

# Protektivni učinci polifenola pri izloženosti organoklornim spojevima

---

Jurišić, Anica

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:759253>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-02**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno - biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Nutricionizam**

**Anica Jurišić**

7255/N

**PROTEKTIVNI UČINCI POLIFENOLA PRI IZLOŽENOSTI  
ORGANOKLORNIM SPOJEVIMA**  
**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Osnove toksikologije

**Mentor:** Izv.prof.dr.sc. Ivana Kmetič

**Zagreb, 2019.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam**  
**Zavod za kemiju i biokemiju**  
**Laboratorij za toksikologiju**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti**  
**Znanstveno polje: Nutricionizam**

**Protektivni učinci polifenola pri izloženosti organoklornim spojevima**  
*Anica Jurišić, 0058208978*

**Sažetak:** Organoklorni spojevi su toksični spojevi koji nastaju tijekom različitih industrijskih procesa, procesa izgaranja i postupaka spaljivanja otpada te se koriste u poljoprivredi kao agrokemikalije. Izloženost organoklornim spojevima predstavlja veliku opasnost za ljudsko zdravlje. Učestalom ekspozicijom organoklornim spojevima narušava se normalno funkcioniranje organizma i dolazi do indukcije oksidacijskog stresa i upalnih procesa koji mogu voditi do pojave raznih kroničnih i malignih bolesti. Polifenoli su spojevi široko zastupljeni u prirodi, a nastaju kao sekundarni metaboliti u biljkama kao posljedica štetnog UV zračenja te štetnog djelovanja radikala. Polifenoli su spojevi koji imaju visoko antioksidacijsko i protuupalno djelovanje stoga se smatra kako mogu djelovati povoljno pri izloženosti tvarima koje izazivaju oksidacijski stres i upalne procese u ljudskom organizmu. U ovom radu objedinjeni su dokazi o protektivnim učincima polifenola pri toksičnosti izazvanoj organoklornim spojevima, kao i objašnjeni predloženi mehanizmi njihovog protektivnog djelovanja.

**Ključne riječi:** antioksidansi, organoklorni spojevi, polifenoli, protektivno djelovanje, toksičnost

**Rad sadrži:** 34 stranice, 4 slike, 4 tablice, 72 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Ivana Kmetič

**Pomoć pri izradi:** doc. dr. sc. Teuta Murati; Marina Miletić, mag. ing., asistent

**Datum obrane:** 18. rujna, 2019.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Nutrition**  
**Department of Chemistry and Biochemistry**  
**Laboratory for Toxicology**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific field: Nutrition**

**Protective effects of polyphenols against exposure to organochlorine compounds**  
*Anica Jurišić, 0058208978*

**Abstract:** Organochlorine compounds are toxic chemicals that are produced in different industrial processes, combustion processes, waste incineration and are used in agriculture as pesticides. Exposure to organochlorine compounds represents a great risk for human health. Common exposure to organochlorine compounds can impair normal function of organism and cause oxidative stress and inflammation which can lead to many chronic and malignant diseases. Polyphenols are compounds which are widely distributed in fruits, vegetables, seeds and nuts. They are formed as secondary metabolites in plants as a result of harmful UV radiation and damaging actions of free radicals. Polyphenols have high antioxidant and anti-inflammatory activity, therefore they are considered to be beneficial for exposure to substances that cause oxidative stress and inflammatory processes in the human body. This paper consolidates protective effects of polyphenols on organochlorine compounds-induced toxicity, and explains the proposed mechanisms for their protective action.

**Keywords:** antioxidants, organochlorine compounds, polyphenols, protective effects, toxicity

**Thesis contains:** 34 pages, 4 figures, 4 tables, 72 references

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** PhD. Ivana Kmetič, Associate Professor

**Technical support and assistance:** PhD. Teuta Murati, Assistant Professor; M.S. Marina Miletić, Scientific Assistant

**Defence date:** 18th September 2019

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
<b>2.1. Organoklorni spojevi</b> .....	2
<b>2.1.1. Organoklorni pesticidi (OCP)</b> .....	2
<b>2.1.2. Poliklorirani bifenili (PCB)</b> .....	5
<b>2.1.3. Poliklorirani dibenzo-<i>p</i>-dioksini (PCDD) i poliklorirani dibenzo furani (PCDF)</b> .....	6
<b>2.1.4. Prisutstvo organoklornih spojeva u okolišu i putevi izloženosti</b> .....	7
<b>2.1.5. Toksični učinci organoklornih spojeva</b> .....	8
<b>2.1.6. Intracelularni mehanizmi djelovanja organoklornih spojeva</b> .....	9
<b>2.2. Polifenoli</b> .....	11
<b>2.2.1. Klasifikacija polifenola</b> .....	11
<b>2.2.2. Protektivni učinci polifenola</b> .....	14
<b>2.2.3. Hrana bogata polifenolima</b> .....	20
<b>2.3. Zaštitni učinci polifenola na toksičnost induciranu organoklornim spojevima</b> .....	21
<b>2.3.1. Protektivno djelovanje polifenola na oksidacijski stres i upalu induciranu organoklornim spojevima</b> .....	22
<b>2.3.2. Povećana ekskrecija organoklornih spojeva posredovana polifenolnim spojevima</b> .....	24
<b>2.3.3. Sprječavanje stanične smrti inducirane organoklornim spojevima</b> .....	25
<b>2.3.4. Upotreba polifenola u tehnologijama za zaštitu okoliša od kontaminacije organoklornim spojevima</b> .....	26
<b>3. ZAKLJUČAK</b> .....	27
<b>4. LITERATURA</b> .....	28

## 1. UVOD

Izloženost okolišnim kontaminantima se s obzirom na prilike i način života sve više povećava. Jedni od glavnih kontaminanata su organoklorni spojevi koji mogu nastati u industrijskim procesima ili zaostati u prirodi zbog ekscesivne upotrebe u poljoprivredi.

Izloženost organoklornim spojevima uzrokuje brojne toksične učinke, a posljedice za zdravlje su više nego opasne. Pojava kroničnih bolesti poput dijabetesa, neurodegenerativnih bolesti te pojava karcinoma odnose nebrojene živote, a jedan od čimbenika koji se povezuje s razvojem navedenih bolesti jest izloženost organoklornim spojevima. Organoklorni spojevi, uključujući poliklorirane bifenile, organoklorne pesticide, poliklorirane dibenzo-*p*-dioksine i poliklorirane dibenzo furane, u organizmu narušavaju normalno funkcioniranje endokrinog i reprodukcijskog sustava, izazivaju oksidacijski stres, uzrokuju upalne procese te djeluju genotoksično, imunotoksično i neurotoksično (Gourounti i sur., 2008; Jayaraj i sur., 2016).

Osim izloženosti organoklornim spojevima, nepravilna i neuravnotežena prehrana bogata zasićenim mastima pogoduje razvoju kroničnih bolesti. Zato je važno prakticirati zdrave navike i osigurati raznovrsnu prehranu koja je obilata voćem i povrćem jer upravo te namirnice sadrže obrambene agense – polifenolne spojeve. Polifenoli imaju brojne pozitivne učinke na ljudsko zdravlje. U mnogim studijama potvrđen je njihov antioksidacijski, protuupalni i antikancerogeni učinak, a osim toga djeluju protektivno na razvoj kroničnih bolesti poput bolesti krvožilnog i neurološkog sustava (Rasouli i sur., 2017).

Postoje brojne studije u kojima je potvrđeno protektivno djelovanje polifenola pri izloženosti organoklornim spojevima zbog toga što flavonoidi i drugi polifenoli kroz indukciju antioksidacijskih enzima, protuupalno djelovanje, otežavanje apsorpcije i poticanje ekskrecije toksičnih tvari te razne druge mehanizme pružaju zaštitu ljudskom zdravlju (Petriello i sur., 2014b).

U ovom radu dan je prikaz nekih od mehanizama protektivnog djelovanja polifenola kao i pregled istraživanja koja potvrđuju takvo njihovo djelovanje pri toksičnosti koja je izazvana izloženošću organoklornim spojevima.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. Organoklorni spojevi**

Organoklorni spojevi nastaju tijekom raznih industrijskih procesa, procesa izgaranja, postupaka spaljivanja otpada i koriste se u poljoprivredi kao agrokemikalije te predstavljaju veliku opasnost za zdravlje ljudi zbog svoje visoke perzistentnosti i toksičnosti (Šiljković, 1999).

Navedeni spojevi pripadaju skupini perzistentnih organskih zagađivača (eng. *persistent organic pollutants*, POPs) s vrlo dugim zadržavanjem u okolišu (Jayaraj i sur., 2016). Pojam organoklornih spojeva uobičajeno podrazumijeva veliku skupinu spojeva u koje se ubrajaju organoklorni pesticidi (OCP), poliklorirani bifenili (PCB), poliklorirani dibenzo-*p*-dioksini (PCDD) i poliklorirani dibenzofurani (PCDF) (Gourounti i sur., 2008).

Većina organoklorih spojeva dijeli slične karakteristike poput stabilnosti koju duguju jakoj ugljik-klor vezi koja im omogućava da se ne razgrade tijekom normalnih fizikalnih i biokemijskih procesa. Osim toga vrlo su slabo topljivi u vodi, a visoko topljivi u mastima (Gourounti i sur., 2008).

#### **2.1.1. Organoklorni pesticidi (OCP)**

Organoklorni pesticidi su sintetski organski spojevi koji se primjenjuju u cijelome svijetu za potrebe u poljoprivredi, kemijskoj industriji i kućanstvima (Attaullah i sur., 2018). Pesticidima nazivamo skupinu kemikalija koja se koristi za ciljano uništavanje insekata, korova, gljivica, bakterija i slično. Prema tipu organizma koji uništavaju razlikuju se insekticidi, herbicidi, fungicidi, baktericidi te rodenticidi. Većina pesticida ima sposobnost uništavanja širokog spektra nametnika i korova, ali neki su razvijeni kako bi specifično uništavali jednu vrstu organizma (Jayaraj i sur., 2016).

Organoklorni pesticidi, kao i ostale kemikalije iz skupine pesticida, djeluju na način da ometaju fiziološke aktivnosti ciljnog organizma što dovodi do disfunkcije i smrti ciljnog organizma. Rezidue organoklornih spojeva u okolišu predstavljaju veliku opasnost, a zbog nekadašnje učestale upotrebe i danas se mogu pronaći u tlu, vodi i zraku (Jayaraj i sur., 2016).

Odlikuje ih dobra topljivost u mastima, sposobnost bioakumulacije i biomagnifikacije u masnim tkivima te se lako u organizmu pregrađuju u još toksičnije spojeve (Attaullah i sur., 2018).

Jedan od najpoznatijih organoklornih pesticida jest DDT (diklorodifeniltrikloroetan), insekticid koji se široko primjenjivao u Drugom svjetskom ratu u obliku praška koji su vojnici američke

vojske nanosili na kožu kako bi se zaštitili od parazita. Osim toga, DDT i neki drugi pesticidi svoju su primjenu našli u uklanjanju podzemnih gnijezda termita (NPIC, 1999).

Organoklorni pesticidi u koje se ubrajaju organoklorni insekticidi, herbicidi i fungicidi, su klorirani ugljikovodici koji su se koristili najviše od 1940. do 1970. u agrikulturi i kontroli epidemija bolesti koje prenose insekti, poput malarije. Iako malog utroška i visoke učinkovitosti, zbog iznimne toksičnosti i štetnosti po ljudsko zdravlje u većini razvijenih zemalja upotreba insekticida poput DDT-a, heksaklorocikloheksana te aldrina jest zabranjena. Imaju sličnu kemijsku strukturu, tj. to su alifatski ili aromatski prstenovi koji sadrže klor kao supstituente i stoga dijele i slične fizikalno-kemijske karakteristike poput visoke perzistencije, bioakumulacije i toksičnosti. Perzistencija organoklornih pesticida varira od umjerene (poluvrijeme zadržavanja 60 dana) do vrlo visoke perzistencije (poluvrijeme zadržavanja 10-15 godina) (Jayaraj i sur., 2016). U tablici 1. i tablici 2. prikazani su organoklorni pesticidi svrstani u pojedine grupe s obzirom na kemijsku strukturu i namjenu.

**Tablica 1.** Prikaz organoklornih insekticida, najvažnijih predstavnika i njihov kratki opis (Murati i sur., 2014)

organoklorni insekticid	predstavnic	kratki opis
klorirani ciklodieni	aldrin, dieldrin, klordan, heptaklor i endrin	Glavni intermedijer u sintezi i strukturalna okosnica je heksaklorciklopentadienski prsten. Visoke su djelotvornosti i vrlo niskih oralnih LD <sub>50</sub> . Djeluju na centralni živčani sustav.
DDT i spojevi slični DDT-u	DDT, DDD, dikofol, metoksiklor, metioklor	DDT se u okolišu ekstremno sporo razgrađuje zahvaljujući svojoj kemijskoj strukturi. Akumulira se u prehrambenom lancu, zbog izazite lipofilnosti nakuplja se u adipoznom tkivu, DDT i njegovi metaboliti zabilježeni u ljudskom tkivu, krvi i serumu.
heksaklorocikloheksani	lindan i ostali izomeri heksaklorocikloheksana	Ovisno o prostornom položaju klora u molekuli pojavljuju se u nekoliko stereo izomernih formi. Najjača insekticidna svojstva ima γ-izomer lindan.
toksafen	toksafen	Također poznat kao kamfeklor, postojan je organoklorov insekticid složenog sastava. Pod pojmom toksafen podrazumijeva se smjesa koja se sastoji od kombinacije više stotina kemijski različitih spojeva tehnički dobivenih fotoklorinacijom kamfena s plinovitim elementarnim klorom pod ultraljubičastim zračenjem.

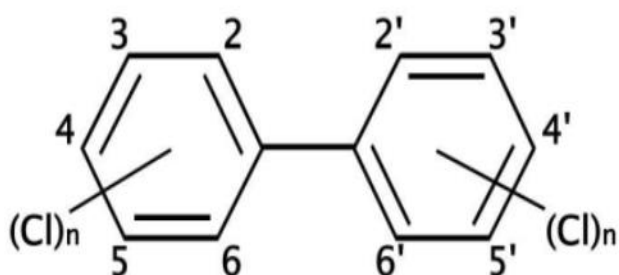


**Tablica 2.** Prikaz odabranih organoklornih herbicida i fungicida, predstavnika i njihov kratki opis (EXTOXNET, 1993; PubChem, 2019a; PubChem, 2019b; PubChem, 2019c; PubChem, 2019d; PubChem, 2019e; PubChem, 2019f; Šiljković, 1999.)

organoklorni pesticid	predstavnici	kratki opis
organoklorni herbicidi	alaklor (2-kloro-N-(2,4-dietilfenil)-N-metoksimetilacetamid)	Koristi se za kontrolu korova u poljima kukuruza, soje i kikirikija. Djeluje tako da interferira sa sposobnošću biljke da sintetizira proteine i djeluje nepovoljno na elongaciju korijena.
	atrazin (2-klor-4-etilamino-6-izopropilamino-s-triazin)	U relativno malim dozama, pokazivao je odlično djelovanje na veliki broj različitih jednogodišnjih širokolisnih korova. Danas je vodeći herbicid. Prema klasifikaciji često je svrstavan u triazinske spojeve.
	kloridazon (5-amino-4-kloro-2-fenil-3(2H)piridazinon)	Često se naziva i pirazon, koristi se za kontrolu korova, posebice u poljima šećerne repice.
	2,4-D (diklorfenoksiocetna kiselina)	Spoj bijele boje bez mirisa. Koristi se aktivni sastojak mnogih herbicida diljem svijeta. Postoji 9 oblika 2,4-D koji se mogu koristiti kao herbicid i obično se prodaju u obliku praška ili tekućine.
	2,4,5-T (triklorfenoksiocetna kiselina)	Jak je iritans. Ovaj spoj koristio se kao herbicid u poljima riže, šećerne trske i voćnjacima, a njegova upotreba zabranjena je 1985.
organoklorni fungicidi	heksaklorbenzen	Kada se zagrijava tvori toksične pare ugljičnog monoksida i dioksida te klorovodične kiseline. Intermedijer je u proizvodnji sintetskih boja, kemikalija i guma. Izloženost heksaklorbenzenu uzrokuje slabljenje jetre i kožne lezije.
	pentakloronitrobenzen	Poznat pod nazivom kvintozen. Često se koristio u poljima pamuka i riže. Zabranjen je u Europskoj Uniji.

### **2.1.2. Poliklorirani bifenili (PCB)**

Poliklorirani bifenili (PCB) su molekule aromatskih struktura s dva povezana benzenska prstena u kojima su svi ili pojedini vodikovi atomi supstituirani atomima klora, a kemijska formula PCB-a jest  $C_{12}H_{10-n}Cl_n$  gdje je  $n$  broj atoma klora (Slika 1) (Kmetič i sur., 2012).



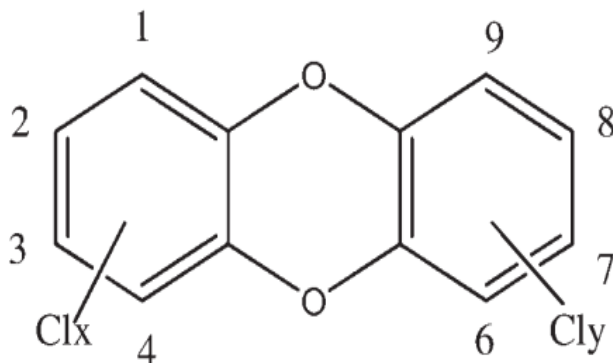
**Slika 1.** Strukturna formula PCB-a (Kmetič i sur., 2012)

Poliklorirani bifenili su kemijski spojevi koji su se široko upotrebljavali za razne industrijske procese. Unatoč tome što je prošlo nekoliko desetljeća od završetka njihove upotrebe, zahvaljujući visokoj perzistentnosti, poliklorirani bifenili i danas predstavljaju visoku opasnost za okoliš i ljudsko zdravlje (Calsolaro i sur., 2017). Odlikuje ih visoka razina toksičnosti, a mogu se naći u obliku prozirne i lagano obojene tekućine, ali i u žuto do crno obojenim viskoznom smolama. PCB-i su zbog karakteristika poput nezapaljivosti, kemijske stabilnosti, visoke točke vrelišta i slabe električne vodljivosti našli primjenu u brojnim industrijskim i komercijalnim procesima, ali su dospjeli na loš glas zbog brojnih poveznica sa štetnim djelovanjem na čovjeka. PCB-i uzrokuju brojne toksične učinke koji variraju od endokrine disrupcije do razvoja upalnih procesa (ToxNet, 2019).

S obzirom na broj i položaj atoma klora moguća je sinteza 209 različitih kongenera PCB-a, ali su se koplanarni PCB-i, kojima nedostaje supstitucija klorom na *-ortho* položaju na oba fenilna prstena, pokazali toksičnijima. U takve koplanarne PCB-e ubrajaju se npr. PCB 77 i PCB 126, a oni svoje toksično djelovanje u organizmu ostvaruju vezanjem na aril ugljikovodični receptor (*eng. aril hydrocarbon receptor, AhR*) te nizom reakcija povećavaju razinu reaktivnih kisikovih čestica putem citokrom P450 sustava (Petriello i sur., 2014a).

### 2.1.3. Poliklorirani dibenzo-*p*-dioksini (PCDD) i poliklorirani dibenzo furani (PCDF)

Osnovna struktura PCDD-a je dibenzo-*p*-dioksin (DD) molekula koja se sastoji od 2 benzenska prstena koja su povezana dvama kisikovim atomima (Slika 2).



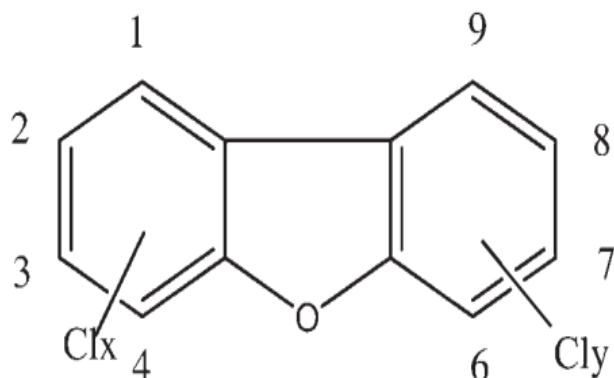
**Slika 2.** Strukturna formula PCDD-a (Kožul i Herceg Romanić, 2009)

U grupu PCDD-a svrstava se 75 kongenera uključujući 8 homologa dibenzo-*p*-dioksina koji mogu imati jednu do 8 supstitucija s klorom (Fernández-González i sur., 2013).

Poliklorirani dioksini u čistom obliku pronalaze se kao bezbojne krutine ili kristali. Odlikuje ih slaba topljivost u vodi i visoka stabilnost te visoki afinitet za čestice u zraku, vodi i tlu. Najvišu stopu toksičnosti pokazali su 2,3,7,8 – supstituirani tetra-, ali i penta- i heksakloro spojevi, a osim toga ti su spojevi pokazali najveću tendenciju bioakumulacije (Fernández-González i sur., 2013).

Kao jedan od najtoksičnijih spojeva koji se ubraja u skupinu PCDD-a izdvojio se kongener 2,3,7,8-TCDD (2,3,7,8-tetraklorodibenzo-*p*-dioksin) koji je do sada i najviše istraživani. 2,3,7,8-TCDD-u (na temelju *in vivo* i *in vitro* istraživanja) dodijeljena je vrijednost faktora ekvivalentne toksičnosti (eng. *toxic equivalency factor*, TEF) 1, dok je ostalim toksikološki važnim kongenerima dodijeljena vrijednost TEF-a s obzirom na njihovu toksičnost u odnosu prema onoj TCDD-a (Kožul i Herceg Romanić, 2009).

PCDF imaju strukturu koja se sastoji od tri prstena odnosno 2 benzenska prstena povezana furanom (Slika 3).



**Slika 3.** Strukturna formula PCDF-a (Koželj i Herceg Romanić, 2009)

Kao i kod PCDD-a na prstene kod PCDF-a također može biti vezano jedan do osam atoma klora. Postoji 135 tipova PCDF-a, a njihove karakteristike, kao i stupanj toksičnosti, uvjetovane su brojem i raspodjelom klorovih atoma. Toksični odgovor na PCDF uključuje dermalnu toksičnost, imunotoksičnost, reproduktivnu i razvojnu toksičnost i gotovo su sve potaknute djelovanjem na AhR koji je prisutan u mnogim životinjskim tkivima (Larsen i Nørhede, 2013).

#### **2.1.4. Prisutstvo organoklornih spojeva u okolišu i putevi izloženosti**

Izvori ovih spojeva su mnogobrojni i u okolišu se obično javljaju kao ostaci u kultiviranom tlu nakon intenzivne primjene pesticida za zaštitu bilja, te se talože iz zraka kao posljedica emisija iz tekstilne i farmaceutske industrije, industrije cementa i građevinskih materijala, metalurške i metaloprerađivačke industrije, energetskih postrojenja, postrojenja za obradu i spaljivanje otpada i dr. te su identificirani kao potencijalni kancerogeni spojevi (Sofilić, 2014).

Osim toga, zbog učestale primjene pesticida u cilju očuvanja usjeva i njihovog nakupljanja i zadržavanja u okolišu, izloženost organoklornim spojevima preko prehrambenih proizvoda predstavlja veliki rizik za zdravlje čovjeka zbog njihovog ometanja endokrine funkcije i kancerogenog djelovanja. Posebno rizična skupina namirnica jest hrana životinjskog porijekla poput žumanjka jajeta, jetre te masnog tkiva zbog lipofilnih svojstava organoklornih spojeva koja im omogućuju nakupljanje u takvim tkivima. Prema istraživanju koje su proveli Bilandžić i sur. (2013) koncentracije OCP i PCB spojeva u masnom tkivu i mesu svinja i goveda te u

proizvodima od mesa ukazuju da te vrste hrane ne pridonose značajno unosu navedenih spojeva prehranom u organizam te da su sigurne za potrošače u Hrvatskoj.

Putevi izloženosti organoklornim spojevima, odnosno putevi resorpcije mogući su kroz kožu, pluća i gastrointestinalni trakt. Lindan, heksaklorcikloheksan, kada se koristi kao losion ili šampon za kontrolu uši i svraba, u organizam ulazi kroz kožu (Mehić, 2017). Upotrebom kontaminiranih namirnica (npr. uzgojene na tlu koje je tretirano organoklornim pesticidima, mesa i mlijeka iz kontaminiranih životinja) i kontaminirane vode, apsorpcija se odvija putem gastrointestinalnog trakta. Resorpcija putem pluća odvija se udisanjem kontaminiranog zraka u spomenutim područjima (blizina odlagališta otpada, industrija itd.) (Petriello i sur., 2014b).

Izloženost organoklornim spojevima može se dogoditi ne samo u odrasloj dobi nego i u prenatalnom i neonatalnom periodu. Fetus u razvoju može biti izložen organoklornim spojevima putem posteljice obzirom da organoklorni spojevi prolaze kroz placentalnu barijeru, a izloženost se može nastaviti i poslije rođenja putem majčinog mlijeka. Kako su organoklorni spojevi lipofilni, izlučuju se u majčino mlijeko stoga je i majčino mlijeko neosporiv način izloženosti organoklornim spojevima (Gourounti i sur., 2008).

#### **2.1.5. Toksični učinci organoklornih spojeva**

Iako su proizvedeni, a neki i zabranjeni prije više desetljeća, organoklorni spojevi još kruže u okolišu akumulirajući se u tkivima i organima ljudi u koncentracijama u kojima mogu bitno narušiti zdravlje (Šiljković, 1999).

Simptomi akutnog trovanja organoklornim spojevima mogu biti glavobolja, vrtoglavica, mučnina, povraćanje, slabost mišića, znojenje, tremor i slično. Kronična izloženost organoklornim spojevima nosi znatno ozbiljnije posljedice poput oštećenja vitalnih organa jetre, bubrega, centralnog živčanog sustava, oštećenja tiroidne žlijezde te mjehura (Bilandžić i sur., 2013).

Većina organoklornih pesticida ometa endokrino djelovanje te može uzrokovati hepatotoksičnost, imunotoksičnost, uzrokovati abnormalnosti u razvoju te čak uzrokovati negativne učinke po neurološki sustav i karcinom. Neurološke učinke organoklornih pesticida potvrdile su mnogobrojne znanstvene studije. Tako je utvrđeno da ekspozicija organoklornim insekticidima uzrokuje brojne neurološke simptome poput glavobolje, boli, slabosti, naglog gubljenja svijesti kao i promjene u ponašanju. Klinička slika akutnog trovanja ovim spojevima očituje se u neurobiheviornalnim poremećajima pri čemu je narušena fiziologija neurotransmisije (Murati i sur., 2014). Epidemiološke studije pronašle su poveznicu između

pojave Parkinsonove bolesti i organoklornih spojeva (Jayaraj i sur., 2016). Izloženost DDT-u ima posljedicu stvaranja neuroloških poremećaja i bolesti poput tremora i Parkinsonove bolesti, a osim toga reducira razinu dopamina u striatumu glodavaca (Tai i Truong, 2010).

Većina organoklornih spojeva pokazuje toksične učinke na reproduktivni sustav u sisavaca gdje uzrokuju promjene na hormon ovisnim organima i remete sustav povratne sprege. Također, izloženost organoklornim spojevima u trudnoći uzrokuje povećanu tjelesnu masu novorođenčeta te visok ITM (indeks tjelesne mase) tijekom života (Mendez i sur., 2011).

Preliminarni rezultati novijih istraživanja pokazali su kako se prenatalna izloženost organoklornim spojevima povezuje sa smanjenom funkcijom pluća sve do adolescencije, a uz to navedena izloženost povećava predispozicije za kronične respiratorne bolesti kasnije u životu (Abellan i sur., 2018). Također, izloženost organoklornim spojevima poput diklordifenilkloroetilenu i oksiklordanu povezana je s povećanom prevalencijom dijabetesa (Howell i Mangum, 2011).

Prema Međunarodnoj agenciji za istraživanje raka (eng. *International agency for research on cancer*, IARC), većina organoklornih spojeva smatra se potencijalno kancerogenima za ljude, dok su od 2016. PCB-i svrstani u skupinu I kancerogenih tvari. Za dieldrin, često korišteni OCP, smatra se da uzrokuje brojne vrste karcinoma u ljudi kao što su karcinom pluća, karcinom gušterače, karcinom dojke te leukemiju (Attaullah i sur., 2018).

#### **2.1.6. Intracelularni mehanizmi djelovanja organoklornih spojeva**

Iako djelotvorni, organoklorni spojevi postali su predmetom izbjegavanja i striktnih zabrana zbog primjećene toksičnosti uzrokovane endokrinom disrupcijom te upalnim procesima i oksidacijskim stresom (Jayaraj i sur., 2016).

Za organoklorne spojeve dokazano je kako interferiraju sa sintezom, sekrecijom, transportom, metabolizmom ili eliminacijom hormona i enzima koji su prisutni kako bi održali homeostazu važnih fizioloških procesa. Za takve spojeve koristi se nazivi endokrini disruptori, a organoklorni spojevi kao takvi najčešće utječu na razinu steroidnih hormona kroz razne mehanizme. Jedan od mehanizama ometanja pravilne funkcije steroidnih hormona jest vezanje organoklornih spojeva na specifične hormon receptore te na taj način blokiranje vezanja hormona na njegov receptor (Gourounti i sur., 2008).

Osim toga, organoklorni spojevi ometaju pravilnu funkciju i tiroidnih hormona. Izloženost PCB-ima reducira razinu hormona tiroidne žlijezde, posebice tiroksina. Predloženi mehanizam djelovanja PCB-a jest utjecaj na nepravilnu preraspodjelu pro-hormona L-tiroksina i

onemogućavanje vezanja na transportni protein tiroidnih hormona - transtiretin. Drugi potencijalni mehanizam interferencije PCB-a s tiroidnom homeostazom predlaže kako PCB djeluje kao inhibitor za enzime sulfatacije tiroidnih hormona kako su i PCB-i sami supstrat za enzime sulfotransferaze (reakcije metaboličke pretvorbe) (Grimm i sur., 2015).

Osim utjecaja na homeostazu endokrinog sustava, organoklorni spojevi potiču oksidacijski stres u organizmu, povećava se razina ROS-a, induciraju se antioksidacijski enzimi te se mijenja ravnoteža drugih antioksidanasa. Tako je primjerice, s metabolitima PCB-a povezano citotoksično djelovanje u mnogim tkivima kao rezultat indukcije povećanog stvaranja ROS-a, posebice superoksida i hidroperoksida. Negativni učinci nastalih slobodnih radikala uključuju oštećenja DNA i drugih biološki važnih makromolekula, narušavaju integritet stanične membrane, moduliraju ekspresiju gena, djeluju na signalne puteve i staničnu proliferaciju i u konačnici mogu inducirati staničnu smrt (apoptozu i nekrozu) (Murati i sur., 2014).

Nekoliko istraživanja predlaže kako su oksidativni stres i oštećenja DNA izazvani organoklornim spojevima posredovani interakcijama navedenih komponenti s AhR i aktivacijom sustava citokroma P450. Iako CYP1A1 sudjeluje u detoksikaciji mnogih ksenobiotika, u prisutnosti PCB-a može postati neefikasan te mogu nastati ROS koji pogoduju razvoju oksidacijskog stresa. U ljudi, CYP1A1 je pod kontrolom AhR, a kodira za citokrom P450 enzim koji je ključni enzim u fazi I biotransformacija ksenobiotika. Smatra se da se planarni PCB-i i dioksini vežu na AhR, a zatim se aktivira citokrom P450 (CYP1A1) mehanizam. Metabolizam organoklornih spojeva u adipoznom tkivu tada može generirati ROS koje uzrokuju oksidaciju DNA i posljedično, DNA mutacije (Gourounti i sur., 2008).

Još jedan primjer mehanizma citotoksičnog djelovanja organoklornih spojeva jest stimulacija centralnog živčanog sustava. Inhibicija ATP-aza u neuronima koje imaju značaj u repolarizaciji staničnih membrana, karakterističan je mehanizam djelovanja za DDT i GABA-antagoniste, ciklodiene (Murati i sur., 2014).

Niže klorirani bifenili metaboličkim pretvorbama ostvaruju i genotoksične učinke (nastaju aren oksidi i kinoni), povećavaju stopu genskih mutacija, induciraju jednolančane lomove u DNA te se vežu na protein topoizomerazu II i inhibiraju djelovanje ovog enzima (Grimm i sur., 2015).

## **2.2. Polifenoli**

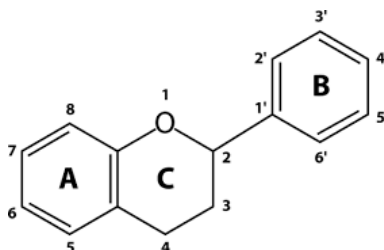
Polifenoli su jedni od najzastupljenijih spojeva u prirodi, a nastaju kao sekundarni metaboliti u biljkama koje ih koriste kao obrambene agense (zaštita od štetnog UV zračenja, slobodnih radikala, pomoć pri oprašivanju). Svoj obrambeni potencijal pokazuju i u ljudskom organizmu, stoga bi se redovitom konzumacijom namirnica bogatih polifenolima moglo utjecati na sprječavanje pojave raznih bolesti, uključujući maligne, kardiovaskularne i neurodegenerativne bolesti (Botelho i sur., 2017; Rasouli i sur., 2017).

### **2.2.1. Klasifikacija polifenola**

Do sada je registrirano više od nekoliko tisuća polifenolnih spojeva koji se razlikuju po svojoj strukturi i svojstvima, stoga je identifikacija i klasifikacija polifenola vrijedno područje istraživanja u znanosti o prehrani. Najčešće je zastupljena podjela polifenola u dvije velike skupine – flavonoide i ne-flavonoide od kojih svaka ima mnoštvo podskupina i širok spektar polifenolnih spojeva koji im pripadaju (Rasouli i sur., 2017).

#### **2.2.1.1. Flavonoidi**

Flavonoidi su velika skupina polifenola koja je do danas najviše istražena te je identificirano više od devet tisuća flavonoidnih spojeva. Flavonoidi uobičajeno dijele istu osnovnu strukturu – sadrže flavansku jezgru koja se sastoji od dva aromatska prstena (A i B) povezana piranskim prstenom (C) (Slika 4) (Botelho i sur., 2017).



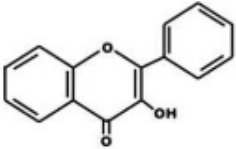
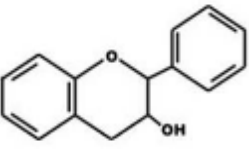
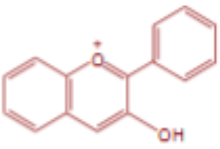
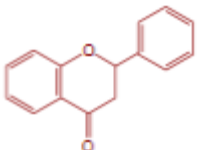
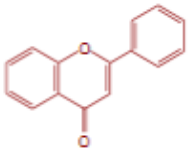
**Slika 4.** Osnovna struktura flavonoida (Pietta, 2000)

S obzirom na broj i položaj hidroksilnih, glikozidnih i metoksilnih skupina te konjugaciji unutar prstena A i B moguće su razlike unutar flavonoida, stoga se isti dijele u brojne podskupine. Prema mjestu veze između B i C prstena moguće je raspoznati flavonoide (2-fenilbenzopirane), izoflavonoide (3-fenilbenzopirane) te neoflavonoide (4-fenilbenzopirane). Osim toga, flavonoidi se mogu razlikovati po stupnju oksidacije centralnog piranskog prstena, stoga 2-fenilbenzopiranska grupa može biti podijeljena u 3-hidroksiflavonoide (flavonole, flavanole,



antocijanine) (Tablica 3). U flavonoide bez supstituenta na C3 atomu uključuju se podskupine flavanona i flavona koje razlikuje C2-C3 dvostruka veza (Tablica 3) (Botelho i sur., 2017).

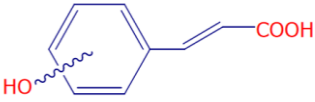
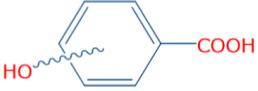
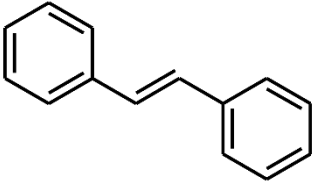
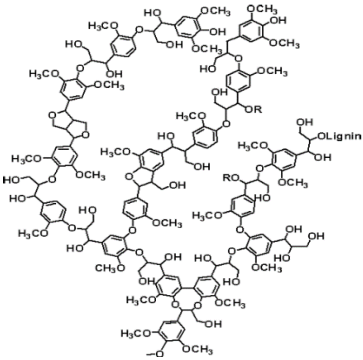
**Tablica 3.** Podskupine flavonoida, najvažniji predstavnici te njihove karakteristike (Botelho i sur., 2017; Panche i sur., 2016)

flavonoidna podskupina	najistraživaniji predstavnici flavonoidne podskupine	karakteristike
flavonoli 	kvercetin kamferol miricetin	Često vezani za različite šećere čineći formu glukozida, galaktozida, glukuronida i diglikozida. Po strukturi slični flavonima, a razlika jest u -OHskupini na 3-C-atomu.
flavanoli 	katehini (galokatehin, epigalokatehin, epikatehin galat i epigalokatehin galat (EGCG)) polimerizirani oblici katehina - proantocijanidini	Naziv katehin uobičajeno se koristi za cijelu podgrupu flavonoida uključujući flavan-3-ole. Katehini se mogu naći u visokim koncentracijama u čaju, crnom vinu, jagodama i kakau te osiguravaju brojne protektivne učinke.
antocijanini 	pelargonidin cijanidin delfinidin peonidin petunidin malvidin	Antocijanini su glikozidi antocijanidina i u biljkama se nalaze kao pigmenti. Nalaze se u svim tkivima biljaka i zaslužni su za širok spektar boja u biljaka. Prisutni su i u hrani te su uz svoju biološku aktivnost potencijalna alternativa sintetskim bojama.
flavanoni 	hesperitin naringenin	Imaju antioksidativno, protuupalno, antialergijsko i antikancerogeno djelovanje. Spriječavaju oksidaciju LDL-a (engl. <i>low density lipoprotein</i> ). Nalaze se u citrusima u formi flavanon glikozida.
flavoni 	luteolin apigenin	Pigmenti srodni antocijanima, antioksidansi, imaju protuupalno i antikancerogeno djelovanje.

### 2.2.1.2. Ne-flavonoidi

U skupinu ne-flavonoida ubrajaju se strukturno jednostavne molekule kao što su fenolne kiseline i stilbeni, ali i visoko složene molekule kao što su oligomeri stilbena i lignini (Tablica 4) (Botelho i sur., 2017).

**Tablica 4.** Podskupine ne-flavonoida, najvažniji predstavnici te njihove karakteristike (Botelho i sur., 2017; Durazzo i sur., 2019)

podskupina ne-flavonoida	najistraživaniji predstavnici ne-flavonoidne podskupine	karakteristike
<p>fenolne kiseline</p>  <p>hidroksicimetna kiselina</p>  <p>hidroksibenzojeva kiselina</p>	<p>derivati hidroksicimetne kiseline (ferulinska, kava-kiselina, sinapinska i <i>p</i>-kumarinska kiselina)</p> <p>derivati hidroksibenzojeve kiseline (galna, <i>p</i>-hidroksibenzojeva, siriginska, vanilinska kiselina)</p>	<p>Antioksidacijska aktivnost fenolnih kiselina raste s porastom broja hidroksilnih skupina.</p> <p>Neutraliziraju slobodne radikale, pomažu u obrani stanica od UV zračenja, pružaju zaštitu od raka te kontroliraju razinu kolesterola i triglicerida.</p>
<p>stilbeni</p> 	<p>resveratrol (<i>cis</i>-resveratrol, <i>trans</i>-resveratrol)</p> <p>viniferin</p> <p>olidatin</p>	<p>Stilbene čine dva aromatska prstena povezana etenskim mostom.</p> <p>U biljci se sintetiziraju kao odgovor na gljivičnu infekciju, UV zračenje ili izloženost teškim metalima.</p>
<p>lignini</p> 	<p>lignin</p>	<p>Ligninima se pripisuje širok raspon svojstava koja mogu pozitivno utjecati na ljudsko zdravlje. Najviše se mogu naći u sjemenkama poput lana i sezama, ali i u drugim namirnicama poput cjelovitih žitarica i voća. Unos lignina povezuje se s antikancerogenim djelovanjem i zaštitnim djelovanjem na kardiovaskularni sustav.</p>

### **2.2.2. Protektivni učinci polifenola**

Važnost uloge polifenola u tretiranju raznih bolesti u ljudi prepoznata je u brojnim istraživanjima, a rezultati pokazuju da polifenolni spojevi mogu regulirati (aktivirati ili inhibirati) mnoge signalne stanične puteve u ljudskom organizmu (Rasouli i sur., 2017).

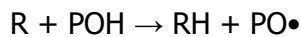
Svi biološki procesi u ljudskom organizmu moraju biti u ravnoteži. Ako se ta ravnoteža zbog vanjskih ili unutarnjih utjecaja poremeti, može doći do pojave raznih nepovoljnih učinaka poput oksidacijskog stresa, pretjerane diobe stanica, koja može rezultirati razvojem malignih bolesti i raznih drugih bolesti kao što su bolesti kardiovaskularnog sustava i dijabetes. Prehrana je jedan od načina kojim osiguravamo ravnotežu u našem organizmu, a prehrana bogata polifenolima može osigurati protektivne učinke po zdravlje.

#### **2.2.2.1. Antioksidacijski učinak**

Kada količina prooksidansa nadmaši količinu antioksidacijskih molekula, dolazi do nakupljanja slobodnih radikala i reaktivnih kisikovih spojeva (eng. *reactive oxygen species*, ROS) poput superoksidnih radikala  $O_2^-$ , hidroksilnih radikala  $OH^\cdot$ , peroksilnih radikala  $ROO^\cdot$ , hidroperoksidnih radikala  $HO_2^\cdot$ , vodikovog peroksida  $H_2O_2$  i drugih spojeva koji mogu dovesti do oštećenja DNA te dijelova stanične membrane što u konačnici može rezultirati pojavom raka. Takav poremećaj ravnoteže prooksidansa i antioksidansa u korist prooksidansa definira se kao oksidacijski stres, a do pomaka ravnoteže može doći ukoliko je smanjena antioksidacijska zaštita organizma ili ako je stvaranje radikala pojačano (Rodríguez-García i sur., 2019).

S obzirom na sve veću incidenciju pojave raka i kroničnih bolesti u svijetu, povećan je interes za pronalazak i razumijevanje djelovanja spojeva koji imaju antioksidacijsku aktivnost kao što to imaju polifenolni spojevi. Zaštitna uloga polifenola u biološkim sustavima pripisuje se njihovoj sposobnosti sparivanja („hvatanja“) elektrona slobodnih radikala te svojstvu stvaranja kelata s ionima prijelaznih metala (Kazazić, 2004). Osim toga, osiguravaju antioksidacijsku zaštitu djelujući inducirajuće na detoksikacijske enzime kao što su katalaza, superoksid dismutaza te NADPH dehidrogenaza, a imaju inhibirajući učinak na enzime oksidaze. Iako je mehanizam djelovanja polifenola na molekularnoj razini teško razjasniti zbog razlika u kemijskoj aktivnosti i velike strukturne heterogenosti, prepoznate su neke sličnosti i uniformnosti unutar velikog broja polifenolnih spojeva (Hussain i sur., 2016; Kazazić, 2004). Tako naprimjer, broj hidroksilnih grupa uvelike utječe na antioksidacijsku aktivnost polifenola kao što su sposobnost stvaranja kelata s metalnim ionima i „hvatanja“ slobodnih radikala

(Hussain i sur., 2016). Polifenoli interferiraju s oksidacijom lipida i drugih molekula brzom donacijom vodikovog atoma radikalima (R) :



Fenoksil radikal ( $PO\bullet$ ) je relativno stabilan zahvaljujući rezonancijskoj stabilizaciji i zato sljedeća lančana reakcija ne započinje jednostavno (Rasouli i sur., 2016).  $PO\bullet$  djeluje kao terminator propagacije reagirajući s različitim slobodnim radikalima:



Neki flavonoidi u hidrofobnom sloju membrane mogu prevenirati oksidacijske reakcije i zaštititi strukturu i funkciju membrane. Interakcija polifenola sa aktivnošću sintaze dušikovog oksida može modulirati produkciju dušičnog oksida (NO). Ksantin oksidaza smatra se važnom karikom u produkciji slobodnih radikala, a za neke polifenole poput kvercetina te luteolina se pokazalo da inhibiraju njenu aktivnost (Hussain i sur., 2016).

#### **2.2.2.2. Protuupalni učinak**

Upala je prirodni mehanizam obrane u organizmu protiv patogena i aktivira se pri bakterijskim i virusnim infekcijama, alergijskim reakcijama, izloženosti toksičnim supstancama te pri pojavi autoimunih i kroničnih bolesti. Poveznica između oksidacijskog stresa i upalnih procesa zabilježena je u mnogim istraživanjima, a dokazi vode na zaključak kako je nakupljanje reaktivnih vrsta i oksidacija proteina prvi korak u otpuštanju upalnih signalnih molekula koje vode do upalnog procesa u organizmu (Hussain i sur., 2016).

Prehrambene navike pojedinca imaju značajnu ulogu u razvoju oksidacijskog stresa i upalnog statusa u organizmu. Tako je zabilježeno da prehrana bogata zasićenim mastima i energijom doprinosi razvoju akutne upale dok prehrana bogata voćem i povrćem koji obiluju polifenolima doprinosi smanjenju upalnog procesa. Kako upalni proces u organizmu doprinosi razvoju patoloških stanja, identificirani su markeri koji se prate u procjeni nastale upale. Tako je na primjer koncentracija upalnih molekula poput citokina, adipokina i adhezijskih molekula važan pokazatelj u istraživanjima koja proučavaju utjecaj tvari koje imaju potencijalno protuupalno djelovanje. Osim toga, razina upale se može procijeniti proučavanjem ekspresije transkripcijskih faktora, receptora i protein kinaza u stanicama koje sudjeluju u imunom odgovoru poput monocita i makrofaga. Razina navedenih markera pomaže u shvaćanju mehanizama i puteva koji vode do različitih ishoda upale (Joseph i sur., 2015).

Polifenoli mogu utjecati na enzimske i signalne puteve koji su uključeni u upalni proces kao što su učinak na tirozin- i serin-treonin protein kinaze, enzime koji sudjeluju u procesu proliferacije T-stanica, aktivacije B limfocita i citokina. Zabilježeno je kako genistein ima ulogu specifičnog inhibitora tirozin protein kinaze koja ima ulogu fosforilacije tirozina koja je popraćena proliferacijom T-stanica. Osim toga, u snižavanju oksidacijskog stresa, polifenoli su pokazali sposobnost hvatanja radikala, aktivnost regulacije staničnih aktivnosti i modulacije enzima koji sudjeluju u upalnim procesima (Hussain i sur., 2016).

Aktivacija nuklearnog faktora  $\kappa B$  (eng. *nuclear factor* –  $\kappa B$ ; NF- $\kappa B$ ) u jezgri i produkcija tumor nekroza faktora  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) imaju kritičnu ulogu u upalnim procesima te nakupljanjem rezultiraju brojnim kroničnim bolestima (Serino i Salazar, 2018).

Polifenoli interferiraju s regulacijom stanica koje sudjeluju u imunom odgovoru, sintezom proinflammatoryh citokina i ekspresijom gena. Inaktiviraju NF- $\kappa B$  i moduliraju mitogenom aktivirane proteine kinaze (MAP), a osim toga imaju sposobnost da modificiraju ekspresiju nekoliko gena koji sudjeluju u imunom odgovoru poput lipooksigenaze, dušične oksid sintaze te ciklooksigenaze. Naprimjer, kurkumin je pokazao sposobnost redukcije ekspresije upalnih citokina te adhezijskih molekula poput ICAM-1 (eng. *intercellular adhesion molecule-1*) u ljudskim stanicama i medijatora upale poput prostaglandina. Osim toga kurkumin je u mišu pokazao inhibirajuće djelovanje na enzime povezane s upalom poput ciklooksigenaze te lipooksigenaze. Navedeni mehanizmi pobliže objašnjavaju kako polifenoli ciljano djeluju na brojne upalne komponente i na taj način vode do smanjenja upalnog procesa u organizmu (Yahfoufi i sur., 2018).

### **2.2.2.3. Antikancerogeni učinak**

Karcinom je bolest globalnih razmjera i jedan je od vodećih uzroka smrti u svijetu. Visoka incidencija i smrtnost povećavaju potrebu za istraživanjima spojeva za prevenciju i liječenje karcinoma. Zadnja dva desetljeća, antikancerogeni učinak polifenola istražuje se u brojnim laboratorijima, a polifenoli su potencijalni kandidati za terapiju u liječenju karcinoma. Antikancerogeni učinak polifenola pripisuje se njihovim antioksidacijskim i protuupalnim svojstvima, kao i njihovoj sposobnosti da moduliraju signalne puteve koji su povezani s preživljavanjem stanice, proliferacijom, angiogenezom, hormonskom aktivnošću, detoksikacijskim enzimima i drugim mehanizmima (Zhou i sur., 2016).

Nastanak karcinoma (karcinogeneza) jest biološki, višestupanjski proces koji se odvija u 3 faze. Prva faza jest inicijacija (interakcijom kemikalija, zračenja ili virusa s DNA što uzrokuje

male promjene na DNA). Sljedeća faza jest promocija (napredovanje) što uključuje nastajanje novog, abnormalnog tkiva bez korisnih funkcija. Nakon promocije slijedi progresija, odnosno tumorske stanice se gomilaju tvoreći tumor (Pitot, 1993).

Jedan od čimbenika koji pogoduju razvoju karcinoma čini prehrana (procjenjuje se da je 35% čimbenika za razvoj karcinoma povezano s prehranom). Interakcija polifenolnih spojeva s metaboličkim i signalnim putevima u biološkom sustavu (poput sustava citokrom P450, MAP kinaza, NF- $\kappa$ B i ROS) ima inhibitorni učinak na proliferaciju stanica i metastaziranje tumora. Osim toga, polifenolni spojevi induciraju apoptozu stanica u mnogim tipovima stanica karcinoma uključujući karcinome kolona, pluća, prostate i dojke (Baena Ruiz i Salinas Hernández, 2014).

Ozljede DNA uzrokovane oksidacijskim stresom mogu uzrokovati mutacije koje uvelike doprinose procesima inicijacije, promocije i progresije karcinogeneze. U životinjskim modelima karcinogeneze gdje je u tretmanu karcinogenim tvarima inducirano nakupljanje ROS-a, EGCG je pokazao sposobnost redukcije formiranja 8-hidroksideoksigvanozina (markera za oštećenja DNA uzrokovana oksidacijom). U ljudskim studijama, primjena zelenog čaja bogatog EGCG-om rezultirala je značajnim smanjenjem 8-hidroksideoksigvanozin-pozitivnih stanica, stoga se smatra da antioksidacijska sposobnost katehina i čaja može smanjiti rizik od karcinogeneze (Yang i Wang, 2016).

Polifenoli djeluju na ljudske stanice karcinoma tako što reduciraju broj tumorskih stanica i usporavaju njihov rast. Utječu na karcinogenezu tako što moduliraju ekspresiju enzima sustava citokroma P450, a osim toga potiču ekskreciju karcinogenih tvari tako što potiču ekspresiju enzima konjugacije u fazi II. Osim toga, polifenoli imaju anti-proliferativnu aktivnost te mogu stimulirati promjene u signalnim putevima i ekspresiji gena. Na primjer, miricetin je pokazao sposobnost direktne inhibicije MAP kinaze 4 putem kompeticije s ATP. (Moein, 2015).

Mnogi polifenoli, poput kvercetina, katehina, izoflavona, lignana, flavanona i resveratrola pokazali su antikancerogeno djelovanje *in vitro* različitim spomenutim mehanizmima. Tako je primjerice, za oralni unos katehina, kojeg možemo pronaći u zelenom čaju, dokazano da djeluje inhibicijski na razvoj karcinoma u usnoj šupljini, ezofagusu, želucu te kolonu (Moein, 2015; Yang i Wang, 2016).

Laminin receptor na površini stanične membrane jest receptor koji ima važnu ulogu u upalnim procesima i razvoju tumorskih stanica, a mnoga istraživanja pokazuju kako EGCG direktnim vezanjem na laminin receptor uzrokuje apoptozu tumorskih stanica i snižava koncentraciju upalnih čimbenika poput citokina i kemokina (Müller i Pfaffl, 2012).

#### **2.2.2.4. Zaštita kardiovaskularnog sustava**

Kardiovaskularne bolesti vodeći su uzrok smrtnosti u Hrvatskoj (Džakula i sur., 2009), a liječenje i prevencija trebali bi biti jedno od primarnih područja djelovanja javnog zdravstva. Istraživanja su pokazala kako postoji direktna poveznica između visokih razina ROS-a i kardiovaskularnih bolesti poput hipertenzije, preeklampsije te srčanog udara. Postoji nekoliko objašnjenja za tu poveznicu, a glavnu ulogu u patofiziologiji srčanih bolesti ima disfunkcija endotela koju uzrokuje upravo oksidacijski stres, nastajanje ROS-a te smanjeno otpuštanje endotelnog NO. Disfunkcija endotela vodi do smanjenja vazodilacijske sposobnosti koronarnih arterija što rezultira perfuzijom miokarda kao i neskladan rad lijeve klijetke, stoga srce postaje preotperceno (Khurana i sur., 2013).

Kako se pokazalo u brojnim eksperimentima, visoki unos polifenolnih spojeva mogao bi imati zaštitni učinak na zdravlje kardiovaskularnog sustava zbog toga što polifenoli imaju već spomenutu antioksidacijsku moć - direktno uklanjaju ROS, induciraju antioksidacijske enzime i interferiraju u signalnim putevima čime osiguravaju neometanu funkciju endotela u koronarnim arterijama. Tako na primjer, primjena resveratrola kojeg možemo naći u vinu, uzrokuje sniženje krvnog tlaka, a taj efekt pripisuje se djelovanju resveratrola na endotel (Diebolt i sur., 2001).

U endotelnim stanicama arterija resveratrol inducira ekspresiju gena te sintezu enzima koji utječu na smanjenje ROS-a što sve zajedno rezultira smanjenjem oksidacijskog stresa, a posljedično pravilnom kontraktilnošću. Flavonoidi mogu prevenirati pojavu kardiovaskularnih bolesti tako što inhibiraju oksidaciju LDL kolesterola te formaciju pjenušavih stanica. Katehini imaju *in vitro* i *in vivo* dokazano djelovanje na oksidaciju LDL-a, a kvercetin ima protektivni učinak na pojavu ateroskleroze tako što hvata superokside, reducira peroksidne radikale te sprječava lipidnu peroksidaciju (Ramadass i sur., 2003).

#### **2.2.2.5. Zaštita neurološkog sustava**

Oksidacijski stres koji rezultira nakupljanjem reaktivnih kisikovih čestica i upalom je odgovoran za brojne oblike stanične malfunkcije kao što je propadanje mitohondrija, oštećenja DNA i proteina te oksidacija ugljikohidrata i lipida. To može dovesti do preranog starenja stanice te stanične smrti, ali i brojnih patoloških stanja u koja se ubrajaju neurodegenerativne bolesti. Mnoge epidemiološke studije potvrđuju kako konzumacija hrane bogate antioksidansima poput polifenola može smanjiti pojavu neurodegenerativnih bolesti, a nekoliko je predloženih mehanizama kojima djeluju polifenolni spojevi. Dokazano je kako polifenoli ostvaruju

neuroprotektivni učinak putem smanjenja proizvodnje i akumulacije ROS-a, smanjenja razine oksidacijskog stresa i upale te moduliranja aktivnosti unutarstaničnih signalnih molekula (Basli i sur., 2012).

Neurodegenerativne bolesti uzrokuju smetnje u funkcioniranju neurološkog sustava rezultirajući stanjima poput demencije i Alzheimerove bolesti, koje se smatraju najčešćim zdravstvenim poremećajima u starijih ljudi. Upalni procesi neurološkog sustava i oksidacijski stres smatraju se začetnicima u pojavi neurodegenerativnih bolesti (Pasinetti i sur., 2015). Neuronu su visoko podložni ozljedama uslijed oksidacijskog stresa zahvaljujući visokoj potrebi za kisikom (Rocha-González i sur., 2008). U nekoliko studija zabilježeno je pozitivno i zaštitno djelovanje polifenolnih spojeva na negativne učinke uzrokovane neurotoksinima, a osim toga smatra se da polifenoli mogu pomoći u očuvanju memorije i kognitivne funkcije (Pasinetti i sur., 2015).

Polifenolni spojevi, poput katehina pokazali su protektivni učinak u ublažavanju i razvoju simptoma Parkinsonove bolesti putem brojnih mehanizama od kojih se najviše istražuju: antioksidacijska aktivnost polifenola, inhibicija agregacije proteina  $\alpha$  sinukleina (amiloidni protein) te modulacija staničnih signalnih puteva (Caruana i Vassallo, 2015). Osim toga, u brojnim *in vitro* studijama, resveratrol je pokazao blagotvorno djelovanje kod epilepsije, Alzheimerove bolesti, Parkinsonove bolesti, Huntingtonove bolesti te ozljeda živaca (Rocha-González i sur., 2008).

Glavni okidač za razvoj neuroloških bolesti jest formiranje izvanstaničnih amiloidnih plakova i unutarstanični zapetljaj neuralnih vlakana. Agregacija amiloidnih proteina u mozgu pacijenta s Alzheimerovom bolesti vodi razvoju oksidacijskog stresa i upala. Stoga se inhibicija nakupljanja amiloidnih peptida smatra primarnom terapijom u Alzheimerovoj bolesti, a takvo djelovanje pokazali su upravo polifenoli poput resveratrola (Pasinetti i sur., 2015).

Osim toga, resveratrol pokazuje neuroprotektivnu aktivnost u slučaju Alzheimerove bolesti putem povećavanja razine glutationa koji smanjuje razinu ROS-a, smanjenja razine malondialdehida te smanjenja aktivnosti acetilkolinesteraze. Uz to, resveratrol ublažava oštećenje stanice tako što sprječava oksidaciju LDL-a i aktivira transtiretin, protein koji sprječava sakupljanje amiloidnih proteina (Rocha-González i sur., 2008).



### **2.2.3. Hrana bogata polifenolima**

Kao što je spomenuto, polifenoli se mogu naći u mnogim biljkama, a koncentrirani su u sjemenkama ili kori voća i povrća, kori drveća, lišću i cvijeću (Botelho i sur., 2017). Zbog ranije navedenih benefita po zdravlje, važno je osigurati adekvatan unos hrane i pića kao što su biljni čajevi, tamna čokolada, grožđe i vino i upoznati se s dobrobitima namirnica koje svakodnevno koristimo.

#### **Tamna čokolada**

Tamna čokolada s visokim udjelom kakaa je bogata flavonoidima i pokazalo se da ima blagotvorni učinak na mnoga patološka stanja poput sniženja visokog krvnog tlaka u bolesnika s hipertenzijom i dijabetesom (Rostami i sur., 2015). Polifenolne komponente u tamnoj čokoladi djeluju protektivno putem nekoliko već spomenutih mehanizama (npr. snižavanje ekspresije gena za receptore ciklooksigenaze-2 u endotelu). Čokolada s visokim udjelom kakaa sadrži visoke udjele procijanidina za koje se smatra da imaju visoku sposobnost uklanjanja upalnih čimbenika. U jednom istraživanju pokazalo se kako su nakon dnevnog unosa od 2 grama čokolade s udjelom kakaa od 70% tijekom šest mjeseci, poboljšani biokemijski parametri (poput nižeg ukupnog kolesterola i triglicerida) i antropometrijski parametri (manji opseg struka) (Leyva-Soto i sur., 2018).

#### **Vino**

Vino sadrži razne polifenole uključujući fenolne kiseline, stilbene, tanine, flavanole, flavonole te antocijane, a količina polifenola koja je zastupljena u vinu ovisi o sorti grožđa te načinu proizvodnje vina. Zabilježeno je kako crna vina sadrže veće razine polifenolnih spojeva od bijelih vina zahvaljujući različitim procesima proizvodnje (Basli i sur., 2012). U literaturi se posebno ističe resveratrol, bioaktivni polifenolni spoj koji se može pronaći u grožđu i crnom vinu, a njegovo djelovanje povezuje se sa zaštitnim učinkom na razvoj bolesti krvnih žila. Za resveratrol je utvrđeno da smanjuje agregaciju trombocita, djeluje na snižavanje tlaka, pokazuje antiaterosklerotične učinke i smanjuje hipertenzivno oštećenje organa (Khurana i sur., 2013)

#### **Zeleni čaj**

Čaj je visoko popularna namirnica širom svijeta, a zeleni čaj pokazao je nadmoćnu antioksidacijsku sposobnost naspram drugih tipova čaja poput crnog ili bijelog čaja. Razlog tome moguć je u samoj proizvodnji kojom se zadržavaju visoke koncentracije aktivnih komponenti poput katehina (epikatehin, epigalokatehin, epikatehin-3-galat, epigalokatehin-3-

galat). Navedene komponente pokazale su djelotvornost u očuvanju zdravlja krvnih žila, protekciji od karcinoma želuca te iznimnu protuupalnu moć (Ju i sur., 2007).

### **Bobičasto voće**

Unutar raznih skupina voća, najveći udio flavonoida pronađen je upravo u bobičastom voću kao što su crna bazga (1358.66 mg/100 g) te aronija (1012.98 mg/100 g). Antocijanini kao podskupina polifenola dominiraju u bobičastom voću (Rodríguez-García i sur., 2019). Antocijanini pokazuju povoljne učinke na zdravlje tako što djeluju antioksidacijski i antikancerogeno, pružaju zaštitu od kardiovaskularnih bolesti, poboljšavaju zdravlje krvožilnog sustava, poboljšavaju vid te djeluju neuroprotektivno (Khoo i sur., 2017).

### **2.3. Zaštitni učinci polifenola na toksičnost induciranu organoklornim spojevima**

S obzirom na navedene nepovoljne učinke koje mogu inducirati organoklorni spojevi jasno je kako je potrebno prakticirati zaštitne mjere kojima možemo poboljšati zdravstveni status i smanjiti rizik od obolijevanja. Jedna od zaštitnih mjera jest pravilna i raznovrsna prehrana bogata voćem i povrćem koje obiluje zaštitnim spojevima – polifenolima.

Zbog bioakumulacije organoklornih spojeva u masnom tkivu, smatra se da je pretila populacija najviše pod rizikom od kroničnog otrovanja, a posebice se smatra opasnim nagla mobilizacija masnog tkiva (gladovanje, mršavljenje, dojenje) pri čemu se u krvotok mogu osloboditi mnoge toksične tvari i doseći koncentracije koje će izazvati nepovoljne učinke u organizmu (Lee i sur., 2016).

Iako je teško odrediti ciljane protektivne agense, postoje brojne studije u kojima se potvrđuje protektivno djelovanje polifenola pri izloženosti organoklornim spojevima. Naime, zabilježeno je kako flavonoidi i drugi polifenoli mogu utjecati na ključne patološke procese koje iniciraju organoklorni spojevi, a koji vode do brojnih bolesti. Polifenoli mogu kroz indukciju antioksidacijskih enzima, ublažavanje upalnog odgovora, potaknutu ekskreciju toksičnih tvari i druge mehanizme pružiti zaštitu ljudskom zdravlju (Lagoa i sur., 2017).

### **2.3.1. Protektivno djelovanje polifenola na oksidacijski stres i upalu induciranu organoklornim spojevima**

Jedan od osnovnih štetnih učinaka koje izazivaju organoklorni spojevi, primjerice PCB-i, jest induciranje upalnih procesa odnosno izazivanje oksidacijskog stresa. Za razliku od PCB-a, polifenoli (npr. flavonoidi) se smatraju antioksidacijskim tvarima koje bi mogle modulirati citotoksičnost izazvanu djelovanjem organoklornim spojevima (Petriello i sur., 2014a).

Za polifenolne spojeve smatra se kako mogu spriječiti AhR - inducirane upalne procese te smanjiti celularnu disfunkciju uzrokovanu djelovanjem organoklornih spojeva. Već spomenuti AhR jest transkripcijski faktor koji se aktivira vezanjem liganda, a posrednik je u mnogim reakcijama u kojima sudjeluju aromatski okolišni kontaminanti poput dioksina (Amakura i sur., 2008). AhR se nalazi u brojnim tipovima stanica i tkivima organa poput placente, pluća, srca i jetre, a može biti aktiviran i vezanjem ne-toksičnog liganda poput metabolita arahidonske kiseline ili LDL-a. Toksični efekti planarnih PCB-a te polikloriranih dibenzo dioksina primarno se povezuju s djelovanjem navedenih spojeva na aktivaciju AhR-a i indukciju gena povezanih s odgovorom na oksidacijski stres (Petriello, 2015).

Casper i sur. (1999) potvrdili su antagonističko djelovanje resveratrola na AhR, odnosno resveratrol ulazi u interakciju s receptorom za PCB, AhR-om, te limitira njegovu aktivaciju i pro-inflamatornu kaskadu koja bi slijedila. Kako je već spomenuto, resveratrol se može naći u grožđu i vinu, a smatra se i da ima važnu protektivnu ulogu pri izloženosti 2,3,7,8-tetraklordibenzo-*p*-dioksinu (TCDD). U miševa koji su bili izloženi TCDD-u, resveratrol je pokazao zaštitni utjecaj na razvoj oksidacijskog stresa te pojavu steatoze jetre (Ishida i sur., 2009).

Katehin, EGCG, ispostavilo se da djeluje aktivirajuće na Nrf2 (transkripcijski faktor koji može regulirati citoprotektivne gene koji služe kao odgovor na oksidacijski stres). Nrf2 je osjetljiv na promjenu redoks potencijala i djeluje kao glavni regulator antioksidacijskih enzima, stoga ima veliku ulogu u zaštiti stanice od perzistentnih okolišnih kontaminanata poput PCB-a i drugih organoklornih spojeva. Direktna fosforilacija Nrf2 te kidanje veze između inhibitora (Keap-1) vezanog na Nrf2 jedni su od mnogih mogućih mehanizama aktivacije Nrf2 koji nakon aktivacije izbjegne ubikvitinaciju, ulazi u jezgru i veže se za elemente antioksidativnog odgovora na ciljanim genima kao što su NAD(P)H:kinon oksidoreduktaza i hem-oksigenaza. Zaključno, aktivacija Nrf2 vodi do smanjenja upalnih procesa koji nastaju djelovanjem PCB-a (Han i sur., 2012; Petriello i sur., 2014a; Petriello, 2015).

Posljednje studije potvrđuju da djelovanje flavonoida poput EGCG-a na smanjenje kaveola može zaštititi stanicu od štetnog djelovanja uzrokovanog PCB toksičnošću (Petriello i sur., 2014a). Kaveole su organeli oblikovani invaginacijom stanične membrane, a nalaze se ponajviše u endotelnim stanicama, adipocitima i drugim stanicama. Važni strukturni proteini kaveola nazvani su kaveolini (1, 2 i 3) i imaju sposobnost vezanja kolesterola, masnih kiselina i mnogih signalnih proteina. Za Cav-1 (kaveolin 1) poznato je da veže i modificira mnoge proteine povezane s upalom i odgovorom na oksidacijski stres. Potvrđeno je kako eliminacija Cav-1 sprječava celularnu disfunkciju izazvanu djelovanjem PCB-a tako što se povećava razina antioksidacijskog odgovora (Petriello, 2015).

Osim toga, poznato je da polifenoli mogu pokazati svoje zaštitno djelovanje pomoću modulacije upalnih signalnih puteva putem NF- $\kappa$ B u jezgri. NF- $\kappa$ B ima veliku ulogu u pokretanju upalnih procesa putem direktnog povišenja upalnih čimbenika poput citokina, kemokina i adhezijskih molekula. Najznačajniji oblik NF- $\kappa$ B jest p50/p65 heterodimer u kojemu p65 sadrži transkripcijsku aktivacijsku domenu (Liu i sur., 2016). NF- $\kappa$ B dimeri vežu se za promotorske regije NF- $\kappa$ B ovisnih upalnih gena i reguliraju veliki broj gena koji su uključeni u patologiju ateroskleroze. PCB-i mogu potaknuti aktivaciju NF- $\kappa$ B koji tada inducira ekspresiju upalnih gena koji kodiraju za posrednike u aterogenezi kao što su već spomenuti citokini i adhezijske molekule. U istraživanjima se dokazalo kako EGCG ima protektivno djelovanje, odnosno sprječava transaktivaciju NF- $\kappa$ B i time reducira upalne procese u tkivima. Za EGCG smatra se da suzbija translokaciju NF- $\kappa$ B/p65 i tako onemogućava aktivaciju upalnih gena koji su pod njegovim nadzorom. Na taj način EGCG štiti od PCB induciranih endotelnih upalnih procesa i sprječava daljnje razvijanje kroničnih bolesti posredovanih upalnim procesima (Liu i sur., 2016).

Polifenoli, dakle, mogu djelovati putem mehanizama koji povećavaju razinu ekspresije gena odgovornih za sintezu proteina koji imaju zaštitnu ulogu u stanici, a snižavaju razinu ekspresije pro-upalnih gena čime se smanjuje ukupna razina oksidacijskog stresa u stanici. Uz mehanizme navedene u prethodnim odlomcima, u novijim istraživanjima pokazalo se protektivno djelovanje EGCG-a putem djelovanja na laminin receptor. Laminin receptor je receptor koji se nalazi na površini stanice, a ima ulogu u upalnim procesima i metastaziranju raka. Mnoge studije dokazuju kako se EGCG direktno veže na laminin receptor, snižava aktivaciju bazofila, inducira apoptozu stanica raka i snižava razinu pro-upalnih stanica citokina i kemokina (Müller i Pfaffl, 2012; Newsome, 2014).

### **2.3.2. Povećana ekskrecija organoklornih spojeva posredovana polifenolnim spojevima**

Osim djelovanja na snižavanje oksidacijskog stresa, smatra se da su mnogi polifenoli pokazali sposobnost vezanja organoklornih spojeva, što rezultira smanjenom apsorpcijom i potaknutom ekskrecijom organoklornih spojeva. Time je smanjeno opterećenje na organizam uslijed toksičnosti izazvane izloženosti organoklornim spojevima, a i potvrđen dokaz o uočenim zaštitnim učincima koje polifenoli pružaju (Petriello i sur., 2014b).

Mnoge studije dokazale su kako prehrana bogata vlaknima i polifenolima može utjecati na ADMET (apsorpciju, distribuciju, metabolizam, ekskreciju i toksičnost) brojnih kontaminanata, uključujući organoklorne spojeve. Tako primjerice, već spomenuti zeleni čaj, koji sadrži visoke razine polifenola uključujući EGCG, može inhibirati intestinalnu apsorpciju lipida i visoko lipofilnih organskih spojeva i stoga ubrzati ekskreciju PCB-a iz organizma (Petriello i sur., 2014b).

Osim toga, potvrđena je *in vivo* pozitivna korelacija između visokog unosa vlakana (lignina) i ubranog izlučivanja dioksina i PCB-a. Poveznica između unosa vlakana, smanjene apsorpcije i potaknute ekskrecije PCB-a primjećena je 1986. godine kada je zbog kontaminiranog rižinog ulja došlo do pojave Yusho sindroma u Japanu. Nakon te ekološke katastrofe, gdje su ljudi pretrpjeli mnoge posljedice poput oštećenja enzimskih sustava i kožnih oboljenja, smatralo se da je potrebno što efikasnije iz organizma ukloniti PCB i to se postiglo povećanom konzumacijom vlakana. Danas se smatra kako je ubrzano izlučivanje PCB-a potrebno zahvaliti dijetalnim vlaknima koja se mogu pronaći primjerice u rižinim mekinjama koje sadrže visok udio lignina (10,7%). Vjeruje se kako zbog svoje visoko polimerne strukture, lignin stvara kovalentne veze s molekulama PCB-a i tako omogućava djelotvornu ekskreciju i uklanjanje iz organizma (Sera i sur., 2005).

Iako je studija na ljudima malo, studije na životinjama čvrsto povezuju protektivno djelovanje polifenola na potaknutu fekalnu ekskreciju. Autori su u istraživanju na štakorima dokazali kako je fekalna ekskrecija PCB-a, PCDF-a i PCDD-a u mužjaka štakora tretiranih zelenim čajem u prahu (*matcha* čaj), bila 4, 2-9 i 3-5 puta viša u odnosu na kontrolnu skupinu. Također, kumulacija organoklornih spojeva u jetri ovih štakora je bila značajno niža nakon primjene zelenog čaja te autori upućuju na djelotvornu primjenu *matcha* čaja u bolesnika oboljelih od Yusho sindroma (Morita i sur., 1997).

Stoga, bioaktivne polifenolne molekule poput EGCG jesu atraktivni modulatori izloženosti organoklornim spojevima upravo zato jer mogu održati pravilnu fiziološku funkciju kroz

povećanje razine detoksikacijskih enzima, ali isto tako djelovati terapijski nakon izloženosti tako što potiču ekskreciju i smanjuju apsorpciju organoklornih spojeva. Prilagodba djeteta i povećavanje unosa vlakana i polifenolnih komponenti iz voća i povrća jest djelotvoran način na koji možemo modulirati toksičnost organoklornih spojeva (Petriello, 2015).

### **2.3.3. Sprječavanje stanične smrti inducirane organoklornim spojevima**

Kao što je spomenuto, organoklorni spojevi nizom reakcija mogu dovesti do raznih štetnih učinaka kao što je visoka razina oksidacijskog stresa koja vodi do stanične smrti i time dolazi do niza problema za ljudsko zdravlje. S druge strane, dosadašnja istraživanja potvrđuju protektivno djelovanje polifenola na razvoj brojnih bolesti poput raka, ateroskleroze i neuroloških poremećaja (Petriello i sur., 2014b).

Apoptoza je genetski kontroliran i evolucijski sačuvan oblik stanične smrti i mehanizam je od velike važnosti za održanje homeostaze tkiva u ljudskom organizmu. Ukoliko taj mehanizam ne funkcionira pravilno može doći do brojnih patoloških stanja koja vode do malignih ili degenerativnih bolesti. Za polifenole je utvrđeno da mogu modulirati staničnu smrt tako što interferiraju s različitim putevima ili proteinima koji reguliraju apoptotične puteve u organizmu (Giovannini i Masella, 2012).

Izloženost DDT-u može izazvati niz toksičnih učinaka od kojih je jedan stanična smrt neuroblastoma stanica koja vodi razvoju brojnih neuroloških oboljenja. Smatra se kako bi konzumacija zelenog čaja, bogatog katehinima, mogla osigurati protektivne učinke na razvoj neurotoksičnosti izazvane DDT-om. Ta pretpostavka se i potvrdila u jednoj *in vitro* studiji gdje su rezultati pokazali kako EGCG može zaštititi dopaminergične stanice od stanične smrti inducirane djelovanjem DDT-a. Točan mehanizam protektivnog djelovanja katehina nije u potpunosti razjašnjen, no predlaže se kako protektivni efekt proizlazi iz modulacije PKC (protein kinaza C) - predvođenog apoptotičnog puta. Povećava se razina PKC izoformi uz poticanje degradacije pro-apoptičnog proteina nazvanog BAD (Tai i Truong, 2010).

Park i sur. (2008) proveli su istraživanje i po prvi puta dokazali protektivno djelovanje karnozolne kiseline na citotoksičnost izazvanu djelovanjem dieldrina. Karnozolna kiselina jest fenolna kiselina prisutna npr. u ekstraktu ružmarina (lat. *Rosmarinus officinalis*). Autori su u svom radu istražili zaštitno djelovanje karnozolne kiseline na kultivirane dopaminergične stanice koje su bile tretirane dieldrinom, organoklornim pesticidom s kojim je povezana pojava Parkinsonove bolesti. Rezultati su pokazali kako karnozolna kiselina djeluje neuroprotektivno tako što povećava razinu neurotrofnog moždanog faktora i smanjuje razinu izvršnih molekula apoptoze (sprječava dieldrinom induciranu aktivaciju kaspaze 3 i kaspaze 12).

#### **2.3.4. Upotreba polifenola u tehnologijama za zaštitu okoliša od kontaminacije organoklornim spojevima**

Organoklorne spojeve, posebice PCB-e, teško je učinkovito sanirati zbog njihove liposolubilnosti i stabilnosti, stoga uklanjanje iz kontaminirane vode i tla predstavlja izazov za postojeće tehnike. Zbog toga je u cilju zaštite čovjekovog zdravlja potrebno pronaći nove cjenovno i ekološki prihvatljive metode koje će omogućiti učinkovito uklanjanje organoklornih spojeva iz okoliša (Petriello i sur., 2014b).

Kao jedno od mogućih rješenja za sigurno uklanjanje organoklornih spojeva iz okoliša predlaže se korištenje posebno dizajniranih antitijela koja sadrže vezne domene koje mogu vezati PCB-e i druge POPs. S obzirom kako je takva primjena vrlo skupa, a antitijela nestabilna, interes za upotrebu drugih jeftinijih i stabilnijih materijala koji bi se ponašali jednako, jest u porastu. Kao alternativa predlaže se upotreba polifenola kao djelotvornih komponenti koje bi mogle vezati kontaminante zahvaljujući izraženom afinitetu za organoklorne spojeve (Newsome, 2014).

Razlog tome jest sposobnost polifenolnih ostataka, ukomponiranih u polimerne premaze, da imitiraju domene za vezanje PCB-a (Petriello i sur., 2014b). Polifenoli poput kvercetina i kurkumina su od posebnog interesa, ne samo zbog njihovog pozitivnog učinka na zdravlje, nego i zbog njihove visoko aromatske strukture, koja bi mogla omogućiti djelotvorno i specifično vezanje aromatskih kontaminanata kao što su to organoklorni spojevi (Ramadass i sur., 2003).

Iako se polimerna mreža koristi za brzo vezanje relevantnih kontaminanata, veza između kontaminanta i veznog materijala mora biti brzo uklonjena iz okoliša. Nakon vezanja, predložena je upotreba nanotehnologije, odnosno upotreba magnetskih nanočestica koje uklanjaju kontaminant iz veznog mjesta i omogućuju ponovnu upotrebu za vezanje kontaminanata. Ovakva kombinacija veznog potencijala polifenola i nanotehnologije mogla bi osigurati brzo i efikasno uklanjanje organoklornih spojeva iz okoliša (Petriello i sur., 2014b).

### 3. ZAKLJUČAK

Organoklorni spojevi su spojevi koji nastaju tijekom raznih industrijskih procesa, postupaka spaljivanja otpada te procesa izgaranja, a koriste se i u poljoprivredi kao agrokemikalije. U organoklorne spojeve ubrajamo organoklorne pesticide, poliklorirane bifenile, poliklorirane dibenzo-*p*-dioksine i poliklorirane dibenzo furane, a oni u organizmu izazivaju brojne toksične učinke. Organoklorni spojevi predstavljaju veliku opasnost za zdravlje ljudi zbog svoje visoke perzistentnosti i sposobnosti bioakumulacije. Toksični učinci mogu biti posredovani npr. nakupljanjem reaktivnih kisikovih vrsta, indukcijom upalnih procesa, narušavanjem fiziologije neurotransmisije te djelovanjem na endokrinu funkciju.

Mnogobrojne znanstvene studije pokazale su da se navedeni negativni učinci mogu ublažiti dovoljnim unosom bioaktivnih tvari iz hrane – polifenola koji imaju zaštitno antioksidacijsko i protuupalno djelovanje. Polifenoli su prirodno prisutni u biljkama koje ih koriste kao obrambene agense, a dosada je registrirano nekoliko tisuća polifenola s brojnim blagodatima.

U brojnim istraživanjima zabilježeno je protektivno djelovanje polifenola koje se ostvaruje raznim mehanizmima. Tako je dokazano da polifenoli mogu ublažiti štetno djelovanje reaktivnih čestica koje nastaju toksičnim djelovanjem organoklornih spojeva. Polifenoli sprječavaju AhR inducirane upalne procese i smanjuju disfunkciju stanice uzrokovanu promjenama uslijed izloženosti organoklornim spojevima. Osim toga, djeluju na poticanje ekskrecije liposolubilnih organoklornih spojeva i smanjenje opterećenja organizma prilikom izloženosti organoklornim spojevima.

Bioaktivne polifenolne molekule jesu atraktivni modulatori izloženosti organoklornim spojevima upravo zato jer mogu održati pravilnu fiziološku funkciju kroz povećanje razine detoksikacijskih enzima, ali isto tako djelovati terapijski nakon izloženosti tako što potiču ekskreciju i smanjuju apsorpciju organoklornih spojeva. Prilagodba dijete i povećavanje unosa vlakana i polifenolnih komponenti iz voća i povrća jest djelotvoran način na koji možemo modulirati toksičnost organoklornih spojeva.

S obzirom da se mnogobrojna oboljenja direktno ili indirektno povezuju s izloženošću i djelovanjem organoklornih spojeva, buduće studije trebaju usmjeriti istraživanja na protektivne učinke polifenolnih spojeva iz hrane i dobiti koje njihov unos nosi.



#### 4. LITERATURA

- Abellan A., Garcia R., Roda C., Gascón M., Garcia-Aymerich J., Vrijheid M., Ferrero A., Lopez-Espinosa M. J., Zabaleta C., Basterrechea M., Torrent M., Sunyer J., Casas M. (2018) Prenatal exposure to organochlorine compounds and lung function until early adulthood. *Environmental Contaminants and Children's Health*. doi:10.1136/oemed-2018-iseeabstracts.22.
- Amakura Y., Tsutsumi T., Sasaki K., Nakamura M., Yoshida T., Maitani T. (2008) Influence of food polyphenols on aryl hydrocarbon receptor-signaling pathway estimated by *in vitro* bioassay. *Phytochemistry* **69**:3117–3130. doi: 10.1016/j.phytochem.2007.07.022.
- Attaullah M., Yousuf M.J., Shaukat S., Anjum S.I., Ansari M.J., Buneri I.D., Tahir M., Amin M., Ahmad N., Khan S.U. (2018) Serum organochlorine pesticides residues and risk of cancer: a case-control study. *Saudi Journal of Biological Sciences* **65**: 1284–1290.
- Baena Ruiz R., Salinas Hernández P. (2014) Diet and cancer: risk factors and epidemiological evidence. *Maturitas* **77**: 202-208.
- Basli A., Soulet S., Chaher N., Mérillon J. M., Chibane M., Monti J. P., Richard T. (2012) Wine polyphenols: potential agents in neuroprotection. *Oxidative medicine and cellular longevity*. doi:10.1155/2012/805762
- Bilandžić N., Đokić M., Sedak M, Božić Đ. (2013) Koncentracije organoklorinih pesticida i polikloriranih bifenila u masti, mesu svinja i goveda te mesnim proizvodima. *Veterinarska stanica : znanstveno-stručni veterinarski časopis* **44** (6): 425-435.
- Botelho G., Canas S., Lameiras J. (2017) Development of phenolic compounds encapsulation techniques as a major challenge for food industry and for health and nutrition fields. *Nanotechnology in Agri-Food Industry*, Grumezescu A. M., Oprea A., ur., Academic Press, Cambridge, Massachusetts, str. 535-586.
- Calsolaro V., Pasqualetti G., Niccolai F., Caraccio N., Monzani F. (2017) Thyroid disrupting chemicals. *International Journal of Molecular Sciences* **18** (12): 2583. doi:10.3390/ijms18122583.
- Caruana M., Vassallo N. (2015) Tea polyphenols in Parkinson's disease. *Natural Compounds as Therapeutic Agents for Amyloidogenic Diseases* **863**: 117–137.
- Casper R.F., Quesne M., Rogers I.M., Shirota T., Jolivet A., Milgrom E., Savouret J.F. (1999) Resveratrol has antagonist activity on the aryl hydrocarbon receptor: implications for prevention of dioxin toxicity. *Molecular Pharmacology* **56**: 784 – 790.



*p*-dioxin toxicity by resveratrol: a comparative study with different routes of administration. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **32**: 876–888.

- Jayaraj R., Megha P., Sreedev P. (2016) Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology* **9**(3-4): 90–100. doi:10.1515/intox-2016-0012.
- Joseph S. V., Edirisinghe I., Burton-Freeman B. M. (2015) Fruit Polyphenols: A Review of Anti-inflammatory Effects in Humans. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **56**(3): 419–444. doi:10.1080/10408398.2013.767221
- Ju J., Lu G., Lambert J. D., Yang C. S. (2007) Inhibition of carcinogenesis by tea constituents. *Seminars in Cancer Biology* **17**(5): 395–402. doi:10.1016/j.semcancer.2007.06.013.
- Kazazić P. S. (2004) Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida, *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* **55** (4): 279-290.
- Khoo H. E., Azlan A., Tang S. T., Lim S. M. (2017) Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & nutrition research*. (objavljeno online 13. kolovoza 2017.). doi:10.1080/16546628.2017.1361779.
- Khurana S., Piche M., Hollingsworth A., Venkataraman K., Tai T. C. (2013) Oxidative stress and cardiovascular health: therapeutic potential of polyphenols. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* **91**: 198–212.
- Kmetič I., Murati T., Kvakani K., Ivanjko M., Šimić B. (2012) Poliklorirani bifenili – toksičnost i rizici. *Croatian journal of food science and technology* **4** (1): 71-80.
- Kožul D., Herceg Romanić S. (2009) Analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans in soil and sediment. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* **60**(2): 243–257.
- Lagoa R., Marques-da-Silva D., Ribeiro V. (2017) Polyphenols for an increased ability to cope with environmental toxicants. *Enliven: Journal of Dietetic Research and Nutrition* **4**(1): 001.
- Larsen J.C., Nørhede P. (2013) Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs) and biphenyls (PCBs). Evaluation of health hazards and estimation of a quality criterion in soil, Environmental Project No. 1521, EPA - The Danish Environmental Protection Agency, <<https://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2013/12/978-87-93026-76-6.pdf>>. Pristupljeno 21. kolovoza 2019.

- Lee Y.-M., Kim K.-S., Jacobs D. R., Lee D. H. (2016) Persistent organic pollutants in adipose tissue should be considered in obesity research. *Obesity Reviews* **18** (2), 129–139.
- Leyva-Soto A., Chavez-Santoscoy R. A., Lara-Jacobo L. R., Chavez-Santoscoy A. V., Gonzalez-Cobian L. N. (2018) Daily consumption of chocolate rich in flavonoids decreases cellular genotoxicity and improves biochemical parameters of lipid and glucose metabolism. *Molecules* **23**(9):2220. doi:10.3390/molecules23092220.
- Liu D., Perkins J. T., Hennig B. (2016) EGCG prevents PCB-126-induced endothelial cell inflammation via epigenetic modifications of NF-κB target genes in human endothelial cells. *The Journal of nutritional biochemistry* **28**: 164–170.
- Mehić E. (2017) Lindan. Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu <[http://www.pmf.unsa.ba/hemija/files/Katedra%20za%20organsku%20hemiju%20i%20biohemiju/Predmeti%20KOHBI/II\\_ciklus/organska\\_hemija/Analitika\\_organskih\\_po\\_lutanata/8.%20Lindan.pdf](http://www.pmf.unsa.ba/hemija/files/Katedra%20za%20organsku%20hemiju%20i%20biohemiju/Predmeti%20KOHBI/II_ciklus/organska_hemija/Analitika_organskih_po_lutanata/8.%20Lindan.pdf)>. Pristupljeno 26. kolovoza, 2019.
- Mendez M. A., Garcia-Esteban R., Guxens M., Vrijheid M., Kogevinas M., Goñi F., Fochs S., Sunyer J. (2011) Prenatal organochlorine compound exposure, rapid weight gain, and over-weight in infancy. *Environmental Health Perspectives* **119**: 272–278.
- Moein S. (2015) Polyphenols and cancer: A review. *Molecular Medicine Journal* **1**(1): 6-12
- Morita K., Matsueda T., Iida T. (1997) Effect of green tea (*matcha*) on gastrointestinal tract absorption of polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins in rats. *Fukuoka igaku zasshi = Hukuoka acta medica* **88** (5): 162-8.
- Murati T., Šimić B., Kniewald J., Pleadin J., Kmetič I. (2014) Organoklorovi insekticidi – mehanizmi toksičnog djelovanja. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* **9** (3-4): 97-109.
- Müller J., Pfaffl M. W. (2012) Synergetic downregulation of 67 kDa laminin receptor by the green tea (*Camellia sinensis*) secondary plant compound epigallocatechin gallate: a new gateway in metastasis prevention? *BMC Complementary and Alternative Medicine* **12**: 258
- Newsome B. J. (2014) Addressing public health risks of persistent pollutants through nutritional modulation and biomimetic nanocomposite remediation platforms. Lexington, College of Arts and Sciences at the University of Kentucky, Kentucky. <<https://pdfs.semanticscholar.org/e358/584f7d401a54ed9c5a602d18d8b6f1106f88.p>

[df? ga=2.107229003.85459359.1566379387-1902405727.1550651810](https://doi.org/10.107229003.85459359.1566379387-1902405727.1550651810)>.

pristupljeno 30. srpanj 2019.

- NPIC (1999) DDT general fact sheet. NPIC - National Pesticide Information Center, <<http://npic.orst.edu/factsheets/ddtgen.pdf>>. Pristupljeno 26. kolovoza 2019.
- Panche A. N., Diwan A. D., Chandra, S. R. (2016) Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science* **5** doi:10.1017/jns.2016.41
- Park J. A., Kim S., Lee S. Y., Kim C. S., Kim D. K., Kim S. J., Chun H. S. (2008) Beneficial effects of carnosic acid on dieldrin-induced dopaminergic neuronal cell death. *Neuroreport* **19**: 1301–1304.
- Pasinetti G. M., Wang J., Ho L., Zhao W., Dubner L. (2015) Roles of resveratrol and other grape-derived polyphenols in Alzheimer's disease prevention and treatment. *Biochimica et Biophysica Acta* **1852**(6):1202–1208.
- Petriello M. C., Newsome B., Hennig B. (2014a) Influence of nutrition in PCB-induced vascular inflammation. *Environmental science and pollution research international* **21**(10), 6410–6418. doi:10.1007/s11356-013-1549-5
- Petriello M. C., Newsome B. J., Dziubla T. D., Hilt J. Z., Bhattacharyya D., Hennig B. (2014b) Modulation of persistent organic pollutant toxicity through nutritional intervention: emerging opportunities in biomedicine and environmental remediation. *The Science of The Total Environment* 491-492:11–16.
- Petriello, M. C. (2015) Role of Caveolin-1 and Nrf2 in nutritional modulation of PCB toxicity. Theses and Dissertations, Toxicology and Cancer Biology, University of Kentucky, Kentucky <<https://www.semanticscholar.org/paper/Role-of-Caveolin-1-and-Nrf2in-nutritional-of-PCB-Petriello/dc7c9ab0f7741bd311949a0e8a9483ff038d6d78>>. Pristupljeno 30 srpnja, 2019.
- Pietta P. G. (2000) Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products* **63**:1035–1042.
- Pitot H. C. (1993) The molecular biology of carcinogenesis. *Cancer* **1**(72): 962-970
- PubChem (2019a) Atrazine. NCBI - National Center for Biotechnology Information <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2256>>. Pristupljeno 28. kolovoza 2019.
- PubChem (2019b) Chloridazon. NCBI - National Center for Biotechnology Information <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/15546>>. Pristupljeno 28. kolovoza 2019.

- PubChem (2019c) Hexachlorobenzene. NCBI - National Center for Biotechnology Information <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8370>>. Pristupljeno 28. kolovoza 2019.
- PubChem (2019d) Pentachloronitrobenzene. NCBI - National Center for Biotechnology Information<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pentachloronitrobenzene>>. Pristupljeno 8. rujna 2019.
- PubChem (2019e) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid. NCBI - National Center for Biotechnology Information <[https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2\\_4-Dichlorophenoxyacetic-acid#section=Molecular-Formula](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4-Dichlorophenoxyacetic-acid#section=Molecular-Formula)>. Pristupljeno 8. rujna 2019.
- PubChem (2019f) 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid. NCBI - National Center for Biotechnology Information <[https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2\\_4\\_5-Trichlorophenoxyacetic-acid](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4_5-Trichlorophenoxyacetic-acid)>. Pristupljeno 8. rujna 2019.
- Ramadass P., Meerarani P., Toborek M., Robertson L. W., Hennig B. (2003) Dietary flavonoids modulate PCB-induced oxidative stress, CYP1A1 induction, and AhR-DNA binding activity in vascular endothelial cells. *Toxicological Sciences* **76**:212–219.
- Rasouli H., Farzaei M. H., Mansouri K., Mohammadzadeh S., Khodarahmi R. (2016) Plant cell cancer: may natural phenolic compounds prevent onset and development of plant cell malignancy? A literature review. *Molecules* **21**(9): 1-26.
- Rasouli H., Farzaei M.H., Khodarahmi R. (2017) Polyphenols and their benefits: A review. *International Journal of Food Properties* **20**: 1700-1741,
- Rocha-González H. I., Ambriz-Tututi M., Granados-Soto V. (2008) Resveratrol: a natural compound with pharmacological potential in neurodegenerative diseases. *CNS Neuroscience & Therapeutics* **14**(3):234–247.
- Rodríguez-García C., Sánchez-Quesada C., Gaforio J. J. (2019) Dietary flavonoids as cancer chemopreventive agents: an updated review of human studies. *Antioxidants* **8**(5): 137.
- Rostami A., Khalili M., Haghighat N., Eghtesadi S., Shidfar F., Heidari I., Ebrahimpour-Koujan S., Eghtesadi M. (2015) High-cocoa polyphenol-rich chocolate improves blood pressure in patients with diabetes and hypertension. *ARYA Atherosclerosis* **11**(1): 21–29.
- Sera N., Morita K., Nagasoe M., Tokieda H., Kitaura T., Tokiwa H. (2005) Binding effect of polychlorinated compounds and environmental carcinogens on rice bran fiber. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **16**(1): 50–58.
- Serino A., Salazar G. (2018) Protective role of polyphenols against vascular inflammation, aging and cardiovascular disease. *Nutrition* **11**:53.

- Sofilić T. (2014) Ekotoksikologija. Skripta Metalurški fakultet Sisak, Sveučilište u Zagrebu, <<https://www.simet.unizg.hr/hr/nastava/predavanja/preddiplomski-sveucilisni-studij-metalurgija/2-godina-preddiplomskog/ekotoksikologija/view>>. Pristupljeno 20. kolovoza 2019.
- Šiljković Ž. (1999) Zdravstveni rizici uzrokovani emisijom PCDD/F i sličnim organoklorinim spojevima u geografskoj sredini. *Socijalna ekologija: časopis za ekološku misao i sociologijska istraživanja okoline* **8**: 395-404.
- Tai K.-K., Truong D. D. (2010) (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a green tea polyphenol, reduces dichlorodiphenyl-trichloroethane (DDT)-induced cell death in dopaminergic SHSY-5Y cells. *Neuroscience Letters* **482**(3): 183–187.
- ToxNet (2019) Polychlorinated biphenyls. TOXNET - Toxicology Data Network, <<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+3945>>. Pristupljeno 26. kolovoza 2019.
- Yahfoufi N., Alsadi N., Jambi M., Matar C. (2018) The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. *Nutrients* **10**(11), 1618. doi:10.3390/nu10111618
- Yang C. S., Wang H. (2016) Cancer preventive activities of tea catechins. *Molecules* **21**(12):1679.
- Zhou Y., Zheng J., Li Y., Xu D. P., Li S., Chen Y. M., Li H. B. (2016) Natural Polyphenols for Prevention and Treatment of Cancer. *Nutrients* **8**(8): 515. doi:10.3390/nu8080515

## Izjava o izvornosti

*Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

*Anica Juršić*

ime i prezime studenta