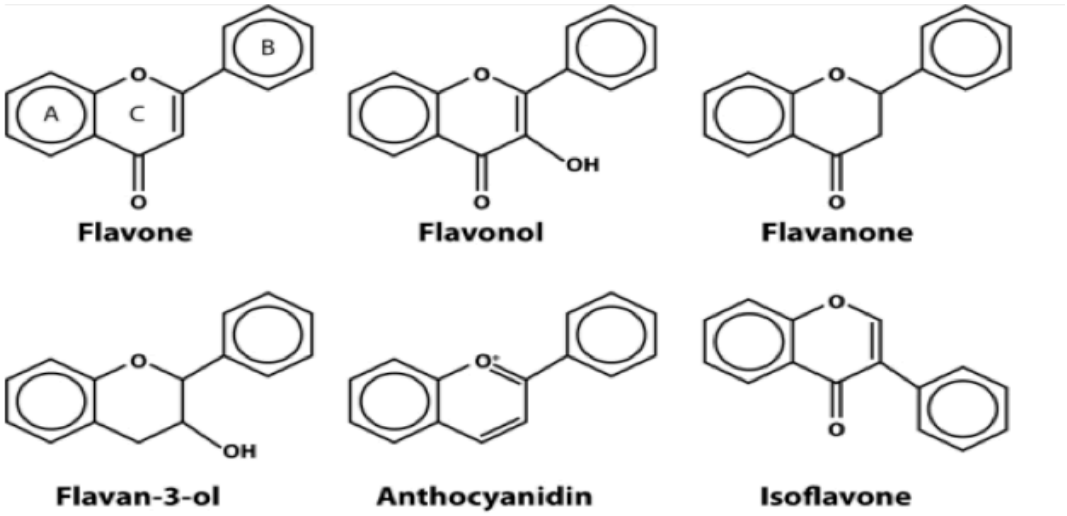
Podjela fenolnih spojeva prikazana je tablicom 3.

Tablica 3. Podjela fenolnih spojeva (www.enzolifesciences.com)

<table>
<tr><td>MONOFENOLI</td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td rowspan="9">POLIFENOLI</td><td rowspan="5">FLAVONOIDI</td><td>FLAVONOLI</td><td>kvercetin, rutin, miricetin</td></tr>
<tr><td>FLAVANONI</td><td>hesperidin, naringenin, silibin</td></tr>
<tr><td>FLAVONI</td><td>apigenin, luteolin</td></tr>
<tr><td>FLAVANOLI</td><td>katehini, teaflavani, proanticijanidini</td></tr>
<tr><td>ANTOCIJANIDINI (FLAVONALI)</td><td>cijanidin, pelargonidin, delfinidin</td></tr>
<tr><td>IZOFLAVONOIDI</td><td colspan="2">daidzein, genistein</td></tr>
<tr><td>FLAVONOLIGNANI</td><td colspan="2">silimarin</td></tr>
<tr><td>LIGNANI</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>STILBENOIDI</td><td colspan="2">resveratrol</td></tr>
<tr><td>KURKUMINOIDI</td><td colspan="2">kurkumin</td></tr>
<tr><td>HIDROLIZABILNI TANINI</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td rowspan="4">AROMATSKE KISELINE</td><td>FENOLNE KISELINE</td><td colspan="2">galna kiselina, tanična kiselina, elagična kiselina, salicilna kiselina, vanilin</td></tr>
<tr><td>HIDROKSICINAMIČNE KISELINE</td><td colspan="2">kofeinska kiselina, klorogenska kiselina, cimetna kiselina, ferulična kiselina, kumarin, gingerol</td></tr>
<tr><td>FENILETANOIDI</td><td colspan="2">oleuropein</td></tr>
<tr><td></td><td colspan="2">kapsaicin</td></tr>
</table>

4.6.2. Flavonoidi

Flavonoidi predstavljaju veliku skupinu spojeva koja uključuje više od 4000 sekundarnih metabolita biljaka. U prehrani čine više od dvije trećine svih polifenola (Salvamani i sur., 2014). Mogu se naći u voću i povrću, orašastim plodovima, kakau, vinu, kavi i čaju. Flavonoidi se mogupodijeliti u nekoliko skupina, ovisno o strukturi i stupnju oksidacije. Uključuju flavonole, flavone, izoflavone, flavanone, flavan-3-ole i antocijanidine (slika 18) (Mulvihill i Huff, 2010).



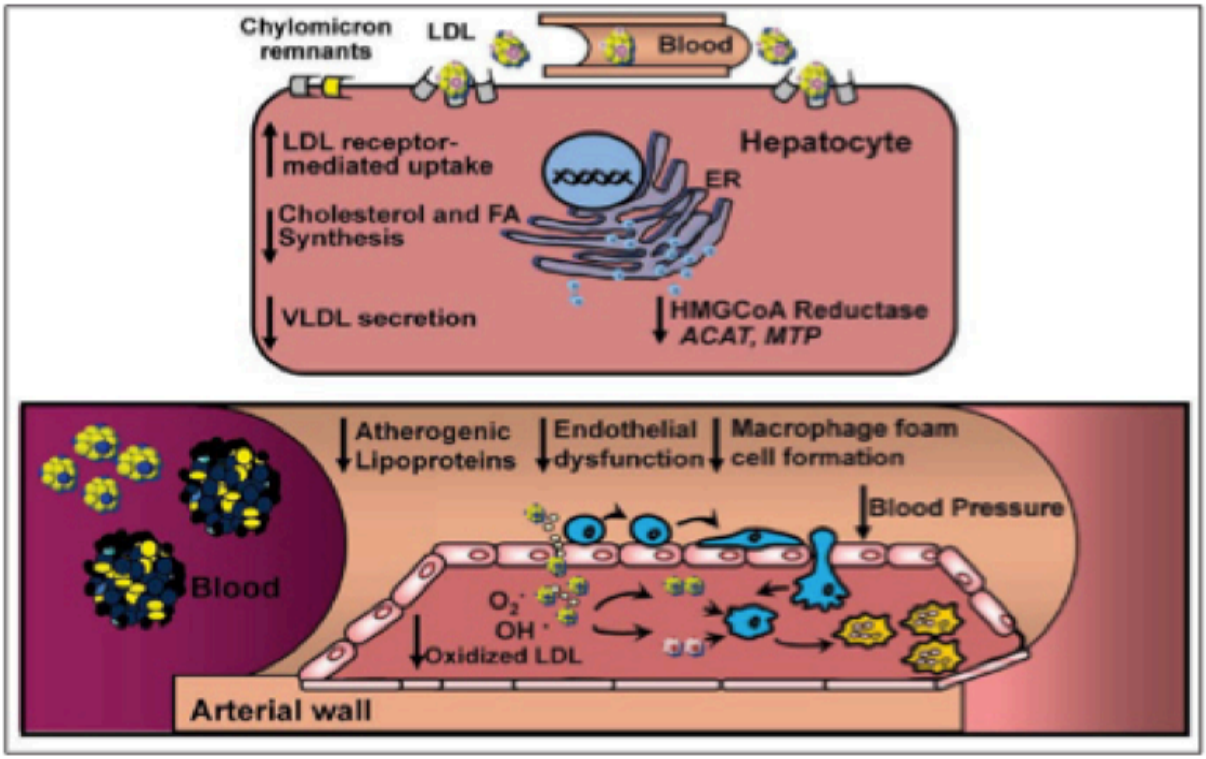
Slika 18. Podjela flavonoida prema kemijskoj strukturi (Mulvihill i Huff, 2010)

Epidemiološke studije (Manach i sur., 2005; Vita, 2003) pokazuju da unos hrane bogate flavonoidima smanjuje rizik kardiovaskularnih bolesti. *In vitro* i *in vivo* studijama pokazano je da flavonoli iz hrane imaju mnoga biološka i medicinska svojstva: antioksidativno (Škerget i sur., 2005), antitrombotsko, antiinflamatorno, antiaterogeno, antiaterosklerotsko (Kleemann i sur., 2011), hipoglikemijsko, hipotenzivno (Tabassum i Ahmad, 2011), hipokolesterolemijsko (Koo i Noh, 2007) te kardioprotektivno. Zbog takvih svojstava, biljke bogate flavonoidima (pr. garcinija, gospina trava...) značajno smanjuju rizik ateroskleroze i KVB (tablica 4) (Salvamani i sur., 2014).

Tablica 4. Podjela flavonoida po skupinama i mehanizmi djelovanja (Mulvihill i Huff, 2010)

Flavonoidi i srodni polifenoli			Mehanizam prevencije koronarne arterijske bolesti	
Glavne skupine flavonoida	Pojedini flavonoidi	izvori u hrani	*in vitro*	*in vivo*
Flavanoni	naringenin hesperetin	agrumi, rajčica	hepatociti: ↓ sekreciju VLDL-a ↓MTP ↓ACAT	štakori (dijabetes i prehrana s visokim udjelom masnoća): ↓dislipidemiju ↓šećer u krvi ↓apoB100 ↓hiperinzulinemiju ↓aterosklerozu
Flavonoli	kvercetin miricetin kemferol ramnazin	luk, jabuka, brokula, špinat,	mikrosomi jetre štakora: ↓ peroksidaciju lipida, ↓akumulaciju kolesteril- estera,	štakori (hipertenzija): ↓ formaciju superoksida ↓endotelnu disfunkciju
Flavoni	apigenin luteolin	celer, cikla, peršin, agrumi,	makrofagi: ↓ akumulaciju kolesteril-estera	hrčci (inzulin rezistentni): ↓TG i kolesterol u plazmi ↑ osjetljivost na glukozu
Flavanoli	katehini	zeleni čaj, crno vino, kakao, šljive	makrofagi: ↓ akumulaciju kolesteril-estera, humani lipoproteini: ↓ peroksidaciju lipida	zdravi volonteri: ↑ dilatacija ovisna o toku ↑ vazodilatacija brahijalne arterije pacijenti (hipertenzija, netolerancija glukoze): ↓ krvni tlak
Antocijanidini	cijanidin delfinidin malvidin pelargonidin	bobičasto voće, šljive, crveni luk, crno vino		miševi (apoE deficijentni): ↓konc. lipidnih peroksida ↓akumulaciju kolesteril-estera u makrofagima ↓aterosklerozu
Izoflavoni	daidzein genistein	soja, klinčić		ljudi (meta-analiza kliničkih ispitivanja): ↓krvni tlak kod zdravih pojedinaca ↓ konc. LDL-kolesterola
Polifenolne komponente				
Resveratrol		crno vino, kikiriki	makrofagi: ↓peroksidaciju lipida ↑ efluks kolesterola	miševi (dijabetes): ↑ endotelnu funkciju ↑osjetljivost na inzulin miševi (apoE deficijentni): ↓ konc. kolesterola u plazmi ↓ aterosklerozu
Berberin		žutika	hepatociti: ↑ broj LDL-receptora	pacijenti (hiperkolesterolemija): ↓ konc. LDL-kolesterola

Raznim mehanizmima flavonoidi imaju potencijal za prevenciju kardiovaskularnih bolesti uključujući poboljšanje endotelne funkcije, sniženje krvnog tlaka, inhibiciju oksidacije lipoproteina, smanjenje koncentracije lipoproteina koji sadrže apoB100 u plazmi, smanjenje akumulacije kolesteril-estera u makrofagima te reguliranje dislipidemije (slika 19) (Mulvihill i Huff, 2010).

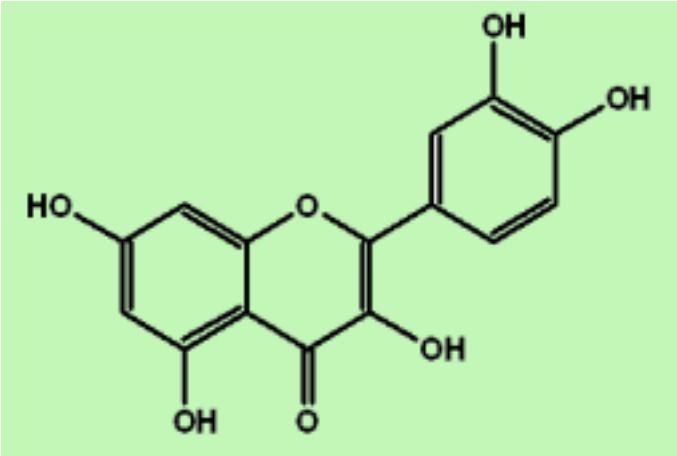


Slika 19. Flavonoidi - potencijalni mehanizmi smanjenja faktora rizika za razvoj ateroskleroze (Mulvihill i Huff, 2010)

Poboljšanje lipidnog profila biti povezano sa smanjenom sekrecijom VLDL-a te povećanim unosom hilomikrona ili LDL-a u hepatocite preko LDL-receptora. Inhibicijom HMG-CoA-reduktaze, ACAT i MTP, flavonoidi smanjuju sintezu kolesterola i masnih kiselina te sekreciju VLDL-a (Mulvihill i Huff, 2010).

4.6.2.1. Kvercetin

(3′,4′,3,5,7-pentahidroksiflavon)



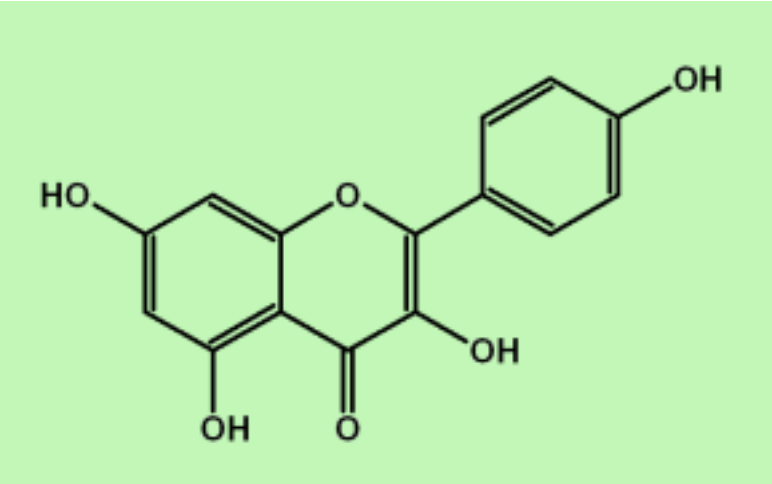
Slika 20. Kvercetin (www.phytochemicals.info)

Izvori kvercetina (slika 20) su jabuka, čaj, luk, orašasti plodovi, bobičasto voće, cvjetača i kupus. Flavonoidi poput kvercetina dobili su veliku pažnju s obzirom na širok spektar zdravstvenih, blagotvornih učinaka u terapiji KVB (www.phytochemicals.info).

Pokazalo se da kvercetin poboljšava endotel-ovisnu vazorelaksaciju aorte, smanjuje krvni tlak (pojačanjem aktivnosti eNOS i smanjenjem NADPH-oksidaza-ovisne produkcije superoksida), smanjuje hipertrofiju miokarda i proteinuriju kod štakora s hipertenzijom. Također, pozitivno utječe na dislipidemiju, smanjuje oksidativni stres stimulacijom aktivnosti lipolize te povećava ekspresiju adipocitnih gena, čime se poboljšava lipidna beta oksidacija. Terapija kvercetinom kod pretilih animalnih modela pokazala je smanjenje tjelesne mase, viscelarnog i subkutanog adipoznog tkiva te smanjenje akumulacije masnoća u jetri. Dodatno, kvercetin smanjuje adipogenezupotiskivanjem ekspresije regulatornih proteina. Također, kvercetin usporava razvoj aterosklerotskih lezija kod LDL-receptor deficijentnih miševa poboljšanjem rezistencije LDL-a na oksidativne modifikacije čime značajno smanjuje veličinu aterosklerotskih lezija. Regresija ateroskleroze potvrđena je i kod hiperkolesterolemičnih zečeva. Studijom na transgeničnim miševima potvrđen je antiinflamatorni i antiaterogeni učinak kvercetina te se pokazalo da kvercetin efikasno hvata citokinom induciranu ekspresiju humanog CRP. Pozitivni učinci kvercetina upućuju na njegov potencijal kao alternativne terapije u aterosklerozi, hipertenziji i pretilosti (Salvamani i sur., 2014).

4.6.2.2. Kemferol

(3,4′,5,7-tetrahidroksiflavon)



Slika 21. Kemferol (www.phytochemicals.info)

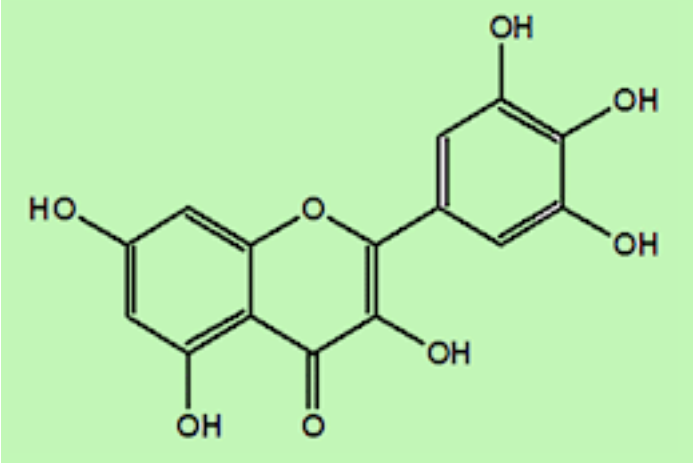
Kemferol (slika 21) je prisutan u raznim izvorima uključujući jabuke, luk, citruse, grožđe, crveno vino, gingko, poriluk i gospinu travu. (ww.phytochemicals.info).

Studije (Calderon-Montano i sur., 2011; Knekt i sur., 2002) pokazuju da konzumacija hrane bogate kemferolom smanjuje rizik razvoja kardiovaskularnih bolesti. Proučavanjem protektivnog učinka kemferola na oštećenje endotela, otkriveno je da poboljšava produkciju nitratne kiseline i smanjuje asimetričnu razinu dimetilarginina čime potiče endotel-ovisnu vazorelaksaciju (značajna je relaksacija endotela koronarnih arterija), prevenirajući ozljede endotela i oksidativno oštećenje u stanicama. Kemferol također prevenira aterosklerozu inhibicijom oksidacije LDL -a i inhibicijom formacije tromba. U *in vitro* studiji (Kowalski i sur., 2005) te u studiji na zečevima s induciranom aterosklerozom i na prehrani bogatoj kolesterolom (Kong i sur., 2013), kemferol je djelovao reduktivno na ekspresiju ICAM-1, VCAM-1 i MCP-1, proteina koji sudjeluju u adheziji stanica imunološkog sustava na endotel, na mjestu njegova oštećenja. Tako kemferol, smanjenjem vaskularne upale, sprječava razvoj ateroskleroze.

Stoga se može zaključiti da je kemferol važna bioaktivna supstanca koja posjeduje antiaterosklerotska i hipolipidemijska svojstva te terapeutski potencijal u liječenju hiperlipidemije, ateroskleroze i kardiovaskularnih bolesti (Salvamani i sur., 2014).

4.6.2.3. Miricetin

(3,3′,4′,5,5′,7-heksahidroksiflavon)



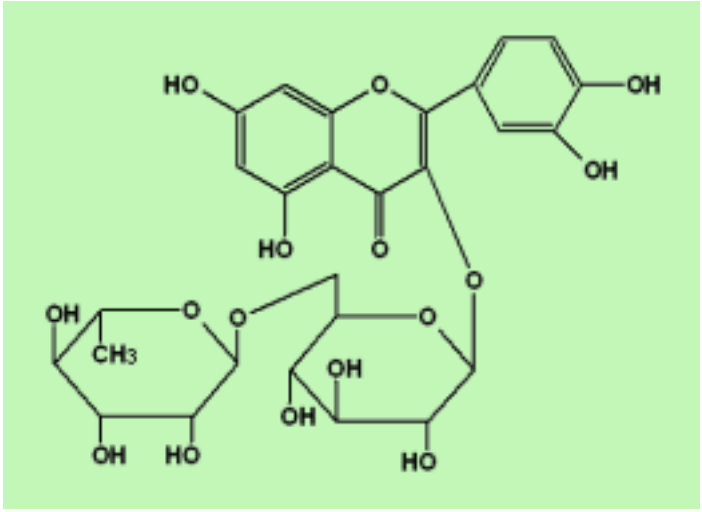
Slika 22. Miricetin (www.phytochemicals.info)

Miricetin (slika 22) je zastupljen u orasima, luku, bobičastom voću i crvenom grožđu. Mnoge studije pokazuju antioksidativno, antiviralno, antikarcinogeno, antitrombotsko, hipoglikemijsko, antihipertenzivno i citoprotektivo djelovanje miricetina (www.phytochemicals.info).

Dokazano je da miricetin potiskuje dobivanje tjelesne mase i akumulaciju tjelesnih masnoća povećavajući oksidaciju masnih kiselina kod štakora s hiperlipidemijom, odnosno posjeduje hipolipemično svojstvo. Također, dokazano je da ima protektivni učinak na oksidaciju LDL-a u krvi, potaknutu metalnim ionima i slobodnim radikalima. Osim toga, miricetin blokira unos oksidiranog LDL-a u makrofage te ima esencijalnu ulogu u prevenciji ateroskleroze (Salvamani i sur., 2014).

4.6.2.4. Rutin

(kvercetin-3-rutinozid)



Slika 23. Rutin (www.phytochemicals.info)

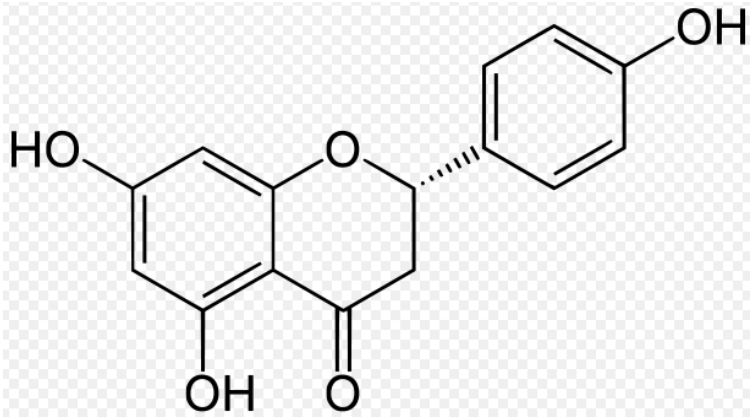
Najzastupljeniji u heljdi, crnom čaju, citrusima, rutvici i kori jabuke, rutin (slika 23) doprinosi zdravlju mnogim pozitivnim učincima: snažan je antioksidans, ima antiinflamatorna svojstva te utišava aktivnost aldoza-reduktaze, enzima čija pojačana ekspresija pomaže razvoj dijabetes melitusa i ateroskleroze (www.phytochemicals.info).

Salvamani i suradnici su napravili pregled studija koje su pokazale sljedeće rezultate. U studiji na pretilim štakorima pokazalo se da rutin smanjuje težinu adipoznog i jetrenog tkiva, smanjuje jetrene vrijednosti TG i kolesterola (kontrolira metabolizam lipida) te pojačava aktivnost antioksidativnih enzima (superoksid-dismutaze i glutation-peroksidaze). U studiji na zečevima pokazano je da rutin odgađa razvoj hiperkolesterolemije i inhibira formaciju aterosklerotskih nakupina. U *in vivo* studijama na zečevima, štakorima i hrčcima dokazano je antiaterosklerotsko djelovanje rutina, što mu daje važnu ulogu u prevenciji ateroskleroze.

Značajno svojstvo rutina je njegova netoksičnost s obzirom da nisu primjećene promjene ukupnih leukocita kao ni mononuklearnih i granulocitnih stanica u odnosu na kontrolnu grupu. Stoga, rutin ima velik potencijal da bude alternativni lijek terapiji ateroskleroze (Salvamani i sur., 2014).

4.6.2.5. Naringenin

(4′,5,7-trihydroxyflavanone)



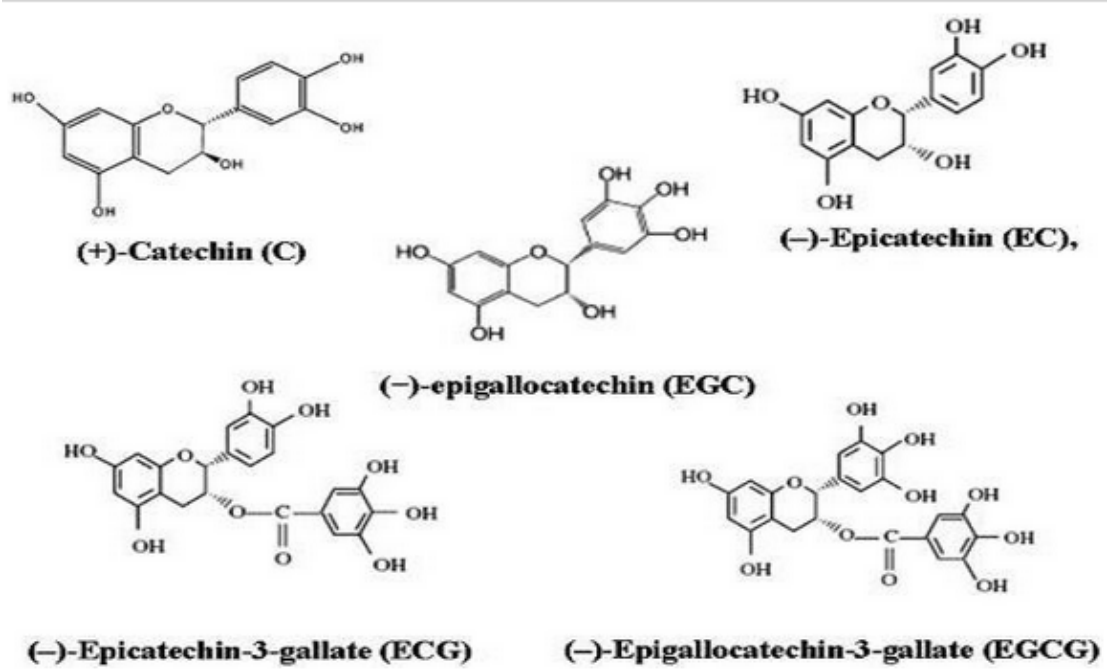
Slika 24. Naringenin (www.phytochemicals.info)

Naringenin (slika 24) je zastupljen u citrusima, posebice u grejpu i naranči. Široko je proučavan vezano za aterosklerozu. Uočeno je da ima slab antioksidativni učinak u usporedbi s drugim flavonoidima, ali je svejedno potencijalan inhibitor biosinteze kolesterola (www.phytochemicals.info). U studiji (Lee i sur., 1999) na štakorima, utvrđeno je da na metabolizam lipida utječe inhibicijom acil-CoA:kolesterol O-aciltransferaze i HMG-CoA-reduktaze.

Pregled studija, koji su napravili Salvamani i suradnici 2014. godine, daje uvid u pozitivne učinke naringenina. Neke studije pokazuju da naringenin regulira, odnosno smanjuje sekreciju apolipoproteina B iz hepatocitadirektno inhibirajući sintezu kolesteril estera. Studije na zečevima pokazuju smanjenje vrijednosti jetrenog kolesterola i LDL-a, nakon primjene naringenina. Kod miševa je pokazana 60%-tna redukcija kolesterola u aorti te smanjenje jetrenih vrijednosti kolesteril-estera, VLDL-a i LDL-a. Sveukupno, smanjena je akumulacija kolesterola i TG unutar arterijskog zida te ublažena ateroskleroza.Studija na ljudima s hiperkolesterolemijom pokazuje povećanje HDL-a nakon konzumacije soka naranče, koji je bogat naringeninom. Također, pokazano je da naringenin, izoliran iz rogoza (lat. Typha angustata), inhibira proliferaciju glatkih mišićnih stanica.

Osim toga, naringenin prevenira akumulaciju adipoznog tkiva, adipocitnu hipertrofiju i dislipidemiju. Njegove ostale biološke aktivnosti uključuju antiinflamatorno i antikarcinogeno djelovanje te pozitivne učinke na metabolizam spolnih hormona vezanjem za estrogenske receptore (Salvamani i sur., 2014).

4.6.2.6. Katehini



Slika 25. Katehini (www.wikipedia.org)

Katehini su fitokemijski spojevi prisutni u velikim količinama u raznim biljkama: kakaovo zrno, šljiva, bob, arganovo ulje, breskva, zeleni čaj, ječam... (tablica 5) (www.wikipedia.org). Prema strukturi, katehini spadaju u flavanole te uključuju katehin, epikatehin, epigalokatehin, epikatehin-galat i epigalokatehin-galat (slika 25) (www. ucdavis.edu).

Tablica 5. Izvori pojedinih katehina (www. ucdavis.edu)

	U većim količinama zastupljen u:
katehin	crvenom vinu, crnom grožđu, breskvama, jagodama, bobu
epikatehin	jabukama, kupinama, bobu, trešnjama, crnom grožđu, kruškama, malinama i čokoladi
epigalokatehin epikatehin-galat epigalokatehin-galat	zelenom i crnom čaju.

Poznato je da katehin ima preventivne učinke u KVB, zbog uključenosti u oksidativne procese u aterogenezi. Kao antioksidans, katehin može modulirati puteve stanične signalizacije koji dovode do smanjenja vaskularne reaktivnosti, agregacije trombocita i upale te efikasno inhibira lipidnu peroksidaciju i hvata slobodne radikale (Salvamani i sur., 2014).

Provedene su brojne studije u kojima se koristio čaj (kineski čajevac, lat. Camellia sinensis) koji sadrži katehine, a rezultati tih studija pokazuju važnost katehina kao kardioprotektiva. 50–80% od ukupnih katehina u čaju čini epigalokatehin-3-galat (EGCG), koji se smatra najučunkovitijom bioaktivnom komponentom u snižavanju kolesterola. Pregled nekih studija napravili su Salvamani i suradnici. *In vitro* modelom pokazana je supresija akumulacije lipida unutar stanice niskim koncentracijama EGCG, što sugerira da je reducirajući učinak EGCG na razinu kolesterola pod utjecajem intestinalne lipidne apsorpcije. Također, studija na štakorima pokazuje smanjenje apsorpcije kolesterola i TG pod utjecajem EGCG. Dodatno, kliničke studije na hipertenzivnim štakorima pokazuju da EGCG smanjuje krvni tlak, povećava razinu adiponektina, štiti od ozljede miokarda te poboljšava endotelnu funkciju.Studije na ljudima pokazuju da EGCG može poboljšati endotelnu funkciju i dilataciju brahijalne arterije kod pacijenata s koronarnom arterijskom bolešću. Dodatno, pokazano je da EGCG inhibira aktivaciju TNFα što rezultira smanjenjem produkcije MCP-1 u koronarnim vaskularnim endotelnim stanicama. Sve te studije pokazuju učinkovitost EGCG kao potencijalnog agensa u terapiji KVB (Salvamani i sur., 2014).

Često se crno vino, tamna čokolada i čaj (kineski čajevac) nazivaju "superhranom", jer sadrže mnoštvo polifenolnih spojeva, među kojima visok udio čine katehini. Pregledom studijadobiveni su podaci o djelovanjima tih namirnica na zdravlje (www. ucdavis.edu).

Konzumacija crnog vina je povezana sasmanjenjem endotelina-1 (molekule uključene u regulaciju krvnog tlaka), smanjenjem ozljede ishemičnog miokarda prilikom reperfuzije, povećanjem HDL-a, smanjenom agregacijom trombocita, povećanom fibrinolizom te pojačanom antioksidativnom aktivnošću (www. ucdavis.edu).

Konzumacija tamne čokolade ili kakaa povezana je s mnoštvom kardiovaskularnih koristi uključujući smanjenu oksidaciju LDL-a, smanjenu agregaciju trombocita, povećanu antioksidativnu aktivnost, povećanu koncentraciju HDL-a, povećanu razinu prostaciklina (signalnih molekula uključenih u prevenciju formacije krvnog ugruška), smanjenu razinu leukotriena (signalnih molekula uključenih u upalu i alergijske reakcije), povišenu koncentraciju NO, poboljšanu endotelnu funkciju, snižen sistolički i dijastolički krvni tlak (jednom studijom (Taubert i sur., 2007) je dokazano da unos 30kcal tamne čokolade svakodnevno, kroz 18 tjedana, rezultira smanjenim krvnim tlakom), poboljšanu osjetljivost na inzulin, poboljšanu dilataciju arterija te smanjen LDL-kolesterol (www. ucdavis.edu). Epidemiološkom studijom na starijim ljudima (Buijsse i sur., 2006), dokazano je da je

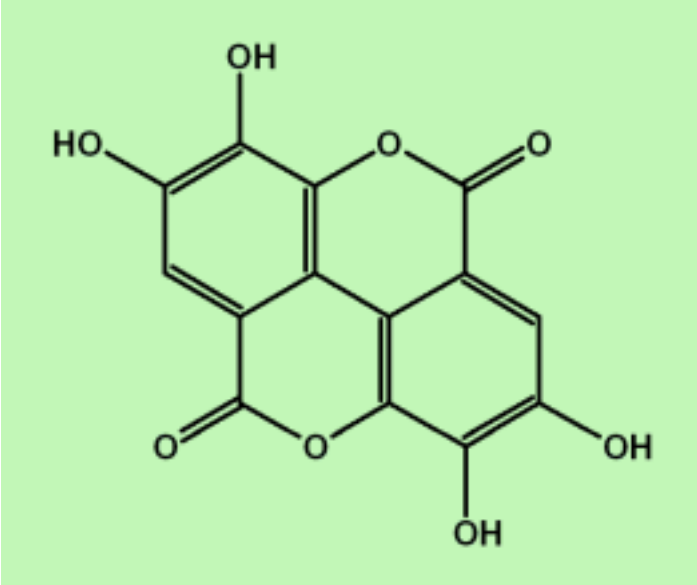
konzumacija hrane koja sadrži kakao povezana sa smanjenim rizikom smrtnosti zbog smanjenog rizika kardiovaskularnih bolesti.

Epidemiološke studije (Stangl i sur., 2006; Scalbert i sur., 2005) pokazuju da je konzumacija čaja obratno povezana s infarktom miokarda. Flavonoidi zelenog i crnog čaja imaju vaskuloprotektivna (zaštita krvnih žila), antiinflamatorna, antioksidativna, antitrombogena te hipolipemična svojstva, koja zajedno smanjuju rizik razvoja KVB (www. ucdavis.edu).

4.6.3. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline su sekundarni metaboliti, široko rasprostranjeni u carstvu bilja. Drugi su, nakon flavonoida, po pojavnosti u prirodi. Brojne su namirnice bogate fenolnim kiselinama: mango, bobičasto voće, jabuke, citrusi, šljive, trešnje, kivi, crno vino, čaj, kava te integralne žitarice: pšenica, riža, kukuruz, zob, ječam. U posljednje vrijeme sve je više saznanja o protektivnoj ulozi fenolnih kiselina iz voća i povrća na zdravlje, odnosno u prevenciji bolesti izazvanih oksidativnih stresom (Gülçina i sur., 2010).

4.6.3.1. Elagična kiselina



Slika 26. Elagična kiselina (www.phytochemicals.info)

Elagična kiselina (slika 26) je prisutna u crvenom voću, uključujući maline (gdje je ima najviše), jagode, kupine, brusnice i nar te u nekim orašastim plodovima, kao što su orasi i američki (pekan) orasi (eng. *pecans*). U biljkama je prisutna u formi elagitanina, kompleksa jedne ili više molekula elagične kiseline sa šećerom (www.phytochemicals.info).

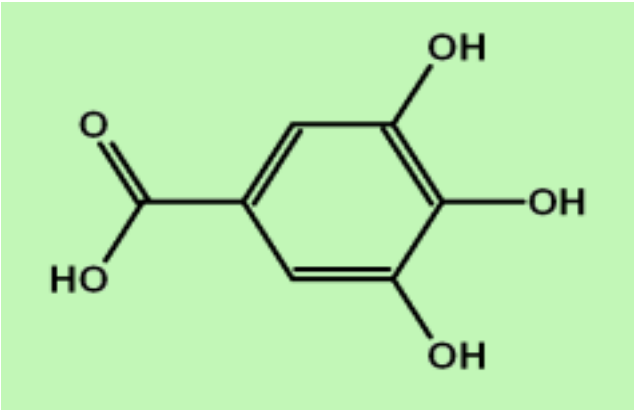
Zdravstvene koristi elagične kiseline:

Elagična kiselina ima antioksidativni, antiinflamatorni, antimutageni i antikarcinogeni učinak te antiviralna i antibakterijska svojstva (www.phytochemicals.info). Studija (Ahn i sur., 1996) pokazuje da elagična kiselina smanjuje količinu ukupnih jetrenih citokroma te da povećava aktivnost nekih jetrenih enzima II. faze metabolizma, čime pojačava detoksifikaciju tkiva.

U studiji (Yua i sur., 2005) na miševima s aterogenom prehranom (visoka zastupljenost masnoća i kolesterola u prehrani), suplementacija elagičnom kiselinom rezultirala je smanjenjem vrijednosti TG i ukupnog kolesterola u plazmi. Suprotno, u kontrolnoj skupini koja nije dobivala elagičnu kiselinu, te su vrijednosti porasle. Također, primjena elagične kiseline je dovela do značajnog smanjenja aterosklerotskih lezija u aorti. Mnogi polifenolni spojevi imaju hipolipemičnu aktivnost te je pokazano da povećavaju fekalnu ekskreciju masnoća i aktivnost LDL-receptora, a elagična kiselina nije iznimka. U istoj studiji, otkriveno je da elagična kiselina djeluje kao hvatač slobodnih radikala te inhibira oksidaciju LDL-a. Ti podaci upućuju na to da elagična kiselina ima jaka antioksidativna svojstva kojima usporava progresiju ateroskleroze. Oksidativno oštećenje DNA je, uz lipidnu peroksidaciju, značajka ateroskleroze te je uočeno da elagična kiselina značajno smanjuje produkciju 8-OHdG (8-hidroksi-2′-deoksigvanozina), markera oštećenja DNA. To je dokaz smanjenja oksidativnog oštećenja DNA, koje uz oksidirani LDL, može inducirati apoptozu, koja je time umanjena. Također, elagična kiselina inhibira apoptozu u aterosklerotskim lezijama i supresijom aktivnosti apoptotičkog signalnog puta. (70)

U drugoj studiji (Lee i sur., 2010) je pokazano da elagična kiselina štiti od endotelne disfunkcije inducirane oksidiranim LDL-om inhibirajući generaciju ROS posredovanu LOX-1 (lektinu sličan receptor oksidiranog LDL-a). LOX-1 je receptor oksidiranog LDL-a na stanicama endotela, makrofagima i glatkim mišićnim stanicama te je njegova prekomjerna ekspresija povezana s razvojem ateroskleroze. Inhibitornim djelovanjem na LOX-1, elagična kiselina može očuvati SOD, koja je inače inaktivirana zbog prisutnosti hidrogen peroksida. Također, uočeno je da elagična kiselina inhibira citokinima induciranu ekspresiju adhezijskih molekula te da pozitivno modulira ekspresiju eNOS inhibiranu oksidiranim LDL-om, čime se smanjuje oksidativni stres.

4.6.3.2. Galna kiselina



Slika 27. Galna kiselina (www.phytochemicals.info)

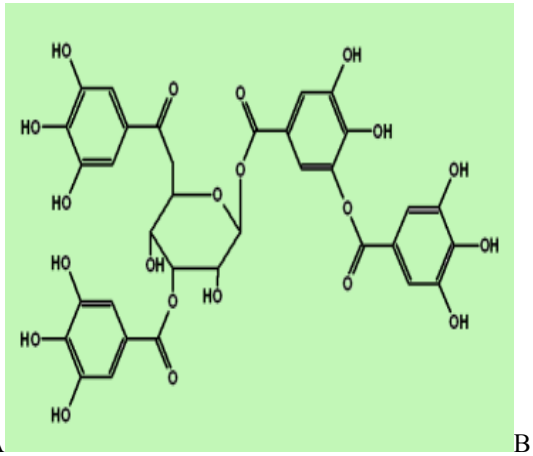
Galna kiselina (slika 27) je prisutna u mnogim biljkama. Najviše je ima u galama (lat. Galla chinensis), grožđu, čaju (kineski čajevac, lat. Camellia sinensis), kori hrasta i hmelju (Pal i sur., 2010).

Rezultati studije (Kim, 2007) pokazuju da galna kiselina ima dobra antioksidativna svojstva s obzirom da učinkovito smanjuje nastajanje reaktivnih vrsta, hvata slobodne radikale te povećava omjer GSH/GSSG u stanici, time povećavajući redukcijski potencijal glavnog staničnog antioksidativnog mehanizma. (72) Hsu i Yen su dokazali da u jetri štakora galna kiselina djeluje pozitivno na učinkovitost GSH/GSSG sustava povećanjem aktivnosti GSH-peroksidaze, GSH-reduktaze i GSH-S-transferaze. Galna kiselina također inhibira otpuštanje histamina i sprječava produkciju proupalnih citokina. Pokazana je i njena uloga u zaštiti humanih hepatocita od oksidativnog stresa induciranog s H_2O_2 te u sprječavanju apoptoze (Pal i sur., 2010).

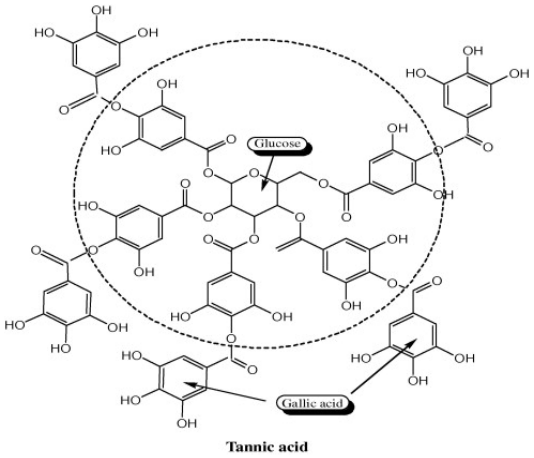
U studiji (Hsu i Yen, 2007) na pretilim štakorima pratio se učinak galne kiseline, koja je davana kao suplement. Rezultati su pokazali značajno smanjenje tjelesne mase, mase jetre i masnog tkiva eksperimentalne grupe u odnosu na vrijednosti u kontrolnoj skupini. Također, vrijednosti TG, fosfolipida, ukupnog kolesterola, LDL-kolesterola, inzulina i leptina u plazmi su bile znatno snižene. Nadalje, histološki podaci su pokazali da su lipidne kapljice (lipidna tjelešca, adiposomi) u adipocitima eksperimentalne skupine znatno manji. Jetrene vrijednosti TG i kolesterola su isto bile niže.

Svi ti rezultati pokazuju da unos galne kiseline ima pozitivne učinke na prehranom uzrokovanu dislipidemiju, hepatosteatozu i oksidativni stres kod štakora, s tim da je potrebno provesti dodatne studije da se dokaže takvo djelovanje i kod ljudi.

4.6.3.3. Tanična kiselina



A



B

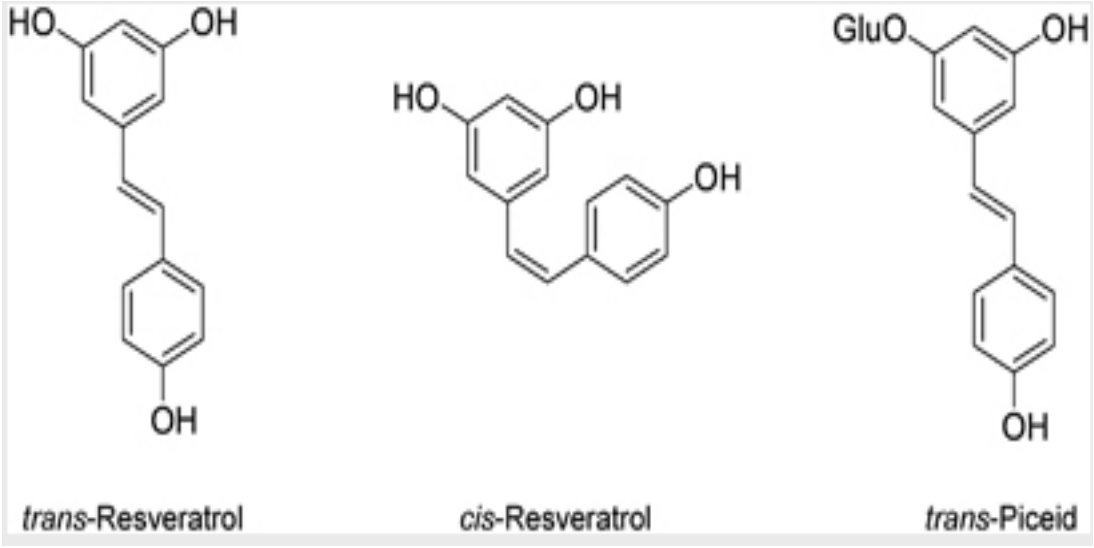
Slika 28. Tanična kiselina (A, B) (www.phytochemicals.info)

Tanična kiselina je polimer molekula galne kiseline i centralno smještene molekule glukoze. Slika 28 prikazuje strukturu tanične kiseline: 3 molekule galne kiseline (A), 8 molekula galne kiseline, što je češće (B). S obzirom na razlike u strukturi, pravilniji bi bio pojam "tanične kiseline". Tanična kiselina hidrolizira u glukozu i jedinice galne ili elagične kiseline. Zastupljena je u namirnicama poput čaja (crnog i zelenog), kopriva i bobičastog voća. Hrast i gale (lat. Galla chinensis) su vrlo bogati taničnom kiselinom. Kada se vino drži u hrastovim bačvama, tanična kiselina može prijeći u vino (www.phytochemicals.info). Još su neke namirnice u kojima je prisutna: crno vino, pivo, kava, grožđe, kruške, sirak, banane, crnooki grah, leća i čokolada. Slično mnogim polifenolima, tanična kiselina posjeduje antioksidativna, antimutagena i antikarcinogena svojstva (Gülçina i sur., 2010).

Olovo remeti ravnotežu prooksidansa i antioksidansa u tkivu što dovodi do biokemijske i fiziološke disfunkcije. Jedna studija (El-Sayed i sur., 2006) je proučavala učinak tanične kiseline na neke biokemijske parametre kod švicarskih albino miševa izloženih olovo-acetatu. Otkriveno je da tanična kiselina pojačava endogeni antioksidativni kapacitet stanica povećavajući aktivnost antioksidativnih enzima (SOD, CAT, GSH-R, GST), sadržaj GSH i serumske vrijednosti Cu i Zn. Ti rezultati podržavaju hipotezu da olovo izaziva oksidativni stres u hepatocitima te da tanična kiselina ima potencijal poboljšavanja antioksidativne obrane stanica te smanjenja oksidativnog stresa i oštećenja stanica.

4.6.4. RESVERATROL

Resveratrol (RS) je neflavonoidni polifenol (3,5,4'-trihidroksi-stilben) zastupljen u grožđu, vinu (posebno u crnom), bobičastom voću (borovnica, brusnica, dud), kikirikiju te kakau (tamnoj čokoladi). U grožđu je prisutan u kožici u slobodnom obliku kao *trans* i *cis* izomer, ali i u vezanom obliku kao 3-*O*-mono-D-glukozid resveratrola (slika 29) (Ramprasath i Jones, 2010).



Slika 29. Oblici resveratrola: trans i cis izomeri slobodnog oblika RS te trans-izomer O-glukozid oblika RS (trans-piceid) (Ramprasath i Jones, 2010)

U mnogim studijama (Sun i sur., 2008; Udenigwe i sur., 2008; Das i Maulik, 2006) je utvrđeno da resveratrol ima brojne koristi za zdravlje, uključujući antiaterogene, antiinflamatorne i antikarcinogene učinke. Također, on štiti od oštećenja nastalih ishemijom kao i od neurodegenerativnih bolesti. Proučavanjem djelovanja RS na KVB uočeni su pozitivni učinci koji se pripisuju antioksidativnom i antikoagulacijskom svojstvu resveratrola. Predloženi su razni antiaterogrami mehanizmi u ulozi smanjenja rizika od KVB, a to su modulacija metabolizma lipida, hvatanje slobodnih radikala i prevencija oksidacije lipida, djelovanje na medijatore upale, utjecaj na agregaciju trombocita i vazodilatacija (Ramprasath i Jones, 2010).

4.6.4.1. Antioksidativni učinak resveratrola

Inhibitorni učinci RS na produkciju ROS i peroksidaciju lipida

RS značajno smanjuje razinu markera oksidativnog stresa i produkciju slobodnih radikala te pojačava aktivnost enzima II. faze metabolizma i endogenih antioksidativnih sustava, te time pruža zaštitu protiv oksidativnog oštećenja. Ta svojstva, uz prevenciju oksidacije polinezasićenih masnih kiselina i kolesterola u LDL-čestici (direktno hvatanjem ROS i inhibicijom aktivacije lipooksigenaze) pokazuju učinkovitost RS kao inhibitora lipidne peroksidacije in vivo. Također, on inhibira unos oksidiranog LDL-a u zid krvnih žila (Ramprasath i Jones, 2010).

Mnoga istraživanja (Leiro i sur., 2004; Shigematsu i sur., 2003; Jang i Surh, 2001) su pokazala da RS, zbog velikog antioksidativnog potencijala, učinkovito inhibira oksidativni stres hvatanjem i inhibicijom generacije ROS. Iz tog razloga, ima i ulogu u zaštiti DNA od oštećenja. Zanimljivo je da se RS natječe s koenzimom Q za mjesto u respiratornom lancu te tako može smanjiti aktivnost kompleksa III. S obzirom da je taj kompleks mjesto nastajanja slobodnih radikala, smanjenjem njegove aktivnosti resveratrol smanjuje produkciju ROS, a nastale reaktivne spojeve može i hvatati (Ramprasath i Jones, 2010).

Modulacija antioksidativnih enzima resveratrolom

In vivo studija na štakorima je pokazala da se primjenom RS povećava aktivnost antioksidativnih enzima, kao što su superoksid-dismutaza, katalaza (enzimi koji razgrađuju vodikov peroksid na vodu i kisik), glutation-reduktaza, glutation-peroksidaza i glutation-*S*-transferaza u glatkim mišićnim stanicama štakora. Time se postiže značajno smanjenje oksidativnog stresa i sprječava nastanak i razvoj s njim povezanih bolesti. Pokazano je da RS djelovanjem na antioksidativne enzime uključene u GSH/GSSG sustav, održava ili čak povećava vrijednosti glutationa u okolnostima oksidativnog stresa, unutar perifernih krvnih mononuklearnih stanica i limfocita. Također, uočena je i indukcija enzima II. faze metabolizma, čime se povećava zaštita od oksidativnog oštećenja.

Dodatno, RS iskazuje antioksidativno djelovanje inhibicijom oksidacije LDL-a (u čemu je učinkovitiji od alfa-tokoferola) i obnovom alfa-tokoferola, čime je pojačan ukupan antioksidativni učinak (Ramprasath i Jones, 2010).

4.6.4.2. Ostali učinci resveratrola

Učinci resveratrola na lipidni profil

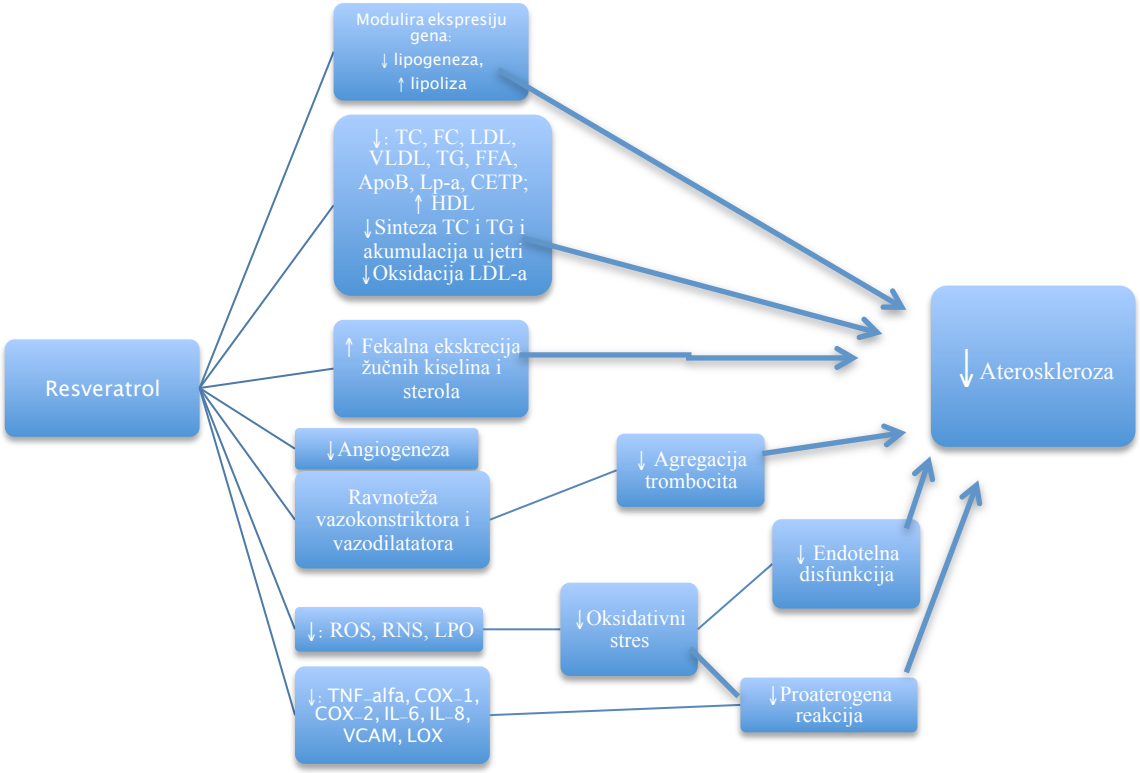
Rezultati studije (Penumathsa i sur., 2007) na štakorima s hiperkolesterolemijom (induciranoj prehranom bogatom kolesterolom) kojima je davan RS, pokazali su smanjenje koncentracije lipida (LDL-kolesterola i TG) u krvi i smanjenje razvoja komplikacija na miokardu, uključujući jačinu infarkta, apoptozu i angiogenezu. U sličnoj studiji na hrčcima (Cho i sur., 2008) popravljen je lipidni profil, odnosno smanjena je razina ukupnog kolesterola, TG, apolipoproteina-B, lipoproteina-a i CETP (kolesteril-ester transportnog proteina). Još mnoge *in vivo* (Rocha i sur., 2009; Miura i sur., 2003) studije pokazale su utjecaj RS na povišenje koncentracije HDL-a te smanjenje koncentracije TG, ukupnog kolesterola, LDL-a i VLDL-a u plazmi i u jetri. Stoga, u konačnici svojim djelovanjem RS smanjuje razvoj i veličinu aterosklerotskih lezija. RS također smanjuje endogenu sintezu kolesterola inhibicijom ekspresije jetrene HMG-CoA-reduktaze te smanjuje sintezu TG (Cho i sur., 2008). Miura i suradnici (2003) dokazali su smanjenje hiperlipidemije povećanjem fekalne ekskrecije žučnih kiselina i sterola. *In vitro* studijama (Pal i sur., 2003; Kollar i sur., 2000; Gaziano, 1994) potvrđeno je djelovanje RS na metabolizam lipida te je pokazano smanjenje produkcije apolipoproteina-B, sekrecije TG i kolesteril-estera te time i smanjena produkcija LDL-a. Doduše, neke studije (Wang i sur., 2002; Fremont, 2000; Turrens i sur., 1997) nisu uspjele pokazati promjenu u lipidnom profilu primjenom resveratrola *in vivo*. Sažetak raznih studija je prikazan tablicom 6.

Tablica 6. Prikaz nekih studija koje su analizirale učinke RS na razinu lipida i lipoproteina u različitim eksperimentalnim uvjetima (Ramprasath i Jones, 2010)

Referenca	Model	Doza RS i način primjene	Trajanje	Ishod
Rivera *et al.,* 2009	Pretili i mršavi Zucker štakori	10 mg/kg tjelesne mase, oralno	8 tjedana	Smanjenje konc.TG, TC, FFA u plazmi i ukupnih lipida u jetri
Rocha *et al., 2009*	Wistar štakori na hiperkolesterolemičnoj prehrani	1 mg/kg tjelesne mase,, oralno preko vode	45 dana	Smanjena konc. oksidiranog LDL-a, bez učinka na TC, HDL i LDL
Cho *et al., 2008*	Sirijski zlatni hrčci na hiperkolesterolemičnoj prehrani	0,025% prehrane	8 tjedana	Smanjene razine TC i TG, apoB, Lp-a, CETP. Smanjena endogena sinteza kolesterola sniženjem ekspresije jetrene HMG-CoA reduktaze
Wang *et al., 2005*	Novozelandski zečevi na hiperkolesterolemičnoj prehrani	3 mg/kg tjelesne mase, oralno	12 tjedana	Bez promjene vrijednosti lipida
Nihel *et al., 2001*	Winstar štakori s induciranim nefritisom	50 mg/kg tjelesne mase, oralno	14 dana	Neznatno smanjenje hiperlipidemije i razine TG i LDL-a te povišenje konc. HDL-a

(TC-ukupni kolesterol, TG-trigliceridi, FFA-slobodne masne kiseline, Lp-a - lipoprotein-a)

Osim što djeluje na smanjenje rizika razvoja KVB promjenom lipidnog profila, RS djeluje i preko drugih mehanizama (slika 30).



Slika 30. Mogući antiaterogeni mehanizmi djelovanja resveratrola (Ramprasath i Jones, 2010)

Antiinflamatorni učinci resveratrola

In vivo i *in vitro* studijama (Udenigwe i sur., 2008; Donnelly i sur., 2004; Carluccio i sur., 2003; Ikeda i sur., 2001) utvrđeni su antiinflamatorni učinci resveratrola koji potiskuje upalu djelovanjem na upalne markere koji su važni u progresiji ateroskleroze, tako da inhibira ekspresiju gena, sintezu i sekreciju IL-6 u makrofazima, sekreciju IL-8, GM-CSF (eng. *granulocyte macrophage colony-stimulating factors*), endotel-leukocit adhezivne molekule, sekreciju histamina i TNF- α (važni transkripcijski faktor koji regulira mnoge medijatore upale uključujući citokine, faktore rasta i adhezivne molekule). RS ima pozitivne učinke na metabolizam arahidonske kiseline, tako da inhibira konverziju fosfolipida u arahidonsku kiselinu te potiskuje upalu inhibirajući ciklooksigenaze (COX-1, COX-2), lipooksigenazu, epoksigenazu, te time i sintezu prostaglandina i eikozanoida. Promjenom produkcije NO u

vaskularnom endotelu RS smanjuje upalu i formaciju ateroma. Također, suprimira trombogenu funkciju polimorfnuklearnih stanica.

Inhibicija angiogeneze inducirane VEGF-om (eng. *vascular endothelial growth factor*) je rezultat narušavanja ROS-ovisnih puteva djelovanjem RS u endotelnim stanicama (Lin i sur., 2003). Suprotno, pokazano je da RS značajno povećava angiogenezu miokarda kod eksperimentalnih štakora s induciranim infarktom miokarda mehanizmom vezanim za VEGF (Fukuda i sur., 2006).

Uloga RS na produkciju vazodilatatora i vazokonstriktora

RS inhibira COX-1, koji je snažan indirektan vazokonstriktor i važan faktor u agregaciji trombocita, i povećava ekspresiju NOS, što rezultira većom proizvodnjom NO. Rezultat je vazodilatacija, smanjena agregacija trombocita i oksidativni stres, prema tome i smanjen rizik razvoja KVB (Ramprasath i Jones, 2010).

Supresija agregacije trombocita resveratrolom

Razni su mehanizmi kojima RS inhibira koagulaciju. Neki od njih su inhibicija adhezije trombocita na kolagen tip I, što je ključan korak u aktivaciji trombocita, te sprječavanje adhezije trombocita za kolagen i fibrinogen stimulirane trombinom (Ramprasath i Jones, 2010).

4.6.4.3. Sigurnosni aspekti terapije resveratrolom

Nekoliko istraživanja na ljudima i različitim životinjskim modelima pokazalo je izostanak značajnih toksičnih učinaka nakon suplementacije resveratrolom kroz širok raspon doza (Boocock i sur., 2007; Crowell i sur., 2004). U studiji na štakorima (Juan i sur., 2002) gdje su korištene doze tisuću puta više od one koja se nalazi u čaši crnog vina, nisu uočeni toksični učinci resveratrola. Rezultati tih studija čvrsto ukazuju na to da bi se resveratrol mogao koristiti u terapiji KVB, bez straha od moguće toksičnosti.

5. ZAKLJUČCI

- Antioksidansi na različite načine suzbijaju oksidativni stres: inhibicijom stvaranja slobodnih radikala, smanjenjem oksidativne sposobnosti prooksidansa, keliranjem s metalnim ionima, inhibicijom oksidativnih enzima i pojačavanjem djelovanja drugih antioksidativnih sustava
- Osim antioksidativnih učinaka, antioksidansi djeluju antiaterosklerotski i regulacijom lipidnog profila i endotelne funkcije, smanjenjem upale i stabilizacijom ateroma
- Karotenoidi (vitamin A, β-karoten, lutein i likopen, zeaksantin) postižu antiaterosklerotsko djelovanje tako da smanjuju adheziju monocita na endotel, razinu oksidativnog stresa i podložnost LDL-a oksidaciji, smanjuju upalu, koagulaciju (u procesu tromboze) i proliferaciju glatkih mišićnih stanica (njihov antiproliferativan učinak mnogo značajniji od antioksidativnog). Također utječu na poboljšanje lipidnog profila te stabilizaciju i smanjenje ateroma. Od svih karotenoida likopen ima najjači učinak.
- Vitamin E smanjuje oksidaciju LDL-a i mogućnost unosa oksidiranog LDL-a u makrofage, smanjuje i oksidativno oštećenje endotelnih stanica, adheziju imunosnih i endotelnih stanica, upalne procese, proliferaciju glatkih mišićnih stanica i agregaciju trombocita, a normalizira bioaktivnost NO i potiče dilataciju arterija te tako usporava progresiju ateroskleroze.
- Koenzim Q_{10} ima jak antioksidativni učinak te se pokazao kao prva linija obrane lipida, proteina i DNA od slobodnih radikala i oksidativnog stresa. Značajan antiaterogeni učinak postiže i hipolipemičnim djelovanjem (poboljšava lipidni profil, aterogeni indeks i aterogeni koeficijent) te poboljšanjem endotelne funkcije.
- Alfa-lipoična kiselina ima pozitivan utjecaj na profil lipida u krvi, smanjenje formacije ateroma i modulaciju hipertenzije. ALA/DHLA redoks par je jedan od najjačih bioloških antioksidativnih sustava (jači i od GSH/GSSG sustava) te vrlo učinkovito smanjuje oksidativni stres i oksidaciju LDL-a, obnavlja endogene i egzogene antioksidanse, inhibira adheziju monocita i proliferaciju vaskularnih glatkih mišićnih stanica, poboljšava endotelnu funkciju i potiče obnovu oštećenih tkiva.
- Vitamin C (askorbinska kiselina) je potentan hidrosolubilan antioksidans koji snažno inhibira oksidaciju LDL-a i regenerira druge antioksidanse. Također, inhibira interakciju leukocita i endotela, sprječava hiperkolesterolemiju te poboljšava endotelnu funkciju i vazodilataciju.

- Flavonoidi (kvercetin, miricetin, kemferol, rutin, naringenin, katehini) raznim načinima usporavaju razvoj ateroskleroze i drugih kardiovaskularnih bolesti. Poboljšavaju endotelnu funkciju i snizuju krvni tlak, imaju kardioprotektivno i vaskuloprotektivno djelovanje, inhibiraju oksidaciju lipoproteina i unos oksidiranog LDL-a u makrofage, snižavaju vaskularnu reaktivnost i adheziju monocita na endotel, snižavaju oksidativni stres te pojačavaju aktivnost antioksidativnih enzima, inhibiraju formaciju tromba, proliferaciju glatkih mišićnih stanica i stvaranje aterosklerotskih nakupina. Imaju hipolipemično djelovanje te smanjuju masu visceralnog i subkutanog masnog tkiva. Pozitivni učinci flavonoida upućuju na njihov terapeutski potencijal u liječenju ateroskleroze, hipertenzije, hiperlipidemije i pretilosti.
- Fenolne kiseline (elagična, tanična i galna kiselina) značajno pojačavaju endogeni antioksidativni kapacitet stanica te smanjuju oksidativni stres i oksidativno oštećenje makromolekula. Imaju antiapoptotičko, protuupalno i hipolipemičko djelovanje te smanjuju tjelesnu masu, masu jetre i masnog tkiva. Umanjuju razvoj endotelne disfunkcije i adhezivnu interakciju leukocita i endotela. Potiču detoksifikaciju tkiva te doprinose smanjenju aterosklerotskih lezija.
- Resveratrol ima jako antioksidativno djelovanje kojim inhibira oksidaciju LDL-a, pojačava endogene antioksidativne sustave, hvata i sprječava nastanak reaktivnih spojeva. Antiaterogeno djelovanje resveratrola se manifestira i kroz njegov pozitivan utjecaj na agregaciju trombocita, regulaciju vazorelaksacije, modulaciju metabolizma lipida, djelovanje na medijatore upale te posljedično na razvoj i veličinu aterosklerotskih lezija.
- S obzirom da ne djeluje svaki antioksidans na sve faktore uključene u patogenezu ateroskleroze (vrlo kompleksan proces), antioksidansi pokazuju sinergističko djelovanje kad se uzimaju zajedno. Dodatno, neki antioksidansi imaju i negativne učinke pri većim koncentracijama. Stoga, da bi se izbjegle toksične doze antioksidansa te postigla njihova raznovrsnost, njihov unos bi se trebao temeljiti na raznolikoj prehrani.
- U brojnim *in vitro* i *in vivo* istraživanjima na pokusnim životinjama, većina antioksidansa je pokazala odlične rezultate što ih čini potencijalnom terapijom za aterosklerozu u budućnosti. Međutim, potrebno je izvršiti daljnja ispitivanja na ljudima da bi se dobili konačni i uvjerljivi dokazi njihova djelovanja u zdravlju i bolesti.

6. LITERATURA

Ahmadvand H, Ghasemi-Dehnoo M. Antiatherogenic, hepatoprotective, and hypolipidemic effects of coenzyme Q10 in alloxan-induced type 1 diabetic rats. *ARYA Atheroscler*, 2014, 10, 192–198.

Ahn D, Putt D, Kresty L, Stoner GD, Fromm D, Hollenberg PF. The effects of dietary ellagic acid on rat hepatic and esophageal mucosal cytochromes P450 and phase II enzymes. *Carcinogenesis,* 1996, 17, 821-828.

Akhilender Naidu K. Vitamin C in human health and disease is still a mystery ? An overview. *J Nutr*, 2003, 2, 7.

Allen RM, Vickers KC. Coenzyme Q10 Increases Cholesterol Efflux and Inhibits Atherosclerosis Through MicroRNAs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol,* 2014, 34, 1795-1797.

Amengual J, Lobo GP, Golczak M, Li HN, Klimova T, Hoppel CL, Wyss A, Palczewski K ,von Lintig J. A mitochondrial enzyme degrades carotenoids and protects against oxidative stress. *FASEB J*, 2011, 25 , 948-959.

Amom Z, Zakaria Z, Mohamed J, Azlan A, Bahari H, Hidayat Baharuldin MT, Moklas MA, Osman K, Asmawi Z, Nik Hassan MK. Lipid Lowering Effect of Antioxidant Alpha-Lipoic Acid in Experimental Atherosclerosis. *J Clin BiochemNutr*, 2008, 43, 88–94.

Antioxidant effect of polyphenols and natural phenols, 2006., http://en.wikipedia.org/wiki/Antioxidant_effect_of_polyphenols_and_natural_phenols, pristupljeno 27.3.2015.

Atherosclerosis, 2012., http://www.healthline.com/health/atherosclerosis#Treatment7, pristupljeno 18.12.2014.

Atherosclerosis, 2014., http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/Cholesterol/WhyCholesterolMatters/Atherosclerosis_UCM_305564_Article.jsp., pristupljeno 22.11.2014.

Bisby R, Crisostomo A, Moreno R, Navaratnam S, Wilkinson J. Generation of superoxide and singlet oxygen from a-tocopheroquinone and analogues. *FRA,* 2007, 41, 730-737.

Bisby RH, Brooke R, Navaratnam S. Effect of antioxidant oxidation potential in the oxygen radical absorption capacity (ORAC) assay. *Food Chem*, 2008, 108, 1003-1007.

Boocock DJ, Faust GES, Patel KR, Schinas AM, Brown VA, Ducharme MP i sur. Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. *Cancer Epidemiol Biomarkers*, 2007, 16, 1246–1252.

Bowry VW, Stanley KK, Stocker R. High density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in human blood plasma from fasting donors. *Proc Natl Acad Sci USA,* 1992, 89, 10316-10320.

Brigelius-Flohé R, Kelly FJ, Salonen JT, Neuzil J, Zingg JM, Azzi A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76, 703-716.

Buijsse B, Feskens EJ, Kok FJ, Kromhout D. Cocoa intake, blood pressure, and cardiovascular mortality: the Zutphen Elderly Study. *Arch Intern Med*, 2006, 166, 411-417.

Calderon-Montano JM, Burgos-Morón E, López-Lázaro M. A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini Rev Med Chem*, 2011, 11, 298–344.

Carluccio MA, Siculella L, Ancora MA, Massaro M, Scoditti E, Storelli C i sur. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23, 622–629.

Carotenoid, 2003., http://en.wikipedia.org/wiki/Carotenoid, pristupljeno 20.12.2014.

Carpenter KL, Hardwick SJ, Albarani V, Mitchinson MJ. Carotenoids inhibit DNA synthesis in human aortic smooth muscle cells. *FEBS Lett*, 1999, 447, 17–20.

Carpenter KL, van der Veen C, Hird R, Dennis IF, Ding T, Mitchinson MJ. The carotenoids β-carotene, canthaxanthin and zeaxanthin inhibit macrophage-mediated LDL oxidation. *FEBS Lett*, 1997, 401, 262–266.

Carr A, Frei B.Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB* ., 1999, 13, 1007-1024.

Carr AC, Tijerina T, Frei B. Vitamin C protects against and reverses specific hypochlorous acid- and chloramine-dependent modifications of low-density lipoprotein. *Biochem J*, 2000, 346, 491–499.

Carr AC, Zhu BZ, Frei B. Potential Antiatherogenic Mechanisms of Ascorbate (Vitamin C) and α-Tocopherol (Vitamin E). *Circulation*, 2000, 87, 349-354.

Catechin, 2004., http://en.wikipedia.org/wiki/Catechin, pristupljeno 24.3.2015.

Cho IJ, Ahn JY, Kim S, Choi MS, Ha TY. Resveratrol attenuates the expression of HMG-CoA reductase mRNA in hamsters. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367, 190–194.

Crowell JA, Korytko PJ, Morrissey RL, Booth TD, Levine BS. Resveratrol-associated renal toxicity. *Toxicol Sci*, 2004, 82, 614–619.

Čakarić D. Primjena cikličke voltametrije u određivanju antioksidativne aktivnosti bioloških uzoraka, Zagreb, FKIT, 2009.

Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv*, 2006, 6, 36–47.

Donnelly LE, Newton R, Kennedy GE, Fenwick PS, Leung RH, Ito K i sur. Anti-inflammatory effects of resveratrol in lung epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 287, L774–L783.

Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Am J Physiol*, 2002, 1, 47-95.

Dugas TR, Morel DW, Harrison EH. Impact of LDL carotenoid and α-tocopherol content on LDL oxidation by endothelial cells in culture. *J Lipid Res*, 1998, 39, 999-1007.

Dwyer JH, Nayab M, Dwyer K, Hassan K, Sun P, Shircore A, Hama-Levy S, Hough G, Wang X, Drake T, Bairey Merz CN, Fogelman AM. Oxygenated Carotenoid Lutein and Progression of Early Atherosclerosis. *Circulation*, 2001, 103, 2922-2927.

El-Sayed IH, Lofty M, El-Khawaga OAY ,Nasif WA, El-Shahat M. Prominent free radicals scavenging activity of tannic acid in lead-induced oxidative stress in experimental mice. *Toxicol Ind Health,* 2006, 22, 157-163.

Ellagic Acid, http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/ellagic-acid.php, pristupljeno 27.3. 2015.

Ford I, Cotter MA, Cameron NE, Greaves M. The effects of treatment with α-lipoic acid or evening primrose oil on vascular haemostatic and lipid risk factors, blood flow, and peripheral nerve conduction in the streptozotocin-diabetic rat. *Metabolism*, 2001, 50, 868-875.

Freedman JE, Keaney Jr JF. Vitamin E Inhibition of Platelet Aggregation Is Independent of Antioxidant Activity. *J Nutr*, 2001, 131, 374S-377S.

Fremont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci*, 2000, 66, 663–673.

Fukuda S, Kaga S, Zhan L, Bagchi D, Das DK, Bertelli A i sur. Resveratrol ameliorates myocardial damage by inducing vascular endothelial growth factor-angiogenesis and tyrosine kinase receptor Flk-1. *Cell Biochem Biophys*, 2006, 44, 43–49.

Gallic acid, http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/gallic-acid.php, pristupljeno 27.3.2015.

Gamulin S, Marušić M, Kovač Z. Patofiziologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2005, str. 187-193; 408-410.

Gaziano JM. Antioxidant vitamins and coronary artery disease risk. *Am J Med*, 1994, 97, 18S–28S.

Ghodbane S, Lahbib A, Sakly M, Abdelmelek H. Bioeffects of Static Magnetic Fields: Oxidative Stress, Genotoxic Effects, and Cancer Studies. *BioMed Res Int*, 2013, 602987, 12.

Graham D, Huynh NN, Hamilton CA, Beattie E, Smith RAJ, Cochemé HM, Murphy MP, Dominiczak AF. Mitochondria-Targeted Antioxidant $MitoQ_{10}$ Improves Endothelial Function and Attenuates Cardiac Hypertrophy. *Hypertension*, 2009, 54, 322-328.

Grune T, Lietz G, Palou A, Ross AC, Stahl W, Tang G, Thurnham D, Yin S, Biesalski HK. *β*-Carotene Is an Important Vitamin A Source for Humans. *J Nutr,* 2010, 140, 2268S-2285S.

Gülçina I, Huyutb Z, Elmastaşc M, Aboul-Eneind HY. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian J Chem*, 2010, 3, 43–53.

Heber D, Lu QY. Overview of Mechanisms of Action of Lycopene. *Exp Biol Med*, 2002, 227, 920-923.

Heitzer T, Just H, Munzel T. Antioxidant Vitamin C Improves Endothelial Dysfunction in Chronic Smokers. *Circulation*, 1996, 94, 6-9.

Heller R, Munscher-Paulig F, Grabner R, Till U. L-Ascorbic Acid Potentiates Nitric Oxide Synthesis in Endothelial Cells. *J Biol Chem*, 1999, 274, 8254-8260.

Hooper PL, Hooper JJ. Vitamin E, Atherosclerosis, Heat Shock Proteins: The Trojan Horse Hypothesis. *J Preventive Cardiol*, 2004, 7, 144.

Hornig B, Arakawa N, Kohler C, Drexler H. Vitamin C Improves Endothelial Function of Conduit Arteries in Patients With Chronic Heart Failure. *Circulation*, 1998, 97, 363-368.

Hsu CL, Yen GC. Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidaemia, hepatosteatosis and oxidative stress in rats. *Br J Nutr*, 2007, 98, 727-735.

Huang D, Ou B, Prior RL. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J Agric Food Chem.*, 2005, 53, 1841−1856.

Ikeda U, Ito T, Shimada K. Interleukin-6 and acute coronary syndrome. *Clin Cardiol*, 2001, 24, 701–704.

Ivanov VN. Effect of lipoic acid on tissue respiration in rabbits with experimental atherosclerosis. *Cor. Vasa.* 1974, 16, 141-150.

Jang JH, Surh YJ. Protective effects of resveratrol on hydrogen peroxide-induced apoptosis in rat pheochromocytoma (PC12) cells. *Mutat Res*, 2001, 496, 181–190.

Juan ME, Vinardell MP, Planas JM. The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *J Nutr*, 2002, 132, 257–260.

Kaempferol, http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/kaempferol.php, pristupljeno 24.3.2015.

Kaneko T, Kaji K, Mastuo M: Protective effect of lipophilic derivatives of ascorbic acid on lipid peroxide-induced endothelial injury. *Arch Biochem Biophys*, 1993, 304, 176-180.

Kim YJ. Antimelanogenic and Antioxidant Properties of Gallic Acid. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30, 1052-1055.

Kima JH, Naa HJ, Kima CK, Kima JY, Haa KS, Leeb H, Chungc HT, Kwond HJ, Kwone YG, Kima YM. The non-provitamin A carotenoid, lutein, inhibits NF-κB-dependent gene expression through redox-based regulation of the phosphatidylinositol 3-kinase/PTEN/Akt and NF-κB-inducing kinase pathways: Role of H_2O_2 in NF-κB activation. *Free Radic Biol Med,* 2008, 45, 885–896.

Klandorf H, Van Dyke K. Oxidative and Nitrosative Stresses: Their Role in Health and Disease in Man and Birds, Oxidative Stress - Molecular Mechanisms and Biological Effects. West Virginia, InTech, 2012, 47-60.

Kleemann R, Verschuren L, Morrison M i sur. Anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human in vitro and in vivo models. *Atherosclerosis*, 2011, 218, 44–52.

Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R i sur. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76, 560–568.

Kollar P, Kotolová H, Necas J, Karpísek M, Bartosíková L, Karesová P. Experimental study of resveratrol and flavonoids in red wine with regard to their possible hypolipemic effects. *Vnitr Lek*, 2000, 46, 856–860.

Kong L, Luo C, Li X, Zhou Y, He H. The anti-inflammatory effect of kaempferol on early atherosclerosis in high cholesterol fed rabbits. *Lipids Health Dis*, 2013, vol. 12, 112–115.

Koo SI, Noh SK. Green tea as inhibitor of the intestinal absorption of lipids: potential mechanism for its lipid-lowering effect. *J Nutr Biochem,* 2007, 18, 179–183.

Kowalski J, Samojedny A, Paul M, Pietsz G, Wilczok T. Effect of kaempferol on the production and gene expression of monocyte chemoattractant protein-1 in J774.2 macrophages. *Pharmacol Rep*, 2005, 57, 107–112.

Lagendijk J, Ubbink JB, Hayward Vermaak WJ. Measurement of the ratio between the reduced and oxidized forms of coenzyme Qlo in human plasma as a possible marker of oxidative stress. *J Lipid Res,* 1996, 37, 67-75.

Lee SH, Park YB, Bae KH i sur. Cholesterol-lowering activity of naringenin via inhibition of 8-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase and acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase in rats. *Ann Nutr Metab*, 1999, 43, 173–180.

Lee WJ, Ou HC, Hsu WC, Chou MM, Tseng JJ, Hsu SL, Tsai KL, Sheu WHH. Ellagic acid inhibits oxidized LDL-mediated LOX-1 expression, ROS generation, and inflammation in human endothelial cells. *J Vasc Surg,* 2010, 52, 1290–1300.

Lee WR, Kim A, Kim KS, Park YY,Park JH, Kim KH, Kim SJ, Park KK. Alpha-lipoic acid attenuates atherosclerotic lesions and inhibits proliferation of vascular smooth muscle cells through targeting of the Ras/MEK/ERK signaling pathway. *Mol Biol Rep*, 2012, 39, 6857-6866.

Leea DK, Granthama RN, Manniond JD, Trachtea AL. Carotenoids enhance phosphorylation of Akt and suppress tissue factor activity in human endothelial cells. *J Nutr Biochem,* 2006, 17, 780–786.

Lehr HA, Frei B, Afkors KE. Vitamin C prevents cigarette smoke-induced leukocyte aggregation and adhesion to endothelium in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91, 7688–7692.

Lehr HA, Frei B, Olofsson AM, Carew TE, Arfors KE. Protection from oxidized LDL induced leukocyte adhesion to microvascular and macrovascular endothelium in vivo by vitamin C but not by vitamin E. *Circulation*, 1995, 91, 1552-1532.

Lehr HA, Weyrich AS, Saetzler RK, Jurek A, Arfors KE, Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM. Vitamin C blocks inflammatory platelet-activating factor mimetics created by cigarette smoking. *J Clin Invest*, 1997, 99, 2358-2364.

Leiro J, Alvarez E, Arranz JA, Laguna R, Uriarte E, Orallo F. Effects of cis-resveratrol on inflammatory murine macrophages: antioxidant activity and down-regulation of inflammatory genes. *J Leukoc Biol*, 2004, 75, 1156–1165.

Levine GN, Frei B, Koulouris SN, Gerhard MD, Keaney Jr JF, Vita JA. Ascorbic Acid Reverses Endothelial Vasomotor Dysfunction in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation*, 1996, 93,1107-1113.

Levy Y, Kaplan M, Ben-Amotz A, Aviram M. Effect of dietary supplementation of beta-carotene on human monocyte-macrophage-mediated oxidation of low density lipoprotein. *Isr J Med Sci*, 1996, 32, 473-478.

Lin MT, Yen ML, Lin CY, Kuo ML. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis by resveratrol through interruption of Src-dependent vascular endothelial cadherin tyrosine phosphorylation. *Mol Pharmacol*, 2003, 64, 1029–1036.

Littarru GP, Tiano L. Bioenergetic and Antioxidant Properties of Coenzyme Q_{10}: Recent Developments. *Mol Biotechnol*, 2007, 37, 31-37.

Manach C, Mazur A, Scalbert A. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Curr Opin Lipidol,* 2005, 16, 77-84.

Martin A, Frei B. Both intracellular and extracellular vitamin C inhibit atherogenic modification of LDL by human vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol,* 1997, 17, 1583–1590.

Martin KR, Wu D, Meydani M. The effect of carotenoids on the expression of cell surface adhesion molecules and binding of monocytes to human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis*, 2000, 150, 265–274.

Medić-Šarić M, Buhač I, Bradamante V. Vitamini i minerali - istine i predrasude. Zagreb, F. Hoffman-La Roche, 2000, str. 298-299; 292-293; 324-325.

Meydani M. Vitamin E and Atherosclerosis: Beyond Prevention of LDL Oxidation. *J Nutr,* 2001, 131, 366S-368S.

Mirić D i sur. Preventivna kardiologija. Split, Hrvatsko kardiološko društvo, 1997, str. 19-33; 167-181; 489-494.

Miura D, Miura Y, Yagasaki K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. *Life Sci*, 2003, 73, 1393–1400.

Molyneux SL, Young JM, Florkowski CM, Lever M, George PM. Coenzyme Q10: Is There a Clinical Role and a Case for Measurement?. *Clin Biochem Rev,* 2008, 29, 71–82.

Mottaghi A, Ebrahimof S, Angoorani P, Saboor-Yaraghi AA. Vitamin A supplementation reduces IL-17 and RORc gene expression in atherosclerotic patients. *Scand J Immunol*, 2014, 80, 151-157.

Mottaghi A, Salehi E, Keshvarz A, Sezevar H, Saboor-Yaraghi AA. The Influence of Vitamin A Supplementation on Foxp3 and TGF-β Gene Expression in Atherosclerotic Patients. *J Nutrigenet Nutrigenomics,* 2012, 5, 314–326.

Mulvihill EE, Huff MW. Antiatherogenic properties of flavonoids: Implications for cardiovascular health. *Can J Cardiol*, 2010, 26, 17A-21A.

Myricetin, http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/myricetin.php, pristupljeno 24.3.2015.

Naringin, http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/naringin.php, pristupljeno 24.3.2015.

Pal C, Bindu S, Dey S, Alam A, Goyal M, Shameel Iqbal M, Maity P, Adhikari SS, Bandyopadhyay U. Gallic acid prevents nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastropathy in rat by blocking oxidative stress and apoptosis. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49, 258–267.

Pal S, Ho N, Santos C, Dubois P, Mamo J, Croft K i sur. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. *J Nutr*, 2003, 133, 700–706.

Panasenko OM, Sharov VS, Briviba K, Sies H. Interaction of Peroxynitrite with Carotenoids in Human Low Density Lipoproteins. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 371, 302–305.

Paolini M, Antelli A, Pozzetti L, Spetlova D, Perocco P, Valgimigli L, Pedulli GF, Cantelli-Forti G. Induction of cytochrome P450 enzymes and over-generation of oxygen radicals in beta-carotene supplemented rats. *Carcinogenesis*, 2001, 22, 1483-1495.

Penumathsa SV, Thirunavukkarasu M, Koneru S, Juhasz B, Zhan L, Pant R i sur. Statin and resveratrol in combination induces cardioprotection against myocardial infarction in hypercholesterolemic rat. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 42, 508–516.

Petersen Shay K, Moreau RF, Smith EJ Hagen TM. s α-lipoic acid a scavenger of reactive oxygen species *in vivo*? Evidence for its initiation of stress signaling pathways that promote endogenous antioxidant capacity. *IUBMB Life*, 2008, 60, 362-367.

Polyphenols Flavonoids – Stilbenoids – Phenolic Acids, 2008., http://www.biolinks.co.jp/pdf/catalog_polyphenol_np_final[1].pdf, pristupljeno 7.5.2015.

Quercetin, http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/quercetin.php, pristupljeno 24.3.2015

Raguž M. Ateroskleroza. U: Klinička patofiziologija. Kujundžić M i sur. Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2003, str. 148-158.

Ramprasath VR, Jones PJH. Anti-atherogenic effects of resveratrol. *Eur J Clin Nutr*, 2010, 64, 660–668.

Reaven PD, Ferguson E, Navab M, Powell FL. Susceptibility of human LDL to oxidative modification. Effects of variations in beta-carotene concentration and oxygen tension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1994, 14, 1162-1169.

Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssönen K, Salonen JT. Lycopene, Atherosclerosis, and Coronary Heart Disease. *Exp Biol Med,* 2002, 227, 900-907.

Rocha KK, Souza GA, Ebaid GX, Seiva FR, Cataneo AC, Novelli EL. Resveratrol toxicity: effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47, 1362–1367.

Rutin, http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/rutin.php, pristupljeno 24.3.2015.

Salonen JT, Nyyssonen K, Salonen R, i sur. Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) study: a randomized trial of the effect of vitamins E and C on 3-year progression of carotid atherosclerosis. *J Intern Med*, 2000, 248, 377–86.

Salvamani S, Gunasekaran B, Shaharuddin NA, Ahmad SA, Shukor MY Antiartherosclerotic Effects of Plant Flavonoids. *BioMed Res Int,* 2014, 2014, 11

Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2005, 45, 287-306.

Schmelzer C, Lorenz G, Rimbach G, Döring F. *In Vitro* Effects of the Reduced Form of Coenzyme Q_{10} on Secretion Levels of TNF-α and Chemokines in Response to LPS in the Human Monocytic Cell Line THP-1. *J Clin Biochem Nutr*, 2009, 44, 62–66.

Schmelzer C, Niklowitz P, Okun JG, Haas D, Menke T, Döring F. Ubiquinol-induced gene expression signatures are translated into altered parameters of erythropoiesis and reduced low density lipoprotein cholesterol levels in humans. *IUBMB Life*, 2011, 63, 42–48.

Segundo M, Magalheas L, Reis S. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. Anal Chim Acta., 2007, 613, 1-19.

Shahidi F. Antioxidants in food and food antioxidants. *Mol Nutr Food Res*, 2000, 44, 158-163.

Shigematsu S, Ishida S, Hara M, Takahashi N, Yoshimatsu H, Sakata T. Resveratrol, a red wine constituent polyphenol, prevents superoxide-dependent inflammatory responses induced by ischemia/reperfusion, platelet-activating factor, or oxidants. *Free Radic Biol Med*, 2003, 34, 810–817.

Škerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hraš AR, Simonič M, Knez Ž. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chem*, 2005, 89, 191–198.

Slobodni radikali i antioksidansi: pregled, 2011., http://www.pharma.hr, pristupljeno 9. 12. 2014.

Sola S, Mir MQS, Cheema FA, Khan-Merchant N, Menon RG, Parthasarathy S, Khan BV. Irbesartan and Lipoic Acid Improve Endothelial Function and Reduce Markers of Inflammation in the Metabolic Syndrome. *Circulation*, 2005, 111, 343-348.

Solzbach U, Hornig B, Jeserich M, Just H. Vitamin C Improves Endothelial Dysfunction of Epicardial Coronary Arteries in Hypertensive Patients. *Circulation*, 1997, 96, 1513-1519.

Some Facts About Catechins, 2008., http://nutrition.ucdavis.edu/content/infosheets/fact-pro-catechin.pdf, pristupljeno 27.3.2015.

Stangl V, Lorenz M, Stangl K. The role of tea and tea flavonoids in cardiovascular health. *Mol Nutr Food Res*, 2006, 50, 218-228.

Stocker R, Bowry VW, Frei B. Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more efficiently against lipid peroxidation than does a-tocopherol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88, 1646-1650.

Sun J, Giraud DW, Moxley RA, Driskell JA. Beta-carotene and alpha-tocopherol inhibit the development of atherosclerotic lesions in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Vitam Nutr Res*, 1997, 67, 155-163.

Sun W, Wang W, Kim J, Keng P, Yang S, Zhang H i sur. Anti-cancer effect of resveratrol is associated with induction of apoptosis via a mitochondrial pathway alignment. *Adv Exp Med Biol,* 2008, 614, 179–186.

Supplemental Synergy combats free radicals, 2014, http://vibrantlikeme.com/supplemental-synergy-combats-free-radials/, prisutpljeno 8.5.2015.

Tabassum N, Ahmad F. Role of natural herbs in the treatment of hypertension. *Pharmacogn Rev*, 2011, 5, 30-40.

Tannic Acid, http://www.phytochemicals.info/phytochemicals/tannic-acid.php, pristupljeno 27.3.2015.

Taubert D, Roesen R, Lehmann C, Jung N, Schomig E. Effects of low habitual cocoa intake on blood pressure and bioactive nitric oxide: a randomized controlled trial. *Jama*, 2007, 298, 49-60.

Tiano L, Belardinelli R, Prinicipi F, Littarru GP. Effect of coenzyme q10 administration on endothelial function and extracellular superoxide dismutase: a double-blind placebo-controlled study. *Eur Heart J,* 2007, 28, 2249-2255.

Ting HH, Timimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest,* 1996, 97, 22–28.

Ting HH, Timimi fK, Haley EA, Roddy MA, Ganz P, Creager MA. Vitamin C Improves Endothelium-Dependent Vasodilation in Forearm Resistance Vessels of Humans With Hypercholesterolemia. *Circulation,* 1997, 95, 2617-2622.

Tomasetti M, Alleva R, Borghi B, Collins AR. In vivo supplementation with coenzyme Q_{10} enhances the recovery of human lymphocytes from oxidative DNA damage. *FASEB J,* 2001, 15, 1425-1427.

Trabera MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43, 4–15.

Turrens JF, Lariccia J, Nair MG. Resveratrol has no effect on lipoprotein profile and does not prevent peroxidation of serum lipids in normal rats. *Free Radic Res*, 1997, 27, 557–562.

Udenigwe CC, Ramprasath VR, Aluko RE, Jones PJ. Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutr Rev,* 2008, 66, 445–454.

Vita JA. Tea consumption and cardiovascular disease: effects on endothelial function. *J Nutr*, 2003, 133, 3293s–3297s.

Vitamin A, 2002, http://hr.wikipedia.org/wiki/Vitamin_A, pristupljeno 16.12.2014.
Vrhovac B, Francetić I, Jakšić B, Labar B, Vucelić B. Interna medicina. Zagreb, Ljevak, 2003, str. 584-589; 408-409.

Wang D, Yan X, Xia M, Yang Y, Li D, Li X, Song F, Ling W. Coenzyme Q10 promotes macrophage cholesterol efflux by regulation of the activator protein-1/miR-378/ATP-binding cassette transporter G1-signaling pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34, 1860-1870.

Wang Z, Zou J, Huang Y, Cao K, Xu Y, Wu JM. Effect of resveratrol on platelet aggregation *in vivo* and *in vitro*. *Chin Med J (Engl)*, 2002, 115, 378–380.

Wollin SD, Jones PJ. α-Lipoic Acid and Cardiovascular Disease. *J Nutr*, 2003, 133, 3327-3330.

Wootton-Beard PC, Ryan L. Improving public health: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Res Int,* 2011, 44, 3135-3136.

Young AJ, Lowe GM. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys*, 2001, 385, 20-7.

Yua YM, Changb WC, Wuc CH, Chiange SY. Reduction of oxidative stress and apoptosis in hyperlipidemic rabbits by ellagic acid. *J Nutr Biochem*, 2005, 16, 675–681.

Zern TL, Fernandez ML. Cardioprotective Effects of Dietary Polyphenols. *J Nutr*, 2005, 135, 2291-2294.

Zhang WJ, Frei B. α-Lipoic acid inhibits TNF-α-induced NF-κB activation and adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells. *FASEB J*, 2001, 15, 2423-2432.

α-Carotene, β-Carotene, β-Cryptoxanthin, Lycopene, Lutein, and Zeaxanthin, 2004., http://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/carotenoids, pristupljeno 20.12.2014.

7. SAŽETAK

Ateroskleroza je kronična, progresivna, upalna bolest arterija, koja se asimptomatski razvija desetljećima. Faktori koji mogu utjecati na njezin razvoj su hiperlipidemija, hipertenzija, pušenje, dijabetes i dr. Najvažnije posljedice ateroskleroze su koronarna bolest srca (posebno infarkt miokarda) i moždani udar. Važnu ulogu u patofiziologiji ateroskleroze ima oksidativni stres. Oksidativni stres je stanje narušene redoks ravnoteže, kada količina nastalih reaktivnih spojeva nadvlada antioksidativnu zaštitu stanice/organizma. Prekomjerna količina reaktivnih spojeva u stanici rezultira oštećenjem staničnih komponenti, uključujući proteine, lipide i nukleinske kiseline.

Funkcija antioksidansa je "neutralizacija" slobodnih radikala i zaštita stanice od njihovog toksičnog djelovanja čime se sprječava pojava i razvoj bolesti vezanih za oksidativni stres. Antioksidansi štite organizam od prooksidativnog djelovanja inhibicijom stvaranja i hvatanjem reaktivnih spojeva, keliranjem metalnih iona i pojačavanjem djelovanja drugih antioksidativnih sustava.

U ovom radu je dan pregled najzastupljenijih antioksidansa u prehrani (karotenoidi, vitamini E i C, alfa-lipoična kiselina, koenzim Q_{10} i polifenoli) te su opisani njihovi učinci na razvoj ateroskleroze. Osim antioksidativnih učinaka, oni djeluju antiaterosklerotski i na druge načine, uključujući poboljšanje lipidnog profila i endotelne funkcije, smanjenje upale i stabilizaciju ateroma.

Imajući u vidu da je ateroskleroza kompleksno stanje i da ne djeluje svaki antioksidans na sve čimbenike koji su uključeni u njezinu patofiziologiju, bolji rezultati u prevenciji i terapiji ateroskleroze se postižu zajedničkom primjenom više različitih antioksidansa, s obzirom na njihov sinergistički učinak.

7. SUMMARY

Atherosclerosis is chronic, progressive, inflammatory artery disease, which develops without symptoms for decades. Several factors may influence the development of atherosclerosis: hyperlipidemia, hypertension, cigarette smoking, diabetes mellitus, etc. Its most important outcomes are coronary artery disease (specially myocardial infarction) and stroke. Very important role in pathophysiology of atherosclerosis belongs to oxidative stress. Oxidative stress is a condition of redox inbalance, when the quantity of reactive species overcome the antioxidant protection of cell/organism. Oxidative stress in cell results in damage to cell components, including proteins, lipids and nucleic acids.

The role of antioxidant is to "neutralize" free radicals and protect the cell from their toxic effects, thus preventing the initiation and development of diseases related to oxidative stress. Antioxidants protect from prooxidative effect by inhibiting the generation and scavanging reactive species, chelating metal ions and amplifying other antioxidative systems.

This paper reviews the most abundant antioxidants in the diet (carotenoids, vitamins E and C, alpha-lipoic acid, coenzyme Q_{10} and polyphenols) and describes their effects on the development of atherosclerosis. In addition to the antioxidant effect, they exhibit antiatherosclerotic results also in other ways, including the improvement of the lipid profile and endothelial function, reduction of inflammation and stabilization of atheroma.

Given that atherosclerosis is a complex condition and not one antioxidant affects all the factors involved in its pathophysiology, better results in the prevention and therapy of atherosclerosis are achieved by taking more different antioxidants together, because the combination exerts a synergistic effect.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za kemiju prehrane
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

ANTIOKSIDANSI U ATEROSKLEROZI

Petar Vehtersbah-Stojan

SAŽETAK

Ateroskleroza je kronična, progresivna, upalna bolest arterija, koja se asimptomatski razvija desetljećima. Faktori koji mogu utjecati na njezin razvoj su hiperlipidemija, hipertenzija, pušenje, dijabetes i dr. Najvažnije posljedice ateroskleroze su koronarna bolest srca (posebno infarkt miokarda) i moždani udar. Važnu ulogu u patofiziologiji ateroskleroze ima oksidativni stres. Oksidativni stres je stanje narušene redoks ravnoteže, kada količina nastalih reaktivnih spojeva nadvlada antioksidativnu zaštitu stanice/organizma. Prekomjerna količina reaktivnih spojeva u stanici rezultira oštećenjem staničnih komponenti, uključujući proteine, lipide i nukleinske kiseline.

Funkcija antioksidansa je "neutralizacija" slobodnih radikala i zaštita stanice od njihovog toksičnog djelovanja čime se sprječava pojava i razvoj bolesti vezanih za oksidativni stres. Antioksidansi štite organizam od prooksidativnog djelovanja inhibicijom stvaranja i hvatanjem reaktivnih spojeva, keliranjem metalnih iona i pojačavanjem djelovanja drugih antioksidativnih sustava.

U ovom radu je dan pregled najzastupljenijih antioksidansa u prehrani (karotenoidi, vitamini E i C, alfa-lipoična kiselina, koenzim Q_{10} i polifenoli) te su opisani njihovi učinci na razvoj ateroskleroze. Osim antioksidativnih učinaka, oni djeluju antiaterosklerotski i na druge načine, uključujući poboljšanje lipidnog profila i endotelne funkcije, smanjenje upale i stabilizaciju ateroma.

Imajući u vidu da je ateroskleroza kompleksno stanje i da ne djeluje svaki antioksidans na sve čimbenike koji su uključeni u njezinu patofiziologiju, bolji rezultati u prevenciji i terapiji ateroskleroze se postižu zajedničkom primjenom više različitih antioksidansa, s obzirom na njihov sinergistički učinak.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 87 stranica, 30 grafičkih prikaza, 6 tablica i 145 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: ateroskleroza, oksidativni stres, antioksidansi

Mentor: **Dr. sc. Lovorka Vujić**, *viši asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Lovorka Vujić**, *viši asistent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*
Dr. sc. Irena Vedrina Dragojević, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Marija Grdić Rajković, *viši asistent-znanstveni novak Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: lipanj 2015.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Food Chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

ANTIOXIDANTS IN ATHEROSCLEROSIS

Petar Vehtersbah-Stojan

SUMMARY

Atherosclerosis is chronic, progressive, inflammatory artery disease, which develops without symptoms for decades. Several factors may influence the development of atherosclerosis: hyperlipidemia, hypertension, cigarette smoking, diabetes mellitus, etc. Its most important outcomes are coronary artery disease (specially myocardial infarction) and stroke. Very important role in pathophysiology of atherosclerosis belongs to oxidative stress. Oxidative stress is a condition of redox inbalance, when the quantity of reactive species overcome the antioxidant protection of cell/organism. Oxidative stress in cell results in damage to cell components, including proteins, lipids and nucleic acids.

The role of antioxidant is to "neutralize" free radicals and protect the cell from their toxic effects, thus preventing the initiation and development of diseases related to oxidative stress. Antioxidants protect from prooxidative effect by inhibiting the generation and scavanging reactive species, chelating metal ions and amplifying other antioxidative systems.

This paper reviews the most abundant antioxidants in the diet (carotenoids, vitamins E and C, alpha-lipoic acid, coenzyme Q_{10} and polyphenols) and describes their effects on the development of atherosclerosis. In addition to the antioxidant effect, they exhibit antiatherosclerotic results also in other ways, including the improvement of the lipid profile and endothelial function, reduction of inflammation and stabilization of atheroma.

Given that atherosclerosis is a complex condition and not one antioxidant affects all the factors involved in its pathophysiology, better results in the prevention and therapy of atherosclerosis are achieved by taking more different antioxidants together, because the combination exerts a synergistic effect.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 87 pages, 30 figures, 6 tables and 145 references. Original is in Croatian language.

Keywords: atherosclerosis, oxidative stress, antioxidants

Mentor: **Lovorka Vujić**, **Ph.D.** *Senior Assistant,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Lovorka Vujić**, **Ph.D.** *Senior Assistant,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Irena Vedrina Dragojević, **Ph.D.** *Full Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Marija Grdić Rajković, **Ph.D.** *Senior Assistant-Research Associate,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2015.