

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Zakład Edukacji i Leczenia Otyłości oraz Zaburzeń Metabolicznych



Marta Stępień

**„WPLYW EKSTRAKTU Z ZIELONEJ HERBATY NA WARTOŚCI
CIŚNIENIA TĘTNICZEGO I WYBRANE PARAMETRY
METABOLICZNE W MODELU EKSPERYMENTALNYM
NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO”**

Rozprawa doktorska

Promotor: dr hab. n. med. Paweł Bogdański

Poznań 2015

Słowa kluczowe: nadciśnienie tętnicze, zielona herbata, insulinooporność, dyslipidemia, proces zapalny, stres oksydacyjny

Key words: arterial hypertension, green tea, insulin resistance, dyslipidemia, inflammatory process, oxidative stress

*Składam serdecznie podziękowania Promotorowi,
Panu dr hab. n. med. Pawłowi Bogdańskiemu
za opiekę naukową, okazaną pomoc i cenne wskazówki
w trakcie pisania pracy.*

SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów :	3
I. WSTĘP.....	7
1. EPIDEMIOLOGIA, DEFINICJA I KLASYFIKACJA NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO 7	
2. ETIOLOGIA NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO.....	9
2.1. Czynniki genetyczne	10
2.2. Czynniki środowiskowe	11
3. NADCIŚNIENIE TĘTNICZE A ZABURZENIA METABOLICZNE	12
3.1. Zaburzenia gospodarki lipidowej	13
3.2. Zaburzenia gospodarki węglowodanowej.....	13
3.3. Zespół metaboliczny	14
3.4. Proces zapalny i stres oksydacyjny	16
4. UDZIAŁ SODU W REGULACJI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO.....	17
4.1. Modele nadciśnienia tętniczego sodowrażliwego u szczurów	20
5. LECZENIE NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO	21
5.1. Modyfikacja stylu życia	21
5.2. Rola diety w leczeniu nadciśnienia tętniczego.....	23
5.2.1. Antyoksydanty	24
6. LECZENIECZE WŁAŚCIWOŚCI ZIELONEJ HERBATY	25
6.1. Pochodzenie zielonej herbaty.....	25
6.2. Skład zielonej herbaty	26
6.3. Mechanizm działania i leczniczy potencjał katechin	28
6.4. Możliwości wykorzystania zielonej herbaty w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych	30
6.4.1. Miażdżycy naczyń wieńcowych.....	30
6.4.2. Cukrzyca typu 2	30
6.4.3. Choroby nowotworowe.....	31
6.4.4. Nadciśnienie tętnicze	32
7. PODSUMOWANIE I HIPOTEZA BADAWCZA	32
II. CELE PRACY	34
III. MATERIAŁ I METODY.....	35
1. ZWIERZĘTA DOŚWIADCZALNE	35
2. PRZEBIEG DOŚWIADCZENIA	35
3. SKŁAD DIETY I EKSTRAKTU Z ZIELONEJ HERBATY	37

3.1.	Dieta szczurów	37
3.2	Ekstrakt z zielonej herbaty	38
4.	POMIAR CIŚNIENIA TĘTNICZEGO	38
5.	ANALIZA PARAMETRÓW BIOCHEMICZNYCH	39
5.1.	Parametry gospodarki lipidowej.....	40
5.2.	Parametry gospodarki węglowodanowej	41
5.3.	Parametry procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego	41
6.	ANALIZA STATYSTYCZNA.....	43
7.	KRYTYKA METODY	43
IV.	WYNIKI.....	45
1.	WARTOŚCI CIŚNIENIA SKURCZOWEGO I ROZKURCZOWEGO.....	45
1.	STĘŻENIA PARAMETRÓW GOSPODARKI LIPIDOWEJ	48
2.	PARAMETRY GOSPODARKI WĘGLOWODANOWEJ	50
3.	STĘŻENIA PARAMETRÓW PROCESU ZAPALNEGO I STRESU OKSYDACYJNEGO.....	53
5.	ANALIZA KORELACYJNA POMIĘDZY BADANYMI PARAMETRAMI.....	56
5.1.	Związek poziomu całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza z wartościami ciśnienia tętniczego, parametrami gospodarki lipidowej, węglowodanowej i białkiem C- reaktywnym.....	56
5.2.	Związek stężenia parametrów stanu zapalnego z parametrami gospodarki węglowodanowej i wartościami ciśnienia tętniczego	61
5.3.	Związek pomiędzy stopniem nasilenia insulinooporności a parametrami gospodarki lipidowej.....	64
V.	DYSKUSJA	67
1.	WPŁYW EKSTRAKTU ZIELONEJ HERBATY NA WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO.....	67
2.	WPŁYW EKSTRAKTU ZIELONEJ HERBATY NA GOSPODARKE LIPIDOWĄ. .	69
3.	WPŁYW EKSTRAKTU ZIELONEJ HERBATY NA GOSPODARKE WĘGLOWODANOWĄ.	71
4.	WPŁYW EKSTRAKTU ZIELONEJ HERBATY NA PARAMETRY STANU ZAPALNEGO.....	74
5.	WPŁYW EKSTRAKTU Z ZIELONEJ HERBATY NA STRES OKSYDACYJNY. ...	76
VI.	WNIOSKI	79
VII.	STRESZCZENIE	80
VIII.	SUMMARY	84
IX.	PIŚMIENNICTWO.....	87
X.	SPIS RYCIN	105
XI.	SPIS TABEL.....	107

Wykaz skrótów :

ABI - *ankle-brachial index*, wskaźnik kostkowo-ramienny

ABTS - 2,2'-azobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian

ACE - *angiotensin-converting enzyme*, enzym konwertazy angiotensyny

ADMA - *asymmetric dimethylarginine* , asymetryczna dimetyloarginina

AP-1 - *activator protein-1*, białko aktywujące 1

BMI - *body mass index*, wskaźnik masy ciała

COX-2 - *cyclooxygenase -2*, cyklooksyzgenaza-2

ChOD - *cholesterol oxydase*, oksydaza cholesterolowa

CRP - *c-reactive protein*, białko C-reaktywne

DBP - *diastolic blood pressure*, rozkurczowe ciśnienie tętnicze

DHA - *docosahexaenoic acid*, kwas dokozaheksaenowy

DOCA - *desoxycorticosterone acetate*, octan deoksykortykosteronu

DPPH - 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl

DNA - *deoxyribonucleic acid*, kwas deoksyrybonukleinowy

ECh - esteraza cholesterolowa

EC - *epicatechin*, epikatechina

ECG - *epigallocatechin gallate*, galusan epikatechiny

EGC - *epigallocatechin*, epigallokatechina

EGCG - *epigallocatechin-3-gallate*, gallusan epigallokatechiny

eGFR - *estimated glomerular filtration fate* , szacunkowy współczynnik filtracji
kłębuszkowej

ELISA - *enzyme-linked immunosorbent assay*, test immunoenzymatyczny

eNOS - *endothelial nitric oxide synthase*, syntaza tlenku azotu

EPA - *eicosapentaenoic acid*, kwas eikozapentaenowy

ET-1 - *endothelium-1*, endotelina -1

FAS - *fatty acid synthase*, syntaza kwasów tłuszczowych

FoxO1 - czynnik transkrypcyjny O1 z rodziny *forkhead*

GLU - *glucose*, glukoza

GLUT4 - *glucose transporter type 4*, transporter glukozy 4

HbA1c - hemoglobina glikowana A1c

HDL - *high density lipoprotein*, lipoproteina o wysokiej gęstości

HOMA-IR - *homeostasis model assessment-estimated insulin resistance*, wskaźnik insulinooporności

hsCRP - *high sensitive c-reactive protein*, metoda wysokoczuła oznaczania białka C reaktywnego

HUVEC - *human umbilical vein endothelial cells*, ludzkie komórki linii pierwotnej śródbłonna naczyń

H₂O₂ - nadtlenek wodoru

ICAM-1 - *intercellular adhesion molecule-1*, cząsteczka adhezji międzykomórkowej-1

IDF - *International Diabetes Federation*, Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna

IL-1 - interleukina I

IL-1 α - interleukina 1 alpha

IL-6 - interleukina 6

IL-8 - interleukina 8

IL-17 - interleukina 17

I κ B - *inhibitor of κ B*, inhibitor czynnika κ B

INS - *insulin*, insulina

iNOS - *inducible NOS*, indukowana syntaza tlenu azotu

JNK - *c-Jun N-terminal kinases*, kinaza c-Jun N-terminalna

kg - kilogram

KG - kinaza glicerolowa

L - lipaza

LDL - *low density lipoprotein*, lipoproteina o niskiej gęstości

MAPK - *mitogen activated protein kinases*, kinazy aktywowane mitogenami

mmHg - milimetr słupa rtęci

NaCl - chlorek sodu

NADPH - *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase* - forma aktywna fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego

NATPOL - Ogólnopolskie Badanie Rozpowszechnienia Czynn timer Ryzyka Chorób Układu Krążenia

NF-κB - *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, jądrowy czynnik transkrypcyjny

NO - *nitric oxide*, tlenek azotu

O₂ - anionorodnik ponadtlenkowy

OG - oksydaza 3-foglicerolowa

OLETF - *otsuka long-evans tokushima fatty*, model szczura z cechami zespołu metabolicznego

ONOO - *peroxynitrite*, nadtlenoazotyn

pH- ujemny logarytm stężenia jonów wodorowych (H⁺)

PI3K - *phosphoinositide 3-kinase*, kinaza 3-fosfatydyloinozytola

POD - peroksydaza

PPAR - *peroxisome proliferator-activated receptors*, receptory jądrowe

PTNT - Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego

RAA - układ renina-angiotensyna-aldosteron

ROS - *reactive oxygen species*, reaktywne formy tlenu

SBP - *systolic blood pressure*, skurczowe ciśnienie tętnicze

SCORE - *systematic coronary risk evaluation*, ocena ryzyka sercowo-naczyniowego

SD - odchylenie standardowe

SGLT-1 - *sodium-glucose linked transporter-1*, kotransporter sodowo-glukozowy-1

SHR - *spontaneously hypertensive rats*, szczury spontanicznie rozwijające nadciśnienie

SHR-SP - *spontaneously hypertensive stroke prone rats*, szczury spontanicznie rozwijające nadciśnienie ze skłonnością do udaru

SH2 - grupa szczurów, którym do diety wysokosodowej dodawano ekstrakt z zielonej herbaty (*Olimp Lab, Dębica, Polska*) w ilości 2 g/kg diety.

SH4 - grupa szczurów, którym do diety wysokosodowej dodawano ekstrakt z zielonej herbaty (*Olimp Lab, Dębica, Polska*) w ilości 4 g/kg diety.

SK - grupa szczurów stanowiąca kontrolę, obejmowała zwierzęta karmione dietą wysokosodową w postaci paszy standardowej 1320 (*Altromin, Lage, Germany*) z dodatkiem 35 g NaCl/kg diety.

SNP - *single nucleotide polymorphism*, polimorfizm pojedynczych nukleotydów

SOD - *superoxide dismutase*, dysmutaza ponadtlenkowa

TAS - *total antioxidant status*, całkowity stan antyoksydacyjny osocza

TCH - *total cholesterol*, cholesterol całkowity

TG - *triglycerides*, triglicerydy

TEAC - *trolox-equivalent antioxidant capacity*, całkowita aktywność antyoksydacyjna

TNF- α - *tumor necrosis factor α* , czynnika martwicy nowotworów – α

VCAM-1 - *vascular cell-adhesion molecule-1*, cząsteczka adhezji komórkowej naczyń

WHO - *World Health Organization*, Światowa Organizacja Zdrowia

VLDL - *very low density lipoprotein*, lipoproteiny bardzo niskiej gęstości

I. WSTĘP

1. EPIDEMIOLOGIA, DEFINICJA I KLASYFIKACJA NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Nadciśnienie tętnicze jako jeden z głównych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych stanowi ważny problem medyczny, społeczny i ekonomiczny. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization; WHO*) podwyższone ciśnienie tętnicze jest najczęstszą przyczyną zgonów na świecie (1). Prowadzone w ostatnich dziesięcioleciach badania epidemiologiczne wskazują na duże rozpowszechnienie tej przewlekłej choroby. Trwałe podwyższenie ciśnienia dotyczy około 972 mln osób, co stanowi 26% mieszkańców Ziemi (2). Prognozy nie napawają optymizmem. Szacuje się, że częstość występowania nadciśnienia tętniczego w populacji całego globu wzrośnie w 2025 roku do 29,2%, wówczas problem ten będzie dotyczyć około 1650 mln osób (3).

Rozpowszechnienie nadciśnienia tętniczego na świecie wykazuje zróżnicowanie w poszczególnych regionach i krajach. Niską częstością występowania nadciśnienia tętniczego (<15%) cechują się populacje zamieszkujące wiejskie tereny Chin, Indii, krajów Afryki Wschodniej oraz niektóre wyspy Pacyfiku. Największe rozpowszechnienie nadciśnienia (>30%) dotyczy krajów wysoko uprzemysłowionych, takich jak kraje europejskie oraz USA. Polska należy do krajów o stosunkowo wysokim odsetku chorych na nadciśnienie tętnicze (1).

Na podstawie wyników badań epidemiologicznych przeprowadzonych w latach 1994-2011 w naszym kraju stwierdzono, że nadciśnienie tętnicze stanowi istotny problem zdrowotny dorosłej populacji i wymaga daleko zaawansowanej i szeroko zakrojonej profilaktyki. W świetle najnowszych danych ogólnopolskiego badania rozpowszechnienia czynników ryzyka chorób układu krążenia NATPOL 2011 stwierdzono, że nadciśnienie dotyczy 32% dorosłej populacji, co stanowi 10,5 ml chorych, w tym 9,5 mln osób w wieku 18-79 lat i około 1 mln – powyżej 80 r.ż. Niepokoi fakt, że ta poważna choroba pozostaje niezdiagnozowana u blisko 3 milionów mieszkańców naszego kraju. Ponadto, prognozuje się istotny wzrost częstości

występowania nadciśnienia z obecnych 32% do 50% w ciągu najbliższych 25 lat. Tym samym liczba osób chorujących na nadciśnienie tętnicze ma przekroczyć 15 mln (4).

Zgodnie z obowiązującymi rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego nadciśnienie tętnicze pierwotne definiowane jest jako choroba, w której dochodzi do trwałego podwyższenia ciśnienia tętniczego w wyniku działania różnych czynników genetycznych i środowiskowych, czego konsekwencją jest zaburzenie fizjologicznej regulacji ciśnienia tętniczego.

Aby rozpoznać nadciśnienie tętnicze niezbędny jest prawidłowo wykonany pośredni pomiar ciśnienia tętniczego oparty na poniższych zaleceniach (5):

- nadciśnienie tętnicze rozpoznajemy jeżeli średnie wartości ciśnienia tętniczego z co najmniej 2 pomiarów wykonanych podczas dwóch niezależnych wizyt są równe bądź wyższe niż 140 mmHg dla skurczowego ciśnienia tętniczego (ang. *systolic blood pressure*; SBP) i/lub 90 mmHg dla rozkurczowego ciśnienia tętniczego (ang. *diastolic blood pressure*; DBP);

- średnie wartości ciśnienia z co najmniej 2 pomiarów wykonanych w trakcie jednej wizyty są wyższe lub równe 180 mmHg dla SBP i/lub 110 mmHg dla DBP, po wykluczeniu czynników podwyższających ciśnienie tętnicze (stres, ból, spożycie alkoholu, kawy, wypalenie papierosa);

- nadciśnienie tętnicze możemy rozpoznać na podstawie wiarygodnych danych z wywiadu lub dokumentacji pacjenta.

Klasyfikację ciśnienia tętniczego prawidłowego i nadciśnienia tętniczego na podstawie wartości ciśnienia tętniczego w świetle obowiązujących wytycznych ilustruje Rysunek 1.

Ciśnienie optymalne	Ciśnienie skurczowe SBP <120 mmHg	i	Ciśnienie rozkurczowe DBP <80 mmHg
Ciśnienie prawidłowe	Ciśnienie skurczowe SBP 120-129 mmHg	i lub	Ciśnienie rozkurczowe DBP 80-84 mmHg
Ciśnienie wysokie prawidłowe	Ciśnienie skurczowe SBP 130-139 mmHg	i lub	Ciśnienie rozkurczowe DBP 85-89 mmHg
Nadciśnienie tętnicze 1 stopnia	Ciśnienie skurczowe SBP 140-159 mmHg	i lub	Ciśnienie rozkurczowe DBP 90-93 mmHg
Nadciśnienie tętnicze 2 stopnia	Ciśnienie skurczowe SBP 160-179 mmHg	i lub	Ciśnienie rozkurczowe DBP 100-109 mmHg
Nadciśnienie tętnicze 3 stopnia	Ciśnienie skurczowe SBP ≥ 180 mmHg	i lub	Ciśnienie rozkurczowe DBP ≥ 110 mmHg
Izolowane nadciśnienie tętnicze	Ciśnienie skurczowe SBP ≥ 140 mmHg	i	Ciśnienie rozkurczowe DBP <90 mmHg

Rysunek 1. Klasyfikacja ciśnienia tętniczego prawidłowego i nadciśnienia tętniczego wg obowiązujących wytycznych Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (PTNT) z 2011 roku (5).

2. ETIOLOGIA NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Pomimo wielu badań prowadzonych od kilkudziesięciu lat czynniki wywołujące oraz mechanizmy utrzymujące podwyższone wartości ciśnienia tętniczego nie zostały w pełni zidentyfikowane. U 90% osób chorych na nadciśnienie tętnicze rozpoznaje się jego pierwotną (idiopatyczną) postać. Jest ona wynikiem złożonej interakcji pomiędzy

czynnikami genetycznymi i środowiskowymi (6). U jej podstawy leży dysfunkcja śródbłonna naczyniowego spowodowana współczesnym, niezdrowym stylem życia w tym: nadmiarem dostarczanych kalorii, wysokim spożyciem soli, węglowodanów prostych, tłuszczu, brakiem aktywności fizycznej i paleniem tytoniu (7). Wzrastająca liczba dowodów z badań eksperymentalnych i klinicznych wskazuje na potencjalny udział przewlekłego procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego w złożonej patogenezie nadciśnienia tętniczego (8).

2.1. Czynniki genetyczne

U podłoża samoistnego nadciśnienia tętniczego leżą skomplikowane zależności pomiędzy czynnikami genetycznymi oraz czynnikami środowiskowymi. W świetle współczesnej wiedzy, samoistne nadciśnienie tętnicze ma charakter poligeniczny, tzn. w jego rozwoju uczestniczy co najmniej kilka lub kilkanaście genów, z których każdy wnosi niewielki indywidualny wkład w kształtowanie ostatecznego fenotypu (9). Badania ostatnich lat koncentrowały się głównie na poszukiwaniu polimorfizmów w obrębie tzw. genów kandydatów, kodujących białka istotne dla mechanizmów regulujących ciśnienie krwi. Dotychczas opisano 29 polimorfizmów o charakterze zmiany pojedynczego nukleotydu SNP (*ang. single nucleotide polymorphisms*), których obecność wykazuje związek z nadciśnieniem tętniczym. Polimorfizmy te znaleziono m.in. w sekwencjach genów kodujących angiotensynogen, enzym konwertujący angiotensynę I, α adducynę, receptory beta adrenergiczne, syntazę tlenku azotu (*ang. endothelial nitric oxide synthase; eNOS*), cytochrom P450, 2C19 czy oksydazę fosforanu dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (*ang. nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase; NADP*) (10). Należy podkreślić, że wielogenowa natura choroby oraz jej wewnętrzna niejednorodność stanowią duże utrudnienia w identyfikacji genetycznych determinant nadciśnienia tętniczego (6).

Do identyfikacji czynników genetycznych biorących udział w patogenezie nadciśnienia tętniczego użyteczne są zwierzęce modele badawcze. Szczury wykorzystywane są w badaniach naukowych od 150 lat (11). W latach 60-tych ubiegłego stulecia Okamoto i wsp. (12) podczas selektywnej hodowli szczurów ze szczepu Wistar-Kyoto charakteryzujących się podwyższonymi wartościami ciśnienia

tętniczego, wyodrębnili osobniki, u których rozwijało się spontaniczne nadciśnienie tętnicze i grupę tę nazwali SHR (ang. *spontaneously hypertensive rats*). U szczurów SHR wzrost ciśnienia tętniczego następuje już w 5-6 tygodniu życia, przy czym SBP u osobników dorosłych może sięgać 180-200 mmHg. Cechy charakterystyczne dla choroby sercowo-naczyniowej takiej jak hipertrofia naczyń i mięśnia sercowego pojawiają się u szczurów SHR około 50-60 tygodnia życia (13). Dodatkowo u części szczurów SHR zaobserwowano tendencję do rozwijania jeszcze wyższych wartości ciśnienia i w rezultacie śmierci z powodu udarów mózgu. Grupie tak wyodrębnionych szczurów nadano nazwę SHR-SP (ang. *spontaneously hypertensive rats - stroke prone*) tworząc następny model nadciśnienia tętniczego (14).

Rozwój nadciśnienia tętniczego u szczurów można również wyindukować podając zwierzętom między innymi inhibitora eNOS, mineralokortykoidów, fruktozy czy chlorku sodu (NaCl), co potwierdza postulowaną rolę integracji czynników genetycznych i środowiskowych w powstawaniu nadciśnienia tętniczego (15).

2.2. Czynniki środowiskowe

Dowody z licznych badań wskazują na niezwykle istotny udział czynników środowiskowych w patogenezie nadciśnienia tętniczego. Bez wątplenia jednym z kluczowych elementów jest sposób żywienia. Niemal wszystkie główne składniki naszej diety tj. białka, tłuszcze i węglowodany, a także wiele pojedynczych związków chemicznych zawartych w pożywieniu, takich jak: elektrolity (sód, potas, wapń i magnez), witaminy, oleje z ryb morskich, alkohol, kofeina, błonnik oraz wiele innych, oceniano jako mogące podnosić lub obniżać ciśnienie tętnicze. Mogą one zatem potencjalnie sprzyjać rozwojowi nadciśnienia tętniczego lub utrudniać jego rozwój (16) (17) (18) (19). Bardzo ważne miejsce w kontroli ciśnienia tętniczego zajmują czynniki behawioralne. Ponad wszelką wątpliwość udokumentowano, zarówno w badaniach prospektywnych, jak i ich metaanalizach odwrotną zależność pomiędzy wartościami ciśnienia tętniczego, a stopniem aktywności fizycznej (20). Jednoznacznie potwierdzono silny związek przyczynowo-skutkowy pomiędzy nadmierną ilością tkanki tłuszczowej w organizmie a rozwojem nadciśnienia tętniczego. Silna relacja między ciśnieniem tętniczym a ilością tkanki tłuszczowej nie jest ograniczona do otyłości patologicznej, lecz ma charakter ciągły, bez wartości progowej. Im dłuższy okres

otyłości, tym większe ryzyko rozwoju nadciśnienia tętniczego. Dodatni związek między masą ciała a wartościami ciśnienia tętniczego obserwowano zarówno u osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia, jak i z wartościami podwyższonymi (21). Szacuje się, że 80% przypadków nadciśnienia tętniczego w Polsce występuje u osób z wskaźnikiem masy ciała BMI > 25 kg/m². Stwierdzono, że przyrost masy ciała o 10% powoduje wzrost średniego ciśnienia tętniczego o 6,5 mmHg. Uważa się, że zależność ta związana jest z dużą aktywnością metaboliczną tkanki tłuszczowej. Mechanizm jej działania opiera się m.in. na retencji sodu, aktywacji układu współczulnego, układu renina-angiotensyna, insulinooporności, hiperleptynemii, zaburzeniu układu krzepnięcia i fibrynolizy, procesach zapalnych, a w konsekwencji upośledzeniu funkcji śródbłonka naczyniowego (22).

Przedstawiono przekonujące dowody na znaczenie palenia papierosów w rozwoju nadciśnienia. Już jednorazowa ekspozycja na dym tytoniowy prowadzi do wzrostu ciśnienia tętniczego, a efekt ten utrzymuje się przez 15-20 minut po wypaleniu każdego papierosa (18). W grupie czynników behawioralnych analizowany jest również potencjalny udział stresu psychogenego. Na złożony charakter udziału czynników środowiskowych w patogenezie nadciśnienia tętniczego wskazują prace, w których poszukiwano związku pomiędzy ryzykiem wystąpienia nadciśnienia a narażeniem na hałas, zanieczyszczone powietrze, czy znaczeniem zmienności sezonowej.

3. NADCIŚNIENIE TĘTNICZE A ZABURZENIA METABOLICZNE

Nadciśnienie tętnicze bardzo rzadko występuje jako izolowana choroba. U większości pacjentów z nadciśnieniem tętniczym oprócz wzrostu ciśnienia tętniczego obecne są dodatkowe czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego. Mogą one wzajemnie nasilać swój wpływ, co prowadzi do łącznego ryzyka sercowo-naczyniowego większego od sumy ryzyka wynikającego z poszczególnych elementów składowych.

3.1. Zaburzenia gospodarki lipidowej

Wyniki licznych badań wskazują na obecność nieprawidłowego profilu lipidowego u znacznego odsetka osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. W badaniu Pol-Monica Bis zaburzenia profilu lipidowego występowały 2-krotnie częściej niż u osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia krwi. Charakteryzują się one głównie zwiększonym stężeniem cholesterolu całkowitego (ang. *total cholesterol*; TCH), triglicerydów (ang. *triglycerides*; TG) i cholesterolu frakcji LDL (ang. *low density lipoprotein*) oraz mniejszym stężeniem cholesterolu frakcji HDL (ang. *high density lipoprotein*) (23). Stwierdzono także, że nieprawidłowości w zakresie zaburzeń gospodarki lipidowej nasilają się wraz ze wzrostem liczby chorób współistniejących z nadciśnieniem tętniczym (24).

3.2. Zaburzenia gospodarki węglowodanowej

Zjawisko insulinooporności jest jednym z najczęściej występujących zaburzeń metabolicznych u pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Ma ono charakter selektywny (dotyczący prawie wyłącznie metabolizmu glukozy), tkankowo swoisty (występuje głównie w mięśniach szkieletowych), oraz metabolicznie swoisty (związany z upośledzonym procesem glikogenogenezy) (25). Podstawowym objawem insulinooporności w pierwotnym nadciśnieniu tętniczym jest upośledzone działanie insuliny w obrębie tkanki mięśniowej, powodujące utrudnione przenikanie glukozy z krwi do wnętrza komórek. Według niektórych autorów przyczyna tego zjawiska leży w zmniejszonej gęstości siatki naczyń włosowatych zaopatrujących tkankę mięśniową, zmniejszając tym samym dopływ insuliny do receptorów komórek mięśniowych (26). Inni autorzy wskazują, że insulinooporność może rozwinąć się w następstwie zaburzeń czynności lub struktury receptora insulinowego, spowodowanego mutacją w obrębie kodującego ten receptor genu (27). Najczęstszą przyczyną oporności na insulinę są zaburzenia poreceptorowe. Wyróżnia się tu nieprawidłowości w zakresie procesów transdukcji sygnału insulinowego wewnątrz komórek oraz zaburzenia struktury i funkcji transporterów glukozy (28).

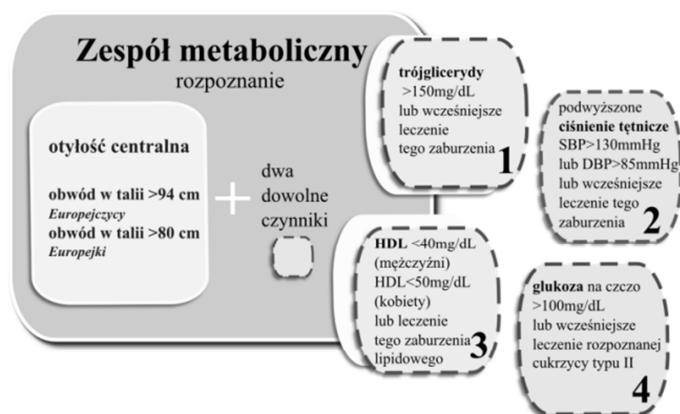
Hiperinsulinemia rozwijająca się wtórnie do obniżonej wrażliwości tkanek na insulinę powoduje pobudzenie aktywności autonomicznego układu współczulnego, zaburzenie w nerkowym wydalaniu sodu, zwiększoną reaktywność naczyń na czynniki presyjne, wpływa na łożysko naczyniowe oraz pobudzenie układu renina-angiotensyna-aldosteron (RAA). Konsekwencją aktywacji tych mechanizmów jest dysfunkcja śródbłonna, nasilenie procesu zapalnego, przebudowa naczyń krwionośnych, przerost mięśnia sercowego oraz progresja niewydolności nerek prowadząca do rozwoju nadciśnienia tętniczego (8).

Konsekwencją zmniejszonej wrażliwości tkanek organizmu na insulinę jest również często towarzysząca nadciśnieniu hiperglikemia. W badaniach Pol- Monica Bis u ponad 40% pacjentów z nadciśnieniem tętniczym zaobserwowano zaburzenia tolerancji glukozy (29). U chorych na nadciśnienie częściej niż w populacji ogólnej rozwija się jawna klinicznie cukrzyca. Zależności między cukrzycą a nadciśnieniem tętniczym są bardzo złożone. Obydwie jednostki chorobowe mogą pojawić się u pacjenta niezależnie lub też mieć wspólną przyczynę (30). Nadciśnienie tętnicze dotyczy 10-30% pacjentów z cukrzycą typu 1 i 60-80% pacjentów z cukrzycą typu 2. Współistnienie nadciśnienia i cukrzycy nasila zmiany zarówno makronaczyniowe jak i mikronaczyniowe. Nasilenie procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego oraz zmniejszona dostępność tlenu azotu, skutkują zwiększoną adhezją płytek oraz przerostem ścian naczyń, prowadząc w efekcie do rozwoju miażdżycy (27).

3.3. Zespół metaboliczny

Według najnowszych zaleceń dotyczących diagnostyki i leczenia nadciśnienia tętniczego wśród czynników wpływających na rokowanie u chorych na nadciśnienie tętnicze umieścili zespół metaboliczny. Uznali bowiem, iż stanowi on grupę czynników ryzyka często powiązanych z wysokim ciśnieniem tętniczym i istotnie zwiększa ryzyko sercowo-naczyniowe. Argumentów dostarczyły liczne badania epidemiologiczne. W badaniu Framingham wykazano, że tylko u 20% chorych na nadciśnienie nie obserwowano żadnego innego czynnika ryzyka, podczas gdy u około 50% hipertoniców stwierdzono współistnienie co najmniej dwóch uznanych czynników ryzyka (31). Najnowsze kryteria zespołu metabolicznego przedstawione przez grupę konsultacyjną Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (ang. *International Diabetes Federation*;

IDF) pochodzą z czerwca 2005 roku (32). Zgodnie z obecnie obowiązującą definicją IDF w celu rozpoznania zespołu metabolicznego należy stwierdzić obecność otyłości centralnej oraz dwóch z czterech następujących czynników takich jak: zwiększone stężenie triglicerydów lub leczenie tego zaburzenia lipidowego, zmniejszenie stężenia cholesterolu HDL lub leczenie tego zaburzenia lipidowego, podwyższone ciśnienie tętnicze: skurczowe lub rozkurczowe lub leczenie rozpoznanego wcześniej nadciśnienia tętniczego oraz zwiększenie stężenia glukozy na czczo lub wcześniej rozpoznana cukrzyca typu 2. Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego (Rys. 2.) zilustrowano schematycznie poniżej.



Rysunek 2. Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego zgodnie z definicją Międzynarodowej Federacji Diabetologicznej (IDF) z czerwca 2005 roku.

Osoby z zespołem metabolicznym wykazują większe ryzyko rozwoju cukrzycy i chorób układu sercowo-naczyniowego, prawie 4-krotnie większe ryzyko występowania choroby niedokrwiennej serca i zawału serca, a także zwiększone ryzyko zgonów spowodowanych chorobami układu sercowo-naczyniowego (32).

3.4. Proces zapalny i stres oksydacyjny

Podczas gdy początkowo uważano, że zwiększona wewnątrznaczyniowa aktywność procesu zapalnego jest konsekwencją podwyższonych wartości ciśnienia, badania ostatnich lat wskazują również na istotną rolę przewlekłego procesu zapalnego w patogenezie nadciśnienia tętniczego. Proces zapalny charakteryzuje zwiększone stężenie wielu białek i związków w surowicy krwi m.in.: cząsteczek adhezyjnych, cytokin oraz białek ostrej fazy (33). Postuluje się, iż jednym z ważnych mechanizmów prowadzących do aktywacji układu odpornościowego w nadciśnieniu tętniczym jest odpowiedź na neoantygeny, powstałe w wyniku działania stresu oksydacyjnego. Neoantygeny prowadzą do aktywacji limfocytów T, uwolnienia przez nie cząsteczek adhezyjnych m.in. międzykomórkowej cząsteczki adhezyjnej 1 (ang. *intercellular adhesion molecule-1*; ICAM-1) i naczyniowej cząsteczki adhezyjnej (ang. *vascular cell-adhesion molecule-1*; VCAM-1) oraz ich receptorów, a także zwiększonej produkcji cytokin prozapalnych: interleukiny 1 (IL-1), interleukiny 17 (IL-17), interleukiny 6 (IL-6) i czynnika martwicy nowotworów α (ang. *tumor necrosis factor α* ; *TNF- α*) (34). Najczęściej ocenianym parametrem wskazującym na obecność nasilonego procesu zapalnego jest białko C-reaktywne (ang. *C-reactive protein*; CRP). Wyniki licznych badań wykazały wyraźny związek pomiędzy względnie podwyższonym stężeniem CRP a wartościami ciśnienia tętniczego (35) (36). W prospektywnym badaniu kohortowym obejmującym 20525 kobiet w wieku 45 lat dowiedziono, że ryzyko rozwoju nadciśnienia tętniczego wzrasta proporcjonalnie wraz ze wzrostem stężenia CRP. Ryzyko wystąpienia nadciśnienia tętniczego było o 52% wyższe u kobiet z wyjściowym podwyższonym stężeniem CRP niż u kobiet z niskim stężeniem tego białka (37).

Stres oksydacyjny to stan zaburzonej równowagi pomiędzy ilością wytwarzanych reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*; ROS), a zdolnością do ich usuwania przez ustrojowe systemy antyoksydacyjne. Wśród reaktywnych form tlenu w ustroju istotne znaczenie mają anionorodnik nadadtlenkowy (O_2^-), nadtlenek wodoru (H_2O_2) oraz nadtlenoazotyn ($ONOO^-$). Komórkami generującymi reaktywne formy tlenu w układzie krążenia są przede wszystkim komórki śródbłonna naczyniowego, komórki mięśni gładkich i fibroblasty. Głównym źródłem ROS jest szlak metaboliczny oksydazy NADPH. Enzym ten aktywowany jest m.in.

przez: angiotensynę II, trombinę, TNF- α lub stres mechaniczny. Innymi ważnymi źródłami ROS są oksydaza ksantynowa, syntaza tlenu azotu oraz lipooksygenaza. Organizm posiada zdolność usuwania ROS i obrony przed stresem oksydacyjnym dzięki enzymom pełniącym funkcje antyutleniaczy. Zaliczamy do nich m.in. dysmutazę ponadtlenkową (ang. *superoxide dismutase*; SOD), peroksydazę glutationu, katalazę i peroksydyny. Uważa się, że stres oksydacyjny odgrywa ważną rolę w rozwoju nadciśnienia tętniczego (38). Mechanizm indukcji nadciśnienia przez wolne rodniki tlenowe jest złożony i obejmuje między innymi: ograniczenie biodostępności naczyniorozszerzającego NO, naczyniokurczące działanie anionu ONOO⁻, upośledzenie rozkurczu w wyniku peroksydacji lipidów błonowych, pobudzenie wytwarzania endoteliny i proliferacji mięśni gładkich naczyń, a także wpływ na wolemie poprzez zwiększenie resorpcji sodu w cewkach nerkowych (38). Reaktywne formy tlenu wpływają również bezpośrednio na reakcje zapalne, odpowiedzialne za dalszy wzrost ciśnienia tętniczego (39). Wiele dowodów świadczy również o ważnej roli endogenego inhibitora kompetycyjnego syntazy NO - asymetrycznej dimetyloargininy (ang. *asymmetric dimethylarginine*; ADMA) w dysfunkcji śródbłonna i rozwoju nadciśnienia tętniczego. Oprócz bezpośredniego hamowania syntezy NO wykazuje ona zdolność do zwiększania syntezy nadtlenków, stanowiąc swoisty marker stresu oksydacyjnego (40).

4. UDZIAŁ SODU W REGULACJI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Nadciśnienie tętnicze, niezależnie od jego przyczyny, jest chorobą o złożonej wieloczynnikowej etiologii. Wśród licznych czynników odpowiedzialnych za rozwój nadciśnienia ważną rolę odgrywa sód.

Już w 750 r. przed naszą erą twierdzono, że spożywanie pokarmów bogatych w sól jest przyczyną „twardnienia” tętna. Jednak dopiero w XX wieku udowodniono, że utrata sodu przez nerki jest przyczyną obniżenia ciśnienia tętniczego, podczas gdy jego retencja ciśnienie podwyższa. Wyniki badań wskazują, że nasi przodkowie spożywali przeciętnie 690 mg NaCl i 11104 mg potasu w ciągu dnia, a my spożywamy z całodzienną racją pokarmową 4000 mg NaCl i 2502 mg potasu (41). Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego rekomenduje spożywanie do 5 g soli dziennie, co odpowiada około 2400 mg sodu (100 mmol) (5). W naszej diecie sód występuje

głównie w postaci NaCl, czyli soli kuchennej. Prawie każdy mieszkaniec krajów wysoko uprzemysłowionych spożywa nadmiar soli w diecie (w wyniku dosalania i spożywania żywności przetworzonej), lecz na rozwój nadciśnienia jest narażona „tylko” połowa tej populacji. Związane jest to prawdopodobnie z różnym stopniem wrażliwości na sód u poszczególnych osób. Zgodnie z badaniami Weinbergera, wrażliwość na sód wykazuje 51% osób z nadciśnieniem i 26% osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym (42).

Cięnienie tętnicze jest sodowrażliwe, gdy ulega podwyższeniu pod wpływem zwiększonego dostarczania do organizmu sodu, natomiast obniża się przy zmniejszeniu jego podaży. Fenotypowa cecha sodowrażliwości ciśnienia tętniczego jest cechą jakościową o różnej ekspresji, uwarunkowaną ilością sodu dostarczonego do organizmu. Już w 1979 roku Luft i wsp. (43) wykazali, że zwiększając ilość spożywanego sodu z 10 do 1500 mmol/dobę co 3 dni, uzyskuje się podwyższenie średniego ciśnienia tętniczego u wszystkich badanych, zdrowych, normotensyjnych osób. Wyniki tego badania przekonują, że przy bardzo dużej ilości sodu dostarczonej do organizmu u wszystkich ludzi dochodzi do podwyższenia ciśnienia tętniczego. Świadczy to o tym, że w przypadku nadmiernego spożycia sodu, podwyższenie ciśnienia tętniczego jest niezbędne do utrzymania bilansu sodowego, czyli zrównoważenia podaży sodu i wydalania sodu przez nerki. Zależność pomiędzy wielkością ciśnienia tętniczego a ilością wydalonego sodu w danej jednostce czasu określono mianem natriurezy ciśnieniowej (44), która stanowi bardzo ważny element regulacji ciśnienia tętniczego i zależy nie tylko od wielkości przesączania kłębuszkowego, ukrwienia nerek, aktywności transporterów sodowych oraz aktywności nerkowego układu współczulnego. Badania ostatnich lat wykazały, że w obrębie śródmiąższu nerek produkowanych jest wiele związków, które odgrywają zasadniczą rolę w utrzymaniu natriurezy ciśnieniowej (45). Należą do nich zarówno wazodilatatory tj. NO, adrenomodulina, prostaglandyna, bradykinina, jak i wazokonstryktory tj. endotelina, leukotrieny, angiotensyna II. Związek pomiędzy natriurezą a czynnością naczyń mikrokrążenia rdzenia nerki jest przedmiotem licznych badań. Wzrost systemowego ciśnienia tętniczego poprzez wzrost ciśnienia perfuzyjnego nerek powoduje zwiększony napływ krwi do naczyń mikrokrążenia i w następstwie wzrost ciśnienia hydrostatycznego w naczyniach prostych, które przewyższa panujące w nich ciśnienie onkotyczne. Powoduje to zwiększone przechodzenie wody ze światła naczyń do śródmiąższu nerki, wzrost jego objętości i panującego tam ciśnienia

hydrostatycznego. Pociąga to za sobą wzrost natriurezy i ilości wydalanej wody w wyniku zmniejszenia reabsorpcji sodu w cewkach proksymalnych i pętli Henlego. Zwiększenie ciśnienia hydrostatycznego jest mechanizmem regulującym wydalanie sodu, ponieważ nawet niewielki wzrost ciśnienia hydrostatycznego w obrębie śródmiąższu powoduje znaczną natriurezę (46).

Fizjologiczny mechanizm natriurezy ciśnieniowej może ulec jednak zaburzeniu pod wpływem różnych czynników hemodynamicznych czy hormonalnych. Gdy jakikolwiek czynnik zakłóca przewlekłe mechanizm natriurezy ciśnieniowej, to dla utrzymania równowagi sodowej dochodzi do podwyższenia ciśnienia tętniczego z powodu hiperwolemii i wazokonstrykcji. Badania doświadczalne dostarczyły dowodów, że sodowrażliwość ciśnienia tętniczego jest związana z nasileniem resorpcji sodu w cewkach nerkowych. Chiolero i wsp. (47) wykazali, że u osób z nadciśnieniem sodowrażliwym występuje zaburzenie czynności cewek proksymalnych nefronów polegające na nasilonej reabsorpcji sodu podczas żywienia dietą wysokosodową. Należy jednak pamiętać, że istnieje wiele pozanerkowych czynników, które mają wpływ na sodowrażliwość ciśnienia tętniczego tj. wazopresyna, przedsionkowy peptyd natriuretyczny, mózgowy peptyd natriuretyczny, insulina, aldosteron. Cecha ta może być także wynikiem interakcji wielu uwarunkowań genetycznych z czynnikami środowiskowymi. Genetycznie uwarunkowana sodowrażliwość ciśnienia tętniczego może wiązać się z punktową mutacją w kodującym regionie G460W genu α -adducyny. Niektóre badania u zwierząt doświadczalnych jak i u ludzi sugerują, że obecność allelu W tego genu wiąże się z nasiloną reabsorpcją sodu, co może prowadzić do rozwoju nadciśnienia tętniczego (48). Obecnie stale poszukuje się dowodów na rolę podłoża genetycznego w rozwoju sodowrażliwości.

Wyniki badań prowadzonych w ciągu ostatnich lat udowodniły bardzo ważny udział sodu w patogenezie nie tylko nadciśnienia tętniczego, ale także miażdżycy naczyń tętniczych. Wykazano, że w obecności aldosteronu zwiększenie stężenia sodu zwiększa sztywność komórek śródbłonkowych oraz zmniejsza aktywność eNOS, co wpływa na perfuzję narządów (49). Podsumowując, szkodliwe efekty działania nadmiernej podaży sodu są spowodowane nie tylko wpływem tego elektrolitu na wolemię, ale również bezpośrednim działaniem na naczynia krwionośne (wzrost sztywności komórek śródbłonka i przyspieszenie rozwoju miażdżycy), na serce (przerost kardiomiocytów), nerki (przyspieszenie procesów włóknienia) i układ nerwowy (stymulacja układu współczulnego) (50).

Wszystkie te zaburzenia biorą udział w patogenezie nadciśnienia tętniczego. Celowość stosowania ograniczonej podaży sodu w diecie chorych na nadciśnienie tętnicze jest zatem uzasadniona.

4.1. Modele nadciśnienia tętniczego sodowrażliwego u szczurów

W latach 60 ubiegłego wieku Dr. Lewis K. Dahl pracujący nad rolą podaży NaCl w powstawaniu nadciśnienia tętniczego u ludzi i szczurów, w trakcie prowadzenia wsobnej, selektywnej hodowli szczurów szczepu Sprague-Dawley karmionych dietą wzbogaconą w 8% NaCl otrzymał po zaledwie trzech pokoleniach odrębne grupy zwierząt wrażliwych na działanie NaCl (ang. *salt-sensitive*; SS) i niewrażliwych na działanie NaCl (ang. *salt resistant*; SR). Ten szczurzy model nadciśnienia umożliwia zobrazowanie interakcji zachodzących pomiędzy czynnikami genetycznymi a czynnikiem środowiskowym jakim w tym przypadku jest spożycie NaCl. Stwierdzono, że zarówno szczury Dahl SR jak i SS z wiekiem i tak rozwijają nadciśnienie tętnicze nawet w przypadku małej podaży sodu w diecie. Dlatego szczury Dahl SR nie mogą być rozpatrywane jako kontrola porównywalna z osobnikami pochodzących ze szczepu szczurów niselekcjonowanych przez hodowlę wsobną (51).

Innym modelem nadciśnienia tętniczego powiązanim z wrażliwością na sód jest model szczurów sodowrażliwych DOCA. W modelu nadciśnienia tętniczego szczurów sodowrażliwych DOCA szczurom szczepu Wistar podawany jest podskórnie octan deoksykortykosteronu (ang. *deoxycorticosterone acetate*; DOCA) oraz 1% NaCl w wodzie do picia, u zwierząt wykonywana jest dodatkowo nefrektomia jednej nerki (11). Podwyższenie ciśnienia tętniczego u szczurów sodowrażliwych DOCA występuje jedynie w przypadku podania obu substancji DOCA i 1% NaCl (15).

W latach 70 w rezultacie hodowli prowadzonych przez D. Ben-Ishay i wsp. opisano jeszcze jeden szczurzy model nadciśnienia tętniczego zależnego od soli (52). Szczury Sabra są albo wrażliwe na działanie soli DOCA (ang. *salt-sensitive SBH/y*) albo niewrażliwe (ang. *salt-resistant SBN/y*). Obie wymienione grupy szczurów Sabra są fenotypowo i genotypowo różne od szczepu szczurów Dahl. Szczury Sabra bez podaży soli nie rozwijają spontanicznego nadciśnienia, co czyni je modelem szczególnie przydatnym w aspekcie oceny genetycznych podstaw sodozależności nadciśnienia (52).

Nadciśnienie tętnicze wrażliwe na podaż sodu powstaje również u transgenicznych względem wprowadzonego mysiego genu reniny 2 szczurów mRen2.Lewis (53). Dieta wysokosodowa oprócz znacznego wzrostu ciśnienia tętniczego, powoduje u tych zwierząt białkomocz i albuminurię (54).

Szereg doniesień (55) (56) (57) (58) wskazuje również na możliwość wykorzystania podaży NaCl w diecie w postaci dodatku do wody bądź do paszy, do wywołania nadciśnienia tętniczego u normotensyjnych szczurów szczepu Wistar. Ze względu na heterogenny charakter nieselekcjonowanego wsobnie szczepu Wistar, tak uzyskany model badawczy może stanowić pośrednie przełożenie na strukturę naturalnej populacji.

5. LECZENIE NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Podstawowym elementem prewencji jak i leczenia pacjentów z nadciśnieniem tętniczym jest skuteczne obniżenie wartości ciśnienia tętniczego oraz skorygowanie wszystkich modyfikowalnych czynników ryzyka w celu zmniejszenia całkowitego ryzyka sercowo-naczyniowego. Leczenie farmakologiczne nadciśnienia tętniczego obejmuje stosowanie 5 głównych klas leków hipotensyjnych: diuretyki tiazydowe, antagoniści receptora angiotensynowego, inhibitory konwertazy angiotensyny (ang. *angiotensin-converting enzyme*; ACE), antagoniści wapnia oraz β -adrenolityki skuteczne zarówno w monoterapii jak i leczeniu skojarzonym (2). Integralnym i niezwykle ważnym elementem postępowania terapeutycznego jest leczenie niefarmakologiczne.

5.1. Modyfikacja stylu życia

Leczenie niefarmakologiczne należy stosować stale u wszystkich chorych z nadciśnieniem tętniczym i niezależnie od stopnia jego zaawansowania. Zmiana stylu życia obejmuje głównie normalizację masy ciała i stosowanie odpowiedniej diety, zaprzestanie palenia tytoniu oraz zwiększenie aktywności fizycznej (2).

Nadciśnienie tętnicze jest ściśle skorelowane z nadmierną masą ciała (59). W następstwie jej zmniejszenia dochodzi również do obniżenia ciśnienia tętniczego. Badania wskazują, że średnia redukcja skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego związana z przeciętnym zmniejszeniem masy ciała o 5,1 kg wynosiła odpowiednio 4,4 i 3,6 mmHg (60). Ponadto redukcja masy ciała może korzystnie wpływać na skuteczność leków hipotensyjnych i profil ryzyka sercowo-naczyniowego. Zaleca się ją u pacjentów z nadciśnieniem i nadwagą lub otyłością, ale u wielu z tych osób rozsądnym celem może być również stabilizacja masy ciała. Postępowanie terapeutyczne powinno obejmować leczenie dietetyczne oraz systematyczny wysiłek fizyczny.

Badania epidemiologiczne wskazują, że regularna areobowa aktywność fizyczna może korzystnie działać zarówno w prewencji jak i leczeniu nadciśnienia, a także zmniejszać ryzyko sercowo-naczyniowe i umieralność chorych. Wykazano, że aerobowy trening wytrzymałościowy obniżał skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze w spoczynku o 6,9/4,9 mmHg wśród pacjentów z nadciśnieniem oraz o 3,0/2,4 mmHg wśród wszystkich badanych osób (61) (62). Zarówno aerobowy trening wytrzymałościowy jak i aerobowy trening interwałowy wpływają istotnie na obniżenie wartości skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego na poziomie 4-7 mmHg. Według zaleceń Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego należy zalecać co najmniej 30 minut umiarkowanego, intensywnego, dynamicznego wysiłku aerobowego (chodzenie, bieganie, pływanie, jazda na rowerze) przez 5-7 dni w tygodniu (63).

Palenie tytoniu jest ważnym czynnikiem ryzyka sercowo-naczyniowego o etiologii miażdżycowej. Zaprzestanie palenia stanowi najskuteczniejszą pojedynczą zmianę stylu życia w celu zapobiegania chorobom sercowo-naczyniowym w tym udarom mózgu, zawałom serca i chorobie tętnic obwodowych, co stanowi nieodłączny element terapii pacjentów z nadciśnieniem tętniczym (2). Zaprzestanie palenia powoduje znaczące obniżenie ryzyka zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych niezależnie od czasu palenia i ilości wypalanych papierosów (64).

Pacjentom z nadciśnieniem tętniczym zaleca się także ograniczenie spożycia alkoholu do nie więcej niż 20-30 g etanolu dziennie u mężczyzn oraz 10-20 g u kobiet. Systematyczne, nadmierne spożycie alkoholu zwiększa ciśnienia tętnicze i ryzyko udaru mózgu (16).

5.2. Rola diety w leczeniu nadciśnienia tętniczego

Leczenie dietetyczne nadciśnienia tętniczego opiera się na ograniczeniu kaloryczności posiłków, ograniczeniu spożycia tłuszczu nasyconych, soli kuchennej, alkoholu, a także zwiększeniu spożycia warzyw i owoców. Z diety należy wykluczyć produkty takie jak smalec czy słonina zastępując je olejami roślinnymi i rybami morskimi. Polecane są olej lniany, oliwa z oliwek, olej z zarodków pszennych, a z ryb głównie tuńczyk, makrela, śledź czy sardynki. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe, których źródłem są ryby morskie wykazują szereg korzystnych właściwości zdrowotnych (65). Wykazano, że kwas eikozapentaenowy i kwas dokozaheksaenowy wpływają na obniżenie poziomu triglicerydów, podwyższenie frakcji cholesterolu HDL, wykazują działanie przeciwzakrzepowe i przeciwzapalne (66). Należy ograniczyć spożycie węglowodanów prostych takich jak glukoza i fruktoza, które nie powinny dostarczać więcej niż 10% dobowego zapotrzebowania energetycznego. Głównym źródłem węglowodanów powinny być węglowodany złożone pochodzące z produktów zbożowych z grubego przemiału, warzyw oraz suchych nasion roślin strączkowych. Są one źródłem błonnika pokarmowego, którego ilość w diecie nie powinna przekraczać 40 g/dobę, a także mikroelementów takich jak potas, magnez, wapń i selen, regulujących czynność serca, uczestniczących w procesach krzepnięcia, czy kontrolujących syntezę cholesterolu w organizmie. Z warzyw w diecie szczególnie polecane są szpinak, sałata, jarmuż, dynia, marchew, cukinia, czosnek, cebula, karczochy oraz buraki i seler. Z kolei z owoców zalecane są czarne jagody, borówki, czarne porzeczki oraz jabłka. Dieta powinna być lekkostrawna. Preferowane są potrawy gotowane, duszone, pieczone oraz grillowane bez dodatku tłuszczu. Nie zaleca się stosowania soli kuchennej, której ilość w diecie osób z nadciśnieniem nie powinna przekraczać 5 g/dobę. Zaleca się zastąpienie soli ziołami tj. bazylią, majerankiem, oregano, czy ziołami prowansalskimi (65). Skutkuje to obniżeniem skurczowego ciśnienia tętniczego o 4-5 mmHg u osób z nadciśnieniem oraz 1-2 mmHg u osób normotensyjnych (67).

Wykazano, że efekt hipotensyjny odpowiednio ukierunkowanych modyfikacji stylu życia może być równoważny efektem stosowania jednego leku hipotensyjnego (68). Niski stopień przestrzegania zaleceń terapeutycznych przez pacjentów w ciągu

dłuższego okresu leczenia, często skutkuje brakiem normalizacji ciśnienia tętniczego i koniecznością włączenia farmakoterapii.

5.2.1. Antyoksydanty

Antyoksydanty to substancje pełniące funkcję obronną w organizmie przed szkodliwym działaniem reaktywnych form tlenu. Do najbardziej znanych antyoksydantów oprócz witaminy C i E, należą β -karoten, ubichinon, glutation, flawonoidy, tauryna i fitoestrogeny. W nadciśnieniu tętniczym obserwuje się zaburzenie równowagi pomiędzy czynnikami antyoksydacyjnymi a wolnymi rodnikami tlenowymi, zarówno poprzez zmniejszenie liczby niskocząsteczkowych antyoksydantów jak i zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych (69). Liczne badania doświadczalne, jak również badania kliniczne wskazują na korzystny wpływ suplementacji antyoksydantów u osób z chorobami układu sercowo-naczyniowego. Mechanizm ich działania opiera się głównie na zmniejszaniu stresu oksydacyjnego, zwiększaniu syntezy NO, zmniejszaniu utleniania cholesterolu LDL, hamowaniu wzrostu komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych oraz obniżaniu ciśnienia tętniczego (37). Zaobserwowano m.in., że podawanie antyoksydantów: 200 mg cynku, 500 mg witaminy C, 600 j.m. witaminy E i 30 mg β -karotenu przez 8 tygodni obniżało wartości ciśnienia tętniczego zarówno u pacjentów z nadciśnieniem, jak i osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym (70). Podobne działanie hipotensyjne wykazuje tauryna, której suplementacja w dawce 6 g /dzień przez 7 dni powodowała obniżenie wartości ciśnienia tętniczego u pacjentów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym (71).

Spośród związków polifenolowych i witamin antyoksydacyjnych najbardziej skutecznymi przeciwutleniaczami są katechiny czyli związki występujące w zielonej herbacie.

6. LECZENIECZE WŁAŚCIWOŚCI ZIELONEJ HERBATY

6.1. Pochodzenie zielonej herbaty

Herbata jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych napojów na świecie. Według legendy początki herbaty sięgają 2737 roku p.n.e., w którym mityczny cesarz Chin Seng-Nung przypadkowo zaparzył pierwszy napar z liści herbaty. Początkowo stosowana wyłącznie jako środek leczniczy i wzmacniający, dopiero za czasów panowania dynastii Tang w Chinach (618-910 r.) zwanych złotym wiekiem herbaty, doceniono jej walory sensoryczne i zaczęto spożywać na co dzień dla przyjemności i orzeźwienia. Na początku IX wieku herbata dotarła do Japonii, gdzie szybko zyskała sławę (72). Picie herbaty urosło do rangi ceremonii, wokół której powstała cała filozofia zwana Księgą Herbaty, czyli zamiłowaniem do piękna i estetyzmu (73).

Do Europy herbata dotarła na przełomie XVI i XVII wieku. Po raz pierwszy z herbatą zetknęli się Rosjanie w czasie podboju Syberii i kontaktów dyplomatycznych z Chinami. Do Polski dotarła w 1664 roku z Francji (74). Początkowo ze względu na wysoką cenę, herbata była dobrem luksusowym spożywanym jedynie na dworach królewskich, magnackich oraz bogatej szlachty i mieszczan. Funt herbaty kosztował wówczas tyle, co tygodniowa pensja przeciętnego człowieka. Z tego względu herbata stała się przedmiotem nieuczciwych praktyk. Herbatę fałszowano dodając do niej m.in. liści lukrecji barwionych melasą i gliną oraz liści jesionu (72). Choć dziś herbata stała się dobrem powszechnym, nadal stanowi przedmiot nieuczciwych praktyk produkcyjnych. Najczęściej herbatę fałszuje się dodając zepsutych liści herbaty, sztucznych barwników czy też obciążając ją gliną lub gipsem (75).

Aktualnie herbatę produkuje się w około 40 krajach świata, a wielkość produkcji przekracza 4,5 mln ton rocznie i wzrasta z każdym kolejnym rokiem. Głównymi producentami herbaty na świecie są Chiny i Indie (76). W XVII i XVIII wieku przedmiotem handlu z krajami azjatyckimi była głównie zielona herbata, jednak ze względu na nietrwałość jej aromatu podczas kilkumiesięcznej podróży, zaczęto sprowadzać herbatę czarną, która do dziś cieszy się wielką popularnością w Europie, Ameryce Północnej oraz Afryce. Głównymi konsumentami herbaty na świecie są Turcja i Maroko (7,52 kg/osobę/rok). Polska pod względem ilości spożywanej herbaty,

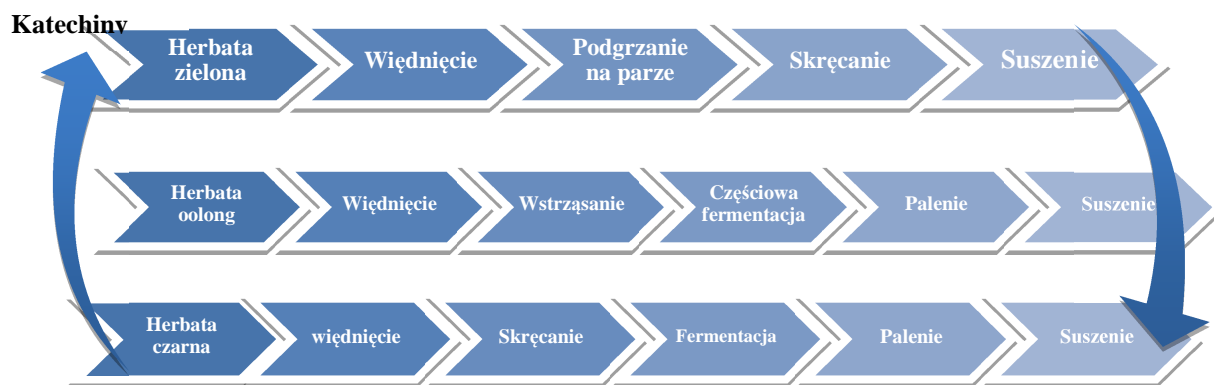
znajduje się na 3 miejscu w Europie (0,87 kg/osobę/rok) (76). Choć powyższe dane dotyczą głównie konsumentów herbaty czarnej, z roku na rok obserwuje się znaczący wzrost zainteresowania zieloną herbatą, głównie z powodu jej korzystnych właściwości zdrowotnych, czego dowodem są wyniki badań epidemiologicznych oraz badań eksperymentalnych (77).

6.2. Skład zielonej herbaty

Skład chemiczny zielonej herbaty budził zainteresowanie naukowców od dziesiątków lat. Obecnie wiadomo, że w skład liści herbaty wchodzi ponad dziesięć grup związków, a ich ilość uzależniona jest w dużym stopniu od wieku i jakości krzewu herbacianego oraz procesu produkcyjnego herbaty (78).

Głównymi składnikami świeżych liści zielonej herbaty są związki polifenolowe (katechiny), kwasy fenolowe oraz węglowodany i białka. Ponadto herbata zawiera tłuszcze, pigmenty, związki mineralne i lotne, a także witaminy. Do mikroelementów zawartych w herbacie należą potas, magnez, wapń, żelazo i miedź. Herbata stanowi również źródło jodu, fosforu i fluoru. Najczęściej występującymi witaminami są: witamina C, prowitamina A, witamina K oraz witaminy z grupy B (79). Procentowy udział poszczególnych składników liści herbaty nie jest stały. Zależny jest m.in. od czynników tj. gleba czy warunki klimatyczne. Rodzaj liści herbacianych, czas zbioru oraz wiek rośliny także mają znaczenie. Młode listki lub tipsy, czyli nierozwinięte pączki liści pochodzące z wiosennych zbiorów tworzą delikatne herbaty o głębokim aromacie i dużej liczbie ekstrahowanych do naparu substancji. Im starsze liście, tym mniejsza zawartość substancji i gorszy smak herbaty (80).

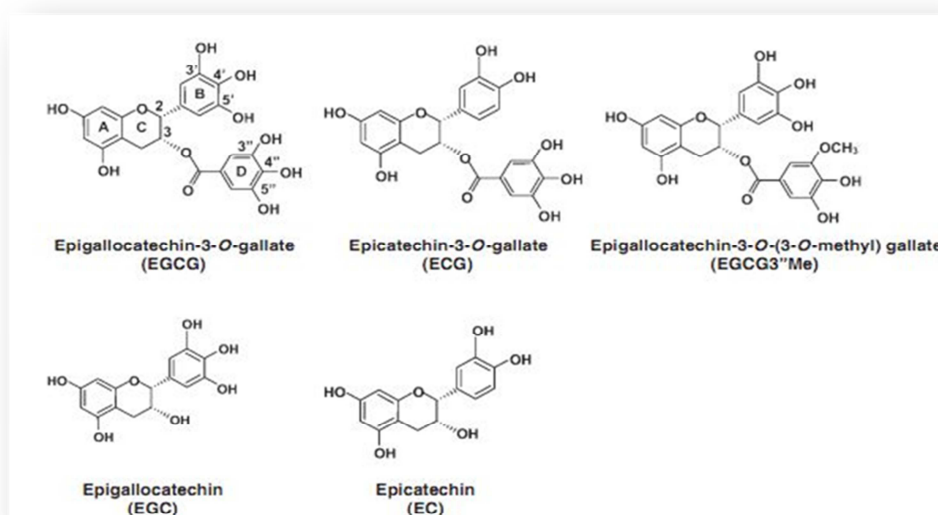
Wszystkie herbaty dostępne na rynku wywodzą się z rośliny należącej do rodzaju *Thea Camelia*, występującej w dwóch podstawowych odmianach botanicznych: chiński drzew herbaciany (*Camelia sinensis var sinensis*) oraz indyjskie drzewo herbaciane (*Camelia sinsensis var assamica*) (81). Proces produkcji zielonej herbaty przebiega w czterech etapach i w przeciwieństwie do herbaty czarnej nie obejmuje procesu fermentacji, dzięki czemu jej skład jest bardzo zbliżony do składu świeżych liści herbaty (80). (Rysunek 3.)



Teaflawiny.

Rysunek 3. Wpływ procesu obróbki herbaty na zawartość związków polifenolowych (84).

Spośród 30% związków polifenolowych obecnych w zielonej herbacie ok. 60-90% stanowią katechiny. Do głównych katechin herbaty zielonej należą: galusan epigallokatechiny (ang. *epigallocatechin-3-gallate*; EGCG), epigallokatechina (ang. *epigallocatechin*; EGC), galusan epikatechiny (ang. *epigallocatechin gallate* ECG), oraz epikatechina (ang. *epicatechin*; EC) (82). (Rysunek 4). Z kolei związki polifenolowe występujące w herbacie czarnej to głównie powstałe w procesie fermentacji i utleniania katechin, tearubiginy (20%) oraz teaflawiny (2-6%) (83).



Rysunek 4. Katechiny występujące w liściach zielonej herbaty (82).

6.3. Mechanizm działania i leczniczy potencjał katechin

Katechiny to substancje, które pełnią w organizmie wiele istotnych funkcji biologicznych. Przeprowadzono i opublikowano wiele badań potwierdzających ich ochronne działanie na komórki oraz skuteczną kontrolę i zwalczanie wielu chorób. Pozytywne efekty działania katechin wykazano m.in. w profilaktyce jak i leczeniu chorób układu sercowo-naczyniowego (w obniżaniu ryzyka zawału serca oraz rozwoju miażdżycy), cukrzycy typu 2 (w obniżaniu stężenia glukozy oraz insuliny), otyłości (w regulowaniu masy ciała oraz masy tkanki tłuszczowej), osteoporozy (we wpływie na gęstość kości) oraz nowotworów tj. rak szyjki macicy, piersi, prostaty, trzustki czy płuc (w stymulowaniu apoptozy w komórkach nowotworowych) (84) (85). Ponadto katechiny wykazują działanie przeciwwirusowe chroniąc organizm przed grypą oraz przeciwbakteryjne poprzez zapobieganie rozwojowi próchnicy (77).

Szerokie spektrum właściwości biologicznych katechin tłumaczy się ich wysoką aktywnością przeciwutleniającą. Mechanizm działania przeciwutleniającego katechin opiera się na właściwościach redukujących polegających na zmniejszeniu ilości powstających reaktywnych form tlenu poprzez chelatowanie metali przejściowych i regenerację innych przeciwutleniaczy tj. β -karoten czy α -tokoferol lub bezpośrednim unieczynnieniu reaktywnych form tlenu i azotu (86) (87) (88). Do innych mechanizmów działania katechin zaliczyć można także inhibicję enzymów pro-utleniających (tj. eNOS, lipooksygenaza 2), indukcję ekspresji genów kodujących enzymy I i II fazy biotransformacji (S-transferaza glutationowa), hamowanie aktywacji czynników transkrypcyjnych (transkrypcyjnego NF- κ B (ang. *nuclear factor kappa B*)) oraz pełnienie funkcji cząsteczek sygnalizujących poprzez interakcje z kinazami aktywowanymi mitogenami (ang. *mitogen activated protein kinases*; MAPK) (89) (90). Katechiny są najbardziej skutecznymi przeciwutleniaczami spośród związków polifenolowych i witamin przeciwutleniających. Wynika to w dużym stopniu z ich budowy chemicznej i środowiska w którym działają. Budowa chemiczna katechin warunkuje zdolność do łatwego oddawania atomu wodoru lub elektronów. W wyniku reakcji z rodnikami powstają stabilne rodniki fenoksyłowe oraz formy nierodnikowe. Ważnymi elementami strukturalnymi decydującymi o sile właściwości przeciwutleniających katechin jest liczba podstawników hydroksylowych oraz obecność charakterystycznego ugrupowania w cząsteczce. Stwierdzono, że im większa liczba

podstawników hydroksylowych w cząsteczce, tym niższy potencjał utleniania i tym wyższa aktywność przeciwutleniająca katechin. Z kolei udział charakterystycznego ugrupowania w całkowitej aktywności przeciwutleniającej można uszeregować według kolejności: reszta kwasu galusowego, grupa pyrogalolowa oraz grupa katecholowa (91) (92). Najwyższą aktywnością przeciwutleniającą wśród katechin charakteryzują się galusany – z resztą kwasu galusowego, przy czym najbardziej skutecznym przeciwutleniaczem jest galusan epigalokatechiny, posiadający osiem grup hydroksylowych w cząsteczce (93). Skuteczność przeciwutleniająca katechin zależy nie tylko od budowy chemicznej, ale determinowana jest również rodzajem środowiska, w którym działają oraz polarnością cząsteczki. Zaobserwowano m.in., że przeciwutleniacze polarne i hydrofilowe, jakimi są katechiny, stają się bardziej aktywne w apolarnym środowisku jednofazowym (np. lipofilowym) (94).

Aktywność przeciwutleniająca herbaty zależy w dużym stopniu od ilości i jakości związków polifenolowych w niej występujących. Zielona herbata ze względu na dużą zawartość katechin, stanowiących około 78% frakcji polifenolowej charakteryzuje się najwyższą aktywnością przeciwutleniającą w teście z użyciem odczynnika DPPH (1,1-difenylo-2- pikrylohydrazyl) spośród wszystkich rodzajów herbat (95). Wraz ze wzrostem czasu i temperatury parzenia liści rośnie ilość ekstrahowanych do naparu substancji, a co za tym idzie wzrasta jej aktywność przeciwutleniająca. Zaobserwowano, że najwyższy potencjał antyoksydacyjny naparu zielonej herbaty uzyskuje się w wyniku parzenia liści w temperaturze 77-80°C przez około 30 minut, jednakże w ciągu pierwszych 2-5 minut stopień ekstrakcji składników przeciwutleniających jest największy (96). Warto zauważyć, że dodanie witaminy C w ilości od 5 mg do 30 mg na 100 ml naparu zielonej herbaty zwiększa jej całkowitą aktywność przeciwutleniającą TEAC (ang. *trolox-equivalent antioxidant capacity*). Przyczyną tego zjawiska jest regeneracja katechin przez kwas askorbinowy jak również obniżenie wartości pH rozpuszczalnika, skutkującą szybszą migracją katechin do roztworu jak i wzrostem ich stabilności (97).

6.4. Możliwości wykorzystania zielonej herbaty w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych

Katechiny zielonej herbaty skutecznie likwidują wolne rodniki, które biorą udział w patogenezie wielu chorób cywilizacyjnych. Wyniki badań wskazują, że katechiny zawarte w zielonej herbacie wykazują zdolność do zapobiegania rozwojowi miażdżycy oraz nadciśnienia tętniczego, a także zmniejszają śmiertelność z powodu chorób sercowo-naczyniowych (98).

6.4.1. Miażdżycza naczyń wieńcowych

W badaniu prowadzonym przez Sasazuki i wsp. odnotowano trend odwrotnej zależności między konsumpcją zielonej herbaty a miażdżycą naczyń wieńcowych. Ryzyko zwiężenia naczyń zmniejszyło się o 50% w grupie 262 mężczyzn spożywających 2-3 filiżanki zielonej herbaty dziennie. Z kolei konsumpcja 4 lub więcej filiżanek zielonej herbaty dziennie zmniejszała to ryzyko o 60% (99). Uważa się, że przeciwmiażdżycowe działanie katechin zielonej herbaty polega na hamowaniu aktywności enzymów związanych z generowaniem wolnych rodników tlenowych (np. lipooksygenazy), hamowaniu proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń oraz agregacji płytek krwi, a także inhibicji czynnika transkrypcyjnego NF-κB odpowiedzialnego m.in. za regulację transkrypcji genów prozapalnych (100).

6.4.2. Cukrzyca typu 2

Zielona herbata wywiera również pozytywne efekty w zapobieganiu oraz kontrolowaniu przebiegu cukrzycy typu 2. Duże badania epidemiologiczne obejmujące ponad 17 000 osób bez cukrzycy typu 2, prowadzone w Japonii przez Iso i wsp. wykazały, że spożywanie więcej niż 6 filiżanek zielonej herbaty dziennie wpływało korzystnie na poziomy glikemii, obniżając tym samym ryzyko cukrzycy w porównaniu do osób pijących mniej niż 1 filiżankę zielonej herbaty na tydzień (101). Podobne wyniki otrzymali Hadosa i wsp. u pacjentów z cukrzycą typu 2. Podczas 30 dniowej

suplementacji 1,5 l napoju herbaty oolong zawierającego 386 mg EGCG zaobserwowano znaczne zmniejszenie poziomów glukozy w porównaniu z grupą kontrolną spożywającą wodę (102).

Insulinooporność oraz zaburzenia funkcji śródbrzońka odgrywają kluczową rolę w rozwoju cukrzycy typu 2 i jej powikłań sercowo-naczyniowych. Prace większości autorów prowadzących badania na modelach zwierzęcych potwierdzają korzystny wpływ katechin zielonej herbaty na poziomy insuliny i wskaźnik insulinooporności. Badanie Hinigera i wsp. wskazuje, że podawanie 1-2 g zielonej herbaty na kilogram diety bogatej we fruktozę u szczurów przez okres 6 tygodni, poprawia wrażliwość tkanek na insulinę oraz chroni przed stresem oksydacyjnym w porównaniu do grupy szczurów otrzymujących samą dietę (103). W testach prowadzonych przez Browna i wsp. wykazano brak istotnych zmian w tolerancji glukozy oraz wrażliwości komórek na insulinę u pacjentów z nadwagą otrzymujących 400 mg EGCG (104). Z kolei Hsu i wsp. w czasie 16 tygodniowej terapii prowadzonej u osób z cukrzycą typu 2 zaobserwowali istotne zmniejszenie poziomu insuliny, wskaźnika insulinooporności HOMA-IR (ang. *homeostasis model assessment-estimated insulin resistance*) oraz hemoglobiny glikowanej A1c (HbA1c) w grupie pacjentów otrzymującej 856 mg EGCG w odniesieniu do wartości początkowych tej grupy (105).

Choroby układu krążenia są najczęstszą przyczyną wysokiej śmiertelności społeczeństw krajów wysoko rozwiniętych. Badania japońskich uczonych wskazują, że istnieje wyraźny związek pomiędzy konsumpcją 3-6 filiżanek zielonej herbaty dziennie a istotnym spadkiem umieralności z powodu chorób sercowo-naczyniowych, spośród których najsilniej obserwowana zależność dotyczyła udarów mózgu (106).

6.4.3. Choroby nowotworowe

Dzięki silnym właściwościom przeciwutleniającym katechiny zielonej herbaty wykazują również działanie chemoprewencyjne. Różnorodne badania epidemiologiczne potwierdzają związek między konsumpcją zielonej herbaty a profilaktyką raka w tym: raka piersi, macicy, prostaty, trzustki, jelit oraz raka płuc. Choć mechanizmy nie zostały do końca wyjaśnione uważa się, że jest to związane ze zmniejszeniem stresu oksydacyjnego, hamowaniem proliferacji i transformacji komórek, a w momencie wystąpienia mutacji, aktywacją procesu apoptozy komórek nowotworowych (107).

6.4.4. Nadciśnienie tętnicze

W badaniu przekrojowym na grupie 1507 chińskich dorosłych osób prowadzonych przez Yanga i wsp. zaobserwowano, że stała, dzienna konsumpcja 120-599 ml zielonej herbaty przez co najmniej rok zmniejsza ryzyko wystąpienia nadciśnienia tętniczego o 46 %. Spożywanie więcej niż 600 ml naparu zielonej herbaty dziennie zmniejszało to ryzyko o 65% (108). Mechanizm hipotensyjnego działania katechin zielonej herbaty związany jest prawdopodobnie z aktywowaniem eNOS poprzez zwiększenie jej fosforylacji, czego efektem jest spadek ciśnienia tętniczego (109).

7. PODSUMOWANIE I HIPOTEZA BADAWCZA

Nadciśnienie tętnicze z powodu globalnego rozprzestrzenienia oraz małej skuteczności leczenia stanowi jeden z podstawowych problemów zdrowotnych, społecznych i ekonomicznych. Niekorzystny wpływ nadciśnienia na stan zdrowia społeczeństwa, potwierdzony w licznych badaniach, stał się podstawą do poszukiwania odpowiednich metod profilaktyki, a po wykryciu schorzenia - wdrożenia skutecznej strategii leczenia.

Jednym z czynników, niewątpliwie wpływającym na rozwój nadciśnienia tętniczego, jest zawartość sodu w diecie. Uważa się, że występowanie nadciśnienia zależnego od spożycia soli kuchennej dotyczy prawie $1/2$ chorych, u którzy diagnozowane jest nadciśnienie tętnicze. Bezsporny udział wolnych rodników tlenowych i stanu zapalnego w patogenezie nadciśnienia tętniczego uzasadnia fakt stosowania diety bogatej w antyoksydanty w tej grupie pacjentów. Cenny skład liści zielonej herbaty powoduje, że propagowanie jej udziału w diecie pacjentów z nadciśnieniem tętniczym pozwoli być może na wypracowanie nowej, skutecznej i bardziej efektywnej strategii terapeutycznej.

Pomimo licznych badań doświadczalnych, nadal poszukuje się przekonujących dowodów, które potwierdziłyby hipotensyjne i przeciwzapalne oddziaływanie zielonej herbaty. Wyniki naszych badań z udziałem normotensyjnych szczurów szczepu Wistar poddanych zwiększonej podaży sodu w diecie, jako modelu odzwierciedlającego

nadciśnienie tętnicze z cechami ludzkiego zespołu metabolicznego, pozwalają na nowy wgląd w mechanizmy działania zielonej herbaty i jej potencjalny korzystny wpływ zarówno w profilaktyce jak i leczeniu chorych na nadciśnienie tętnicze.

II. CELE PRACY

1. Ocena wpływu suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty na wartości ciśnienia tętniczego w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego wywołanym dietą wysokosodową.
2. Określenie wpływu ekstraktu z zielonej herbaty na stężenia wybranych parametrów gospodarki lipidowej.
3. Ocena wpływu suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty na stopień insulinowrażliwości i stężenie wybranych parametrów gospodarki węglowodanowej.
4. Określenie wpływu suplementacji zieloną herbatą na stężenie wybranych parametrów stanu zapalnego i poziom stresu oksydacyjnego.
5. Porównanie wpływu suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty na badane parametry w zależności od zastosowanej dawki ekstraktu.

III. MATERIAŁ I METODY

1. ZWIERZĘTA DOŚWIADCZALNE

Badania przeprowadzono na szczurach szczepu Wistar (samce), pochodzących ze zwierzętarni Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Początkowa masa ciała szczurów wynosiła 193 ± 20 g. Pomieszczenia, w których znajdowały się szczury miały stałą temperaturę $20 \pm 2^{\circ}$ C. Były to pomieszczenia bez dostępu światła dziennego, o automatycznie zmieniającym się cyklu dzień/noc (co 12 godzin, 100-250 luksów), o wilgotności względnej 65-75%, klimatyzowane. Wszystkie procedury na zwierzętach zostały wykonane zgodnie z protokołem badania i obowiązującymi rekomendacjami o traktowaniu zwierząt laboratoryjnych na podstawie Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych. Na przeprowadzenie eksperymentu uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu (zgoda nr 28/2012 oraz 87/2013).

2. PRZEBIEG DOŚWIADCZENIA

Do eksperymentu użyto 8 tygodniowych szczurów płci męskiej. Podział zwierząt na grupy został poprzedzony pomiarem masy ciała, aby w momencie rozpoczęcia eksperymentu w grupach średnia masa ciała szczurów była zbliżona. Podczas doświadczenia każde zwierzę przebywało w osobnej klatce. W celu wyliczenia dobowego spożycia pokarmu codziennie o stałej porze dnia dokonywano pomiaru podawanej paszy oraz niewyjadków z dnia poprzedniego.

Zwierzęta zostały poddane 5-dniowej adaptacji, podczas której były karmione „ad libitum” paszą standardową 1320 (*Altromin, Lage, Germany*) i miały swobodny dostęp do wody destylowanej. Po okresie adaptacji rozpoczęto doświadczenie na 30 szczurach, kwalifikując do każdej z trzech porównywalnych grup po 10 szczurów. Czas trwania doświadczenia wynosił 6 tygodni. W celu wyidukowania nadciśnienia

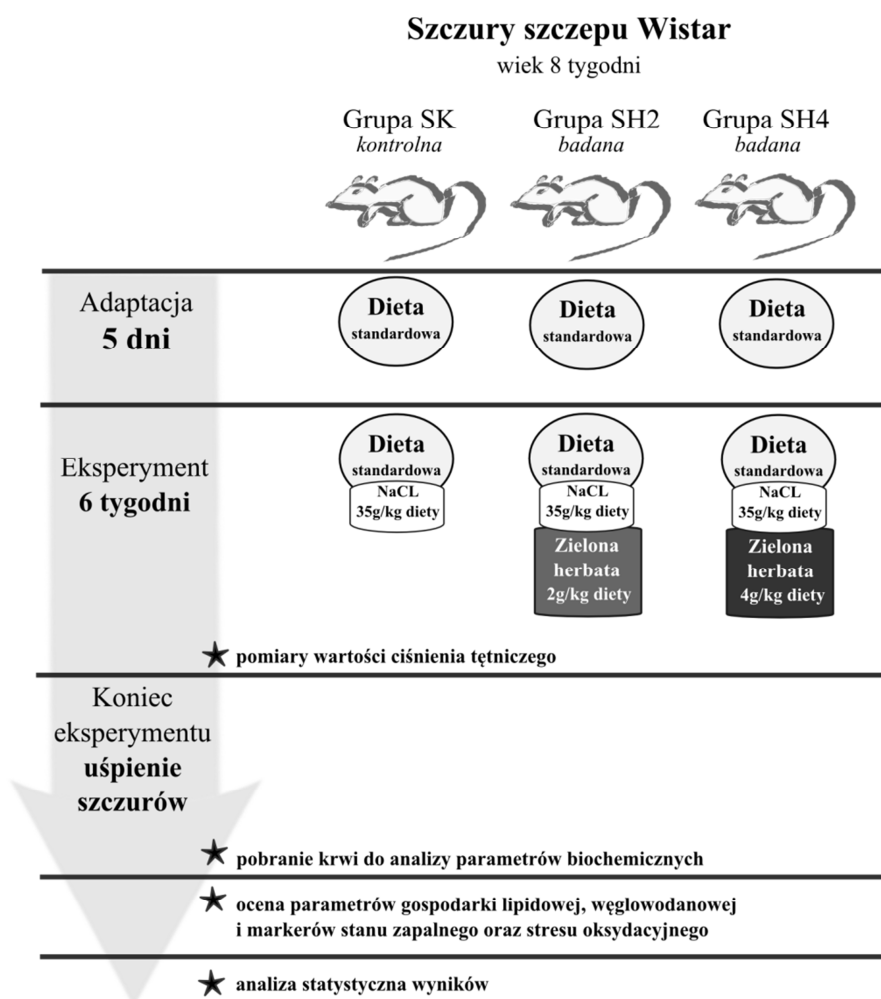
tętniczego, dla wszystkich szczurów wprowadzono dietę wysokosodową dodając do paszy standardowej NaCl w ilości 35g /kg diety.

Grupa pierwsza (SK) stanowiąca kontrolę, obejmowała zwierzęta karmione dietą wysokosodową w postaci paszy standardowej 1320 (*Altromin, Lage, Germany*) z dodatkiem 35 g NaCl/kg diety.

Grupa druga (SH2) obejmowała szczury, którym do diety wysokosodowej dodawano ekstrakt z zielonej herbaty (*Olimp Lab, Dębica, Polska*) w ilości 2 g/kg diety.

Grupa trzecia (SH4) obejmowała szczury, którym do diety wysokosodowej dodawano ekstrakt z zielonej herbaty (*Olimp Lab, Dębica, Polska*) w ilości 4 g/kg diety.

Schemat doświadczenia pokazano na Rysunku 5.



Rysunek 5. Schemat przeprowadzonego doświadczenia.

3. SKŁAD DIETY I EKSTRAKTU Z ZIELONEJ HERBATY

3.1. Dieta szczurów

W tabeli 1. przedstawiono skład diety standardowej jaką karmione były wszystkie grupy szczurów podczas eksperymentu. Dietę wzbogacano dodatkiem NaCl w ilości 35 g NaCl/kg diety w celu wywołania nadciśnienia tętniczego u szczurów.

Tabela 1. Skład diety standardowej bez dodatku NaCl.

Składnik	Zawartość	Składnik	Zawartość
Kaloryczność (kcal/kg)	2844		
Białko (% energii)	24	Biotyna (μg/kg)	60
Tłuszcze (% energii)	11	Kwas nikotynowy (mg/kg)	36
Węglowodany (% energii)	65	Kwas pantotenowy (mg/kg)	21
Białko (g/100g)	19	Chlorek choliny (mg/kg)	600
Tłuszcze (g/100g)	4	Wapń (g/kg)	9
Błonnik (g/100g)	6	Fosfor (g/kg)	7
Witamina A (U/I)	1500	Magnez (g/kg)	3
Witamina D3 (U/I)	600	Sód (g/kg)	2
Witamina B1 (mg/kg)	18	Potas (g/kg)	1
Witamina B2 (mg/kg)	12	Żelazo (mg/kg)	165
Witamina B6 (mg/kg)	9	Mangan (mg/kg)	75
Witamina B12 (μg/kg)	24	Cynk (mg/kg)	70
Witamina C (mg/kg)	36	Miedź (mg/kg)	13
Witamina K3 (mg/kg)	3	Jod (mg/kg)	1,5
Witamina E (mg/kg)	75	Selen (mg/kg)	0,6
Kwas foliowy (mg/kg)	2	Kobalt (mg/kg)	0,3

3.2 Ekstrakt z zielonej herbaty

Preparat zawierający ekstrakt z zielonej herbaty *Camellia sinensis* (Olimp Laboratories Sp. Z o.o., Dębica, Polska) podawany był wraz z paszą. Zarówno pasza, którą podawano, jak i ekstrakt z zielonej herbaty miały formę sypką. Po dodaniu ekstraktu do paszy wszystko mieszano przez 20 minut za pomocą elektrycznego mieszadła. W tabeli 2 przedstawiono zawartość stosowanego ekstraktu zielonej herbaty. Oprócz ekstraktu z zielonej herbaty suplement zawierał: celulozę mikrokrystaliczną i sproszkowaną - substancje wypełniające, stearynian magnezu - substancja przeciwbrylająca.

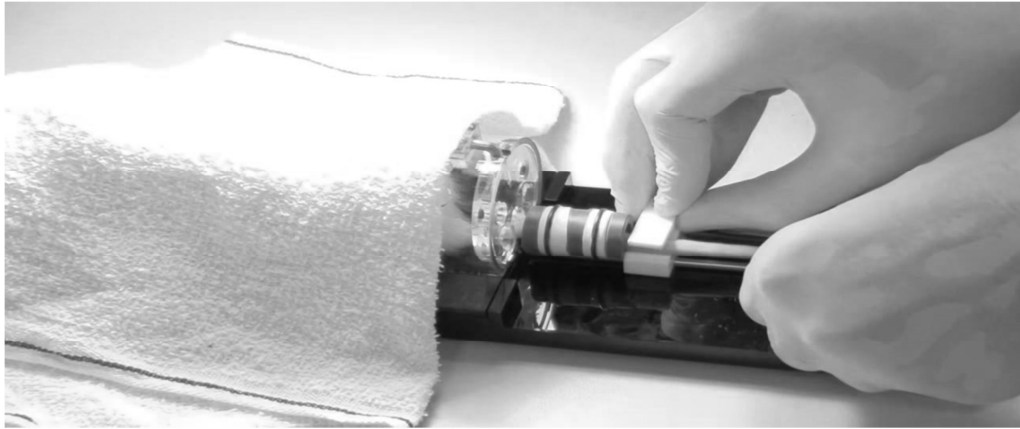
Tabela 2. Skład preparatu Zielona Herbata Ekstrakt Olimp Laboratories.

Ekstrakt zielonej herbaty (55% EGCG)	
EGCG	137,5 mg
Polifenole	249 mg
Katechiny	200 mg
Kofeina	<4 mg

4. POMIAR CIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Bezinwazyjny pomiar ciśnienia krwi wykonywany był na ogonie zwierząt po ich chwilowym unieruchomieniu, za pomocą przenośnego miernika ciśnienia krwi dla myszy i szczurów, Model MK-1030 (*Muromachi Kikai, Tokyo, Japan*). Ciśnienie krwi mierzono za pomocą pletyzmografu, oceniając ciśnienie pulsacyjne w tętnicy ogonowej szczura, po 15 min utrzymywania stałej temperatury 37°C i 30 minut aklimatyzacji w uchwycie z ciemnobrązowego akrylu, celem umożliwienia pomiaru ciśnienia krwi w

stosunkowo bezstresowych warunkach (Rysunek 6). Pomiary wykonano w 3 powtórzeniach przed rozpoczęciem i po zakończeniu eksperymentu.



Rysunek 6. Pomiar ciśnienia tętniczego na ogonie szczura za pomocą przenośnego miernika ciśnienia – Model MK-1030 (Muromachi Kikai, Tokyo, Japan).

5. ANALIZA PARAMETRÓW BIOCHEMICZNYCH

Po upływie 6 tygodni okresu doświadczalnego, szczury usypiano dootrzewnowym zastrzykiem tiopentalu sodu 40 mg/kg masy ciała (*Biochemie, Vienna, Austria*) i pobierano krew z serca. Próbkę krwi, po utworzeniu skrzepu, wirowano (2500 obr./min. przez 15 min/4⁰C) w celu uzyskania surowicy. Do czasu wykonania analiz biochemicznych materiał biologiczny był przechowywany w temperaturze -80⁰C. Z pobranej krwi wykonano analizę wybranych parametrów gospodarki węglowodanowej, lipidowej i parametrów związanych ze stanem zapalnym i stresem oksydacyjnym.

5.1. Parametry gospodarki lipidowej

Cholesterol całkowity (TCH)

Cholesterol całkowity oznaczano metodą enzymatyczną (*Randox Laboratory Ltd., Crumlin, UK*) zestaw z użyciem esterazy cholesterolowej (ECh), oksydazy cholesterolowej (ChOD) oraz peroksydazy (POD):

estry cholesterolu + 2H₂O * (ECh) cholesterol + kwasy tłuszczowe

cholesterol + O * (ChOD) cholesterol-3-on + H₂O₂

2H₂O₂ + DH₂ * (POD) 2H₂O + D

D – barwnik, którego intensywność jest wprost proporcjonalna do stężenia cholesterolu w surowicy krwi

Cholesterol HDL

HDL oznaczano metodą bezpośrednią przy użyciu zestawu HDL-DIRECT (*Cormay, Lublin, Polska*). Detergent obecny w odczynniku HDL-DIRECT stabilizuje cząstki lipoproteinowe należące do frakcji chylomikronów, lipoprotein bardzo małej gęstości VLDL (ang. *very low density lipoprotein*) i LDL, rozkładając równocześnie cząstki lipoprotein HDL. Uwolniony cholesterol frakcji HDL jest następnie oznaczany metodą enzymatyczną jak powyżej.

Cholesterol LDL

Stężenie cholesterolu LDL wyliczono ze wzoru Friedewalda:

Cholesterol LDL (mmol/l) = TCH (mmol/l) – HDL (mmol/l) – TG (mmol/l)/2,2

Triglicerydy

Stężenie triglicerydów (TG) w surowicy oznaczano metodą enzymatyczną (*Randox Laboratory Ltd., Crumlin, UK*) z wykorzystaniem lipazy (L), kinazy glicerolowej (KG), oksydazy 3 fosfo-glicerolowej (OG) i peroksydazy (P):

Triglicerydy * (L) glicerol + kwasy tłuszczowe

Glicerol + ATP * (KG) 3-fosfoglicerol + ADP

3-fosfoglicerol + O₂ * (OG) fosfodihydroksyaceton + H₂O₂

H₂O₂ + chromogen * (P) barwnik + 2H₂O

Intensywność powstałego zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia triglicerydów.

5.2. Parametry gospodarki węglowodanowej

Glukoza

Glukozę oznaczano w metodą enzymatyczną z użyciem oksydazy glukozowej (OG) i peroksydazy (P).

Glukoza + H₂O₂ + O₂ * (OG) H₂O + kwas glukonowy

H₂O₂ + DH₂ * (P) 2H₂O + D

D – barwnik, którego intensywność jest wprost proporcjonalna do stężenia glukozy

Insulina

Insulina oznaczana była w surowicy krwi metodą radioimmunologiczną gotowym zestawem odczynników rat insulin RIA kit (*Linco Research, USA*). W metodzie antygen znakowany (insulina znakowana promieniotwórczym izotopem ¹²⁵) oraz antygen nieznakowany (insulina obecna w badanej próbie biologicznej zwierzęcia) współzawodniczą w tworzeniu kompleksu antygen-przeciwciało z przeciwciałem pochodzącym z surowicy świnki morskiej immunizowanej wysokooczyszczoną insuliną szczura. Ze względu na ograniczoną ilość miejsc wiązania przeciwciała, czym większe jest stężenie substancji badanej, tym mniej zwiąże się znakowanego antygeny. Aktywność promieniotwórczą związanego antygeny mierzy się wykorzystując licznik promieniowania gamma.

Insulinooporność

Wskaźnik Insulinooporności obliczono używając modelu HOMA (*Homeostatic Model Assessment*), który pozwala poprawnie oszacować stopień insulinooporności w sytuacjach klinicznych przebiegających z upośledzoną sekrecją insuliny:

HOMA index = [stężenie insuliny na czczo Um/l) x stężenie glukozy na czczo (mmol/l)/22,5

5.3. Parametry procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego

TNF-α

Stężenie TNF-α oznaczany był w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną ELISA (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*) przy wykorzystaniu gotowego zestawu odczynników Rat TNF-α Quantikine ELISA Kit (*R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN*,

USA). W metodzie tej płytki opłaszczane przeciwciałami dla rekombinowanego szczurzego TNF- α , poddawane są inkubacji ze standardem jakim jest rekombinowany szczurzy TNF- α oraz kontrolą i surowicą badaną. W obecności poszukiwanego antygenu powstaje kompleks antygen-przeciwciało. Następnie podaje się wyznakowane przeciwciało przeciwko poszukiwanemu antygenowi powstaje kompleks stąd nazwa „metoda kanapkowa”. Dodanie substratu dla znacznika związanego z przeciwciałem drugorzędowym pozwala na odczytanie wartości przy określonej długości fali i weryfikację z krzywą standardową.

CRP

Stężenie CRP oznaczane było w surowicy krwi metodą immunoenzymatyczną ELISA przy wykorzystaniu gotowego zestawu odczynników (*R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA*). W tej metodzie płytki opłaszczane są mysim przeciwciałem przeciwko szczurczemu CRP. Opłaszczone płytki inkubowane są ze standardem CRP i badaną surowicą, następnie z mysim przeciwciałem przeciwko szczurczemu CRP znakowanym biotyną. Podanie streptawidyny w koniugacie z peroksydazą chrzanową i substratu dla enzymu pozwala na odczytanie wartości absorbancji przy określonej długości fali i weryfikację z krzywą standardową.

TAS

Całkowity status antyoksydacyjny TAS (ang. *total antioxidant status*) oznaczano metoda kolorymetryczną przy zastosowaniu gotowego zestawu odczynników Tas Randox kit (*Randox Laboratories, Ltd, Crumlin, UK*). W metodzie tej do próbki z surowicą dodaje się ABTS (*2,2'-azobis-3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian*) z peroksydazą i wodą utlenioną co skutkuje wytworzeniem się rodnikowego kation ABTS $\bullet+$ i niebiesko-zielonego koloru wykrywanego przy odpowiedniej długości fali w badanej próbie. Obecność badanej próbie surowicy przeciwutleniaczy powstrzymuje tę reakcję i powstawanie zabarwienia. Spektrofotometryczna ocena stopnia zabarwienia informuje o stężeniu przeciwutleniaczy w badanej próbie.

6. ANALIZA STATYSTYCZNA

Obliczenia statystyczne wykonywano stosując program Statistica PL v 10.0 (*StatSoft, Inc, 2011*). Wyniki przedstawiono za pomocą średniej \pm odchylenie standardowe (SD). Za pomocą testu Shapiro-Wilka sprawdzono zgodność zmiennych z rozkładem normalnym. Wartości zmiennych o rozkładzie normalnym porównano stosując analizę wariancji (ANOVA) z testem post-hoc Tukey'a. Dla porównania zmiennych, których rozkład istotnie odbiegał od normalnego zastosowano testy Kruskala–Wallisa z testem post-hoc Dunna. Dla zmiennych zgodnych z rozkładem normalnym stosowano test liniowej korelacji Pearsona. Test korelacji rang Spearmana wykorzystywano dla zmiennych nie wykazujących zgodności z rozkładem normalnym. Wszystkie wykazane różnice przyjęto za statystycznie istotnie przy poziomie istotności $p < 0,05$.

7. KRYTYKA METODY

Model nadciśnienia tętniczego wykorzystany w obecnej pracy do badania zmiany wartości wybranych parametrów po suplementacji ekstraktem z zielonej herbaty nie jest modelem genetycznym nadciśnienia tętniczego. Szczury szczepu Wistar biorące udział w eksperymencie są zwierzętami normotensyjnymi i nie należą do szczepów samoistnie rozwijających nadciśnienie tętnicze. Według niektórych danych szczury Wistar w wieku powyżej 24 miesięcy rozwijają jednak cechy zespołu metabolicznego będąc na standardowej diecie (110) jakkolwiek zwierzęta doświadczalne w niniejszej pracy były młodymi osobnikami. Wpływ diety wysokosodowej na nieprawidłowości w zakresie profilu lipidowego, węglowodanowego i wartości parametrów obrazujących poziom stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego potwierdzany wcześniej w innych badaniach (56) (58), nie stanowił przedmiotu niniejszej pracy doktorskiej, co tłumaczy nie uwzględnienie w planie eksperymentu grupy zwierząt karmionych jedynie dietą standardową. Zwiększona podaż NaCl była wymagana do konstrukcji modelu nadciśnienia tętniczego. W badaniu skupiono się na wpływie czynnika jakim jest zielona herbata w diecie na wybrane parametry ściśle powiązane z dysfunkcją śródbłonna naczyniowego i towarzyszące rozwojowi nadciśnienia tętniczego w

wywołanym już modelu nadciśnienia tętniczego. Wydaje się, że wartościowe byłoby rozszerzenie powyższego doświadczenia o grupę szczurów ze szczepu SHR i porównanie wrażliwości parametrów badanych w pracy na działanie zielonej herbaty pomiędzy dwoma szczepami szczurów. Nie ulega wątpliwości, że daleko idącym uproszczeniem byłoby bezpośrednie odwoływanie się do analogii pomiędzy badanym w niniejszej pracy eksperymentalnym modelem nadciśnienia tętniczego a bezpośrednim powiązaniem rozwoju nadciśnienia tętniczego z nadmiarem sodu charakterystycznym dla diety w dzisiejszym społeczeństwie. Należy jednak mieć na uwadze, że NaCl jest tylko jednym z wielu czynników biorących udział w patogenezie nadciśnienia tętniczego.

IV. WYNIKI

W doświadczeniu brało udział 30 szczurów. Populację zwierząt podzielono na trzy grupy – rysunek 5. Grupę pierwszą (SK) stanowiły szczury karmione dietą standardową z dodatkiem 35 g NaCL/kg diety, grupę drugą (SH2) szczury karmione dietą standardową z dodatkiem 35 g NaCL/kg diety i 2 g ekstraktu z zielonej herbaty/kg diety. Grupa trzecia (SH4) obejmowała szczury karmione dietą standardową z dodatkiem 35 g NaCL/kg diety i 4 g ekstraktu z zielonej herbaty /kg diety. Czas trwania doświadczenia wyniósł 6 tygodni. Eksperyment ukończyły wszystkie szczury.

Zarówno stosowana dieta wysokosodowa jak i suplementacja zieloną herbatą nie wpłynęła na masę ciała szczurów w poszczególnych grupach. Masa ciała szczurów po zakończeniu doświadczenia nie różniła się istotnie statystycznie pomiędzy badanymi grupami – tabela 3.

Tabela 3. Masa ciała szczurów po zakończeniu doświadczenia.

	GRUPA	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	SD	p testu
Masa ciała (g)	SK	10	287,50	286,00	265,00	315,00	16,22	0,7174
	SH2	10	282,90	282,00	267,00	309,00	14,70	
	SH4	10	286,70	288,00	259,00	312,00	16,98	

SK - grupa kontrolna, SH2 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 2g /kg diety, SH4 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 4 g/kg diety

1. WARTOŚCI CIŚNIENIA SKURCZOWEGO I ROZKURCZOWEGO

Średnie wartości ciśnienia skurczowego (SBP) i rozkurczowego (DBP) u szczurów na początku doświadczenia wynosiły odpowiednio 113,9±4,5 mmHg i 72,2±3,4 mmHg.

Na końcu eksperymentu wartości SBP w grupach SH2 i SH4 były istotnie statystycznie niższe niż w grupie kontrolnej SK – (odpowiednio p<0,001 i p<0,05).

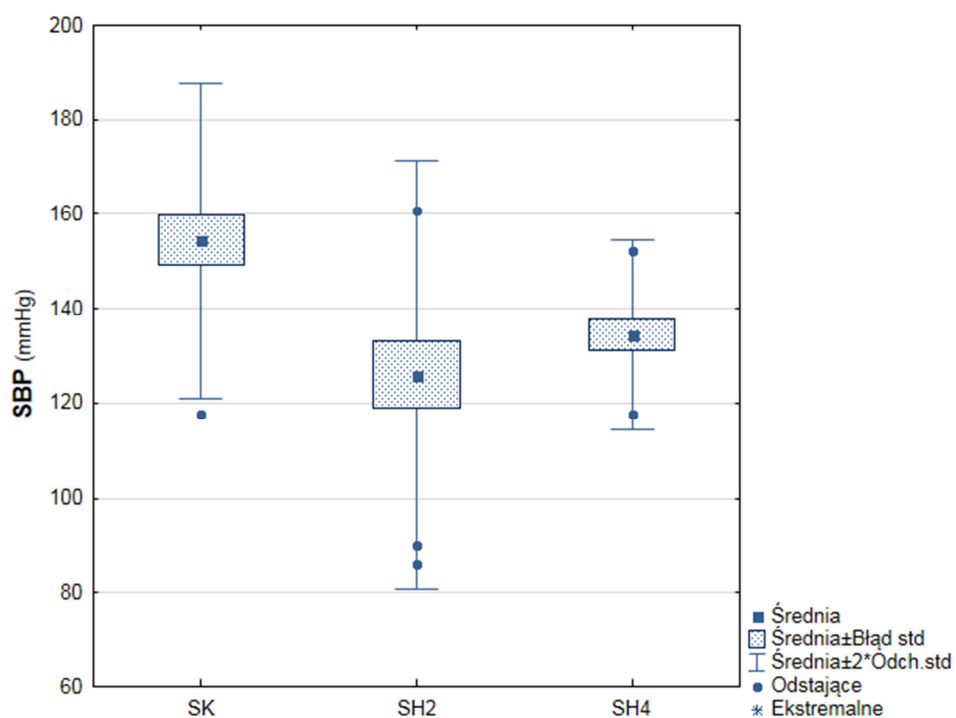
Ponadto grupę SH4 cechowały znamienne niższe wartości DBP w porównaniu do grupy SK ($p < 0,01$). Wartości ciśnienia DBP nie różniły się istotnie pomiędzy grupami SH2 i SK. Szczegółowe dane przedstawiono w tabeli 4 oraz na rysunkach 7 i 8.

Tabela 4. Wartości ciśnienia tętniczego w poszczególnych grupach szczurów po 6 tygodniach eksperymentu.

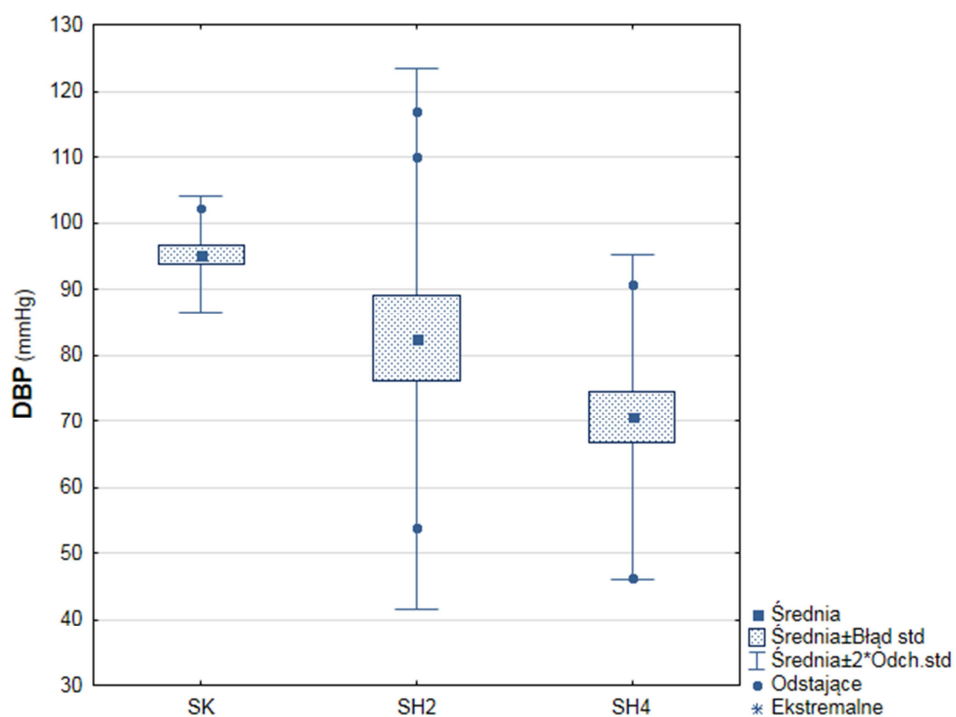
	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	SD	p testu
SBP (mmHg)	SK	10	154,5	155,8	117,7	172,3	16,7	0,0066
	SH2	10	126,0	131,9	86,1	160,8	22,6	
	SH4	10	134,5	135,0	117,7	152,3	10,1	
DBP (mmHg)	SK	10	95,2	95,0	90,0	102,3	4,4	0,0033
	SH2	10	82,5	76,9	53,8	116,9	20,5	
	SH4	10	70,6	69,6	46,1	90,8	12,3	

Parametry we wszystkich grupach były zgodne z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka).

SBP – skurczowe ciśnienia tętnicze, DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze, SK - grupa kontrolna, SH2 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 2 g/kg diety, SH4 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 4 g/kg diety



Rysunek 7. Porównanie wartości SPB pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.



Rysunek 8. Porównanie wartości DPB pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.

1. STĘŻENIA PARAMETRÓW GOSPODARKI LIPIDOWEJ

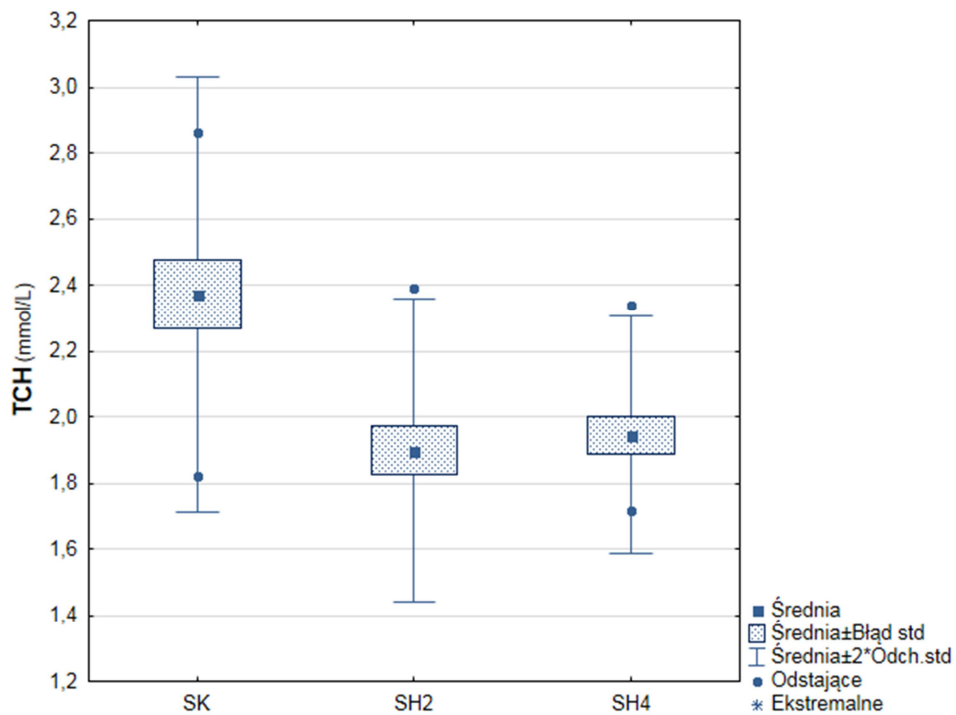
W grupach szczurów, które otrzymywały ekstrakt z zielonej herbaty SH2 i SH4 stwierdzono znamienne niższe stężenia cholesterolu całkowitego TCH w porównaniu do grupy kontrolnej SK – (odpowiednio $p < 0,001$ i $p < 0,01$). Podobną zależność stwierdzono dla stężenia LDL – (odpowiednio $p < 0,01$ i $p < 0,01$). Stężenia HDL i TG nie różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami. Wyniki przedstawiono w tabeli 5 oraz na rysunkach 9 i 10.

Tabela 5. Stężenia parametrów gospodarki lipidowej w poszczególnych grupach szczurów po 6 tygodniach eksperymentu.

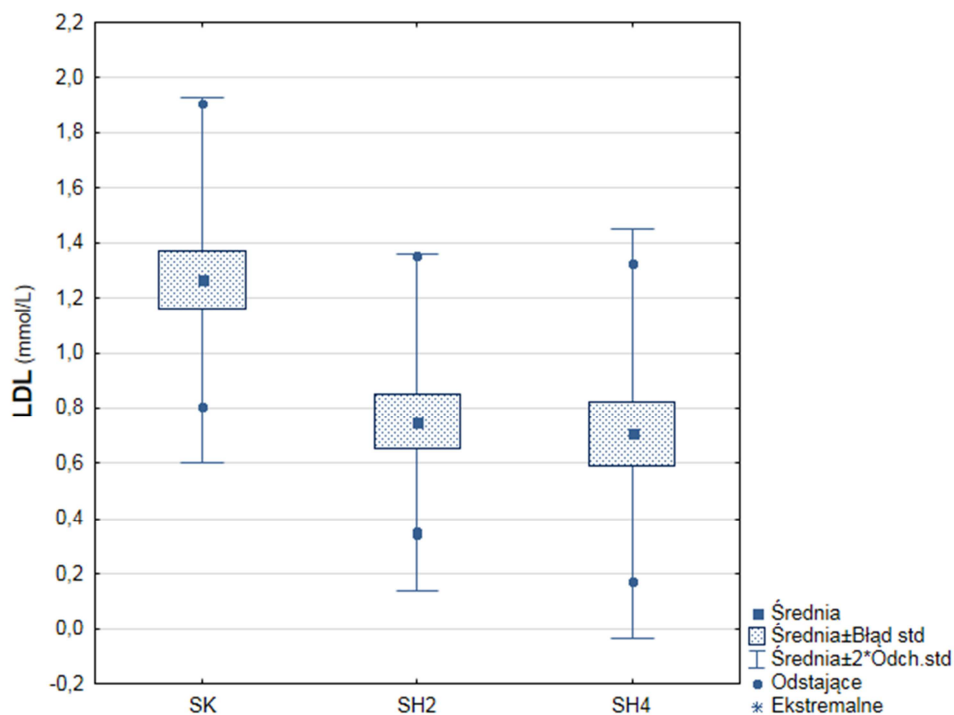
	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	SD	p testu
TCH (mmol/L)	SK	10	2,37	2,42	1,82	2,86	0,33	0,0033
	SH2	10	1,90	1,90	1,61	2,39	0,23	
	SH4	10	1,94	1,92	1,72	2,34	0,18	
LDL (mmol/L)	SK	10	1,27	1,30	0,81	1,90	0,33	0,0037
	SH2	10	0,75	0,82	0,34	1,35	0,30	
	SH4	10	0,71	0,70	0,17	1,33	0,37	
HDL (mmol/L)	SK	10	0,91	0,87	0,72	1,09	0,12	0,2814
	SH2	10	0,99	0,98	0,62	1,31	0,23	
	SH4	10	1,08	1,08	0,62	1,44	0,27	
TG (mmol/L)	SK	10	0,43	0,41	0,27	0,58	0,11	0,1144
	SH2	10	0,35	0,32	0,25	0,46	0,07	
	SH4	10	0,35	0,35	0,30	0,44	0,04	

Parametry we wszystkich grupach były zgodne z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka).

TCH – cholesterol całkowity, LDL – cholesterol frakcji LDL, HDL – cholesterol frakcji HDL, TG – triglicerydy, SK - grupa kontrolna, SH2 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 2 g/kg diety, SH4 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 4 g/kg diety



Rysunek 9. Porównanie stężenia TCH pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.



Rysunek 10. Porównanie stężenia LDL pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.

2. PARAMETRY GOSPODARKI WĘGLOWODANOWEJ

Stężenia glukozy nie różniły się istotnie pomiędzy badanymi grupami – tabela 6.

Stwierdzono znamienne niższe stężenia insuliny w grupach SH4 w porównaniu do grupy SK – ($p < 0,01$). Stężenie insuliny między grupami SH2 i SK nie różniły się istotnie.

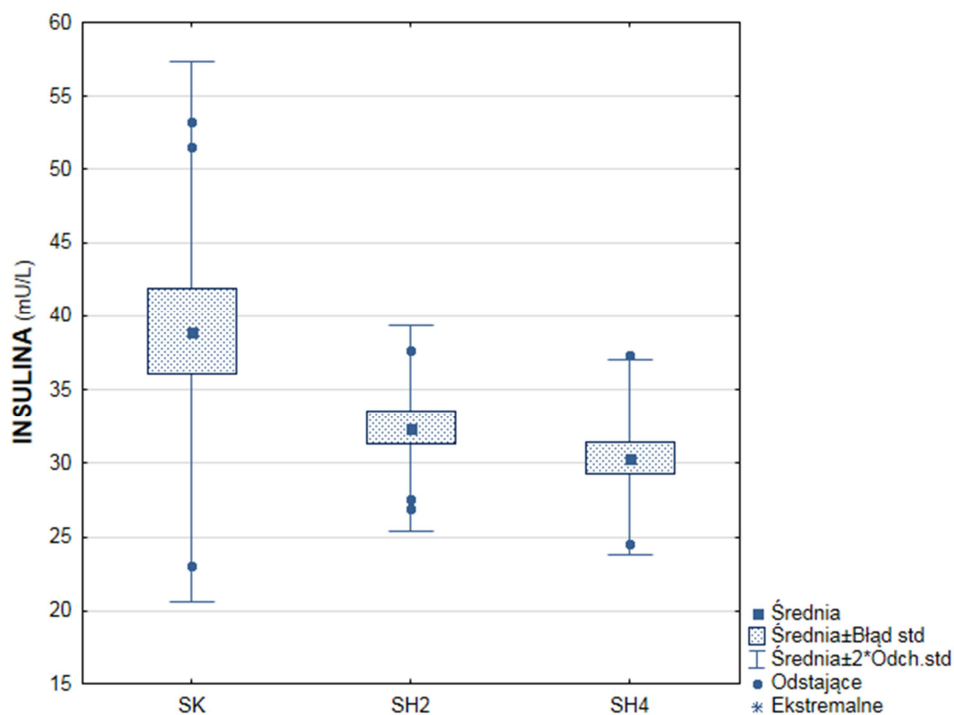
Grupę SH2, jak i SH4 cechowały znamienne statystycznie niższe wartości wskaźnika insulinooporności HOMA w porównaniu do grupy SK – (odpowiednio $p < 0,05$ i $p < 0,01$). Wyniki przedstawiono w tabeli 6 oraz na rysunkach 11 i 12.

Tabela 6. Stężenia parametrów gospodarki węglowodanowej w poszczególnych grupach szczurów po 6 tygodniach eksperymentu.

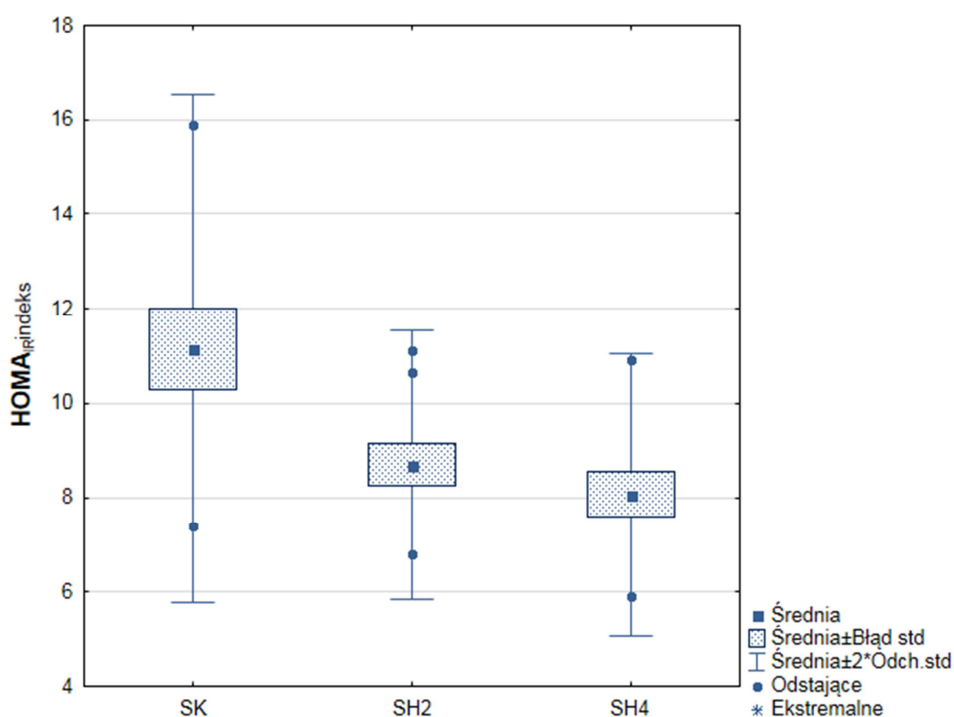
	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	SD	p testu
GLU (mmol/L)	SK	10	6,48	6,68	5,47	7,24	0,70	0,178
	SH2	10	6,02	5,94	5,29	6,76	0,51	
	SH4	10	5,94	5,85	5,18	7,18	0,67	
INS (mU/L)	SK	10	38,97	38,23	23,01	53,20	9,19	0,0164
	SH2	10	32,39	33,44	26,97	37,64	3,50	
	SH4	10	30,39	29,75	24,57	37,31	3,32	
HOMA	SK	10	11,16	11,20	7,40	15,91	2,69	0,0128
	SH2	10	8,69	8,42	6,79	11,12	1,42	
	SH4	10	8,06	7,92	5,91	10,92	1,50	

Parametry we wszystkich grupach były zgodne z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka).

GLU – glukoza, INS – insulina, HOMA – wskaźnik insulinooporności, SK - grupa kontrolna, SH2 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 2 g/kg diety, SH4 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 4 g/kg diety



Rysunek 11. Porównanie stężenia insuliny pomiędzy grupami szczurów w modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.



Rysunek 12. Porównanie wskaźnika insulinooporności HOMA pomiędzy grupami szczurów w modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.

3. STĘŻENIA PARAMETRÓW PROCESU ZAPALNEGO I STRESU OKSYDACYJNEGO

Stężenia TNF- α były znamienne statystycznie niższe w grupie SH4 w porównaniu do grupy SK – ($p < 0,01$). Nie obserwowano istotnie statystycznej różnicy stężeń tego parametru pomiędzy grupami SH2 i SK – tabela 7 i rysunek 13.

Stężenia CRP nie różniły się pomiędzy badanymi grupami – tabela 7.

Szczury z obu grup otrzymujących ekstrakt z zielonej herbaty SH2 i SH4 charakteryzowały istotnie statystycznie wyższe wartości TAS w porównaniu do grupy kontrolnej SK – (odpowiednio $p < 0,001$ i $p < 0,01$). Ponadto wykazano istotnie statystycznie wyższe wartości TAS w grupie SH4 w porównaniu do grupy SH2 – ($p < 0,05$). Dane przedstawiono w tabeli 7 i na rysunkach 13 i 14.

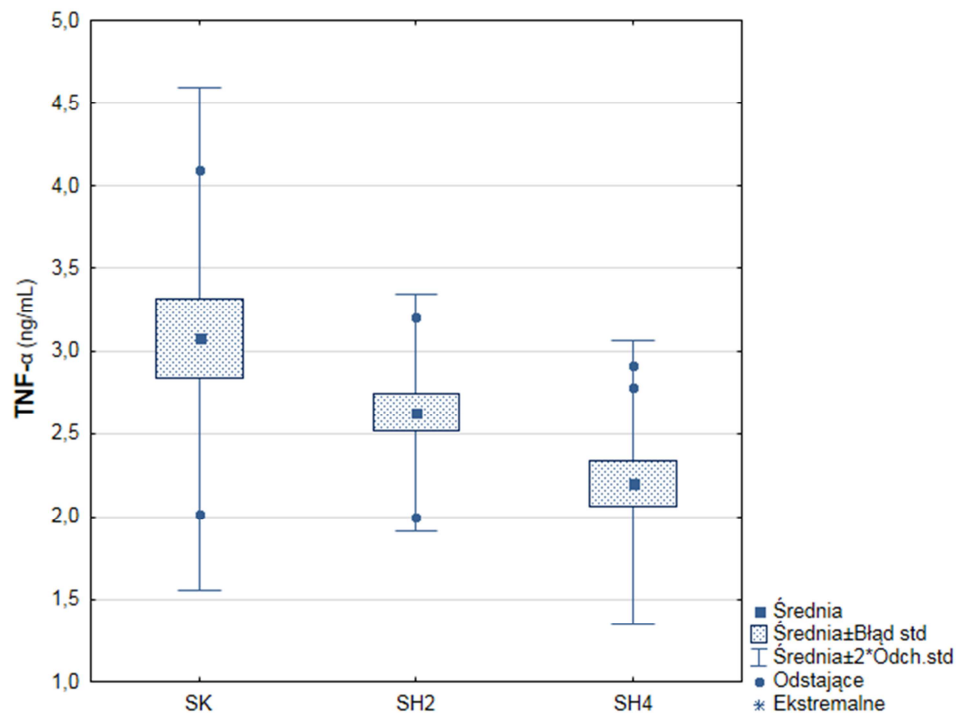
Tabela 7. Stężenia parametrów zapalnych i stresu oksydacyjnego w modelu nadciśnienia tętniczego w poszczególnych grupach szczurów po 6 tygodniach eksperymentu.

	Grupa	N	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	SD	p testu
TNF-α (ng/mL)	SK	10	3,08	3,37	2,02	4,10	0,76	0,0095
	SH2	10	2,63	2,70	2,00	3,20	0,36	
	SH4	10	2,20	1,98	1,76	2,91	0,43	
CRP (ng/mL)	SK	10	82,20	83,50	75,00	87,00	3,77	0,07
	SH2	10	79,80	79,50	76,00	84,00	2,74	
	SH4	10	78,70	78,50	75,00	84,00	3,16	
TAS (mM)	SK	10	1,09	0,95	0,88	1,60	0,27	0,0001
	SH2	10	1,69	1,80	1,22	1,93	0,25	
	SH4	10	2,23	2,23	2,08	2,31	0,07	

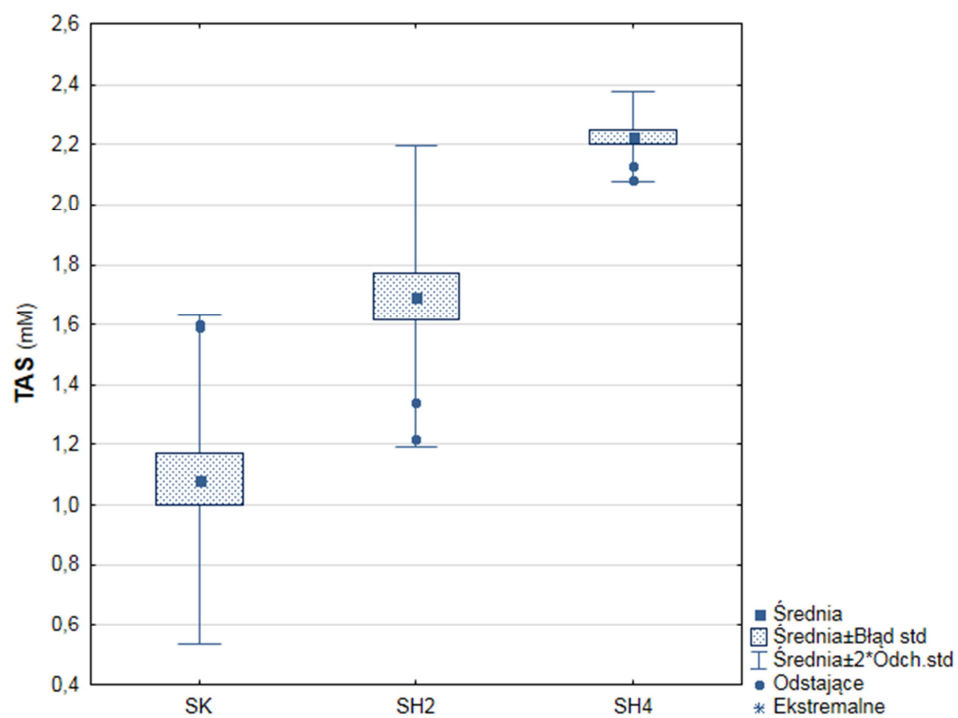
Parametry dotyczące CRP we wszystkich grupach były zgodne z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka).

Część parametrów dla TNF- α i TAS nie była zgodna z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka).

TNF- α – czynnik martwicy nowotworów, CRP – białko C-reaktywne, TAS – całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza, SH2 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 2 g/kg diety, SH4 - grupa otrzymująca ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 4 g/kg diety



Rysunek 13. Porównanie stężenia TNF- α pomiędzy grupami szczurów w modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.



Rysunek 14. Porównanie poziomu TAS pomiędzy grupami szczurów w modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.

5. ANALIZA KORELACYJNA POMIĘDZY BADANYMI PARAMETRAMI

Analizę korelacji przeprowadzono w całej badanej populacji szczurów i dotyczyła ona wzajemnej oceny zależności pomiędzy badanymi parametrami. Poniżej przedstawiono istotnie statystyczne zależności.

5.1. Związek poziomu całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza z wartościami ciśnienia tętniczego, parametrami gospodarki lipidowej, węglowodanowej i TNF- α .

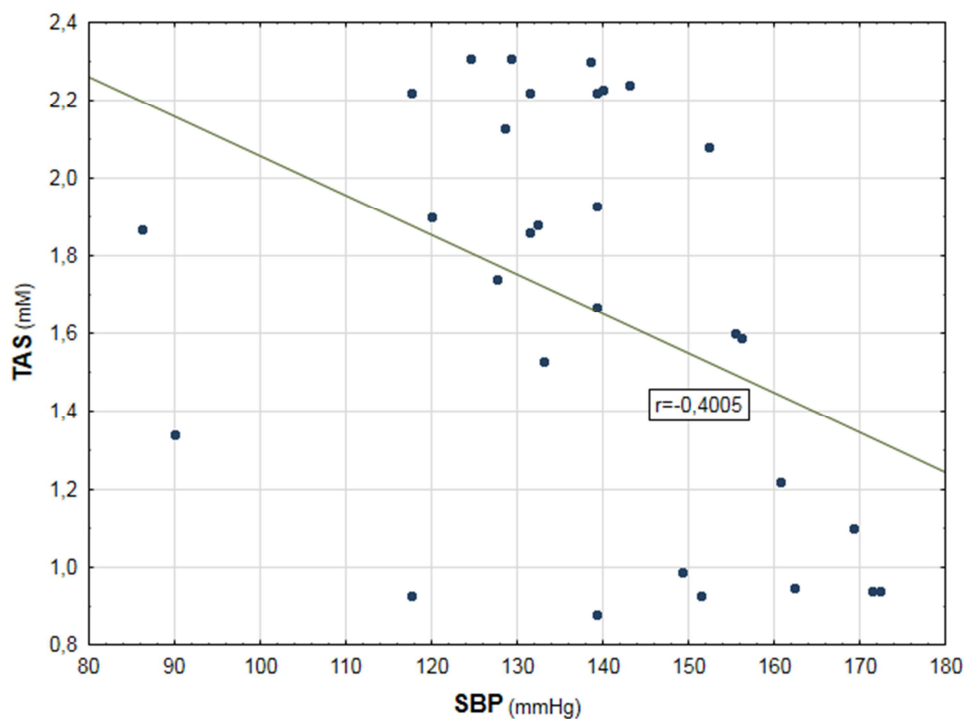
W populacji szczurów obejmującej wszystkie trzy grupy (SK, SH2, SH4) łącznie stwierdzono występowanie istotnej statystycznie ujemnej korelacji pomiędzy poziomem TAS a SBP, DBP, TCH, LDL, INS, HOMA i TNF- α . Szczegółowe dane przedstawiono w tabeli 8 i na rysunkach 15-21.

Tabela 8. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy TAS a ocenianymi parametrami w całej badanej populacji szczurów.

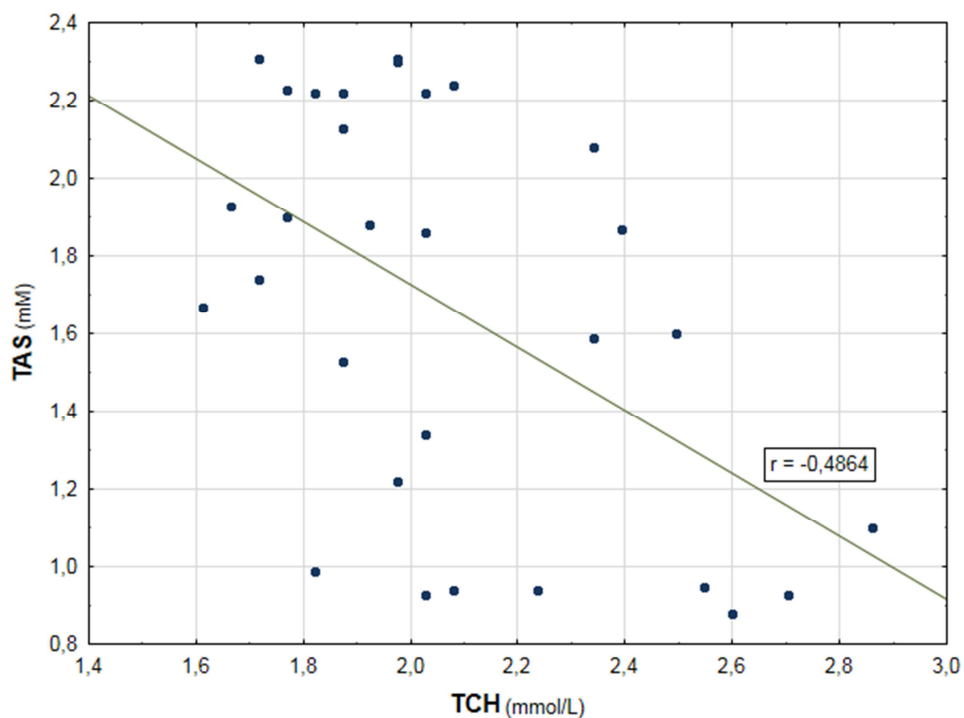
Korelowane parametry	N	współczynnik korelacji R	p
TAS (mM) & SBP (mmHg)	30	-0,4005	0,0283
TAS (mM) & DBP (mmHg)	30	-0,6460	0,0001
TAS (mM) & TCH (mmol/L)	30	-0,4864	0,0064
TAS (mM) & LDL (mmol/L)	30	-0,5184	0,0033
TAS (mM) & INS (mU/L)	30	-0,4476	0,0131
TAS (mM) & HOMA	30	-0,4605	0,0104
TAS (mM) & TNF-α (ng/mL)	30	-0,5083	0,0041

Parametry tj TCH, TG, glukoza, insulina, HOMA, TAS oszacowane w odniesieniu do łącznie wszystkich trzech grup nie były zgodne z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka).

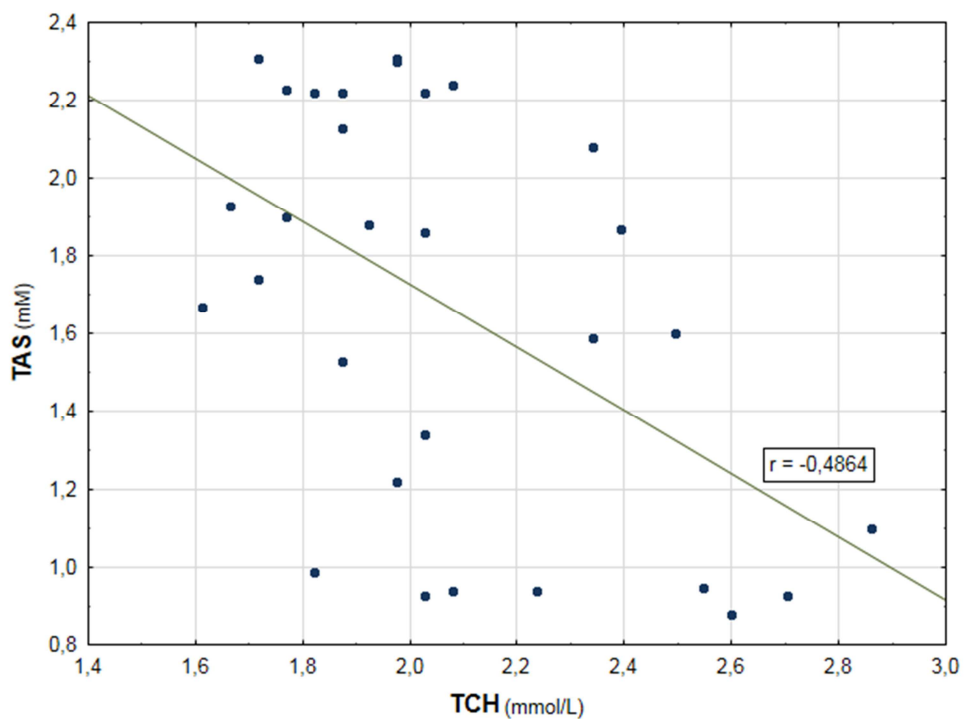
TAS – całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza, SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze, DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze, TCH – cholesterol całkowity, LDL – cholesterol frakcji LDL, GLU – glukoza, INS – insulina, HOMA – wskaźnik insulinooporności, TNF- α – czynnik martwicy nowotworów



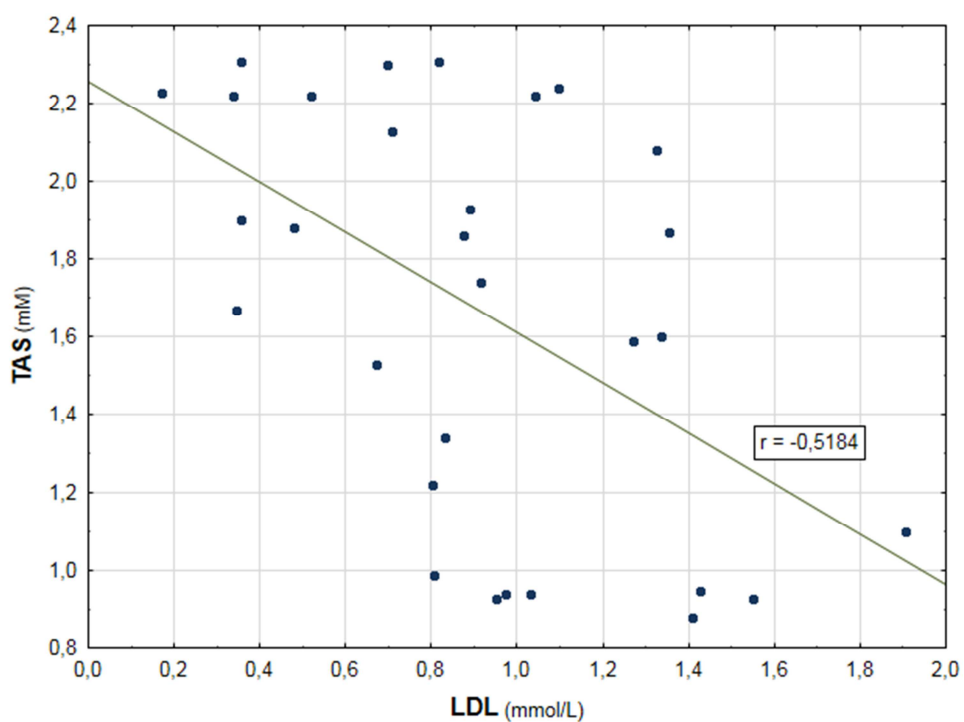
Rysunek 15. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a średnimi wartościami SBP.



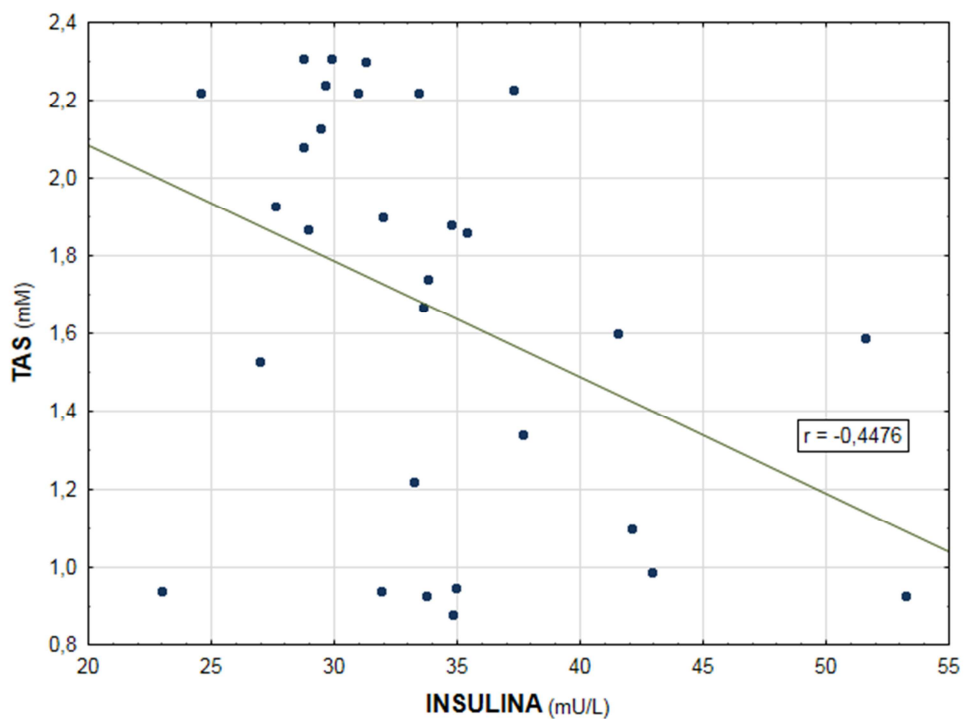
Rysunek 16. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a średnimi wartościami DBP.



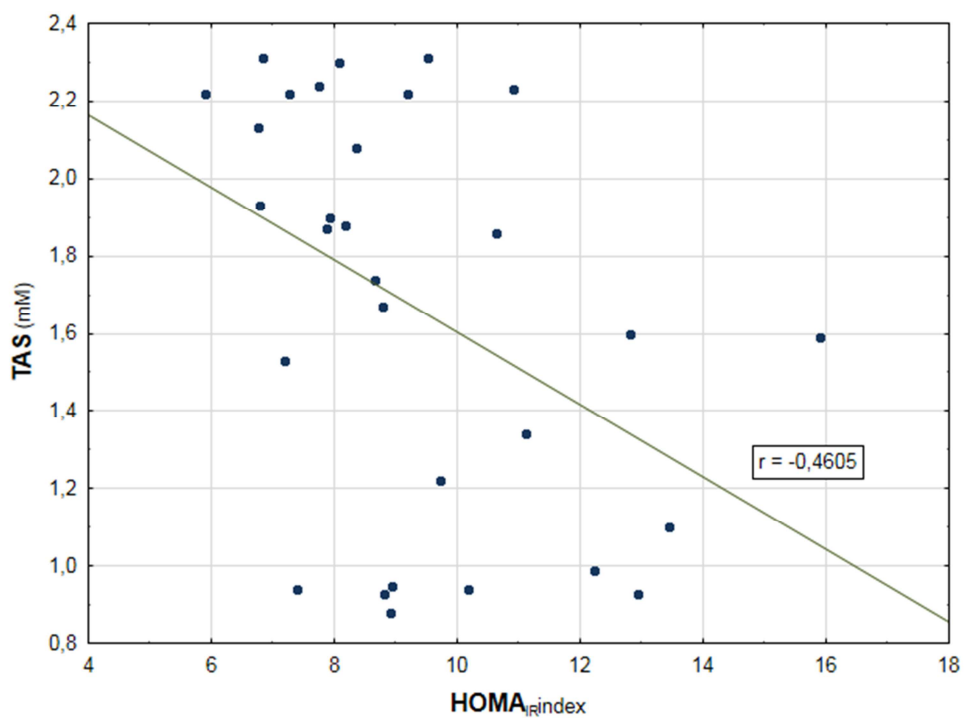
Rysunek 17. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a stężeniem TCH.



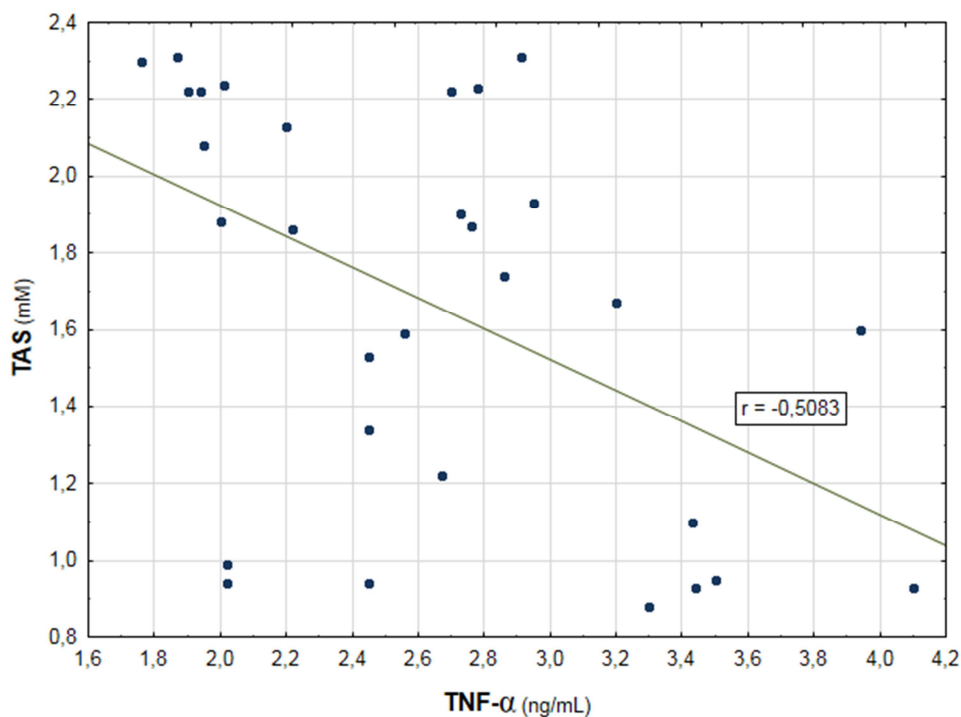
Rysunek 18. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a stężeniem LDL.



Rysunek 19. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a stężeniem insuliny.



Rysunek 20. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a wskaźnikiem HOMA.



Rysunek 21. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a stężeniem TNF- α .

5.2. Związek stężenia parametrów stanu zapalnego z parametrami gospodarki węglowodanowej i wartościami ciśnienia tętniczego

W populacji szczurów obejmującej wszystkie trzy grupy (SK, SH2, SH4) łącznie stwierdzono występowanie istotnej statystycznie dodatniej korelacji pomiędzy poziomem TNF- α a INS i HOMA. Poziom CRP wykazywał dodatnią zależność ze średnimi wartościami ciśnienia SBP. Szczegółowe dane przedstawiono w tabeli 9 i na rysunkach 22-24.

Tabela 9. Korelacje pomiędzy TNF- α oraz CRP i ocenianymi parametrami w całej badanej populacji szczurów.

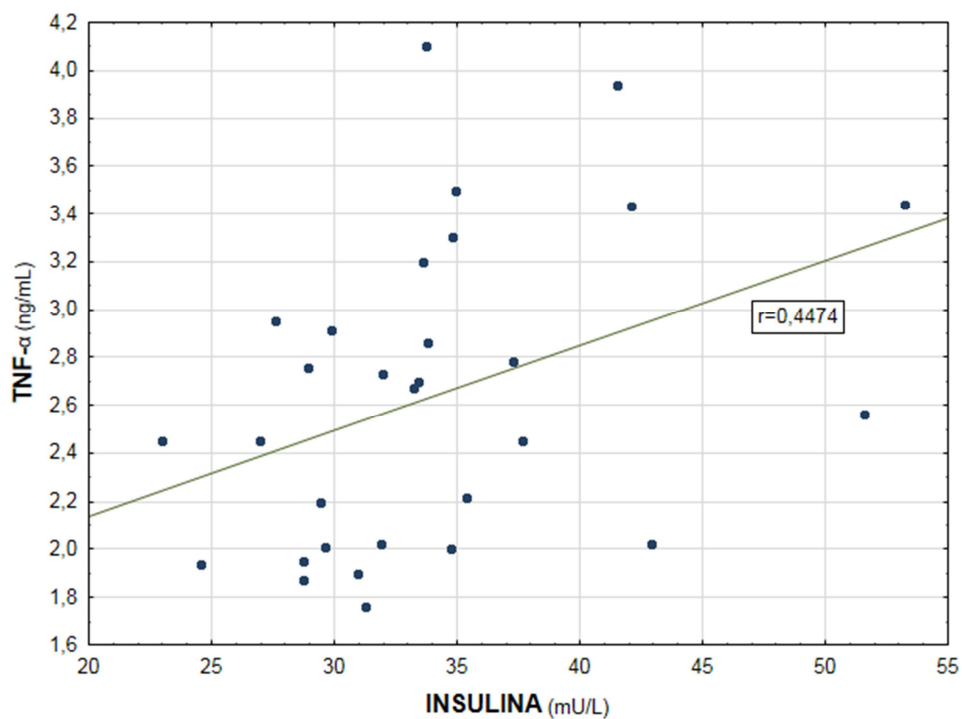
Korelowane parametry	N	współczynnik korelacji R	p
TNF- α (ng/mL) & INS (mU/L)	30	0,4474	0,0132
TNF- α (ng/mL) & HOMA	30	0,4423	0,0144
CRP & SBP (mmHg)	30	0,4258	0,0190

Parametry tj TCH, TG, glukoza, insulina, HOMA, TAS oszacowane w odniesieniu do łącznie wszystkich trzech grup nie były zgodne z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka).

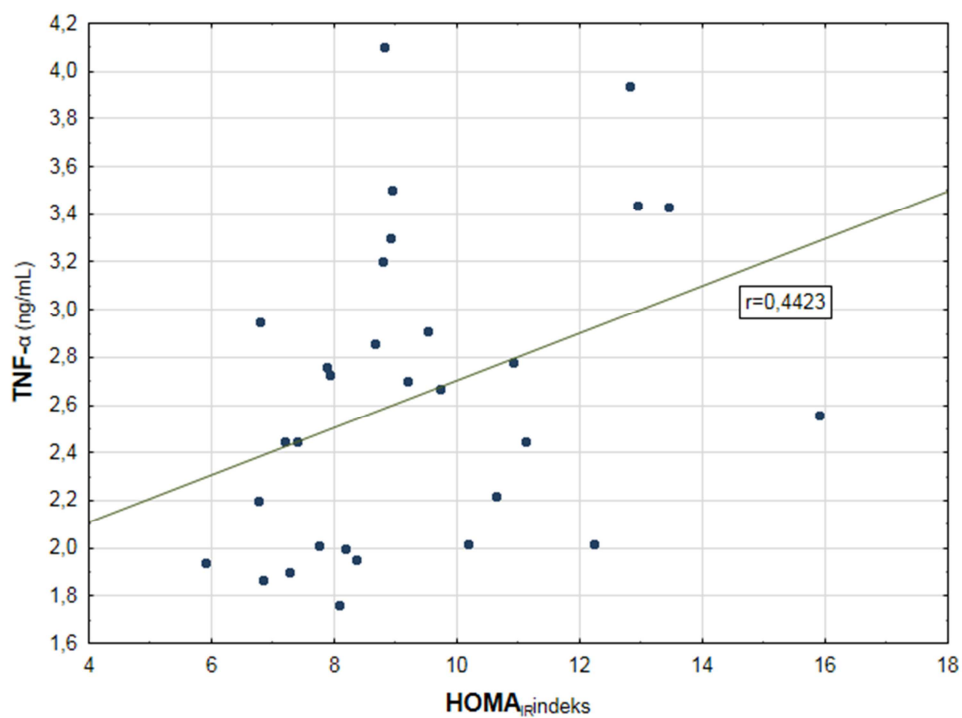
Parametry CRP, SBP i DBP oszacowane w odniesieniu do łącznie wszystkich trzech grup były zgodne z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka).

TNF- α – czynnik martwicy nowotworów, INS – insulina, HOMA – wskaźnik insulinooporności, CRP – białko C-reaktywne, SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze

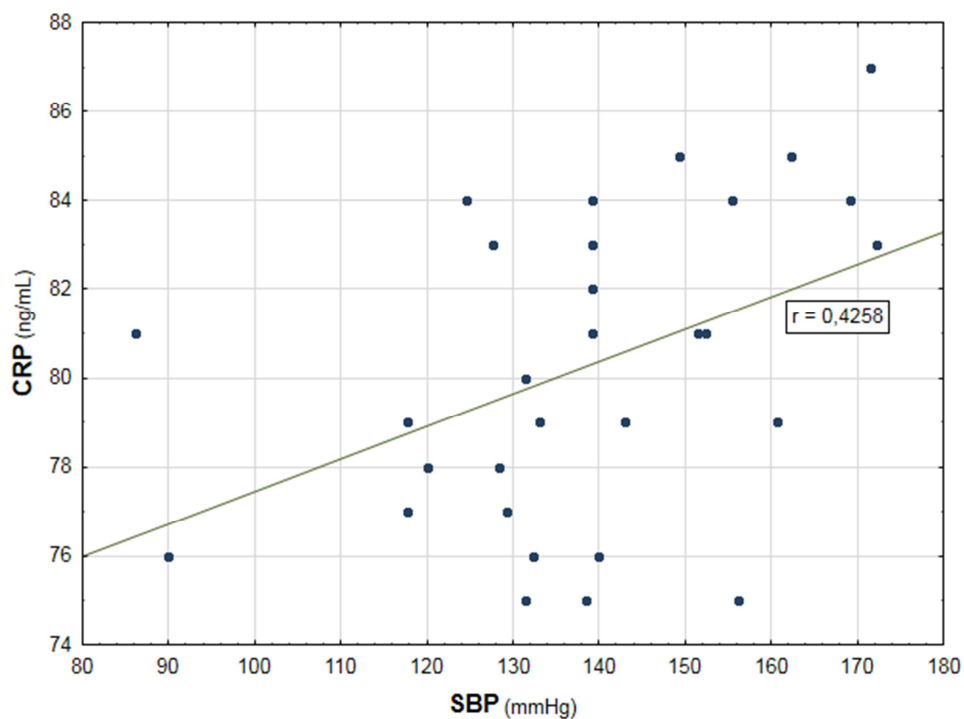
Wybrane korelacje przedstawiono poniżej w formie wykresów rozrzutu (Rys. 22-24).



Rysunek 22. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem TNF- α a stężeniem insuliny.



Rysunek 23. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem TNF- α a wskaźnikiem HOMA.



Rysunek 24. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem CRP a średnimi wartościami skurczowego SBP.

5.3. Związek pomiędzy stopniem nasilenia insulinooporności a parametrami gospodarki lipidowej

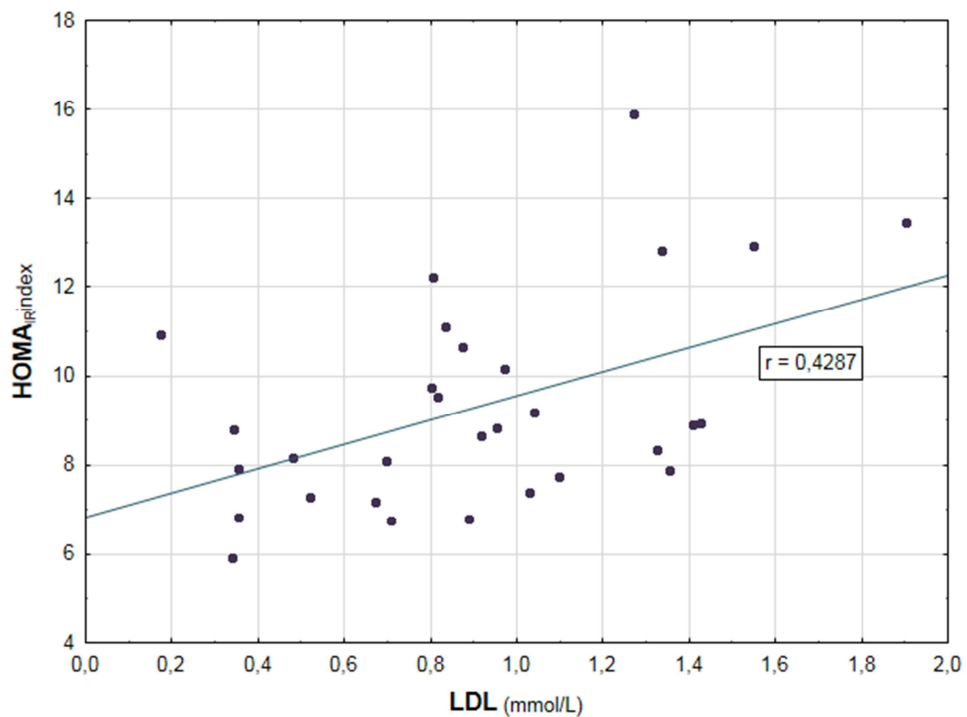
W populacji szczurów obejmującej wszystkie trzy grupy (SK, SH2, SH4) łącznie stwierdzono występowanie istotnej statystycznie dodatniej korelacji pomiędzy wskaźnikiem HOMA a TCH, LDL i TG. Szczegółowe dane przedstawiono w Tabeli 10 i na rysunkach 25 i 26.

Tabela 10. Korelacje pomiędzy wskaźnikiem HOMA a ocenianymi parametrami w całej badanej populacji szczurów.

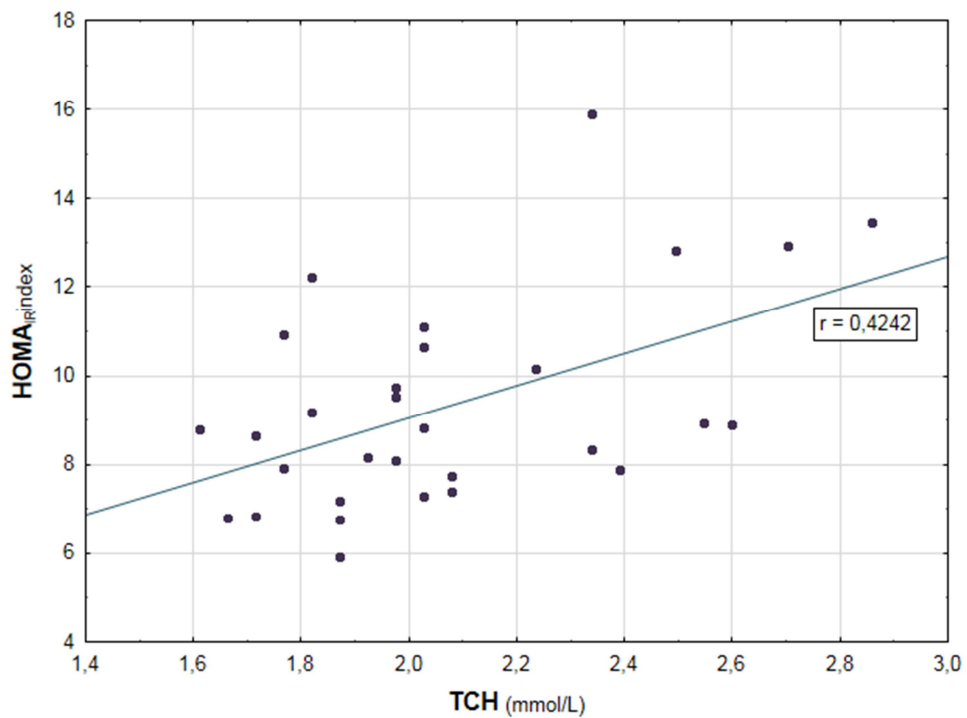
Korelowane parametry	N	współczynnik korelacji R	p
HOMA& TCH (mmol/L)	30	0,4242	0,0195
HOMA & LDL (mmol/L)	30	0,4287	0,0181
HOMA & TG (mmol/L)	30	0,4087	0,0249

Parametry tj TCH, TG, glukoza, insulina, HOMA, TAS oszacowane w odniesieniu do łącznie wszystkich trzech grup nie były zgodne z rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka).

HOMA- wskaźnik insulinooporności, TCH – cholesterol całkowity, LDL – cholesterol frakcji LDL, HDL – cholesterol frakcji HDL, TG - triglicerydy



Rysunek 25. Dodatnia korelacja pomiędzy wartością indeksu HOMA a stężeniem LDL.



Rysunek 26. Dodatnia korelacja pomiędzy wartością indeksu HOMA a stężeniem TCH.

V. DYSKUSJA

1. WPŁYW EKSTRAKTU ZIELONEJ HERBATY NA WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO

W przedstawionej pracy wykazano istotnie statystycznie niższe wartości SBP i DBP w grupie zwierząt otrzymujących ekstrakt z zielonej herbaty w porównaniu do grupy kontrolnej. W przypadku DBP efekt był związany z zastosowaniem jedynie większej dawki tj. 4 g ekstraktu z zielonej herbaty/kg diety, podczas gdy wartości SBP były niższe także w grupie, w której stosowano ekstrakt zielonej herbaty w dawce 2 g/kg diety. Wyniki większości badań eksperymentalnych potwierdzają korzystny wpływ suplementacji zieloną herbatą na wartości ciśnienia tętniczego w różnych modelach zwierzęcych. Potenza i wsp. stwierdzili, że podaż zielonej herbaty powoduje znaczące obniżenie ciśnienia tętniczego u szczurów SHR, które było porównywalne z efektem hipotensyjnym terapii farmakologicznej, w której stosowano enalapril (111). Podobne wyniki badań otrzymali również Negishi i wsp. u szczurów ze spontanicznym nadciśnieniem tętniczym podatnych na występowanie udarów (ang. *spontaneously hypertensive stroke prone rats; SHRSP*) oraz Ihm i wsp. podając ekstrakt zielonej herbaty szczurom z zespołem metabolicznym (112) (113). Także Ikeda i wsp. badając szczury SHRSP wykazali, że grupa zwierząt, której podawano ekstrakt z zielonej herbaty wykazywała mniejszy przyrost wartości ciśnienia tętniczego w porównaniu do szczurów z grupy kontrolnej, co więcej podawana zielona herbata opóźniała wystąpienie udaru u szczurów o średnio 10 dni (114).

Badania kliniczne potwierdzają hipotensyjny efekt działania zielonej herbaty u ludzi, jednak głównie w odniesieniu do interwencji długoterminowych. Badania trwające ≥ 12 tygodni oraz dawki nie przekraczające 500 mg katechin zielonej herbaty dziennie istotnie obniżały wartość ciśnienia tętniczego skurczowego i rozkurczowego w porównaniu do grup kontrolnych (115). Zaobserwowano, że efekt hipotensyjny zielonej herbaty był większy u pacjentów z wysokim prawidłowym ciśnieniem tętniczym oraz nadciśnieniem tętniczym I stopnia (116). Największą zdolność do obniżania ciśnienia tętniczego obserwowano przy dziennej podaży 150-200 mg EGCG, odpowiadającej konsumpcji 5-6 filiżanek zielonej herbaty dziennie (117).

Ze względu na obecność w zielonej herbacie różnych aktywnych związków takich jak kofeina, α -teanina czy katechiny działanie tego napoju na wartości ciśnienia tętniczego może być zróżnicowane. Zależny od dawki efekt działania podawanej dootrzewnowo α -teaniny na obniżenie ciśnienia krwi wykazano u szczurów SHR (118). Badania eksperymentalne przeprowadzone przez Ihm i wsp. (113) u szczurów Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) stanowiących model zespołu metabolicznego wykazały, że ekstrakt z zielonej herbaty pozbawiony kofeiny w korzystny sposób wpływa na wartości ciśnienia tętniczego. Wyniki metaanalizy przeprowadzonej przez Peng i wsp. (113) wskazują, że właściwości hipotensyjne zielonej herbaty u ludzi zależne są od zawartości kofeiny i polifenoli.

Mechanizm korzystnego wpływu zielonej herbaty na wartości ciśnienia tętniczego pozostaje nie wyjaśniony, jednak uważa się, że ma on związek z jej wielokierunkowymi właściwościami. Ekstrakt z zielonej herbaty reguluje homeostazę naczyniową poprzez wpływ na produkcję substancji naczyniozwiązujących, w tym angiotensyny II, prostaglandyny, endoteliny-1 jak również substancji naczyniorozszerzających takich jak prostacyklina (119). W badaniach Actis-Boretta i wsp. zaobserwowano, że katechiny zielonej herbaty istotnie hamują aktywność eozymu konwertazy angiotensyny (ang. *angiotensin-converting enzyme*; ACE), który odgrywa istotną rolę w regulacji ciśnienia tętniczego. Autorzy sugerują, że efekt ten wynika z budowy katechin i związany jest z ich wysoką masą molekularną oraz rozmieszczeniem grup hydroksylowych tworzących wiązania wodorowe z ACE (120). Endotelina-1 (ET-1) odznacza się najsilniejszym działaniem presyjnym spośród znanych hormonów wpływających na układ sercowo-naczyniowy. Chad i wsp. w badaniach na ludzkich komórkach śródbłonna aorty wykazali, że podaż EGCG w dawkach 10 μ M znacząco obniża ekspresję i sekrecję endoteliny 1 na drodze stymulacji czynnika transkrypcyjny O1 z rodziny *forkhead* (FOXO1) (121). Ponadto Mizugaki i wsp. odkryli, że dodatek EGCG w ilości 25-200 μ M powoduje zależne od dawki zwiększenie produkcji związków naczyniorozszerzających tj. prostacyklin w bydłych komórkach śródbłonna (122). Zielona herbata aktywuje również eNOS, katalizującą produkcję NO z jej prekursora L-argininy, poprzez fosforylację kinazy 3-fosfatydyloinozytolu (PI3K), co skutkuje zwiększeniem produkcji i biodostępności śródbłonkowego NO (109). Ponadto wzrastająca liczba dowodów sugeruje, że katechiny zielonej herbaty mogą wpływać na ekspresję genów związanych z sygnalizacją komórkową. W badaniach na ludzkich komórkach linii pierwotnej śródbłonna naczyń (ang. *human umbilical vein endothelial*

cells; HUVEC) z użyciem 50 μ M EGCG zaobserwowano zmniejszenie lub zwiększenie ekspresji 65 z 12 500 genów, z których wiele było zaangażowanych w procesy sygnalizacji komórkowej (123).

2. WPŁYW EKSTRAKTU ZIELONEJ HERBATY NA GOSPODARKE LIPIDOWĄ

W prezentowanej pracy stwierdzono korzystny wpływ zielonej herbaty na parametry profilu lipidowego w tym cholesterolu całkowitego i cholesterolu frakcji LDL. Efekt ten obserwowano w obu grupach zwierząt otrzymujących ekstrakt z zielonej herbaty zarówno w dawce 2 g jak i 4 g/kg diety. Wpływ zielonej herbaty na zmiany profilu lipidowego demonstrowali także inni autorzy w grupie szczurów z hipercholesterolemią karmionych dietą wysokotłuszczową oraz szczurów z cukrzycą indukowaną streptozotocyną (124). Alshwatti i wsp. obserwowali niższe stężenia cholesterolu całkowitego i jego frakcji LDL u szczurów szczepu Wistar karmionych przez 35 dni dietą wysokocholesterolową z dodatkiem zielonej herbaty w porównaniu do grupy kontrolnej (125). W niniejszej pracy, u szczurów Wistar, nie zaobserwowano natomiast istotnego wpływu zielonej herbaty na stężenia cholesterolu frakcji HDL, w odróżnieniu od badań, w których zieloną herbatę suplementowano u szczurów karmionych dietą wysokocholesterolową (126) czy szczurów z indukowaną alloksanem cukrzycą (127). Brak zmian stężenia cholesterolu frakcji HDL został z kolei stwierdzony przez innych autorów m.in. w badaniach u szczurów z hipercholesterolemią wywołaną spożyciem sacharozy (128), jak i u zwierząt spożywających w diecie nadmiar estrów cholesterolu (129).

Badanie u szczurów, którym poprzez podanie alloksanu wywoływano cukrzycę pokazały, że suplementacja ekstraktem z zielonej herbaty wzbogaconym dodatkiem katechiny w proszku w dawkach 30 mg i 100 mg/kg/dzień, prowadzi do istotnego obniżenia stężenia LDL i cholesterolu całkowitego. Wielkość tej korzystnej zmiany zależna była od zastosowanej w eksperymencie dawki katechiny (127). Podobnie u szczurów szczepu Sprague Dawley z eksperymentalnie wywołaną otyłością i cukrzycą przy podawaniu różnych dawek wodnego ekstraktu zielonej herbaty tj. 1ml, 2 ml i 4ml

/osobnik/dzień największy korzystny efekt w modyfikacji profilu lipidowego obserwowany był przy największej dawce suplementu (130).

Wyniki badań dotyczące wpływu zielonej herbaty na parametry gospodarki lipidowej u ludzi są obiecujące i wydają się być także zależne od ilości spożywanego napoju. Dzienna konsumpcja 4 filiżanek zielonej herbaty nie powodowała zmian w parametrach profilu lipidowego (131), natomiast konsumpcja ponad 10 filiżanek zielonej herbaty dziennie prowadziła do zmniejszenia stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL oraz triglicerydów (132). Korzystny wpływ zielonej herbaty na stężenia cholesterolu całkowitego i jego frakcji LDL został potwierdzony przez Zheng i wsp. w metaanalizie obejmującej 1136 osób. Autorzy wykazali ponadto, że spożywanie zielonej herbaty nie wpłynęło w istotny sposób na stężenia cholesterolu frakcji HDL (133).

Katechiny zawarte w zielonej herbacie, a w szczególności EGCG, nie są łatwo wchłaniane w jelitach, przez co ich poziom w surowicy krwi jest niewielki. Uważa się, że dzięki słabej absorpcji oraz większej biodostępności w świetle jelita katechiny zielonej herbaty hamują procesy wchłaniania tłuszczu. Zaobserwowano, że podaż ekstraktu zielonej herbaty istotnie obniżała wchłanianie cholesterolu i triglicerydów u szczurów (134). Mieszanina EGCG i ECG efektywniej obniżała wchłanianie cholesterolu niż mieszanina EC i ECG sugerując, że katechiny z resztą kwasu galusowego są silniejszymi inhibitorami tego procesu (134). Odkryto również, że duże znaczenie ma rodzaj składników lipidowej emulsji. Wyniki badań wykazują, że EGCG istotnie obniża absorpcję silnie hydrofobowego α -tokoferolu i cholesterolu, jednocześnie nie wpływając w istotny sposób na wchłanianie mniej hydrofobowych komponentów frakcji lipidowej takich jak retinol czy kwasy tłuszczowe (135). Hamowanie procesu wchłaniania tłuszczu przez katechiny zielonej herbaty związane jest z kilkoma mechanizmami. Badania *in vitro* pokazują, że zielona herbata istotnie hamuje aktywność lipazy trzustkowej odpowiedzialnej za hydrolizę tłuszczu. Dodatkowo katechiny zmieniają fizykochemiczne właściwości lipidowych emulsji poprzez zwiększenie wielkości ich cząsteczek. Zmiany te osłabiają interakcje lipazy trzustkowej z tłuszczami i tym samym zmniejszają stopień hydrolizy (136). EGCG została zidentyfikowana jako główna katechina obecna w lipidowej fazie emulsji odpowiedzialna za te zmiany. EGCG hamuje także aktywność trzustkowej fosfolipazy A2, odpowiedzialnej za hydrolizę fosfatydylocholiny, która jest kluczowym procesem w jelitowym trawieniu i wchłanianiu tłuszczu. Sugeruje się, że hydroksylowe

ugrupowanie EGCG tworzy wiązania wodorowe z hydrofilową grupą fosfatydylocholino znajdującą się na zewnątrz lipidowej emulsji, hamując w ten sposób dostęp do substratu przez fosfolipazę A2 (137). Autorzy uważają również, że EGCG może bezpośrednio wchodzić w interakcje z białkiem enzymu i zmieniać jego konformację oraz aktywność katalityczną (138). Solubilizacja micelarna zhydrolizowanych tłuszczów jest kluczowym krokiem dla wychwytu i wchłaniania lipidów przez enterocyty. Wyniki badań wskazują, że EGCG posiada zdolność do wytrącania nierozpuszczalnych osadów cholesterolu i zmniejszania procesu solubilizacji micelarnej (139). Istotną rolę w wychwycie lipidów przez enterocyty odgrywają także specyficzne białka transportowe zlokalizowane na błonie rąbka szczoteczkowego jelita. Katechiny zawarte w zielonej herbacie mogą tworzyć kompleksy z białkami transportowymi i w ten sposób hamować wychwyt lipidów przez enterocyty (140). Katechiny wpływają na zmiany profilu lipidowego również poprzez bezpośrednie hamowanie procesu syntezy lipidów tj. cholesterolu czy kwasów tłuszczowych. Niedawno odkryto, że katechiny obecne w zielonej herbacie są silnymi i selektywnymi inhibitorami epoksydazy skwalenu, odpowiedzialnej za biosyntezę cholesterolu (141). Dodatkowo wykazano, że EGCG wpływa na zmniejszenie transkrypcji genu syntazy kwasów tłuszczowych (ang. *fatty acid synthase*; FAS) (142), a także hamuje aktywność karboksylazy acetylo-CoA zaburzając tym samym szlak syntezy kwasów tłuszczowych (143).

3. WPŁYW EKSTRAKTU ZIELONEJ HERBATY NA GOSPODARKE WĘGLOWODANOWĄ

Wyniki większości badań wskazują na częste występowanie zaburzeń gospodarki węglowodanowej u osób z nadciśnieniem tętniczym (29). Hiperglikemia działa uszkadzająco na śródbłonek naczyń, zwiększając stres oksydacyjny oraz hamując dostępność NO, co w konsekwencji sprzyja rozwojowi nadciśnienia tętniczego i miażdżycy (144). Ekstrakt z zielonej herbaty istotnie zmniejszał stężenie glukozy u szczurów z cukrzycą wywołaną alloxanem. Zwiększał również tolerancję glukozy u zdrowych szczurów w teście doustnego obciążenia glukozą (145). W niniejszej pracy nie zaobserwowano statystycznie znaczącej różnicy w stężeniu glukozy we krwi w

grupach szczurów otrzymujących ekstrakt z zielonej herbaty w porównaniu do grupy kontrolnej. Islam i wsp. stosując dwie dawki zielonej herbaty 0,5% i 2 % wykazali relatywny spadek stężenia glukozy w grupach szczurów szczepu Sprague-Dawley z cukrzycą indukowaną streptozotocyną (146). Natomiast Haidari i wsp. podobnie jak w przypadku rezultatów prezentowanej pracy, nie zanotowali różnic w stężeniu glukozy u szczurów szczepu Wistar, którym podawano zieloną herbatę w porównaniu do grupy kontrolnej (147).

Badania kliniczne prezentują bardziej spójne rezultaty. W badaniu przekrojowym prowadzonym u ponad 3000 Japończyków, Yamaji i wsp. zaobserwowali, że nieprawidłowe poziomy glikemii na czczo występowały rzadziej u osób spożywających więcej zielonej herbaty (148). Również duże badania epidemiologiczne prowadzone przez Iso i wsp. obejmujące ponad 17 000 osób bez cukrzycy wykazały, że spożywanie powyżej 6 filiżanek zielonej herbaty dziennie wpływało korzystnie na poziomy glikemii, obniżając tym samym ryzyko cukrzycy w porównaniu do osób pijących mniej niż 1 filiżankę zielonej herbaty na tydzień. (101) Podobne wyniki otrzymał Fukino i wsp. u pacjentów ze stanem przedcukrzycowym spożywających przez 2 miesiące napój zielonej herbaty zawierający 456 mg katechin. Wykazano istotną statystycznie redukcję HbA1c w porównaniu z grupą kontrolną, co sugeruje długoterminowe hipoglikemizujące działanie EGCG oraz ochronę przez powikłaniami cukrzycy (149). Hsu i wsp. w czasie 16 tygodniowej terapii zaobserwowali istotne zmniejszenie poziomu insuliny, HOMA-IR oraz HbA1c w grupie pacjentów z cukrzycą typu 2 otrzymujących 856 mg EGCG w odniesieniu do wartości początkowych w tej grupie (105).

Choć optymalna dawka EGCG dla skutecznej kontroli poziomu glukozy nie została jeszcze dokładnie ustalona, większość dowodów z przeprowadzonych badań wskazuje, że dawki w zakresie od 84 do 386 mg EGCG mają korzystny wpływ na stężenia glukozy we krwi (150). Uważa się, że za korzystny wpływ ekstraktu z zielonej herbaty na poziom glikemii odpowiadają szczególne właściwości biologiczne katechin. Wymienia się tu m.in. zmniejszenie wchłaniania węglowodanów w jelicie poprzez inhibicję jelitowej α -amylazy, sacharazy i α -glukozydazy (151) i zmniejszenie jelitowego wychwytu glukozy poprzez inhibicję zależnego od sodu kotransportera glukozy SGLT-1. Stwierdzono, że katechina EGC okazała się w tym przypadku bardziej skuteczna niż EGCG (152). Korzystne właściwości zielonej herbaty wynikać mogą również z hamowania wątrobowej glukoneogenezy poprzez zmniejszenie

ekspresji genów enzymów zaangażowanych w ten proces (153) i zmniejszenie stresu oksydacyjnego (154).

Ważne miejsce w patogenezie nadciśnienia tętniczego odgrywa również insulinooporność, która dotyczy ponad połowy pacjentów z nadciśnieniem tętniczym samoistnym bez rozpoznanej cukrzycy (144). Badania na modelach zwierzęcych potwierdzają korzystny wpływ katechin zawartych w zielonej herbacie na wskaźnik insulinooporności. W prezentowanej pracy zaobserwowano istotne statystyczne zmniejszenie stężenia insuliny w grupie szczurów spożywających ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 4 g/kg diety oraz wskaźnika insulinooporności HOMA w obu grupach szczurów otrzymujących 2g bądź 4g zielonej herbaty/kg diety w porównaniu do kontroli. Badanie prowadzone przez Hinigera i wsp. wskazuje, że podawanie 1-2 gramów zielonej herbaty na kg diety bogatej we fruktozę u szczurów przez okres 6 tygodni, poprawia wrażliwość tkanek na insulinę oraz chroni przed stresem oksydacyjnym w porównaniu do grupy kontrolnej (155). Ostatnie doniesienia z badań przeprowadzonych przez Chung i wsp. u szczurów Wistar, którym podawano dietę wysokotłuszczową wraz z zieloną herbatą wykazały, że wzrost insulinooporności u zwierząt spowodowany dietą wysokotłuszczową może być normalizowany przez podawanie im ekstraktu z zielonej herbaty (156). Stężenie insuliny i wskaźnik HOMA były również wyższe u szczurów szczepu Wistar karmionych dietą z dodatkiem 8% NaCl względem grupy kontrolnej otrzymującej standardową dietę (56).

Znaczenie zależności między insulinoopornością a profilem lipidowym w powiązaniu z działaniem zielonej herbaty obrazują otrzymane w niniejszej pracy dodatnie korelacje pomiędzy indeksem HOMA a TCH, LDL i TG występujące w badanym modelu nadciśnienia tętniczego.

Istotne obniżenie stężenia insuliny obserwowano również w innych modelach eksperymentalnych z wykorzystaniem szczurów. Ten korzystny efekt potwierdzono zarówno u szczurów z zespołem metabolicznym (113), jak również po 12 tygodniowej suplementacji napojem zielonej herbaty (370 mg/kg) u szczurów na wysoko fruktozowej diecie (157). Cao i wsp. w badaniu eksperymentalnym u szczurów na diecie fruktozowej zademonstrowali zależny od dawki ekstraktu z zielonej herbaty wpływ na ekspresję szeregu genów kodujących białka uczestniczące w transdukcji sygnału insulinowego wewnątrz komórek (158). Ekstrakt z zielonej herbaty w dawce 1 g/kg diety powodował zwiększenie poziomu transkryptów Glut1, Glut4, Gsk3b i Irs2 w wątrobie szczurów. Z kolei ekstrakt w dawce 2 g zwiększał poziom mRNA dla Glut4,

Gsk3b i Pik3cb, obniżał poziom mRNA Shc1 w wątrobie, w mięśniach wzrastał natomiast poziom transkryptów dla Glut2, Glut4, Shc1 i Sos1 (158).

Obecnie uważa się, że ekstrakt z zielonej herbaty nie tylko zmniejsza stężenie insuliny poprzez zmianę specyficznych wiązań dla insuliny oraz zmianę ekspresji białek aktywowanych przez czynniki transkrypcyjne PPAR (ang. *peroxisome proliferator-activated receptors*) (157), czy zwiększenie fosforylacji tyrozyny receptora insulinowego (157), lecz także zwiększa insulinowrażliwość poprzez translokację transportera glukozy GLUT4 w mięśniach szkieletowych i adipocytach, prowadząc do większego wychwytu glukozy w obu tkankach (159).

4. WPLYW EKSTRAKTU ZIELONEJ HERBATY NA PARAMETRY STANU ZAPALNEGO

Stan zapalny odgrywa ważną rolę w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Proces zapalny bierze udział zarówno w patogenezie nadciśnienia tętniczego, jak i stanowi istotny element wszystkich etapów procesu miażdżycowego (35) (160). Wyniki licznych badań wykazały wyraźny związek pomiędzy nadciśnieniem tętniczym, a względnie podwyższonym stężeniem CRP. Innym wskaźnikiem stanu zapalnego jest TNF- α dla którego większość badaczy również wykazała związek z obecnością nadciśnienia tętniczego (161). Zwiększona aktywność procesu zapalnego obserwowanego w nadciśnieniu tętniczym wynika m.in. z mechanicznego uszkodzenia śródbłonna naczyniowego pod wpływem przewlekle podwyższonych wartości ciśnienia tętniczego, jak również często współistniejących z nadciśnieniem tętniczym zaburzeń metabolicznych. Udział powyższych czynników w nasileniu procesu zapalnego potwierdzają wykazane w niniejszej pracy dodatnie korelacje pomiędzy markerami stanu zapalnego a stężeniami insuliny, wskaźnika insulinooporności i wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego.

W prezentowanym badaniu zaobserwowano istotnie statystycznie zmniejszenie stężenia TNF- α w grupie szczurów otrzymujących 4g ekstraktu z zielonej herbaty w porównaniu do grupy kontrolnej. W pracy Cao i wsp. ekstrakt z zielonej herbaty istotnie obniżał poziom mRNA TNF- α u szczurów Wistar karmionych dietą z wysoką zawartością fruktozy (162). Chung i wsp. wykazali przeciwzapalne właściwości

zielonej herbaty u szczurów szczepu Wistar karmionych dietą wysokotłuszczową z dodatkiem 0%, 1% i 2% ekstraktu z zielonej herbaty przez okres 8 tygodni. W eksperymencie tym poziom białka Cox-2, mediatora zapalnego zależnego od NF- κ B i stężenie PGE2 ulegały normalizacji pod wpływem diety wysokotłuszczowej z dodatkiem 1-2 % ekstraktu z zielonej herbaty (156). W niniejszej pracy nie stwierdzono natomiast różnic w poziomie CRP pomiędzy grupami szczurów spożywających ekstrakt zielonej herbaty i grupą kontrolną.

Inne badania eksperymentalne i obserwacje kliniczne również dostarczają dowodów na przeciwzapalne właściwości zielonej herbaty. Li i wsp. zaobserwowali, że EGCG hamuje produkcję CRP indukowaną przez angiotensynę II i IL-6 w makrofagach poprzez obniżenie produkcji wolnych rodników tlenowych (163). Ponadto Lee i wsp. wykazali, że konsumpcja 4 filiżanek zielonej herbaty dziennie przez okres 4 tygodni istotnie redukowała poziom białka C-reaktywnego u palaczy, sugerując przeciwzapalne działanie katechin u ludzi (164). Yilmaz i wsp. w badaniu klinicznym przeprowadzonym w grupie 244 pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym pokazali, że dieta z dużą zawartością soli wywołuje u chorych stan zapalny wyrażony wzrostem stężenia CRP w sposób niezależny od ciśnienia krwi (165).

Proces zapalny wyzwalany jest przez aktywację komórek śródbłonna oraz rezydujących w uszkodzonych tkankach makrofagi, powoduje migrację krążących leukocytów oraz związków rozpuszczalnych z krwi do tkanek. Dochodzi do aktywacji ekspresji genów kodujących: związki indukujące skurcz naczyń tj. endotelina-1 (ET-1), cytokiny (IL-1 α , IL-6), chemokiny (IL-8) oraz cząsteczki adhezyjne, między innymi międzykomórkowa molekula adhezyjna-1 (ang. *intracellular adhesion molecule 1*; ICAM-1) i naczyniowe cząstki adhezyjne (ang. *vascular cellular adhesion molecule 1*; VCAM-1). Pobudzone makrofagi uwalniają cytokiny prozapalne (IL-1 α/β , IL-6, TNF- α) oraz zwiększają ekspresję genów kodujących m.in.: oksydazy NAD(P)H, cyklooksygenazy (COX-2) i indukowalnej syntazy tlenku azotu (ang. *inducible NOS*; iNOS). W efekcie dochodzi do zwiększonej produkcji prostaglandyn, wolnych rodników oraz tlenku azotu (166). Wyrazem nieswoistej reakcji zapalnej w hepatocytach, adipocytach oraz makrofagach jest zwiększona produkcja CRP (166). Zwiększone stężenie CRP aktywuje komplement, czynnik aktywujący płytki, stymuluje leukocyty do uwalniania wolnych rodników, zwiększa ekspresję molekuł adhezyjnych oraz hamuje aktywność syntazy tlenku azotu (eNOS) (167). Dochodzi również do zwiększonej ekspresji receptorów dla angiotensyny II oraz ET-1, co w powiązaniu z

hamowaniem aktywności eNOS prowadzi do upośledzenia funkcji śródbłonna (168). Do ważnych regulatorów produkcji CRP należą cytokiny tj. IL-1, IL-6 oraz TNF- α (33). Wykazano, że TNF- α stymuluje uwalnianie metabolitów tlenowych jak i proteaz przez neutrofile, co prowadzi do apoptozy komórek śródbłonna (169). Udowodniono, że TNF- α razem z IL-1 zwiększa ekspresję ICAM-1, VCAM-1, E-selektyny (170) i może wywierać wpływ na stabilność transkrypty eNOS, co wpływa na mniejszą produkcję NO. Pod wpływem TNF- α może dochodzić do uszkodzenia struktury i funkcji śródbłonna naczyniowego, co w istotny sposób sprzyja progresji miażdżycy. Regulatorami procesu zapalnego w organizmie są szlaki sygnalizacyjne MAPK i kinazy c-Jun N-terminalnej (ang. *c-Jun N-terminal kinases*; JNK), które wpływając na czynniki transkrypcyjne AP-1 oraz NF- κ B pobudzają produkcję cytokin prozapalnych (171).

Zaobserwowano, że katechiny zielonej herbaty mogą modulować prozapalne szlaki sygnalizacyjne tłumiąc aktywację czynników transkrypcyjnych. W badaniu Riegsecker i wsp. wykazano, że podaż EGCG może minimalizować uszkodzenia śródbłonna zmniejszając produkcję IL-6 oraz TNF- α poprzez hamowanie działania czynników transkrypcyjnych AP-1 i NF- κ B (172). Podobny mechanizm działania katechin zaobserwował Wang i wsp. w komórkach linii pierwotnej śródbłonna naczyń izolowanych z ludzkiej pępowiny HUVEC (ang. *human umbilical vein endothelial cells*), oraz Cavet i wsp. w ludzkich komórkach nabłonka rogówki (HCEpiC, *human corneal epithelial cells*) (173) (174). Wpływ EGCG na czynnik NF- κ B oraz inne typy komórek opiera się na wielorakich mechanizmach w tym m.in na hamowaniu kinazy I κ B, fosforylacji I κ B, acetylacji p65NF κ B i zmniejszaniu aktywności wiązania NF- κ B z DNA. Z kolei hamowanie aktywności czynnika AP-1 przez EGCG związane jest głównie z wpływem na ścieżki sygnalizacyjne MAPK oraz aktywność wiązania AP-1 z DNA (175) (176) (177).

5. WPŁYW EKSTRAKTU Z ZIELONEJ HERBATY NA STRES OKSYDACYJNY

Stres oksydacyjny odgrywa kluczową rolę w rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego. Zachwianie równowagi pomiędzy czynnikami antyoksydacyjnymi, a wolnymi rodnikami tlenowymi prowadzi do rozwoju stanu zapalnego, proliferacji

komórek mięśni gładkich naczyń oraz dysfunkcji śródbłonka (38). Do czynników, które w istotny sposób zwiększają nasilenie stresu oksydacyjnego należą m.in.: przewlekłe podwyższone wartości ciśnienia tętniczego, zaburzenia gospodarki lipidowej i węglowodanowej. W niniejszej pracy znaczenie w modelowaniu stresu oksydacyjnego wyżej wymienionych czynników potwierdzają ujemne korelacje pomiędzy poziomem TAS, który obrazuje całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza, a wartościami skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego, stężeniami całkowitego cholesterolu i jego frakcji LDL, stężeniami insuliny oraz wskaźnikiem insulinooporności. Należy zaznaczyć, że stres oksydacyjny jest ściśle związany z procesem zapalnym. W analizowanej pracy obrazuje to ujemna zależność pomiędzy TAS a TNF- α .

Katechiny zielonej herbaty jako jedne z najsilniejszych antyoksydantów chronią komórki przed szkodliwym działaniem reaktywnych form tlenu. Pokazane w niniejszej pracy ujemne korelacje pomiędzy poziomem TAS a SBP, TCH, LDL, insuliną, HOMA i TNF- α podkreślają ważną rolę stresu oksydacyjnego w wieloczynnikowej patogenezie nadciśnienia tętniczego.

W prezentowanej pracy zaobserwowano istotne statystycznie wyższe wartości całkowitego statusu oksydacyjnego osocza (TAS) w obu grupach szczurów otrzymujących ekstrakt z zielonej herbaty w porównaniu do grupy kontrolnej. Przy czym największy efekt obserwowano dla dawki 4g. Podobne korzystne antyoksydacyjne działanie zielonej herbaty wykazali Ihm i wsp. (113) w modelu zespołu metabolicznego u szczurów (113). Spożywanie zielonej herbaty w istotny sposób niwelowało niekorzystny wpływ intoksykacji etanolem u szczurów wyrażony obniżeniem TAS w erytrocytach. Efektem długotrwałego spożycia napoju była ochrona błon erytrocytów przed skutkami starzenia się i/lub toksycznymi skutkami działania etanolu (178). Natomiast Kager i wsp. pokazali, że zielona herbata w dawce odpowiadającej u człowieka 500 ml napoju na dzień chroni DNA limfocytów i narządów wewnętrznych przed uszkodzeniem oksydacyjnym u szczurów, podczas gdy mniejsza objętość tj. dawka odpowiadająca u człowieka 100 ml zielonej herbaty na dzień nie wykazuje tego działania (179).

Spożycie zielonej herbaty wywołuje także pozytywne zmiany w poziomie statusu oksydacyjnego u ludzi. Picie zielonej herbaty w ilości 4 zaparzanych torebek zawierających 1,5 g zielonej herbaty, dziennie przez 12 tygodni zwiększało w populacji osób starszych pojemność oksydacyjną śliny o 42% (180).

Mechanizm działania antyoksydacyjnego katechin opiera się na: bezpośrednim unieczynnieniu reaktywnych form tlenu i azotu, chelatowaniu metali przejściowych, regeneracji przeciwutleniaczy tj. β -karotenu czy α -tokoferolu, inhibicji enzymów pro-utleniających (181). Badania eksperymentalne i kliniczne wskazują, że katechiny zielonej herbaty dzięki właściwościom przeciwutleniającym zwiększają zdolność antyoksydacyjną osocza (171) (38) (182), zmniejszają stężenie markerów produktów peroksydacji lipidów (183) (85) i stres oksydacyjny w erytrocytach oraz stopień markeru uszkodzenia oksydacyjnego DNA u palaczy (184). Zielona herbata zmniejsza stres oksydacyjny i produkcję ROS poprzez hamowanie enzymów utleniających oraz aktywację enzymów antyoksydacyjnych (89). Wyniki badań wykazują, że zielona herbata zmniejsza aktywność śródbłonkowej oksydazy NADPH, redukuje produkcję anionu ponadtlenkowego O_2^- i chroni cząsteczki NO przed utlenieniem, zwiększając jego biodostępność (185). Autorzy potwierdzają również, że polifenole zielonej herbaty zmniejszają produkcję ROS poprzez istotne zwiększenie ekspresji katalazy, enzymu katalizującego rozkład nadtlenu wodoru (112).

VI. WNIOSKI

1. Ekstrakt z zielonej herbaty ogranicza wzrost ciśnienia tętniczego wywołanego dietą wysokosodową w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego.
2. Suplementacja ekstraktem z zielonej herbaty w korzystny sposób modyfikuje profil lipidowy w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego.
3. Podawanie ekstraktu z zielonej herbaty w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego zmniejsza insulinooporność i nie wpływa na stężenia glukozy w surowicy krwi szczurów.
4. Ekstrakt z zielonej herbaty wykazuje korzystny potencjał przeciwzapalny i antyoksydacyjny w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego.
5. Korzystne efekty suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty wyrażone redukcją ciśnienia tętniczego, modyfikacją parametrów gospodarki węglowodanowej, działaniem przeciwzapalnym i antyoksydacyjnym zależą od zastosowanej dawki.

VII. STRESZCZENIE

Nadciśnienie tętnicze to poważny problem medyczny, społeczny i ekonomiczny, który stanowi jeden z głównych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Podwyższone ciśnienie tętnicze jest według danych Światowej Organizacji Zdrowia WHO najczęstszą przyczyną zgonów na świecie. Nadciśnieniu często towarzyszy szereg dodatkowych zaburzeń od insulinooporności i cukrzycy, poprzez nieprawidłowości gospodarki lipidowej i otyłość po stres oksydacyjny i powiązany z nim stan zapalny. W etiologii nadciśnienia tętniczego ważną rolę, oprócz komponenty genetycznej, odgrywają czynniki środowiskowe, w których istotne miejsce zajmuje dieta. Nadmierne spożywanie soli przez zdecydowaną większość uprzemysłowionego społeczeństwa skutkuje narażeniem prawie połowy tej populacji na rozwój nadciśnienia tętniczego. Zmiana stylu życia, w tym diety, stanowi podstawę nefarmakologicznej terapii nadciśnienia. Jednym z szeroko badanych składników diety o korzystnym wpływie na organizm jest zielona herbata. Jednak pomimo wyników różnych badań doświadczalnych i klinicznych jej hipotensyjne i przeciwzapalne oddziaływanie pozostaje nie w pełni jasne. Analiza wpływu spożywania ekstraktu zielonej herbaty na wartości ciśnienia tętniczego i poziom powiązanych z występowaniem nadciśnienia parametrów metabolicznych w modelu nadciśnienia tętniczego wywołanego zwiększoną podażą sodu u normotensyjnych szczurów, umożliwia nowe spojrzenie na mechanizm działania zielonej herbaty i jej potencjalne znaczenie w profilaktyce i leczeniu chorych na nadciśnienie tętnicze.

Cel: Celem pracy była ocena wpływu ekstraktu z zielonej herbaty na wartości ciśnienia tętniczego i wybrane parametry metaboliczne w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego.

Materiał i metodyka: Badanie uzyskało zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Poznaniu (zgoda nr 20/2011). Wszystkie procedury na zwierzętach zostały wykonane zgodnie z protokołem badania i obowiązującymi rekomendacjami o traktowaniu zwierząt laboratoryjnych wg Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych.

Doświadczenie przeprowadzono na 8-tygodniowych szczurach, samcach szczepu Wistar, pochodzących ze zwierzętarni Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu

Medycznego w Poznaniu. Do eksperymentu zakwalifikowano 30 szczurów. Podział zwierząt na 3 grupy po 10 szczurów w każdej został poprzedzony pomiarem masy ciała, tak aby w grupach średnia masa ciała szczurów była zbliżona. Podczas doświadczenia każde zwierzę przebywało w osobnej klatce, w pomieszczeniach klimatyzowanych o stałej temperaturze $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, bez dostępu światła dziennego, o automatycznie zmieniającym się cyklu dzień/noc (co 12 godzin, 100-250 luksów), o wilgotności względnej 65-75%. W celu wyliczenia dobowego spożycia pokarmu dokonywane były pomiary podawanej paszy. Wstępnie zwierzęta zostały poddane 5 dniowej adaptacji, podczas której karmione były „*ad libitum*” paszą standardową 1320 (*Altromin, Lage, Germany*) i miały swobodny dostęp do wody destylowanej.

Po okresie adaptacji rozpoczęto właściwy eksperyment. W celu stworzenia modelu nadciśnienia tętniczego w każdej z trzech grup szczurów wprowadzono dietę wysokosodową, dodając do paszy standardowej 1320 (*Altromin, Lage, Germany*) chlorek sodu (NaCl) w ilości 35g NaCl/kg diety. Grupa pierwsza (SK) stanowiąca kontrolę obejmowała zwierzęta karmione dietą wysokosodowa. Grupa druga (SH2) obejmowała szczury, którym do diety wysokosodowej podawano ekstrakt z zielonej herbaty (*Olimp Lab, Dębica, Polska*) w ilości 2 g/kg diety. Grupa trzecia (SH4) obejmowała szczury, którym do diety wysokosodowej podawano ekstrakt z zielonej herbaty (*Olimp Lab, Dębica, Polska*) w ilości 4 g/kg diety. Czas trwania doświadczenia w każdej grupie wynosił 6 tygodni.

Po upływie okresu doświadczalnego dokonywano bezinwazyjny pomiarów wartości ciśnienia tętniczego na ogonie zwierząt po ich chwilowym unieruchomieniu, za pomocą przenośnego miernika ciśnienia krwi dla myszy i szczurów, Model MK-1030 (*Muromachi Kikai, Tokyo, Japan*). Ciśnienie krwi mierzono za pomocą pletyzmografu, oceniając ciśnienie pulsacyjne w tętnicy ogonowej szczura, po 15 min utrzymywania stałej temperatury 37°C i 30 min. aklimatyzacji w uchwycie z ciemnobrązowego akrylu, w stosunkowo bezstresowych warunkach. Następnie szczury usypiano dootrzewnowym zastrzykiem tiopentalu sodu w dawce 40 mg/kg masy ciała (*Biochemie, Vienna, Austria*) i pobierano krew z serca. Do czasu wykonania analiz biochemicznych uzyskany materiał biologiczny przechowywano w temperaturze -80°C . Z pobranej krwi wykonywano analizę wybranych parametrów gospodarki węglowodanowej, lipidowej oraz parametrów związanych ze stanem zapalnym i stresem oksydacyjnym. Szacowanie parametrów gospodarki węglowodanowej obejmowało poziom glukozy w osoczu krwi określany metodą enzymatyczną, poziom insuliny w surowicy krwi oznaczany przy

użyciu metody radioimmunologicznej gotowym zestawem odczynników RIA kit (*Linco Research, USA*). oraz określenie insulinooporności za pomocą modelu HOMA (ang. homeostatic model assesment). Badanie parametrów gospodarki lipidowej dotyczyło poziomu cholesterolu całkowitego TCH (ang. total cholesterol) oznaczanego metodą enzymatyczną, cholesterolu HDL (ang. high-density lipoprotein) metodą bezpośrednią przy użyciu zestawu HDL-DIRECT (*Cormay, Lublin, Polska*), cholesterolu LDL (ang. low-density lipoprotein) wyliczonego ze wzoru Friedewalda, oraz stężenie triglicerydów (TG) mierzonego w surowicy metodą enzymatyczną. Do oceny poziomu parametrów powiązanych ze stanem zapalnym takich jak czynnika martwicy nowotworów TNF- α (ang. tumor necrosis factor- α) i białko C-reaktywne CRP (ang. C reactive protein) wykorzystano metodę immunoenzymatyczną ELISA (ang. enzyme-linked immunosorbent assay) i gotowe zestawy odczynników (*R&D System, Minneapolis, USA*). Poziom stresu oksydacyjnego weryfikowano wykorzystując oznaczenie całkowitego statusu antyoksydacyjnego TAS (ang. total antioxidant status) metodą kolorymetryczną gotowym zestawem odczynników (*Randox Laboratory Ltd, Crumlin, UK*) Obliczenia statystyczne wykonywano stosując program Statistica PL v 10.0 (*StatSoft Inc., USA*).

Wyniki: W doświadczeniu brało udział i zakończyło je 30 szczurów, zakwalifikowanych do trzech grup SK (dieta wysokosodowa, kontrola), SH2 (dieta wysokosodowa + zielona herbata 2 g/kg diety) i SH4 (dieta wysokosodowa + zielona herbata 4 g/kg diety). Zarówno stosowana dieta wysokosodowa jak i suplementacja zieloną herbata nie wpłynęły na masę ciała szczurów w poszczególnych grupach. Waga szczurów po zakończeniu doświadczenia nie różniła się istotnie statystycznie pomiędzy badanymi grupami. Grupy SH2 i SH4, którym w doświadczeniu podawano zieloną herbata charakteryzowały się istotnie statystycznie niższymi wartościami ciśnienia skurczowego (SBP) w porównaniu do grupy kontrolnej SK. Ciśnienie rozkurczowe (DBP) wykazywało statystycznie niższe wartości w grupie SH4 względem grupy SK. Zarówno w grupie szczurów SH2 i SH4 po suplementacji zieloną herbata stężenia TCH i LDL były znamienne statystycznie niższe w porównaniu do szczurów SK. Natomiast stężenie HDL oraz TG nie różnił się istotnie pomiędzy porównywanymi grupami zwierząt. Stężenie insuliny było istotnie statystycznie niższe w grupie szczurów SH4 natomiast wartość indeksu HOMA była znacząco niższa w przypadku obu grup SH2 i SH4 poddanych działaniu zielonej herbaty, w porównaniu do szczurów grupy SK. Poziom glukozy we wszystkich trzech grupach zwierząt nie różnił się znamienne.

Otrzymane wyniki pokazały także, że dawka ekstraktu zielonej herbaty podawana zwierzętom z grupy SH4 wywiera istotny statystycznie wpływ na obniżenie poziomu TNF- α w badanym modelu nadciśnienia tętniczego. Nie zaobserwowano natomiast statystycznie istotnych zmian w stężeniu CRP, drugiego ocenianego parametru stanu zapalnego w badanych grupach szczurów. Poziom stresu oksydacyjnego był znamienne niższy u szczurów karmionych dietą wzbogaconą w ekstrakt zielonej herbaty w obu dawkach co zostało wyrażone poprzez wyższy poziom TAS zanotowany w grupach SH2 i SH4.

W całej populacji szczurów obejmującej wszystkie trzy grupy (SK, SH2, SH4) stwierdzono występowanie istotnej statystycznie ujemnej korelacji pomiędzy poziomem TAS a SBP, DBP, TCH, LDL, insuliny, HOMA i TNF- α i występowanie istotnej statystycznie dodatniej korelacji pomiędzy poziomem HOMA a TCH, LDL i TG. Poziom CRP wykazywał dodatnią zależność ze średnimi wartościami ciśnienia tętniczego SBP a TNF- α dodatnią korelację ze stężeniami insuliny i wartością indeksu HOMA.

Wnioski:

1. Ekstrakt z zielonej herbaty ogranicza wzrost ciśnienia tętniczego wywołanego dietą wysokosodową w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego.
2. Suplementacja ekstraktem z zielonej herbaty w korzystny sposób modyfikuje profil lipidowy w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego.
3. Podawanie ekstraktu z zielonej herbaty w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego zmniejsza insulinooporność i nie wpływa na stężenia glukozy w surowicy krwi szczurów.
4. Ekstrakt z zielonej herbaty wykazuje korzystny potencjał przeciwzapalny i antyoksydacyjny w modelu eksperymentalnym nadciśnienia tętniczego.
5. Korzystne efekty suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty wyrażone redukcją ciśnienia tętniczego, modyfikacją parametrów gospodarki węglowodanowej, działaniem przeciwzapalnym i antyoksydacyjnym zależą od zastosowanej dawki.

VIII. SUMMARY

„The effect of green tea extract on blood pressure and selected metabolic parameters in an experimental model of hypertension”

Hypertension is a serious medical, social and economic issue, and serves as a one of the major risk factors for cardiovascular disease. According to the World Health Organization WHO, elevated blood pressure is the most common cause of death in the world. Hypertension is often accompanied by a number of additional disorders such as insulin resistance, diabetes, abnormalities of lipid metabolism, obesity, oxidative stress and inflammation. Both genetic and environmental factors including diet, are components involved in the etiology of hypertension. Excessive salt intake documented in the vast majority of industrialized society is responsible for susceptibility to hypertension in nearly half of the population. The basis for non-pharmacological treatment of hypertension encompasses lifestyle modification associated with changes in the diet. Green tea is the most widely consumed beverage in the world, and is known to exert positive effect on the body. However, its antihypertensive and anti-inflammatory actions remain still unclear, despite of data from various experimental and clinical studies. The effect of green tea extract on blood pressure values and metabolic parameters changes, obtained in a model of hypertension induced by high-sodium diet in normotensive rats, provides a new insight into the mechanism of green tea action and its potential role in the prevention and treatment of hypertension.

Objective: The aim of the study was to evaluate the effect of green tea extract on blood pressure and selected metabolic parameters in the experimental model of hypertension.

Material and methods: The study was conducted on 8-week old, male Wistar rats obtained from the Department of Toxicology, University of Medical Sciences in Poznan. 30 rats were enrolled into the study. To ensure weight homogeneity, body weight was determined before allocation to groups. Rats were housed individually and kept under conditions involving automatically turned 12 h light-dark cycle, $20 \pm 2^\circ\text{C}$ temperature and 65-75% humidity. Food intake was monitored daily. At the beginning of the study rats were subjected to 5-day adaptation period, with a standard diet „ad libitum” and free access to distilled water. Animals were divided into three equal groups consisting of 10 rats each. A high-sodium diet using 35g of sodium chloride (NaCl)/kg

of standard diet 1320 (*Altromin, Lage, Germany*), was introduced to all three groups of animals to create a model of hypertension. The first group (SK) consumed high-sodium diet only. The second group (SH2) consumed high-sodium diet with 2g of green tea extract (*Lab Olimp, Debica, Poland*) per kg of diet. The third group (SH4) consumed high-sodium diet with 4 g of green tea extract (*Lab Olympus, Dębica, Poland*) per kg of diet. Duration of experiment in each group was 6 weeks.

At the end of experiment blood pressure was measured noninvasively on the tail of the animals after their temporary immobilization, using a portable blood pressure measuring device for rats and mice MK-1030 (*Muromachi Kikai, Tokyo, Japan*). Blood pressure was measured using a plethysmograph, assessing the pulse pressure in an artery of the rat tail after 15 minutes maintaining a constant temperature of 37 °C and 30 min. acclimation of dark brown acrylic holder, in a relatively stress-free conditions. Then, the rats were anesthetized by intraperitoneal injection of sodium thiopental 40 mg/kg of body weight (*Biochemie, Vienna, Austria*), and the blood from the heart was withdrawn. Obtained biological material was stored at -80 °C. Selected parameters of carbohydrate and lipid profile and the markers associated with inflammation and oxidative stress were analyzed from collected blood. The concentration of glucose was estimated in blood plasma by an enzymatic method, insulin was assessed in blood serum by radioimmunological assay using RIA kit (*Linco Research, USA*), and insulin resistance was calculated by homeostatic model assessment (HOMA). Total cholesterol (TCH) was estimated by an enzymatic method, HDL cholesterol (ang. high-density lipoprotein) was determined by HDL-DIRECT kit (*Cormay, Lublin, Poland*), LDL cholesterol (ang. low-density lipoprotein) was calculated from the Friedewald formula, and triglycerides (TG) levels were measured by an enzymatic method. Parameters associated with inflammation, such as tumor necrosis factor TNF- α (ang. tumor necrosis factor- α), and C-reactive protein CRP (ang. C-reactive protein) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with ELISA kits (*R&D System, Minneapolis, USA*). TAS was measured by colorimetric method using Tas Randox kit (*Randox Laboratory Ltd, Crumlin, UK*) and the spectrophotometer (*M40 SPECORD; Carl Zeiss, Jena, Germany*). Statistical calculations were performed using Statistica PL v 10.0 (StatSoft Inc., USA).

Results: A total of 30 rats qualified into three equal groups designed as: SK (high-sodium diet, control), SH2 (high-sodium diet + green tea 2 g/kg diet) and SH4 (high-sodium diet + green tea 4 g/kg diet) finished the experiment after 6 weeks. Both high-

sodium diet and the supplementation of green tea had no statistically significant impact on body weight of rats in each group. Both SH2 and SH4 groups, characterized by significantly lower values of systolic blood pressure (SBP) compared to SK group. Diastolic blood pressure (DBP) found to be significantly decreased in SH4 group compared to the SK group. TCH and LDL levels were statistically significantly lower in SH2 and SH4 rats as compared to rats from SK group. In contrast, there was no differences in HDL-C and TG levels among compared groups. Insulin level found to be significantly lower in SH2 group and HOMA index value in SH2 and SH4 groups of rats as compared to SK group. Glucose levels did not differ significantly among groups. On the other hand, green tea extract in SH4 group had a statistically significant impact on reducing the level of TNF- α compared to SK group . There were no statistically significant changes in the concentration of CRP among groups of rats. In contrast, the level of oxidative stress was significantly lower in rats fed a diet enriched with green tea as expressed by a higher level of TAS recorded in groups SH2 and SH4. Additionally, within the whole population encompassing SK, SH2 and SH4 groups we found statically significant reverse correlations between TAS and SBP, DBP, TCH, LDL, insulin, HOMA and TNF- α levels. Additionally, several positive correlations between HOMA and TCH, LDL and TG; CRP level and SBP values; and TNF- α level and insulin, and HOMA index were presented in the study population.

Conclusions:

1. Blood pressure is diminished by supplementation of green tea extract in the experimental model of hypertension induced by a high-sodium diet.
2. Positive effect of the green tea extract on the lipid profile modulation is observed in the experimental model of hypertension.
3. The administration of green tea extract to rats reduces insulin resistance and reveals no influence on the level of serum glucose.
4. The green tea extract is characterized by anti-inflammatory and anti-oxidative properties in the experimental model of hypertension.
5. Beneficial effects of green tea extract on blood pressure reduction, carbohydrate profile modification, anti-inflammatory and anti-oxidative actions are dose dependent.

IX. PIŚMIENICTWO

1. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva, World Health Organization, 2009.
2. Mancia G., Fagard R., Narkiewicz K. i wsp. Wytyczne ESH/ESC dotyczące czące postępowania w nadciśnieniu tętniczym w 2013 roku. Grupa Robocza Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (ESH) i Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC) do spraw postępowania w nadciśnieniu tętniczym. *Kardiologia Pol.* 2013; 71: 27–118.
3. Kearney P.M., Whelton M., Reynolds K., Whelton P.K., He J. Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review. *J. Hypertens.* 2004; 22(1): 11-19.
4. www.natpol2011.org.
5. Widecka K., Grodzicki T., Narkiewicz K., Tykarski A. Wytyczne Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym - 2011 rok. *Nadciśnienie Tętnicze.* 2011; 15; 2: 55-82.
6. Ciechanowicz A., Czekalski S. Aspekty genetyczne nadciśnienia tętniczego. *Postępy Nauk Medycznych.* 2011; 3: 18-30.
7. Kniec M., Kujawska- Łuczak M. Wpływ stylu życia na występowanie nadciśnienia tętniczego u dorosłych. *Forum Zaburzeń Metabolicznych.* 2012; 3(1): 14-23.
8. Trott D.W., Harrison D.G. The immune system in hypertension. *Adv Physiol Educ.* 2014; 38(1): 20-4.
9. Charchar F., Zimmerli L., Tomaszewski M. The pressure of finding human hypertension genes: new tools, old dilemmas. *J Hum Hypertens.* 2008; 22: 821-8.
10. Ehret G.B., Munroe P.B., Rice K.M., et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature.* 2011; 478: 103-109.
11. Iyer A., Chan V., Brown L. Iyen. The DOCA-Salt Hypertensive Rat as a Model of Cardiovascular Oxidative and Inflammatory Stress. *Curr Cardiol Rev.* 2010; 6(4): 291-7.

12. Okamoto K., Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Japanese Circulation Journal*. 1963; 27.
13. Kundu S. The story of spontaneously hypertensive rat (SHR): A Review Al Ameen *Journal of Medical Sciences. J Med Scii*. 2008; 1 (1): 65 -66.
14. Okamoto K., Yamori Y., Nagaoka A. Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR). *Circ Res*. 1974; 34,35: 143–153.
15. Doggrell S.A., Brown L. Rat models of hypertension, cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovasc Res*. 1998; 39(1): 89-105.
16. Głuszek J. Ogólne zasady leczenia nadciśnienia tętniczego. *Wydawnictwo Medyczne Termedia*. 2008: 17-18.
17. Cegła B., Filanowicz M., Dowbór-Dzwonka A., Szykiewicz E. Aktywność fizyczna pacjentów z nadciśnieniem tętniczym a jakość ich życia. *Pielęgniarstwo Chirurgiczne i Angiologiczne*. 2012; 1: 26-33.
18. Viridis A., Giannarelli C., Neves M.F., Taddei S., Ghiadoni L. Cigarette smoking and hypertension. *Curr Pharm Des*. 2010; 16(23): 2518-25.
19. Grassi G., Seravalle G., Calhoun D.A. Mechanisms responsible for sympathetic activation by cigarette smoking in humans. *Circulation*. 1994. 90: 248-253.
20. Dimeo F., Pagonas N., Seibert F., Arndt R., Zidek W., Westhoff T.H. Aerobic exercise reduces blood pressure in resistant hypertension. *Hypertension*. 2012; 60(3): 653-8.
21. Canoy D., Luben R., Welch A. et al. Fat distribution, body mass index and blood pressure in 22,090 men and women in the Norfolk cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Norfolk) study. *J Hypertens*. 2004; 22 (11): 2067-74.
22. Chrostowska M., Szczęch R., Narkiewicz K. Nadciśnienie Tętnicze związane z otyłością. *Kardiologia na co dzień*. 2007; 3 (2): 106-112.
23. Rywik S. Prewencja pierwotna i wtórna chorób układu krążenia. *Lekarz*. 2003; 30: 32-34.

24. Litwin M., Niemirska A. Nadciśnienie tętnicze pierwotne i zaburzenia metaboliczne u dzieci i młodzieży. *Forum Zaburzeń Matabolicznych*. 2011; 2: 124-131.
25. Głuszek J., Boruczkowska A. Insulinooporność i metody jej rozpoznania u chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. *Nadciśnienie tętnicze*. 1999; 3(4): 245-250.
26. Stuart C.A., Howell M.E., Cartwright B.M., McCurry M.P., Lee M.L., Ramsey M.W., Stone M.H. Insulin resistance and muscle insulin receptor substrate-1 serine hyperphosphorylation. *Physiol Rep*. 2014; 2(12): 12236.
27. Głuszek J., Szczeńsiak Ł., Banaszak F., Tykarski A., Rychlewski T. Wiązanie insuliny przez receptory insulinowe erytrocytów chorych na nadciśnienie tętnicze. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 1999; 101: 191.
28. Ciaralini T.P. et al. Role of glucose transport system in the postreceptor defect of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*. 1982; 31: 1016.
29. Suliburska J., Krejpcio Z., Michalski K., Bogdański P., Pupek-Musialik D. Ocena wybranych wskaźników biochemicznych krwi osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym w kontekście ich sposobu żywienia. *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii*. 2008; 4; 3: 101-106.
30. Nilsson P. Cukrzyca i nadciśnienie tętnicze. *Kardiol. Op. Fakt*. 2011; 1: 3-13.
31. Kannel W.B. Risk stratification in hypertension: new insights from the Framingham Study. *Am J Hypertens* 2000; 13: 3-10.
32. Albert K., Balkau B., Standl E et al. Type 2 Diabetes and the Metabolic Syndrome in Europe. *Eur Heart J*. 2005; 7; (suppl D) 3.
33. Baszczuk A., Kopczyński Z., Degerowska P., Pupek- Musialik D., Cymerys M., Kopczyński J. Ocena wybranych parametrów stanu zapalnego u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze. *Nadciśnienie tętnicze*. 2011; 15(4): 251-257.
34. Guzik T. Znaczenie układu odpornościowego w nadciśnieniu tętniczym. *Postępy Nauk Medycznych*. 2011; 3: 36-45.
35. Głuszek T., Kosicka J. Czy nadciśnienie tętnicze jest przewlekłą chorobą zapalną? *Nadciśnienie Tętnicze*. 2011; 15(6): 363-370.

36. Hage F.G. C-reactive protein and hypertension. *J Hum Hypertens.* 2014; 28(7): 410-5.
37. Sesso H.D., Buring J.E., Rifai N., Blake G.J., Ridker P.M. C-reactive protein and risk of developing hypertension. *JAMA.* 2003; 290: 2945-2951.
38. González J., Valls N., Brito R., Rodrigo R. Essential hypertension and oxidative stress: New insights. *World J Cardiol.* 2014; 6(6): 353-66.
39. Harrison D.G., Vinh A., Lob H i wsp. Role of the adaptive immune system in hypertesion. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2010; 10: 203-207.
40. Klima Ł., Stolarz-Skrzypek K., Olszanecki R., Kawecka-Jaszcz K. Udział stresu oksydacyjnego w patogenezie nadciśnienia tętniczego- rola metylowanych arginin. *Kardiologia Polska.* 2011, 69: 94-99.
41. Jew S., AbuMweis S.S., Jones P.J. Evolution of the human diet: linking our ancestral diet to modern functional foods as a means of chronic disease prevention. *J Med Food.* 2009; 12 (5): 925–934.
42. Weinberger M.H. Salt sensitivity of blood pressure in humans. *Hypertension.* 1996; 27: 481–490.
43. Luft F.C. et al. Cardiovascular and humoral responses to extremes of sodium intake in black and white men. *Circulation.* 1979; 60: 697-706.
44. Guyton A.C. et al. Arterial pressure regulation: overriding dominance of the kidney. *Am J Med.* 1972; 52: 584-594.
45. Qui Z. et al. Opposite effects of cyclooxygenase-1 and 2 activity on the pressor response to angiotensin II. *Clin Invest.* 2002;110: 61-69.
46. Granger J.P. Pressure natriuresis. Role of interstitial hydrostatic pressure. *Hypertension.* 1992;19: I9-I17.
47. Chioloro A. et al. Renal determinants of the salt sensitivity of blood pressure. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16: 452-458.

48. Ciechanowicz A. et al. Lack of association between Gly450Trp polymorphism of alpha-adducing gene and salt sensitivity of blood pressure in polish hypertensives. *Kidney Blood Press.* 2011; 24: 201-206.
49. Warnock D.G., Kusche-Vihrog K., Tarjus A., Sheng S., Oberleithner H., Kleyman T.R., Jaisser F. Blood pressure and amiloride-sensitive sodium channels in vascular and renal cells. *Nat Rev Nephrol.* 2014; 10(3): 146-57.
50. Oberleithner H. Two barriers for sodium in vascular endothelium? *Ann Med.* 2012; 44: 143-8.
51. Rapp J.P. Dahl salt-susceptible and salt-resistant rats. A review. *Hypertension.* 1982; 4(6): 753-63.
52. Yagil Y., Yagil C. Genetic basis of salt-susceptibility in the Sabra rat model of hypertension. *Kidney Int.* 1998; 53(6): 1493-500.
53. Mullins J.J., Peters J., Ganten D. Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse Ren-2 gene. *Nature.* 1990; 344(6266): 541-4.
54. Yamaleyeva L.M., Lindsey S.H., Varagic J., Zhang L.L., Gallagher P.E., Chen A.F., Chappell M.C. Amelioration of renal injury and oxidative stress by the nNOS inhibitor L-VNIO in the salt-sensitive mRen2.Lewis congenic rat. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2012; 59(6): 529-38.
55. Cruz A., Rodríguez-Gómez I., Pérez-Abud R., Vargas M.Á., Wangenstein R., Quesada A., Osuna A., Moreno J.M. Effects of clofibrate on salt loading-induced hypertension in rats. *J Biomed Biotechnol.* 2011; 469481.
56. Muhammad S.A., Bilbis L.S., Saidu Y., Adamu Y. Effect of antioxidant mineral elements supplementation in the treatment of hypertension in albino rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2012; 134723.
57. Wu H., Liang Y., Zheng Y., Bai Q., Zhuang Z., A L., Zheng D., Wang Y. Regulation of Intrarenal Renin-Angiotensin System Contributes to Renal Damage in High-Salt Induced Hypertension Rats Kidney. *Blood Press Res.* 2014; 39: 526-535.

58. Bilbis L.S. Muhammad S.A., Saidu Y., Adamu Y. Effect of Vitamins A, C, and E Supplementation in the Treatment of Metabolic Syndrome in Albino Rats. *Biochem Res Int.* 2012; 2012: 678582.
59. Chandra A., Neeland I., Berry J.D., Ayers C.R., Rohatgi A., Das S.R., Khera A., McGuire D.K., de Lemos J.A., Turer A.T. The relationship of body mass and fat distribution with incident hypertension: observations from the Dallas Heart Study. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 64(10): 997-1002.
60. Nelder J.E., Stam B.E., Kok F.J., Grobbee D.E. et al. Influence of weight reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension.* 2003; 42: 878-884.
61. Cornelissen V.A., Fagard R.H. Effect of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms and cardiovascular risk factors. *Hypertension.* 2005; 46: 667-675.
62. Pattyn N., Cornelissen V.A., Eshghi S.R., Vanhees L. The effect of exercise on the cardiovascular risk factors constituting the metabolic syndrome: a meta-analysis of controlled trials. *Sports Med.* 2013; 43(2): 121-33.
63. Fagard R.H. Exercise therapy in hypertension cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc.* 2011; 53: 404-411.
64. Messner B., Bernhard D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34(3): 509-15.
65. Ciborowska H., Rudnicka A. *Żywnienie zdrowego i chorego człowieka.* Wyd III. Warszawa : Wyd. Lek. PZWL, 2007.
66. Rizos E.C., Ntzani E.E., Bika E., Kostapanos M.S., Elisaf M.S. Association between omega-3 fatty acid supplementation and risk of major cardiovascular disease events: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2012; 308(10): 1024-33.
67. Dickinson H.O., Mason J.M., Nicolson D.J. et al. Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials. *J Hypertens.* 2006; 24: 215-233.

68. Elmer P.J., Obarzanek E., Wollmer W.M. et al. Effects on comprehensive lifestyle modification on diet, weight, physical fitness and blood pressure control: 18 month results of randomized trial. *Ann Intern Med.* 2006; 144: 485-495.
69. Baradaran A., Nasri H., Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. *J Res Med Sci.* 2014; 19(4): 358-67.
70. Galley H.F., Thorton J., Howdle P.D., Walker B.E., Webster N.R. Combination oral antioxidant supplementataion reduces blood pressure. *Clin Sci.* 1997; 92: 361-365.
71. Militante J.D., Lombardini J.B. Treatment of hypertension with oral taurine: experimental and clinical studies. *Amino Acids.* 2002; 23: 381-393.
72. Kakuzo O. *The Book of Tea.* Tokyo, Japan: Tuttle, 1977.
73. Kakuzo O. *Księga herbaty.* Warszawa: Państwowy Instytut Wydawniczy, 1986.
74. Praca zbiorowa. *Wielka Historia Świata.* Wydawnictwo Polskie Media Amer. Com., 2005.
75. Waszkiewicz-Robak B. *Herbata, kawa, kakao.* [ed.] Świdorski F. Warszawa, Wydawnictwo SGGW, 2003: 427-449.
76. Mały Rocznik Statystyczny Polski 2013. http://stat.gov.pl/download/cps/rde/xbcr/gus/RS_maly_rocznik_stytystyczny_2013.pdf. Główny Urząd Statystyczny.
77. Chacko S.M., Thambi P.T., Kuttan R., Nishigaki I. Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chin Med.* 2010; 6; 5:13.
78. Cichoń Z., Wierciak E. *Towaroznawcza charakterystyka herbaty.* Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej, Kraków 2000.
79. Sang S.H., Lambert J.D., Ho C.T., Yang C.S. The chemistry and biotransformation of tea constituens. *Pharmacological research.* 2011; 6(2): 87-99.
80. Belitz H.D. Grosh W., Schieberle P. *Food Chemistry.* Berlin: Springer, 2004.

81. Hara Y. Green tea. Health benefits and applications. New York: Marcel Dekker Inc. 2001.
82. Braicu C., Ladomery M.R., Chedea V.S., Irimie A., Berindan-Neagoe I. The relationship between the structure and biological actions of green tea catechins. Food Chem. 2013; 141(3): 3282-9.
83. Butt M.S., Imran A., Sharif M.K., Ahmad R.S., Xiao H., Imran M., Rsool H.A. Black tea polyphenols: a mechanistic treatise. Crit Rev Food Sci Nutr. 2014; 54(8): 1002-11.
84. Chen D., Ping Dou Q. Tea poluphenols and their roles in cancer prevention and chemioteraphy. Int J Mol Sci. 2008; 9: 1196-1206.
85. Thielecke F., Boschmann M. The potencial role of green tea catechins in the prevention of the metabolic syndrome - a review. Phytochemistry. 2009; 70(1): 11-24.
86. Aron P.M., Kennedy J.A. Flavon-3-ols: nature, occurance and biological activity. Mol Nutr Food Res. 2008; 52: 79-104.
87. Mukai K., Mitani S., Ohara K., Nagaoka S.I. Structure-activity relationship of the tocopherol-regeneration reaction by catechins. Free Radic Biol Med. 2005; 38: 1243-1256.
88. Morel I., Cillard P., Cillard J., Packer L., Riee-Evans C. Flavonoid-metal interaction in biological system. Flavonoids in health and disease. New York: Marcel Dekker Inc., 1998: 163-177.
89. Frei B., Higdon J.V. Antioxidants acitivity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. J Nutr. 2003; 133: 3275-3284.
90. Stevenson D.E., Hurst R.D. Polyphenols phytochemicals just antioxidant or much more? Cell Mol Life Sci. 2007; 64: 2900-2916.
91. Xiao J., Kai G. A review of dietary polyphenol-plasma protein interactions: characterization, influence on the bioactivity, and structure-affinity relationship. Crit Rev Food Sci Nutr. 2012; 52(1): 85-101.

92. Nanjo F., Mori M., Goto K., Hara Y. R. Radical scavenging activity of thea catechins and their related compounds. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1999; 63: 1621-1623.
93. Yang B., Katani A., Aral K., Kusu F. Estimation of the antioxidant activities of flavonoids from oxidation potentials. *Anal Sci.* 2001; 17: 599-604.
94. Yanishlieva-Maslarova N., Yanishlieva N., Gordon M., Pokorny J. Inhibiting oxidation. *Antioxidants in food.* CRC Press Cambridge, 2001: 22-70.
95. Satoh E., Tohyama N., Nishimura M. Comparison of the antioxidant activity of roasted tea with green, oolong and black teas. *Iner J Food Sci Nutr.* 2005; 56: 551-559.
96. Rusak G., Komes D., Likie S., Horzic D., Kovac M. P. Phenolic content and antioxidative capacity of green tea and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvents used. *Food Chem.* 2008; 110: 852-858.
97. Majchrzak D., Mitter S., Elmadfa I. The effect of ascorbic acid on total antioxidant activity of black and green tea. *Food Chem.* 2004; 88: 447-451.
98. Maciążek-Jurczyk M., Maliszewska M., Szkudlarek-Hańnik A., Sułkowska A. Działanie profilaktyczne zielonej herbaty w chorobie wieńcowej. *Postępy fizjoterapii.* 2011; 1: 58-64.
99. Bhardwaj P., Khanna D. Green tea catechins: defensive role in cardiovascular disorders. *Chin J Nat Med.* 2013; 11(4): 345-53.
100. Keske M.A., Ng H.L., Premilovac D., Rattigan S., Kim J.A., Munir K., Yang P., Quon M.J. Vascular and metabolic actions of the green tea polyphenol epigallocatechin gallate. *Curr Med Chem.* 2015; 22(1): 59-69.
101. Iso H., Date C., Wakai K., Fukui M., Tamakoshi A. The relationship between green tea nad total caffeine intake and risk for self reported type 2 diabetes among Japanese adults. *Ann Intern Med.* 2006; 144: 554-562.
102. Hadosa K., Wang M.F., Liao M.L. et al. Antihyperglycemic effects of oolong tea in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2003; 26: 1714-1718.

103. Hinger Favier I., Benaraba R., Covas S., Anderson N.A., Roussel A.M. Green tea extract decreases oxidative stress and improves insulin sensitivity in animal model of insulin resistance the fructose-fed rat. *J Am Coll Nutr.* 2009; 28 (4): 355-361.
104. Brown L.A., Lane J., Coverly J et al. Effects of dietary supplementation with the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate on insulin resistance and associated metabolic risk factor randomized controlled trial. *Br J Nutr.* 2009; 101 (6): 886-894.
105. Hsu C.H., Liao Y.L., Lin S.C., Tsai T.H., Huang C.J., Chou P. Does supplementation with green tea extract improve insulin resistance in obese type 2 diabetics? A randomized, double-blind, and placebo-controlled clinical trial. *Altern Med Rev.* 2011; 16: 157–163.
106. Kuriyama S., Shimazu T., Ohmori K. et al. Green tea consumption and mortality due to cardiovascular disease, cancer and all causes in Japan: the Ohsaki study. *JAMA* 2006; 296: 1255-65.
107. Zhang L., Wei Y., Zhang J. Novel mechanisms of anticancer activities of green tea component epigallocatechin- 3-gallate. *Anticancer Agents Med Chem.* 2014; 14(6): 779-86.
108. Yang Y.C., Lu F.H., Wu J.S., Chang C.J. The potential role of green tea catechins in the prevention of the metabolic syndrome -a a review. *Phytochemistry.* 2009; 70(1): 11-24.
109. Lorenz M., Klinkner L., Baumann G., Stangl K., Stangl V. Endothelial NO Production is Mandatory for Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)-induced Vasodilation: Results from eNOS Knockout (eNOS^{-/-}) Mice. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2015.
110. Ghezzi A.C., Cambri L.T., Botezelli J.D., Ribeiro C., Dalia R.A., de Mello M.A. Metabolic syndrome markers in wistar rats of different ages. *Diabetol Metab Syndr.* 2012; 4(1): 16.
111. Potenza M.A., Marasciulo F.L. Tarquinio M., Tiravanti E., Colantuono G., Federici A., Kim J., Quon M.J., Montagnani M. EGCG, aa green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protect against myocardial I/R injury in SHR. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Matab.* 2007; 292: 1378-1387.

112. Negishi H., Xu J.W., Ikeda K., Njelekela M., Nara Y., Yamori Y. Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr.* 2004; 134(1): 38-42.
113. Ihm S.H., Jang S.W., Kim O.R., Chang K., Oak M.H., Lee J.O., Lim D.Y., Kim J.H. Decaffeinated green tea extract improves hypertension and insulin resistance in a rat model of metabolic syndrome. *Atherosclerosis.* 2012; 224(2): 377-83.
114. Ikeda M., Suzuki C., Umegaki K., Saito K., Tabuchi M., Tomita T. Preventive effects of green tea catechins on spontaneous stroke in rats. *Med Sci Monit.* 2007; 13(2): 40-5.
115. Khalesi S., Sun J., Buys N., Jamshidi A., Nikbakht-Nasrabadi E., Khosravi-Boroujeni H. Green tea catechins and blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Eur J Nutr.* 2014; 53(6): 1299-311.
116. Peng X., Zhou R., Wang B., Yu X., Yang X., Liu K., Mi M. Effect of green tea consumption on blood pressure: a meta-analysis of 13 randomized controlled trials. *Sci Rep.* 2014; 4: 6251.
117. Onakpoya I., Spencer E., Heneghan C., Thompson M. The effect of green tea on blood pressure and lipid profile: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014; 24(8): 823-36.
118. Yokogoshi H., Kato Y., Sagesaka Y.M., Takihara-Matsuura T., Kakuda T., Takeuchi N. Reduction effect of theanine on blood pressure and brain 5-hydroxyindoles in spontaneously hypertensive rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1995; 59(4): 615-8.
119. Bhardwaj P., Khanna, D. Green tea catechins: defensive role in cardiovascular. *Chin J Nat Med.* 2013; 11: 345–353.
120. Dong J., Xu X., Liang Y., Head R., Bennett L. Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by polyphenols from tea (*Camellia sinensis*) and links to processing method. *Food Funct.* 2011; 2(6): 310-9.
121. Chad E. N., Reiter Jeong-a K., Quon M.J. Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate Reduces Endothelin-1 Expression and Secretion in Vascular Endothelial Cells:

Roles for AMP-Activated Protein Kinase, Akt, and FOXO1. *Endocrinology*. 2010; 151(1): 103–114.

122. Mizugaki M., Ishizawa F., Yamazaki T., Hishinuma T. Epigallocatechin gallate increase the prostacyclin production of bovine aortic endothelial cells. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2000; 62(2): 157-64.

123. Pfeffer U., Ferrari N., Dell'Eva R., Indraccolo S., Morini M., Noonan D.M., Albin A. Molecular mechanisms of action of angiopreventive anti-oxidants on endothelial cells: microarray gene expression analyses. *Mutat Res*. 2005; 591(1-2): 198-211.

124. Babu P.V., Liu D. Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Curr Med Chem*. 2008; 15(18): 1840-50.

125. Alshatwi A.A., Al Obaaid M.A., Al Sedairy S.A., Ramesh E., Lei K.Y.J. Black and green tea improves lipid profile and lipid peroxidation parameters in Wistar rats fed a high-cholesterol diet. *J Physiol Biochem*. 2011; 67(1): 95-104.

126. Yokozawa T., Nakagawa T., Kitani K. Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J Agric Food Chem*. 2002; 50(12): 3549-52.

127. El-Sayed Mostafa U. Effect of Green Tea and Green Tea Rich with Catechin on Blood Glucose Levels, Serum Lipid Profile and Liver and Kidney. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 2014; 7: 7-12.

128. Yang M., Wang C., Chen H. Green, oolong and black tea extracts modulate lipid metabolism in hyperlipidemia rats fed high-sucrose diet. *J Nutr Biochem*. 2001; 12(1): 14-20.

129. Muramatsu K., Fukuyo M., Jara Y. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol*. 1986; 32(6): 613-22.

130. Hasanein A., Soha H., Gawad A., Abd El-Megeid A.A. Effect of Water Extract Prepared from Green Tea, Black Tea and Cinnamon on Obese Rats Suffering from Diabetes Manal. *World Applied Sciences Journal*. 2012; 20 (7): 976-987.

131. Tsubono Y., Tsugane S. Green tea intake in relation to serum lipid levels in Middle-aged Japanese men and women. *Ann Epidemiol*. 1997; 7(4): 280-4.

132. Kono S., Shinchi K., Wakabayashi K., Honjo S., Todoroki I., Sakurai Y., Imanishi K., Nishikawa H., Ogawa S., Katsurada M. Relation of green tea consumption to serum lipids and lipoproteins in Japanese men. *J Epidemiol.* 1996; 6(3): 128-33.
133. Zheng X.X., Xu Y.L., Li S.H., Liu X.X., Hui R., Huang X.H. Green tea intake lowers fasting serum total and LDL cholesterol in adults: a meta-analysis of 14 randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94(2): 601-10.
134. Hirsova P., Kolouchova G., Dolezelova E., Cermanova J., Hyspler R., Kadova Z., Micuda S. Epigallocatechin gallate enhances biliary cholesterol secretion in healthy rats and lowers plasma and liver cholesterol in ethinylestradiol-treated rats. *Eur J Pharmacol.* 2012; 691: 38-45.
135. Shu W., Noh S.K., Koo SI. Green tea catechins inhibit pancreatic phospholipase A2 and intestinal absorption of lipids in ovariectomized rats. *J Nutr Biochem.* 2006; 17: 492-8.
136. Armand M., Pasquier B., André M., Borel P., Senft M., Peyrot J., Salducci J., Portugal H., Jaussan V., Lairon D. Digestion and absorption of 2 fat emulsions with different droplet sizes in the human digestive tract. *Am J Clin Nutr.* 1999; 70(6): 1096-106.
137. Wang S., Noh S.K., Koo SI. Green tea catechins inhibit pancreatic phospholipase A(2) and intestinal absorption of lipids in ovariectomized rats. *J Nutr Biochem.* 2006; 17(7): 492-8.
138. Guharay J., Sengupta B., Sengupta P.K. Protein-flavonol interaction: fluorescence spectroscopic study. *Proteins.* 2001; 43(2): 75-81.
139. Ikeda I., Kobayashi M., Hamada T., Tsuda K., Goto H., Iamizumi K. et al. Heat-epimerized tea catechins rich in gallic catechin gallate and catechin gallate are more effective to inhibit cholesterol absorption than tea catechins rich in epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *J Agric Food Chem.* 2003; 51: 7303-7.
140. Koo S.I., Noh S.K. Green tea as inhibitor of the intestinal absorption of lipids: potential mechanism for its lipid-lowering effect. *J Nutr Biochem.* 2007; 18(3): 179-83.

141. Abe I., Seki T., Umehara K., Miyase T., Noguchi H., Sakakibara J., Ono T. Green tea polyphenols: novel and potent inhibitors of squalene epoxidase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000; 268(3): 767-71.
142. Wang S., Moustaid-Moussa N., Chen L., Mo H., Shastri A., Su R., Bapat P., Kwun I., Shen C.L. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *J Nutr Biochem.* 2014; 25(1): 1-18.
143. Watanabe J., Kawabata J., Niki R. Isolation and identification of acetyl-CoA carboxylase inhibitors from green tea (*Camellia sinensis*). *Biosci Biotechnol Biochem.* 1998; 62(3): 532-4.
144. Pupek-Musialik D., Kujawska-Łuczak M. Patogeneza nadciśnienia tętniczego w cukrzycy. *Przeгляд Kardiodibetologiczny* 2007; 2; 2: 88-97.
145. Sabu M.C., Smitha K., Kuttan R. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing stress in experimental diabetes. *J Ethnopharmacol.* 2002; 83(1-2): 109-16.
146. Islam M.S., Choi H. Green tea, anti-diabetic or diabetogenic: a dose response study. *Biofactors.* 2007; 29(1): 45-53.
147. Haidari F., Shahi M.M., Zarei M., Rafiei H., Omidian K. Effect of green tea extract on body weight, serum glucose and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. A dose response study. *Saudi Med J.* 2012; 33(2): 128-33.
148. Yamaji T., Mizoue T., Tabata S., Ogawa S., Yamaguchi K., Shimizu E., Mineshita M., Kono S. Coffee consumption and glucose status in middle-aged Japanese men. *Diabetology.* 2004; 47: 2145-2151.
149. Fukino Y., Shimbo M., Aoki N., Okubo T., Iso H. Randomized controlled trial an effect of green tea consumption on insulin resistance and inflammation markers. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2005; 51: 335-242.
150. Thielecke F., Boschmann M. The potencial role of green tea catechin in the prevention of the metabolic syndrome – a review. *Phytochemistry* 2009; 70 (1): 11-24.

151. Matsui T., Tanaka T., Tamura S., Toshima A., Tamaya K., Miyata Y., Tanaka K., Matsumoto K. Alpha-glucosidase inhibitory profile of catechins and theaflavins. *J Agric Food chem.* 2007; 55: 99-105.
152. Hossain S.J., Kato H., Aoshima H., Yokoyama T., Yamada M., Hara Y. Polyphenol-induced inhibition of the response of Na⁺/glucose cotransporter expressed in *Xenopus* oocytes. *J Agric Food Chem.* 2002; 50: 5215-9.
153. Collins Q.F., Liu H.Y., Pi J., Liu Z., Quon M.J., Cao W. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a green tea polyphenol, suppresses hepatic gluconeogenesis through 5-AMP-activated protein kinase. *J Biol Chem.* 2007; 282: 30143-9.
154. Mustata G.T., Rosca M., Biemel K.M., Reihl O., Smith M.A., Viswanathan A., Strauch C., Du Y., Tang J., Kern T.S. et al. Paradoxical effects of green tea (*Camellia sinensis*) and antioxidant vitamins in diabetic rats: improved retinopathy and renal mitochondrial defects but deterioration of collagen matrix glycoxidation and cross-linking. *Diabetes.* 2005; 54:517–26.
155. Hininger-Favier I., Benaraba R., Coves S., Anderson N.A., Roussel A.M. Green tea extract decreases oxidative stress and improves insulin sensitivity in an animal model of insulin resistance, the fructose-fed rat. *J Am Coll Nutr.* 2009; 28(4): 355-61.
156. Chung M.Y., Mah E., Masterjohn C., Noh S.K., Park H.J., Clark R.M., Park Y.K., Lee J.Y., Bruno R.S. Green Tea Lowers Hepatic COX-2 and Prostaglandin E2 in Rats with Dietary Fat-Induced Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Med Food.* 2014.
157. Wu L.Y., Juan C.C., Ho L.T., Hsu Y.P., Hwang L.S. Effect of green tea supplementation on insulin sensitivity in Sprague-Dawley rats. *J Agric Food Chem.* 2004; 52: 643-648.
158. Cao H., Hininger-Favier I., Kelly M.A., Benaraba R., Dawson H.D., Coves S., Roussel A.M., Anderson R.A. Green tea polyphenol extract regulates the expression of genes involved in glucose uptake and insulin signaling in rats fed a high fructose diet. *J Agric Food Chem.* 2007; 55(15): 6372-8.
159. Wu L.Y., Juan C.C., Hwang L.S., Hsu Y.P., Ho L.T. Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. *Eur J Nutr.* 2004; 43: 116-24.

160. Zhang R., Zhang Y.Y., Huang X.R. et al. C-reactive protein tein promotes cardiac fibrosis and inflammation in angiotensin II-induced hypertensive cardiac disease. *Hypertension*. 2010; 55: 953–960.
161. Zhang H., Park Y., Wu J. et al. Role of TNF-alfa in vascular dysfunction. *Clin Sci*. 2009; 116: 219–230.
162. Cao H., Kelly M.A., Kari F., Dawson H.D., Urban J.F. Jr., Coves S., Roussel A.M., Anderson R.A. Green tea increases anti-inflammatory tristetraprolin and decreases pro-inflammatory tumor necrosis factor mRNA levels in rats. *J Inflamm*. 2007; 5; 4: 1.
163. Li M., Liu J.T., Pang X.M., Han C.J., Mao J.J. Epigallocatechin-3-gallate inhibits angiotensin II and interleukin-6-induced C-reactive protein production in macrophages. *Pharmacol Rep*. 2012; 64(4): 912-8.
164. Lee W., Min W.K., Chun S., Lee Y.W., Park H., Lee D.H., Lee Y.K., Son J.E. Long-term effects of green tea ingestion on atherosclerotic biological markers in smokers. *Clin Biochem*. 2005; 38(1): 84-7.
165. Yilmaz R., Akoglu H., Altun B., Yildirim T., Arici M., Erdem Y. Dietary salt intake is related to inflammation and albuminuria in primary hypertensive patients. *Eur J Clin Nutr*. 2012; 66(11): 1214-8.
166. Barton G.M. A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *Clin Invest*. 2008; 118(2): 413–420.
167. Rizzo M., Corrado E., Coppola G., Muratori I., Novo G., Novo S. Markers of inflammation are strong predictors of subclinical and clinical atherosclerosis in women with hypertension. *Coron Artery Dis*. 2009; 20: 15–20.
168. Sign U., Devaraj S., Jiala I. C-reactive protein decreases tissue plasminogen activator activity in human aortic endothelial cells: evidence the C-reactive protein is a procoagulant. *Arterioscler Tromb Vasc Biol*. 2005; 25: 2216-2221.
169. Paleolog E., Delasalle S., Buurman W., Feldmann M. Functional activities of receptors for tumor necrosis factor alpha on human vascular endothelial cells. *Blood*. 1994; 84 (8): 2578-2590.

170. Esposito K., Nicoletti G., Giugliano D. Obesity, cytokines and endothelial dysfunction: a link for the raised cardiovascular risk associated with visceral obesity. *J. Endocrinol. Invest.* 2002, 25 (7), 646-649.
171. Kim S.J., Jeong H.J., Lee K.M., Myung N.Y., An N.H., Yang W.M., Park S.K., Lee H.J., Hong S.H., Kim H.M., Um J.Y. Epigallocatechin-3-gallate suppresses NF-kappaB activation and phosphorylation of p38 MAPK and JNK in human astrocytoma U373MG cells. *J Nutr Biochem.* 2007; 18(9): 587-96.
172. Riegsecker S., Wiczynski D., Kaplan M.J., Ahmed S. Potential benefits of green tea polyphenol EGCG in the prevention and treatment of vascular inflammation in rheumatoid arthritis. *Life Sci.* 2013; 93(8): 307-12.
173. Cavet M.E., Harrington K.L., Vollmer T.R., Ward K.W., Zhang J.Z. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of the green tea polyphenol epigallocatechin gallate in human corneal epithelial cells. *Mol Vis.* 2011; 18;17:533-42.
174. Wang Z.M., Gao W., Wang H., Zhao D., Nie Z.L., Shi J.Q., Zhao S., Lu X., Wang L.S., Yang Z.J. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits TNF- α -induced production of monocyte chemoattractant protein-1 in human umbilical vein endothelial cells. *Cell Physiol Biochem.* 2014; 33(5): 1349-58.
175. Choi K.C., Jung M.G., Lee Y.H., Yoon J.C., Kwon S.H., Kang H.B., Kim M.J., Cha J.H., Kim Y.J., Jun W.J., Lee J.M., Yoon H.G. Epigallocatechin-3-gallate, a histone acetyltransferase inhibitor, inhibits EBV-induced B lymphocyte transformation via suppression of RelA acetylation. *Cancer Res.* 2009; 69: 583-92.
176. Singh R., Akhtar N., Haqqi T.M. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate: inflammation and arthritis. *Life Sci.* 2010; 86: 907-18.
177. Surh Y-J. NF-kB and AP-1 as molecular targets for chemoprevention with EGCG, a review. *Environ Chem Lett.* 2006; 4: 137-41.
178. Dobrzyńska I., Szachowicz-Petelska B., Ostrowska J., Skrzydlewska E., Figaszewski Z. Protective effect of green tea on erythrocyte membrane of different age rats intoxicated with ethanol. *Chem Biol Interact.* 2005; 156(1): 41-53.

179. Kager N., Ferk F., Kundi M., Wagner K.H., Misík M., Knasmüller S. Prevention of oxidative DNA damage in inner organs and lymphocytes of rats by green tea extract. *Eur J Nutr.* 2010; 49(4): 227-34.
180. Narotzki B., Reznick A.Z., Mitki T., Aizenbud D., Levy Y. Green tea drinking improves erythrocytes and saliva oxidative status in the elderly. *Adv Exp Med Biol.* 2015; 832: 25-33.
181. Choi K.C., Jung M.G., Lee Y.H., Yoon J.C., Kwon S.H., Kang H.B., Kim M.J., Cha J.H., Kim Y.J., Jun W.J., Lee J.M., Yoon H.G. Epigallocatechin-3-gallate, a histone acetyltransferase inhibitor, inhibits EBV-induced B lymphocyte transformation via suppression of RelA acetylation. *Cancer Res.* 2009; 69: 583–92.
182. Harrison D.G., Vinh A., Lob H. et al. Role of the adaptive immune system in hypertension. *Curr Opin Pharmacol* 2010; 10: 203-207.
183. Ezzati M., Lopez A.D., Rodgers A. et al. Selected major risk and global and regional burden of disease. *Lancet.* 2002; 360: 1347-60.
184. Hakim I.A., Chow H.H., Harris R.B. Green tea consumption is associated with decreased DNA damage among GSTM1-positive smokers regardless of their hOGG1 genotype. *J Nutr.* 2008; 138(8): 1567S-1571.
185. Schewe T., Steffen Y., Sies H. How do dietary flavonoides improve vascular function? A positive paper. *Arch Biochem Biophys.* 2008; 476: 102-106.

X. SPIS RYCIN

Rysunek 1. Klasyfikacja ciśnienia tętniczego prawidłowego i nadciśnienia tętniczego wg obowiązujących wytycznych Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (PTNT) z 2011 roku	9
Rysunek 2. Kryteria rozpoznania zespołu metabolicznego zgodnie z definicją Międzynarodowej Federacji Diabetyków (IDF) z czerwca 2005 roku.....	15
Rysunek 3 . Wpływ procesu obróbki herbaty na zawartość związków polifenolowych	27
Rysunek 4. Katechiny występujące w liściach zielonej herbaty	27
Rysunek 5. Schemat przeprowadzonego doświadczenia.....	36
Rysunek 6. Pomiar ciśnienia tętniczego na ogonie szczura za pomocą przenośnego miernika ciśnienia – Model MK-1030, (<i>Muromachi Kikai, Tokyo, Japan</i>)	39
Rysunek 7. Porównanie wartości SPB pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.....	47
Rysunek 8. Porównanie wartości DPB pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.....	47
Rysunek 9. Porównanie stężenia TCH pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.....	49
Rysunek 10. Porównanie stężenia LDL pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.....	50
Rysunek 11. Porównanie stężenia insuliny pomiędzy grupami szczurów w modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.....	52
Rysunek 12. Porównanie wskaźnika insulinooporności HOMA pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.	52
Rysunek 13. Porównanie stężenia TNF- α pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.....	55
Rysunek 14. Porównanie poziomu TAS pomiędzy grupami szczurów modelu nadciśnienia tętniczego po suplementacji ekstraktu z zielonej herbaty.....	55
Rysunek 15. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a średnimi wartościami SBP.	58

Rysunek 16. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a średnimi wartościami DBP.	58
Rysunek 17. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a stężeniem TCH.	59
Rysunek 18. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a LDL.	59
Rysunek 19. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a stężeniem insuliny.	60
Rysunek 20. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a wskaźnikiem HOMA.	60
Rysunek 21. Ujemna korelacja pomiędzy poziomem TAS a stężeniem TNF- α	61
Rysunek 22. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem TNF- α a stężeniem insuliny.	63
Rysunek 23. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem TNF- α a wskaźnikiem HOMA.	63
Rysunek 24. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem CRP a średnimi wartościami skurczowego SBP.	64
Rysunek 25. Dodatnia korelacja pomiędzy wartością indeksu HOMA a stężeniem LDL.	66
Rysunek 26. Dodatnia korelacja pomiędzy wartością indeksu HOMA a stężeniem TCH.	66

XI. SPIS TABEL

Tabela 1. Skład diety standardowej bez dodatku NaCl.....	37
Tabela 2. Skład preparatu Zielona Herbata Ekstrakt Olimp Laboratories.....	38
Tabela 3. Masa ciała szczurów po zakończeniu doświadczenia.....	45
Tabela 4. Wartości ciśnienia tętniczego w poszczególnych grupach szczurów po 6 tygodniach eksperymentu.	46
Tabela 5. Stężenia parametrów gospodarki lipidowej w poszczególnych grupach szczurów po 6 tygodniach eksperymentu.	48
Tabela 6. Stężenia parametrów gospodarki węglowodanowej w poszczególnych grupach szczurów po 6 tygodniach eksperymentu.	51
Tabela 7. Stężenia parametrów zapalnych i stresu oksydacyjnego w modelu nadciśnienia tętniczego w poszczególnych grupach szczurów po 6 tygodniach eksperymentu.	54
Tabela 8. Istotne statystycznie korelacje pomiędzy TAS a ocenianymi parametrami w całej badanej populacji szczurów.	57
Tabela 9. Korelacje pomiędzy TNF- α oraz CRP i ocenianymi parametrami w całej badanej populacji szczurów.	62
Tabela 10. Korelacje pomiędzy wskaźnikiem HOMA a ocenianymi parametrami w całej badanej populacji szczurów.	65