

Received: 2015.10.12
Accepted: 2016.10.19
Published: 2016.12.31

Antyoksydacyjne i przeciwdrobnoustrojowe właściwości bioaktywnych fitozwiązków żurawiny*

Antioxidant and antimicrobial properties of bioactive phytochemicals from cranberry

Monika Baranowska, Agnieszka Bartoszek

Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska

Streszczenie

W racjonalnym żywieniu człowieka podkreśla się rolę owoców i warzyw, będących źródłem tzw. bioaktywnych fitozwiązków. Wśród owoców szczególną uwagę zwraca żurawina ze względu na wiele udokumentowanych właściwości prozdrowotnych. Owoc ten wyróżnia duża zawartość związków fenolowych o charakterze przeciwutleniaczy, które wspierają naturalny antyoksydacyjny system obronny organizmu przed uszkodzeniami wywołanymi stresem oksydacyjnym indukowanym przez reaktywne formy tlenu (RFT). Z tego względu żurawina jest zalecana w profilaktyce chorób cywilizacyjnych, takich jak miażdżyca, nadciśnienie, czy nowotwory, których etiologia jest bezpośrednio związana ze stresem oksydacyjnym. Jednak najlepiej udowodnionym działaniem zdrowotnym żurawiny są jej właściwości antybakteryjne wynikające z obecności charakterystycznych dla tego owocu proantocyjanidyn (PAC) typu A mających udokumentowane właściwości antyadherencyjne. Uznany medycznym zastosowaniem owoców żurawiny jest profilaktyka oraz wspomaganie leczenia bakteryjnych zakażeń dróg moczowych (ZUM), błony śluzowej żołądka oraz infekcji jamy ustnej. Ze względu na powszechne stosowanie żurawiny oraz preparatów farmaceutycznych, których głównym składnikiem są PAC, w leczeniu ZUM bardzo ważna jest ocena wchłaniania, biodostępności oraz metabolizmu tych związków w organizmie człowieka.

Słowa kluczowe:

przeciwutleniacze • reaktywne formy tlenu • stres oksydacyjny • proantocyjanidyny • zakażenia układu moczowego

Summary

In the rational human diet, the important role of fruits and vegetables, which are a source of bioactive phytochemicals, is emphasized. Among fruits particular attention, due to a number of documented health-promoting properties, is focused on cranberry. This fruit is characterized by the high content of antioxidant phenolic compounds, which may support the natural antioxidant defense system of the body in the prevention of damage caused by oxidative stress induced by reactive oxygen species (ROS). Therefore, cranberry is suggested for the prevention of civilization diseases such as atherosclerosis, hypertension and cancer, whose etiology is associated directly with oxidative stress. The health-promoting potential of cranberry is also associated with its antibacterial activity resulting from the presence of proanthocyani-

* Publikację przygotowano w ramach projektu badawczego: „Szereg Mocy Przeciwutleniającej jako narzędzie pozwalające na racjonalne projektowanie i ocenę właściwości prozdrowotnych żywności funkcjonalnej zawierającej związki fitochemiczne” (nr rejestracyjny wniosku 2014/14/A/ST4/00640), finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w ramach konkursu „MAESTRO 6”.



| | |
|-----------------------|--|
| Key words: | antioxidants • reactive oxygen species • oxidative stress • proanthocyanidins • urinary tract infection |
| Full-text PDF: | http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1227896 |
| Word count: | 31131 |
| Tables: | 1 |
| Figures: | 3 |
| References: | 50 |

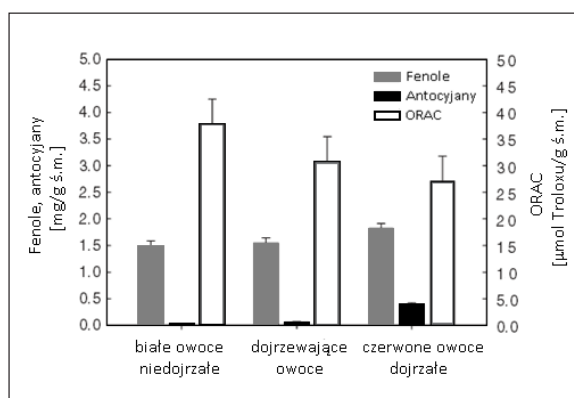
Adres autorki: mgr inż. Monika Baranowska, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk; e-mail: monbaran1@student.pg.gda.pl

Wykaz skrótów: **AFSSA** – Francuski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments); **EFSA** – Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (European Food Safety Authority); **FTF** – fruktozylotransferaza (fructosyltransferase); **GTF** – glukozylotransferaza (glucosyltransferase); **HDL** – lipoproteina o dużej gęstości (high-density lipoprotein); **LDL** – lipoproteina o małej gęstości (low-density lipoprotein); **MMP** – metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (matrixmetalloproteinases); **oxLDL** – utleniony LDL (oxidised LDL); **PAC** – proantocyjanidyny (proanthocyanidins); **RFT** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species – ROS); **ś. m.** – świeża masa; **USDA** – Departament Rolnictwa Stanów Zjednoczonych (United State Department of Agriculture); **ZUM** – zapalenie układu moczowego (urinary tract infection – UTI).

WPROWADZENIE

Żurawina (*Oxycoccus*) jest wieloletnią krzewiną należąca do rodziny wrzosowatych (*Ericineae*). Dziko rosnąca w Polsce, niepozorna roślina o małych, czerwonych owocach kryje w sobie bogactwo wartościowych dla zdrowia człowieka związków. Stosowana od wieków w medycynie ludowej żurawina błotna (*Vaccinium oxycoccus*) jest zaliczana obecnie do najcenniejszych roślin leczniczych występujących w Polsce. Gatunkiem uprawianym niemalże na całym świecie na szeroką skalę, ze względu na dużą produktywność owoców, jest żurawina wielkoowocowa (*Vaccinium macrocarpon*). Istotne jest jednak to, że niezależnie od odmiany żurawinę cechuje unikalny skład wtórnych metabolitów, który odróżnia ją od innych owoców. Zawartość tych substancji może być zróżnicowana w zależności od odmiany, dojrzałości owoców, lokalizacji uprawy, warunków zbioru i przechowywania [1,30].

Różnice w zawartości związków fenolowych, antocyjanów i całkowitej pojemności antyoksydacyjnej między ekstraktami z owoców żurawiny amerykańskiej (odmiana Stevens) w różnym stadium dojrzałości przedstawiono na ryc. 1. Zawartość związków fenolowych w dojrzałych owocach była o 22% większa niż w owocach jeszcze białych, co wynika ze wzrostu ilości antocyjan-



Ryc. 1. Średnie stężenia związków fenolowych w ekstraktach sporządzonych z owoców żurawiny odmiany „Stevens” będących w 3 stadiach dojrzałości wyrażono w przeliczeniu na równoważną ilość miligramów kwasu galusowego przypadającą na 1 g świeżej masy owoców żurawiny (mg kwasu galusowego/g ś. m.), antocyjanów w przeliczeniu na równoważną ilość miligramów cyjanidyno-3-O-glukozydu przypadającą na 1 g świeżej masy owoców (mg cyjanidyno-3-O-glukozydu/g ś. m.), a pojemność antyoksydacyjną ORAC wyrażono jako równoważną ilość mikromoli Troloxu na 1 g świeżej masy owoców (μmol Troloxu/g ś. m.). Podane wartości są średnimi dla próbek pochodzących z 4 lokalizacji uprawy i 2 sezonów zbiorów (n=12) (na postawie [3]).

Tabela 1. Całkowita zawartość związków fenolowych, całkowita pojemność antyoksydacyjna w przeliczeniu na równoważną ilość witaminy C (mg wit. C/g ś.m.) oraz zawartość flawonoidów: (-)-epikatechiny, cyjanidyny, kwercetyny należących odpowiednio do grupy flawan-3-oli, antocyjanów oraz flawonoli w różnych owocach

| Owoce | Całkowita pojemność antyoksydacyjna [mg wit. C/g ś.m.] | Całkowita zawartość fenoli [$\mu\text{mol/g}$ ś.m.] | Flawan-3-ole | Antocyjany | Flawonole |
|--------------------|--|--|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | | (-)-Epikatechina [mg/100 g ś.m.] | Cyjanidyna [mg/100 g ś.m.] | Kwercetyna [mg/100 g ś.m.] |
| | [9] | [10] | | [11] | |
| Żurawina | 177,0 \pm 4,3 | 158,8 \pm 3,2 | 4,4 \pm 1,0 | 37,7 \pm 4,8 | 14,8 \pm 1,0 |
| Jabłka | 97,6 \pm 4,6 | 34,1 \pm 4,8 | 7,5 \pm 0,4 | 1,3 \pm 0,2 | 4,0 \pm 0,1 |
| Czerwone winogrona | 64,7 \pm 1,6 | 63,7 \pm 41,2 | 1,0 \pm 0,1 | 1,0 \pm 0,23 | 1,0 \pm 0,7 |
| Truskawki | 64,4 \pm 1,1 | 72,3 \pm 11,0 | 0,4 \pm 0,1 | 1,6 \pm 0,0 | 1,1 \pm 0,0 |
| Ananasy | 16,9 \pm 0,3 | 11,9 \pm 6,0 | 0 | 0 | 0,1 \pm 0,1 |
| Brzoskwinie | 49,5 \pm 2,8 | 27,9 \pm 7,7 | 2,3 \pm 0,2 | 1,6 \pm 0,0 | 0,7 \pm 0,1 |
| Banany | 32,8 \pm 1,5 | 42,3 \pm 8,1 | 0 | 0 | 0,1 \pm 0,00 |
| Gruszki | 34,2 \pm 0,3 | 41,4 \pm 4,9 | 3,8 \pm 0,3 | 12,2 \pm 2,5 | 4,2 \pm 1,7 |
| Grejpfruty | 24,7 \pm 0,17 | 7,5 \pm 2,9 | 0 | 0 | 0,3 \pm 0,2 |
| Pomarańcze | 31,5 \pm 0,3 | 18,9 \pm 10,7 | 0 | 0 | 0,2 \pm 0,1 |

nów w czasie dojrzewania. Spadek pojemności antyoksydacyjnej wraz ze wzrostem stopnia dojrzałości owocu wskazuje na rozkład przeciwutleniaczy nienależących do grupy polifenoli [16]. Odmiana owocu może również wpływać na skład i stężenie substancji fitochemicznych. Na przykład zawartość antocyjanów w przeliczeniu na równoważną ilość miligramów cyjanidyno-3-O-glukozydu przypadającą na 100 g świeżej masy owoców żurawiny oznaczana dla odmiany Ben Lear wynosiła 102,14 mg/100 g ś.m., dla odmiany Elary Richard 77,2 mg/100 g ś.m., a dla odmiany Stevens 74,4 mg/100 g ś.m. Żurawina błotna charakteryzowała się najmniejszą zawartością antocyjanów (43,3 mg/100 g ś.m.) [7,46].

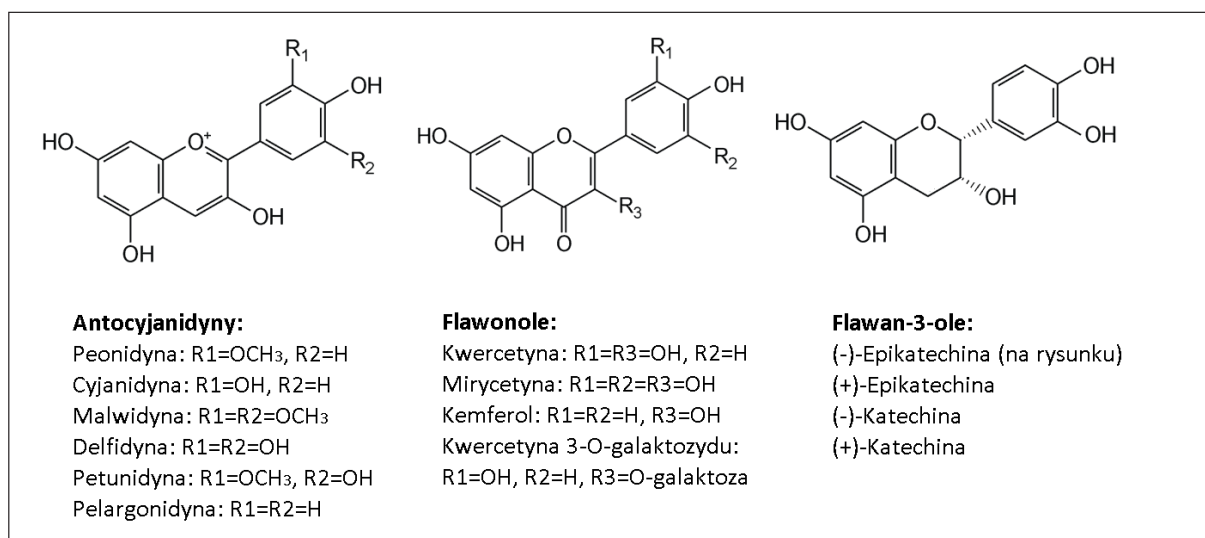
Żurawina jest wyjątkowo bogatym źródłem tzw. bioaktywnych fitozwiązków. Przedrostek *fito* pochodzi z greki i oznacza roślinę. Przyjęło się jednak tę nazwę stosować nie do wszystkich substancji obecnych w roślinie, ale wyłącznie do bioaktywnych wtórnych metabolitów, niemających wartości odżywczej. Coraz więcej doniesień naukowych wskazuje, że korzyści ze spożywania fitozwiązków obecnych w owocach i warzywach mogą być większe niż dotychczas uważano. Przyczyniło się do tego przede wszystkim zrozumienie roli stresu oksydacyj-

nego indukowanego przez reaktywne formy tlenu (RFT) w etiologii wielu chorób przewlekłych, takich jak miażdżyca, nadciśnienie, otyłość, czy też nowotwory [7,24].

Fitozwiązki można podzielić na: karotenoidy, polifenole, alkaloidy, związki zawierające azot oraz związki siarkoorganiczne [30]. Ze względu na rozpowszechnienie oraz dużą aktywność antyoksydacyjną najczęściej badanymi fitozwiązkami występującymi w owocach są polifenole. Szacuje się, że flawonoidy stanowią około dwóch trzecich związków fenolowych występujących w żywności pochodzenia roślinnego, a pozostałe to fenolokwasy [24]. Uważa się, że ich obecność w diecie człowieka jest korzystna zdrowotnie, bo wiąże się ze zmniejszeniem ryzyka występowania chronicznych chorób.

Wśród najczęściej spożywanych owoców żurawina charakteryzuje się największą całkowitą zawartością związków fenolowych oraz całkowitą pojemnością przeciwutleniającą wyprzedzając jabłka, czerwone winogrona, truskawki, ananasy, banany, brzoskwinie, pomarańcze, gruszki i grejpfruty (tabela 1) [9,10,11]. Dużą aktywność antyoksydacyjną żurawina zawdzięcza obecności trzech głównych klas flawonoidów (tabela 1):





Ryc. 2. Struktury głównych klas flawonoidów występujących w żurawinie: antocyanidyn, flawonoli, flawan-3-oli. Grupa R w każdej z pochodnych stanowi punkt zmienności w obrębie danej klasy, jak to pokazano poniżej każdej struktury podstawowej

antocyanów, których barwnymi aglikonami są antocyanidyny oraz flawonoli i flawan-3-oli (ryc. 2) [1,14,47]. Związki fitochemiczne należące do ostatniej grupy odgrywają również istotną rolę w zapobieganiu infekcjom bakteryjnym, zwłaszcza zapaleniu układu moczowego (ZUM) [6].

AKTYWNOŚĆ ANTOKSYDACYJNA SKŁADNIKÓW ŻURAWINY

Stres oksydacyjny, który jest związany z nadmiernym wytwarzaniem RFT charakterystycznym dla organizmów tlenowych, leży u podstawy wielu chorób przewlekłych. Większość RFT powstaje w wyniku prawidłowego metabolizmu komórkowego i bierze udział w zewnętrz- i wewnątrzkomórkowych szlakach sygnalizacyjnych. Reaktywne formy tlenu, azotu i chloru mogą być wytwarzane w odpowiedzi na niekorzystne dla komórek czynniki środowiskowe, takie jak promieniowanie UV, toksyczne związki chemiczne lub w procesie zapalnym, mogą również przenikać do organizmu z otoczenia. Nadmiar tych reaktywnych cząsteczek, które nie zostały zneutralizowane, inicjuje niebezpieczne dla komórek reakcje biochemiczne [32]. Przeciwutleniacze dostarczane z pożywieniem wspierają naturalny antyoksydacyjny system obronny przed uszkodzeniami wywołanymi stresem oksydacyjnym.

Żurawinę wyróżnia duża zawartość związków fenolowych o charakterze przeciwutleniaczy, które mogą chronić organizm przed RFT, stąd sugeruje się jej działanie w profilaktyce chorób cywilizacyjnych, takich jak miażdżycy, nadciśnienie, czy nawet nowotwory. Rośnie liczba doniesień wskazujących, że flawonoidy zawarte w żurawinie mogą zmniejszać ryzyko zachorowania na choroby układu sercowo-naczyniowego głównie przez zwiększenie odporności lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) na utlenienie, utrzymanie na stałym poziomie lub wzrost

poziomu lipoprotein o dużej gęstości (HDL), zmniejszenie agregacji i adhezji płytek krwi, przeciwdziałanie powstawaniu zakrzepów, zapobieganie stanom zapalnym oraz działanie wazodylatacyjne obniżające ciśnienie krwi [14,26]. Szczególnie ważną funkcją przeciwutleniaczą żurawiny jest zapobieganie utlenianiu lipoprotein LDL, co znacznie ogranicza powstawanie zmian miażdżycowych. Utleniony LDL (oxLDL) jest pochłaniany przez receptory zwane zmiataczami makrofagów promując akumulację estrów cholesterolu i powstawanie komórek piankowatych, które przyczyniają się do rozwoju miażdżycy [23,25]. Duthie i wsp. [11] wykazali, że spożywanie soku żurawinowego (750 mL/dzień przez 2 tygodnie) zwiększa pojemność antyoksydacyjną osocza u zdrowych kobiet. Natomiast u zdrowych mężczyzn przyjmujących dziennie 7 mL/kg masy ciała soku żurawinowego przez 14 dni odnotowano spadek stężenia oxLDL [34]. Podobny wynik takiej suplementacji zaobserwowano u mężczyzn prowadzących siedzący tryb życia [35]. Dostępne wyniki badań z udziałem ochotników wskazują też, że spożywanie produktów z żurawiny obniża stężenie markerów stresu oksydacyjnego zarówno we krwi osób zdrowych, jak i pacjentów zagrożonych chorobami sercowo-naczyniowymi. Basu i wsp. [4] również potwierdzili, że dostępny na rynku niskokaloryczny sok żurawinowy zmniejsza intensywność procesu utleniania lipidów i zwiększa pojemność antyoksydacyjną surowicy krwi pacjentek z zespołem metabolicznym.

Inną grupą chorób cywilizacyjnych, których patogeniza może być powiązana z zaburzeniami homeostazy redoksowej są nowotwory. Poszukuje się substancji naturalnych lub syntetycznych, które normalizując poziom RFT mogłyby służyć zapobieganiu rozwojowi nowotworów, a także poprawiać skuteczność chemioterapii przez zmniejszenie jej działań niepożądanych spowodowanych przez stres oksydacyjny, takich jak np. kardiotoksycz-

ność [31]. Wtórne metabolity występujące w owocach mogą przeciwdziałać, zmniejszać, a także naprawiać szkody wyrządzone przez stres oksydacyjny w organizmie, m.in. uszkodzenia białek, czy DNA. Ponadto, fitozwiązki fenolowe mogą regulować aktywność enzymów uczestniczących w metabolizmie ksenobiotyków, w tym aktywacji i detoksykacji czynników rakotwórczych, wpływać na czynniki wzrostu i transkrypcji, obniżać stężenie cytokin prozapalnych oraz regulować szlaki sygnałowe proliferacji komórek nowotworowych, apoptozy i angiogenezy. Związki fitochemiczne mogą również uwrażliwiać komórki nowotworowe na substancje chemioterapeutyczne, hamując szlaki, które prowadzą do nabycia oporności na leki [36]. Aktywność taką można w pewnym stopniu przypisać składnikom żurawiny o charakterze przeciwutleniaczy. Zdolność do unieszkodliwiania RFT wykazują glikozydy flawonolowe wyizolowane z owoców żurawiny, do których należą: mirycetyna-3- α -arabinofuranozydu, kwercetyna-3-ksylozydu, 3-metoksykwercetyna-3- β -galaktozydu, kwercetyna-3- β -galaktozydu, kwercetyna-3- α -arabinofuranozydu i kwercetyna-3- α -ramnopiranozydu [49]. Prawdopodobny mechanizm działania, który może być powiązany z neutralizacją RFT, obejmuje indukcję apoptozy w komórkach rakowych, zmniejszenie ich inwazyjności oraz hamowanie przerzutowania przez inhibicję ekspresji i aktywności metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP), a także inhibicję procesu angiogenezy i procesów zapalnych. Dowiedziono, że frakcje żurawiny wzbogacone w proantocyjanidyny i flawonole indukują apoptozę w komórkach raka stercza przez aktywację kaspaz. Do działań chemioprewencyjnych mogą się przyczyniać flawonoidy obecne w fitokompleksie tego owocu, takie jak antocyjaniny, flawonole, proantocyjanidyny, pochodne kwasu hydrokscynamonowego oraz stilbeny [14].

Inhibicję proliferacji komórek nowotworowych przez ekstrakt z owoców żurawiny odnotowano dla linii raka jamy nosowo-gardłowej (CAL27, KB), okrężnicy (HT-29, HCT-116, SW480, SW620) oraz stercza (RWPE-1, RWPE-2, 22Rv1). Frakcje antocyjanów i proantocyjanidyn okazały się mniej skuteczne w hamowaniu wzrostu komórek linii raka jamy nosowo-gardłowej i okrężnicy niż całkowity ekstrakt, jednak wykazywały silną inhibicję proliferacji w komórkach linii nowotworu stercza [37]. Badania *in vitro* z użyciem komórek nowotworu piersi (MDA-MB-435) wskazują na zdolność związków żurawiny do indukcji apoptozy. Frakcja związków fenolowych wyekstrahowana z osadu filtracyjnego pozostałego po wyciśnięciu soku z żurawiny indukowała apoptozę komórek MDA-MB-435 w sposób zależny od dawki, co zweryfikowano za pomocą cystometrii przepływowej po wybarwieniu komórek aneksyną V. Blokade cyklu komórkowego zarejestrowano w fazie G₁ oraz G₂ [15]. Inne badania wskazują na wzrost apoptozy komórek linii MCF-7 o 25% po traktowaniu ekstraktem otrzymanym ze świeżych owoców żurawiny o stężeniu 50 g/L, a znaczące zatrzymanie cyklu komórkowego nastąpiło w fazie G₁ [43].

ROLA BIOAKTYWNYCH SKŁADNIKÓW ŻURAWINY W ZAPOBIEGANIU INFЕКCIOM BAKTERYJNYM

Warto zwrócić uwagę na inne ważne właściwości zdrowotne żurawiny. Owoc ten dzięki obecności swoistych związków fenolowych ma właściwości antybakteryjne. Jednym z ważniejszych zastosowań, zarówno owoców żurawiny oraz produktów z nich otrzymywanych, jak i preparatów opartych na ekstraktach wzbogaconych w substancje czynne, jest profilaktyka oraz wspomaganie leczenia bakteryjnych zakażeń dróg moczowych, błony śluzowej żołądka oraz infekcji jamy ustnej. Wyniki badań wskazują, że frakcja żurawiny bogata w proantocyjanidyny (PAC), będące polimerami flawan-3-oli, hamuje przyleganie adhezyn *Helicobacter pylori* do komórek nabłonkowych żołądka, co wskazuje, że PAC żurawiny mają właściwości antyadherencyjne w stosunku do niektórych bakterii. Po adhezji do komórek nabłonkowych, bakterie te powodują zapalenie błony śluzowej żołądka, a to może spowodować rozwój raka żołądka [8,38].

Proantocyjanidyny utrudniają również osadzanie się na płycie nazębnej bakterii, które w wyniku fermentacji węglowodanów, takich jak sacharoza, wytwarzają kwasy. Jeśli pH na powierzchni zęba spada poniżej 5,5 następuje demineralizacja szkliwa i próchnica [39]. Mutanty, np. *Streptococcus*, są uważane za główne czynniki etiologiczne próchnicy, z powodu ich właściwości kwasotwórczych oraz silnej przyczepności do płytki nazębnej. Frakcje żurawiny zawierające PAC dokładnie zbadano pod kątem ich wpływu na tworzenie, utrzymywanie oraz rozwój biofilmu na zębach. Zdolność PAC żurawiny do zapobiegania tworzenia zależnego od sacharozy biofilmu została przypisana do ich zdolności inhibicji aktywności i wytwarzania fruktozylotransferazy (FTF) oraz glukozylotransferazy (GTF), które są zaangażowane w wytwarzanie egzopolisacharydów przez mutanty *Streptococcus* [39]. PAC żurawiny hamują również tworzenie biofilmu niezależnego od sacharozy dzięki zdolności do zapobiegania koagregacji bakterii, zmniejszenia ich hydrofobowości i modyfikacji cząsteczek znajdujących się na powierzchni komórek [48]. Wyniki badań wskazują, że codzienne używanie (przez 6 tygodni) płynów do płukania jamy ustnej zawierających żurawinę, zmniejsza liczbę mutantów paciorkowców zawartych w ślinie. Badania PAC zawartych w żurawinie dają również obiecujące wyniki w zapobieganiu i leczeniu chorób przyzębia [14].

ROLA BIOAKTYWNYCH SKŁADNIKÓW ŻURAWINY W ZAPOBIEGANIU INFЕКCIOM UKŁADU MOCZOWEGO

Najbardziej wykorzystywanym klinicznie działaniem zdrowotnym żurawiny jest profilaktyka i wspomaganie leczenia osób z zakażeniami układu moczowego (ZUM), które są najczęściej występującymi zakażeniami organizmu ludzkiego. Głównym patogenem wywołującym chorobę jest *Escherichia coli* [33]. Zakażenie rozpoczyna się, gdy bakterie chorobotwórcze przyłączają się do komórek

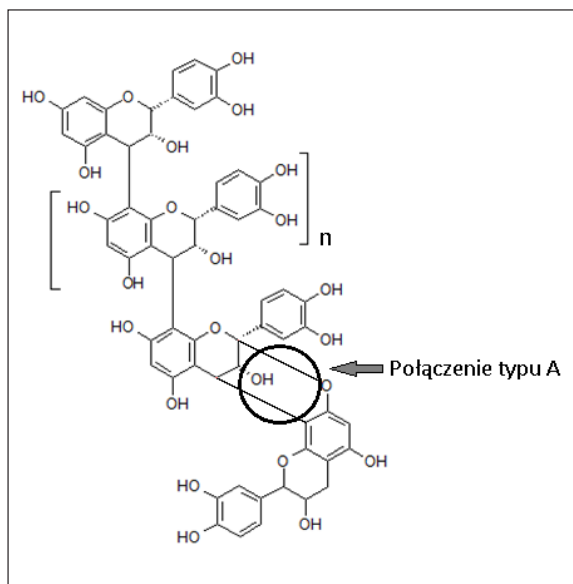


układu moczowego przez wiązanie się adhezyn bakteryjnych z receptorami w błonie komórkowej gospodarza. Typowe adhezyny uropatogennych *E. coli* zawierają fimbrie typu 1, typu P i adhezyny X. Przyleganie fimbrii typu 1 może być zablokowane przez D-mannozę, α-metylomannozyd i wiele innych analogów mannozy. Wiązanie fimbrii P i adhezyny X do komórek układu moczowego nie jest blokowane przez mannozę ani jej analogi. ZUM powszechnie leczy się antybiotykami, jednak istnieją obawy związane z rozwojem oporności na antybiotyki, dlatego alternatywne terapie oraz działania profilaktyczne znajdują coraz większe zainteresowanie wśród badaczy [44].

Naturalną i niezwykle skuteczną metodą zapobiegania i leczenia ZUM jest hamowanie przylegania uropatogennych *E. coli* do komórek nabłonkowych układu moczowego w wyniku spożywania żurawiny i produktów z niej uzyskiwanych. Aktualna hipoteza dotycząca mechanizmu działania związków fitochemicznych zawartych w żurawinie *in vitro* mówi o zapobieganiu przywieraniu adhezyn bakteryjnych do nabłonka pęcherza moczowego. Bez adhezji bakterie nie mogą zakazić powierzchni błony śluzowej, co zapobiega rozwojowi ZUM. Wiązanie białkowych adhezyn bakteryjnych do błony śluzowej pęcherza moczowego odbywa się na zasadzie receptor-ligand. Swoiste składniki żurawiny mogą się zachowywać jak analogi receptorów kompetywnie hamując adhezję bakterii do komórek gospodarza [20]. W żurawinie zidentyfikowano dwa rodzaje związków, które mogą odpowiadać za opisywane działanie. Jednym z nich jest fruktoza, która blokuje przyleganie fimbrii typu 1. Drugą grupę związków charakteryzuje zdolność do blokowania adhezyn mannozoopornych. O ile fruktozę zawierają wszystkie soki owocowe, o tyle związki hamujące wiązanie fimbrii typu P występują tylko w sokach otrzymanych z żurawiny i jagód. Mowa tu o bioaktywnych wtórnych metabolitach należących do grupy pochodnych flawan-3-olu [12,18,40]. Żurawina zawiera monomery flawan-3-olu, oligomery i polimery. Do tych ostatnich zalicza się taniny skondensowane (niehydrolizujące), tzw. proantocyjanidyny (PAC), które według ekspertów Departamentu Rolnictwa Stanów Zjednoczonych (USDA) stanowią większość flawonoidów występujących w żurawinie.

Właściwości strukturalne PAC określają ich aktywność biologiczną. Proantocyjanidyny są polimerami zawierającymi zazwyczaj 2-50 podjednostek. Podjednostki te ((+)-katechina, (-)-epikatechina, (-)-epigalokatechina, galusan epigalokatechina) są najczęściej połączone za pomocą pojedynczego wiązania między węglami C4 i C8 lub C6 (PAC typu B). Polimery typu A, obok wiązania między węglami C4 i C8 mają dodatkowe wiązanie między O7 i C2 (ryc. 3). Wyniki badań wskazują, że PAC typu A mają szczególnie silne właściwości antyadherencyjne w stosunku do niektórych bakterii [14].

Francuski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (AFSSA) jako pierwszy na świecie wydał oświadczenie zdro-



Ryc. 3. Struktura proantocyjanidyny typu A

wotne wskazujące, że produkty, takie jak sok i proszek z żurawiny *Vaccinium macrocarpon* przyczyniają się do zmniejszenia przyczepności niektórych bakterii w drogach moczowych dzięki obecności proantocyjanidyn. Wniosek został przyjęty dla produktu używanego w badaniach klinicznych przy minimalnej ilości 36 mg proantocyjanidyn na dzień (standaryzacja PAC za pomocą metody DMAC/PAC003) [13]. W 2009 r. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) wydał oświadczenie, że produkty żurawinowe ograniczają przyleganie uropatogennych bakterii do nabłonka dolnych dróg moczowych w warunkach *in vitro*. Przedmiotem oświadczenia zdrowotnego były produkty firmy Ocean Spray Cranberries, Inc. (napoje i koncentraty żurawinowe oraz słodzona, suszona żurawina Craisins) zawierające zazwyczaj 80 mg proantocyjanidyn (PAC) w jednej porcji. Do ich produkcji stosowano wyłącznie żurawinę amerykańską (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) [13].

Zapobieganie kolonizacji układu moczowego przez bakterie może polegać również na obniżeniu ekspresji genu kodującego białko P-fimbrii *E. coli* w wyniku zmian konformacji cząsteczek powierzchniowych wywołanych przez pochodne flawon-3-olu. Lavigne i wsp. [22] wykazali, że żurawina może zmniejszać zjadliwość szczepów *E. coli* i skojarzyli to działanie ze spadkiem zdolności przylegania szczepów charakteryzujących się brakiem ekspresji genów kodujących białka fimbrii typu 1 i P-fimbrii, co oznacza, że ekstrakt z żurawiny wpływa również na innego typu fimbrie [22]. Dzięki tej obserwacji przeprowadzono także wstępne badania *in vitro* w celu oceny przyczepności *E. coli* do powierzchni innych komórek. Jednym z pierwszych dotyczącym antyadhezyjnych właściwości związków zawartych w żurawinie było doświadczenie polegające na obserwacji przylegania komórek *E. coli* do szkła. Ekstrakt ze świeżych owoców żurawiny zmniejszał

siłę adhezji *E. coli* do szkiełek nakrywkowych po inkubacji trwającej 2 godz. Kondycjonowanie powierzchni ekstraktem przed utworzeniem biofilmu również osłabiło siłę przylegania bakterii. Siłę adhezji bakterii oznaczano przez zliczenie jednostek tworzących kolonię, które przeniesiono ze szkiełka do świeżej pożywki [2,24].

Dane literaturowe wskazują, że ryzyko wystąpienia i nawrotu ZUM jest zdecydowanie wyższe u kobiet niż u mężczyzn. W badaniu klinicznym prowadzonym przez Kontiokarię i wsp. [21], 150 dorosłych kobiet podzielono na 3 grupy: pierwsza przyjmowała dziennie 50 mL soku zawierającego 7,5 g koncentratu z żurawiny i 1,7 g koncentratu z borówki brusznicy, drugiej grupie podawano 100 mL napoju probiotycznego z bakteriami *Lactobacillus*, a trzecia grupa stanowiła kontrolę. Po 6 miesiącach leczenia, 16% kobiet z grupy pierwszej, 39% z grupy drugiej i 36% z grupy kontrolnej miało jeden lub więcej niż jeden nawrót ZUM. Mimo że kobiety z pierwszej grupy zaprzestały przyjmowania soku żurawinowego po 6 miesiącach, odsetek kobiet, które doświadczyły nawrotu choroby po 12 miesiącach nadal był mniejszy [21]. Podobnie obiecujące wyniki dały badania placebo-kontrolne z podwójną ślepą próbą przeprowadzone przez Stothersa i wsp. [41]. Badaną grupę kobiet, które chorowały na ZUM podzielono na trzy podgrupy: osoby otrzymujące sok placebo i tabletki placebo, osoby przyjmujące sok żurawinowy i tabletki placebo oraz sok placebo i tabletki żurawinowe. Pacjentki przyjmowały 250 mL niesłodzonego soku żurawinowego 3 razy dziennie. Tabletki zawierały natomiast skoncentrowany sok żurawinowy w stosunku 1:30 i były podawane dwa razy dziennie. Po rocznej kuracji zaobserwowano, że u 32% otrzymujących placebo nastąpił nawrót ZUM w przeciągu roku, a w grupie otrzymującej sok żurawinowy odsetek wynosił 20%, natomiast u kobiet przyjmujących skoncentrowany sok żurawinowy w postaci tabletek 18%, czyli redukcja ryzyka ponownego zachorowania na ZUM wynosiła 12-14% [41]. Badania te wskazują, że terapia z zastosowaniem produktów uzyskanych z żurawiny jest efektywna w profilaktyce ZUM także u dorosłych kobiet, które wcześniej przechodziły zakażenie bakteryjne.

W 2009 r. opublikowano wyniki badań, w których porównywano skuteczność ekstraktu z żurawiny z małą dawką trimetoprymu w profilaktyce nawracających zakażeń układu moczowego u starszych kobiet. Zaobserwowano, że trimetoprym miał niewielką przewagę nad ekstraktem z żurawiny w zapobieganiu nawrotom ZUM u badanych kobiet, natomiast charakteryzował się niekorzystnym wpływem na organizm [27]. Badania te jednoznacznie wskazują, że ekstrakt z żurawiny jest lepszym środkiem w profilaktyce i leczeniu ZUM niż antybiotyki. Stosowanie naturalnych produktów wydaje się nieść mniejsze ryzyko nabycia oporności oraz nie powoduje rzekomobłoniastego zapalenia jelit, poważnego schorzenia spowodowanego nadmiernym namnażaniem *Clostridium difficile* w jelitach, które jest następstwem długotrwałej antybiotykoterapii [17,27].

WCHŁANIANIE, BIODOSTĘPNOŚĆ I METABOLIZM PAC

Mimo danych sugerujących, że PAC mają właściwości antyadherencyjne, istnieją wątpliwości co do wchłaniania, biodostępności oraz metabolizmu tych związków w organizmie. Niektórzy autorzy uważają, że PAC nie mogą być aktywne *in vivo* ponieważ są zbyt dużymi cząsteczkami, aby mogły być wchłaniane w niezmienionej postaci w przewodzie pokarmowym [9]. Jednak dimery i trimery PAC wnikają do komórek ludzkiej linii Caco-2, która w warunkach *in vitro* tworzy monowarstwę komórek funkcjonalnie i strukturalnie podobnych do ludzkich enterocytów, co wskazuje, że mogą być absorbowane w nienaruszonym stanie w organizmie człowieka [10,29,44]. Badania perfuzji *in situ* wykazały, że proantocyjanidyny A1 i A2, które są składnikami żurawiny, zostały wchłonięte w jelicie cienkim szczurów w większym stopniu, niż dimery typu B [3]. Istnieje stosunkowo niewiele badań oceniających metabolizm, wchłanianie i biodostępność PAC w organizmie. Jednym z pierwszych było oznaczenie biodostępności proantocyjanidyny A2 w organizmie człowieka po spożyciu koktajlu żurawinowego. Zampariello i wsp. [50] przeprowadzili badania farmakokinetyczne w celu ilościowego oznaczenia tego związku w moczu i osoczu u 10 zdrowych osób, które spożywały na czczo 237 mL niskokalorycznego 54% koktajlu żurawinowego. Próbkę krwi i moczu pobierano w określonych odstępach czasu przed i 24 godziny po spożyciu koktajlu. Przed analizą za pomocą LC-MS/MS, proantocyjanidyny A2 z moczu zostały wyekstrahowane w wyniku ekstrakcji ciecz-ciecz z użyciem octanu etylu oraz ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Proantocyjanidyny A2 z krwi ekstrahowano jedynie za pomocą techniki SPE. Maksymalne stężenie PAC A2 w moczu wykryto po 11 godzinach od spożycia koktajlu [50]. Okazuje się, że po spożyciu tylko niewielka część flawan-3-oli lub oligomerów PAC zostaje wchłonięta w jelicie cienkim. Większość z nich dociera do jelita grubego, dlatego bardzo istotne jest poznanie wpływu mikroflory bytującej w okrężnicy na metabolizm PAC, zwłaszcza typu A ze względu na ich wyjątkową aktywność w prewencji ZUM. Proantocyjanidyny typu A mają silne wiązanie kowalencyjne między C2-O7, dlatego też są bardziej stabilnymi związkami, niż PAC typu B [14]. Do tej pory pojawiły się jedynie fragmentaryczne informacje dotyczące katabolizmu mikrobiologicznego PAC typu A.

W trakcie badań, których wyniki zostały wprowadzone do międzynarodowego obiegu informacji, wykorzystano model jelita ślepego świni do oceny metabolizmu proantocyjanidyny A2 oraz cynamonotany B1 (trimer typu A). Stwierdzono, że 80% dimerów typu A i 40% cynamonotanu B1 uległo degradacji podczas 8-godzinnej inkubacji. Trimer typu A wykazywał bardziej skomplikowany wzór hydroksylowanych katabolitów niż proantocyjanidyna A2, co prawdopodobnie wynika z wielkości związku oraz bardziej skomplikowanej struktury. Metabolizm tych związków prowadzi do powstawania kwasów hydroksylowych lub dihydroksybenzoesowych, fenylooctowych oraz fenylopropionowych [28].



PODSUMOWANIE

Owoce żurawiny są bogatym źródłem wtórnych metabolitów. Wyniki badań przedstawione w artykule wskazują, że spożywanie żurawiny oraz produktów z niej otrzymanych, jak i różnorodnych preparatów farmaceutycznych zawierających ekstrakt, proszek lub zagęszczony sok z żurawiny w codziennej suplementacji może być dobrą profilaktyką przeciwdrobnoustrojową, zwłaszcza w stosunku do bakterii odpowiedzialnych za wywoływanie infekcji układu moczowego. Liczne doniesienia naukowe zwracają uwagę na rolę żurawiny także w che-

mioprewencji wielu chorób cywilizacyjnych dzięki dużej zawartości związków fenolowych o charakterze przeciwutleniaczy chroniących organizm przed RFT. Obecnie żurawina uchodzi za jedną z głównych roślin o właściwościach prozdrowotnych. Chociaż przeprowadzono wiele badań klinicznych oceniających zdrowotność żurawiny i produktów jej przetwarzania, powiązanie wyników tych badań i wyciągnięcie jednoznacznych wniosków nadal stanowi wyzwanie dla naukowców ze względu na nie w pełni poznany metabolizm i przyswajanie PAC w organizmie człowieka oraz szeroki asortyment niestandardyzowanych produktów używanych do badań [30].

PIŚMIENICTWO

- [1] Adamczak A., Buchwald W., Kozłowski J.: Variation in the content of flavonols and main organic acids in the fruit of European cranberry (*Oxycoccus palustris* Pers.) growing in peatlands of North-Western Poland. *J. Herba Polonica*, 2011; 57: 5-15
- [2] Allison D.G., Cronin M. A., Hawker J., Freeman S.: Influence of cranberry juice on attachment of *Escherichia coli* to glass. *J. Basic Microbiol.*, 2000; 40: 3-6
- [3] Appeldoorn M.M., Vincken J.P., Gruppen H., Hollman P.C.: Procyanidin dimers A₁, A₂, and B₂ are absorbed without conjugation or methylation from the small intestine of rats. *J. Nutr.*, 2009; 139: 1469-1473
- [4] Basu A., Betts N.M., Ortiz J., Simmons B., Wu M., Lyons T.J.: Low-energy cranberry juice decreases lipid oxidation and increases plasma antioxidant capacity in women with metabolic syndrome. *Nutr. Res.*, 2011; 31: 190-196
- [5] Bhagwat S., Haytowitz D.B., Holden J.M.: USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Food - Release 3, 2011. http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/80400525/Data/Flav/Flav_R03.pdf
- [6] Blumberg J.B., Camesano T.A., Cassidy A., Kris-Etherton P., Howell A., Manach C., Ostertag L.M., Sies H., Skulas-Ray A., Vita J.A.: Cranberries and their bioactive constituents in human health. *Adv. Nutr.*, 2013; 4: 618-632
- [7] Borowska E.J., Mazur B., Gadzała-Kopciuch R., Buszewski B.: Polyphenol, anthocyanin and resveratrol mass fractions and antioxidant properties of cranberry cultivars. *J. Food Technol. Biotechnol.*, 2009; 47: 56-61
- [8] Burger O., Ofek I., Tabak M., Weiss E.I., Sharon N., Neeman I.: A high molecular mass constituent of cranberry juice inhibits *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric mucus. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2000; 29: 295-301
- [9] Choy Y.Y., Waterhouse A.L.: Proanthocyanidin metabolism, a mini review. *Nutr. Aging*, 2014; 2: 111-116
- [10] Deprez S., Mila I., Huneau J.F., Tome D., Scalbert A.: Transport of proanthocyanidin dimer, trimer, and polymer across monolayers of human intestinal epithelial Caco-2 cells. *Antioxid. Redox Signal.*, 2001; 3: 957-967
- [11] Duthie S.J., Jenkinson A.M., Crozier A., Mullen W., Pirie L., Kyle J., Yap L.S., Christen P., Duthie G.G.: The effects of cranberry juice consumption on antioxidant status and biomarkers relating to heart disease and cancer in healthy human volunteers. *Eur. J. Nutr.*, 2006; 45: 113-122
- [12] Eichhorst A.I., Janken J.K., Mullen T.M.: The therapeutic value of cranberries in treating and preventing urinary tract infections. *Online J. Knowl. Synth. Nurs.*, 1997; 4: 2
- [13] European Food Safety Authority opinion: EFSA-Q-2008-117
- [14] Feghali K., Feldman M., La V.D., Santos J., Grenier D.: Cranberry proanthocyanidins: natural weapons against periodontal diseases. *J. Agric. Food Chem.*, 2012; 60: 5728-5735
- [15] Ferguson P., Kurowska E., Freeman D.J., Chambers A.F., Koropatnick D.J.: A flavonoid fraction from cranberry extract inhibits proliferation of human tumor cell lines. *J. Nutr.*, 2004; 134: 1529-1535
- [16] Forney C.F., Kalt W., Jordan M.A., Vinqvist-Tymchuk M.R., Fillmore S.A.E.: Blueberry and cranberry fruit composition during development. *J. Berry Res.*, 2012; 2: 169-177
- [17] Freeman J., Bauer M.P., Baines S.D., Fawley W.N., Goorhuis B., Kuijper E.J., Wilcox M.H.: The changing epidemiology of *Clostridium difficile* infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2010; 23: 529-549
- [18] Gettman M.T., Ogan K., Brinkley L. J., Adams-Huet B., Pak C.Y., Pearle M.S.: Effect of cranberry juice on urinary stone risk factors. *J. Urol.*, 2005; 174: 590-594
- [19] Girard K. K., Sinha N.: Cranberry, blueberry, currant, and gooseberry. W: *Handbook of Fruits and Fruit Processing*, red.: Y.H. Hui, Blackwell Publishing, 2006; 370: 369-390
- [20] Hisano M., Bruschini H., Nicodemo A. C., Srougi M.: Cranberries and lower urinary tract infection prevention. *Clinics*, 2012; 67: 661-667
- [21] Kontiokari T., Sundqvist K., Nuutinen M., Pokka T., Koskela M., Uhari M.: Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and *Lactobacillus* GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. *BMJ*, 2001; 322: 1571-1575
- [22] Lavigne J.P., Bourg G., Combesure C., Botto H., Sotto A.: *In-vitro* and *in vivo* evidence of dose-dependent decrease of uropathogenic *Escherichia coli* virulence after consumption of commercial *Vaccinium macrocarpon* (cranberry) capsules. *J. Clin. Microbiol. Infect.*, 2008; 14: 350-355
- [23] Liu R.H.: Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003; 78: 517S-520S
- [24] Liu R.H.: Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *J. Nutr.*, 2004; 134: 3479S-3485S
- [25] McGhie T.K., Hunt M., Barnett L.E.: Cultivar and growing region determine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 3065-3070
- [26] McKay D.L., Blumberg J.B.: Cranberries (*Vaccinium macrocarpon*) and cardiovascular disease risk factors. *Nutr. Rev.*, 2007; 65: 490-502
- [27] McMurdo M.E., Argo I., Phillips G., Daly F., Davey P.: Cranberry or trimethoprim for the prevention of recurrent urinary tract infections? A randomized controlled trial in older women. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2009; 63: 389-395

- [28] Ou K., Gu L.: Absorption and metabolism of proanthocyanidins. *J. Funct. Food*, 2014; 7: 43-53
- [29] Ou K., Percival S.S., Zou T., Khoo C., Gu L.: Transport of cranberry A-type procyanidin dimers, trimers, and tetramers across monolayers of human intestinal epithelial Caco-2 cells. *J. Agric. Food Chem.*, 2012; 60: 1390-1396
- [30] Pappas E., Schaich K.M.: Phytochemicals of cranberries and cranberry products: Characterization, potential health effects, and processing stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2009; 49: 741-781
- [31] Piasek A., Bartoszek A., Namieśnik J.: Substancje pochodzenia roślinnego przeciwdziałające kardiotoksyczności towarzyszącej chemioterapii nowotworów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 142-158
- [32] Rahman T., Hosen I., Islam M.M.T., Shekhar H.U.: Oxidative stress and human health. *Adv. Biosci. Biotechnol.*, 2012; 3: 997-1019
- [33] Raz R., Chazan B., Dan M.: Cranberry juice and urinary tract infection. *Clin. Infect. Dis.*, 2004; 38: 1413-1419
- [34] Ruel G., Pomerleau S., Couture P., Lamarche B., Couillard C.: Changes in plasma antioxidant capacity and oxidized low-density lipoprotein levels in men after short-term cranberry juice consumption. *Metabolism*, 2005; 54: 856-861
- [35] Ruel G., Pomerleau S., Couture P., Lemieux S., Lamarche B., Couillard C.: Low-calorie cranberry juice supplementation reduces plasma oxidized LDL and cell adhesion molecule concentrations in men. *Br. J. Nutr.*, 2008; 99: 352-359
- [36] Seeram N.P.: Berry fruits for cancer prevention: current status and future prospects. *J. Agric. Food Chem.*, 2008; 56: 630-635
- [37] Seeram N.P., Adams L.S., Hardy M.L., Heber D.: Total cranberry extract vs. its phytochemical constituents: antiproliferative and synergistic effects against human tumor cell lines. *J. Agric. Food Chem.*, 2004; 52: 2512-2517
- [38] Shmueli H., Burger O., Neeman I., Yahav J., Samra Z., Niv Y., Sharon N., Weiss E., Athamna A., Tabak M., Ofek I.: Susceptibility of *Helicobacter pylori* isolates to the antiadhesion activity of a high-molecular-weight constituent of cranberry. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2004; 50: 231-235
- [39] Steinberg D., Feldman M., Ofek I., Weiss E.I.: Effect of a high-molecular-weight component of cranberry on constituents of dental biofilm. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2004; 54: 86-89
- [40] Stobnicka A., Gniewosz M.: Możliwość wykorzystania właściwości żurawiny (*Oxycoccus*) we współczesnej medycynie. *Postępy Fitoterapii*, 2010; 3: 170-175
- [41] Stothers L.: A randomized trial to evaluate effectiveness and cost effectiveness of naturopathic cranberry products as prophylaxis against urinary tract infection in women. *Can. J. Urol.*, 2002; 9: 1558-1562
- [42] Sun J., Chu Y.F., Wu X., Liu R.H.: Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50: 7449-7454
- [43] Sun J., Liu R.H.: Cranberry phytochemical extracts induce cell cycle arrest and apoptosis in human MCF-7 breast cancer cells. *Cancer Lett.*, 2006; 241: 124-134
- [44] Tao Y., Pinzón-Arango P.A., Howell A.B., Camesano T.A.: Oral consumption of cranberry juice cocktail inhibits molecular-scale adhesion of clinical uropathogenic *Escherichia coli*. *J. Med. Food*, 2011; 14: 739-745
- [45] Vinson J.A., Su X., Zubik L., Bose P.: Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 2001; 49: 5315-5321
- [46] Vvedenskaya I.O., Vorsa N.: Flavonoid composition over fruit development and maturation in American cranberry, *Vaccinium macrocarpon* Ait. *Plant Sci.*, 2004; 167: 1043-1054
- [47] Wang S.Y., Lin H.S.: Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivars and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.*, 2000; 48: 140-146
- [48] Yamanaka A., Kimizuka R., Kato T., Okuda K.: Inhibitory effects of cranberry juice on attachment of oral streptococci and biofilm formation. *Oral Microbiol. Immunol.*, 2004; 19: 150-154
- [49] Yan X., Murphy B.T., Hammond G.B., Vinson J.A., Neto C.C.: Antioxidant activities and antitumor screening of extracts from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*). *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50: 5844-5849
- [50] Zamparillo C.A., McKay D.L., Dolnikowski G., Blumberg J., Chen C.: Determination of cranberry proanthocyanidin A2 in human plasma and urine using LC-MS/MS. *FASEB J.*, 2012; 26: Suppl. 124.8

Autorci deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

