

Epidemia otyłości XXI wieku – część 1**WPŁYW PALENIA PAPIEROSÓW I STRESU OKSYDACYJNEGO NA MECHANIZMY METABOLICZNE I IMMUNOLOGICZNE PROWADZĄCE DO ROZWOJU OTYŁOŚCI**dr farm. Paweł BODERA**Obesity – epidemy of the 21st century – part 1.****Influence of cigarette smoking and oxidative stress on the methabolic and immunological mechanisms causing the development of obesity**

Streszczenie. Otyłość jest stale rosnącym problemem XXI wieku i powoli zaczyna osiągać rozmiary epidemii. Otyłość stanowi znaczący czynnik ryzyka m.in. choroby niedokrwiennej serca, nadciśnienia i cukrzycy. Wykazano również bezspornie, że odchudzanie jest istotnym elementem profilaktyki i leczenia tych chorób. Wysiłki wielu uczonych na całym świecie skupiają się obecnie na poznaniu metod skutecznej redukcji masy ciała. Częstość występowania otyłości we współczesnych społeczeństwach stale rośnie. Ogół społeczeństwa uważa, że palenie papierosów wiąże się ze zmniejszonym przyjmowaniem pokarmów i obniżeniem masy ciała. Palenie tytoniu jest zachowaniem podtrzymywanym przez uzależnienie fizyczne, psychiczne oraz przyzwyczajenie i wiąże się bezpośrednio z występowaniem problemów zdrowotnych dotyczących układu sercowo-naczyniowego, oddechowego i nerwowego. Nikotyna, substancja silnie uzależniająca zawarta w papierosach, oddziałuje na nastrój w różnoraki sposób, co przyczynia się do rozwoju i nasilenia nałogu na drodze wywierania przymusu i przejęcia kontroli przez tą substancję.

Słowa kluczowe: otyłość, palenie papierosów, stan zapalny, stres oksydacyjny.

Summary. Obesity is a unitary disease and its causes are multifactorial, including polygenic, metabolic, psychosocial and environmental factors. The adverse health consequences associated with obesity include type 2 diabetes, lipid disorders, arterial hypertension, coronary heart disease, sleep apnoea, arthrosis, and some cancers. Smoking is a behavior that is maintained by physical addiction, psychological dependence, and habit and is associated with a wide variety of health problems relating to the cardiovascular, neurological, and pulmonary systems. Nicotine, the addictive substance in cigarettes, has various mood-altering effects that contribute to and reinforce the highly controlled or compulsive pattern of drug use through smoking. The pharmacological and biochemical effects of nicotine are powerful, with smokers reporting a mixture of relaxing, mood-lifting, and pleasurable effects. Smoking is also associated with decreased food intake and lower body weight. Nicotine is considered the major appetite-suppressing component of tobacco.

Keywords: obesity, cigarette smoking, inflammation, oxidative stress.

WPROWADZENIE

Otyłość osiągnęła już w wielu krajach, włącznie ze Stanami Zjednoczonymi, Wielką Brytanią i licznymi państwami rozwinię-

tymi, rozmiary epidemii, stanowiąc poważny problem zdrowotny około 33% dorosłych. Indeks masy ciała (*body mass index, BMI*; waga w kilogramach podzielona przez wysokość w metrach podniesioną do kwadratu) ►

- ▶ stanowi wskaźnik otyłości łatwy do obliczenia i korelujący w stopniu wystarczającym z antropometrycznymi pomiarami ciała. BMI większy niż 28 wiąże się z trzy-, czterokrotnie podwyższonym ryzykiem incydentów klinicznych, takich jak udar, choroba niedokrwienna serca lub cukrzyca [1]. Centralna dystrybucja tkanki tłuszczowej (wyrażona jako stosunek obwodu talii do obwodu bioder: 0,90 u kobiet i 1,0 u mężczyzn) jest powszechnie uznawana za odzwierciedlenie otyłości trzewnej, wiążącej się z ryzykiem wyższym niż w przypadku dystrybucji bardziej obwodowej, i może być lepszym wskaźnikiem niż bezwzględna masa tłuszczu. Otyłość w dzieciństwie zwiększa ryzyko zgonu w późniejszych latach niezależnie od tego, czy otyłość utrzyma się, czy nie [1].

Zaobserwowano, że zmniejszony wydatek energetyczny i zwiększona tendencja do odkładania tkanki tłuszczowej mogą poprzedzać otyłość, co sugeruje, że nadmiar tkanki tłuszczowej w jakiś sposób koryguje niższe wydatki energetyczne.

MAGAZYNOWANIE, POBIERANIE I WYDATKOWANIE ENERGII

Tłuszcz (lub dokładniej: triglicerydy) to podstawowa forma, w jakiej energia chemiczna jest przechowywana w organizmie. Ilość triglicerydów w tkance tłuszczowej to wypadkowa różnicy pomiędzy poborem a wydatkowaniem energii w organizmie. Chociaż mechanizmy homeostatyczne dążą do zminimalizowania tej różnicy, to zachwianie równowagi trwające przez dłuższy czas może przynieść skutki wielkoskalowe. Stopień kontroli relacji pomiędzy poborem a wydatkowaniem energii osiągany jest przez złożone współdziałanie sygnałów wewnątrzwydzielniczych i nerwowych pochodzących z różnych tkanek [2-6]. Taka integracja jest kluczowa dla regulacji magazynowania tłuszczu w organizmie. Ogromna ilość bodźców pochodzących z rozmaitych obszarów ciała przekazuje aferentne sygnały do centralnego układu nerwowego (mózgu), który z kolei drogami eferentnymi zawiaduje wydatkowaniem energii (np. przez układ nerwowy sympatyczny i parasympatyczny oraz hormony tarczycy) oraz jej pobieraniem (sterując zachowaniami związanymi z przyjmowaniem pokarmu) [7, 8].

Te czynniki mogą współgrać na różnych poziomach. Na przykład wpływ cholecysto-

kininy na sytość bywa zwiększany przez estradiol i insulinę, zależy też od parasympatycznych sygnałów aferentnych [9, 10]. Uwalnianie insuliny wzrasta pod wpływem cholecystokininy oraz parasympatycznej aktywności eferentnej i jest blokowane przez sympatyczne sygnały eferentne [11]. Wielka ilość interakcji w obrębie tego systemu sprawia, że wszelkie farmakologiczne lub chirurgiczne ingerencje, dotyczące jednej tylko części składowej, stają się nieadekwatne w trwałym rozwiązaniu problemu otyłości. Wiadomo, że można manipulować ilością tkanki tłuszczowej, co podaje w wątpliwość tezę, że jedynie czynniki behawioralne determinują otyłość. Zaobserwowano, że zmniejszony wydatek energetyczny i zwiększona tendencja do odkładania tkanki tłuszczowej mogą poprzedzać otyłość, co sugeruje, że nadmiar tkanki tłuszczowej w jakiś sposób koryguje niższe wydatki energetyczne [8].

PALENIE PAPIEROSÓW, APETYT I WYDATKOWANIE ENERGII

Palenie papierosów jest zachowaniem podtrzymywanym przez uzależnienie fizyczne, psychiczne oraz przyzwyczajenie i wiąże się bezpośrednio z występowaniem problemów zdrowotnych dotyczących układu sercowo-naczyniowego, oddechowego i nerwowego. Nikotyna, substancja silnie uzależniająca zawarta w papierosach, oddziałuje na nastrój w różnorodny sposób, co przyczynia się do rozwoju i nasilenia nałogu na drodze wywierania przymusu i przejęcia kontroli (nad osobą palącą) przez tę substancję.

Palenie wiąże się także ze zmniejszonym przyjmowaniem pokarmów i obniżeniem masy ciała. Uważa się, że nikotyna to najsilniej tłumiący apetyt składnik dymu tytoniowego.

Leptyna i insulina są endogennymi hormonami zmniejszającymi apetyt i zwiększającymi wydatki energetyczne, wpływającymi na poziom neuropeptydów w podwzgórzu. Podaż nikotyny redukuje pobieranie pokarmu i masę ciała.

Przewlekłe (24-godzinne) stosowanie nikotyny, np. poprzez wypalenie wielu paczek

papierosów, obniża ekspresję tzw. neuro-peptydów oreksygeniczných, takich jak neuro-peptydu Y, białka aguti (AgRP), oraz hormonu powodującego wzrost stężenia melaniny.

Nikotyna nie wpływa na przekąźnictwo wewnątrzkomórkowe leptynowe ani insulino-we w podwzgórze. Te dane wskazują, że działanie hamujące apetytu wywierane przez palenie tytoniu tłumaczy się obniżeniem poziomu neuro-peptydów oreksygeniczných w podwzgórze.

Badania nad wpływem palenia papierosów na spoczynkowy wydatek energetyczny (*resting energy expenditure, REE*) u ludzi o prawidłowej wadze i otyłych wykazują, że REE wzrasta zarówno u otyłych jak i normalnej wagi palaczy po paleniu, lecz ten wzrost jest większy u osób o prawidłowej masie ciała [12]; jednakże wiarygodność obserwowanych zmian jest niższa dla obu grup palaczy. Jakkolwiek palący mają przeciętnie niższy BMI niż niepalący, to posiadają oni bardziej niekorzystny metabolicznie profil dystrybucji tkanki tłuszczowej, ze zwiększoną otyłością centralną [13]. Wpływ palenia na dystrybucję tkanki tłuszczowej nie jest do końca jasny. Jedną z teorii głosi niejako antyestrogenny wpływ palenia. Inna sugeruje, że palenie papierosów może mieć wpływ na wychwytywanie i magazynowanie triglicerydów i kwasów tłuszczowych, zwiększając masę tłuszczową [13]. Dokładne wyjaśnienie tych powiązań może pomóc zidentyfikować mechanizmy leżące u podstawy niekorzystnego wpływu na zdrowie palenia i otyłości brzusznej. Silna negatywna korelacja w czasie odstęka palenia i otyłości doprowadziła niektórych badaczy do sugestii, że ograniczenie palenia prowadzi do wzrostu masy ciała [14].

PALENIE I HORMONALNE MEDIATORY HOMEOSTAZY ENERGETYCZNEJ

Dym tytoniowy to mieszanina wielu silnych oksydantów, karcynogenów, mutagenów i środków chemicznych będących czynnikami ryzyka rozwoju rozmaitych chorób metabolicznych. Klasyczny dym papierosowy zawiera przeszło 5000 substancji, w tym wysokie

stężenia oksydantów (10^{17} /wziew) [15]. Substancje smoliste z dymu tytoniowego zawierają dużą ilość względnie stabilnych rodników (np. rodniki semichinonowe). Niektóre dymy tytoniowe zawierają więcej niż 10^{15} reaktywnych składników organicznych na jeden wziew, a także tlenek węgla, amoniak, aldehyd kwasu mrówkowego, N-nitrozaminy, benzo(a)pireny, benzen, izopren, etan, pentan, nikotyne, akroleinę, aldehyd kwasu octowego oraz inne genotoksyczne i karcynogenne substancje organiczne.

Anion nadtlenny (O_2^-) i tlenek azotu (NO) to wolne rodniki przeważające w fazie lotnej dymu tytoniowego. NO i O_2^- szybko reagują ze sobą, tworząc bardziej toksyczny nadtlenoazotyn (ONOO $^-$). Rodniki semichinonowe z substancji smolistych dymu tytoniowego mogą redukować tlen, tworząc tak zwane reaktywne formy tlenu (RFT), w tym O_2^- , $\cdot OH$, i H_2O_2 [17]. Oksydanty obecne w dymie tytoniowym mogą stymulować pęcherzykowe makrofagi do uwalniania mediatorów, z których część działa chemotaktycznie i rekrutuje neutrofile oraz inne komórki stanu zapalnego do płuc. Tak neutrofile jak i makrofagi mogą generować RFT drogą aktywacji kompleksu oksydazy NADPH [18].

Oksydanty pochodzące z dymu tytoniowego (wziewne lub produkowane endogennie przez komórki zapalne) mogą wpływać na wiele hormonów związanych z otyłością, takich jak leptyna, adiponektyna i rezystyna, które są produkowane w tkance tłuszczowej [18].

Podczas gdy leptyna, hormon sytości, reguluje równowagę apetytu i zapotrzebowania energetycznego, adiponektyna tłumi aterogenezę (proces tworzenia blaszki miażdżycowej w naczyniach wieńcowych prowadzący do choroby niedokrwiennej serca), a przez to wywiera działanie przeciwzapalne. Z drugiej strony podwyższony poziom rezystyny może powodować insulinooporność, a zatem wiąże się z powstawaniem cukrzycy typu II [18]. Grelina, produkowana w żołądku, zaangażowana jest w długoterminową regulację metabolizmu energii. Wszystkie te hormony odgrywają istotną rolę w homeostazie energetycznej, metabolizmie

Oksydanty pochodzące z dymu tytoniowego (wziewne lub produkowane endogennie przez komórki zapalne) mogą wpływać na wiele hormonów związanych z otyłością, takich jak leptyna, adiponektyna i rezystyna, które są produkowane w tkance tłuszczowej.

- ▶ glukozy i tłuszczu, reprodukcji, funkcjach sercowo-naczyniowych i immunologicznych, wpływają też na inne narządy, w tym na mózg, wątrobę i mięśnie szkieletowe. Co ciekawe, na funkcję tych enzymów wpływa komórkowa równowaga oksydanty/antyoksydanty. Biorąc pod uwagę fakt, że stres oksydacyjny jest generowany przez adipocyty, co prowadzi do aktywacji makrofagów, można przyjąć, że odgrywa on bardzo ważną rolę w powikłaniach otyłości. Palenie, o którym wiadomo, że bezpośrednio aktywuje i rekrutuje makrofagi i limfocyty w różnych tkankach, może jeszcze bardziej nasilać skutki stresu oksydacyjnego w otyłości.

Objętość adipocytów jest proporcjonalna do stężenia insuliny w osoczu [10]. Insulina przenoszona jest do ośrodkowego układu nerwowego przez system transporterów i tam pośredniczy w ograniczeniu pobierania pokarmów poprzez inhibicję ekspresji neuropeptydu Y, wzmocnienie zmniejszającego łaknienie wpływu cholecystokininy i spowalnianie wychwytu zwrotnego norepinefryny w neuronach [3,19]. Wykazano ostatnio, że insulina ogranicza przyjmowanie pokarmów (tzw. działanie anorektyczne) za pośrednictwem leptyny jako substancji sygnałowej.

Cholecystokinina to peptyd dwunastniczy, który jest wydzielany wówczas, gdy w narządzie tym pojawia się pokarm, i ograniczający przyjmowanie pokarmów [6].

OTYŁOŚĆ, METABOLIZM I WYDATKOWANIE ENERGII: CZĄSECZKI PRZEKAZUJĄCE SYGNAŁ

Leptyna, syntetyzowana i wydzielana w tkance tłuszczowej, jest silnym sygnalizatorem aferentnym magazynowania tłuszczu. U ludzi gen odpowiedzialny za ekspresję leptyny określa się jako *LEP*. Działa on na zmniejszenie łaknienia i zwiększa wydatki energetyczne, prowadząc do ograniczenia masy tłuszczowej [20].

Osoczyowy poziom leptyny bezpośrednio koreluje z masą tkanki tłuszczowej u ludzi otyłych [21]. Na ekspresję leptyny w tkance tłuszczowej wpływają różne hormony [21-23].

Leptyna przypuszczalnie przyczynia się do homeostazy energetycznej, częściowo przez obniżanie poziomu mRNA neuropeptydu Y [20] lub przez blokowanie jego działania stymulującego apetyt; jednak transgeniczne myszy, pozbawione genu neuropeptydu Y, wciąż odpowiadają na anorektyczne działanie leptyny, co sugeruje działanie tego hormonu również na drogach niezależnych od neuropeptydu Y [20]. Neuropeptyd Y to silny ośrodkowy stymulator apetytu, który łączy aferentne sygnały dotyczące stanu odżywienia organizmu z układu wewnątrzwydzielniczego, pokarmowego oraz centralnego i obwodowego układu nerwowego z efektorami pobierania i wydatkowania energii. Egzogenne podanie neuropeptydu Y wywołuje skoordynowane reakcje poboru oraz zużycia energii i sprzyja przybieraniu na wadze.

Grelina, 28-aminokwasowy preprohormon peptydowy, została odkryta jako czynnik stymulujący uwalnianie hormonu wzrostu (GH) z przedniego płata przysadki. Badania wykazały, że grelina stymuluje pobieranie pożywienia u gryzoni, a także u ludzi, i jest silnie zaangażowana w regulowanie homeostazy energetycznej. Ustalono także, że grelina wraz z kilkoma innymi hormonami wywiera znaczący wpływ na apetyt i równowagę energetyczną [24]. Grelina zwiększa magazynowanie tłuszczu, zmniejszając ich oksydację.

Adiponektyna, znana też jako białko związane z adipocytami i dopełniaczem (*adipocyte-complement-related protein, adiponQ*), to białko wydzielane specyficznie w komórkach tłuszczowych, które odgrywa rolę w homeostazie glukozy i tłuszczu. Adiponektyna zostaje indukowana podczas różnicowania się adipocytów, a jej wydzielanie stymuluje insulina. Podanie adiponektyny prowadzi do insulinozależnego spadku poziomu glukozy w osoczu. Przypisuje się to efektowi uwrażliwienia na insulinę, obejmującego regulację metabolizmu triglicerydów przez adiponektynę. Mechanizm leżący u podstaw działania adiponektyny w oksydacji tłuszczów może obejmować regulację produkcji lub aktywności białek związanych z metabolizmem triglicerydów, w tym

Grelina wraz z kilkoma innymi hormonami wywiera znaczący wpływ na apetyt i równowagę energetyczną. Grelina zwiększa magazynowanie tłuszczu, zmniejszając ich oksydację.

CD36, oksydazy acyloCoA, 5-aktywowanej kinazy proteinowej, i peroksysomalnego receptora γ aktywującego proliferację (*peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ*) [25]. Wdychanie dymu tytoniowego może się wiązać z nieprawidłowym metabolizmem triglicerydów i aktywacją PPAR γ . Dobrze udokumentowano negatywną korelację pomiędzy otyłością i ilością adiponektyny krążącej, a stężenie adiponektyny wzrasta wraz ze spadkiem wagi [26]. Obniżone stężenie adiponektyny wiąże się z opornością na insulinę i hiperinsulinemią, a pacjenci z cukrzycą typu II mają obniżony poziom adiponektyny.

STRES OKSYDACYJNY ZALEŻNY OD PALENIA PAPIEROSÓW A OTYŁOŚĆ

Stres oksydacyjny w zależności od wzrostu poziomu RFT lub reaktywnych form azotu (*reactive nitrogen species, RNS*) odgrywa kluczową rolę w patogenezie rozmaitych chorób i ich powikłań. Aktywacja różnych komórek stanu zapalnego, która jest następstwem palenia, skutkuje uwolnieniem cytokin, włącznie z prozapalnym czynnikiem martwicy nowotworów (*tumor necrosis factor α , TNF α*) i interleukiną 1 β (IL-1 β), które obie powodują zwiększoną adhezję białek do śródbłonna, jego zwiększoną przepuszczalność i zwiększoną sekrecję chemokin takich jak IL-8, białko zapalne makrofagów 2 lub białko chemotaktyczne monocytów (monocyte chemotactic protein 1, MCP1) [27]. Chemokiny i cytokiny współdziałają, przyczyniając się do dalszego opuszczania naczyń przez leukocyty produkujące RFT, takie jak anion nadtlenkowy i nadtlenek wodoru (H₂O₂), ich akumulacji i aktywacji. Powszechnie uważa się, że uwalnianie RFT przyczynia się do niszczenia komórek i tkanek towarzyszącego wielu przewlekłym chorobom zapalnym, takim jak miażdżycy, astma, zespół niewydolności oddechowej dorosłych (ARDS) i przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP). Chemokiny uwalniane w wyniku stresu oksydacyjnego mogą z kolei wpływać na komórki

tłuszczowe i być czynnikiem wyzwalającym serię reakcji prowadzących do otyłości lub wtórnych powikłań otyłości. Coraz więcej faktów przemawia za tym, że stan otyłości może sam przez się indukować stres oksydacyjny całego organizmu, a zwiększony stres oksydacyjny w zgromadzonych komórkach tłuszczowych może prowadzić do rozregulowania adipocytokin i rozwoju zespołu metabolicznego. Zwiększony stres oksydacyjny w nagromadzonym tłuszczu staje się zatem potencjalnie istotnym punktem docelowym nowych terapii.

W badaniach nad otyłymi myszami produkcja H₂O₂ była zwiększona w tkance tłuszczowej, lecz nie w innych tkankach. Wyniki te sugerują, że tkanka tłuszczowa może być źródłem podwyższonych osoczowych poziomów RFT w warunkach otyłości. Wiadomo, że stres oksydacyjny upośledza zarówno sekrecję insuliny przez komórki β trzustki jak i transport glukozy w mięśniach i tkance tłuszczowej. Podwyższony stres oksydacyjny w ścianach naczyń zaangażowany jest w patogenezę nadciśnienia tętniczego i miażdżycy naczyń. Związek pomiędzy paleniem a zwiększonym ryzykiem choroby naczyń wieńcowych po raz pierwszy opisano w 1940 r. w badaniach obserwacyjnych kliniki Mayo [28]. Późniejsze badania epidemiologiczne potwierdziły silny i ścisły związek pomiędzy paleniem papierosów a zachorowalnością i umieralnością na skutek chorób naczyń wieńcowych serca [29]. Ogólnie względne ryzyko zgonu z powodu choroby wieńcowej u palaczy jest od dwóch do czterech razy wyższe niż u osób, które nigdy nie zapaliły. Z tego względu stres oksydacyjny powstały lokalnie i rozprzestrzeniający się na inne tkanki może być zaangażowany w patogenezę chorób cywilizacyjnych.

Zwiększone uwalnianie RFT, a w efekcie pojawienie się produktów końcowych utleniania tłuszczu ze zgromadzonej tkanki tłuszczowej we krwi obwodowej u otyłych, może być zaangażowane w powstawanie insulinooporności w mięśniach szkieletowych i tkance tłuszczowej, upośledzone wydzielanie insuliny przez trzustkowe komórki β ,

Coraz więcej faktów przemawia za tym, że stan otyłości może sam przez się indukować stres oksydacyjny całego organizmu, a zwiększony stres oksydacyjny w zgromadzonych komórkach tłuszczowych może prowadzić do rozregulowania adipocytokin i rozwoju zespołu metabolicznego.

- ▶ i patogenezę rozmaitych chorób naczyń, takich jak miażdżycy czy choroba wieńcowa.

Inne obfite źródło O_2 i H_2O_2 to wyspecjalizowane fagocyty (np. neutrofile i makrofagi), o których od dawna wiadomo, że wykazują ekspresję oksydazy NADPH, wymagającej stymulacji do połączenia swoich cząstek składowych w cytozolu z dwiema podjednostkami w błonie flawocytochromu (*gp91phox* i *p22phox*) w celu syntezy dużych ilości O_2 po aktywacji komórki [30].

Niedawne odkrycie, że wiele komórek wykazuje ekspresję homologów podjednostki katalitycznej oksydazy NADPH *gp91phox* (obecnie znanych pod zbiorczą nazwą NOX dla oksydazy NADPH i DUOX dla podwójnej oksydazy), przywołało pytanie o sposób ich regulacji w produkcji RFT: czy jest on konstytutywny, czy w odpowiedzi na cytokiny, może czynniki wzrostu lub jony wapnia?

Dlaczego zatem stres oksydacyjny ujawnia się jedynie w komórkach tłuszczowych, nie rozprzestrzeniając się szerzej dzięki komórkom stanu zapalnego? Odpowiedź przypuszczalnie wiąże się z faktem, że zwiększony poziom ekspresji mRNA podjednostek oksydazy NADPH (NOX) wykazano jedynie w białej tkance tłuszczowej (*white adipose tissue, WAT*) i że wiązał się on z obniżoną ekspresją mRNA różnych enzymów antyoksydacyjnych.

Udowodniono, że makrofagi naciekają tkankę tłuszczową i są istotnym źródłem cytokin zapalnych [32, 33]. Ponieważ wiadomo, że aktywne makrofagi produkują RFT, jest możliwe, że naciekające makrofagi wpływają na wzmoczenie działalności NOX, a w konsekwencji zwiększają produkcję RFT w tkance tłuszczowej osób otyłych. Pod tym względem rodzina homologów *gp91phox*, określana jako białka NOX (NAD(P)H oksydaza), została opisana jako podlegająca ekspresji w komórkach nie fagocytujących [34]. Niedawne badania nad adipocytami ujawniły, że NOX4, członek rodziny NOX, odgrywa rolę w generowaniu H_2O_2 [35]. Ekspresji NOX4 nie wykryto w makrofagach [36, 37]. Te wyniki sugerują, że ekspresja NOX w adipocytach jest podwyższona i przyczynia się do produkcji RFT w odłożonej tkance tłuszczowej.

ROLA INOS W OTYŁOŚCI I JEJ ZWIĄZEK ZE STANEM ZAPALNYM

Wolne rodniki tlenu azotu (NO) syntetyzowane są przez trzy różne izoformy syntazy NO (*NO synthase, NOS*) i pierwotnie zostały odkryte jako czynnik relaksujący endotelium (*endothelium-derived relaxing factor, EDRF*). Endotelialna NOS (eNOS) i nowonowa NOS (nNOS) podlegają ekspresji konstytutywnej i syntetyzują niski poziom NO w odpowiedzi na szeroki zakres bodźców, w przypadku eNOS obejmujący m.in. insulinę [39]. W odróżnieniu od nich indukowana NOS (iNOS) podlega ekspresji w wyniku stymulacji cytokinami zapalnymi i może produkować do 1000-krotnie więcej NO niż eNOS [40], co jakkolwiek istotne dla odpowiedzi układu odpornościowego, wywiera szkodliwy wpływ na inne typy komórek, w tym na mięśniówkę gładką naczyń [41] i komórki β trzustki [42].

Powszechne choroby naczyń, łącznie z nadciśnieniem i miażdżycą, wiążą się z dysfunkcją endotelium charakteryzującą się obniżoną bioaktywnością NO [43]. Utrata naczynioprotekcyjnego wpływu NO przyczynia się do progresji choroby, lecz mechanizm zaburzeń pozostaje niejasny. Zwiększona produkcja nadtlenków w modelach zwierzęcych chorób naczyniowych przyczynia się do niższej biodostępności NO i dysfunkcji śródbłonna. W ludzkich naczyniach krwionośnych system oksydazy NAD(P)H jest ważnym źródłem anionu nadtlenkowego w warunkach patologicznych i jest on czynnościowo powiązany z klinicznymi czynnikami ryzyka oraz układową dysfunkcją śródbłonna. Co więcej, polimorfizm C242T w podjednostce *p22phox* oksydazy NAD(P)H wiąże się ze znaczącą redukcją produkcji nadtlenku u nosicieli allelu 242T, co sugeruje rolę zmienności genetycznej w modulacji śródnaczyniowej syntezy nadtlenku. W naczyniach pacjentów z cukrzycą dysfunkcja śródbłonna, aktywność oksydazy NAD(P)H i podjednostek białka są znacząco większe w porównaniu z analogicznymi u nie-cukrzyków [43].

Ponadto śródbłonek naczyń cukrzyków jest raczej źródłem produkcji nadtlenków

Udowodniono, że makrofagi naciekają tkankę tłuszczową i są istotnym źródłem cytokin zapalnych.

niż NO, ze względu na dysfunkcję eNOS. Jej deficyt zależy od kofaktora eNOS, tetrahydrobiopteryny, a sygnalizacja częściowo odbywa się za pośrednictwem kinazy białkowej C.

Badania sugerują istotną rolę tak oksydazy NAD(P)H jak i śródbłonkowej NOS w zwiększonej produkcji naczyniowej nadtlenu i dysfunkcji śródbłonka w chorobach naczyniowych u ludzi. Dobrze udokumentowano związki otyłości i przewlekłych stanów zapalnych, charakteryzujących się nienormalną produkcją cytokin, zwiększoną aktywnością białek ostrej fazy i aktywacją ścieżek sygnalizacyjnych stanu zapalnego [44, 45]. Niedawne badania wykazały, że mysie modele otyłości wiążą się z naciekaniem tkanki tłuszczowej przez makrofagi i aktywacją kilku genów stanu zapalnego [46]. Ekspresja iNOS może być jednym z aspektów takiej aktywacji zapalnej. Ekspresja iNOS jest wstępnie regulowana na poziomie transkrypcji, a enzym już zsyntetyzowany może generować olbrzymie ilości NO przez długi czas. W innych modelach iNOS-zależnego podwyższonego poziomu NO (np. sepsa) nadmiar NO może przyczynić się do zwiększonej podstawowej bioaktywności NO i klasycznej, zależnej od wapnia wazodylatacji (rozszerzenia się światła naczyń krwionośnych wskutek rozkurczu ich mięśni gładkich), np. w odpowiedzi na acetylocholinę [46-48]. Ekspresja iNOS indukowana dymem papierosowym może potencjalnie przyczynić się do powstania części zaburzeń powiązanych z otyłością, opisanych w tym badaniu.

Istnienie raczej znaczącego wzrostu niż redukcji podstawowego poziomu NO we wczesnych stadiach otyłości określono, używając kilku różnych metod. Wszystkie badania nad transferem genu iNOS potwierdziły rolę NO pochodzącego z iNOS w wywoływaniu dysfunkcji naczyniowych w otyłości [48].

STAN ZAPALNY A OTYŁOŚĆ

Postępy w badaniach nad tkanką tłuszczową w ostatniej dekadzie doprowadziły do lepszego zrozumienia mechanizmów wiążących otyłość z zespołem metabolicznym

i wynikającymi z niego powikłaniami [49]. Biomarkery stanu zapalnego, takie jak leukocytoza, czynnik martwicy guza α (*tumor necrosis factor α , TNF α*), interleukina 6 (IL-6) i białko C-reaktywne – wszystkie są podwyższone w otyłości oraz insulinooporności i są użyteczne w przewidywaniu rozwoju cukrzycy typu II oraz choroby naczyń wieńcowych. Przepuszczalnie nie przypadkiem wszystkie wyżej wymienione biomarkery stanu zapalnego są też markerami stresu oksydacyjnego wynikłego z palenia papierosów. Wiele negatywnych skutków palenia i otyłości ulega mediacji w sposób typowy dla stanów zapalnych. Ta interakcja może tłumaczyć addytywny, jeśli nie synergistyczny związek pomiędzy tymi czynnikami w rozwoju i skutkach choroby. Jakkolwiek ustalono, że adipocyty są aktywnym uczestnikiem generowania stanu zapalnego w otyłości, to nie ustalono jeszcze, jak ten proces się dokładnie zaczyna. Adipocyty wydzielają rozmaite cytokiny, w tym IL-6 i TNF α , które działają prozapalnie. Co więcej, niedawne badania sugerują, że otyłość wiąże się ze zwiększoną rekrutacją w tkance tłuszczowej makrofagów, które też biorą udział w procesie zapalnym ze względu na ekspresję i uwalnianie cytokin. Dogłębne zrozumienie roli tkanki tłuszczowej w aktywacji zapalnych ścieżek sygnalizacyjnych może pomóc w identyfikacji nowych strategii leczenia i prewencji, ukierunkowanej na zwalczanie śmiertelności i zachorowalności związanej z otyłością.

Wiele pytań wciąż pozostaje bez odpowiedzi; na przykład: Czy otyłość *per se* indukuje odpowiedź zapalną, lub czy zapalenie inicjowane jest wtórnie do hiperlipidemii lub hiperglikemii? Czy zapalenie to pierwotne zdarzenie łączące otyłość z insulinoopornością, czy stan zapalny występuje dopiero po zaistnieniu oporności na insulinę? Jak i dlaczego w organizmie powstaje odpowiedź zapalna na otyłość?

Z dostępnych doniesień wynika jasno, że na rozwój otyłości wpływa zarówno stan przewlekłego zapalenia niewielkiego stopnia jak i insulinooporności, ale jak rozpoczyna się stan zapalny, jeszcze nie wiadomo [50].

Ekspresja iNOS indukowana dymem papierosowym może potencjalnie przyczynić się do powstania części zaburzeń powiązanych z otyłością.

Z dostępnych doniesień wynika jasno, że na rozwój otyłości wpływa zarówno stan przewlekłego zapalenia niewielkiego stopnia jak i insulinooporności.

Niedawne badania sugerują, że otyłość może wywoływać aktywację zapalnych ścieżek sygnalizacyjnych przez indukcję stresu oksydacyjnego w siateczce wewnątrzplazmatycznej (endoplasmic reticulum, ER).

- Odpowiedzi na te pytania nie są proste, ale zasugerowano, że reakcja zapalna zaczyna się w adipocytach, jako że są one pierwszymi komórkami dotkniętymi przez rozwój otyłości.

Niedawne badania sugerują, że otyłość może wywoływać aktywację zapalnych ścieżek sygnalizacyjnych przez indukcję stresu oksydacyjnego w siateczce wewnątrzplazmatycznej (*endoplasmic reticulum, ER*) [50-53]. RFT są tworzone jako nieunikniony produkt uboczny produkcji energii w mitochondriach w przebiegu typowych przemian metabolicznych. Produkcja O_2^- w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym odbywa się ciągle podczas normalnego metabolizmu tlenowego; niewielki, ale znaczący odsetek elektronów podróżujących wzdłuż mitochondrialnego łańcucha oddechowego nigdy nie dociera do końca, a zamiast tego współtworzy O_2^- . Autooksydacja ubisemichinonów w mitochondriach, tak samo jak katalizowana przez metale autooksydacja cząsteczek, generuje powstanie O_2^- przez redukcję jednoelektronową O_2 .

Oprócz mitochondriów także cytochromy P450 i ich reduktazy, układ oksydazy ksantynowo-ksantynowej i NOS są zdolne syntetyzować RFT. W normalnych warunkach metabolicznych ustalono, że każda komórka jest eksponowana na $\sim 10^{10}$ cząsteczek O_2^- każdego dnia. W szczególności odnosi się to do tkanki tłuszczowej, w której dochodzi do przekształceń strukturalnych, syntezy białek i tłuszczu, i która poddawana jest perturbacjom ciągłych wahań śródkomórkowego poziomu składników odżywczych i energii.

Badania, zarówno na hodowlach komórek jak i na zwierzętach, ujawniły, że stres w obrębie ER prowadzi do aktywacji tzw. kinazy Janus (JAK) i w ten sposób przyczynia się do insulinooporności [51]. Co ciekawe, stres ER pobudza również I-kappaB kinazę (IkBK, jądrowy czynnik modulujący kappa-B [NF- κ B] w cytozolu) i w ten sposób może reprezentować typowy mechanizm aktywacji tych ważnych szlaków sygnalizacyjnych [54]. Inny mechanizm odgrywający rolę w inicjacji zapalenia w otyłości to stres

oksydacyjny. Zwiększone dostarczanie glukozy do adipocytów może wzmacniać wychwyty glukozy w komórkach śródbłonna pokładów tłuszczu, prowadząc do nadmiernej syntezy RFT w mitochondriach, co wywołuje zniszczenia oksydacyjne i aktywuje kaskadę mediatorów w komórkach śródbłonna [55]. Uszkodzenia śródbłonna w tkance tłuszczowej przyciągają często komórki zapalne, takie jak monocyty, i dalej zaostrza miejscowy stan zapalny. Już wcześniej donoszono, że hiperglikemia zwiększa produkcję ROS w adipocytach, co prowadzi do zwiększonej syntezy cytokin prozapalnych [56].

Dr farm. Paweł Bodera jest autorem pracy doktorskiej: „Działanie przeciwutleniające, radioprotekcyjne a struktura izoflawonów i ich pochodnych glikozydowych”, napisanej pod kierunkiem prof. dr hab. Iwony Wawer (Wydział Farmaceutyczny Akademii Medycznej w Warszawie, 2004). Od 5 lat zajmuje się zawodowo nadzorowaniem bezpieczeństwa farmakoterapii.

Piśmiennictwo:

1. Van Itallie T.: *Health implications of overweight and obesity in the United States*, Ann. Intern. Med., 103, 983, 1985.
2. Flier J.S.: *The adipocyte: storage depot or node on the energy information superhighway?*, Cell., 80, 15, 1995.
3. Figlewicz D.P. et al.: *Endocrine regulation of food intake and body weight*, J. Lab. Clin. Med., 127,328, 1996.
4. Rohner-Jeanrenaud F.: *A neuroendocrine reappraisal of the dual-centre hypothesis: its implications for obesity and insulin resistance*, Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord., 19, 517, 1995.
5. Friedman M.I., Tordoff M.G. and Ramirez I.: *Integrated metabolic control of food intake*, Brain. Res. Bull., 17, 855, 1986.
6. Geary N.: *Role of gut peptides in meal regulation*, in *Obesity: Advances in Understanding and Treatment*, Weston L.A. and Savage, L.M. Eds.: *International Business Communications*, Southborough, MA, 1996, pp. 2.1.1–2.1.34.
7. Leibel R.L., Berry E. M. and Hirsch J.: *Metabolic and hemodynamic responses to endogenous and exogenous catecholamines in formerly obese subjects*, Am. J. Physiol., 260, R785, 1991.
8. Arone L.J. et al.: *Autonomic nervous system activity and energy expenditure during weight gain and weight loss*, Am. J. Physiol, 269, R222, 1995.

9. Butera P.C., Bradway D.M. and Cataldo N.J.: *Modulation of the satiety effect of cholecystokinin by estradiol*, *Physiol. Behav.*, 53, 1235, 1993.
10. Woods S.C. et al.: *The evaluation of insulin as a metabolic signal influencing behavior via the brain*, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 20, 139, 1996.
11. Bray G.A.: *Nutrient intake is modulated by peripheral peptide administration*, *Obes. Res.*, 4(3), 569S, 1995.
12. Krupski W.C.: *The peripheral vascular consequences of smoking*, *Ann. Vasc. Surg.*, 5, 291, 1991.
13. Howard G. et al.: *Cigarette smoking and progression of atherosclerosis: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study*, *JAMA*, 279(2), 119, 1998.
14. Gensini G.F., Comeglio M. and Colella A.: *Classical risk factors and emerging elements in the risk profile for coronary artery disease*, *Eur. Heart J.*, 19(Suppl. A), A53, 1998.
15. Church T. and Pryor W.A.: *Free radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications*, *Environ. Health Perspect.*, 64, 111, 1985.
16. Zang L.Y., Stone K., and Pryor W.A.: *Detection of free radicals in aqueous extracts of cigarette tar by electron spin resonance*, *Free. Rad. Biol. Med.*, 19, 161, 1995.
17. Pryor W.A. and Stone K.: *Oxidants in cigarette smoke: radicals, hydrogen peroxides, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 686, 12, 1993.
18. Meier U. and Gressner A.M.: *Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin*, *Clin. Chem.*, 50(9) 1511, 2004.
19. Schwartz M.W. et al.: *Insulin in the brain: a hormonal regulator of energy balance*, *Endocr. Rev.*, 13, 387, 1992.
20. Schwartz M.W. et al.: *Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice*, *Diabetes*, 45, 531, 1996.
21. Rosenbaum M. et al.: *Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81, 3424, 1996.
22. Kolaczynski J.W. et al.: *Acute and chronic effects of insulin on leptin production in humans: studies in vivo and in vitro*, *Diabetes*, 45, 699, 1996.
23. Rentsch J. and Chiesei M.: *Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes*, *FEBS Lett.*, 379, 55, 1996.
24. Hosoda H. et al.: *Structural divergence of human ghrelin: identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by posttranslational processing*, *J. Biol. Chem.*, 278, 67, 2003.
25. Tomas E. et al.: *Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl CoA carboxylase inhibition and AMP activated protein kinase activation*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 99, 16309, 2002.
26. Faraj M. et al.: *Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin, and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbidly obese subjects*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 88, 1594, 2003.
27. Rahman I. et al.: *Glutathione, stress responses, and redox signaling in lung inflammation*, *Antioxidants Redox Signal.*, 7(1&2), 42, 2005.
28. English J.P., Willius F.A., and Berkson J.: *Tobacco and coronary disease*, *JAMA*, 115(16), 1327, 1940.
29. Willett W.C. et al.: *Relative and absolute excess risks of coronary heart disease among women who smoke cigarettes*, *N. Engl. J. Med.*, 317(21), 1303, 1987.
30. Babior B.M.: *NADPH oxidase*, *Curr. Opin. Immunol.*, 16, 42, 2004.
31. Jackson R.S. et al.: *Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene*, *Nat. Genet.*, 16, 303, 1997.
32. Weisberg S.P. et al.: *Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue*, *J. Clin. Invest.*, 112, 1796, 2003.
33. Xu H. et al.: *Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance*, *J. Clin. Invest.*, 112, 1821, 2003.
34. Shiose A. et al.: *A novel superoxide-producing NAD(P)H oxidase in kidney*, *J. Biol. Chem.*, 276, 1417, 2001.
35. Mahadev K. et al.: *The NAD(P)H oxidase homolog Nox4 modulates insulin-stimulated generation of H₂O₂ and plays an integral role in insulin signal transduction*, *Mol. Cell. Biol.*, 24, 1844, 2004.
36. Yang S., Zhang Y., Ries W., and Key L.: *Expression of Nox4 in osteoclasts*, *J. Cell. Biochem.*, 92, 238, 2004.
37. Sorescu D. et al.: *Superoxide production and expression of NOX family proteins in human atherosclerosis*, *Circulation*, 105, 1429, 2002.
38. Curzio M. et al.: *Possible role of aldehydic lipid peroxidation products as chemoattractants*, *Int. J. Tissue React.*, 9, 295, 1987.
39. Michel T. and Feron O.: *Nitric oxide synthases: which, where, how, and why?*, *J. Clin. Invest.*, 100, 2146, 1997.
40. Nathan C.: *Inducible nitric oxide synthase: what difference does it make?*, *J. Clin. Invest.*, 100, 2417, 1997.
41. Iwashina M., Shichiri M., Marumo F., and Hirata Y.: *Transfection of inducible nitric oxide synthase gene causes apoptosis in vascular smooth muscle cells*, *Circulation*, 98, 1212, 1998.
42. Shimabukuro M., Ohneda M., Lee, Y., and Unger R.: *Role of nitric oxide in obesity-induced cell disease*, *J. Clin. Invest.*, 100, 290, 1997.
43. Channon K.M. and Guzik T.J.: *Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors*, *J. Physiol. Pharmacol.*, 53, 515, 2002.
44. Hotamisligil G.S. et al.: *Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- in human obesity and insulin resistance*, *J. Clin. Invest.*, 95, 2409, 1995.

- 45. Mazurek T. et al.: *Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators*, *Circulation*, 108, 2460, 2003.
46. Kessler P., Bauersachs J., Busse R., and Schinzi-Kerth V.B.: *Inhibition of inducible nitric oxide synthase restores endothelium-dependent relaxations in proinflammatory mediator-induced blood vessels*, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 17, 1746, 1997.
47. Chauhan S.D. et al.: *Protection against lipopolysaccharide-induced endothelial dysfunction in resistance and conduit vasculature of iNOS knockout mice*, *FASEB J.*, 17, 773, 2003.
48. Gunneth C.A. et al.: *Nitric oxide dependent vasorelaxation is impaired after gene transfer of inducible NO synthase*, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 21, 1281, 2001.
49. Yong-Ho L. and Pratley R.E.: *The evolving role of inflammation in obesity and the metabolic syndrome*, *Curr. Diabet. Rep.*, 5, 70, 2005.
50. Wellen K.E. and Hotamisligil G.S.: *Inflammation, stress, and diabetes*, *J. Clin. Invest.*, 115, 1111, 2005.
51. Ozcan U. et al.: *Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes*, *Science*, 306, 457, 2004.
52. Nakatani Y. et al.: *Involvement of endoplasmic reticulum stress in insulin resistance and diabetes*, *J. Biol. Chem.*, 280, 847, 2005.
53. Ozawa K. et al.: *The endoplasmic reticulum chaperone improves insulin resistance in type 2 diabetes*, *Diabetes*, 54, 657, 2005.
54. Hung J.H. et al.: *Endoplasmic reticulum stress stimulates the expression of cyclooxygenase-2 through activation of NF-kappaB and pp38 mitogen-activated protein kinase*, *J. Biol. Chem.*, 279, 46384, 2004.
55. Brownlee M.: *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*, *Nature*, 414, 813, 2001.
56. Lin Y. et al.: *The hyperglycemia-induced inflammatory response in adipocytes: the role of reactive oxygen species*, *J. Biol. Chem.*, 280, 4617, 2005.
57. Sethi J.K. and Hotamisligil G.S.: *The role of TNF-alpha in adipocyte metabolism*, *Semin. Cell Dev. Biol.*, 10, 19, 1999.
58. Kern P.A. et al.: *The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue: regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase*, *J. Clin. Invest.*, 95, 2111, 1995.
59. Soukas A. et al.: *Leptin specific patterns of gene expression in white adipose tissues*, *Genes Dev.*, 14, 963, 2000.
60. Makowski L. et al.: *Lack of macrophage fatty acid binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis*, *Nature Med.*, 699, 2001.
61. Tontonoz P. et al.: *PPAR- α promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL*, *Cell*, 93, 241, 1998.
62. Cousin B. et al.: *A role for preadipocytes as macrophage-like cells*, *FASEB J.*, 13, 305, 1999.
63. Ross R.: *Atherosclerosis: an inflammatory disease*, *N. Engl. J. Med.*, 340, 115, 1999.
64. Chowienzyk P.J. et al.: *Impaired endothelium-dependent vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolaemia*, *Lancet*, 340, 1430, 1992.
65. Escobales N. and Crespo M.J.: *Oxidative-nitrosative stress in hypertension*, *Curr. Vasc. Pharmacol.*, 3, 231, 2005.
66. Rahmouni K. et al.: *Obesity-associated hypertension*, *Hypertension*, 45, 9, 2005.
67. Vigili de Kreutzenberg S. et al.: *Visceral obesity is characterized by impaired nitric oxide-independent vasodilation*, *Eur. Heart J.*, 24, 1210, 2003.
68. Badimon J.J. et al.: *Coronary atherosclerosis: a multifactorial disease*, *Circulation*, 87, 113, 1993.
69. Libby P.: *Inflammation in atherosclerosis*, *Nature*, 420, 868, 2002.
70. Ludewig B., Zinkernagel R.M., and Hengartner H.: *Arterial inflammation and atherosclerosis*, *Trends Cardiovasc. Med.*, 12, 154, 2002.
71. Ross R.: *The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s*, *Nature*, 362, 801, 1993.
72. Davies M.J.: *The composition of coronary-artery plaques*, *N. Engl. J. Med.*, 336, 1312, 1997.
73. Schreyer S.A., Peschon J.J., and LeBoeuf R.C.: *Accelerated atherosclerosis in mice lacking tumor necrosis factor receptor p55*, *J. Biol. Chem.*, 271, 26174, 1996.
74. Rader D.J.: *Inflammatory markers of coronary risk*, *N. Engl. J. Med.*, 343, 1179, 2002.
75. Graham A. et al.: *Peroxy-nitrite modification of low-density lipoprotein leads to recognition by the macrophage scavenger receptor*, *FEBS Lett.*, 330, 181, 1993.
76. Darley-Usmar V.M. et al.: *The simultaneous generation of superoxide and nitric oxide can initiate lipid peroxidation in human low density lipoprotein*, *Free Radic. Res. Commun.*, 17, 9, 1992.
77. Hogg N. et al.: *Peroxy-nitrite and atherosclerosis*, *Biochem. Soc. Trans.*, 21, 358, 1993.
78. Hogg N. et al.: *The oxidation of alpha-tocopherol in human low-density lipoprotein by the simultaneous generation of superoxide and nitric oxide*, *FEBS Lett.*, 326, 199, 1993.
79. Radi R. et al.: *Peroxy-nitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide*, *Arch. Biochem. Biophys.*, 288, 481, 1991.
80. Biswas S.K. et al.: *Depressed glutathione synthesis precedes oxidative stress and atherogenesis in Apo-E(-/-) mice*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 338, 1368, 2005.
81. Keaney Jr. J.F. et al.: *Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study*, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 23, 434, 2003.
82. Beltowski J. et al.: *The effect of dietary-induced obesity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total antioxidant capacity*, *J. Physiol. Pharmacol.*, 51, 883, 2000.

83. Furukawa S. et al.: *Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome*, J. Clin. Invest., 114, 1752, 2004.
84. Steinberger J. and Daniels S.R.: *Obesity, insulin resistance, diabetes and cardiovascular risk in children*, Circulation, 107, 1448, 2003.
85. Hubert H.B. et al.: *Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study*, Circulation, 67, 968, 1983.
86. Auer J. et al.: *Obesity, body fat and coronary atherosclerosis*, Int. J. Cardiol., 98, 227, 2005.
87. Patel Y.C., Eggen D.A., and Strong J.P.: *Obesity, smoking and atherosclerosis*, Atherosclerosis, 36, 481, 1980.
88. Sharma A.M. and Chetty V.T.: *Obesity, hypertension and insulin resistance*, Acta Diabetologica, 42, S3, 2005.
89. Lee H.C. et al.: *Concurrent increase of oxidative DNA damage and lipid peroxidation together with mitochondrial DNA mutation in human lung tissues during aging: smoking enhances oxidative stress on the aged tissues*, Arch. Biochem. Biophys., 362, 309, 1999.
90. Burke A. and Fitzgerald G.A.: *Oxidative stress and smoking-induced vascular injury*, Prog. Cardiovasc. Dis., 46, 79, 2003.
91. Olszanecka-Glinianowicz M. et al.: *Serum concentrations of nitric oxide, tumor necrosis factor (TNF)-alpha and TNF soluble receptors in women with overweight and obesity*, Metabolism, 53, 1268, 2004.
92. Simon B.C., Cunningham L.D., and Cohen R.A.: *Oxidized low density lipoproteins cause contraction and inhibit endothelium-dependent relaxation in the pig coronary artery*, J. Clin. Invest., 86, 75, 1990.
93. Mitra A.K., Dhume A.S., and Agrawal D.K.: *"Vulnerable plaques": ticking of the time bomb*, Can. J. Physiol. Pharmacol., 82, 860, 2004.
94. Leskinen M.J., Kovanen P.T. and Lindstedt K.A.: *Regulation of smooth muscle cell growth, function and death in vitro by activated mast cells: a potential mechanism for the weakening and rupture of atherosclerotic plaques*, Biochem. Pharmacol., 66, 1493, 2003.
95. Lombardo A. et al.: *Inflammation as a possible link between coronary and carotid plaque instability*, Circulation, 109, 3158, 2004.
96. Robbins M. and Topol E.J.: *Inflammation in acute coronary syndromes*, Cleve. Clin. J. Med., 69, 130, 2002.
97. Villablanca A.C., McDonald J.M., and Rutledge J.C.: *Smoking and cardiovascular disease*, Clin. Chest Med., 21, 159, 2000.
98. Powell J.T.: *Vascular damage from smoking: disease mechanisms at the arterial wall*, Vasc. Med., 3, 21, 1998.
99. Tappia P.S. et al.: *Cigarette smoking influences cytokine production and antioxidant defences*, Clin. Sci. 88, 485, 1995.
100. de Maat M.P. et al.: *Association of plasma fibrinogen levels with coronary artery disease, smoking and inflammatory markers*, Atherosclerosis, 121, 185, 1996.
101. Sonmez K. et al.: *Distribution of risk factors and prophylactic drug usage in Turkish patients with angiographically established coronary artery disease*, J. Cardiovasc. Risk, 9, 199, 2002.
102. Talmud P.J., Hawe E., and Miller G.J.: *Analysis of gene-environment interaction in coronary artery disease: lipoprotein lipase and smoking as examples*, Ital. Heart J., 3, 6, 2002.
103. Gander M.L. et al.: *Effect of the G-308A polymorphism of the tumor necrosis factor TNF- gene promoter site on plasma levels of TNF- and C-reactive protein in smokers: a cross-sectional study*, BMC Cardiovasc. Disord., 4, 17, 2004.
104. Heber D.: *Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of diseases*, J. Postgrad. Med., 50, 145, 2004.
105. Witztum J.L. and Berliner J.A.: *Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis*, Curr. Opin. Lipidol., 9, 441, 1998.
106. Sanchez-Moreno C., Jimenez-Escrig A., and Saura-Calixto F.: *Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols*, Nutr. Res., 20, 941, 2000.
107. Ridker P.M. et al.: *Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein levels in the prediction of first cardiovascular events*, N. Engl. J. Med., 347, 1557, 2002.
108. Pool-Zobel B.L. et al.: *Mechanisms by which vegetable consumption reduces genetic damage in humans*, Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev., 7, 891, 1998.
109. Ohashi Y., Tsuchiya Y., Koizumi K., Sakurai H., and Saiki I.: *Prevention of intrahepatic metastasis by curcumin in an orthotopic implantation model*, Oncology, 65, 250, 2003.
110. Minorsky P.V.: *Lycopene and the prevention of prostate cancer: the love apple lives up to its name*, Plant Physiol., 130, 1077, 2002.
111. Obermuller-Jevic U.C. et al.: *Lycopene inhibits the growth of normal human prostate epithelial cells in vitro*, J. Nutr., 133, 3356, 2003.
112. Karas M. et al.: *Lycopene interferes with cell cycle progression and insulin-like growth factor I signaling in mammary cancer cells*, Nutr. Cancer, 36, 101, 2000.
113. Giovannucci E. et al.: *Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer*, J. Natl. Cancer. Inst., 87, 1767, 1995.
114. Kucuk O. et al.: *Lycopene supplementation in men with prostate cancer (PCA) reduced grade and volume of preneoplasia (PIN) and tumor, decreases serum prostate specific antigen (PSA) and modulates biomarkers of growth and differentiation*, in Proc. of the 12th Int. Symp. on Carotenoids, Cairns, Australia, July 18-23, 1999.