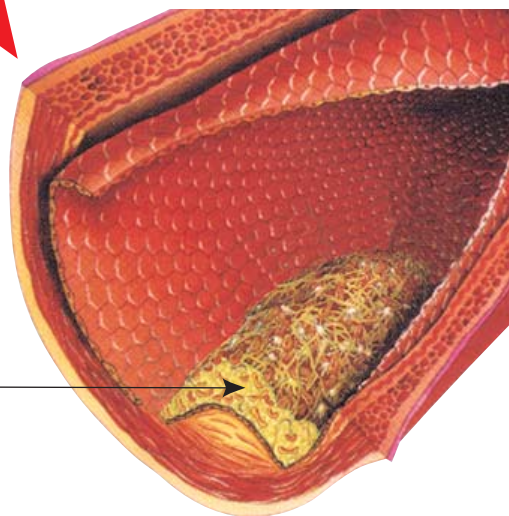


8,1 mm²

**Rekombinant Apo A-I Milano
z fosfolipidami (5 iniekcji)**



5,35 mm²

Według: Nissen S, et al, *JAMA*, November 5, 2003, Vol 290, No. 17

CZYNNIKI RYZYKA

PISMO
POLSKIEGO TOWARZYSTWA
BADAŃ NAD MIAŻDŻYCĄ

REDAKTOR NACZELNY
prof. Marek Naruszewicz
tel. (0-91) 466-14-93
e-mail: mnarusze@sci.pam.szczecin.pl

RADA REDAKCYJNA
prof. Aldona Dembińska-Kieć
prof. Zdzisława Kornacewicz-Jach
doc. Grażyna Nowicka
prof. Michael Aviram
prof. Mirosław Dłużniewski
prof. Wojciech Drygas
prof. Jerzy Kuch
prof. Mario Mancini
prof. Stefan Rywik
prof. Peter Schwandt
prof. Marek Sznajderman

ADRES REDAKCJI
PTBnM
al. Powstańców Wielkopolskich 72
70-111 Szczecin
tel. (0-91) 466-14-90
466-14-91
fax (0-91) 466-14-92

www.ptbnm.pl

Sekretarz Redakcji
mgr Kornel Chelstowski
tel. (0-91) 466-14-99
e-mail: kornelch@sci.pam.szczecin.pl

WYDANO NA ZLECENIE PTBnM

Druk:
MB Poligrafia
ul. Dąbrowskiego 38/40
Szczecin

DTP:
VERSO s.c.
tel./fax (0-91) 488 47 87
www.verso.szczecin.pl

Projekt okładki: Marek Naruszewicz

Copyright by „Czynniki Ryzyka“
Szczecin 2004

SPIS TREŚCI

List od redaktora 3

Spotkanie panelowe ekspertów: statyny w obniżaniu poziomu cholesterolu
– czy wszystkie statyny są takie same? 4

ARTYKUŁ REDAKCYJNY

T. J. Guzik, T. Adamek-Guzik, A. Jopek, R. Korbut
Patomechanizmy dysfunkcji śródbłonna naczyniowego w miażdżycy 8

PATOGENEZA

*M. Włodarska, Z. Gawor, G. Piotrowski,
R. Gawor, W. Piotrowski, P. Szymański*
Ocena czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca
u studentów Politechniki Częstochowskiej z otyłością i nadwagą 23

A. Graban, D. Ryglewicz
Zaburzenia metabolizmu homocysteiny a choroby układu nerwowego 33

A. Schmitz
Metabolity sfingomielin w przekazywaniu sygnałów komórkowych i w miażdżycy 38

ŻYWIENIE

*H. Bukowska, I. Gorący, E. Żyźniewska-Banaszak,
K. Chelstowski, M. Naruszewicz*
Ocena wpływu napoju zawierającego sok owocowy,
bakterie jogurtowe oraz witaminę C i kwas foliowy na poziom
homocysteiny, profil lipidowy i jakość życia ocenianą rotterdamską
listą symptomów, u młodych mężczyzn 52

*E. Stachowska, I. Nocerń, K. Safranow, T. Wesołowska,
L. Domański, K. Ciechanowski, D. Chlubek*
6-miesięczne stosowanie diety typu śródziemnomorskiego normalizuje
stężenie miedzi i cynku w osoczu pacjentów po przeszczepach nerek 57

M. Kozłowska-Wojciechowska
Rola kwasów omega-3 w redukcji ryzyka choroby niedokrwiennej serca 61

Rada redakcyjna



prof. dr hab.
Marek Naruszewicz
Szczecin
Redaktor naczelny



prof. dr hab. med.
Aldona Dembińska-Kieć
Kraków



doc. dr hab. med.
Grażyna Nowicka
Warszawa



prof.
Michael Aviram
Izrael



prof. dr hab. med.
Zdzisława Kornacewicz-Jach
Szczecin



prof. dr hab. med.
Stefan Rywik
Warszawa



prof.
Mario Mancini
Włochy



prof. dr hab. med.
Mirosław Dłużniewski
Warszawa



prof. dr hab. med.
Marek Sznajderman
Warszawa



prof.
Peter Schwandt
Niemcy



prof. dr hab. med.
Jerzy Kuch
Warszawa



prof. dr hab. med.
Wojciech Drygas
Łódź

Od Redaktora

Szanowni Czytelnicy

Na całym świecie narasta problem epidemii otyłości, która obejmuje szczególnie dzieci i młodzież, co może spowodować, że staną się oni pierwszą w historii generacją żyjącą krócej niż ich rodzice.

Ten pesymistyczny ogląd sytuacji wynika z faktu, że otyłość to pierwszy krok do rozwoju cukrzycy i zespołu metabolicznego, a to przyspiesza rozwój miażdżycy i chorób układu krążenia. Wprawdzie mamy już sprawdzone metody wykrywania i leczenia tych schorzeń, ale koszty tych działań są niewiarygodnie wysokie. Oblicza się, że już w tej chwili musimy rocznie, w skali światowej, wydawać 117 miliardów dolarów na leczenie skutków otyłości. Przyczyn otyłości należy szukać w stosunkowo taniej żywności, o dużej kaloryczności i małej wartości zdrowotnej, a także coraz niższej aktywności fizycznej dzieci i młodzieży. Coraz częściej bowiem jadamy poza domem, głównie w restauracjach typu „fast food”, co, jak obliczono, powoduje przyrost dodatkowych 3 kg masy ciała rocznie. Bogacą się przy tym producenci żywności i rolnicy uzyskujący dotacje z budżetu, w którym zaczyna brakować środków na służbę zdrowia; ten „zaczarowany krąg” należy szybko przerwać. Zrozumieli to już Amerykanie wprowadzając, w Teksasie i Kalifornii, zakaz sprzedaży w szkołach słodzonych napojów gazowanych.

Moim zdaniem, niezależnie od działań prozdrowotnych w szkołach, powinniśmy już teraz wprowadzić w Polsce podobny zakaz, nie czekając aż osiągniemy stan obserwowany w USA. Możemy w ten sposób ulżyć naszej służbie zdrowia w jej kłopotach.

Środowisko naukowców i lekarzy oczywiście nie ustaje w tworzeniu wiedzy na temat miażdżycy i jej leczenia. Dobrym przykładem w tej dziedzinie są badania Nissen'a i współ. (patrz okładka), którzy w kooperacji z wieloma ośrodkami opracowali pierwszy w historii medycyny system leczenia progresji miażdżycy przy pomocy biotechnologii. W skrócie można opisać to jako próbę użycia do leczenia specyficznego białka nośnikowego HDL, tj. ApoA-I, w powiązaniu z fosfolipidami, co miało na celu przyspieszenie zwrotnego transportu cholesterolu ze zmiany miażdżycowej w naczyniu do wątroby. Pozyskano białko (tzw. rekombinant) ApoA-I o specyficznym działaniu (szybki metabolizm), wykrytym u ludzi zamieszkujących wioskę koło Mediolanu, u których miażdżycy praktycznie nie występuje. Powyższe badanie dobitnie potwierdza kluczowe znaczenie wysokiego poziomu HDL w surowicy dla uzyskania efektu przeciwmiażdżycowego.

Trudno się odnieść do przyszłości takich badań, gdyż są one w tej fazie inwazyjne i bardzo kosztowne, jednak, mimo wszystko, stwarzają pewną nadzieję.

*Z poważaniem
Marek Naruszewicz*

TELEGRAM

Przewodniczący Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego,
prof. dr hab. med. Andrzej Cieśliński

Z okazji 50-lecia Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego składamy najlepsze gratulacje i życzenia dalszej efektywnej działalności na rzecz rozwoju polskiej kardiologii

W imieniu Zarządu Głównego i członków PTBnM
przewodniczący – prof. dr hab. Marek Naruszewicz



International Task Force for Prevention of Coronary Heart Disease

Spotkanie panelowe ekspertów: statyny w obniżaniu poziomu cholesterolu – czy wszystkie statyny są takie same?

Duże zainteresowanie skupiło się ostatnio wokół kwestii podobieństwa i równoważności dostępnych statyn z punktu widzenia ich efektów klinicznych. Aby zbadać tę kwestię, Międzynarodowa Grupa Robocza ds. Prewencji Choroby Niedokrwiennej Serca zorganizowała 6 marca 2004 roku Sympozjum Ekspertów z okazji spotkania Amerykańskiego Kolegium Kardiologów, które odbyło się w Nowym Orleanie (Luizjana). Uczestnikami spotkania byli: dr Gerd Assmann (organizator), dr Alberto Corsini, dr Jean Davignon, dr Scott M. Grundy, dr Peter Libby, dr Winfried Maerz, dr R. Preston Mason, dr Steven E. Nissen, dr Terje R. Pederson, dr Paul M. Ridker, dr Walter Riesen, dr Ernst J. Schaefer oraz dr David Waters. Niniejszy dokument przedstawia streszczenie sprawozdania ze spotkania.

Od czasu odkrycia pierwszej statyny, kompaktyny, przez Akiro Endo w laboratorium korporacji Sankyo blisko 30 lat temu, ta grupa leków stała się główną podporą terapii obniżającej poziom cholesterolu. Ponad 20 milionów ludzi na całym świecie przyjmuje statyny, a cały rynek statyn oceniany jest na około 19 miliardów dolarów.

Chemicznie i farmakologicznie statyny stanowią niejednorodną grupę, których wspólną cechą jest zdolność hamowania reduktazy hydroksymetyloglutarylo-CoA (HMG-CoA), enzymu kontrolującego szlak biosyntezy cholesterolu. Obecnie dostępne statyny to lowastatyna, simwastatyna, prawastatyna, atorwastatyna, fluwastatyna i rosuwastatyna.

Aby odpowiedzieć na pytanie, czy wszystkie statyny są takie same, należy rozpatrzyć cztery różne kwestie:

1. Czy wszystkie statyny są takie same z punktu widzenia ich głównego efektu terapeutycznego, czyli obniżania cholesterolu LDL?
2. Obniżanie cholesterolu LDL nie jest celem samym w sobie. Celem obniżania cholesterolu LDL jest raczej zapobieganie progresji miażdżycy i jej powikłań w postaci zawału serca, udaru, choroby naczyń obwodowych oraz śmierci z przyczyn sercowych. Dlatego musimy zadać pytanie: czy wszystkie statyny są jednakowe z punktu widzenia redukcji punktów końcowych?
3. W ciągu ostatnich pięciu lat statyny wykazywały różnorodne wtórne efekty zwane działaniami plejotropowymi, począwszy od wpływu na oksydację, poprzez możliwe działanie przeciwzapalne, aż do wpływu na metabolizm komórkowy. W związku z tym pytanie trzecie brzmi: czy wszystkie statyny są jednakowe z punktu widzenia działań plejotropowych?
4. Czy wszystkie statyny są takie same z punktu widzenia działań toksycznych?

Czy wszystkie statyny są takie same z punktu widzenia ich głównego działania terapeutycznego, czyli obniżania cholesterolu LDL?

Główne działanie statyn polega na swoistym i odwracalnym hamowaniu reduktazy

HMG-CoA, enzymu kontrolującego szlak biosyntezy cholesterolu. W zmaganiu ze spadkiem endogennej produkcji cholesterolu, komórki, szczególnie hepatocyty, reagują zwiększeniem wychwytu cholesterolu z krwioobiegu, co prowadzi do obniżenia poziomu krążącego cholesterolu LDL. W badaniu CURVES oceniano wpływ pięciu statyn stosowanych w zwykłych dawkach na poziom cholesterolu LDL. Stopień obniżenia cholesterolu LDL wahał się pomiędzy 17% w przypadku fluwastatyny stosowanej w dawce 20 mg/dobę, a 38% w przypadku atorwastatyny w dawce 10mg/dobę (1). Podobnie, w badaniu STELLAR, stopień obniżenia cholesterolu LDL zawierał się pomiędzy 20% w przypadku prawastatyny w dawce 10 mg/dobę, oraz 55% dla rosuwastatyny w dawce 40 mg/dobę (15). Owe różnice w skuteczności działania zostały potwierdzone w metaanalizie 164 badań opublikowanych w 2003 roku. Tutaj także różne statyny wykazywały dwu-, trzykrotną różnicę w wielkości obniżania LDL, w zależności od stosowanej dawki (2). Jest to dowód, że nie wszystkie statyny wykazują jednakową zdolność obniżania cholesterolu LDL, ale różnią się w tym zakresie przynajmniej dwukrotnie. Dr David Waters z General Hospital w San Francisco stwierdził, iż dowód istnienia różnic w skuteczności różnych statyn jest tak silny, że nie może być dłużej usprawiedliwieniem dla stosowania słabszych statyn, ponieważ nie zapewniają one optymalnej redukcji ryzyka.

Czy wszystkie statyny są jednakowe w zakresie redukcji punktów końcowych?

Kliniczne punkty końcowe można podzielić na dwie grupy. „Miękkie” punkty końcowe obejmują wskaźniki miażdżycy, takie jak zmiana grubości ściany tętnic lub objętości zmian miażdżycowych w obrębie tętnic. „Twarde” punkty końcowe to liczba incydentów sercowo-naczyniowych, takich jak zawał serca czy udar, lub – najtwardszy ze wszystkich punktów końcowych – wskaźnik śmiertelności z powodu chorób układu krążenia.

Znaczne różnice pomiędzy statynami znaleziono w zakresie „miękkich” punktów końcowych. Na przykład wyniki programu ASAP (the Atorvastatin vs. Simvastatin on Atherosclerosis Progression) pokazały ostatnio, że 2-letnia terapia atorwastatyną w najwyższej dawce terapeutycznej powodowała redukcję grubości ściany tętniczej, podczas gdy po 2 latach leczenia simwastatyną grubość ściany wzrastała. Podobne rezultaty otrzymano w porównaniu atorwastatyny z prawastatyną (ARBITER) (4).

Nowszym sposobem oceny zaawansowania miażdżycy jest ocena objętości tkanki zmienio-

nej miażdżycowo za pomocą wewnątrznaczyniowej ultrasonografii. W ostatnim badaniu (REVERSAL), przeprowadzonym przez dr Stevena Nissena z Cleveland Heart Foundation, wskaźnik ten również wykazał poprawę po 18 miesiącach leczenia atorwastatyną w dawce 80 mg/dobę, podczas gdy objętość blaszki miażdżycowej w naczyniach wieńcowych osób leczonych prawastatyną w dawce 40 mg/dobę zwiększała się. Obecnie nie wiadomo jednak, czy różnica w rozwoju blaszki miażdżycowej w naczyniach wieńcowych odzwierciedla większy stopień redukcji poziomu cholesterolu w przypadku atorwastatyny (średni poziom LDL 79 mg/dl vs. 110 mg/dl w grupie leczonej prawastatyną) lub czy jest przynajmniej częściowo zależna od wewnętrznych różnic pomiędzy dwoma lekami^{1/}.

Wracając do „twardych” punktów końcowych: dwie kwestie powinny być wzięte pod uwagę. Po pierwsze, czy wszystkie statyny powodują jednakową redukcję „twardych” punktów końcowych (zawał serca, śmiertelność)? Po drugie, czy wszystkie statyny prowadzą jednakowo szybko do osiągnięcia korzyści?

Wiele dowodów sugeruje obecnie, że wszystkie statyny redukują „twarde” punkty końcowe (zawał serca), a stopień, w jakim to czynią, zależy głównie od dwóch czynników. Pierwszy czynnik, to wyjściowe ryzyko choroby wieńcowej – różne w różnych badaniach. Zasadą jest, że im wyższe wyjściowe ryzyko choroby wieńcowej, tym większy stopień redukcji absolutnego ryzyka w wyniku leczenia statynami. Drugim czynnikiem jest stopień redukcji poziomu cholesterolu LDL. Ten również różni się w wielu badaniach. Ogólnie, im większy stopień redukcji cholesterolu LDL, tym większa korzyść w postaci redukcji punktów końcowych. Ponieważ statyny różnią się zdolnością obniżania cholesterolu LDL, nie jest zaskoczeniem, że wykazują one również różny wpływ na redukcję punktów końcowych, oraz że różnice te nie mogą zostać całkowicie skompensowane poprzez dostosowanie dawki statyny.

Różnice pomiędzy statynami ujawniają się również w zakresie czasu koniecznego (lag-time) do uzyskania redukcji punktów końcowych. W próbach klinicznych Cholesterol and Recurrent Events (CARE) – prawastatyny (5), West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS) – także prawastatyny (6), Heart Protection Study (hps) – simwastatyny u osób z grupy wysokiego ryzyka (7), Scandinavian Simvastatin Survival Study (8), Assessment of Lescol in Renal Transplantation (ALERT) – fluwastatyny (9) oraz The Lescol Intervention Prevention Study (LIPS) – długotrwałego stosowania fluwastatyny u pacjentów z chorobą niedokrwinną serca (10), upływał rok zanim liczba punktów końcowych, wyrażana skumu-

lowaną zapadalnością, zaczynała odbiegać od tej obserwowanej w grupach placebo. Jednak w badaniach atorwastatyny, Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA) (11) oraz Atorvastatin versus Revascularization Treatment (AVERT) (12), rozbieżność krzywych skumulowanej zapadalności związanej z głównymi wieńcowymi punktami końcowymi dla prawastatyny i placebo obserwowana była od samego początku badań. Według dr Terje Pedersena, różnice te mogą być spowodowane raczej przez brak mocy statystycznej badań, niż przez rzeczywiste różnice pomiędzy badanymi lekami.

Czy wszystkie statyny są jednakowe z punktu widzenia ich działań plejotropowych?

Oprócz głównego wpływu terapeutycznego na cholesterol LDL, statyny wykazują również szeroki zakres innych działań biologicznych. Z powodu ich niezależności, efekty te są często nazywane „plejotropowymi” (z gr. – wielokierunkowy) i obejmują wpływ na funkcję i podziały komórek, procesy oksydacyjne, zapalenie, na krzepnięcie krwi i aktywność naczynioruchową. Także tutaj istnieją ważne różnice pomiędzy statynami. Na przykład, jak podaje dr Preston Mason z Harvard Medical School, atorwastatyna jest obecna w krążeniu przede wszystkim w formie hydroksylowanych metabolitów, które są, w przeciwieństwie do innych statyn, tak samo aktywne w hamowaniu reduktazy HMGCoA jak formy początkowe. Z obserwacji dr Masona wynika, że hydroksylowane pochodne atorwastatyny mają u ludzi unikatowe własności zwiększające oporność LDL na oksydację (13). Dalszą korzyścią z tej własności jest wpływ na formowanie krystalicznych domen cholesterolowych w błonach komórkowych w kontrolowanych warunkach eksperymentalnych, nie obserwowany np. dla witaminy E. Co więcej, witamina E nie wykazywała zdolności antyoksydacyjnych w warunkach zwiększonej zawartości cholesterolu w błonach komórkowych.

Według prof. Petera Libby z Harvard Medical School i Brigham and Women's Hospital, obserwowano różnice pomiędzy prawastatyną i fluwastatyną w ich wpływie na zawartość kolagenu w blaszkach miażdżycowych u królików. Dr Walter Riesen z Kantonspital w St. Gallen w Szwajcarii przedstawił dowody ważnych różnic pomiędzy simwastatyną i atorwastatyną w aktywacji obwodowych limfocytów T i zasugerował, że te efekty mogą mieć znaczenie kliniczne w transplantologii i w przypadku pewnych chorób zakaźnych. Dr Jean Davignon z Institute de Recherches Cliniques w Montrealu zwrócił uwagę, że większość tych

efektów wynika z hamowania aktywności małych białek G. Takie działanie mają także związki uczestniczące w szlaku biosyntezy cholesterolu za mewalonianem. Dodatkowo, w jednym przypadku (interakcja integryny alfa-L/beta-2 z ICAM-1), różnice w plejotropowym działaniu statyn wynikały ze zmienności struktury molekularnej niefarmakoforowej części leków, tj. były niezależne od hamowania syntezy cholesterolu.

Jedno z działań statyn, które ostatnio wywołało duże zainteresowanie, dotyczy ich zdolności obniżania poziomu białka CRP. Podczas gdy białko CRP jest markerem zapalenia (oraz zawnoszenia miażdżycy), jest jeszcze zbyt wcześnie by twierdzić, że obniżanie CRP przez statyny odzwierciedla przeciwwzapalne działanie tych leków. Według hipotezy przedstawionej przez dr Winfrieda Maerza z Uniwersytetu Graz w Austrii, jest na przykład możliwe, że statyny obniżają CRP specyficznie, poprzez zmianę homeostazy steroli w wątrobie. Na poparcie tego dr Maerz zwrócił uwagę, że żaden z innych dobrze znanych markerów zapalenia, takich jak fibrynogen, interleukina 6 czy liczba białych krwinek, nie ulega zmniejszeniu pod wpływem podawania statyn.

Ponadto nie jest możliwe określenie, czy różnice pomiędzy statynami w działaniu obniżającym CRP wynikały z różnych właściwości leków, czy były spowodowane różnicami w dawkowaniu. W celu zbadania tej kwestii dr Paul Ridker z Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School prowadzi program Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: an Intervention trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER), którego wyniki ukażą się za trzy lata.

Statyny wpływają również na poziom trójglicerydów w osoczu oraz na gęstość LDL i metabolizm HDL. Dr Ernst Schaefer z Tufts University w Bostonie, Massachusetts, zaobserwował, że w badaniach porównawczych atorwastatyna była istotnie skuteczniejsza niż inne statyny (z wyjątkiem simwastatyny), w obniżaniu poziomu trójglicerydów, zarówno na czczo jak i po posiłku. Atorwastatyna była także skuteczniejsza od fluwastatyny, prawastatyny, lowastatyny i simwastatyny w podwyższaniu poziomu apoA-I dużych cząstek alfa HDL. Istnieją doniesienia, że ta subfrakcja HDL reaguje z receptorem „scavenger” typu B1 w komórkach wątroby i przez to promuje wychwyty cholesterolu przez hepatocyty.

Czy wszystkie statyny są takie same z punktu widzenia ich toksyczności?

Spośród dotychczasowych pytań jest ono najłatwiejsze. Odpowiedź brzmi oczywiście

nie, co zostało potwierdzone przez powikłania mięśniowe wywołane przez ceriwestatynę, które spowodowały wycofanie tego leku z rynku w 2001 roku. Podczas gdy pozostałe statyny powodowały uszkodzenie mięśni (rabdomiolizę) w mniej niż 2 przypadkach na 10 milionów przepisanych recept, w przypadku ceriwestatyny były obserwowane 32 przypadki na 10 milionów przepisanych recept (14). Liczby te jednocześnie ilustrują, że statyny są ogólnie bardzo bezpieczną grupą leków.

Dokumentacja Food and Drug Administration wskazuje, że stosowanie rosuwastatyny, szczególnie przy dużych dawkach, może być skojarzone z częstszym niż w przypadku innych statyn występowaniem proteinurii i hematurii^{2/}.

Według dr Alberto Corsini z Uniwersytetu w Mediolanie, pomiędzy statynami istnieją ważne różnice farmakologiczne. Istnieje szeroka rozbieżność właściwości farmakokinetycznych tych leków, która może tłumaczyć różnice w interakcjach z innymi lekami, bezpieczeństwie, tolerancji oraz stosowaniu się do

zaleceń lekarzy (compliance). Interakcje są powszechniejsze i mają większe znaczenie kliniczne niż się powszechnie ocenia. Dokładna analiza dokumentów FDA, dotyczących rabdomiolizy wywołanej przez statyny wykazała, że spośród 3339 doniesień o tym powikłaniu, 58% było związanych ze stosowaniem innych leków, szczególnie leku obniżającego lipidy – gemfibrozilu, cyklosporyny, antybiotyków makrolidowych, warfaryny, digoksyny oraz przeciwgrzybiczych leków azolowych. Uczestnicy spotkania jednogłośnie zgodzili się, że jednoczesne podawanie gemfibrozilu i statyn powinno być unikane z powodu dużego ryzyka uszkodzenia mięśni. U pacjentów wymagających stosowania statyn i fibratów, fenofibrat został polecony jako lek z wyboru. Dr Corsini podkreślił również, że statyny są metabolizowane w wątrobie. Wyjątkiem jest prawastatyna i rosuwastatyna. Około 20% do 40% podanej dawki tych dwóch statyn eliminuje się przez nerki. To może wyjaśniać sporadyczną proteinurię obserwowaną u pacjentów otrzymujących duże dawki rosuwastatyny.

^{1/} Źródło: Nissen S. American Heart Association, Scientific Sessions 2003, Orlando Florida, Plenary Session XI: Late Breaking Trials, 12 Nov.2003
^{2/} www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/03/slides/3968S1_03_FDA-Lubas.ppt



dr hab. med. T. J. Guzik, prof. dr hab. med. T. Adamek-Guzik, lek. A. Jopek,
prof. dr hab. med. R. Korbut

Patomechanizmy dysfunkcji śródbłónka naczyniowego w miażdżycy

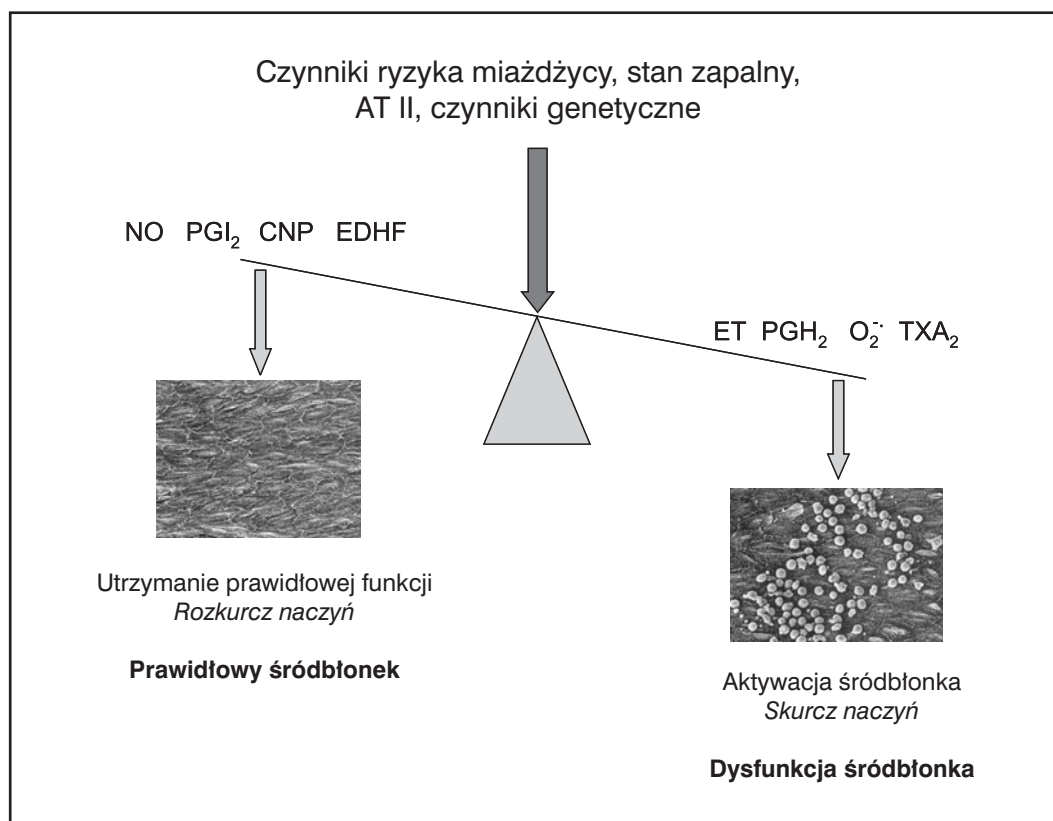
Wstęp

Ze względu na ważną rolę komórek śródbłónka w regulacji funkcji naczyń krwionośnych, zaburzenie ich funkcji, określane mianem dysfunkcji śródbłónka, leży u podstaw licznych schorzeń układu sercowo-naczyniowego. Prawidłowa funkcja śródbłónka jest uzależniona od delikatnej równowagi pomiędzy licznymi czynnikami wydzielanymi przez śródbłonek. Niedobór czynników ochronnych – takich jak tlenek azotu (NO) czy też prostacyklina (PGI₂) – i przewaga czynników aktywujących, prowadzi do patologicznej aktywacji zapalnej śródbłónka, ekspresji na jego powierzchni cząsteczek adhezyjnych i zaburzeń jego funkcji hamujących aktywację płytek krwi i leukocytów (rycina 1). Powyższa sytuacja określana jest terminem dysfunkcji śródbłónka naczyniowego. Ze względu na kluczową rolę NO w regulacji czynności śródbłónka, za miarę dysfunkcji śródbłónkowej przyjęto dostępność biologiczną NO w naczyniu. Monitorowanie dostępności biologicznej NO jest możliwe poprzez pomiar zależnej od NO naczynio-rozkurczającej czynności śródbłónka zarówno *in vitro* jak i *in vivo*. Należy jednak pamiętać, że obecność dysfunkcji śródbłónkowej zależnej od NO wskazuje, że także inne funkcje śródbłónka zostały upośledzone. Funkcje tych nie jesteśmy jednak w stanie tak precyzyjnie mierzyć. W praktyce, posługujemy się pomiarem dostępności biologicznej NO jako pośrednim wskaźnikiem również innych funkcji śródbłónka. Tak zdefiniowana dysfunkcja śródbłónka towarzyszy licznym patologiom

naczyniowym (1, 2, 3, 4). Mechanizmy dysfunkcji śródbłónka w naczyniach krwionośnych, pomimo wielu lat badań, nie są jednak w pełni poznane.

Tlenek azotu i jego miejsce w regulacji funkcji naczyń krwionośnych

Patologiczne konsekwencje niedoboru NO w stanach dysfunkcji śródbłónka, wynikają z utraty jego licznych ochronnych i przeciwmiażdżycowych działań (tabela 1). Choć NO znany jest od ponad 20 lat jako ważny śródbłónkowy, bioaktywny czynnik w ścianie naczyń, dopiero w ciągu ostatnich kilku lat szczegółowo poznano plejotropowy charakter jego funkcji, a także złożone mechanizmy regulacji aktywności enzymów syntetyzujących NO. Tlenek azotu produkowany jest przez syntazy tlenku azotu (NOS), katalizujące utlenianie L-argininy do L-cytruliny (5) (rycina 2). Obecnie wykazano istnienie 3 głównych izoform NOS: (I) NOS I (lub nNOS) – pierwotnie odkryta jako neuronalna NOS – myszy pozbawione nNOS rozwijają zaburzenia neurologiczne, gastroparezę oraz zaburzenia funkcji mięśni szkieletowych (6); (II) NOS II – indukowalna syntaza tlenku azotu (iNOS), pojawiająca się w bardzo wielu typach komórek (np. w makrofagach), po stymulacji czynnikami zapalnymi; u myszy pozbawionych genu iNOS stwierdzono większą wrażliwość na patogeny oraz rozwój nowotworów, ale jednocześnie większą oporność na wstrząs septyczny (7), oraz (III) NOS III (lub eNOS) – enzymem konstytutywnie



Ryc.1 Prawidłowa funkcja śródblonka w fizjologii naczyń krwionośnych wynika z równowagi pomiędzy czynnikami wydzielanymi przez śródbłonek. Należą do nich, przede wszystkim, naczyniorozkurczające, a zarazem ochronne: tlenek azotu (NO), prostacyklina (PGI₂), EDHF, peptyd natriuretyczny C (CNP) oraz działające naczynioskurczowo, jak endotelina (ET), PGH₂, anionorodnik ponadtlenkowy (O₂⁻) oraz tromboksan A₂ (TXA₂). Niedobór czynników ochronnych i nadmiar naczynioskurczowych prowadzi do patologicznej aktywacji śródblonka, ekspresji cząsteczek adhezyjnych, aktywacji płytek krwi. Ze względu na kluczową rolę NO w regulacji czynności śródblonka za miarę dysfunkcji śródblonkowej przyjęto dostępność biologiczną NO w naczyniu i jego działanie naczyniorozkurczające (zdjęcia na podstawie prezentacji Schachinger i wsp.).

występujący głównie w śródblonku naczyniowym – pozbawienie genu eNOS prowadzi do nadciśnienia tętniczego (8) i nasilenia patologicznej przebudowy ściany naczyń w odpowiedzi jego uszkodzenie (9). Podobieństwo sekwencji aminokwasowej pomiędzy poszczególnymi typami NOS wynosi 55%, ale jest znacznie wyższe w obrębie centrum aktywnego (5). Istnieje natomiast szereg różnic w regulacji poszczególnych izoform. Izoformy neuronalna i śródbłonkowa są aktywowane w mechanizmie zależnym od wiązania białka regulacyjnego kalmoduliny i w zależności od poziomów wewnątrzkomórkowego wapnia. Forma indukowalna podlega regulacji na poziomie transkrypcji, niezależnie od stymulacji przy pomocy agonistów czy też poziomów wewnątrzkomórkowego Ca⁺⁺ (kalmodulina jest z nią związana nawet przy niskich, podstawowych poziomach Ca⁺⁺) (10).

W warunkach prawidłowych głównym źródłem tlenu azotu w ścianie naczyń jest śródbłonkowa NOS (eNOS). Pod wpływem czynników takich jak stan zapalny lub inne stany chorobowe może dochodzić do pojawienia się innych izoform NOS. Ekspresja iNOS obserwowana jest natomiast w ścianie zmienionego patologicznie na-

czynia (11), w blaszce miażdżycowej (12), a także w obrębie neointymy (13). W prawidłowych naczyniach krwionośnych nNOS występuje w drobnych zakończeniach nerwowych w przydanie. W mięśniówce gładkiej naczyń u szczurów ze spontanicznym nadciśnieniem (spontaneously hypertensive rats – SHR) może dochodzić do ekspresji nNOS w mięśniówce gładkiej (14). Ponadto ekspresja wariantu nNOS (μNOS) została stwierdzona w niskim stopniu w błonie środkowej i przydanie prawidłowych naczyń krwionośnych (15).

Tlenek azotu, produkowany w śródblonku, dyfunduje do otaczających tkanek oraz do światła naczyń. Dlatego też jego działanie jest wielokierunkowe i polega na regulacji funkcji komórek mięśni gładkich ściany naczyń, działaniu w samej komórce śródblonka, a także na oddziaływaniu na elementy morfotyczne krwi (16). Działania te opierają się przede wszystkim na interakcji NO z grupami tiolowymi i centrami aktywnymi wielu białek, w tym receptorów błonowych, białek G, kanałów jonowych, enzymów oraz czynników transkrypcyjnych, takich jak AP-1 oraz NF-κB (17). Ponadto S-nitrozylacja grup tiolowych białek osocza, takich jak np. albumina, tworzy krążący rezerwuuar grup będących potencjalnymi do-

norami NO we krwi (18), natomiast S-nitrozylacja hemoglobiny w krążeniu płucnym dostarcza grup nitrozotiolowych krążeniu obwodowemu, a jednocześnie reguluje transport tlenu przez hemoglobinę (19, 20).

W ścianie naczyń krwionośnych NO, dyfundując od śródbłonna aktywuje cyklazę guanylową w komórkach mięśni gładkich (VSMC), powodując wzrost poziomu cGMP i następującą aktywację cGMP-zależnych kinaz białkowych. Prowadzi to do rozkurczu naczynia. Mechanizm ten uznawany jest za jeden z najważniejszych w regulacji ciśnienia tętniczego krwi (21). Poza regulacją napięcia ściany naczynia, NO posiada szereg istotnych działań przeciwmiażdżycowych, które zebrano w tabeli 1 (22).

W związku z wielostronnym, przeciwmiażdżycowym działaniem NO, zahamowanie jego produkcji za pomocą inhibitorów NOS lub za pomocą uszkodzenia genu NOS (23) prowadzi do hiperplazji intymy oraz przyspieszenia rozwoju miażdżycy (24). Z kolei suplementacja L-argininy (25, 26), stosowanie NO-donorów (27, 28) lub też transfer genu NOS (29) poprawiają funkcję śródbłonna, ograniczają proliferację neointymy, a nawet prowadzą do regresji już istniejących zmian miażdżycowych.

Współdziałanie NO z innymi mediatorami w regulacji funkcji naczyń krwionośnych

Działania tlenu azotu są często synergiczne lub antagonistyczne z innymi ważnymi mediatorami uwalnianymi ze śródbłonna. Nie można więc zapominać, że jest jednym z wielu mediatorów wydzielanych przez śródbłonek i uczestniczących w regulacji czynności naczyń. Wiele z nich, np. prostacyklina (PGI₂), działają synergicznie z NO, podczas gdy inne, jak endotelina czy też wolne rodniki tlenowe, wywierają działania antagonistyczne. Ponadto złożoności systemu dodaje fakt wzajemnych interakcji pomiędzy układami produkującymi poszczególne substancje. Tak więc zaburzenia produkcji NO będą miały swoje konsekwencje w zmianie pozostałych funkcji parakrynych śródbłonna, i odwrotnie. Prostacyklina jest metabolitem kwasu arachidonowego, produkowanym głównie przez komórki śródbłonna, a w mniejszym stopniu przez komórki błony środkowej i przydanki. W jej produkcji współuczestniczy szereg enzymów, w tym fosfolipaza A₂, cyclooksigenaza oraz syntaza prostacykliny. Jest uwalniana ze śródbłonna synergicznie z NO, a jej działania są mediowane poprzez aktywację cyklazy adenylowej i wytwa-

Działania naczynio-rozkurczowe	<ul style="list-style-type: none"> • NO działając na cyklazę guanylową prowadzi do wzrostu zawartości cGMP w komórce m. gładkiej, co w konsekwencji prowadzi do aktywacji cGMP-zależnych kinaz i do rozkurczu m. gładkiej naczyń (21) • mechanizm ten stanowi podstawę fizjologicznej regulacji przepływu krwi oraz ciśnienia tętniczego krwi
Działania na płytki krwi	<ul style="list-style-type: none"> • hamowanie adhezji, aktywacji oraz agregacji płytek krwi (127, 128) – synergistycznie z PGI₂. • produkcja NO jest indukowana serotoniną lub ADP uwalnianym z agregujących płytek krwi – sprzężenie zwrotne ujemne
Działania antyproliferacyjne	<ul style="list-style-type: none"> • hamowanie proliferacji mięśni gładkich (VSMC) (27, 28, 129) – w części uzależnione od represji transkrypcji genu cykliny A (130) • hamowanie migracji VSMC <i>in vitro</i> jak i <i>in vivo</i> (mechanizm cGMP zależny) (131) • hamowanie hiperplazji intymy (132) • hamowanie syntezy macierzy pozakomórkowej (133) oraz modulowanie aktywności metaloproteinaz tkankowych (129) • regulacja uwalniania VEGF (134), co pośrednio mogłoby przyczynić się do neowaskularyzacji blaszki miażdżycowej (135)
Działania przeciwzapalne	<ul style="list-style-type: none"> • hamowanie zależnej od czynników prozapalnych i ox-LDL ekspresji cząsteczek adhezyjnych na śródbłonna (np. poprzez hamowanie nf-kb) (136) • Działanie NO na ekspresję CAM może być w części zależne od jego działań przeciwutleniających (regulacja przez stan redox) (136, 137, 138) • hamowanie uwalniania chemokin w ścianie naczynia (139, 140) • hamowanie adhezji i aktywacji leukocytów i monocytów (141, 142), ale także po zastosowaniu donorów NO (141) lub transferu genu NOS (29, 143) – jedną z cech dysfunkcji śródbłonna jest nasiloną adhezja leukocytów do śródbłonna
Działania przeciwutleniające	<ul style="list-style-type: none"> • hamowanie utleniania lipidów • hamowanie oksydaz w komórkach śródbłonna, mięśniówki gładkiej i przydanki (nitrozowanie) • hamowanie oksydazy NADPH w komórkach zapalnych (144)

Tab.1 Naczynioochronne działania tlenu azotu

rzanie cAMP. W ten sposób PGI₂ reguluje rozkurcz mięśniówki gładkiej, działając jednak słabiej od NO (30). Wykazano znaczenie PGI₂ w kompensacji rozkurczu naczyniowego u myszy pozbawionych genu eNOS (31). PGI₂ wywiera również silne działanie antyagregacyjne na płytki krwi. Innym ważnym patofizjologicznie czynnikiem uwalnianym przez śródbłonek naczyniowy jest EDHF (endothelium derived hyperpolarising factor) (30). Niektóre wcześniejsze badania wykazywały jego identyczność z NO, lecz dane ostatnich lat wskazują, że powoduje on rozkurcz naczyń niezależnie od NO czy też PGI₂. Jego charakter pozostaje jednak wciąż niejasny. Niektóre badania wskazują na rolę jonów K⁺ jako EDHF, inne zaś wskazują na wolne rodniki tlenowe (nadtlenek wodoru), jeszcze inne na EDHF jako metabolit kwasu arachidonowego (32). Poza czynnikami ogólnie przyjmując „rozkurczającymi“ naczynia krwionośne, śródbłonek naczyniowy produkuje szereg czynników naczynioskurczowych. Należą do nich endoteliny oraz naczynioskurczowe prostanoidy (tromboksan A2, nadtlenki). Niektóre badania wskazują na rolę anionorodnika ponadtlenkowego jako czynnika naczynioskurczącego wytwarzanego w ścianie naczynia krwionośnego. Jego działanie zachodzi głównie poprzez gwałtowną interakcję z tonicznie wytwarzanym w prawidłowych warunkach NO, jak również na bezpośrednim działaniu kurczącym naczynie krwionośne.

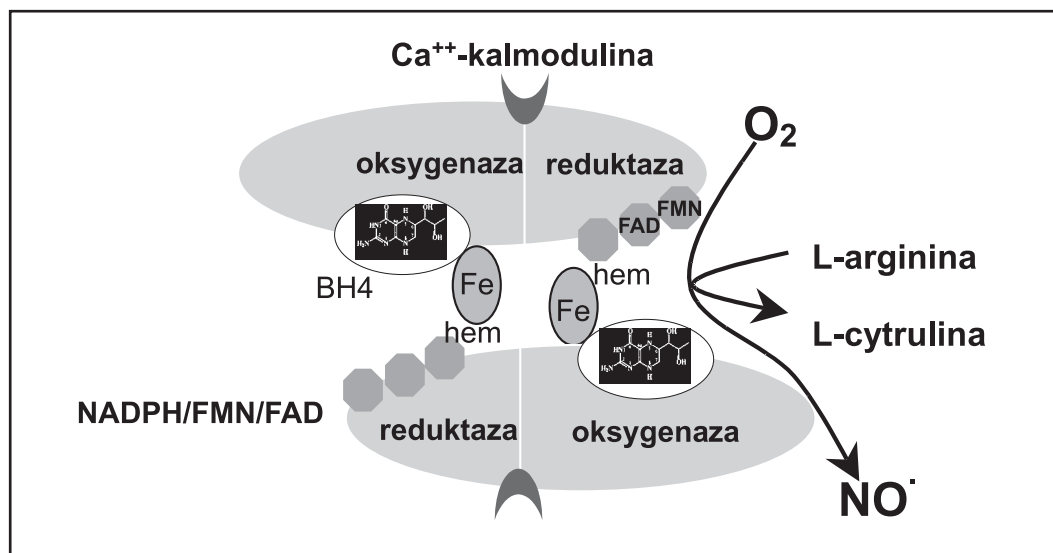
Modele zwierzęce dysfunkcji śródbłonna

Modele zwierzęce umożliwiają badanie naczyniorozkurczowej funkcji śródbłonna w izolowanych naczyniach krwionośnych w odpo-

wiedzi na czynniki uwalniające NO, takie jak: acetylocholina, bradykinina lub jonofor wapnia (A23187) i inne. Ze względu na mnogość modeli zwierzęcych (48590 prac w Medlinie przy wyszukiwaniu endothelial dysfunction + animal) zostaną omównione jedynie te, które autorzy uznają za najważniejsze.

Badania zwierząt z hipercholesterolemią, wskazujące na upośledzenie zależnego od śródbłonna, a mediowanego przez NO, rozkurczu naczyń (33, 34), stanowiły podstawę hipotezy, że upośledzenie bioaktywności NO jest cechą charakterystyczną wczesnych stadiów miażdżycy, i że poprzedza ono rozwój zmian miażdżycowych (35). Postępujące upośledzenie dostępności biologicznej NO jest obserwowane także w modelu genetycznie uwarunkowanej hiperlipidemii u królików Watanabe (36). Co więcej, wykazano, że dysfunkcja śródbłonna w hipercholesterolemii obecna jest nie tylko w tętnicach, lecz także w żyłach szyjnych (37), i że jest ona odwracalna po normalizacji poziomów cholesterolu (36). Dalsze badania wykazały, że upośledzenie zależnych od NO rozkurczów naczyniowych jest charakterystyczne dla modeli zwierzęcych niemal wszystkich znanych czynników ryzyka miażdżycy, w tym cukrzycy i nietolerancji glukozy (38, 39, 40), nadciśnienia tętniczego, zarówno spontanicznego (SHR) jak i indukowanego angiotensyną II lub dietą bogatą w sól (41), a także w modelu zwału serca i niewydolności krążenia (4).

Obecnie istotnych danych na temat dysfunkcji śródbłonna dostarczyć mogą badania zwierząt transgenicznych. W modelu myszy ze znokautowanym genem ApoE, który jest klasycznym i obecnie szeroko stosowanym modelem zwierzęcym miażdżycy, dysfunkcja śród-



Ryc.2 Schemat przedstawiający powstawanie tlenku azotu (NO) w procesie utleniania L-Arg do L-Cyt. NOS katalizuje wbudowywanie molekularnego tlenu do L-Argininy w procesie pięcioelektronowego utleniania jednej z grup z azotowych L-Arg. Proces ten wymaga NADPH oraz innych kofaktorów (hem związanych z enzymem BH₄ (H₄B), FAD, FMN). We współpracy z dr N. Alp

blonka, objawiająca się upośledzeniem rozkurczów naczyniowych wywołanych acetylocholiną, poprzedza powstawanie zmian miażdżycowych w aorcie (42, 43). Co więcej, przywrócenie prawidłowej funkcji śródbłonka zapobiega lub w znacznym stopniu opóźnia powstawanie zmian miażdżycowych (44). Podobne zjawisko obserwowane jest także w innych modelach miażdżycy i stanów przedmiażdżycowych, np. nadciśnienia tętniczego. Warto jednak pamiętać, iż w wielu przypadkach dochodzi do aktywacji mechanizmów kompensacyjnych. Na przykład u myszy *hph-1*, z wrodzonym niedoborem tetrahydrobiopteryny (kofaktora dla eNOS), rozkurcze wywoływane acetylocholiną są zachowane, jednak wynikają nie z ochronnego działania NO lecz z kompensacyjnego naczyniorozkurczającego działania nadtlenku wodoru (45). Cenne narzędzie do badań dysfunkcji śródbłonka mogą stanowić myszy pozbawione genu śródbłonkowej syntazy NO. Mnogość mechanizmów kompensacyjnych zmniejsza wartość tego modelu. U myszy tych stwierdza się dysfunkcję śródbłonka, nadciśnienie tętnicze oraz przyspieszone występowanie miażdżycy w przypadku skrzyżowania z myszami *ApoE^{-/-}* (46).

Znaczenie kliniczne dysfunkcji śródbłonka

Badania kliniczne czynności naczyń krwionośnych prowadzone *in vivo* wykorzystują przede wszystkim pletyzmografię przedramienia, badanie ultrasonograficzne rozkurczu tętnicy ramiennej w odpowiedzi na dotętniczy wlew acetylocholino, lub w odpowiedzi na przywrócenie przepływu krwi w naczyniu (flow mediated dilatation – FMD) (47). Podczas koronarografii możliwe jest badanie reaktywności tętnic wieńcowych w odpowiedzi na wlew acetylocholino lub innych wazoaktywnych substancji (48). Nieliczne badania, między innymi prowadzone przez nasz zespół, dotyczą izolowanych ludzkich naczyń krwionośnych badanych *ex vivo* w łaźni narządowej (66).

Upośledzenie zależnych od śródbłonka rozkurczów naczyniowych wykazano w tętnicach wieńcowych chorych z miażdżycą i współistniejącymi czynnikami ryzyka (49). U chorych z chorobą niedokrwinną serca, nawet w obrębie angiograficznie prawidłowych odcinków tętnic wieńcowych, stwierdza się paradoksalny skurcz (zamiast rozkurczu) w odpowiedzi na czynniki potencjalnie uwalniające NO ze śródbłonka. Wskazuje to na niedobór NO, który umożliwia bezpośrednie kurczące działanie ACh na mięśniówkę gładką (50). W izolowanych tętnicach wieńcowych chorych z miażdżycą, poddawanych transplantacji serca, również stwierdzono upośledzenie dostęp-

ności biologicznej NO w miażdżycowych segmentach w porównaniu z obszarami niezmięzionymi (51). Dysfunkcja jest szczególnie zaznaczona w obszarach rozgałęzień tętnic wieńcowych (52). Potwierdzając wyniki badań u zwierząt wykazano, że dysfunkcja śródbłonka jest obecna w naczyniu całkowicie niezmięzionym (nawet bez pogrubienia intymy) u chorych z czynnikami ryzyka miażdżycy (35, 53), zaś stopień upośledzenia funkcji śródbłonka jest uzależniony od liczby czynników ryzyka (49). W hipercholesterolemii upośledzenie dostępności biologicznej NO (2, 54) w tętnicach wieńcowych jest skorelowane z poziomami cholesterolu (w szczególności ox-LDL) (55) oraz z obecnością podwyższonych poziomów lipoproteiny (a) (56). Czynniki ryzyka miażdżycy prowadzą do upośledzenia funkcji śródbłonkowej, także w naczyniach obwodowych (57), np. tętnicy ramiennej chorych z nadciśnieniem tętniczym (58), palących papierosy (55, 59), oraz w toku starzenia się (2) czy też cukrzycy (60). Prawidłowe leczenie czynników ryzyka prowadzi natomiast do przywrócenia prawidłowej funkcji śródbłonka (61, 62, 63, 64). Podobne działanie ma leczenie przeciwutleniaczami (61). Tak więc dysfunkcja śródbłonka nie jest ograniczona do naczyń rozwijających zmiany miażdżycowe (59, 65).

Najnowsze badania podkreślają istotne znaczenie kliniczne dysfunkcji śródbłonkowej. Schachinger i wsp. wykazali rozwój zmian miażdżycowych wybiórczo w rejonach tętnic wieńcowych, w których około 10 lat wcześniej stwierdzono upośledzenie zależnego od śródbłonka rozkurczu naczyń (48). Co więcej, w badaniu ok. 150 chorych wykazano, iż występowanie dysfunkcji śródbłonka, mierzonej zarówno po dowieńcowym podaniu acetylocholino jak i w tętnicach obwodowych, w odpowiedzi na przywrócenie przepływu (FMD), ma istotne znaczenie w znacznym zwiększeniu występowania incydentów sercowo-naczyniowych w toku 10-letniej obserwacji (48).

Potencjalne mechanizmy dysfunkcji śródbłonkowej

Pomimo znacznej liczby publikacji mających na celu określenie przyczyn ograniczenia dostępności biologicznej NO w miażdżycy, zjawisko to nie znalazło jasnego wyjaśnienia, a uniwersalny mechanizm dysfunkcji śródbłonkowej nie jest znany. Należy przyjąć, iż będąca wykładnikiem funkcji śródbłonka dostępność biologiczna NO w ścianie naczyń krwionośnych i jego działania efektorowe, są uzależnione od równowagi pomiędzy produkcją a biodegradacją NO (66). Dysfunkcja śródbłonka, charakteryzująca się niedoborem do-

stępnego biologicznie NO, może wynikać z obniżenia ekspresji syntazy eNOS, z dysfunkcji eNOS lub też z zaburzenia w obrębie układów przekazujących sygnał aktywacji eNOS. Może ona wreszcie wynikać ze zwiększonej biodegradacji NO. Potencjalne mechanizmy zależnej od NO dysfunkcji śródbłonka zebrano na rycinie 3.

Zmiany ekspresji eNOS

Pomimo że eNOS jest enzymem konstytutywnie obecnym w śródbłonku, jego ekspresja może zmieniać się w zależności od szeregu czynników (w tym sił ścinania (67), ox-LDL i innych (68)). W bardzo zawansowanych zmianach miażdżycowych poziomy eNOS są obniżone (12, 69). Obserwacje te dotyczyły zarówno modeli zwierzęcych jak i tętnic wieńcowych u chorych z miażdżycą (70) i były prowadzone przede wszystkim technikami immunohistochemicznymi oraz hybrydyzacją *in situ*, co utrudnia ich dokładną ilościową interpretację.

Większość badań dotyczących wczesnych stadiów miażdżycy, w których występuje zaawansowana dysfunkcja śródbłonkowa, nie wykazała jednak niedoboru ekspresji eNOS (3, 4, 71). W niektórych sytuacjach, jak np. w nadciśnieniu tętniczym i cukrzycy, poziomy białka eNOS są nawet zwiększone (1). Należy przy tym pamiętać, że wzrost ekspresji eNOS w stanach dysfunkcji śródbłonka nie przekłada się bezpośrednio na poprawę funkcji śródbłonka. W jednej z ostatnio opublikowanych prac wykazano, że transgeniczna nadekspresja eNOS prowadziła u myszy ApoE^{-/-} do nasilenia dysfunkcji śródbłonka i rozwoju miażdżycy (72). Paradoks ten można wytłumaczyć faktem, iż choć enzymu było więcej, ze względu

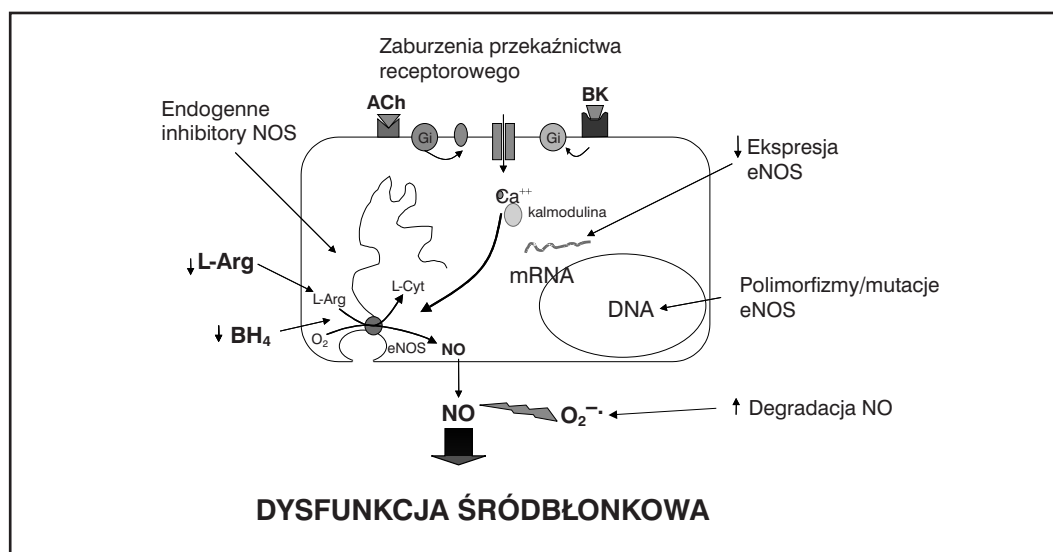
na niedobór kofaktorów i/lub substratu nie produkował on NO, a wręcz przyczyniał się do nasilenia stresu oksydacyjnego (72). Problem ten zostanie omówiony w dalszej części pracy.

W naszych własnych badaniach, u chorych z chorobą niedokrwienną serca, nie stwierdziliśmy zmniejszenia ekspresji eNOS (66). Dlatego też dysfunkcji śródbłonka, w większości przypadków, nie można tłumaczyć jedynie zmniejszoną ekspresją eNOS.

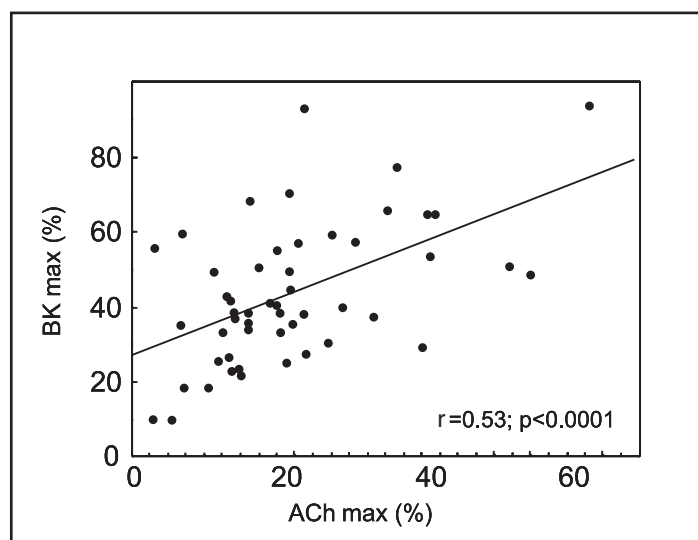
Zmiany aktywności eNOS

Badania ostatnich lat wykazały złożoność mechanizmów regulacji aktywności eNOS w śródbłonku. Należą do nich przede wszystkim (I) regulacja przez białka G sprzężone z odpowiednimi receptorami błonowymi (np. receptorami M2 – muskarynowymi lub B₂ – bradykininowymi), (II) dynamiczna interakcja eNOS z białkami błony komórkowej poprzez acetylację i wiązanie z kaweoliną, (III) fosforylacja – wynika z interakcji pomiędzy układem eNOS a innymi ważnymi układami przekazywania sygnału w komórce (np. układu związanego z Akt) (73, 74), (IV) regulacja na poziomie transkrypcji w odpowiedzi na czynniki takie jak siły ścinania (shear stress) (75), estrogeny, TGF-β oraz glukoza (V) Regulacja posttranskrypcyjna (np. destabilizacja mRNA eNOS przez TNF-alfa).

W warunkach podstawowych (bez stymulacji) eNOS pozostaje związana z błoną komórkową, głównie dzięki hamującej ją interakcji z kaweoliną, w obrębie kaweoli błonowych. Kaweole są drobnymi zagłębieniami błony komórkowej charakteryzującymi się obecnością transmembranowego białka – kaweoliny (79, 80). Są strukturami charakterystycznymi dla komórek



Ryc.3 Potencjalne mechanizmy niedoboru dostępnego biologicznie NO, jako głównej manifestacji dysfunkcji śródbłonka naczyniowego



Ryc.4 Wzajemna korelacja zależnych od NO rozkurczów wywoływanych przez acetylocholinę i bradykininę w naczyniach krwionośnych człowieka (w tym przypadku żyłach odpiszczelowych). Rozkurcze te są mediowane poprzez różne białka G. W związku ze znamiennej korelacją mało prawdopodobny wydaje się znaczący wpływ zaburzeń funkcji białek G w patogenezie dysfunkcji śródbłonna.

śródbłonna naczyniowego, lecz stwierdzono je także w kardiomiocytach oraz innych typach komórek. Ich główną funkcją jest sekwestracja od ogólnego środowiska wewnątrzkomórkowego cząsteczek przekaźnikowych, takich jak białka G, kinazy białkowe a także eNOS. Kaweole są bogate w cholesterol i glikosfingolipidy, zawierają zaś mało fosfolipidów. Stymulacja komórki przy pomocy agonistów wiążących swoje receptory powierzchniowe, związane np. z białkami G, na komórkach śródbłonna (np. bradykinina, substancją P, acetylocholiną, trombiną, ADP, ANP lub innymi mediatorami neurohumoralnymi (16)), prowadzi do gwałtownej aktywacji enzymu poprzez depalmitylację, odłączenie od kaweoli i błony komórkowej, a następnie wiązanie wapnia-kalmoduliny (76, 77). Poza receptorowymi mechanizmami (zależnymi głównie od białek G), także czynniki nefarmakologiczne, takie jak siły ścinania przepływającej krwi (shear stress), są ważnymi fizjologicznymi stymulatorami aktywacji eNOS. Prowadzą one do gwałtownego uwolnienia eNOS z błony komórkowej oraz aktywacji poprzez zależną od Akt fosforylację seryn (73, 74), Siły ścinania prowadzą także do regulacji ekspresji eNOS poprzez transkrypcyjną aktywację promotora (75).

W dysfunkcji śródbłonna interakcja eNOS-kaweolina, hamująca aktywność eNOS, jest nasiloną (78). Postuluje się, że zmiana składu lipidowego błony komórkowej może w hipercholesterolemii przyczyniać się do zaburzeń aktywacji eNOS i dysfunkcji śródbłonna (81). Zaburzenia interakcji pomiędzy eNOS a Hsp90 (82) oraz zależnej od Akt fosforylacji eNOS (73), mogą stanowić dodatkowe mechanizmy zmniejszonej produkcji NO przez śród-

błonek i wymagają dalszych badań. Jako że powyższe mechanizmy regulacji aktywności eNOS zostały stosunkowo niedawno określone, ich znaczenie dla regulacji funkcji śródbłonna może okazać się większe, niż się obecnie przypuszcza. Może to być tym istotniejsze, iż szereg innych czynników, w tym stres oksydacyjny, może modyfikować aktywność eNOS.

Zaburzenia zależnej od białek G aktywacji eNOS (przez acetylocholinę lub bradykininę) mogłyby także być przyczyną zmniejszonej produkcji NO, jak sugerowały prace pokazujące brak korelacji pomiędzy rozkurczami naczyniowymi wywołwanymi acetylocholiną i histaminą (w obu przypadkach aktywacja eNOS jest wynikiem działania innych białek G) (83). Znaczenie tych mechanizmów w zaburzeniach dostępności biologicznej NO nie jest jasne (71). Jednak nasze własne badania w różnych typach naczyń krwionośnych człowieka (tętnicach obwodowych, wieńcowych i żyłach) wykazały znamiennej korelację pomiędzy rozkurczami naczyniowymi mediowanymi przez różne białka G, na przykład pomiędzy rozkurczami wywołwanymi przez acetylocholinę lub przez bradykininę (rycina 4). Oczywiście nie można wykluczyć znaczenia tego zjawiska w ściśle określonych klinicznie grupach chorych, np. z zaburzeniami lipidowymi prowadzącymi do zmian składu błon komórkowych.

Dostępność kofaktorów i substratu eNOS

Problem dostępności substratu oraz kofaktorów dla enzymu jest blisko związany z regulacją aktywności eNOS. Spośród kofaktorów niezbędnych dla aktywności eNOS, w patomechanizmie dysfunkcji śródbłonna dyskutowane jest znaczenie niedoborów L-Argininy (substratu) oraz tetrahydrobiopteriny (BH₄) (kofaktora). Co więcej, wykazano, że eNOS, w stanach niedoboru tych substancji, zamiast wytwarzać NO – produkuje wolne rodniki tlenowe (anionorodnik ponadtlenkowy). Suplementacja L-argininy nie wydaje się również dawać ochronnych efektów klinicznych (84, 85), choć nieliczni badacze wskazują na poprawę funkcji śródbłonna w wyniku suplementacji L-argininy w modelach zwierzęcych (86), jak również u ludzi (87, 88). Wewnątrzkomórkowe stężenia L-Arg (ok. 100 μmol/L) znacznie przekraczają stężenia w osoczu i przekraczają znacznie K_m eNOS (K_m=5 μmol/L), a więc L-Arg raczej nie może stanowić czynnika ograniczającego aktywność eNOS (89). Zwolennicy znaczenia L-argininy natomiast podkreślają, że wysokie wewnątrzkomórkowe stężenia L-argininy dotyczą przede wszystkim komórek śródbłonna w warunkach hodowli bezstresowej, w przy-

padku zaś działania wielu czynników stresogennych wartości te mogą być inne. Skuteczność L-argininy można także tłumaczyć tym, że suplementacja L-Arg może przewyższać hamujące działania endogennych inhibitorów eNOS, obecnych we krwi chorych z miażdżycą (ADMA – *asymmetric dimethyl arginine*) (90, 91, 92); czyli to ADMA raczej niż niedobór L-Argininy mógłby odgrywać istotną rolę w patogenezie dysfunkcji śródbłonna (92).

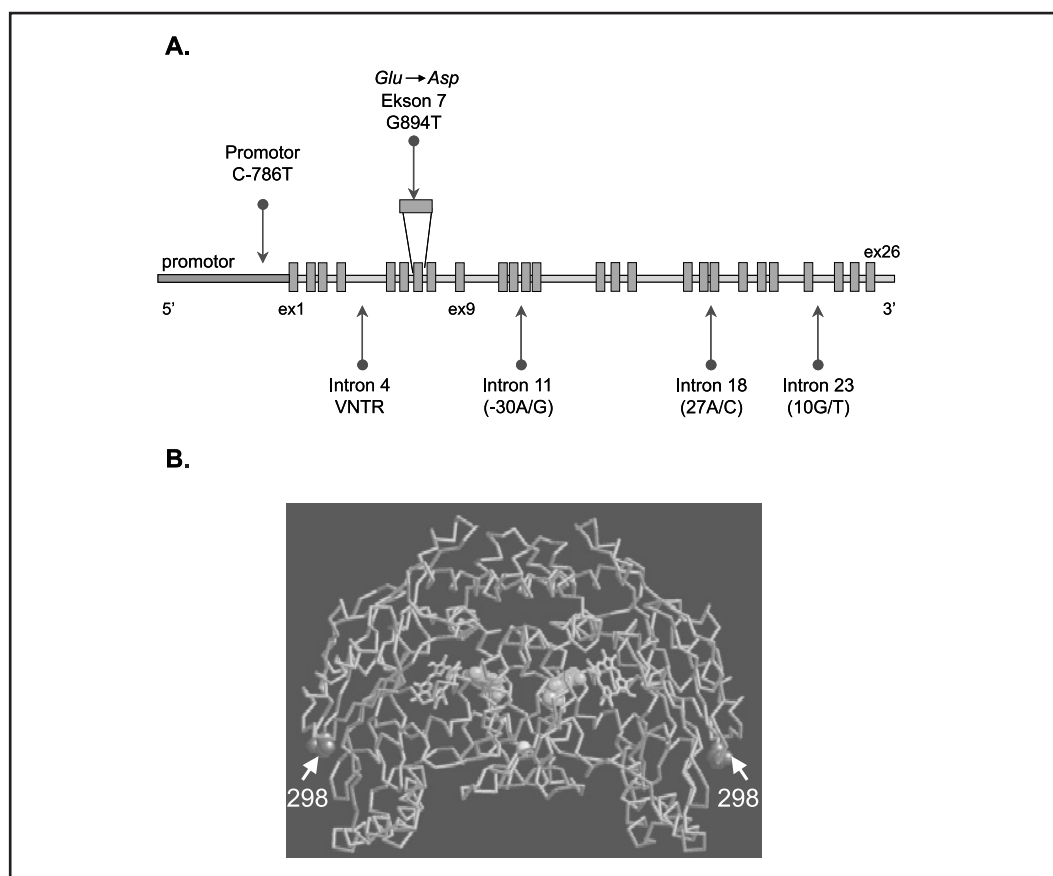
Coraz wyraźniej natomiast rysuje się znaczenie niedoboru tetrahydrobiopteryny (BH₄) w patogenezie dysfunkcji śródbłonna. BH₄ jest niezbędna dla aktywności eNOS i utrzymania jej dimeryzacji (93) (rycina 2). W warunkach niedoboru BH₄ monomer NOS transportuje elektrony do tlenu cząsteczkowego, a nie do L-argininy, i w reakcji tej powstają wolne rodniki tlenowe, a nie NO (45, 94, 95, 96). Niedobór BH₄ stwierdzono w hipercholesterolemii (97), a także w cukrzycy i innych stanach przedmiażdżycowych (40, 98). Zahamowanie syntezy BH₄ upośledza funkcję śródbłonna w tętnicy podstawnej mózgu u psa (99), zaś podawanie BH₄ w eksperymentach *ex vivo* prowadzi do częściowej korekcji dysfunkcji śródbłonna. Podobnie znamienne poprawę funkcji śródbłonna obserwowaliśmy we własnych ba-

daniach na modelach zwierzęcych u myszy z cukrzycą (100) i ApoE^{-/-} (44), po zastosowaniu transgenicznej nadekspresji enzymu syntetyzującego tetrahydrobiopterynę.

Należy jednak pamiętać, że BH₄ jest bardzo reaktywna i w warunkach *in vivo* może teoretycznie przyczynić się do tworzenia wolnych rodników tlenowych (101, 102). Wyjaśnienie tych niejasności wymaga dalszych badań. Czy więc suplementacja w diecie substratów lub kofaktorów eNOS będzie w przyszłości stanowić ważną metodę zapobiegania dysfunkcji śródbłonna – nie jest jasne.

Polimorfizmy eNOS

Inną bardzo atrakcyjną hipotezą jest związek dysfunkcji śródbłonna ze zmiennością genetyczną eNOS (103). Zaobserwowano, że dysfunkcja śródbłonna występuje szczególnie u młodych osób, u których wśród krewnych pierwszego stopnia występowała wczesna (<55 r.ż.) śmierć z powodu zawału serca (104, 105), co wskazuje na istotną komponentę dziedziczną w uwarunkowaniu dysfunkcji śródbłonna. Najbardziej oczywistymi kandydatami, których zmienność genetyczna mogłaby leżeć u pod-



Ryc.5 Struktura genu kodującego eNOS oraz polimorfizmy genetyczne w obrębie tego genu z uwypukleniem tych, które z funkcją śródbłonna wydają się być najsilniej związane. Panel B: struktura krystalograficzna eNOS z zaznaczeniem lokalizacji polimorfizmu Glu298Asp. Zmodyfikowano na podstawie (165)

staw tego zjawiska są geny bezpośrednio związane z regulacją dostępności biologicznej NO.

W obrębie genu kodującego eNOS zlokalizowano szereg polimorfizmów genetycznych, które mogą potencjalnie prowadzić do zmian ekspresji lub funkcji syntazy tlenu azotu (rycina 5). W niniejszej pracy omówione zostaną dwa z polimorfizmów, obecnie uważane za najistotniejsze.

Co ciekawe, tylko jeden z opisywanych polimorfizmów znajduje się w obrębie sekwencji kodującej eNOS (w obrębie eksonu 7 genu), a więc prowadzi bezpośrednio do zmiany sekwencji aminokwasowej białka eNOS (zmiana Glu na Asp w pozycji 298). Zmiana ta nie wydaje się dotyczyć istotnej czynnościowo części białka eNOS, jednak istnieje szereg badań sugerujących różnice w funkcji śródbłonna w zależności od tego polimorfizmu. Pomimo tych obserwacji, w badaniach izolowanego enzymu *in vitro* nie udało się wykazać znaczenia czynnościowego zamiany Glu na Asp w pozycji 298 dla produkcji NO przez enzym. Przed kilkoma laty pojawiła się praca wskazująca na fakt, iż zamiana Glu298Asp może powodować nasiloną degradację białka eNOS w komórce (106), co mogłoby tłumaczyć czynnościowe związki tego polimorfizmu. Szybko jednak okazało się, iż obserwacja ta jest wynikiem artefaktu związanego z charakterystyką buforu Laemelli stosowanego w immunoblottingu, gdyż różnica nie była obserwowana w przypadku zastosowania jakiegokolwiek innego buforu (107).

Badania związku tego polimorfizmu z dysfunkcją śródbłonna nie są jednak zgodne (108, 109). Większość pozytywnych związków pomiędzy funkcją śródbłonna a polimorfizmem Glu298Asp dotyczył przede wszystkim podgrup w analizowanych populacjach, a nie całych badanych populacji. W szczególności związek był obserwowany u chorych młodych. Nasze własne badania prowadzone w żyłach odpiszczelowych i tętnicach piersiowych wewnętrznych nie wykazały znamionnego związku tego polimorfizmu z funkcją śródbłonna naczyńowego, mierzoną przy pomocy pomiarów rozkurczów naczyńowych wywołanych acetylocholiną (103). Nie można natomiast wykluczyć, iż wpływ tego polimorfizmu jest bardziej dyskretny, w sytuacji *in vivo*, i może na przykład być związany ze zmianami produkcji anionu nadtlenkowego przez eNOS (dysfunkcję eNOS) (110). Należy także pamiętać o potencjalnie istotnym znaczeniu powiązania genetycznego (wspólnego dziedziczenia) pomiędzy polimorfizmami zlokalizowanymi we wzajemnej bliskości (*linkage disequilibrium*). Może to oznaczać, iż związki obserwowane pomiędzy polimorfizmem Glu298Asp, a funkcją śródbłonna naczyńowego, obserwowane w wybranych populacjach, mogą być wy-

nikiem powiązania pomiędzy tym polimorfizmem a innym, na przykład w obrębie promotora genu. Bardzo ciekawych obserwacji dostarczyła opublikowana ostatnio praca, w której pokazano, że choć polimorfizm Glu298Asp nie był bezpośrednio powiązany z funkcją śródbłonna naczyńowego, to jego występowanie w znacznym stopniu determinuje skuteczność ochronnego działania na funkcję śródbłonna nienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie (111).

Również zmienność genetyczna w obrębie promotora genu eNOS może prowadzić do różnej ekspresji tego genu, a przez to może być powiązana z funkcją śródbłonna naczyńowego (112). Polimorfizmem, na którego znaczenie czynnościowe zwraca uwagę szereg badań, jest polimorfizm C-786T. We wstępnych badaniach z zastosowaniem plazmidów zawierających gen lucyferazy, pod kontrolą promotora eNOS zawierającego poszczególne warianty C lub T wykazano, iż polimorfizm ten prowadzi do znacznego zmniejszenia aktywności promotora, zarówno w warunkach normoksji jak i w warunkach hipoksji (113). Autorzy ci podkreślali szczególnie znaczenie tego polimorfizmu zwiększające występowanie skurczu tętnic wieńcowych (kardiologiczny zespół X). Dalsze prace wskazały na zmianę aktywności promotora indukowaną siłami ścinania, aż wreszcie badania kliniczne z zastosowaniem rozkurczu naczyńowego indukowanego przywróceniem przepływu krwi (*flow mediated dilatation – FMD*) powiązały występowanie tego polimorfizmu z dysfunkcją śródbłonna (112). Co więcej, efekty czynnościowe polimorfizmu Glu298Asp obserwowane przez niektórych autorów wydają się potencjalnie wynikać z powiązania genetycznego (*linkage disequilibrium*) występującego pomiędzy tymi dwoma polimorfizmami (112).

Ostatnim polimorfizmem, na który relatywnie często zwraca się uwagę, iż może on wpływać na podatność na schorzenia układu sercowo-naczyńowego, jest polimorfizm VNTR (*variable-number tandem repeat*) w obrębie intronu 4, jednak jak dotąd nie wykazano jasnych związków tego polimorfizmu z dysfunkcją śródbłonna naczyńowego.

Stres oksydacyjny i nasilona biodegradacja NO

Dostępność biologiczna NO, będąca wykładnikiem dysfunkcji śródbłonna w naczyniu krwionośnym, jest wypadkową jego produkcji i degradacji. W związku z tym kolejnym, a co ważniejsze odgrywającym być może najbardziej istotną rolę w patogenezie dysfunkcji śródbłonna w naczyniach krwionośnych u chorych z miażdżycą elementem może być nasilona bio-

degradacja NO w sytuacji obciążenia czynnikami ryzyka miażdżycy i innymi czynnikami (tabela 2). Jednym z najważniejszych mechanizmów biodegradacji NO jest gwałtowna interakcja pomiędzy NO a anionem nadadtlenkowym O_2^- . Reakcja O_2^- z NO jest ponad trzykrotnie szybsza niż jego eliminacja przez układy enzymatyczne, głównie SOD ($K_m=6,7 \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$). Dlatego też nawet umiarkowany wzrost produkcji anionorodnika nadadtlenkowego może w znacznym stopniu zmniejszać dostępność biologiczną NO (114), oraz prowadzić do powstawania toksycznego nadtlenoazotynu (115), który silnie nitrozyluje i utlenia lipidy oraz białka zarówno wewnątrz- jak i zewnątrzkomórkowe (116). Można więc uznać, że w naczyniach krwionośnych zachodzi współzawodnictwo pomiędzy NO a SOD do interakcji z anionorodnikiem nadadtlenkowym, zaś reakcja z NO jest termodynamicznie znacznie bardziej efektywna. W warunkach fizjologicznych ustala się względna równowaga między O_2^- i NO, warunkująca prawidłową czynność naczyń krwionośnych (117). W warunkach nadprodukcji O_2^- nadmiernie inaktywuje NO, co skutkuje zahamowaniem ochronnych działań NO w naczyniu krwionośnym (tabela 1).

Jeśli produkcja rodników przewyższa możliwości przeciwutleniające komórek (w tym układy dysmutaz nadadtlenkowych, glutation, tioredoksyny i inne), ujawniają się ich właściwości toksyczne, na które składają się utlenianie białek, lipidów a także DNA, co prowadzi do stanu określanego jako stres oksydacyjny (89, 118). Wiadomo obecnie, że stres oksydacyjny towarzyszy dysfunkcji śródbłonna zarówno w hipercholesterolemii, miażdżycy, cukrzycy jak i w nadciśnieniu tętniczym (118) (tabela 2). Liczne przesłanki teoretyczne, doświadczalne i kliniczne wskazują, na istnienie związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy nadprodukcją wolnych rodników tlenowych w ścianie naczyniowej i rozwojem dysfunkcji śródbłonna. Modele zwierzęce dysfunkcji śródbłonna wykazują, że jest ona związana nie tylko z obniżeniem dostępności biologicznej NO, lecz także ze zwiększoną produkcją wolnych rodników tlenowych, w szczególności anionorodnika nadadtlenkowego (114). Początkowo zwracano uwagę przede wszystkim na toksyczne działanie wolnych rodników tlenowych. Obecnie wiadomo, że są one produkowane niemal we wszystkich komórkach organizmu, pełniąc szereg ważnych funkcji regulacyjnych. Biorą udział w przekazywaniu sygnałów wewnątrzkomórkowych (119), uczestniczą w regulacji ekspresji genów, określanych mianem redox-wrażliwych (100, 120), a także w regulacji napięcia naczyń, działając naczyniokurcząco (O_2^-) lub naczyniorozkurcząco (H_2O_2) (121).

Naczynioskurczowe działanie O_2^- (122, 123) wynika przede wszystkim z jego interakcji z NO i usuwaniem naczyniorozkurczających właściwości NO, lecz także z jego bezpośredniego działania na kanały potasowe. Anionorodnik nadadtlenkowy może także bezpośrednio kurczyć naczynia poprzez oksydację cykloz guanidylowych, a także poprzez inaktywację prostanoidów. Obok O_2^- także inne „wolne rodniki” (np. powstałe w procesie utleniania lipidów i oxy-LDL), mogą inaktywować NO, a przez to przyczyniać się do objawów niewydolności śródbłonna (118). Interakcja pomiędzy NO a O_2^- była przedmiotem licznych badań w modelach zwierzęcych dysfunkcji śródbłonkowej (tabela 2).

Badania doświadczalne, jak i ostatnio badania kliniczne, potwierdziły, że w szeregu sytuacji klinicznych, istotnych w patogenezie miażdżycy, powodem zmniejszonej dostępności biologicznej NO jest jego nadmierne usuwanie w reakcji z O_2^- (114). Nadmierna degradacja NO przez O_2^- została po raz pierwszy wykazana w modelach zwierzęcych hipercholesterolemii (124), a następnie w innych modelach dysfunkcji śródbłonna (118) oraz w niewydolności serca. Zjawisko to ma także znaczenie kliniczne w miażdżycy, ponieważ u chorych z chorobą niedokrwinną serca i czynnikami ryzyka miażdżycy obserwuje się silną interakcję pomiędzy O_2^- a NO w ścianie naczyń, zarówno tętniczych jak i żylnych (125). Warto jednak podkreślić, iż w niektórych postaciach dysfunkcji śródbłonna (np. w cukrzycy), obok nasilonej degradacji NO, upośledzona jest także jego produkcja (117). Inaktywacja NO przez O_2^- odgrywa rolę w niemal wszystkich modelach dysfunkcji śródbłonna, choć w niektórych sytuacjach, np. w chorobie wieńcowej, niewydolności serca oraz cukrzycy, mechanizm jest prawdopodobnie mieszany, gdyż dochodzi także do zaburzenia aktywności eNOS.

Ważnych dowodów na czynnościowe znaczenie stresu oksydacyjnego w dysfunkcji śródbłonna dostarczają badania kliniczne, wykazujące poprawę funkcji śródbłonna (na ogół z zastosowaniem FMD, po zastosowaniu witamin antyoksydacyjnych (przeciwutleniaczy, w szczególności witaminy C i E) u chorych z cukrzycą, palaczy, chorych z hipercholesterolemią lub hiperhomocysteinemią (126). Ostatnio Heitzer i wsp. zastosowali ocenę poprawy FMD po infuzji witaminy C, aby zidentyfikować pacjentów, u których występuje stan stresu oksydacyjnego, wśród chorych z chorobą niedokrwinną serca. Następnie obserwowali występowanie incydentów sercowo-naczyniowych (śmierci, zawałów mięśnia sercowego, udarów niedokrwiniowych) przez okres 4,5 roku. Wykazali, że dysfunkcja śródbłonna zwią-

zana ze stresem oksydacyjnym jest niezależnym czynnikiem ryzyka występowania incydentów sercowo-naczyniowych (126).

Podsumowanie

Wszystkie wymienione powyżej mechanizmy mogą w różnym stopniu przyczyniać się do dysfunkcji śródbłonkowej w miażdżycy, jednak wydaje się, że zmniejszonej dostępności biologicznej NO nie towarzyszą równie dramatyczne zmiany produkcji NO. Wzrost ekspresji enzymu, przy jednoczesnym spadku dostępności biologicznej jego produktu, może wskazywać na degradację NO jako ważną przyczynę NO-zależnej dysfunkcji śródbłonka. Ponadto w niemal wszystkich stanach patologicznych towarzyszących dysfunkcji śródbłonka stwierdza się nasiloną produkcję nadtlenoazotynu (ONOO^-) oraz nitrozylację białek (ONOO^- jest produktem interakcji pomiędzy NO a anionorodnikiem ponadtlenkowym), co może wskazywać na zwiększoną degradację

NO jako jeden z najważniejszych, w wielu sytuacjach klinicznych, mechanizmów dysfunkcji śródbłonka.

Streszczenie

Prawidłowa funkcja śródbłonka naczyniowego jest uzależniona od delikatnej równowagi pomiędzy licznymi czynnikami wydzielanymi przez śródbłonek. Niedobór czynników ochronnych – takich jak tlenek azotu (NO) czy też prostacyklina (PGI_2) – i przewaga czynników aktywujących, jest wykładnikiem dysfunkcji śródbłonka naczyniowego. Pojęcie dysfunkcji śródbłonka jest bardzo trudne do jednoznacznego zdefiniowania, gdyż obejmuje problematykę patofizjologii, biologii molekularnej i komórkowej oraz farmakologii. Ze względu na kluczową rolę NO w regulacji czynności śródbłonka, za miarę dysfunkcji śródbłonkowej przyjęto dostępność biologiczną NO w naczyniu. Mechanizmy dysfunkcji śródbłonka w naczyniach krwionośnych człowieka, pomimo

Hipercholesterolemia	<ul style="list-style-type: none"> • zmniejszona dostępność biologiczna NO w aorcie królika z hipercholesterolemią (124) jest przywracana poprzez wymiatacze O_2^- (145) oraz dysmutazy ponadtlenkowej (146, 147, 148) • związane z działaniem cholesterolu, gdyż normalizacja jego poziomów przywraca prawidłową NO zależną funkcję śródbłonka (149) • progresji zmian miażdżycowych w hipercholesterolemii towarzyszy zwiększenie ekspresji redoks wrażliwych genów (np. VCAM, cytokin zapalnych oraz regulujących proliferację i migrację VSMC (150)), co prowadzi do dalszej progresji zmian miażdżycowych
Nadciśnienie tętnicze	<ul style="list-style-type: none"> • w modelu nadciśnienia wywołanego wlewem angiotensyny II (151) • blokery receptora AT1 (Losartan) hamują stres oksydacyjny i odwracają dysfunkcję śródbłonka • hydralazyna również hamuje produkcję anionorodnika ponadtlenkowego albo poprzez swe bezpośrednie działanie na ciśnienie (151, 152), lub przez działanie przeciwutleniające (153) • podobnie w innych modelach, np. w nadciśnieniu indukowanym zwężeniem aorty (aortic banding) oraz zależnym od podaży soli (DOCA salt) (154) • we wszystkich powyższych modelach nadciśnienia, dysfunkcji śródbłonka towarzyszyło jednoczesne zwiększenie poziomów eNOS i produkcji wolnych rodników tlenowych (1, 151, 152, 155, 156)
Cukrzyca i nietolerancja glukozy	<ul style="list-style-type: none"> • w ludzkich komórkach śródbłonka wzrost glukozy w medium zwiększa ekspresję eNOS o około 40%, jednocześnie ponad 3 razy zwiększając produkcję O_2^- (157) i prowadząc do dysfunkcji śródbłonka • w hiperinsulinizmie u szczurów produkcja O_2^- jest podwojona (158, 159) • podobnie w innych modelach, cukrzycy (160) zwiększonej produkcji O_2^- towarzyszy dysfunkcja śródbłonkowa odwracalna przez wymiatacze wolnych rodników (159, 161)
Niewydolność serca	<ul style="list-style-type: none"> • w niewydolności serca wywołanej eksperymentalnym zawałem produkcja O_2^- jest podwyższona (4, 162), a dysmutaza ponadtlenkowa odwraca dysfunkcję śródbłonkową (163)
Tolerancja nitratów	<ul style="list-style-type: none"> • związana ze znacznym zwiększeniem produkcji O_2^- i następowym upośledzeniem dostępności biologicznej NO (153, 164).

Tab.2 Nasilenie biodegradacji NO przez anion ponadtlenkowy w przypadku występowania wybranych czynników ryzyka miażdżycy i innych sytuacjach klinicznych

wielu lat badań, nie są jasno określone. Obecna praca ma na celu krytyczną analizę dostępnych danych na temat potencjalnych mechanizmów dysfunkcji śródbłonka w miażdżycy, zarówno w modelach zwierzęcych jak i w badaniach klinicznych. Omówione zostały dane wskazujące na potencjalne znaczenie zaburzeń syntezy NO, wynikające ze zmian ekspresji eNOS lub ze zmian aktywności enzymu. W szczególności dysfunkcja śródbłonka może być związana z ograniczeniem dostępności substratu lub kofaktorów dla eNOS. Omówiono także potencjalne znaczenie polimorfizmów genetycznych w obrębie genu kodującego eNOS dla dysfunkcji śródbłonka. Dostępność biologiczna NO, będąca wykładnikiem dysfunkcji śródbłonkowej w naczyniu krwionośnym, jest wypadkową jego produkcji i degradacji. W związku z tym istotnym elementem patogenezы dysfunkcji śródbłonka w naczyniach krwionośnych u chorych z miażdżycą może być nasilona biodegradacja NO przez anion ponadtlenkowy. Stres oksydacyjny może także bezpośrednio modyfikować funkcję śródbłonka. W wielu sytuacjach klinicznych stres oksydacyjny wydaje się być jednym z najważniejszych mechanizmów dysfunkcji śródbłonka.

Abstract

The role of endothelium in the maintenance of vascular homeostasis results from the balance between numerous factors secreted by the endothelial cell. The loss of protective factors like nitric oxide (NO) or prostacyclin (PGI₂), and overproduction of activating factors (like endothelins or superoxide), are characteristic features of endothelial dysfunction. The problem of endothelial dysfunction covers numerous fields including pharmacology, pathology and molecular biology, and as such

is quite difficult to clearly define. Therefore, due to a key role played by NO, nitric oxide bioavailability is now considered to be the most sensitive marker of endothelial dysfunction.

The mechanisms of endothelial dysfunction, despite vast number of studies, remain unclear. This review aims to critically analyze the problem of the importance of numerous potential mechanisms described in the literature, in relation primarily to human pathology.

The first and most obvious mechanisms discussed, are related to reduced production of nitric oxide in the vascular wall. These include decreased eNOS expression, observed mainly in advanced atherosclerosis, loss of eNOS cofactors (like tetrahydrobiopterin) or substrates (like L-Arginine). The importance of genetic polymorphism in regulating expression and/or activity of eNOS is also discussed. Nitric oxide bioavailability, results however from a balance between NO's production and biodegradation. Accordingly, second large group of factors which may potentially limit NO bioavailability includes its increased degradation. Vascular superoxide production within the endothelium itself as well as in the media and adventitia may play an important role. Oxidative stress, may also cause direct modification of endothelial function via its effects on numerous redox sensitive pathways and genes. In many clinical conditions oxidative stress may be the sole most important factor affecting and potentially causing endothelial dysfunction.

Adres autora:

*Katedra Farmakologii Collegium Medicum UJ
ul. Grzegorzewska 16
31-531 Kraków
tguzik@well.ox.ac.uk*

Piśmiennictwo:

1. Bouloumie A, Bauersachs J, Linz W i wsp., Endothelial dysfunction coincides with an enhanced nitric oxide synthase expression and superoxide anion production, *Hypertension*, 1997,30,934-41. 2. Zeiher AM, Drexler H, Saurbier B i wsp., Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans. Effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension, *J Clin Invest*, 1993,92,652-662. 3. Warnholtz A, Nickenig G, Schulz E i wsp., Increased nadh-oxidase-mediated superoxide production in the early stages of atherosclerosis : Evidence for involvement of the renin-angiotensin system, *Circulation*, 1999,99,2027-2033. 4. Bauersachs J, Bouloumie A, Fraccarollo D i wsp., Endothelial dysfunction in chronic myocardial infarction despite increased vascular endothelial nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase expression : Role of enhanced vascular superoxide production, *Circulation*, 1999,100,292-8.
5. Michel T, Feron O, Nitric oxide synthases: Which, where, how, and why?, *J Clin Invest*, 1997,100,2146-52. 6. Kriegsfeld LJ, Dawson TM, Dawson VL i wsp., Aggressive behavior in male mice lacking the gene for neuronal nitric oxide synthase requires testosterone, *Brain Res*, 1997,769,66-70. 7. Mashimo H, Goyal RK, Lessons from genetically engineered animal models. Iv. Nitric oxide synthase gene knockout mice, *Am J Physiol*, 1999,277,G745-50. 8. Huang PL, Huang ZH, Mashimo H i wsp., Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase, *Nature*, 1995,377,239-242. 9. Lee PC, Wang ZL, Qian S i wsp., Endothelial nitric oxide synthase protects aortic allografts from the development of transplant arteriosclerosis, *Transplantation*, 2000,69,1186-92.
10. Griffith OW, Stuehr DJ, Nitric oxide synthases: Properties and catalytic mechanism, *Ann Rev Physiol*, 1995,57,707-736. 11. Yan Z, Hansson GK, Overexpression of inducible nitric oxide synthase by neointimal smooth muscle cells, *Circulation Research*, 1998,82,21-29. 12. Wilcox JN, Subra-

manian RR, Sundell CL i wsp., Expression of multiple isoforms of nitric oxide synthase in normal and atherosclerotic vessels, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997,17,2479-88. **13.** Kibbe M, Billiar T, Tzeng E, Inducible nitric oxide synthase and vascular injury, *Cardiovascular Research*, 1999,43,650-657. **14.** Boulanger CM, Heymes C, Benessiano J i wsp., Neuronal nitric oxide synthase is expressed in rat vascular smooth muscle cells: Activation by angiotensin II in hypertension, *Circ Res*, 1998,83,1271-8.

15. Schwarz PM, Kleinert H, Forstermann U, Potential functional significance of brain-type and muscle-type nitric oxide synthase expressed in adventitia and media of rat aorta, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999,19,2584-90. **16.** Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S, Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor, *Nature*, 1987,327,524-526. **17.** Stamler JS, Redox signaling: Nitrosylation and related target interactions of nitric oxide, *Cell*, 1994,78,931-936. **18.** Keane JF, Jr, Simon DI, Stamler JS i wsp., No forms an adduct with serum albumin that has endothelium-derived relaxing factor-like properties, *J Clin Invest* 1993,91,1582-1589. **19.** Gow AJ, Luchsinger BP, Pawloski JR i wsp., The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999,96,9027-32.

20. Jia L, Bonaventura C, Bonaventura J i wsp., S-nitrosohaemoglobin - a dynamic activity of blood involved in vascular control, *Nature*, 1996,380,221-226. **21.** Umans JG, Levi R, Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure, *Annu Rev Physiol* 1995,57,771-790. **22.** Harrison DG, Alterations of vasomotor regulation in atherosclerosis, *Cardiovasc Drugs Ther*, 1995,9 Suppl. 1,55-63. **23.** Rudic RD, Shesely EG, Maeda N i wsp., Direct evidence for the importance of endothelium-derived nitric oxide in vascular remodeling, *J Clin Invest*, 1998,101,731-6. **24.** Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K i wsp., Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointima formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits, *Arterioscler Thromb*, 1994,14,753-759.

25. Candipan RC, Wang BY, Buitrago R i wsp., Regression or progression - dependency on vascular nitric oxide, *Arterio Thromb Vasc Biol* 1996,16,44-50. **26.** Cooke JP, Role of nitric oxide in progression and regression of atherosclerosis, *West J Med*, 1996,164,419-424. **27.** Groves PH, Banning AP, Penny WJ i wsp., The effects of exogenous nitric oxide on smooth muscle cell proliferation following porcine carotid angioplasty, *Cardiovasc Res*, 1995,30,87-96. **28.** Marks DS, Vita JA, Folts JD i wsp., Inhibition of neointimal proliferation in rabbits after vascular injury by a single treatment with a protein adduct of nitric oxide, *J Clin Invest*, 1995,96,2630-2638. **29.** Channon KM, Qian HS, George SE, Nitric oxide synthase in atherosclerosis and vascular injury: Insights from experimental gene therapy, *Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol*, 2000,20,1873-1881.

30. Lüscher TF, Tanner FC, Tschudi MR i wsp., Endothelial dysfunction in coronary artery disease, *Annu Rev Med*, 1993,44,395-418. **31.** Godecke A, Decking UK, Ding Z i wsp., Coronary hemodynamics in endothelial nitric oxide synthase knockout mice, *Circ Res*, 1998,82,186-94. **32.** Edwards G, Dora KA, Gardener MJ i wsp., K⁺ is an endothelium-derived hyperpolarising factor in rat arteries, *Nature*, 1998,396,269-271. **33.** Shimokawa H, Vanhoute PM, Impaired endothelium-dependent relaxation to aggregating platelets and related vasoactive substances in porcine coronary arteries in hypercholesterolemia and atherosclerosis, *Circ Res*, 1989,64,900-914. **34.** Verbeuren TJ, Jordaens FH, Zonnekeyn LL i wsp., Effect of hypercholesterolemia on vascular reactivity in the rabbit. I. Endothelium-dependent and endothelium-independent contractions and relaxations in isolated arteries of control and hypercholesterolemic rabbits, *Circ Res*, 1986,58,552-564.

35. Mano T, Masuyama T, Yamamoto K i wsp., Endothelial dysfunction in the early stage of atherosclerosis precedes appearance of intimal lesions assessable with intravascular ultrasound, *Am Heart J*, 1996,131,231-8. **36.** Kroon AA, Stalenhoef AF, Buikema H i wsp., The effect of cholesterol reduction on the endothelial function and progression of atherosclerosis in whhl rabbits, *Atherosclerosis*, 1993,103,221-30. **37.** Davies MG, Klyachkin ML, Kim JH i wsp., Prolonged hypercholesterolemia induces reversible alterations in venous vasomotor function, *J Invest Surg*, 1995,8,43-55. **38.** Soriano FG, Pacher P, Mabley J i wsp., Rapid reversal of the diabetic endothelial dysfunction by pharmacological inhibition of poly(adp-ribose) polymerase, *Circ Res*, 2001,89,684-91. **39.** Shinozaki K, Hirayama A, Nishio Y i wsp., Coronary endothelial dysfunction in the insulin-resistant state is linked to abnormal pteridine metabolism and vascular oxidative stress, *J Am Coll Cardiol*, 2001,38,1821-8.

40. Pieper GM, Acute amelioration of diabetic endothelial dysfunction with a derivative of the nitric oxide synthase cofactor, tetrahydrobiopterin, *J Cardiovasc Pharmacol*, 1997,29,8-15. **41.** Alexander MY, Brosnan MJ, Hamilton CA i wsp., Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase improves nitric oxide-dependent endothelial function in a hypertensive rat model, *Cardiovasc Res*, 1999,43,798-807. **42.** d'Uscio LV, Baker TA, Mantilla CB i wsp., Mechanism of endothelial dysfunction in apolipoprotein e-deficient mice, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001,21,1017-22. **43.** Yang R, Powell-Braxton L, Ogaawara AK i wsp., Hypertension and endothelial dysfunction in apolipoprotein e knockout mice, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999,19,2762-8. **44.** Alp NJ, McAteer MA, Khoo J i wsp., Increased endothelial tetrahydrobiopterin synthesis by targeted transgenic gtp-cyclohydrolase I overexpression reduces endothelial dysfunction and atherosclerosis in apoE-knockout mice, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004,24,445-50.

45. Cosentino F, Barker JE, Brand MP i wsp., Reactive oxygen species mediate endothelium-dependent relaxations in tetrahydrobiopterin-deficient mice, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001,21,496-502. **46.** Kuhlencordt PJ, Gyurko R, Han F i wsp., Accelerated atherosclerosis, aortic aneurysm formation, and ischemic heart disease in apolipoprotein e/endothelial nitric oxide synthase double-knockout mice, *Circulation*, 2001,104,448-54. **47.** Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ i wsp., Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the international brachial artery reactivity task force, *J Am Coll Cardiol*, 2002,39,257-65. **48.** Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM, Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease, *Circulation*, 2000,101,1899-906. **49.** Vita JA, Treasure CB, Nabel EG i wsp., Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease, *Circulation*, 1990,81,491-7.

50. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL i wsp., Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries, *N Engl J Med*, 1986,315,1046-1051. **51.** Bossaller C, Habib GB, Yamamoto H i wsp., Impaired muscarinic endothelium-dependent relaxation and cyclic guanosine 5'-monophosphate formation in atherosclerotic human coronary artery and rabbit aorta, *J Clin Invest*, 1987,79,170-174. **52.** McLenachan JM, Vita J, Fish DR i wsp., Early evidence of endothelial vasodilator dysfunction at coronary branch points, *Circulation*, 1990,82,1169-73. **53.** Vanhoutte PM, Endothelial dysfunction and atherosclerosis, *Eur Heart J*, 1997,18 Suppl E, E19-29. **54.** Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME i wsp., Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans, *J Clin Invest*, 1990,86,228-234.

55. Heitzer T, Yla-Herttuala S, Luoma J i wsp., Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia. Role of oxidized LDL, *Circulation*, 1996,93,1346-53. **56.** Tsurumi Y, Nagashima H, Ichikawa K i wsp., Influence of plasma lipoprotein (a) levels on coronary vasomotor response to acetylcholine, *J Am Coll Cardiol*, 1995,26,1242-50. **57.** Williams SB, Cusco JA, Roddy MA i wsp., Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus, *J Am Coll Cardiol*, 1996,27,567-574. **58.** Calver A, Collier J, Moncada S i wsp., Effect of local intra-arterial ng-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension: The nitric oxide dilator mechanism appears abnormal, *J Hypertens*, 1992,10,1025-1031. **59.** Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD i wsp., Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations, *JACC*, 1995,26,1235-1241.

60. Calver A, Collier J, Vallance P, Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes, *J Clin Invest*, 1992,90,2548-2554. **61.** Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC i wsp., The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion, *N Engl J Med*, 1995,332,488-493. **62.** Egashira K, Hirooka Y, Kai H i wsp., Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia, *Circulation*, 1994,89,2519-2524. **63.** Creager MA, Gallagher SJ, Giered XJ i wsp., L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans, *J Clin Invest*, 1992,90,1248-1253. **64.** Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K i wsp., Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic patients by L-arginine, *Lancet*, 1991,338,1546-1550.

65. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT i wsp., Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis, *American Journal of Cardiology*, 1995,75,71B-74B. 66. Guzik T. Badania produkcji anionu nadmanganowego oraz dysfunkcji śródbłonna w naczyniach krwionośnych u chorych z miażdżycą. Kraków: Medycyna Praktyczna; 2003. 67. Nishida K, Harrison DG, Navas JP i wsp., Molecular cloning and characterization of the constitutive bovine aortic endothelial cell nitric oxide synthase, *J Clin Invest* 1992,90,2092-2096. 68. Davis ME, Cai H, Drummond GR i wsp., Shear stress regulates endothelial nitric oxide synthase expression through c-src by divergent signaling pathways, *Circ Res*, 2001,89,1073-80. 69. Oemar BS, Tschudi MR, Godoy N i wsp., Reduced endothelial nitric oxide synthase expression and production in human atherosclerosis, *Circulation*, 1998,97,2494-8.
70. Fukuchi M, Gaiad A, Endothelial expression of endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 in human coronary artery disease. Specific reference to underlying lesion, *Lab Invest*, 1999,79,659-70. 71. Huraux C, Makita T, Kurz S i wsp., Superoxide production, risk factors, and endothelium-dependent relaxations in human internal mammary arteries, *Circulation*, 1999,99,53-59. 72. Ozaki M, Kawashima S, Yamashita T i wsp., Overexpression of endothelial nitric oxide synthase accelerates atherosclerotic lesion formation in apoE-deficient mice, *J Clin Invest*, 2002,110,331-340. 73. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B i wsp., Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by akt-dependent phosphorylation, *Nature*, 1999,399,601-5. 74. Fulton D, Gratton JP, McCabe TJ i wsp., Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase akt, *Nature*, 1999,399,597-601.
75. Traub O, Berk BC, Laminar shear stress: Mechanisms by which endothelial cells can transduce an atheroprotective force, *Arteriosclerosis, Thrombosis, Vascular Biology*, 1998,18,677-685. 76. Michel JB, Feron O, Sacks D i wsp., Reciprocal regulation of endothelial nitric-oxide synthase by Ca^{2+} -calmodulin and caveolin, *J Biol Chem*, 1997,272,15583-6. 77. Prabhakar P, Thattai HS, Goetz RM i wsp., Receptor-regulated translocation of endothelial nitric-oxide synthase, *J Biol Chem*, 1998,273,27383-8. 78. Feron O, Dessy C, Moniotte S i wsp., Hypercholesterolemia decreases nitric oxide production by promoting the interaction of caveolin and endothelial nitric oxide synthase, *J Clin Invest*, 1999,103,897-905. 79. Drab M, Verkade P, Elger M i wsp., Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice, *Science*, 2001,293,2449-52.
80. Peterson TE, Poppa V, Ueba H i wsp., Opposing effects of reactive oxygen species and cholesterol on endothelial nitric oxide synthase and endothelial cell caveolae, *Circ Res*, 1999,85,29-37. 81. Blair A, Shaul PW, Yuhanna IS i wsp., Oxidized low density lipoprotein displaces endothelial nitric-oxide synthase (enos) from plasmalemmal caveolae and impairs enos activation, *J. Biol. Chem.*, 1999,274,32512-32519. 82. Garcia-Cardena G, Fan R, Shah V i wsp., Dynamic activation of endothelial nitric oxide synthase by hsp90, *Nature*, 1998,392,821-4. 83. Liao JK, Clark SL, Regulation of g-protein alpha i2 subunit expression by oxidized low-density lipoprotein, *J Clin Invest*, 1995,95,1457-63. 84. Dudek D, Bartus S, Legutko J i wsp., L-arginine administration does not inhibit neointimal formation after coronary stenting in humans., *Circulation*, 2000,102,3928.
85. Dudek D, Heba G, Bartus S i wsp., Effects of L-arginine supplementation on endothelial function after stent implantation, *Kardiol Pol*, 2002,57,389-98. 86. Cooke JP, Singer AH, Tsao P i wsp., Antiatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbit, *J Clin Invest*, 1992,90,1168-1172. 87. Clarkson P, Adams MR, Powe AJ i wsp., Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults, *J Clin Invest*, 1996,97,1989-1994. 88. Nakanishi K, Vinten-Johansen J, Lefer DJ i wsp., Intracoronary L-arginine during reperfusion improves endothelial function and reduces infarct size, *Am J Physiol*, 1992,263,H1650-H1658. 89. Harrison DG, Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction, *J Clin Invest*, 1998,100,2153-57.
90. Bode-Boger SM, Boger RH, Kienke S i wsp., Elevated L-arginine/dimethylarginine ratio contributes to enhanced systemic NO production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits, *Biochem Biophys Res Commun*, 1996,219,598-603. 91. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A i wsp., Asymmetric dimethylarginine (ADMA): A novel risk factor for endothelial dysfunction: Its role in hypercholesterolemia, *Circulation*, 1998,98,1842-7. 92. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S i wsp., Novel mechanism for endothelial dysfunction: Dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase, *Circulation*, 1999,99,3092-5. 93. Cai S, Alp NJ, Mc Donald D i wsp., Gtp cyclohydrolase i gene transfer augments intracellular tetrahydrobiopterin in human endothelial cells: Effects on nitric oxide synthase activity, protein levels and dimerization, *Cardiovasc Res*, 2002,55,838-849. 94. Cosentino F, Luscher TF, Tetrahydrobiopterin and endothelial function, *Eur Heart J*, 1998,19,G3-8.
95. Cosentino F, Luscher TF, Tetrahydrobiopterin and endothelial nitric oxide synthase activity, *Cardiovasc Res*, 1999,43,274-8. 96. Klatt P, Heinzel B, Mayer B i wsp., Stimulation of human nitric oxide synthase by tetrahydrobiopterin and selective binding of the cofactor, *FEBS Lett*, 1992,305,160-162. 97. Stroes E, Kastelein J, Cosentino F i wsp., Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in hypercholesterolemia, *J Clin Invest*, 1997,99,41-6. 98. Shinzaki K, Nishio Y, Okamura T i wsp., Oral administration of tetrahydrobiopterin prevents endothelial dysfunction and vascular oxidative stress in the aortas of insulin-resistant rats, *Circ Res*, 2000,87,566-573. 99. Kinoshita H, Milstien S, Wambi C i wsp., Inhibition of tetrahydrobiopterin biosynthesis impairs endothelium-dependent relaxations in canine basilar artery, *Am J Physiol*, 1997,273,H718-24.
100. Alp NJ, Mussa S, Khoo J i wsp., Tetrahydrobiopterin-dependent preservation of nitric oxide-mediated endothelial function in diabetes by targeted transgenic gtp-cyclohydrolase i overexpression, *J Clin Invest*, 2003,112,725-35. 101. Wever RMF, van Dam T, van Rijn HJ i wsp., Tetrahydrobiopterin regulates superoxide and nitric oxide generation by recombinant endothelial nitric oxide synthase, *Biochem Biophys Res Commun*, 1997,237,340-4. 102. Kinoshita H, Katusic ZS, Exogenous tetrahydrobiopterin causes endothelium-dependent contractions in isolated canine basilar artery, *Am J Physiol*, 1996,271,H738-43. 103. Guzik TJ, Black E, West NE i wsp., Relationship between the g894t polymorphism (glu298asp variant) in endothelial nitric oxide synthase and nitric oxide-mediated endothelial function in human atherosclerosis, *Am J Med Genet*, 2001,100,130-7. 104. Schachinger V, Britten MB, Elsner M i wsp., A positive family history of premature coronary artery disease is associated with impaired endothelium-dependent coronary blood flow regulation, *Circulation*, 1999,100,1502-8.
105. Clarkson P, Celermajer DS, Powe AJ i wsp., Endothelium-dependent dilatation is impaired in young healthy subjects with a family history of premature coronary disease, *Circulation*, 1997,96,3378-83. 106. Tesaro M, Thompson WC, Rogliani P i wsp., Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: Cleavage of proteins with aspartate vs. Glutamate at position 298, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000,97,2832-5. 107. Fairchild TA, Fulton D, Fontana JT i wsp., Acidic hydrolysis as a mechanism for the cleavage of the glu(298)->asp variant of human endothelial nitric-oxide synthase, *J Biol Chem*, 2001,276,26674-9. 108. Bonnardeaux A, Nadaud S, Charru A i wsp., Lack of evidence for linkage of the endothelial cell nitric oxide synthase gene to essential hypertension, *Circulation*, 1995,91,96-102. 109. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J i wsp., A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (glu(298)-asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK, *Circulation*, 1999,100,1515-1520.
110. Guzik T, Adamek-Guzik T, Channon KM, Związek polimorfizmu glu298asp sekwencji kodującej syntazy tlenu azotu z produkcją wolnych rodników tlenowych w naczyniach krwionośnych chorych z chorobą niedokrwinną serca., *Kardiol Pol*, 2002,57. 111. Leeson CP, Hingorani AD, Mullen MJ i wsp., Glu298asp endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism interacts with environmental and dietary factors to influence endothelial function, *Circ Res*, 2002,90,1153-8. 112. Rossi GP, Taddei S, Virdis A i wsp., The t-786c and glu298asp polymorphisms of the endothelial nitric oxide gene affect the forearm blood flow responses of caucasian hypertensive patients, *J Am Coll Cardiol*, 2003,41,938-45. 113. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M i wsp., T-786-c mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm, *Circulation*, 1999,99,2864-70. 114. Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S, Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor, *Nature*, 1986,320,454-456.
115. Bartosz G. Druga twarz tlenu. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN; 1995. 116. Darley-Usmar VM, Hogg N, O'Leary VJ i wsp., The simultaneous generation of superoxide and nitric oxide can initiate lipid peroxidation in human low density lipoprotein, *Free Radical Res Comm*, 1992,17,9-20. 117. Guzik TJ, Mussa S, Gestaldi D i wsp., Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: Role of nad(pH) oxidase and endothelial nitric oxide synthase, *Circulation*, 2002,105,1656-1662. 118. Cai H, Harrison DG, Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The role of oxidant stress, *Circ Res*, 2000,87,840-4. 119. Rao GN, Hydrogen peroxide induces complex formation of shc-grb2-

son with receptor tyrosine kinase and activates ras and extracellular signal-regulated protein kinases group of mitogen-activated protein kinases, *Onco gene*, 1996,13,713-9.

120. De Keulenaer GW, Chappell DC, Ishizaka N i wsp., Oscillatory and steady laminar shear stress differentially affect human endothelial redox state: Role of a superoxide-producing nadh oxidase, *Circ Res*, 1998,82,1094-101. **121.** Wolin MS, Interactions of oxidants with vascular signaling systems, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000,20,1430-42. **122.** Lüscher TF, Tanner FC, Endothelial regulation of vascular tone and growth, *Am J Hypertens* 1993,6 Suppl.,283S-293S. **123.** Katusic ZS, Superoxide anion and endothelial regulation of arterial tone, *Free Radical Biology & Medicine*, 1996,20,443-448. **124.** Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG, Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production, *J Clin Invest*, 1993,91,2546-2551.

125. Guzik TJ, West N, Pillai R i wsp., Nitric oxide modulates superoxide release and peroxynitrite formation in human blood vessels., *Hypertension*, 2002,39,1088-1094. **126.** Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K i wsp., Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease, *Circulation*, 2001,104,2673-8. **127.** Radomski MW, Palmer RM, Moncada S, Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets, *Br J Pharmacol*, 1987,92,181-187. **128.** Wu KK, Thiagarajan P, Role of endothelium in thrombosis and hemostasis, *Annual Review of Medicine*, 1996,47,315-331. **129.** Gurjar MV, Sharma RV, Bhalla RC, Enos gene transfer inhibits smooth muscle cell migration and mmp-2 and mmp-9 activity, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999,19,2871-7.

130. Guo K, Andres V, Walsh K, Nitric oxide-induced downregulation of cdk2 activity and cyclin a gene transcription in vascular smooth muscle cells, *Circulation*, 1998,97,2066-72. **131.** Sarkar R, Meinberg EG, Stanley JC i wsp., Nitric oxide reversibly inhibits the migration of cultured vascular smooth muscle cells, *Circulation Research*, 1996,78,225-230. **132.** Glass CK, Witztum JL, Atherosclerosis. The road ahead, *Cell*, 2001,104,503-16. **133.** Kolpakov V, Gordon D, Kulik TJ, Nitric oxide-generating compounds inhibit total protein and collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cells, *Circ Res*, 1995,76,305-309. **134.** Dulak J, Jozkowicz A, Dembinska-Kiec A i wsp., Nitric oxide induces the synthesis of vascular endothelial growth factor by rat vascular smooth muscle cells, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000,20,659-66.

135. Fukuo K, Inoue T, Morimoto S i wsp., Nitric oxide mediates cytotoxicity and basic fibroblast growth factor release in cultured vascular smooth muscle cells. A possible mechanism of neovascularization in atherosclerotic plaques, *J Clin Invest* 1995,95,669-676. **136.** De Caterina R, Libby P, Peng H-B i wsp., Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation: Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines, *J Clin Invest*, 1995,96,60-68. **137.** Niu XF, Smith CW, Kubes P, Intracellular oxidative stress induced by nitric oxide synthesis inhibition increases endothelial cell adhesion molecules to neutrophils, *Circ Res*, 1994,74,1133-1140. **138.** Peng H-B, Libby P, Liao JK, Induction and stabilization of ikappaba by nitric oxide mediates inhibition of nf-kappab, *J Biol Chem* 1995,270,14214-14219. **139.** Ross R, Atherosclerosis—an inflammatory disease, *N Engl J Med*, 1999,340,115-26.

140. Greaves DR, Channon KM, Inflammation and immune responses in atherosclerosis, *Trends Immunol*, 2002,23,535-41. **141.** Gauthier TW, Scialia R, Murohara T i wsp., Nitric oxide protects against leukocyte-endothelium interactions in the early stages of hypercholesterolemia, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995,15,1652-1659. **142.** Lefer AM, Ma XL, Decreased basal nitric oxide release in hypercholesterolemia increases neutrophil adherence to rabbit coronary artery endothelium, *Arterioscler Thromb*, 1993,13,771-776. **143.** Qian HS, Neplioueva V, Shetty GA i wsp., Nitric oxide synthase gene therapy rapidly reduces adhesion molecule expression and inflammatory cell infiltration in carotid arteries of cholesterol-fed rabbits, *Circulation*, 1999,99,2979-2982. **144.** Clancy RM, Leszczynska-Piziak J, Abramson SB, Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the nadh oxidase, *J Clin Invest*, 1992,90,1116-1121.

145. Keaney JF, Vita JA, Atherosclerosis, oxidative stress, and antioxidant protection in endothelium-derived relaxing factor action, *Prog Cardiovasc Dis*, 1995,38,129-154. **146.** Mugge A, Elwell JH, Peterson TE i wsp., Release of intact endothelium-derived relaxing factor depends on endothelial superoxide dismutase activity, *Am J Physiol*, 1991,260,C219-C225. **147.** Mugge A, Elwell JH, Peterson TE i wsp., Chronic treatment with polyethylene-glycolated superoxide dismutase partially restores endothelium-dependent vascular relaxations in cholesterol-fed rabbits, *Circ Res*, 1991,69,1293-300. **148.** White CR, Brock TA, Chang L-Y i wsp., Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994,91,1044-1048. **149.** Ohara Y, Peterson TE, Sayegh HS i wsp., Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production, *Circulation*, 1995,92,898-903.

150. Rao GN, Berk BC, Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression, *Circ Res*, 1992,70,593-9. **151.** Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T i wsp., Angiotensin ii-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane nad/nadh oxidase activation, *J Clin Invest*, 1996,97,1916-1923. **152.** Fukui T, Ishizaka N, Rajagopalan S i wsp., P22phox mrna expression and nadph oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats, *Circ Res*, 1997,80,45-51. **153.** Munzel T, Kurz S, Rajagopalan S i wsp., Hydralazine prevents nitroglycerin tolerance by inhibiting activation of a membrane-bound nadh oxidase. A new action for an old drug, *J Clin Invest*, 1996,98,1465-70. **154.** Somers MJ, Mavromatis K, Galis ZS i wsp., Vascular superoxide production and vasomotor function in hypertension induced by deoxycorticosterone acetate-salt, *Circulation*, 2000,101,1722-1728.

155. Landmesser U, Cai H, Dikalov S i wsp., Role of p47(phox) in vascular oxidative stress and hypertension caused by angiotensin ii, *Hypertension*, 2002,40,511-5. **156.** Pagano PJ, Chanock SJ, Siwik DA i wsp., Angiotensin ii induces p67phox mrna expression and nadph oxidase superoxide generation in rabbit aortic adventitial fibroblasts, *Hypertension*, 1998,32,331-7. **157.** Cosentino F, Hishikawa K, Katusic ZS i wsp., High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells, *Circulation*, 1997,96,25-8. **158.** Kashiwagi A, Shinozaki K, Nishio Y i wsp., Endothelium-specific activation of nad(p)h oxidase in aortas of exogenously hyperinsulinemic rats, *Am J Physiol*, 1999,277,E976-83. **159.** Kashiwagi A, Shinozaki K, Nishio Y i wsp., Free radical production in endothelial cells as a pathogenetic factor for vascular dysfunction in the insulin resistance state, *Diabetes Res Clin Pract*, 1999,45,199-203.

160. Kim IJ, Kim YK, Son SM i wsp., Enhanced vascular production of superoxide in oleft rat after the onset of hyperglycemia, *Diabetes Res Clin Pract*, 2003,60,11-8. **161.** De Mattia G, Laurenti O, Fava D, Diabetic endothelial dysfunction: Effect of free radical scavenging in type 2 diabetic patients, *J Diabetes Complications*, 2003,17,30-5. **162.** Munzel T, Harrison DG, Increased superoxide in heart failure: A biochemical baroreflex gone awry, *Circulation*, 1999,100,216-8. **163.** Linke A, Recchia F, Zhang X i wsp., Acute and chronic endothelial dysfunction: Implications for the development of heart failure, *Heart Fail Rev*, 2003,8,87-97. **164.** Munzel T, Li H, Molinau H i wsp., Effects of long-term nitroglycerin treatment on endothelial nitric oxide synthase (nos iii) gene expression, nos iii-mediated superoxide production, and vascular no bioavailability, *Circ Res*, 2000,86,E7-E12.

165. Jachymova M, Horky K, Bultas J i wsp., Association of the glu298asp polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene with essential hypertension resistant to conventional therapy, *Biochem Biophys Res Commun*, 2001,284,426-30.



dr med. M. Włodarska, prof. dr hab. med. Z. Gawor, dr med. G. Piotrowski, lek. R. Gawor, lek. W. Piotrowski, lek. P. Szymański

Ocena czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca u studentów Politechniki Częstochowskiej z otyłością i nadwagą

Wstęp

Choroba niedokrwienne serca jest najczęstszą manifestacją miażdżycy. Do jej rozwoju przyczyniają się liczne czynniki ryzyka. Ich modyfikacja ma duże znaczenie w prewencji pierwotnej i wtórnej. Znajomość czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca w populacji jest niezbędna do prowadzenia efektywnej profilaktyki pierwotnej. Pierwotna prewencja stwarza największe możliwości zmniejszenia zachorowalności na chorobę niedokrwiennej serca (1, 2).

Do niedawna miażdżycę tętnic uchodziła za chorobę ludzi dorosłych. Obecnie wiadomo, że proces miażdżycowy może się rozpocząć w młodym wieku. Nacieczenia tłuszczowe, tzw. fatty-streak, mogą pojawiać się w błonie wewnętrznej dużych tętnic już u dzieci w pierwszych latach życia i są to zmiany odwracalne. Następnym etapem rozwoju miażdżycy jest powstawanie w miejscu tych lipidowych nacieczeń, w późniejszym wieku (jest to zwykle wiek dojrzewania), blaszek włóknistych, które są już zmianami nieodwracalnymi i zazwyczaj nie powodują jeszcze istotnego zwężenia światła naczynia. W pełni wykształcone blaszki miażdżycowe i związane z nimi zespoły chorobowe obserwuje się dopiero w 3–4. dekadzie życia.

Im wcześniej wdroży się prewencję choroby niedokrwiennej serca, tym lepsze uzyska się skutki. Dlatego badania czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca powinny zaczy-

nać się w młodym wieku. Spośród około 250 czynników ryzyka – za istotnie pogarszające rokowanie, wpływające na efektywność leczenia i mające udowodniony związek z chorobą niedokrwiennej serca – uznano zaburzenia lipidowe, nadciśnienie tętnicze, palenie tytoniu, nadwagę, nieprawidłowe żywienie, wiek, płeć męską, wykształcenie, rodzinne występowanie choroby niedokrwiennej serca oraz zaburzenia krzepnięcia (2, 3).

Celem podjętych badań było przeanalizowanie następujących czynników ryzyka: otyłości, zaburzeń lipidowych, nadciśnienia tętniczego, pozytywnego wywiadu rodzinnego w kierunku choroby niedokrwiennej serca, palenia papierosów, małej aktywności fizycznej, stężenia glukozy i fibrynogenu – w stosunkowo młodej wiekowo grupie osób – studentów Politechniki Częstochowskiej oraz młodych mieszkańców Częstochowy z otyłością i nadwagą.

Material i metody

Do badania zakwalifikowano łącznie 196 osób. W grupie tej znajdowało się 148 studentów Wydziału Inżynierii Mechanicznej i Informatyki Politechniki Częstochowskiej oraz 48 młodych osób niestudujących – mieszkańców Częstochowy.

W dniu 31.12.2001 roku, kiedy rozpoczynało się badanie, na Wydziale Inżynierii Mechanicznej i Informatyki Politechniki Czę-

stochowskiej studiowało 2071 osób, w tym 596 kobiet (28,8%) oraz 1475 mężczyzn (71,2%).

Spośród ogólnej liczby 2071 studentów tego wydziału u 140 osób, po wykonaniu pomiarów masy i wzrostu, stwierdzono wskaźnik masy ciała (BMI) 25,0 kg/m² i wyższy. 100 osób z tej grupy wyraziło zgodę na uczestnictwo w badaniu (grupy I i II). Do badania zakwalifikowano także 48 zdrowych studentów, z prawidłowym wskaźnikiem masy ciała (grupa III).

U 48 osób w grupie niestudujących, mieszkańców Częstochowy, wskaźnik masy ciała (BMI) wynosił 25,0 kg/m² i powyżej (grupa IV).

Wszyscy uczestnicy badania wyrazili piśmenną, świadomą zgodę na udział w badaniu.

Badanie odbywało się w dwóch etapach:

1. kwalifikacja do badań na podstawie oceny masy ciała, wzrostu, BMI oraz zgody na badanie;
2. przeprowadzenie badań szczegółowych.

W ramach badań szczegółowych wykonano: badanie podmiotowe i przedmiotowe, pomiar ciśnienia tętniczego, elektrokardiogram spoczynkowy, rtg klatki piersiowej, oznaczenie profilu lipidowego, stężenia fibrynogenu oraz stężenia glukozy, na czczo we krwi żyłnej.

Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyki przy Wojskowej Akademii Medycznej w Łodzi.

U wszystkich badanych zmierzono wzrost, masę ciała, obwód talii i bioder, wyliczono wskaźnik masy ciała i wskaźnik talia biodra (WHR). Wzrost mierzono wysokościomierzem, z dokładnością do 0,5 cm. Masę ciała określano za pomocą standardowej wagi osobowo-lekarskiej typu WB-150, z dokładnością do 0,1 kg. Pomiarów dokonywano u badanych będących bez obuwia i wierzchniego okrycia. Dla oceny masy ciała posługiwano się wskaźnikiem masy ciała, który obliczano według wzoru: BMI (kg/m²) = masa ciała w kg podzielona przez kwadrat wzrostu wyrażonego w metrach. Wyróżniono: BMI < 25 (kg/m²) – masa ciała prawidłowa; BMI 25–29,9 (kg/m²) – nadwaga; BMI > 30 – otyłość.

Obwód talii mierzono na poziomie pępka. Obwód bioder mierzono w miejscu największego wypuklenia pośladków. Obydwu pomiarów dokonywano za pomocą taśmy krawieckiej, z dokładnością do 1 cm. Na ich podstawie obliczano współczynnik talia: biodra (WHR).

Ocena czynników ryzyka

Lipidogram osocza

Krew w celu oznaczenia lipidogramu pobierano na czczo z żyły łokciowej, po 14 godzinach od ostatniego posiłku. Oznaczano stęże-

nie całkowite cholesterolu (CHT), stężenie cholesterolu frakcji HDL-CH, stężenie cholesterolu frakcji LDL-CH oraz stężenie trójglicerydów. Jako przekroczenie normy przyjęto następujące wartości graniczne:

CHT (stężenie całkowitego cholesterolu) > 195 mg/dl,

LDL-CH (stężenie cholesterolu LDL) > 130 mg/dl,

HDL-CH (stężenie cholesterolu HDL) < 40 mg/dl,

TG (stężenie trójglicerydów) > 160 mg/dl,

(norma laboratorium w którym dokonywano pomiarów).

Stężenie cholesterolu LDL-CH obliczano ze wzoru Friedewalda:

LDL-CH = CHT-CH (TG:5).

Obliczano także tzw. cholesterolowy współczynnik aterogenności (Chol. Wsp. Aterog.) posługując się wzorem:

Chol. Wsp. Aterog. = CHT:HDL-CH.

Za nieprawidłowy uznano – Chol. Wsp. Aterog. > 5.

Nadciśnienie tętnicze

Pomiaru ciśnienia tętniczego dokonano za pomocą sfigomanometru rtęciowego, na prawym ramieniu, w pozycji siedzącej. Pomiaru dokonywano dwukrotnie, po 10-minutowym odpoczynku i powtarzano po 15 minutach. Wynik pomiaru klasyfikowano zgodnie z obowiązującym podziałem (4, 5), wyróżniającym ciśnienie prawidłowe skurczowe – SBP (systolic blood pressure) < 140 mmHg i rozkurczowe – DBP (diastolic blood pressure) < 90 mmHg) oraz nadciśnienie tętnicze definiowane jako obecność SBP > 140 mmHg i/lub DBP > 90 mmHg. W grupie ciśnień prawidłowych wyróżniono ciśnienie optymalne: < 120/80 mmHg, prawidłowe: < 130/85 mmHg oraz wysokie prawidłowe: 130–139/85–89 mmHg.

Nadciśnienie tętnicze I stopnia, łagodne, rozpoznawano przy SBP 140–159 mmHg i DBP 90–99 mmHg, w tym graniczne SBP 140–149 mmHg i DBP 90–94 mmHg. Nadciśnienie tętnicze II stopnia rozpoznawano przy SBP 160–179 mmHg i DBP 99–109 mmHg. Nadciśnienie tętnicze III stopnia rozpoznawano przy wartościach ciśnienia > 180/110 mmHg (1, 6).

Rodzinne występowanie choroby niedokrwiennej serca

We wszystkich grupach zebrano wywiad dotyczący rodzinnego występowania choroby niedokrwiennej serca, przebytego zawału,

operacji pomostowania naczyń wieńcowych lub angioplastyki wieńcowej – przynajmniej u jednego z rodziców. Za dodatni wywiad rodzinny przyjmowano występowanie wyżej wymienionych objawów.

Palenie papierosów analizowano w dwóch kategoriach: jako „tak” – palący, albo jako „nie” – niepalący.

Aktywność fizyczną określano jako: „nie” – brak aktywności lub sporadycznie podejmowaną aktywność albo jako „tak” – systematyczne (codzienne) wykonywanie ćwiczeń.

Stężenie glukozy we krwi:

Jako graniczny poziom glikemii przyjęto stężenie glukozy we krwi żyłnej na czczo >104 mg/dl (norma laboratorium w którym dokonywano pomiarów).

Stężenie fibrynogenu we krwi:

Jako graniczny poziom fibrynogenu przyjęto >350 mg/dl (norma laboratorium w którym dokonywano pomiarów).

Grupy badane

Wartość wskaźnika BMI pozwoliła określić stopień masy ciała i stanowiła kryterium kwalifikujące badanych do poszczególnych grup.

Grupa I (studenci Politechniki Częstochowskiej z otyłością) – 52 osoby, BMI >30 kg/m², Grupa II (Studenci Politechniki Częstochowskiej z nadwagą) – 48 osób, BMI 25–30 kg/m², Grupa III (studenci Politechniki Częstochowskiej – grupa porównawcza) – 48 osób, BMI 20–24,9 kg/m², Grupa IV – 48 osób (grupa porównawcza osób niestudujących, mieszkańców Częstochowy), BMI >30 kg/m². Osoby z grupy IV były otyłymi dziećmi pacjentów Poradni Kardiologicznej Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego w Częstochowie, z rozpoznaną chorobą niedokrwienną i otyłością.

Charakterystyka poszczególnych grup badanych jest zamieszczona w tabeli 1.

Analiza statystyczna

Dla oceny istotności różnic między badanymi parametrami (wielkościami mierzonymi lub obliczonymi), w zależności od rozkładu analizowanych prób zastosowano:

- test t-Studenta (Cochrana-Coxa),
- test nieparametryczny zgodności χ^2 .

Współczynniki korelacji pomiędzy wskaźnikiem BMI i poszczególnymi czynnikami ryzyka obliczono według Pearsona.

Jako poziom istotności przyjęto $p < 0,05$

Wyniki

Częstość występowania czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca w poszczególnych grupach badanych przedstawia tabela 2.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono występowanie największej ilości czynników ryzyka wśród studentów grupy I. W grupie tej stwierdzono znamienne statystycznie ($p < 0,05$) częściej niż w grupie III nadciśnienie tętnicze (31 osób), chorobę niedokrwienną serca w rodzinie (32 osoby), wskaźniki lipidowe, takie jak: cholesterol HDL poniżej normy (7 osób), trójglicerydy (5 osób), cholesterol LDL (5 osób) powyżej normy. Częstość występowania pozostałych analizowanych czynników ryzyka nie różniła się istotnie statystycznie ($p > 0,05$) w porównaniu z grupą III.

W grupie II stwierdzono znamienne statystycznie ($p < 0,05$) częstsze, w porównaniu do grupy III, występowanie nadciśnienia tętniczego (22 osoby) i dodatniego wywiadu rodzinnego w kierunku choroby niedokrwiennej serca (20 osób). Częstość występowania pozostałych czynników ryzyka nie różniła się znamienne statystycznie ($p > 0,05$) w porównaniu do grupy III.

W grupie IV stwierdzono znamienne statystycznie ($p < 0,05$) częstsze, w porównaniu do grupy III, występowanie nadciśnienia tętniczego (30 osób), choroby niedokrwiennej serca w rodzinie (48 osób) oraz brak aktywności fizycznej (44 osoby). Częstość występowania pozostałych czynników ryzyka nie różniła się znamienne statystycznie ($p > 0,05$) w porównaniu do grupy III.

W grupie III nie stwierdzono podwyższonych stężeń składników lipidowych, glukozy i fibrynogenu. Nadciśnienie tętnicze powyżej 140/90 mmHg stwierdzono w 7 przypadkach, tj. u 14,6% badanych. Nie stwierdzono w wywiadzie rodzinnego występowania choroby niedokrwiennej serca. Papierosy paliło 8 osób (16,7%). Brak aktywności fizycznej stwierdzono u 32 osób (66,7%).

Spośród ocenianych czynników ryzyka najczęściej obserwowano: brak aktywności fizycznej, nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemię i rodzinne występowanie choroby niedokrwiennej serca. Palenie papierosów występowało w wysokim procencie, lecz nie stwierdzono istotnej statystycznie ($p > 0,05$) różnicy w badanych grupach. Nadciśnienie tętnicze występowało istotnie statystycznie ($p < 0,05$) częściej we wszystkich grupach, w porównaniu z grupą kontrolną; podobnie zachowywało się rodzinne występowanie choroby niedokrwiennej serca. Poszczególne wskaźniki lipidowe, jak: trójglicerydy, cholesterol HDL, cholesterol LDL (oprócz cholesterolu całkowitego i wskaźnika

aterogenności), z poziomem powyżej normy stwierdzono istotnie statystycznie ($p < 0,05$) częściej w grupie I w porównaniu z grupą III. W grupie II i IV nie stwierdzono różnicy statystycznie istotnej ($p > 0,05$) w porównaniu z grupą III w ilości osób powyżej normy uznanej w zakresie analizowanych wskaźników lipidogramu.

Brak aktywności fizycznej, w porównaniu do grupy III, był znamienne statystycznie ($p < 0,05$) wyższy w grupie IV. W grupach I i II nie było różnicy statystycznej ($p > 0,05$) w porównaniu do grupy III.

W zakresie palenia papierosów w grupach I, II i IV w porównaniu do III nie wykazano różnic statystycznie istotnych ($p > 0,05$).

Występowanie kilku czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca u jednego badanego w poszczególnych grupach

W tabeli 3 przedstawiono występowanie czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca u jednego badanego w poszczególnych grupach.

W grupie I jeden czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca stwierdzono u 44 osób, w grupie II u 36 osób, w III u 32 osób, zaś w grupie IV u 46 osób. Różnice nie były znamienne statystycznie ($p > 0,05$) w porównaniu I, II, IV : III. Dwa czynniki ryzyka występowały w grupach I, II, III, IV odpowiednio u 25, 22, 6 i 42 osób. W porównaniu do grupy III stwierdzono znamienne statystycznie ($p < 0,05$) występowanie dwóch czynników ryzyka w grupach I, II i IV. Trzy czynniki ryzyka stwierdzono w grupie I u 15 osób, w grupie II u 3 osób, w grupie III u 1 osoby, natomiast w grupie IV u 4 osób. Stwierdzono różnicę statystycznie znamienne ($p < 0,05$) grupy I w porównaniu do grupy III. Cztery czynniki ryzyka stwierdzono w grupie I u jednej osoby i w gru-

pie II także u jednej osoby. Natomiast pięć czynników ryzyka stwierdzono u jednej osoby w grupie I i w grupie IV. Różnice częstości występowania czterech i pięciu czynników ryzyka nie były znamienne statystycznie ($p > 0,05$) w porównaniu do grupy III.

Brak czynników ryzyka stwierdzono w grupie I u 6 osób, w grupie II u 8 osób, w grupie III u 16 osób. W grupie IV nie było osób bez czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca. W grupach I i IV procent osób bez czynników ryzyka był znamienne statystycznie ($p < 0,05$) niższy w porównaniu do grupy III. W grupie II w porównaniu do III nie było różnicy znamiennej statystycznie ($p > 0,05$).

W grupie I u 6 osób nie występowały żadne z badanych czynników ryzyka, jeden czynnik ryzyka występował u 44 osób, dwa czynniki ryzyka u 25 osób, trzy u 15 osób, cztery u jednej osoby i pięć także u jednej osoby.

Brak czynników ryzyka stwierdzono w grupie I u 6 osób, co było znamienne statystycznie ($p < 0,05$) rzadsze w porównaniu do grupy III (16 osób). Jeden czynnik ryzyka stwierdzono w grupie I u 44 osób, a w grupie III u 32 osób, różnice nie były znamienne statystycznie ($p > 0,05$). W grupie tej stwierdzono znamienne statystycznie ($p < 0,05$) częstsze występowanie dwóch czynników ryzyka (u 25 osób), w porównaniu do grupy III (u 6 osób). Trzy czynniki ryzyka u jednej osoby występowały w 15 przypadkach w grupie I, co było znamienne statystycznie częstsze w porównaniu do grupy III (u jednej osoby). Cztery czynniki ryzyka stwierdzono u jednej osoby, podobnie pięć czynników, natomiast w grupie III nie było osób z czterema i pięcioma czynnikami ryzyka. Różnice częstości występowania czterech i pięciu czynników w grupach I i III nie były znamienne statystycznie ($p > 0,05$).

W grupie II brak występowania czynników ryzyka stwierdzono u 8 osób, co w porównaniu do grupy III (16 osób) nie było znamienne sta-

Grupa badana		Liczebność wg. płci		Wiek min. – max. $\bar{X} \pm SD$	Porównanie wieku, p
		K	M		
Grupa I 52 osoby	Studenci WIMiI z otyłością, BMI > 30 kg/m ²	14	38	21–26 24,2 ± 1,2	p > 0,05
Grupa II 48 osób	Studenci WIMiI z nadwagą, BMI 25–30 kg/m ²	20	28	20–26 23,4 ± 0,9	p > 0,05
Grupa III 48 osób	Grupa porównawcza – studenci WIMiI z BMI 20–25 kg/m ²	25	23	20–26 22,2 ± 0,9	
Grupa IV 48 osób	Grupa porównawcza niestudencka z Częstochowy, z otyłością, BMI > 30 kg/m ²	22	26	21–26 24,8 ± 1,0	p > 0,05

Tab.1 Charakterystyka badanych grup
WIMiLI – Wydział Inżynierii Mechanicznej i Informatyki, BMI – (body mass index) wskaźnik masy ciała
Grupy I, II, III, IV; K – kobiety, M – mężczyźni. Porównania wieku dokonano w stosunku do grupy III

Czynniki ryzyka	I		II		III		IV		Porównanie
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Cholesterol całkowity >195 mg/dl	4	7,7	1	2,1	0	0	3	6,2	I:III p>0,05 II,IV:III P>0,05
Cholesterol HDL <40 mg/dl	•7	13,5	2	4,2	0	0	1	2,1	I:III P<0,05 II,IV:III P>0,05
Trójglicerydy >160 mg/dl	•5	9,6	3	6,2	0	0	3	6,2	I:III P<0,05 II,IV:III P>0,05
Cholesterol LDL >130mg/dl	•5	9,6	1	2,1	0	0	2	4,2	I:III P<0,05 II,IV:III P>0,05
Wskaźnik aterosogenności >5,0	1	1,6	0	0	0	0	0	0	I,II,IV: III p>0,05
Glikemia >104 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	I,II,IV: III p>0,05
Fibrynogen >350mg/dl	2	3,8	2	4,2	0	0	0	0	I,II,IV: III p>0,05
HA >140/90 mmHg	•31	59,6	•22	45,8	7	14,6	•30	62,5	I,II,IV: III p<0,05
Pozytywny wywiad rodzinny ch.n.s.	•32	61,5	•20	41,7	0	0	•48	100	I,II,IV: III p<0,05
Palenie papierosów	19	36,5	12	25	8	16,7	16	33,3	I,II,IV: III p>0,05
Brak aktywności fizycznej	41	78,8	36	75	32	66,7	•44	91,7	I,II: III p>0,05 IV:III P<0,05

Tab.2 Zbiorcze przedstawienie czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca w badanych grupach

• – różnica istotna statystycznie (p<0,05)

tystycznie (p>0,05). U 36 osób grupy II występował jeden czynnik ryzyka, co w porównaniu do grupy III (32 osoby) nie różniło się statystycznie (p>0,05). Dwa czynniki ryzyka w grupie tej stwierdzono u 22 osób, i w porównaniu do grupy III (6 osób) było statystycznie (p<0,05) częstsze. U 3 osób występowały trzy czynniki ryzyka, natomiast w grupie III trzy czynniki ryzyka stwierdzono u jednej osoby. Różnice nie były statystycznie (p>0,05). Cztery czynniki ryzyka występowały u jednej osoby w grupie II, natomiast w grupie III nie było osób z czterema czynnikami ryzyka. W grupie II i III nie było osób z pięcioma czynnikami ryzyka. Nie stwierdzono więc różnic statystycznych (p>0,05) występowania czterech i pięciu czynników ryzyka.

W grupie IV nie było osób bez czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca. W porównaniu do grupy III (16 osób) stwierdzono statystycznie (p<0,05) częstsze występowanie osób bez czynników ryzyka. Obecność jednego czynnika ryzyka stwierdzo-

no w grupie IV w 46 przypadkach, co nie było statystycznie (p>0,05) w porównaniu do grupy III (32 osoby). Dwa czynniki ryzyka występowały w grupie IV u 42 osób, co było w porównaniu do grupy III (6 osób) statystycznie (p<0,05) częstsze. Trzy czynniki ryzyka występowały u 4 osób, a w grupie III u jednej. Nie było więc statystycznie różnic (p>0,05). Cztery czynniki ryzyka w tej grupie nie występowały u żadnego z badanych, zaś pięć rozpoznano u jednej osoby. W porównaniu do grupy III, gdzie nie stwierdzono obecności czterech i pięciu czynników ryzyka u żadnej osoby, różnice nie były statystycznie (p>0,05). W grupie III jeden czynnik ryzyka występował u 32 osób. Podstawowym czynnikiem był brak aktywności fizycznej. Dwa czynniki ryzyka w grupie III stwierdzono u 6 osób, zaś trzy czynniki ryzyka stwierdzono u jednej osoby. Brak czynników ryzyka stwierdzono u 16 osób w tej grupie.

Zależności między wskaźnikiem masy ciała i badanymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca

Dla ustalenia zależności między wskaźnikami masy ciała a analizowanymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca wyznaczono współczynniki korelacji.

W tabeli 4 zestawiono wartości współczynników korelacji pomiędzy wskaźnikiem masy ciała i występowaniem badanych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca.

Z uwagi na stosunkowo wąski przedział wartości BMI w grupie I – studentów z otyłością (30,0–36,2 kg/m²), do obliczenia włączono również grupę II studencką, z nadwagą (25,1–29,8 kg/m²). W ten sposób obliczenia wykonano dla 100 osób z nieprawidłową masą ciała, obejmującą zakres wskaźnika BMI 25,1–36,2 kg/m².

Z tabeli 4 wynika, że do przeciętnych korelacji należą dodatnie związki BMI z cholesterolem całkowitym, trójglicerydami, nadciśnieniem tętniczym, a ujemne z cholesterolem HDL. Słabą, dodatnią korelację zaobserwowano z cholesterolem LDL, Chol. Wsp. Atero., fibrynogenem, dodatnim wywiadem rodzinnym choroby niedokrwiennej serca, paleniem tytoniu i brakiem aktywności fizycznej. W przypadku glikemii była nieznaczna korelacja dodatnia.

W celu oceny, czy uzyskane wartości współczynników korelacji między wskaźnikiem korelacji i poszczególnymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca różnią się istotnie od zera, czy też tylko z przyczyn przypadkowych odbiegają od zera, wykonano obliczenia posługując się testem „t”.

Kierując się tym kryterium można uszeregować ważność poszczególnych czynników ryzyka następująco: TG, HDL-CH, CHT, HA, dodatni wywiad rodzinny choroby niedokrwiennej serca, LDL-CH.

Dla tych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca uzyskane w badaniu współ-

czynniki korelacji istotnie różniły się od zera na poziomie istotności (p<0,05).

Zaobserwowane korelacje między wskaźnikiem BMI a czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca: TG, HDL-CH, CHT, HA, rodzinnym występowaniem choroby niedokrwiennej serca i LDL-CH nie były więc przypadkowe. Natomiast co do pozostałych analizowanych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca, tj. Chol. Wsp. Aterog., glikemii, fibrynogenu, palenia papierosów i braku aktywności fizycznej, wyznaczone współczynniki korelacji nie różniły się istotnie od zera na poziomie istotności (p>0,05).

Dyskusja

Miażdżycza naczyń jest główną przyczyną zgonów na świecie, szczególnie w krajach wysoko rozwiniętych. Zostało udowodnione, że duża liczba czynników ryzyka obecna już w dzieciństwie prowadzi do wczesnego rozwoju morfologicznie widocznej miażdżycy w aorcie, naczyniach wieńcowych i tętnicach szyjnych. U osób między 29. a 30. rokiem życia, z wieloma czynnikami ryzyka stwierdzanymi już od wczesnego dzieciństwa, monitorowanych od 4. roku życia, stwierdzono uwapnienia w aorcie i naczyniach wieńcowych oraz zwiększoną grubość błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej (7,8). W badaniach tych występowanie wapnia w tętnicach wieńcowych było najsilniej związane z obecnością otyłości i podwyższonego ciśnienia tętniczego w dzieciństwie oraz zwiększonego wskaźnika masy ciała i dyslipidemii w wieku młodzieńczym.

Najnowsze odkrycia wykazały, że ocenę czynników ryzyka powinno zaczynać się od młodego wieku (9). Narastająca liczba badań wskazuje na bezpieczeństwo i skuteczność interwencji mających na celu ograniczenie czynników ryzyka w dzieciństwie (10, 11)

Wytyczne NCEP ATP III z maja 2001 kładą nacisk na ocenę globalnego ryzyka i nie

Grupa	Liczba badanych	Liczba czynników ryzyka					
		brak	1	2	3	4	5
I	52	•6	44	•25	•15	1	1
II	48	8	36	•22	3	1	0
III	48	16	32	6	1	0	0
IV	48	•0	46	•42	4	0	1
Porównanie, p		I,IV:III P<0,05 II:III p>0,05	I,II,IV:III p>0,05	I,II,IV:III P<0,05	I:III P<0,05 II,IV:III P>0,05	I,II,IV:III P>0,05	I,II,IV:III p>0,05

Tab.3 Porównanie częstości występowania czynników ryzyka u jednej osoby w badanych grupach

• – różnica istotna statystycznie (p<0,05),

różnica znamienne statystycznie przy porównaniu I,II,IV:III

dziela w szczególny sposób profilaktyki na pierwotną i wtórną. Intensywność leczenia według tych zaleceń uzależniona jest od stężenia cholesterolu LDL (12). W amerykańskim badaniu NHANES III oszacowano, że zgodnie z zaleceniami NCEP ATP III do profilaktyki pierwotnej kwalifikuje się 36 266 650 mieszkańców USA, z czego 32% to osoby poniżej 45. roku życia (13). Obserwacje badaczy NHANES III sugerują, że dieta i ćwiczenia fizyczne u 50 % pacjentów w prewencji pierwotnej mogą zapewnić osiągnięcie pożądanego stężenia cholesterolu LDL.

Ważne jest, jak spośród populacji młodych osób (uczestnicy naszych obserwacji byli w wieku 20–26 lat) zidentyfikować te, które obciążone są szczególnie dużym ryzykiem choroby niedokrwiennej serca. Równoczesne występowanie kilku czynników ryzyka może zwiększyć ryzyko choroby niedokrwiennej serca nawet kilkunastokrotnie. Współistnienie wielu czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca wymaga profilaktyki wieloczynnikowej (14).

W badaniach przesiewowych, z oczywistych powodów, nie można stosować w dużych populacjach młodych ludzi takich metod jak emisyjna tomografia komputerowa wiązki elektronów czy ultrasonografia tętnic szyjnych. Należy opracować dobre, tanie metody identyfikacji młodych osób obciążonych dużym ryzykiem choroby niedokrwiennej serca i innych postaci miażdżycy w oparciu o ocenę dobrze znanych czynników ryzyka. Takim podsumowaniem i uzupełnieniem dotychczasowych wytycznych jest opublikowany w 2002 przez American Heart Association raport dla specjalistów zajmujących się opieką nad dziećmi i młodzieżą (15).

Z obserwacji poczynionych w ostatnich latach wynika, że BMI u osób w populacjach o zachodnim stylu życia systematycznie wzrasta. Dotyczy to przede wszystkim populacji w młodym i średnim wieku (16, 17, 18, 19). We wszystkich krajach, w których przeprowadzono analizy długoterminowe, zauważono rosnącą częstość występowania nadwagi i otyłości. Dotyczy to przede wszystkim społeczeństw, w których istnieje nadmiar żywności i upowszechnił się siedzący tryb życia (20, 21, 22, 23). Nadwaga i otyłość, z towarzyszącymi im zaburzeniami metabolicznymi, stają się epidemią tych społeczeństw. Problem ten staje się także istotny w Polsce. W badaniach Pol-MO-

NICA, przeprowadzonych wśród mieszkańców Warszawy i dawnego województwa tarnobrzskiego w latach 1984–1993, nadwagę stwierdzono u 67% badanych (38% kobiet i 50% mężczyzn). Otyłość rozpoznano u 30% kobiet i 20% mężczyzn. Analiza badań Pol-MONICA w latach 1984–1993 wykazała wzrost częstości występowania otyłości wśród obu płci i we wszystkich grupach wiekowych (3, 24). Z danych przedstawionych przez Tatonnia wynika, że w populacji polskich dzieci i młodzieży otyłość występuje u około 5%, a nadwaga u 8% (25). W badaniu SPES – Southern Poland Epidemiological Survey, przeprowadzonym w 1997 roku na terenie ówczesnych województw katowickiego i bielskiego, obejmującym 50000 osób, wykazano nadwagę u 33,7% kobiet i 44,3% mężczyzn, zaś otyłość u 23,9% kobiet i 17% mężczyzn (26). W badaniu Kłosiewicz-Latoszek, które objęło 2744 osób – pacjentów Poradni Chorób Metabolicznych Instytutu Żywności i Żywnienia w Warszawie, otyłość stwierdzono u 53,3% badanych (mężczyzn 45,2% i kobiet 54,8%) (27). Należy podkreślić, że badania te dotyczą populacji ludzi dorosłych w wieku średnim i starszym. W populacji 17-letniej młodzieży szkolnej w Belgii w regionie Flandrii, częstość występowania masy ciała z BMI > 25 kg/m² określono na 9% (9).

Badania epidemiologiczne jednoznacznie wskazują na związek otyłości z ryzykiem chorób układu krążenia. U osób otyłych częściej występują choroby układu sercowo-naczyniowego, takie jak choroba niedokrwiennej serca, nadciśnienie tętnicze, żylna choroba zakrzepowo-zatorowa, a także zaburzenia lipidowe i cukrzyca typu 2.

W badaniach epidemiologicznych wykazano jednoznacznie związek otyłości z nadciśnieniem tętniczym oraz hiperlipidemią (28, 29). Otyłość staje się jednym z najważniejszych czynników predysponujących do występowania nadciśnienia tętniczego. Szacuje się, że aż 85% przypadków nadciśnienia tętniczego ma ścisły związek ze wzrostem masy ciała (28). Liczne badania z zastosowaniem pomiarów antropometrycznych fałdów skóry i współczynnika talia-biodro wykazały, że znaczna kumulacja tłuszczów w okolicy brzucha łączy się z podwyższonym stężeniem trójglicerydów w osoczu na czczo i obniżonym stężeniem cholesterolu HDL (31, 32). Ilość

	ChT	ChHDL	TG	ChLDL	WA	Glikemia	FB	HA	dotatni wywiad rodzinny	palenie	bark aktywn. fizycz.
BMI	0,316	-0,373	0,493	0,281	0,184	0,086	0,103	0,312	0,291	0,106	0,171

Tab. 4 Zestawienie wartości współczynników korelacji pomiędzy BMI i poszczególnymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca dla grupy studentów z nadwagą i otyłością

tkanki tłuszczowej wisceralnej najlepiej koreluje ze stężeniem insuliny (dodatnio), wrażliwością na insulinę (ujemnie) oraz tolerancją glukozy (ujemnie) (30).

Otyłość brzuszna decyduje o występowaniu podatności na cukrzycę. Dyslipidemia towarzysząca otyłości wisceralnej i cukrzycy typu 2 przyczynia się do zwiększonego ryzyka choroby niedokrwiennej serca (31). Wykazano także dodatni związek stężenia fibrynogenu we krwi z otyłością (32). Stwierdzono również dodatnią korelację między stężeniem fibrynogenu i insuliny we krwi na czczo oraz nadciśnieniem tętniczym (33). Redukcja masy ciała i tłuszczu wisceralnego, poprzez zwiększenie między innymi aktywności fizycznej, poprawia metabolizm, tolerancję glukozy, profil lipidowy, normalizuje stężenie insuliny oraz powoduje spadek stężenia fibrynogenu we krwi i ciśnienia tętniczego (31, 34).

Palenie tytoniu wykazuje ścisły związek z wartościami współczynnika WHR (35). W niektórych badaniach obserwowano także istotną statystycznie zależność wielkości współczynnika WHR od liczby wypalanych papierosów (35, 36, 37).

Wpływ otyłości na chorobę niedokrwiennej serca to również przyspieszony rozwój zmian miażdżycowych oraz zwiększona skłonność do powstawania zmian zakrzepowych (14, 38).

Celem niniejszej pracy było wyrobienie sobie poglądu na częstość występowania czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca wśród młodej populacji studentów Politechniki Częstochowskiej, z otyłością lub nadwagą, i porównanie występowania tych czynników z grupą studentów z prawidłową masą ciała i grupą niestudujących osób otyłych w podobnym wieku. Były to dodatkowo dzieci rodziców z rozpoznaną chorobą niedokrwiennej serca i otyłością.

Z przeprowadzonych badań wynika, że większość studentów z nieprawidłową masą ciała obarczona była kilkoma czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Należy podkreślić, że ocena ta dotyczy studentów posiadających nieprawidłową masę ciała, otyłość lub nadwagę, które są także czynnikami ryzyka.

Przedstawione w niniejszym badaniu wyniki wskazują na częste występowanie czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca u osób młodych, w wieku 20–26 lat. Najbardziej rozpowszechnionymi czynnikami ryzyka wśród badanej grupy były: brak aktywności fizycznej, nadciśnienie tętnicze, palenie tytoniu oraz obecność choroby niedokrwiennej serca w rodzinie. Zaburzenia gospodarki lipidowej dotyczyły najczęściej wysokich stężeń trójglicerydów i niskiego stężenia cholesterolu HDL, rzadziej stężenia cholesterolu całkowitego i cholesterolu LDL w surowicy krwi.

Metody inwazyjno-interwencyjne są wspa- niałą metodą terapeutyczną dzisiejszej kardiologii. Niestety należą do bardzo kosztownych i leczą tylko paliatywnie. Szeroko rozumiana profilaktyka jest znacznie tańsza i zapobiega chorobie miażdżycowej naczyń. Kompleksowa taktyka pierwotnej profilaktyki umożliwi wypełnienie tzw. „deklaracji werońskiej“, w której większość państw wysoko rozwiniętych zobowiązała się do wprowadzenia działań, dzięki którym dzieci urodzone po 2003 roku nie będą zapadały na choroby układu krążenia przed ukończeniem 64. roku życia.

Wnioski

1. U studentów Politechniki Częstochowskiej, z otyłością, najczęściej występującymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca są:

- brak aktywności fizycznej,
- pozytywny wywiad rodzinny w kierunku choroby niedokrwiennej serca,
- nadciśnienie tętnicze,
- palenie papierosów.

2. Najczęściej występujące czynniki ryzyka choroby niedokrwiennej serca u studentów Politechniki Częstochowskiej z nadwagą to:

- brak aktywności fizycznej,
- nadciśnienie tętnicze,
- pozytywny wywiad rodzinny w kierunku choroby niedokrwiennej serca,
- palenie papierosów.

3. Jedynie 14% studentów Politechniki Częstochowskiej z nadwagą i otyłością nie ma czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Pozostali studenci obarczeni są jednym lub kilkoma czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca.

4. Otyłość i nadwaga u studentów Politechniki Częstochowskiej związana jest dość często z występowaniem nadciśnienia tętniczego i zaburzeń lipidowych.

5. U młodzieży niestudującej z miasta Częstochowy, z otyłością, najczęściej spotykano następujące czynniki choroby niedokrwiennej serca:

- brak aktywności fizycznej,
- nadciśnienie tętnicze,
- palenie papierosów.

6. U studentów Politechniki Częstochowskiej z prawidłową masą ciała również wykazano bardzo małą aktywność fizyczną oraz częste palenie papierosów.

7. Brak aktywności fizycznej i palenie papierosów są dominującymi i niepokojącymi czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca u młodzieży studium i niestudium, zarówno z nieprawidłową jak i prawidłową masą ciała.

8. Konieczne jest rozpoczęcie szerokiej akcji uświadamiającej wśród młodzieży, rodziców oraz władz szkolnych, akademickich i samorządowych, mającej na celu propagowanie zasad sprzyjających redukcji nadwagi lub otyłości i eliminacji innych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca u młodego pokolenia Polaków,

Strzeszczenie

Nadwaga i otyłość oraz współwystępujące z nimi inne czynniki ryzyka, takie jak nadciśnienie tętnicze, palenie tytoniu, cukrzyca, zaburzenie lipidowe, upośledzona fibrynoliza, podwyższają ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca. Wśród dzieci i młodzieży częstość występowania otyłości szacuje się na około 5%, natomiast nadwagi na około 8%.

Celem pracy była ocena częstości występowania i nasilenia wybranych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca u studentów Politechniki Częstochowskiej z otyłością i nadwagą. Badanie wykonano u 148 studentów Politechniki Częstochowskiej, w tym u 52 z otyłością (grupa I – BMI > 30 kg/m²), 48 z nadwagą (grupa II – BMI = 25–30 kg/m²) i 48 studentów z prawidłową masą ciała (grupa III – BMI = 20–25 kg/m² – grupa porównawcza). Do badania włączono także 48 młodych i niestudujących osób, mieszkańców Częstochowy z otyłością, w podobnym wieku co badani studenci (grupa IV – BMI > 30 kg/m²).

Z przeprowadzonych badań wynika, że większość studentów z nieprawidłową masą ciała obarczona była kilkoma czynnikami ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Najbardziej rozpowszechnionymi czynnikami ryzyka wśród badanej grupy były: brak aktywności fizycznej, nadciśnienie tętnicze, palenie tytoniu oraz obecność choroby niedokrwiennej serca w rodzinie. Zaburzenia gospodarki lipidowej dotyczyły najczęściej wysokich stężeń trójglicerydów i niskiego stężenia cholesterolu HDL, rzadziej wysokiego stężenia cholesterolu całkowitego i cholesterolu LDL w surowicy krwi. Jedynie 14% studentów Politechniki Częstochowskiej z nadwagą i otyłością nie miało czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca. U studentów z prawidłową masą ciała również wykazano bardzo małą aktywność fizyczną oraz częste palenie papierosów.

Piśmiennictwo:

1. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendations of the Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. Eur Heart J 1998,19,1434.
2. Profilaktyka choroby niedokrwiennej serca. Rekomendacje Komisji Profilaktyki Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego. Kard. Pol. 2001,24,15.
3. Cibulska B. i wsp.: Profilaktyka choroby niedokrwiennej serca. Kard. Pol. 2000,53,1.
4. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the management of hypertension. J Hypert. 1999,17,151

Abstract

Overweight, obesity and other coexisting risk factors like: hypertension, cigarette smoking, diabetes mellitus, lipid disorders, fibrinolysis impairment make the risk of IHD incidence increase. Among children the obesity and overweight are estimated to occur in 5% and 8% individuals, respectively.

Our study aimed to evaluate the occurrence and intensification of selected IHD risk factors in obese and overweighted students of Politechnika Częstochowska. The study comprised 148 students of Politechnika Częstochowska who were divided into 3 groups. Group I – 52 students with obesity (BMI > 30 kg/m²), group II – 48 students with overweight (BMI = 25–30 kg/m²), group III – 48 students with the normal body mass (BMI = 20–25 kg/m²). 48 young, not studying obese people at comparative age, inhabitants of Częstochowa City were included into the study as well. They constituted the 4th group (group VI – BMI > 30 kg/m²).

The study revealed that majority of students with weight disorders had been burdened with at least a few IHD risk factors. The most widespread IHD risk factors in study group were: lack of exercise, hypertension, cigarette smoking, IHD diagnosed in family. As to the lipid disorders in the study groups, high concentrations of triglyceride and low of HDL-cholesterol were observed the most frequently while high total cholesterol and high LDL cholesterol concentrations were observed more rarely. There were no IHD risk factors only in 14% of obese and overweighted students of Politechnika Częstochowska. Students with the proper body mass were characterized by very low physical activity and by frequent cigarette smoking.

Adres autora:

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny
im. M. Kopernika w Łodzi
Oddział Chorób Wewnętrznych
z Pododdziałem Kardiologii
ul. Pabianicka 62
93-513 Łódź
gpiotr4@wp.pl

5. Adamska-Dyniewska H., Broda G., Grodzicki T., Januszewicz A.: Stanowisko Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. *Terapia* 2000,9,5.
6. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the management of hypertension. *J Hypert* 1999,17,151.
7. Berenson G.S., Srinivasan S.R., Bao W. et al.: Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults: the Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med* 1998,338,1650.
8. Mahoney L.T., Burns T.L., Stanford W. et al.: Coronary risk factors measured in children and childhood and young adult life are associated with coronary artery calcification in young adults: the Muscatine Study. *J Am Coll Cardiol* 1996,27,277.
9. Definition of new targets in cardiovascular prevention from young into old age. *Eur Heart J* 2002,23,507.
10. Luepker R.V., Perry C.L., McKinlay S.M. et al.: Outcomes of a field trial to improve children's dietary patterns and physical activity: the Child and Adolescent Trial for Cardiovascular Health. CATH collaborative group. *JAMA*. 1996,275,768.
11. Sallis J.F., McKenzie T.L., Alcatraz J.E. et al.: The effects of a 2-year physical education program (SPARK) on physical activity and fitness in elementary school students. *Sport, Play and Active Recreation for Kids*. *Am J Public Health* 1997,87,1328.
12. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*,2001,2852486.
13. Fedder D.O., Koro C.E., L'Italien G.J.: New National Cholesterol Education Program III guidelines for primary prevention lipid-lowering drug therapy: projected impact on size, sex, and age distribution of the treatment-eligible population. *Circulation* 2002,105,152.
14. Himes J.H., Dietz W.H.: Guidelines for overweight in adolescent preventive services; recommendations from an expert committee. *Am J Clin Nutr* 1994,59,307.
15. Williams C.L., Hayman L.L., Daniels S.R. et al.: Cardiovascular health in childhood: a statement for health professionals from the Committee on Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young (AHOY) of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, American Heart Association. *Circulation* 2002,106,143.
16. Karczmarczyk-Chalas K., Drygas W.: Trendy wysokości ciała i wskaźnika nadwagi wśród dorosłych mieszkańców Łodzi, od 1972 do 1996 roku. *Czynnik Ryzyka* 2002,1,38.
17. Kopczyński J.: Cz. IV. Ciężar a warunki społeczno-bytowe i migracja. *Przegl Epid* 1972,4,523.
18. Pietinen P., Vartiainen E., Mannisto S.: Trends in body index and obesity among adults in Finland from 1972 to 1992. *Int J Obes* 1996,20,114.
19. Waaler H., T.: Hight, weight and mortality: Norwegian experience. *Acta Med Scand. Suppl.* 1984,679,1.
20. Kuczmarski R.J. et al.: Increasing prevalence of overweight among US adults. The National Health and Nutrition Examination. Surveys 1960 to 1991. *JAMA* 1994,272,205.
21. Laurier D. et al.: Prevalence of obesity: a comparative survey in France, the United Kingdom and the United States. *Int J Obes* 1992,16,565.
22. WHO. Obesity, preventing and managing the global epidemic. Report of WHO Consultation on obesity. Geneva, 3-5 June 1997, Geneva, WHO,1998.
23. Van Itallie T.B.: Worldwide epidemiology of obesity. *Pharmacoeconomics* 1994, 5 Suppl.1,1.
24. Rywik S. I wsp.: Epidemiologia otyłości jako czynnik ryzyka chorób układu krążenia. *Pol Tyg Lek* 1995, 50, supl.1,63.
25. Tatoń J.: Pandemia otyłości: potrzeba programu prewencji opartej na dowodach naukowych. *Med. Metab* 2001,3.
26. Tendera M., Kozakiewicz K., Bartnik M., Małacka-Tendera E.: Występowanie głównych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca w grupie 41927 osób objętych akcją prewencji pierwotnej w Polsce Południowej. *Wiad Lek* 2001,54,292.
27. Kłosiewicz-Latoszek L.: Czynniki ryzyka choroby niedokrwiennej serca towarzyszące otyłości. *Czynnik Ryzyka* 1996,1,32.
28. Kannel W.B. et al.: The relation of adiposity to blood pressure and the development of hypertension. *Ann Int Med* 1967,67,48.
29. Tuck M.L.: Obesity, the sympathetic nervous system, and essential hypertension. *J Hyert* 1992,19,167.
30. Jabrocka A., Motyka M., Kieć Wilk B.: Otyłość i cukrzyca. *Czynnik Ryzyka* 2001,12,10.
31. Cybulska B., Szostak W.B.: Otyłość wisceralna jako czynnik zagrożenia chorobą niedokrwinną serca. *Pol Tyg Lek* 1995,1,43.
32. Franceschini G.: Epidemiologic evidence for high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2001,20,9.
33. Ernest E., Resch K.L.: Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: meta-analysis and review of literature. *Ann Intern Med* 1993,118,956.
34. Despre J.P., Lamparche B.: Effects of diet and physical activity on adiposity and body FAT distribution: implications for the prevention of cardiovascular disease. *Nutr Res Rev* 1993,6,137.
35. Barret Connor E., Khaw K.T.: Cigarette smoking and increased central adiposity. *Ann Intern Med* 1999,11,783.
36. Fromm R., Kristal Boneh E. Mamed S. i wsp.: Smoking cessation and body mass index oc occupationally active men. The Israeli CORDIS Study. *Am J Publ Health* 1999,89,718.
37. Wizner B., Stolarz K., Adamkiewicz Piejko A., Kawecka Jaszcz K. I wsp.: Wpływ interakcji wskaźników antropometrycznych i palenia tytoniu na ciśnienie tętnicze krwi w 24-godzinnej rejestracji. *Nadciśnienie Tętnicze* 2002,6,179.
38. Andresena K.M. i wsp.: An updated coronay risk profile: A statement for health professionals. *Circulation* 1991,83,356.



lek. A. Graban,



dr hab. med. D. Ryglewicz

Zaburzenia metabolizmu homocysteiny a choroby układu nerwowego

Na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat nastąpiła eksplozja badań oceniających wpływ hiperhomocysteinemii na występowanie niektórych chorób ośrodkowego układu nerwowego (oun). Podwyższony poziom homocysteiny (Hcy) jest nie tylko uznanym czynnikiem ryzyka chorób naczyniowych mózgu, ale jak wskazują wyniki ostatnich badań, może odgrywać również bezpośrednią rolę w patogenezie niektórych chorób zwyrodnieniowych oun, zwłaszcza tych, których częstość występowania wzrasta z wiekiem (parkinsonizm, otępienie).

W procesie starzenia dochodzi do zmniejszenia możliwości powstawania adenozylo-metioniny i nasilenia tworzenia z metioniny tiolaktonu homocysteiny. Tiolakton homocysteiny jest reaktywnym bezwodnikiem Hcy, który tworzy się w wątrobie z metioniny. Tiolakton Hcy reaguje z wolnymi grupami aminowymi tworząc związane z białkami grupy homocysteinowe. Proces, w którym powstają nowe wolne grupy sulfhydrylowe, nazywany jest tiolacją. Proces tiolacji zachodzi w hodowanych komórkach nowotworowych i prowadzi do homocysteinulacji wolnych grup aminowych białek komórkowych, kwasów nukleinowych, glikoaminoglikanów i innych składników komórki. Tworzenie tiolaktonu Hcy prowadzi do gromadzenia w komórkach bardzo reaktywnych rodników tlenowych oraz utraty reaktywnych elektrofilnych miejsc fosforylacji oksydacyjnej, co aktywizuje białka i nienasycone kwasy tłuszczowe, a to z kolei przyspiesza proces starzenia (1).

Homocysteina jest siarkowym aminokwasem powstającym w organizmie podczas de-

metylacji metioniny (aminokwasu egzogenne-go), której źródłem są białka pochodzenia zwierzęcego. Metionina, w reakcji katalizowanej przez adenozylotransferazę metioniny, ulega przekształceniu do S-adenozylometioniny (SAM – „aktywnej metioniny”), dostarczającej grupy metylowej w tzw. reakcjach trans-metylacji. Produktem wszystkich reakcji metylacji jest S-adenozylhomocysteina (SAH), która hydrolizuje do homocysteiny. Tworząca się na skutek tych reakcji grupa metylowa, po przeniesieniu na odpowiedni związek akceptorowy, bierze udział w powstaniu fizjologicznie ważnych związków, takich jak kreatynina, fosfatydylocholina, polisacharydy, mielina, katecholaminy (2).

Coraz więcej badań wskazuje na neurotoksyczne działanie aminokwasów zawierających siarkę i ich rolę w powstawaniu chorób otępiennych, depresji, mieloneuropatii (ryc.1):

- niektóre leki, jak L-dopa, leki antydepresyjne oraz przeciwpadaczkowe, obniżają poziom S-adenozylmetioniny, co zaburza proces metylacji i zmniejsza syntezę DNA, mieliny, błonowych fosfolipidów i neuroprzekazników;
- nieprawidłowy sposób żywienia oraz różne enzymopatie powodują obniżenie poziomu kwasu foliowego i witaminy B₁₂ we krwi, co z kolei obniża stężenie tetrahydrobiopteryny, która jest niezbędna dla syntezy monoaminowych neuroprzekazników;
- wrodzony niedobór β-syntazy cystationinowej powoduje wzrost Hcy, co prowadzi do uszkodzenia śródbłonna, zwiększa aktywację receptorów NMDA, przyspiesza proces

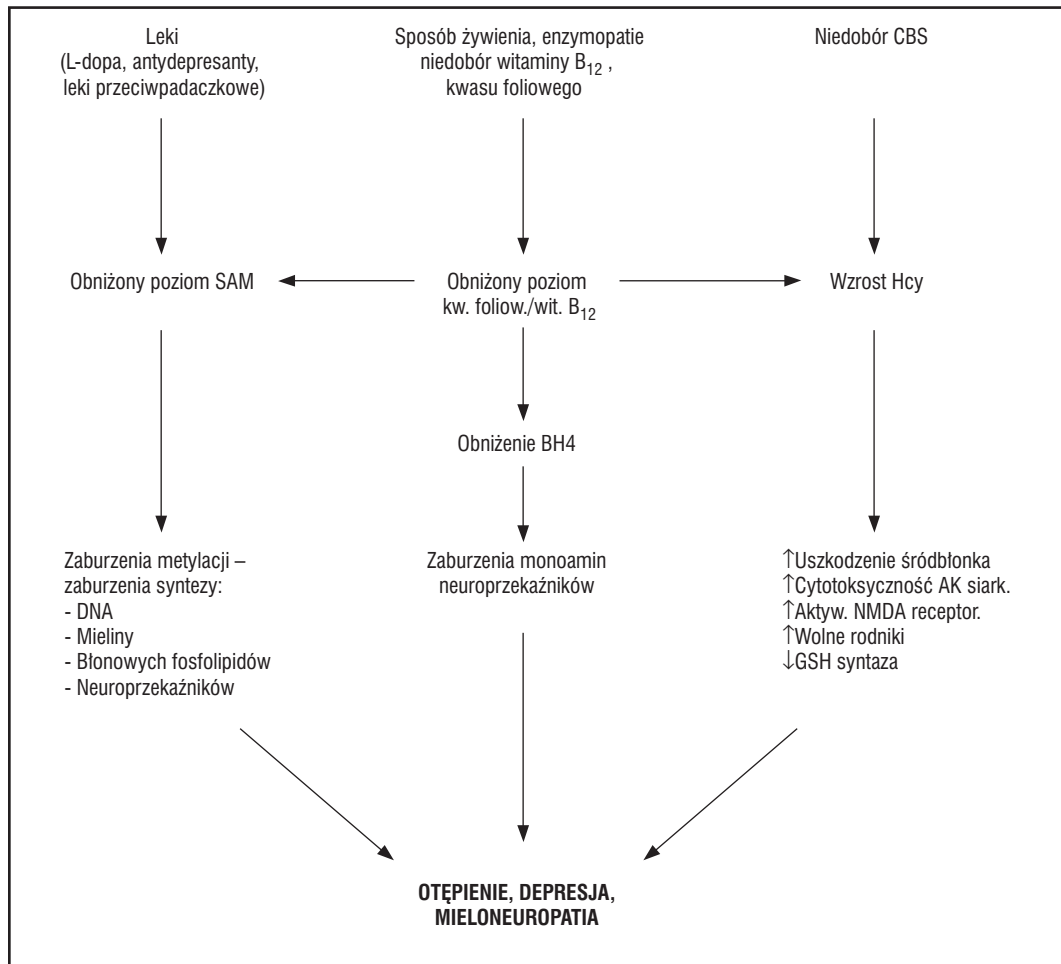
tworzenia wolnych rodników, obniża syntezę glutationu.

Wykazano ponadto, że Hcy posiada bezpośredni wpływ na czynnik rozkurczający naczynia (EDRF). W warunkach fizjologicznych tlenek azotu (NO) w ścianie naczynia neutralizuje Hcy poprzez przekształcenie jej w S-nitrohomocysteinę, która jest już związkami pozbawionymi właściwości utleniających i przy tym działającym antyagregacyjnie i rozszerzająco na naczynia mózgowia. W przypadku hiperhomocysteinemii dochodzi do znacznego obniżenia stężenia NO, co powoduje zaburzenia funkcji wazomotorycznych naczyń (4). Przy podwyższonym stężeniu Hcy w osoczu dochodzi do toksycznego działania jej metabolitów (np. kwasu L-homocysteiny) na różne podtypy NMDA receptorów. Przy ich aktywacji może dojść do wzrostu napływu wapnia do wnętrza komórki, aktywacji komórkowych proteaz i śmierci komórki w mechanizmie apoptozy (5). Zarówno aktywacja receptorów NMDA jak i obniżenie stężenia NO sprzyjają narastaniu zmian neurodegeneracyjnych.

Badania, które zostały opublikowane w tym roku, na podstawie analizy wyników

spektroskopii magnetycznej (MRS) wykazały, że u osób z poziomem Hcy $\geq 14 \mu\text{mol/L}$ stężenie poziomu N-acetyl-asparagianu (NAA) i kreatyny jest znamienne niższe niż u chorych z poziomem Hcy $< 14 \mu\text{mol/L}$. Wyniki te wskazują, że podwyższony poziom Hcy może działać na procesy metaboliczne zachodzące w mózgu, co powoduje obniżenie NAA i kreatyny poprzez aktywację receptorów NMDA. Nie stwierdzono statystycznie istotnego obniżenia poziomu cholicy (6).

U chorych z parkinsonizmem leczonych L-dopą i inhibitorami dekarboksylazy stwierdza się podwyższony poziom Hcy (7, 8). Badania eksperymentalne na zwierzętach pozwoliły stwierdzić, że L-dopa istotnie obniża poziom S-adenozylmetioniny i S-adenozylhomocysteiny w mózgu i wątrobie (9). Prowadzi to do zwiększonego ryzyka chorób naczyniowych oraz obniżenia czynności poznawczych (10). U chorych długo leczonych preparatami L-dopy średni poziom Hcy we krwi wynosił średnio $17,3 \mu\text{mol/L}$, a u osób w grupie kontrolnej – $9,1 \mu\text{mol/L}$ (11). Wykazano, że przyjmowanie wysokich dawek pochodnych L-dopy 5-krotnie obniża metylację (12).



Ryc.1 Mechanizm neurotoksycznego działania aminokwasów zawierających siarkę (3)
SAM – S-adenozylmetionina; BH4 – tetrahydrobiopteryna; CBS – syntaza β-cystationiny; GSH – glutation

Podawanie zwierzętom wysokich dawek homocysteiny może doprowadzić do występowania drgawek. U ponad 20% osób z homozygotycznym defektem β -syntazy cystationiny, u których stężenie tego aminokwasu sięga 50-200 $\mu\text{mol/L}$, drgawki są częstym zjawiskiem. U tych chorych stwierdza się również niższe poziomy kwasu foliowego w surowicy w porównaniu z osobami zdrowymi.

Schwaninger i wsp. uważają, że leki przeciwpadaczkowe indukujące cytochrom P-450 powodują wzrost stężenia Hcy w surowicy (13). W badaniach amerykańskich, w których badano dzieci z niedorozwojem, w tym 6 932 dzieci matek przyjmujących leki przeciwpadaczkowe oraz 8 387 dzieci matek nieleczonych tymi lekami, stwierdza się wzrost występowania wad rozwojowych cewy nerwowej oraz układu sercowo-naczyniowego, moczowego i pokarmowego u dzieci matek leczonych (14). U noworodków, których matki przyjmują leki przeciwpadaczkowe (karbamazepina, fenytoina, fenobarbital, primidon), o 6% częściej niż w populacji ogólnej stwierdza się wady rozwojowe.

W roku 1996 opisano 8 osób z hipermetioninemią na skutek mutacji (MAT I/III) z niedoboru adenozylotransferazy metioniny. Wśród nich były 2 osoby w wieku 8 i 11 lat (homozygoty) z mutacją genu MATA 1, u których badania neuroobrazujące wykazały ogniska demielinizacyjne, a w badaniu neurologicznym stwierdzono objawy ogniskowego uszkodzenia oun. Obojgu chorym włączono dietę z dodatkiem choliny. Na przemianę choliny, która uczestniczy w przekazywaniu sygnałów między komórkami nerwowymi, ma wpływ również transport i metabolizm lipidów. Synteza choliny zależy od przemian S-adenozylmetioniny (SAM), która jest dawcą grup metylowych niezbędnych do syntezy fosfolipidów, takich jak fosfatydylocholina i sfingomielina. W badaniach eksperymentalnych na zwierzętach stwierdzono skuteczność uzupełnienia choliny w procesie rozwoju płodu (15).

Bottiglieri i wsp. stwierdzili u 52% chorych z depresją zamiennie podwyższony poziom Hcy, przy jednocześnie obniżonym w płynie mózgowo-rdzeniowym poziomie metabolitów monoaminowych, co było prawdopodobnie spowodowane upośledzonym metabolizmem serotoniny, dopaminy i noradrenaliny, które uczestniczą w patomechanizmie chorób afektywnych. U chorych tych stwierdzano ponadto obniżenie poziomu kwasu foliowego i witaminy B₁₂. Wyniki te sugerują, iż to właśnie Hcy może być czułym wskaźnikiem „czynnościowego” niedoboru kwasu foliowego, a także witaminy B₁₂ (16).

Od ponad 50 lat znany był fakt występowania otępienia, zaburzeń świadomości, obja-

wów neuropatii w przebiegu niedoboru witaminy B₁₂. Badania Lindenbauma i wsp. (17) wykazały, że u chorych z niedużym deficytem witaminy B₁₂ mogą wystąpić: otępienie, zaburzenia osobowości, psychozy i ataksja.

W badaniu OPTIMA (Oxford Project To Investigate Memory & Ageing) stwierdzono podwyższony poziom Hcy oraz obniżony poziom kwasu foliowego i witaminy B₁₂ w osoczu w grupie chorych z prawdopodobną chorobą Alzheimera (chA) jak również w grupie, gdzie chA była potwierdzona w badaniach histopatologicznych. Na podstawie 3-letniej obserwacji chorych stwierdzono, że hiperhomocysteinemia wyraźnie przyspiesza postęp chA (18).

Najczęstszą przyczyną otępienia jest postępujący proces zwyrodnieniowy i/lub naczyniopodobne uszkodzenie mózgu. Z obserwacji klinicznych, badań neuroobrazujących i neuropatologicznych wynika, że te dwa procesy często ze sobą współistnieją i wzajemnie na siebie oddziałują.

W patogenezie otępień można wyodrębnić udział czynników genetycznych, neurochemicznych, immunologicznych oraz egzogennych. Istotną rolę odgrywają również czynniki ryzyka miażdżycy. W wyniku zaburzenia krążenia mózgowego dochodzi do stałego ubytku strukturalnych elementów neuronów (dendrytów, aksonów, synaps) oraz dysfunkcji systemu przekazywania neuronalnego.

Dickson i wsp. u jednej czwartej pacjentów z otępieniem, mających 80 lat i więcej, stwierdzili towarzyszącą zanikowi neuronów w obszarze hipokampa patologię mikronaczyniową oraz objawy niedokrwiennego uszkodzenia mózgu. Natomiast Barber w swoich badaniach udowodnił, że atrofia hipokampa występuje w 87,5% u chorych z otępieniem naczyniopodobnym.

Występowanie zaburzeń funkcji poznawczych u osób z zaburzeniami metabolizmu Hcy nie jest prawdopodobnie spowodowane tylko patologią naczyniową. Badania patomorfologiczne prowadzone w ramach Nun Study wykazały, że niski poziom kwasu foliowego koreluje z nasileniem zmian zanikowych w obrębie neocortex. Zaburzenia metabolizmu Hcy mają wpływ na syntezę białek mieliny i neuroprzekazników, odgrywają również rolę w wydzielaniu peptydów β -amyloidowych (19, 20).

U chorych ze zmianami degeneracyjnymi, wtórnymi do licznych incydentów zawałowych, stwierdza się niskie stężenie transferazy acetylocholinowej w hipokampie. Dla rozwoju otępienia szczególne znaczenie ma obecność ognisk naczyniopodobnych w tzw. obszarach strategicznych. Do obszarów tych należą obustronne ogniska zlokalizowane we wzgórzu, w zakręcie kątowym dominującej półkuli, w podwzgórzu lub zakręcie obręczy (21).

Oprócz ognisk zawałowych u pacjentów z otępieniem naczyniowym występują ogniska rozrzedzenia okołokomorowego związane z przewlekłym niedokrwieniem, określane mianem leukoarajozy (22). Rozrzedzenie struktury okołokomorowej najczęściej stwierdza się w okolicy rogów czołowych i potylicznych komór bocznych u osób w podeszłym wieku, z nadciśnieniem tętniczym oraz przewlekłymi zaburzeniami krążenia mózgowego.

Coraz więcej badań wykazuje, że hiperhomocysteinemia może sprzyjać występowaniu ognisk wielozawałowych lub rozsianych zmian w istocie białej okołokomorowej (23). Na podstawie badań neuroobrazujących stwierdzono, że hiperhomocysteinemia zwiększa ryzyko ponownego udaru u chorych ze zmianami mikroangiopatycznymi (24). W przebiegu hiperhomocysteinemii można stwierdzić zmiany zarówno w dużych jak i w małych naczyniach, co sprzyja występowaniu udarów niedokrwienych (25, 26, 27). Malinow i wsp. zauważyli, że u osób z poziomem Hcy przekraczającym 10,5 $\mu\text{mol/L}$ stwierdza się trzykrotne pogrubienie błony wewnętrznej tętnic w stosunku do osób z poziomem Hcy nieprzekraczającym 5,88 $\mu\text{mol/L}$. W badaniach K. Fassbender i wsp. stwierdzono, że u chorych z zaburzeniami krążenia mózgowego podwyższony poziom Hcy występuje istotnie częściej przy zmianach w małych naczyniach wewnątrzmożgowych (zmiany mikroangiopatyczne) (28), co zwiększa ryzyko występowania zaburzeń czynności poznawczych.

Mechanizm aterogennego oddziaływania Hcy jest ciągle niejasny. Przeprowadzone badania wskazują, że hiperhomocysteinemia wykazuje właściwości cytotoksyczne, uszkadza śródbłonek naczyniowy, sprzyja proliferacji mięśniówki gładkiej ścian naczyń, działa prozakrzepowo, ma bezpośredni wpływ na czynniki rozkurczające naczynia, jakim jest np. tlenek azotu (NO).

Podwyższony poziom Hcy może być tym czynnikiem, który ma znaczenie zarówno w etiopatogenezie otępienia naczyniopochodnego, jak i otępienia, którego podłożem są zmiany zwyrodnieniowe oraz zmiany związane z przyspieszonym procesem starzenia.

Badania przeprowadzone w I Klinice Neurologicznej Instytutu Psychiatrii i Neurologii pozwoliły stwierdzić podwyższony poziom Hcy u osób z objawami otępienia, w porównaniu do grupy kontrolnej. Największą różnicę stwierdzono u osób z otępieniem zwyrodnieniowym oraz mających ogniska naczyniopochodne w mózgu (29).

Hipoteza, że hiperhomocysteinemia może mieć wpływ na występowanie objawów otępienia, ma istotne praktyczne znaczenie, gdyż jest to modyfikowalny czynnik ryzyka chorób na-

czyniowych. Suplementacja witaminami może obniżyć poziom homocysteiny i spowolnić narastanie objawów otępienia.

Streszczenie

Podwyższony poziom homocysteiny (Hcy) działa cytotoksycznie, nasila zmiany zakrzepowe, prowadzi do gromadzenia w komórkach reaktywnych rodników tlenowych, co przyspiesza proces starzenia. Hiperhomocysteinemia może być czynnikiem sprzyjającym występowaniu zmian naczyniowych mózgu oraz zwyrodnieniowych. Neurotoksyczne działanie okazuje hiperhomocysteinemia, co sprzyja powstawaniu chorób otępiennych, depresji, mieloneuropatii. Grupy metylowe powstające na skutek reakcji demetylacji biorą udział w powstawaniu fizjologicznych związków takich jak: kreatynina, fosfatydylocholina, polisacharydy, mielina, katecholamin. Suplementacja witaminami B₆, B₁₂ i kwasem foliowym może obniżyć poziom homocysteiny i zmniejszyć działanie neurotoksyczne.

Summary

High levels of total plasma homocysteine (Hcy) have a toxic effect on endothelial cells, it promotes thrombosis and induces the formation of free oxygen radicals, which speed the process of the aging. Hyperhomocysteinemia increase risk of vasogenic brain injury. Also it has been shown an association between plasma Hcy levels and the risk of degenerative disease. Hyperhomocysteinemia have neurotoxic effect, this increased risk to develop dementia, myelo-neuropathy and depression. The methyl group can easily be transferred to a large variety of acceptor substrates, including proteins, phospholipids, myelin, choline, creatine, catecholamines, polysaccharides. Hcy levels are inversely correlated with vitamins B₆, B₁₂ and folate intake, this lowering activity neurotoxicity.

Adres autorów:

I Klinika Neurologiczna IPiN
al. Sobieskiego 1/9
02-957 Warszawa
graban@ipin.edu.pl
ryglew@ipin.edu.pl

Piśmiennictwo:

1. Naruszewicz M., Mirkiewicz E., Olszewski A.J., Mc Cully K.S.: Tiolakton of low density lipoprotein by tiolactone causes increased aggregation and altered interaction with cultured macrophages. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 1994, 4, 70. **2.** Martin Lehmann, C.G.Gottfries, Bjorn Regland: Identification of Cognitive Impairment in the Elderly: Homocysteine Is an Early Marker. *Dement. Geriatr. Cogn Disord.* 1999, 12-20. **3.** Botteglieri T.: Personal communication (1999). Focus on Homocysteine and the Vitamins. Involved in its Metabolism. Second edition. Springer Verlag France, 2002, Fig. 7, 60. **4.** Welch G.N., Loscalzo J.: Homocysteine and atherothrombosis. *N. Engl. J. Med.* 1998, 338, 1042.
5. Santosh Kumar CR i wsp.: Are neuropsychiatric manifestations of folate, cobalamin and pyridoxine deficiency mediated through imbalances in excitatory sulphur amino acids. *Med Hypotheses*, 1994; 43: 239-44. **6.** Robertus H.S. i wsp.: Elevated levels of plasma homocysteine are associated with neurotoxicity. *Atherosclerosis* 2004; 174: 87-92. **7.** Allain P i wsp.: Sulfate and cysteine levels in the plasma of patients with Parkinson's disease. *Neurotoxicity*, 1995; 16: 527-9. **8.** Blandini F i wsp.: Plasma homocysteine and L-dopa metabolism in patients with Parkinson's disease. *Clin Chemistry*, 2001; 47: 1102-4. **9.** Daly D i wsp.: The effect of L-dopa administration and folate deficiency on plasma homocysteine concentrations in rats. *J Nutritional Biochemistry*, 1997; 11: 634-40.
10. Kuhn W i wsp.: Elevated plasma levels of homocysteine in Parkinson's disease. *Eur Neurology*, 1998; 40: 225-7. **11.** Müller T i wsp.: Nigral endothelial dysfunction, homocysteine and Parkinson's disease. *Lancet*, 1999; 354: 126-7. [12] Liu XX i wsp.: Effects of L-dopa treatment on methylation in mouse brain : implications for the side effects o L-dopa. *Life Sciences*, 2000; 66: 2277-88. **13.** Schwaninger M i wsp.: Elevated plasma concentrations of homocysteine in antiepileptic drug treatment. *Epilepsia*, 1999; 40: 345-50. **14.** Hernandez Diaz S i wsp.: Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *New Engl J Med*, 2000; 343: 1608-14.
15. Zeisel SH. Choline: Needed for normal development of memory. *J Am College Nutrition*, 2000; 19: 528S-531S. **16.** Bottiglieri T. i wsp.: Homocysteine, folate, methylation, and monoamine metabolism in depression. *J. Neurol. Neurosurg Psychiatry* 2000; 69: 228-232. **17.** Lindenbaum J I i wsp.: Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318: 1720-1728. **18.** Clarke i wsp. Folate, vitamin B12 and serum total Homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch. Neurol*, 1998; 55: 1449-1455. **19.** Sudha Seshadri, Alexa Beiser: Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 476.
20. White A.R., Huang X., Jobling M.F. i wsp.: Homocysteine potentiate copper- and amyloid ? peptide-mediated toxicity in primary neuronal culture; possible risk factors in the Alzheimer's type neurodegenerative pathways. *J. Neurochem.*, 2001, 76, 1509. **21.** Auld D.S., Kar S., Quirion R.: Beta-amyloid peptides as direct cholinergic neuromodulators: a missing link? *Trends Neurosci.* 1998; 21: 43-49. **22.** Leissring M.A., Murphy M.P., Mead T.R. i wsp.: A psysilogic signalling role for the gamma-secretase-derived intracellular fragment of APP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 4697-4702. **23.** Evers S i wsp.: Features, symptoms and neurophysiological findings on stroke associated with hyperhomocysteinemia. *Arch Neurol*, 1997; 54: 1276-82. **24.** van cen Berg M. i wsp.: Hyperhomocysteinemia; with reference to its neuroradiological aspects. *Neuroradiology* 1995; 37: 403-411.
25. John W. Eikelboom, MBBS, FRACP, FRCPA i wsp.: Association Between High Homocyst(e)ine and Ischemic Stroke due to Large-and Small-Artery Disease but Not Other Etiologic Subtypes of Ischemic Stroke. *Stroke* 2000, 1064-1074. **26.** Chambes J.C., Obeid O.A., Kooner J.S.: Physiological increments in plasma homocysteine induce vascular endothelial dysfunction in normal human subjects. *Arteriosclerosis and thrombosis* 1999, 19, 2922. **27.** Aronow W.S., Ahn C., Schoenfeld M.R.: Association between plasma homocysteine and extracranial carotid arterial disease in older persons. *Am J Cardiol.* 1997, 149: 1432-1433. **28.** Fassbender K et al. Homocysteine in cerebral macroangiography and microangiopathy. *Lancet* 1999; 353: 1586-1587. **29.** Graban A. Hiperhomocysteinemia u osób z zespołem otępiennym. *Neuro. Neurochir. Pol.* 2003, T. 37 (LII), NR 4-5, 945-953.



dr A. Schmitz

Metabolity sfingomielin

w przekazywaniu sygnałów komórkowych i w miażdżycy

Wstęp

Zmiany miażdżycowe rozwijają się na skutek różnorodnej aktywności wszystkich komórek tworzących naczynia i obejmują produkcję białek macierzy zewnątrzkomórkowej. Ostatnie doniesienia dostarczyły dowodów, że sfingolipidy mogą wpływać na te procesy. Historycznie, sfingolipidy traktowane były głównie jako strukturalne, lipidowe składniki błon komórkowych. Jednak badania Hunna i wsp. (1) pokazały po raz pierwszy znaczenie metabolitu sfingomielin – sfingozyny w procesach przekazywania sygnałów. Ta obserwacja doprowadziła do odkrycia cyklu sfingomielinowego i jego metabolitów jako ważnych przekaźników sygnałów.

Błony komórkowe funkcjonują jako bariery dla czynników zewnętrznych, ale także jako magazyny prekursorów szybko generowanych i zróżnicowanych strukturalnie wewnątrzkomórkowych i zewnątrzkomórkowych mediatorów lipidowych. Aktywacji komórek towarzyszą przeobrażenia składników błony komórkowej, które są istotne w przekazywaniu sygnałów. Powszechnie akceptowana jest rola fosfolipaz (PLA₂, PLC, PLD) w tworzeniu mediatorów lipidowych – lizofosfatydylocholine, kwasu fosfatydowego, kwasu lizofosfatydylogowego, diacyloglicerolu oraz pochodnej sfingolipidów – ceramidu (2).

Katalizowany przez sfingomielinazę rozpad sfingomieliny, głównego składnika błon komórkowych, generuje sfingolipidy i prowa-

dzi do powstawania mediatorów sygnałowych takich jak ceramid, ceramido-1-fosforan, sfingozyna, sfingozyno-1-fosforan, które regulują komórkowe procesy wzrostu i różnicowania, apoptozę, zdolność do przeżycia oraz odpowiedź na stres (3). Sfingolipidy mogą także uczestniczyć w procesach przekazywania sygnałów poprzez łączenie się z receptorami sprzężonymi z białkami G, a w formie glikozylowanej mogą stawać się składnikami mikrodomen błonowych zwanych tratwami, które inicjują kaskadę sygnałową.

Sfingolipidy i enzymy metabolizujące sfingolipidy mogą odgrywać ważną rolę w aterogenezie poprzez modyfikację lipoprotein, ale również mogą pośredniczyć w wielu procesach komórkowych, które są istotne w rozwoju zmian naczyniowych.

Metabolizm i subkomórkowa kompartmentalizacja sfingolipidów

Sfingolipidy są pochodnymi długołańcuchowych zasad, jak pokazano dla ceramidu i sfingozyno-1-fosforanu, i są zbudowane z części hydrofobowej i grupy hydrofilowej. Mogą być podzielone na dwie grupy: sfingofosfolipidy obejmujące sfingomielinę, ceramido-1-fosforan, sfingozyno-1-fosforan i sfingozylfosforylocholine oraz glikosfingolipidy: lakto-, glibo- i gangliozydy.

Ceramid

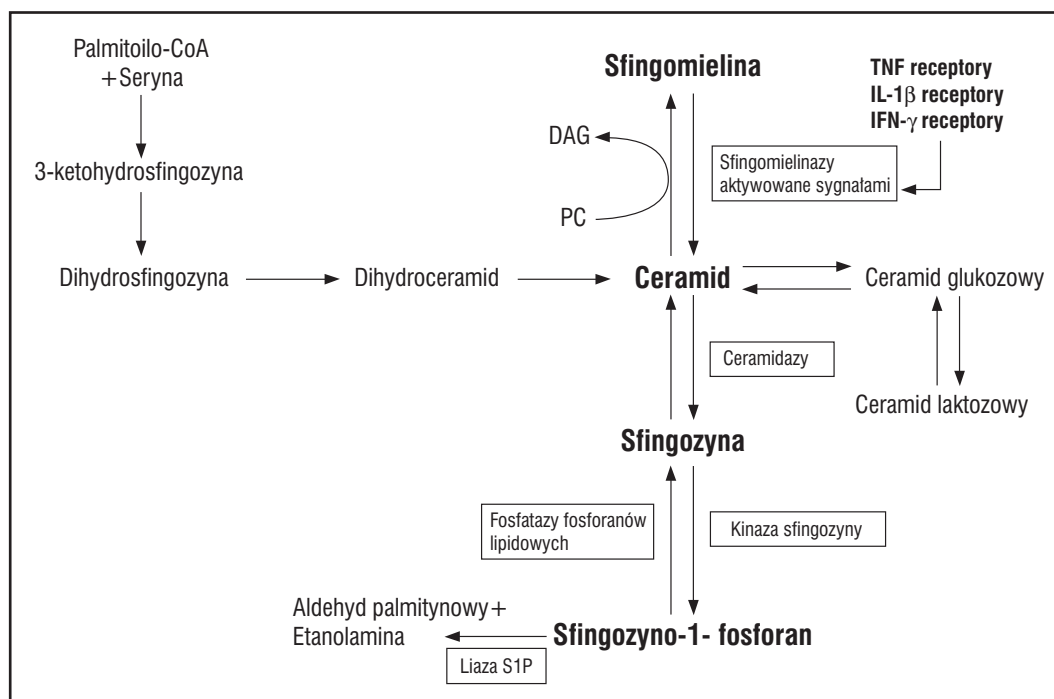
Ceramid stanowi szkielet sfingolipidów. Biosynteza ceramidu *de novo* (retikulum endoplazmatyczne) jest inicjowana przez kondensację seryny z palmitoilo-CoA (rys.1), która jest katalizowana przez transferazę seryna – palmitoilo-CoA (SPT). SPT ssaków jest związanym z retikulum endoplazmatycznym (4, 5) heterodimerem składającym się z podjednostek LCB1/SPT1 (35-kDa) i LCB2/SPT2 (63-kDa) w stosunku 1:1 (6). Gen długołańcuchowej zasady (LCB1) został wyizolowany pierwotnie ze zmutowanego szczepu drożdży z niedoborem SPT i wymagającego egzogennych długołańcuchowych zasad do wzrostu (7). Białko kodowane przez ten gen wykazywało podobieństwo na poziomie aminokwasowym do enzymu katalizującego transfer seryna – palmitoilo-CoA. Dalsze eksperymenty wykazały, że LCB1 i homolog LCB2 są podjednostkami kompleksu enzymatycznego SPT (8, 9).

Jednym z bardziej bezpośrednich czynników, które oddziałują na aktywność SPT jest dostępność zarówno seryny jak i palmitoilo-CoA, a ponieważ SPT jest swoista dla acylo-CoA o długości łańcucha 16 ± 1 atomów węgla, inne kwasy tłuszczowe mogą w warunkach *in vivo* działać jako inhibitory kompetycyjne. SPT jest pierwszym i decydującym o wydajności syntezy *de novo* enzymem (11). Nowo utworzona 3-ketosfinganina jest następnie redukowana przez reduktazę ketosfinganinową zależną od NADPH do dihydrosfingozyny. Dihydroceramid powstaje w następstwie acylo-

nia grup aminowych dihydrosfingozyny przez pochodne acylowe kwasów tłuszczowych. Ceramid powstaje z dihydroceramidu poprzez wprowadzenie podwójnego wiązania *trans*-4,5. Reakcja ta jest katalizowana przez desaturazę dihydroceramidową pochodzącą z części cytozolowej retikulum endoplazmatycznego. W stanie homeostazy komórkowej ceramid nie jest akumulowany, lecz przemieszczany do aparatu Golgiego, gdzie staje się metabolicznym prekursorem innych sfingolipidów, takich jak sfingomielina, glikosfingolipidy oraz sulfatyd. Wyróżnia się przynajmniej 2 szlaki, poprzez które ceramid transportowany jest do aparatu Golgiego: szlak główny, zależny od ATP i cytozolu, oraz szlak podrzędny, niezależny od ATP i cytozolu (12, 13, 14).

Ostatnio zidentyfikowany został gen zwany CERT (15). Jest on wariantem składania (splice) genu kodującego białko wiążące antygen Goodpasture (GPBP-delta26) i koduje białko zawierające domenę START, katalizującą transfer lipidów, domenę PH (pleckstrin homology) wiążącą fosfoinozytol (phosphoinositide-binding) oraz dwa motywy FFAT (phenylalanines in an acidic tract). Motyw FFAT wykryto w wielu białkach wiążących lipidy (16), a ich związek z domeną PH wiążącą się z aparatem Golgiego sugeruje rolę CERT. Postuluje się, że CERT działa jak transporter ceramidu, kursujący pomiędzy retikulum endoplazmatycznym i aparatem Golgiego.

Na syntezę ceramidu *de novo* wpływają czynniki regulujące aktywność transferazy seryna – palmitoilo-CoA. Ekspresja mRNA



Ryc.1 Metabolizm sfingolipidów. S1P – sfingozyno-1-fosforan, DAG – diacylglicerol, PC – fosfatydylocholina

LCB i aktywność SPT wzrastają w odpowiedzi na różne czynniki zapalne i stresogenne. Interleukina-1 β (17), promieniowanie UVB, kwasy tłuszczowe i cholesterol (19) stymulują aktywność SPT, powodując cytotoksyczną akumulację palmitynianów, której towarzyszy podwyższenie poziomu wewnątrzkomórkowego poziomu ceramidu oraz indukcja apoptozy.

Ceramid powstaje także w różnych subkomórkowych kompartmentach w wyniku hydrolizy sfingomieliny (20). Ten proces syntezy ceramidu jest szlakiem, w którym uczestniczą konserwatywne receptory (21) i jest indukowany przez różne czynniki środowiskowe i fizjologiczne. Ceramid powstaje także w błonie komórkowej w wyniku hydrolizy sfingomieliny poprzez kwaśną i/lub obojętną sfingomielinazę aktywowaną przez cytokiny, ligandy „receptorów śmierci”, czynniki różnicujące oraz leki (22). Stymulacja komórek 1,25-dihydroksycholekalcyferolem, TNF α i CD40 aktywuje obojętną sfingomielinazę zlokalizowaną w błonie komórkowej, tworząc w części cytozolowej wewnątrzkomórkowy ceramid i fosfocholinę (23, 24). Ceramid może także powstawać na skutek działania kwaśnej sfingomielinazy, która jest aktywowana przez 1,2-diacylglicerol. U ssaków scharakteryzowano dotychczas kilka sfingomielinaz, które różnią się między sobą umiejscowieniem, zależnością od Mg²⁺ i Zn²⁺ oraz optymalnym pH (22, 25).

Katabolizm ceramidu rozpoczyna się od ceramidazy katalizującej rozpad ceramidu poprzez rozszczepienie wiązania amidowego, prowadząc do powstania sfingozyny oraz wolnych kwasów tłuszczowych. Dotychczas opisano 3 typy ceramidaz, które sklasyfikowano na podstawie optymalnego pH – ceramidaza kwaśna, obojętna i zasadowa (26). Niedobór zlokalizowanej w lizosomach ceramidazy kwaśnej stanowi podłoże genetyczne choroby Farbera (27). Sfingozyna uwolniona w wyniku działania ceramidazy może być reacylowana do ceramidu lub fosforylowana do sfingozyno-1-fosforanu.

Ceramid może podlegać przemianom w kilku szlakach metabolicznych. Może być on ponownie użyty do syntezy sfingomieliny z fosfatydylocholiną przy udziale fosfotransferazy lub fosforylowany do ceramido-1-fosforanu. Trzeci szlak prowadzi do syntezy glikosfingolipidów. W wyniku uporządkowanego transferu reszt cukrowych z donorów nukleotydowych do ceramidu powstaje glikozylceramid (GlcCer) na cytozolowej stronie aparatu Golgiego, a w wyspecjalizowanych komórkach, np. komórkach śródbłonna, ceramid służy do produkcji galaktozylceramidu (GalCer) w świetle retikulum endoplazmatycznego (20). Sugeruje się, że syntaza GlcCer w sieci *cis* aparatu Golgiego otrzymuje ceramid za pomocą transpor-

tu pęcherzykowego, podczas gdy syntaza GlcCer sieci *trans* aparatu Golgiego otrzymuje ceramid z retikulum endoplazmatycznego poprzez kontakt błonowy (28). Aktywność galaktozylotransferazy-2 (GalT-2), która katalizuje syntezę lakozylyceramidu, kolejnego glikosfingolipidu, zwiększa się w rodzinnej hipercholesterolemii oraz miażdżycy (29, 30). W miażdżycy obserwowano również podwyższone poziomy innych glikosfingolipidów (31).

Ceramid posiada pewne strukturalne i funkcjonalne podobieństwa z regionem lipidu A lipopolisacharydu (LPS), lipidu zewnętrznej warstwy ściany bakterii Gram-ujemnych. Komórkowa reakcja na LPS obejmuje zmiany kształtu, metabolizmu, ekspresji genów, a także indukcję różnorodnych efektów biologicznych uczestniczących w systemowych procesach zapalnych oraz w sepsie (32). Inicjacja tych efektów zależy od aktywacji monocytów/makrofagów, prowadząc do sekrecji prozapalnych cytokin takich, jak TNF α , IL-1 β , IL-6 oraz IL-8. Sugeruje się, że LPS i ceramid rozpoznają te same wewnątrzkomórkowe molekuly (33) i pokazano, że LPS posiada pewne właściwości ceramidu. Kinaza proteinowa aktywowana ceramidem (CAPK) wydaje się być wspólnym celem, a jej aktywacja przez obu agonistów prowadzi do aktywacji kinazy MAP i translokacji aktywowanego NF- κ B. Ostatnie dane podkreślają, że choć wiele składników biorących udział w przekazywaniu sygnałów jest wspólnych dla LPS i ceramidu, ich szlaki sygnałowe nie są identyczne (33, 34, 35).

Sfingomielina

Sfingomielina (SM) stanowi przeważający składnik zewnętrznej blaszki dwuwarstwy lipidowej, ale obecna jest również na polarnej powierzchni krążących lipoprotein (36). Zaburzenia metabolizmu sfingolipidów są kojarzone z rozwojem miażdżycy, chorób nowotworowych (raki) oraz chorób uwarunkowanych genetycznie (np. choroba Niemann-Picka). Większość sfingomielin rezyduje w błonie komórkowej, jednak znaczna część komórkowej puli sfingomielin znajduje się także w lizosomach, endosomach oraz w aparacie Golgiego (37). Z powodu ich unikatowych właściwości fizykochemicznych, SM posiadają wyspecjalizowane mikrodomeny lipidowe, takie jak trawy i kaweole. Obrót sfingomielin jest procesem kluczowym i wpływa na utrzymanie integralności błony komórkowej oraz syntezę nowych błon (38).

Synteza sfingomieliny *de novo* jest wspomagana przez syntazę sfingomieliny, która przenosi części fosforylocholinowe z fosfatydylocholiną (PC) do ceramidu tworząc sfingo-

mielinę oraz diacyloglicerol (DAG) (39). Enzym ten katalizuje również reakcję odwrotną i umożliwia powstawanie fosfatydylocholine ze sfingomieliny oraz DAG (40). Ostatnio zidentyfikowano nową rodzinę białek błonowych odpowiedzialnych za produkcję SM (41). Dwa białka z tej rodziny – SMS1 i SMS2 – spełniają kryteria funkcjonalne dla syntazy sfingomieliny. SMS1 reprezentuje dobrze znaną syntazę sfingomieliny związaną z aparatem Golgiego, podczas gdy SMS2 zlokalizowana jest w błonie komórkowej. Ten fakt wymaga dalszych wyjaśnień, ponieważ obecność syntazy sfingomieliny w błonie komórkowej może upośledzać zdolność ceramidu do przekazywania sygnałów komórkowych poprzez konwersję ceramidu z powrotem do sfingomieliny i diacyloglicerolu.

Sfingomielina produkowana w aparacie Golgiego jest transportowana do błony komórkowej poprzez transport pęcherzykowy (42).

Rozpad sfingomieliny prowadzi do uwolnienia ceramidu oraz wolnej sfingozy, znanych molekuł sygnałowych. Jednak, oprócz powstawania wtórnych przekaźników, stymulacja hydrolizy sfingomieliny indukuje także transport cholesterolu z powierzchni komórek do błon wewnątrzkomórkowych (37). To sugeruje, że metabolizm sfingomieliny odgrywa istotną rolę nie tylko w przkazywaniu sygnałów komórkowych, ale również w modyfikowaniu właściwości fizycznych błon komórkowych.

Sfingozyno-1-fosofran

Metabolit sfingozy, sfingozyno-1-fosofran (S1P), jest przechowywany w ziarnistościach α płytek krwi, z których jest uwalniany podczas ich aktywacji. S1P jest uważany obecnie za bioaktywny lipid o różnorodnych funkcjach i sugeruje się, że uczestniczy on w regulacji kształtu komórek, agregacji płytek i chemotaksji komórek mięśni gładkich (43).

S1P produkowany jest w następstwie fosforylacji sfingozy przez kinazę sfingozy podczas rozpadu sfingomieliny. Kinaza sfingozy jest enzymem wysoce konserwatywnym, aktywowanym przez kilka czynników. Sfingozyno-1-fosofran może podlegać dalszemu rozpadowi do fosfoetanoloaminy i hexadecanalu w obecności liazy sfingozyno-1-fosofranu, albo ulegać zwrotnej konwersji do sfingozy w cytozolu i błonach komórkowych. Podwyższony poziom sfingozy jest potencjalnie toksyczny dla komórek, ponieważ sfingozyna moduluje kluczowe molekuly, takie jak kinaza proteinowa C, kanały jonowe i zaburza strukturę błon komórkowych (44).

Stężenie sfingozyno-1-fosofranu jest dość niskie, prawdopodobnie odzwierciedla ono niską ekspresję kinazy sfingozy. Wyjątkiem są płytki krwi, gdyż uwalniają one znaczne ilości S1P z ziarnistości alfa i wykazują silną aktywność kinazy sfingozy oraz charakteryzują się brakiem liazy S1P (45). Kinaza sfingozy – enzym katalizujący fosforylację sfingozy – występuje w dwóch izoformach SPHK1 i SPHK2 kodowanych przez odrębne geny (46, 47). SHPK1 jest zlokalizowana w cytozolu, a jej komórkowe działanie jest dobrze poznane (45). W przeciwieństwie do SPHK1, niewiele wiadomo na temat SPHK2. Ostatnio wykazano, iż ta forma obecna jest w jądrze i ma zdolność hamowania syntezy DNA (48).

Różne czynniki zwiększają wewnątrzkomórkowe stężenie S1P przez aktywację kinazy sfingozy. Lista ta obejmuje czynniki wzrostu i przetrwania, takie jak PDGF, osocze, NGF a także agoniści cholinergicznym receptorów muskarynowych oraz TNF β . Osoczowy poziom S1P jest ściśle regulowany przez wiązanie z albuminą i HDL.

Eksport sfingozyno-1-fosofranu z komórek ssaków nie został jak na razie dobrze poznany. Wykazano, że hematopoetyczne komórki ssaków aktywnie eksportują/wydzielają sfingozyno-1-fosofran (49), ale dokładny mechanizm tego transportu jest jednak nieznany.

Sfingozyno-1-fosofran jest uważany za przekaźnik II rzędu w procesach proliferacji i utrzymywaniu komórek przy życiu, indukowanych przez płytkowy czynnik wzrostu, czynnik wzrostu nerwów oraz osocze. S1P poprzez receptor sprzężony z białkiem G o dużym powinowactwie, reguluje czynność serca (50), przepływ krwi w naczyniach wieńcowych (51), ciśnienie tętnicze (52), integralność nabłonka w płucach (53, 54) oraz, co zostało wykazane niedawno, reguluje recykulację limfocytów (55, 56).

Budowa S1P jest podobna do budowy glicerolofosfolipidów, m.in. kwasu lizofosfatydowego (LPA), mediatora pochodzącego z płytek krwi, który oddziałuje na komórki docelowe poprzez receptor sprzężony z białkiem G. Kwas lizofosfatydowy jest jednym z najprostszych naturalnych fosfolipidów (57). Jego rola jako prekursora syntezy fosfolipidów, zarówno u komórek *eukaryota* jak i *prokaryota*, była znana od dawna, a ostatnio okazał się być przekaźnikiem sygnałów wewnątrzkomórkowych.

Budowa i podobieństwa funkcjonalne zarówno LPA jak S1P sugerują podobne role w rozwoju, gojeniu ran oraz regeneracji tkanek. LPA i S1P wywołują także funkcje efektorowe, zależne od aktywności cytoskieletu komórek, takie jak kurczliwość, sekrecja, adhezja oraz chemotaksja. Lista reakcji biologicznych na oba czynniki obejmuje także agregację

i proliferację komórek, hipertrofię, różnicowanie oraz migrację (58).

Sfingolipidy lipoprotein jako potencjalne czynniki aterosenne

Akumulacja lipoprotein zawierających apolipoproteiny B jest jedną z pierwszych cech rozwoju miażdżycy. Lipoproteiny małej gęstości są głównymi nośnikami cholesterolu w krążeniu. Metabolity sfingomieliny są składnikami lipoprotein i jako takie uczestniczą w procesach, które potencjalnie mogą prowadzić do miażdżycy. Co więcej, sfingomielinaza jest wydzielana przez wiele komórek obecnych w zmianach miażdżycowych (59, 60), a Jing i wsp. obserwowali korelację pomiędzy osoczowym stężeniem sfingomieliny a zaawansowaniem choroby niedokrwiennej serca (61).

Oksydowane lipoproteiny niskiej gęstości (ox-LDL) są obecne w zmianach miażdżycowych, a ich akumulacja w makrofagach prowadzi do tworzenia komórek piankowatych, charakterystycznych dla zmian typu „fatty streaks”. Analiza zawartości oksydowanych LDL wykazała zredukowany poziom S1P, a spadek ten był związany z gwałtownym wzrostem zawartości lizofosfatydylocholine (LPC) (62). Lizofosfatydylocholina, której głównym źródłem jest ox-LDL, jest wysoce aktywnym biologicznie lipidem, którego poziom jest znacznie podwyższony w hiperlipidmii, w tkance zmienionej miażdżycowo oraz w niedokrwionym mięśniu sercowym.

Jednak S1P odgrywa także potencjalną rolę w tworzeniu zakrzepów i odpowiedzi prozapalnej na uszkodzenie naczyń i skurcz naczyńniowy (63). Mimo iż S1P nie był dokładnie badany w zmianach miażdżycowych, wykazano jego obecność w cząstkach LDL izolowanych z takich zmian (64). S1P może być ponadto produkowany lokalnie przez aktywowane komórki zmienionej miażdżycowo ściany naczyniowej (65).

Stwierdzono, że sfingozyno-1-fosforan, razem z innymi sfingolipidami, może być produkowany przez komórki serca w odpowiedzi na niedokrwienie, hypoksję oraz reoksygenację (66). Ostatnie badania sugerują, że osoczowe stężenie sfingozyno-1-fosforanu może być lepszym czynnikiem predykcyjnym zwężenia naczyń wieńcowych niż tradycyjne czynniki ryzyka, takie jak profil lipidowy, nadciśnienie, cukrzyca czy dodatni wywiad rodzinny (67).

Wykazano, że sfingozyno-1-fosforan gromadzi się w lipoproteinach wysokiej gęstości (64) i HDL prawdopodobnie jest nośnikiem S1P w krążeniu. Taką rolę HDL może spełniać także dla innych mediatorów lipidowych.

Część ceramidu produkowana *de novo* jest wydzielana na szlaku metabolizmu VLDL/LDL (68), a zmiany w aktywności wątrobowej transferazy seryna – palmitoilo-CoA (SPT) wpływają na szybkość sekrecji ceramidu (69). Aktywacja SPT kwasem palmitynowym prowadzi do podwyższenia poziomu ceramidu w VLDL i LDL. Drugi mechanizm regulacji zawartości ceramidu w LDL dotyczy aktywności sfingomielinazy, która przekształca sfingomielinę w ceramid (70). Enzym ten jest wydzielany przez komórki śródbłonka i aktywowane makrofagi w odpowiedzi na IL-1 β i TNF α *in vitro* oraz LPSs *in vivo* (71).

Akumulacja LDL jest charakterystyczną cechą miażdżycy (72). Wykazano, że LDL w zmianach miażdżycowych zawierają dużo ceramidu (73). Obecność ceramidu w zmianach miażdżycowych została udowodniona także w badaniach przeprowadzonych przez Chatterjee (30). To mogłoby potwierdzać obserwację, że komórki w zmianach miażdżycowych podlegają apoptozie, jako że ceramid jest głównym mediatorem śmierci komórek.

Szlaki sygnałowe indukowane przez sfingolipidy

Czynniki wzrostu, cytokiny i oksydowane lipoproteiny, które odgrywają rolę w aterosklerozie, aktywują szlaki przekazywania sygnałów prowadząc do hydrolizy sfingomieliny oraz tworzenia ceramidu i innych metabolitów. Dlatego sfingomielinaza może być traktowana jako wczesny element drogi przekazywania sygnałów.

Biologiczna odpowiedź na nowo utworzony ceramid i jego metabolity różni się w zależności od typu komórek, a spektrum odpowiedzi obejmuje zahamowanie cyklu komórkowego (74), inicjację proliferacji i różnicowania komórek (75), indukcję apoptozy (76, 77). Ceramid wyzwala sygnały komórkowe albo poprzez bezpośrednią interakcję z białkami albo przez aktywację innych szlaków sygnałowych (78, 79).

Wykazano, że ceramid, w sposób pośredni lub bezpośredni, reguluje aktywność wielu enzymów i elementów szlaków sygnałowych (80). Jednym z podstawowych punktów docelowych dla ceramidu jest aktywowana przez ceramid kinaza proteinowa (CAPK) – związana z błoną komórkową kinaza serynowo-treoninowa. Aktywowana CAPK fosforyluje kinazę Raf-1, która może z kolei wyzwolić zewnątrzkomórkową kaskadę regulowaną sygnałami (ERK) oraz produkcję kwasu arachidonowego przez PLA₂. Drugim potencjalnym mediatorem szlaku sygnałowego ceramidu jest aktywowana ceramidem fosfataza proteinowa (CAPP),

która jest członkiem rodziny fosfataz proteinyowych 2A (PP2A).

Wykazano, że ceramid reguluje aktywność kinazy proteinowej C epsilon (PKC ξ), atypowej izoformy PKC, która nie jest aktywowana przez DAG ani estry forbolowe (81). Pokazano, że wiązanie ceramidu z PKC ξ prowadzi do fosforylacji i aktywacji kinazy oraz przemieszczenia jej do jądra.

Ostatnio udokumentowana została rola ceramidu w wpływie cholesterolu zależnym od apoAI (82). W komórkach produkujących ABCA1 ceramid powodował znaczny wzrost wpływu cholesterolu, któremu towarzyszył wzrost ekspresji ABCA1.

Ceramid był traktowany jako lipidowy przekaźnik II rzędu, ale w jednej z ostatnich prac Blitterswijk (83) to stwierdzenie zostało zakwestionowane. W przeciwieństwie do już poznanych wtórnych przekaźników, ceramid charakteryzuje się zbyt długim czasem powstawania od momentu zainicjowania szlaku sygnałowego, jego fizjologiczne punkty docelowe nie są dobrze zdefiniowane.

Rola sfingozyno-1-fosforanu jako klasycznego wtórnego przekaźnika jest obecnie przedmiotem dyskusji. S1P jest obecny w stanie równowagi w cytoplazmie, jednak podczas zakłócenia czynności komórki jego stężenie przejściowo wzrasta, co jest charakterystyczne dla przekaźników II rzędu.

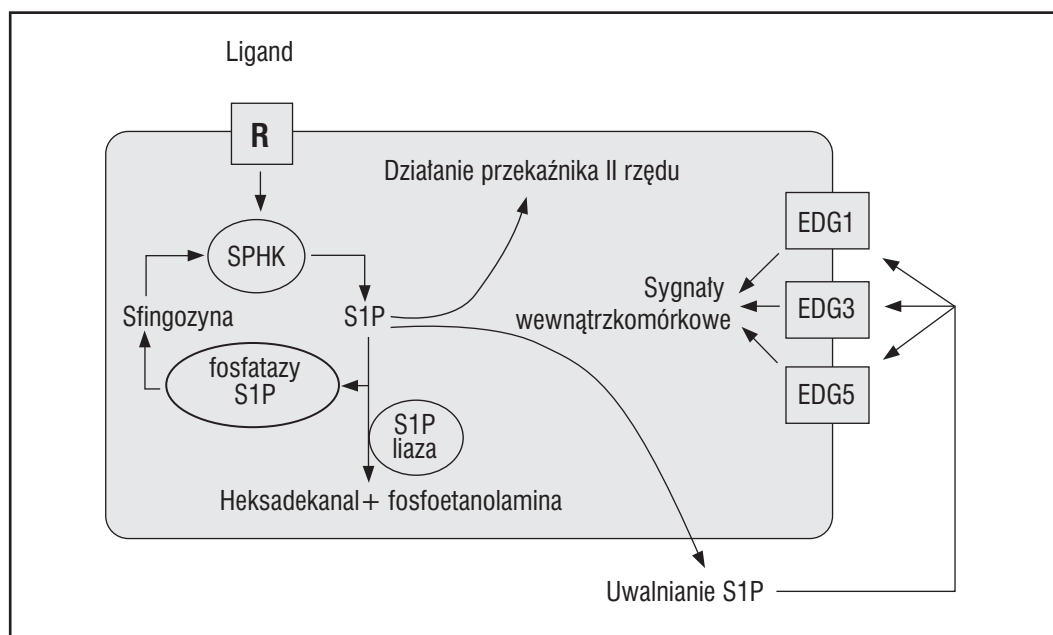
Wewnątrzkomórkowe punkty uchwytu dla sfingozyno-1-fosforanu nie zostały jeszcze zidentyfikowane. Wykazano, że wiązanie S1P ze swoim receptorem powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu kinazy sfingo-

zyny (rys. 2) (85). Ostatnio zidentyfikowane zostały na powierzchni komórek receptory dla sfingozyno-1-fosforanu. Do tej pory opisano 5 receptorów, otrzymały nazwy od S1P1 do S1P5, według Komitetu Nomenklatury Międzynarodowej Unii Farmakologicznej (86). Sfingozyno-1-fosforan wykazuje wysokie powinowactwo do wszystkich 5 receptorów, poprzez które dochodzi do aktywacji kilku procesów wewnątrzkomórkowych związanych z angiogenezą, apoptozą, miażdżycą i proliferacją (ryc. 3) (87, 88, 89). Receptory dla sfingozyno-1-fosforanu są produktami rodziny genów różnicowania śródbłonna (edg – endothelial differentiation gene), należącej do superrodziny siedmiu przezłonowych receptorów sprzężonych z białkiem G. Prototypowym receptorem tej rodziny jest edg-1, którego ekspresja w komórkach HUVEC wzrasta pod wpływem stymulacji estrami forbolu.

Sfingozyno-1-fosforan działa nie tylko wewnątrzkomórkowo, ale również zewnątrzkomórkowo. Białku kodowanemu przez gen CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator) przypisano rolę transportera sfingozyno-1-fosforanu do komórek. CFTR mógłby zatem stanowić granicę pomiędzy sygnałami zewnątrzkomórkowymi a wewnątrzkomórkowymi (90).

Sfingolipidy a różnicowanie komórek

Sfingozyno-1-fosforan, uwalniany z aktywowanych płytek krwi przylegających do miejsc uszkodzenia, może stymulować migra-

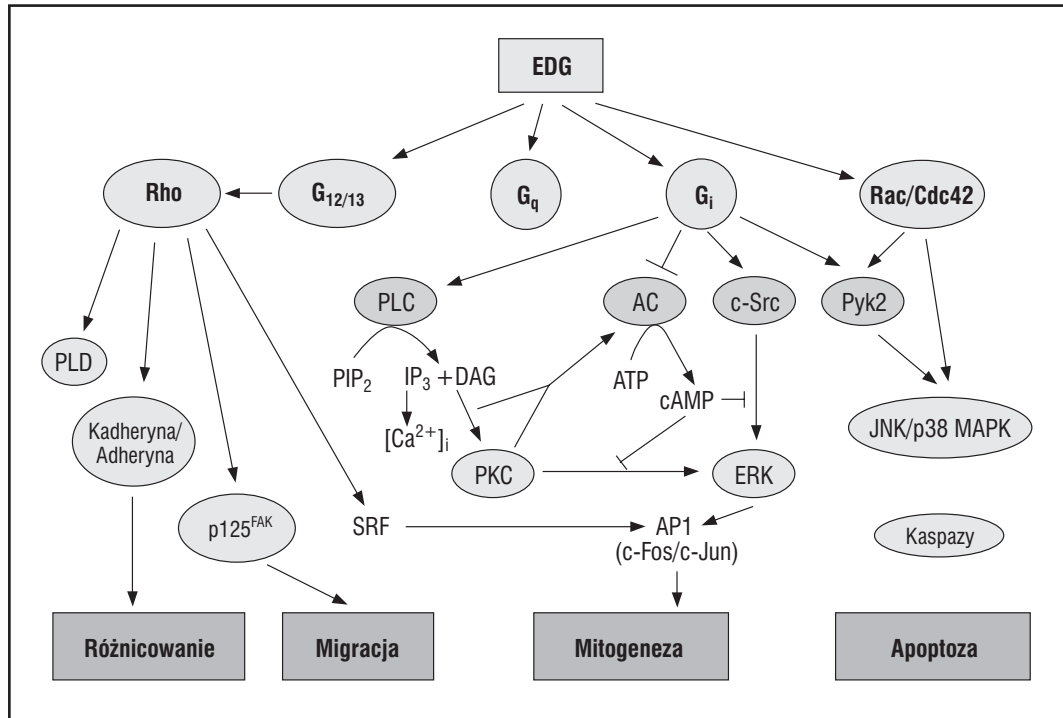


Ryc.2 Zewnątrzkomórkowe i wewnątrzkomórkowe działanie sfingozyno-1-fosforanu
SPHK – kinaza sfingozyny, S1P – sfingozyno-1-fosforan, EDG – gen różnicowania śródbłonna

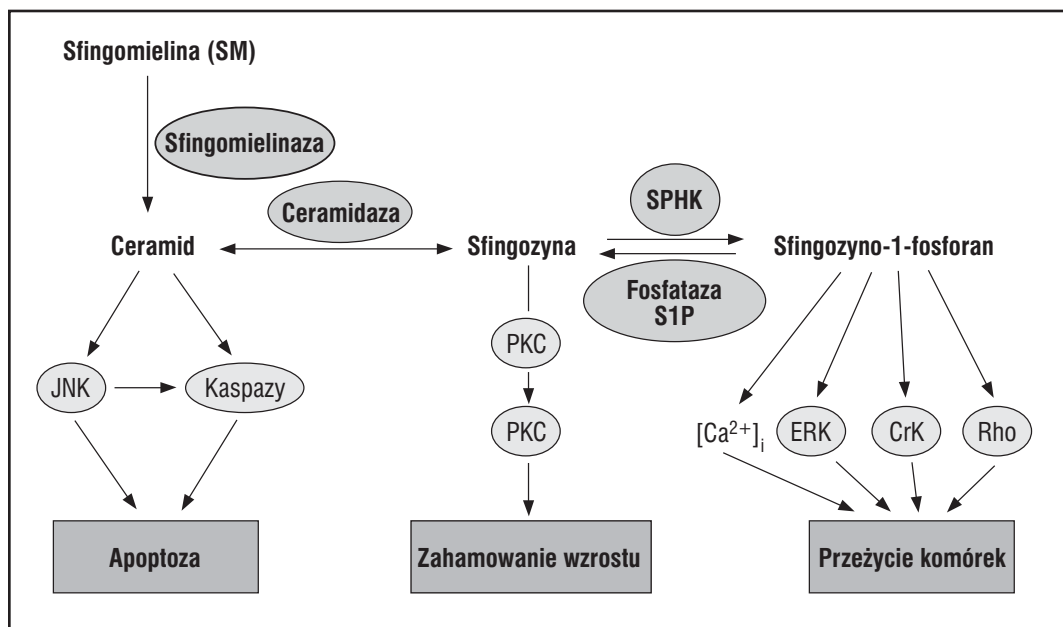
cję komórek śródbłonna do miejsca uszkodzenia, które następnie ulegają proliferacji (91). Ten efekt zależy od aktywacji receptorów S1P₁ i S1P₃.

Dane uzyskane z eksperymentów przeprowadzonych na komórkach białaczkowych HL-60 pokazują, że dodawanie do hodowli C2-ceramidu lub innych analogów ceramidu powoduje różnicowanie komórek potwierdzając, że

egzogeny krótkołańcuchowy ceramid przypomina wpływ TNF α , interferonu γ i 1,25-dihydroksy-witaminy D₃ na komórki HL-60. Badania przeprowadzone na linii komórek nerwowych także wykazały, że ceramid przypomina wpływ nerwowych czynników wzrostu na hamowanie wzrostu w komórkach T9 glejaka (78).



Ryc.3 Szlaki sygnałowe sfingozyno-1-fosforanu związane z edg
 Rho – białka Rho należące do nadrodziny Ras, Rac/Cdc42 – małe białka G, PLC – fosfolipaza C, PLD – fosfolipaza D, PKC – kinaza proteinowa C, c-Src – kinaza tyrozynowa Src, JNK/p38 MAPK – kinazy z rodziny MAPK aktywowane przez stres, ERK – kinaza regulowana przez sygnały pozakomórkowe, AP1 – czynnik transkrypcyjny, p125^{FAK} – kinaza ogniskowej adhezji, SRF – czynnik transkrypcyjny, PLD – fosfolipaza D, PLC – fosfolipaza C, PIP₂ – dwufosforan fosfatydyloinozytolu, IP₃ – trójfosforan inozytolu, DAG – diacyloglicerol, AC – cyklaza adenylowa



Ryc.4 Reostat ceramid-sfingozyno-1-fosforan
 SPHK – kinaza sfingozyny, S1P – sfingozyno-1-fosforan, JNK – kinaza N-terminalu c-Jun, CrK – białko adaptorowe, ERK – kinaza regulowana przez sygnały komórkowe, PKC – kinaza proteinowa C, Rho – białka Rho należące do nadrodziny Ras

Wiadomo, że ceramid hamuje cykl komórkowy przez defosforylację produktu genu retinoblastoma (Rb) w komórkach białaczkowych Molt-4 (92). Badania na drożdżach wykazały, że dodanie egzogenego ceramidu do hodowli drożdży *Saccharomyces* wywołuje odpowiedź antyproliferacyjną powodującą zahamowanie cyklu komórkowego w fazie G1 (74). Badania genetyczne sugerują, że wpływ ceramidu na cykl komórkowy częściowo zależy od aktywowanej ceramidem fosfatazy białkowej, gdyż szczepy drożdży posiadające mutację w jakimkolwiek genie kodującym CAPP są odporne na działanie ceramidu.

Sfingolipidy a migracja komórek i adhezja

Migracja i adhezja komórek biorą udział w angiogenezie. Płytki krwi przyczyniają się do tworzenia naczyń poprzez uwalnianie czynników aktywujących lub hamujących angiogenezę. Sfingozyno-1-fosforan, obecny w dużych ilościach w płytkach i uwalniany podczas ich aktywacji, pośredniczy w interakcjach płytkowo – śródbłonkowych i migracji komórek. W warunkach *in vitro*, sfingozyno-1-fosforan posiada silny, zależny od receptorów wpływ na migrację komórek HUVEC (93). Mechanizm ruchliwości komórek regulowanej przez S1P został dokładniej opisany przez Lee i wsp. Proces ten zachodzi dzięki gwałtownej, fosforylacji tyrozyny w p125^{FAK}, indukowanej poprzez interakcję S1P z receptorem sprzężonym z białkiem G_i. Migracja komórek endotelialnych wymaga wzrostu poziomu Ca²⁺, które są ważnym przekaźnikiem w szlaku PLC (94).

Jedną z najwcześniejszych zmian zachodzących podczas transdukcji sygnałów zależnych od sfingozyno-1-fosforanu jest wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia (95, 96). Prowadzi to do aktywacji fosfolipazy C (PLC) i mobilizacji wapnia w wielu rodzajach komórek.

Sfingolipidy a apoptoza

Apoptoza jest fizjologiczną formą śmierci komórki, która jest wymagana w kontroli populacji komórek podczas takich procesów jak embriogeneza, odpowiedź immunologiczna czy gojenie ran (24). Apoptoza obejmuje pojawienie się fosfatydyloseryny na zewnętrznej powierzchni błony komórkowej, utratę przez mitochondria potencjału przezbłonowego, aktywację kaspaz, kondensację chromatyny jądrowej oraz fragmentację DNA (97). Doniesiono o możliwości wywołowania przez ceramid apoptozy zależnej oraz niezależnej od kaspaz (98). Kaspazy są grupą proteaz cysteino-

wych swoistych względem reszt asparaginy. Wykazano w warunkach *in vitro*, że niezależna od kaspaz śmierć komórek może być wywołwana podaniem ceramidu. Apoptoza indukowana w tych warunkach przebiega bez typowych cech fenotypowych takich, jak fragmentacja DNA czy aktywacja kaspaz, i nie może być zablokowana przez inhibitory kaspaz (98).

TNF α , promieniowanie, ligandy FAS prowadzą do śmierci komórki zależnej od kaspaz (99). Agregacja receptorów i ich domen śmierci oraz wiązanie białek adaptorowych prowadzi do uwolnienia kaspazy-8, która aktywuje kaskadę kaspazową. Substratami dla kaspaz są enzymy związane z naprawą DNA – polimeraza poli (ADP-rybozy) (PARP) i lamininy jądrowe. Degradacja lamin jądrowych jest niezbędna do tworzenia ciał apoptotycznych, charakterystycznych zmian morfologicznych ostatnich stadiów apoptozy. Apoptotyczny efekt ceramidu jest blokowany przez dodanie estrów forbolu (TPA) lub diacyloglicerolu (DAG), które są aktywatorami kinazy białkowej C (PKC). Stymulacja PKC powoduje aktywację kinazy sfingozyny i wewnątrzkomórkową akumulację S1P. Innym mechanizmem uczestniczącym w hamowaniu apoptozy przez TPA i DAG może być hamowanie aktywacji sfingomielinazy (100).

Jednoczesne podawanie S1P nie tylko zapobiega pojawieniu się kluczowych cech apoptozy, głównie wewnątrzkomórkowej fragmentacji DNA i morfologicznych zmian indukowanych przez przeciwciała FAS lub egzogeny ceramid, lecz także zapobiega aktywacji SAPK/JNK, kolejnego szlaku prowadzącego do apoptozy (99). Szlak kinazy białkowej aktywowanej stresem jest niezbędny w przypadku apoptozy indukowanej ceramidem, która może być także aktywowana ligacją FAS. Obecnie jest jasne, że ceramid i sfingozyno-1-fosforan mają przeciwstawny wpływ na losy komórki, który zależy od równowagi pomiędzy obu czynnikami (model reostatu, rys. 4) oraz ich regulatorowego wpływu na rodzinę kinaz aktywowanych mitogenami. Ostatnio pokazano, że reostat ceramid/sfingozyno-1-fosforan jest konserwatywnym ewolucyjnie mechanizmem regulatorowym wpływającym na wzrost i przetrwanie także u drożdży.

Niedawno doniesiono, że sfingozyno-1-fosforan promuje przeżycie komórek śródbłonna poprzez zwiększenie produkcji NO (101), w wyniku aktywacji szlaku receptor S1P/G_i. Szlak ten uczestniczy również w aktywacji kinazy MAP ERK-2 i hamowaniu apoptozy w komórkach śródbłonna (87). W makrofażach S1P jest silnym inhibitorem aktywności sfingomielinazy i tworzenia ceramidu, zwiększając przez to szansę przeżycia komórek

(102). Ten cytoprotekcyjny wpływ S1P może być niezależny od receptorów i obejmować kaskadę sygnałową kinaza PI-3/PKB.

Sfingolipidy a regulacja napięcia naczyń

Miażdżycza jest związana z dysfunkcją śródbłonna przejawiającą się upośledzeniem wydzielania tlenu azotu (NO) i w konsekwencji, sprzyjaniem skurczowi naczyń. Sfingolipidy odgrywają rolę w procesach fizjologicznych SMC, a ceramid zmniejsza szybkość mobilizacji wewnątrzkomórkowych zasobów wapnia (103). Ceramid i tlenek azotu pochodzący ze śródbłonna ułatwiają wspólnie rozkurcz fragmentów aorty szczura (104). Szlak sygnałowy sfingomieliny może mieć, poprzez mechanizm zależny od NO, ważną rolę w regulacji napięcia naczyniowego. Szlak sygnałowy innego metabolitu sfingomieliny, sfingozyny, prezentuje przeciwstawne działanie w stosunku do ceramidu, i indukuje skurcz naczyń w naczyniach wieńcowych u świń (105). W związku z tym sfingozyna zaburza funkcję śródbłonna przez blokowanie relaksacji zależnej od śródbłonna.

Sfingozyno-1-fosforan może regulować napięcie naczyń działając bezpośrednio na VSMS lub pośrednio przez stymulowanie uwalniania substancji wazoaktywnych, takich jak NO, ze śródbłonna naczyniowego (106). Szlak sygnałowy może polegać na aktywacji receptora S1P₁ z następową aktywacją kinazy PI-3 i kinazy proteinowej B/Akt oraz zależnej od Akt fosforylacji e-NOS (107, 108).

Efekt działania sfingozyno-1-fosforanu badany był w mikronaczyniach szczura (109). Sfingozyno-1-fosforan powodował przejściowy wzrost poziomu Ca²⁺ oraz skurcz izolowanych naczyń. Efekt ten może być przekazywany przez receptory związane z białkiem G wrażliwym na toksynę krztuśca.

Działanie wazodilatacyjne ceramidu nie zostało w pełni wyjaśnione. Potencjalnym kandydatem pełniącym funkcję efektor mechanizmu wazodilatacyjnego ceramidu może być kinaza C (PKC) (110).

Sfingolipidy i zakrzepica

Sfingozyno-1-fosforan, wspólnie z kwasem lizofosfatydowym, pośredniczą w procesach gojenia ran. Jednak w pewnych warunkach, S1P może wykazywać właściwości prozakrzepowe i aterogenne, a korzystne lub patologiczne działanie S1P wydaje się zależeć od typu sprzężenia receptorów i aktywacji odrębnych szlaków transdukcji sygnałów.

Choroby i leczenie

Lizosomalne choroby spichrzeniowe reprezentują grupę 40 odrębnych chorób genetycznych, wynikających, w większości przypadków, z niedoboru odpowiednich hydrolaz lizosomalnych, a w kilku przypadkach, enzymów nie lizosomalnych. Niedobór enzymów prowadzi do akumulacji pośrednich metabolitów w lizosomach i jest przyczyną różnych zaburzeń systemowych, m. in. upośledzenia umysłowego, ślepoty oraz przedwczesnej śmierci.

Większość lizosomalnych chorób spichrzeniowych dziedziczy się w sposób autosomalnie recesywny, z wyjątkiem choroby Fabry'ego oraz mukopolisacharydozy typu II, które sprzężone są z chromosomem X (111). Z kilkoma wyjątkami, choroby te są rezultatem niedoboru jednej lub kilku glikozydaz, i w zależności od typu i miejsca produktów akumulacji wyróżnia się mukopolisacharydozy, mukolipidozy, glikoproteinozy, sfingolipidozy oraz inne (tab. 1).

Sfingolipidozy należą do najczęściej występującej podgrupy lizosomalnych chorób spichrzeniowych i charakteryzują się nadmierną kumulacją gliko(sfingolipidów).

Choroba Niemann-Picka była początkowo charakteryzowana jako jednostka patologiczna obejmująca hepatosplenomegalię, gromadzenie sfingomieliny w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego oraz w tkankach obwodowych, a także zmiany degeneracyjne komórek nerwowych (113). W chorobie Niemann-Picka typu A i B stwierdza się niedobór sfingomieliny, podczas gdy w typach C i D poziom sfingomieliny jest prawidłowy (114). Badania choroby Niemann-Picka typu D umożliwiły wgląd w mechanizmy leżące u podłoża regulacji komórkowej homeostazy cholesterolu (115). W tym typie choroby dochodzi do nadmiernej akumulacji cholesterolu w wątrobie, śledzionie i ośrodkowym układzie nerwowym (116). Komórki wykazują prawidłowy wychwyt LDL i hydrolizę estrów cholesterolu, jednak uwidaczniają się defekty w dostarczaniu lizosomalnego cholesterolu do retikulum endoplazmatycznego oraz w jego przeniesieniu do błon komórkowych (117). W kształtowaniu klinicznego i biochemicznego fenotypu choroby Niemann-Picka biorą udział mutacje w genach NPC1 i NPC2 (118). Produkty tych genów wydają się odgrywać kluczową rolę w wewnątrzkomórkowym transporcie cholesterolu, a komórki posiadające mutacje w obrębie genów NPC1 i NPC2 akumulują nie zestryfikowany cholesterol w organellach endosomalnych/lizosomalnych i charakteryzują się znacznie zmniejszoną szybkością estryfikacji cholesterolu LDL oraz tworzenia kropelek tłuszczu (119). W makrofagach NPC1^{-/-}, zależny od

Choroba	Enzym	Gen	Częstość
Mukopolisacharydozy (MPS)			
MPS I	Alfa-iduronidaza	4q16.3	1:88000
MPS II	Sulfataza siarczanu kwasu iduronowego	Xq27-28	1:136000
MPS IIIA	Sulfataza siarczanu heparanu	17q25.3	1:114000
MPS IIIB	Alfa-glukozaaminidaza	17q21	1:211000
MPS IIIC	Acetylotransferaza glukozoaminy	14pter-14p3	1:1407000
MPS IIID	Sulfataza siarczanu N-acetyloglukozoaminy	12q14	1:1056000
MPS IVA	Sulfataza 6-siarczanu galaktozy	16q24.3	1:169000
MPS IVB	Beta-galaktozydaza	3p21.3	
MPS VI	Arylosulfataza B	5q11-13	1:235000
MPS VII	Beta-glukuronidaza	7q21.1-11	1:2111000
MPS IX	Hialuronidaza		
Pycnodysostosis	Katepsyna K	1q21	1:146000
Mukolipidozy (ML)			
ML typ I	Alfa-neuraminidaza	6p21.3	
ML typ II/III	Fosfotransferaza N-acetyloglukozaaminy-1	4q21-23	1:325000
ML typ IV	Mukolipidyna		
Glikoproteinozy			
Alfa-mannozydoza	Alfa-mannozydaza	19p13.2	1:1056000
Beta-mannozydoza	Beta-mannozydaza	4q22-25	
Fukozydoza	Alfa-fukozydaza	1p34	1:2000000
Choroba Schindlera i Kanzaki	Alfa-galaktozaminidaza	22q13.1-2	
Spichrzenie wolnego kwasu sjałowego	Transporter kwasu sjałowego	6q14-15	1:528000
Galaktosialidoza	Katepsyna A	20q13.1	
Ceroidowe lipofuscynozy			
CLN1	Tioesteraza palmitylo-białkowa	1p34	
CLN2	Trójpeptydopeptydaza	11p15.5	
CLN 3	Białko CLN3		
CLN5	Białko CLN5		
CLN6	?		
CLN7	?		
CLN8	Białko CLN8		
Inne			
Choroba Pompego	Alfa-glukozydaza	17q25.2-3	1:192000
Cystynoza	Transporter cystyny	17p3	1:528000
Choroba Niemann-Picka C1	Białko NPC1	18q11-12	1:211000
Choroba Niemann-Picka C2	Białko NPC2	14q24.3	
Sfingolipidozy			
Gangliozydoza GM1	Beta-galaktozydaza	3p21.3	1:384000
Choroba Taya-Sachsa	Beta-heksozoaminidaza A	15q23-24	1:201000
Choroba Sandhoffa	Beta-heksozoaminidaza A i B	5q13	1:384000
Niedobór aktywatora GM2	Aktywator GM2	5q32-33	
Choroba Fabry'ego	Beta-galaktozydaza A	Xq22	1:117000
Choroba Gauchera	Beta-glukozydaza	1q21	1:57000
Leukodystrofia metachromatyczna	Arylosulfataza A	22q13.3	1:92000
Niedobór sapozyny-B	Sapozyna B	10q2	
Choroba Krabbe	Beta galaktozydaza galaktocerebrozydu	14q31	1:201000
Choroba Niemann-Picka typu I (A i B)	Sfingomielinaza	11p15.1-4	1:218000
Niedobór sapozyny-C	Sapozyna C	10q2	
Choroba Farbera	Ceramidaza	8p21.3-22	
Choroba Wolmana (CESD)	Kwaśna lipaza/esteraza	10q24-25	
Choroba Austina	Niedobór sulfataz	3p26	1:407000

Tab.1 Choroby lizosomalne

ABCA1, wpływ cholesterolu do ApoAI jest upośledzony, a akumulacja cholesterolu lipoprotein w komórkach mogłaby prowadzić do ich różnicowania w kierunku komórek piankowatych i do progresji miażdżycy (120).

Ostatnio Altmann i wsp. (121) zidentyfikowali gen homologiczny do NPC1, który prawdopodobnie uczestniczy w regulacji absorpcji cholesterolu oraz steroli roślinnych (sitosterol). Ludzki gen NPC1-podobny (NPC1-like, NPCL1), homologiczny z genem NPC1 w 50% i będący punktem uchwytu dla inhibitora absorpcji cholesterolu – Ezetrolu (Ezetimibe), odgrywa krytyczną rolę w wychwycie cholesterolu poprzez błonę komórkową enterocytów jelitowych.

Leczenie niektórych chorób spichrzeniowych jest możliwe. Do tej pory stosowano terapię polegającą na redukcji substratu (122), zastąpieniu enzymu (ERT), transplantacji hematopoetycznych komórek szpiku oraz terapię genową (123), która staje się coraz bardziej dostępna dla pacjentów dotkniętych chorobą. Ten sukces jest oparty na zrozumieniu złożoności biogenezy lizosomów, systemu wyboru i rozpoznawania hydrolaz oraz wymagań enzymów hydrolitycznych (124). Jednak, pomimo całej wiedzy biochemicznej i genetycznej zdobywanej na przestrzeni lat na temat przyczyn większości lizosomalnych chorób spichrzeniowych, w dalszym ciągu nie wiadomo, w jaki sposób akumulacja prowadzi do dysfunkcji komórek, i jak owe zaburzenia prowadzą do rozwoju patologicznych objawów choroby.

Streszczenie

Początkowo sądzono, że sfingolipidy odgrywają głównie rolę strukturalnych, lipidowych składników błon komórkowych. Jednak

ostatnie doniesienia ujawniły, że sfingolipidy i enzymy je metabolizujące wpływają na wiele procesów komórkowych, które są związane z rozwojem miażdżycy. Metabolity sfingolipidów, takie jak sfingozyno-1-fosforan, ceramid i sfingozyna, są aktywnymi mediatorami wzrostu i różnicowania oraz przetrwania i śmierci komórek, a obecność wszystkich tych procesów została potwierdzona w zmianach miażdżycowych. Co więcej, kilka czynników obecnych w zmianach miażdżycowych może stymulować wewnątrzkomórkowe szlaki prowadzące do produkcji sfingolipidów.

Abstract

Sphingolipids were originally thought to play predominantly a role as structural membrane lipid components. Recent data, however, revealed that sphingolipids and sphingolipid metabolizing enzymes influence a variety of cellular processes that are related to atherogenesis. Sphingolipid metabolites such as sphingosine-1-phosphate, ceramide, sphingosine are active mediators of cell growth and differentiation, survival and death, and all these processes were confirmed in atherosclerotic lesions. Moreover, several molecules present in atherogenic lesions can stimulate intracellular pathways leading to the generation of sphingolipids.

Adres autora:

*Institut für Klinische Chemie und
Laboratoriumsmedizin, Uni-Regensburg
Franz-Josef-Strauss-Allee 11
Regensburg 93054
duduniek@web.de*

Piśmiennictwo:

- Hannun YA, Loomis CR, Merrill AH Jr, Bell RM. Sphingosine inhibition of protein kinase C activity and of phorbol dibutyrate binding in vitro and in human platelets. *J Biol Chem.* 1986 Sep 25;261(27):12604-9. **2.** Serhan CN, Haeggstrom J Z, Leslie C C, Lipid mediator networks in cell signaling: update and impact of cytokines: *FASEB J.* 1996, v. 10, p. 1147-1158. **3.** Spiegel S, Merrill A H J, Sphingolipid metabolism and cell growth regulation: *FASEB J.* 1996, v. 10, p. 1388-1397. **4.** Dickson RC, Lester RL, Nagiec MM. Serine palmitoyltransferase. *Methods Enzymol.* 2000;311:3-9.
- Hanada K. Serine palmitoyltransferase, a key enzyme of sphingolipid metabolism. *Biochim Biophys Acta.* 2003 Jun 10;1632(1-3):16-30. **6.** Hanada K, Hara T, Nishijima M. Purification of the serine palmitoyltransferase complex responsible for sphingoid base synthesis by using affinity peptide chromatography techniques. *J Biol Chem.* 2000 Mar 24;275(12):8409-15. **7.** Wells GB, Lester RL. The isolation and characterization of a mutant strain of *Saccharomyces cerevisiae* that requires a long chain base for growth and for synthesis of phosphosphingolipids. *J Biol Chem.* 1983 258:10200-10203. **8.** Buede R, Rinker-Schaffer C, Pinto WJ, Lester RL, Dickson RC. Cloning and characterization of LCB1, a *Saccharomyces* gene required for biosynthesis of the long-chain base component of sphingolipids. *J Bacteriol.* 1991 Jul;173(14):4325-32. **9.** Pinto WJ, Srinivasan B, Shepherd S, Schmidt A, Dickson RC, Lester RL. Sphingolipid long-chain-base auxotrophs of *Saccharomyces cerevisiae*: genetics, physiology, and a method for their selection. *J Bacteriol.* 1992 Apr;174(8):2565-74.
- Merrill AH Jr, Wang E, Mullins RE. Kinetics of long-chain (sphingoid) base biosynthesis in intact LM cells: effects of varying the extracellular concentrations of serine and fatty acid precursors of this pathway. *Biochemistry.* 1988 Jan 12;27(1):340-5. **11.** Perry DK, Carton J, Shah AK, Meredith F, Uhlinger DJ, Hannun YA. Serine palmitoyltransferase regulates de novo ceramide generation during etoposide-induced apoptosis. *J Biol Chem.* 2000

- Mar 24;275(12):9078-84. **12.** Hanada K, Hara T, Fukasawa M, Yamaji A, Umeda M, Nishijima M. Mammalian Cell Mutants Resistant to a Sphingomyelin-directed Cytolysis, Genetic and biochemical evidence for complex formation of the LCB1 protein with the LCB2 protein for serine palmitoyltransferase. *J Biol Chem*, Vol. 273, Issue 50, 33787-33794, December 11, 1998
- 13.** Fukasawa M, Nishijima M, Hanada K. Genetic evidence for ATP-dependent endoplasmic reticulum-to-Golgi apparatus trafficking of ceramide for sphingomyelin synthesis in Chinese hamster ovary cells. *J Cell Biol*. 1999 Feb 22;144(4):673-85.
- 14.** Yasuda S, Kitagawa H, Ueno U, Ishitani H, Fukasawa H, Nishijima M, Kobayashi S, Hanada K. A Novel Inhibitor of Ceramide Trafficking from the Endoplasmic Reticulum to the Site of Sphingomyelin Synthesis. *J Biol Chem*, 2001 November 23, Vol. 276, Issue 47, 43994-44002,
- 15.** Hanada K, Kumagai K, Yasuda S, Miura Y, Kawano M, Fukasawa M, Nishijima M. Molecular machinery for non-vesicular trafficking of ceramide. *Nature* vol 426, 18/25 December 2003, p. 803-809. **16.** Loewen CJ, Roy A, Levine TP A conserved ER targeting motif in three families of lipid binding proteins and in Opi1p binds VAP EMBO J. 2003 May 1;22(9):2025-35. **17.** Memon RA, Holleran WM, Moser AH, Seki T, Uchida Y, Fuller J, Shigenaga JK, Grunfeld C, Feingold KR, Endotoxin and cytokines increase hepatic sphingolipid biosynthesis and produce lipoproteins enriched in ceramides and sphingomyelin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998 Aug;18(8):1257-65. **18.** Farrell AM, Uchida Y, Nagiec MM, Harris IR, Dickson RC, Elias PM, Holleran WM. Farrel UVB irradiation up-regulates serine palmitoyltransferase in cultured human keratinocytes. *J Lipid Res*. 1998 Oct;39(10):2031-8. **19.** Shimabukuro M, Higa M, Zhou YT, Wang MY, Newgard CB, Unger RH. Lipopoptosis in beta-cells of obese prediabetic fa/fa rats. Role of serine palmitoyltransferase overexpression. *J Biol Chem*. 1998 Dec 4;273(49):32487-90.
- 20.** van Meer G, Holthuis JC. Sphingolipid transport in eukaryotic cells. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Jun 26;1486(1):145-70. **21.** Hannun YA, Bell RM, Functions of sphingolipids and sphingolipid breakdown products in cellular regulation. *Science*. 1989 Jan 27;243(4890):500-7. **22.** Levade T, Jaffrezou JP. Signalling sphingomyelinases: which, where, how and why? *Biochim Biophys Acta*. 1999 Apr 19;1438(1):1-17. **23.** Geilen CC, Bektas M, Wieder T, Orfanos CE, The vitamin D3 analogue, calcipotriol, induces sphingomyelin hydrolysis in human keratinocytes: *FEBS Lett*, 1996, v. 378, p. 88-92. **24.** Kolesnick RN, Kronke M. Regulation of ceramide production and apoptosis: *Annu Rev Physiol*, 1998, v. 60, p. 643-665.
- 25.** Hofmann K, Tomiuk S, Wolff G, Stoffel W. Cloning and characterization of the mammalian brain-specific, Mg²⁺-dependent neutral sphingomyelinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 May 23;97(11):5895-900. **26.** Pettus BJ, Chalfant CE, Hannun YA. Ceramide in apoptosis: an overview and current perspectives, *Biochim Biophys Acta*. 2002 Dec 30;1585(2-3):114-25. **27.** Sugita M, Dulaney JT, Moser HW. Ceramidase deficiency in Farber's disease (lipogranulomatosis). *Science*. 1972 Dec 8;178(65):1100-2. **28.** Sadeghfar F, Sandhoff K, van Echten-Deckert G. Cell type specific localization of sphingomyelin biosynthesis. *FEBS Lett*. 2000 Jul 28;478(1-2):9-12. **29.** Chatterjee S, Sekerke CS, Kwiterovich PO Jr. Increased urinary excretion of glycosphingolipids in familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res*. 1982 May;23(4):513-22.
- 30.** Chatterjee SB, Dey S, Shi WY, Thomas K, Hutchins GM. Accumulation of glycosphingolipids in human atherosclerotic plaque and unaffected aorta tissues. *Glycobiology*. 1997 Feb;7(1):57-65. **31.** Mukhin DN, Chao FF, Kruth HS. Glycosphingolipid accumulation in the aortic wall is another feature of human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995 Oct;15(10):1607-15. **32.** Sweet MJ, Hume DA. Endotoxin signal transduction in macrophages. *J Leukoc Biol*. 1996 Jul;60(1):8-26. **33.** Wright SD, Kolesnick RN. Does endotoxin stimulate cells by mimicking ceramide?: *Immunol Today*, 1995, v. 16, p.297-302. **34.** MacKichan ML, DeFranco AL, Role of ceramide in lipopolysaccharide (LPS)-induced signaling. LPS increases ceramide rather than acting as a structural homolog: *J Biol Chem*, 1999, v. 274, p. 1767-1775.
- 35.** Pfau JC, Walker EB, Card GL, A comparison of the effects of lipopolysaccharide and ceramide on arachidonic acid metabolism in THP-1 monocytic cells: *Cell Immunol*, 1998, v. 186, p. 147-153. **36.** Merrill AHJ, Jones DD, An update of the enzymology and regulation of sphingomyelin metabolism: *Biochim Biophys Acta*, 1990, v. 1044, p. 1-12. **37.** Koval M, Pagano RE, Intracellular transport and metabolism of sphingomyelin: *Biochim Biophys Acta*, 1991, v. 1082, p. 113-125. **38.** van Blitterswijk WJ, van der Luit AH, Caan W, Verheij M, Borst J. Sphingolipids related to apoptosis from the point of view of membrane structure and topology. *Biochem Soc Trans*. 2001 Nov;29(Pt 6):819-24. **39.** Ullman MD, Radin NS, The enzymatic formation of sphingomyelin from ceramide and lecithin in mouse liver, *J Biol Chem* 1974, 249:1506-1512
- 40.** Marggraf WD, Kanfer JN, Anderer FA, The formation of sphingomyelin from phosphatidylcholine in plasma membrane preparations from mouse fibroblasts. *BBA* 1981, 664: 61-73. **41.** Huitema K, van den Dikkenberg J, Brouwers, Identification of a family of animal sphingomyelin synthases, *The EMBO Journal* 2004, 23:33-44. **42.** Diring H, Marggraf WD, Koch MA, Anderer FA Evidence for a new biosynthetic pathway of sphingomyelin in SV 40 transformed mouse cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1972 Jun 28;47(6):1345-52. **43.** Spiegel S, Sphingosine 1-phosphate: a prototype of a new class of second messengers: *J Leukoc Biol*, 1999, v. 65, p. 341-344. **44.** Hannun YA, Luberto C, Argraves KM. Enzymes of Sphingolipid Metabolism: From Modular to Integrative Signaling. *Biochemistry*, 2001, 40 (16), 4893 -4903.
- 45.** Olivera A, Spiegel S, Sphingosine kinase: a mediator of vital cellular functions: *Prostaglandins*, 2001, v. 64, p. 123-134. **46.** Kohama T, Olivera A, Edsall L, Nagiec MM, Dickson R, Spiegel S. Molecular cloning and functional characterization of murine sphingosine kinase. *J Biol Chem*. 1998 Sep 11;273(37):23722-8. **47.** Liu H, Sugiura M, Nava VE, Edsall LC, Kono K, Poulton S, Milstien S, Kohama T, Spiegel S. Molecular cloning and functional characterization of a novel mammalian sphingosine kinase type 2 isoform. *J Biol Chem*. 2000 Jun 30;275(26):19513-20. **48.** Igarashi N, Okada T, Hayashi S, Fujita T, Jahangeer S, Nakamura S. Sphingosine kinase 2 is a nuclear protein and inhibits DNA synthesis. *J Biol Chem*. 2003 Nov 21;278(47):46832-9. **49.** Yatomi, Y, Ozaki, T, Ohmori, Y, Igarashi, 2001, Sphingosine 1-phosphate: synthesis and release: *Prostaglandins*, V.64, p. 107-122.
- 50.** Sugiyama A, Yatomi Y, Ozaki Y, Hashimoto K. Sphingosine 1-phosphate induces sinus tachycardia and coronary vasoconstriction in the canine heart. *Cardiovasc. Res*. 2000; 46,119-25. **51.** Ohmori T, Yatomi Y, Osada M, Kazama F, Takafuta T, Ikeda H, Ozaki Y. Sphingosine 1-phosphate induces contraction of coronary artery smooth muscle cells via S1P2. *Cardiovasc Res* 2003 58(1), 170-177. **52.** Karliner JS. Lysophospholipids and the cardiovascular system. *Biochimica et Biophysica Acta* 2002; 1582: 216-221
- 53.** English D, Brindley DN, Spiegel S, Garcia JGN. Lipid mediators of angiogenesis and the signalling pathways they initiate. *Biochimica et Biophysica Acta* 2002, 1582, 228-239. **54.** Garcia JGN, Liu F, Verin AD, Birukova A, Dechert MA, Gerthoffer WT, Bamberg JR, English D. Sphingosine 1-phosphate promotes endothelial cell barrier integrity by Edg-dependent cytoskeletal rearrangement. *J. Clin. Invest*. 2001, 108(5), 689-701
- 55.** Rosen H, Sanna M, Alfonso C. Egress: a receptor-regulated step in lymphocyte trafficking. *Immunol. Rev*. 2003, 195, 160-77. **56.** Xie J, Nomura N, Quackenbush E, Forrest M, Rosen H. Sphingosine-1-phosphate receptor agonism impairs the efficiency of the local immune response by altering trafficking of naive and antigen-activated CD4+ T cells. *J. Immunol*. 2003 Apr 1;170(7):3662-70. **57.** Moolenaar WH, Lysophosphatidic acid, a multifunctional phospholipid messenger: *J Biol Chem*, 1995, v. 270, p.12949-12952. **58.** An S, Bleu T, Hallmark OG, Goetzl EJ. Characterization of a novel subtype of human G protein-coupled receptor for lysophosphatidic acid: *J Biol Chem*, 1998, v. 273, p. 7906-7910. **59.** Marathe S, Schissel SL, Yellin MJ, Beatini N, Mintzer R, Williams KJ, Tabas I Human vascular endothelial cells are a rich and regulatable source of secretory sphingomyelinase. Implications for early atherogenesis and ceramide-mediated cell signaling. *J Biol Chem*. 1998 Feb 13;273(7):4081-8. *JBC* 98; 273
- 60.** Schissel SL, Tweedie-Hardman J, Rapp JH, Graham G, Williams KJ, Tabas I. Rabbit aorta and human atherosclerotic lesions hydrolyze the sphingomyelin of retained low-density lipoprotein. Proposed role for arterial-wall sphingomyelinase in subendothelial retention and aggregation of atherogenic lipoproteins. *J Clin Invest*. 1996 Sep 15;98(6):1455-64. **61.** Jiang XC, Paultre F, Pearson TA, Reed RG, Francis CK, Lin M, Berglund L, Tall AR. Plasma sphingomyelin level as a risk factor for coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Dec;20(12):2614-8. **62.** Kimura T, Sato K, Kuwabara A, Tomura H, Ishiura M, Kobayashi I, Ui M, Okajima F. Sphingosine 1-phosphate may be a major component of plasma lipoproteins responsible for the cytoprotective actions in human umbilical vein endothelial cells. *J Biol Chem*. 2001 Aug 24;276(34):31780-5. **63.** Siess W, Essler M, Brandl R. Lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate: two lipid villains provoking cardiovascular diseases? *IUBMB Life*. 2000

- Mar;49(3):167-71. **64.** Murata N, Sato K, Kon J, Tomura H, Yanagita M, Kuwabara A, Ui M, Okajima F. Interaction of sphingosine 1-phosphate with plasma components, including lipoproteins, regulates the lipid receptor-mediated actions. *Biochem J.* 2000 Dec 15;352 Pt 3:809-15.
- 65.** Hobson JP, Rosenfeldt HM, Barak LS, Olivera A, Poulton S, Caron MG, Milstien S, Spiegel S. Role of the sphingosine-1-phosphate receptor EDG-1 in PDGF-induced cell motility. *Science.* 2001 Mar 2;291(5509):1800-3. **66.** Hernandez OM, Discher DJ, Bishopric NH, Webster KA. Rapid activation of neutral sphingomyelinase by hypoxia-reoxygenation of cardiac myocytes. *Circ Res.* 2000 Feb 4;86(2):198-204. **67.** Deutschman DH, Carstens JS, Klepper RL, Smith WS, Page MT, Young TR, Gleason LA, Nakajima N, Sabbadini RA. Predicting obstructive coronary artery disease with serum sphingosine-1-phosphate. *Am Heart J.* 2003 Jul;146(1):62-8. **68.** Memon RA, Holleran WM, Uchida Y, Moser AH, Ichikawa S, Hirabayashi Y, Grunfeld C, Feingold KR. Regulation of Glycosphingolipid Metabolism in Liver during the Acute Phase Response. *J. Biol. Chem., Jul 1999; 274: 19707 - 19713.* **69.** Merrill AH Jr., Lingrell S, Wang E, Nikolova-Karakashian M, Vales TR, Vance DE. Sphingolipid Biosynthesis de Novo by Rat Hepatocytes in Culture. *J. Biol. Chem., Jun 1995; 270: 13834 - 13841.*
- 70.** Marathe S, Schissel SL, Yellin MJ, Beatini N, Mintzer R, Williams KJ, Tabas I. Human Vascular Endothelial Cells Are a Rich and Regulatable Source of Secretory Sphingomyelinase. IMPLICATIONS FOR EARLY ATHEROGENESIS AND CERAMIDE-MEDIATED CELL SIGNALING. *J. Biol. Chem., Feb 1998; 273: 4081 - 4088.* **71.** Wong M-L, Xie B, Beatini N, Phu P, Marathe S, Johns A, Gold VW, Hirsch E, Williams KJ, Licinio J, Tabas I. Acute systemic inflammation up-regulates secretory sphingomyelinase in vivo: A possible link between inflammatory cytokines and atherogenesis. *PNAS* 2000 97: 8681-8686. **72.** Ross R, The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s: *Nature, 1993v. 362, p. 801-809.* **73.** Schissel SL, Schuchman EH, Williams KJ, Tabas I. Zn²⁺-stimulated Sphingomyelinase Is Secreted by Many Cell Types and Is a Product of the Acid Sphingomyelinase Gene. *J. Biol. Chem.* 1996 271: 18431-18436. **74.** Nickels JT, Broach JR, A ceramide-activated protein phosphatase mediates ceramide-induced G1 arrest of *Saccharomyces cerevisiae*: *Genes Dev, 1996, v. 10, p. 382-394.*
- 75.** Testi R, Sphingomyelin breakdown and cell fate: *Trends Biochem Sci, 1996, v. 21, p. 468-471.* **76.** Hannun YA, Obeid LM, Ceramide: an intracellular signal for apoptosis: *Trends Biochem Sci, 1995, v. 20, p. 73-77.* **77.** Zhang J, Alter N, Reed JC, Borner C, Obeid LM, Hannun YA, Bcl-2 interrupts the ceramide-mediated pathway of cell death: *Proc Natl Acad Sci U S A, 1996, v. 93, p. 5325-5328.* **78.** Dobrowsky RT, Werner MH, Castellino AM, Chao MV, Hannun YA, Activation of the sphingomyelin cycle through the low-affinity neurotrophin receptor: *Science, 1994, v. 265, p. 1596-1599.* **79.** Liu G, Kleine L, Hebert RL, Advances in the signal transduction of ceramide and related sphingolipids: *CritRev Clin Lab Sci, 1999, v. 36, p. 511-573.*
- 80.** Perry DK, Hannun YA, The role of ceramide in cell signaling: *Biochim Biophys Acta, 1998v. 1436, p. 233-243.* **81.** Wang YM, Seibenhener ML, Vandenplas ML, Wooten MW. Atypical PKC zeta is activated by ceramide, resulting in coactivation of NF-kappaB/JNK kinase and cell survival. *J Neurosci Res.* 1999 Feb 1;55(3):293-302. **82.** Witting SR, Maiorano JN, Davidson WS. Ceramide enhances cholesterol efflux to apolipoprotein A-I by increasing the cell surface presence of ATP-binding cassette transporter A1. *J Biol Chem.* 2003 Oct 10;278(41):40121-7. **83.** van Blitterswijk WJ, van der Luit AH, Veldman RJ, Verheij M, Borst J. Ceramide: second messenger or modulator of membrane structure and dynamics? *Biochem J.* 2003 Jan 15;369(Pt 2):199-211. **84.** Spiegel S, Milstien S. Sphingosine 1-phosphate, a key cell signaling molecule. *J Biol Chem.* 2002 Jul 19;277(29):25851-4.
- 85.** Meyer zu Heringdorf D, Lass H, Kuchar I, Lipinski M, Alemany R, Rumenapp U, Jakobs KH. Stimulation of intracellular sphingosine-1-phosphate production by G-protein-coupled sphingosine-1-phosphate receptors. *Eur J Pharmacol.* 2001 Mar 2;414(2-3):145-54. **86.** Chun J, Goetzl EJ, Hla T, Igarashi Y, Lynch KR, Moolenaar W, Pyne S, Tigyi G. International Union of Pharmacology. XXXIV. Lysophospholipid receptor nomenclature. *Pharmacol Rev.* 2002 Jun;54(2):265-9. **87.** Lee MJ, Thangada S, Claffey KP, Ancellin N, Liu CH, Kluk M, Volpi M, Sha'afi RI, Hla T. Vascular endothelial cell adherence junction assembly and morphogenesis induced by sphingosine-1-phosphate, *Cell* 99; 301-312. **88.** Kimura T, Watanabe T, Sato K, Kon J, Tomura H, Tamama K, Kuwabara A, Kanda T, Kobayashi I, Ohta H, Ui M, Okajima F. Sphingosine 1-phosphate stimulates proliferation and migration of human endothelial cells possibly through the lipid receptors, Edg-1 and Edg-3. *Biochem J.* 2000 May 15;348 Pt 1:71-6. **89.** Tamama K, Kon J, Sato K, Tomura H, Kuwabara A, Kimura T, Kanda T, Ohta H, Ui M, Kobayashi I, Okajima F. Extracellular mechanism through the Edg family of receptors might be responsible for sphingosine-1-phosphate-induced regulation of DNA synthesis and migration of rat aortic smooth-muscle cells. *Biochem J.* 2001 Jan 1;353(Pt 1):139-146.
- 90.** Boujaoude LC, Bradshaw-Wilder C, Mao C, Cohn J, Ogrtmen B, Hannun YA, Obeid LM. Cystic fibrosis transmembrane regulator regulates uptake of sphingoid base phosphates and lysophosphatidic acid: modulation of cellular activity of sphingosine 1-phosphate. *J Biol Chem.* 2001 Sep 21;276(38):35258-64. **91.** Siess, W, Athero- and thrombogenic actions of lysophosphatidic acid and sphingosine-1-phosphate: *Biochim Biophys Acta, 2002 V. 1582, p. 204-15.* **92.** Daibo GS, Pushkareva MV, Jayadev S, Schwarz JK, Horowitz JM, Obeid LM, Hannun YA, Retinoblastoma gene product as a downstream target for a ceramide-dependent pathway of growth arrest: *Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, v. 92, p. 1347-1351.* **93.** Okamoto H, Yatomi Y, Ohmori T, Satoh K, Matsumoto Y, Ozaki Y. Sphingosine 1-phosphate stimulates G(i)- and Rho-mediated vascular endothelial cell spreading and migration. *Thromb Res.* 2000 Aug 1;99(3):259-65. **94.** Lee OH, Lee DJ, Kim YM, Kim YS, Kwon HJ, Kim KW, Kwon YG. Sphingosine 1-phosphate stimulates tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase and chemotactic motility of endothelial cells via the G(i) protein-linked phospholipase C pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 Feb 5;268(1):47-53
- 95.** Sato K, Kon J, Tomura H, Osada M, Murata N, Kuwabara A, Watanabe T, Ohta H, Ui M, Okajima F. Activation of phospholipase C-Ca²⁺ system by sphingosine 1-phosphate in CHO cells transfected with Edg-3, a putative lipid receptor: *FEBS Lett, 1999 v. 443, p. 25-30.* **96.** Spiegel S, Milstien S. Sphingosine-1-phosphate: signaling inside and out. *FEBS Lett.* 2000 Jun 30;476(1-2):55-7. **97.** Blatt NB, Glick GD. Signaling pathways and effector mechanisms pre-programmed cell death. *Bioorg Med Chem.* 2001 Jun;9(6):1371-84. **98.** Zhao S, Yang YN, Song JG. Ceramide induces caspase-dependent and -independent apoptosis in A-431 cells. *J Cell Physiol.* 2004 Apr;199(1):47-56. **99.** Cuvillier O, Rosenthal DS, Smulson ME, Spiegel S. Sphingosine 1-phosphate inhibits activation of caspases that cleave poly(ADP-ribose) polymerase and lamins during Fas- and ceramide-mediated apoptosis in Jurkat T lymphocytes: *J Biol Chem, 1998, v. 273, p. 2910-2916.*
- 100.** Santana P, Llanes L, Hernandez I, Gallardo G, Quintana J, Gonzalez J, Estevez F, Ruiz de Galarreta C, Fanjul LF. Ceramide mediates tumor necrosis factor effects on P450-aromatase activity in cultured granulosa cells. *Endocrinology.* 1995 May;136(5):2345-8. **101.** Kwon YG, Min JK, Kim KM, Lee DJ, Billiar TR, Kim YM. Sphingosine 1-phosphate protects human umbilical vein endothelial cells from serum-deprived apoptosis by nitric oxide production. *J Biol Chem.* 2001 Apr 6;276(14):10627-33. **102.** Gomez-Munoz A, Kong J, Salh B, Steinbrecher UP. Sphingosine-1-phosphate inhibits acid sphingomyelinase and blocks apoptosis in macrophages. *FEBS Lett.* 2003 Mar 27;539(1-3):56-60. **103.** Johns DG, Jin JS, Wilde DW, Webb RC. Ceramide-induced vasorelaxation: An inhibitory action on protein kinase C. *Gen Pharmacol.* 1999 Nov;33(5):415-21. **104.** Jin JS, Tsai CS, Si X, Webb RC. Endothelium dependent and independent relaxations induced by ceramide in vascular smooth muscles. *Chin J Physiol.* 1999 Mar 31;42(1):47-51
- 105.** Murohara T, Kugiyama K, Ohgushi M, Sugiyama S, Ohta Y, Yasue H. Effects of sphingomyelinase and sphingosine on arterial vasomotor regulation. *J Lipid Res.* 1996 Jul;37(7):1601-8. **106.** Igarashi J, Michel T. Agonist-modulated targeting of the EDG-1 receptor to plasmalemmal caveolae. ENOS activation by sphingosine 1-phosphate and the role of caveolin-1 in sphingolipid signal transduction: *J Biol Chem, 2000v.275, p. 32363-32370.* **107.** Igarashi J, Bernier SG, Michel T. Sphingosine 1-phosphate and activation of endothelial nitric-oxide synthase. differential regulation of Akt and MAP kinase pathways by EDG and bradykinin receptors in vascular endothelial cells: *J Biol Chem.* 2001, v. 276, p. 12420-12426. **108.** Morales-Ruiz M, Lee MJ, Zollner S, Gratton JP, Scotland R, Shiojima I, Walsh K, Hla T, Sessa WC. Sphingosine 1-phosphate activates Akt, nitric oxide production, and chemotaxis through a Gi protein/phosphoinositide 3-kinase pathway in endothelial cells. *J Biol Chem.* 2001 Jun 1;276(22):19672-7. **109.** Bischoff A, Czyborra P, Fetscher C, Meyer Zu Heringdorf D, Jakobs KH, Michel MC. Sphingosine-1-phosphate and sphingosylphosphorylcholine restrict renal and mesenteric microvessels in vitro. *Br J Pharmacol.* 2000 Aug;130(8):1871-7.

110. Lee JY, Hannun YA, Obeid LM. Ceramide inactivates cellular protein kinase C alpha. *J Biol Chem.* 1996 May 31;271(22):13169-74. 111. Meikle PJ, Hopwood JJ. Lysosomal storage disorders: emerging therapeutic options require early diagnosis. *Eur J Pediatr.* 2003 Dec;162 Suppl 1:S34-7. 112. Aerts JM, Hollak C, Boot R, Groener A. Biochemistry of glycosphingolipid storage disorders: implications for therapeutic intervention. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2003 May 29;358(1433):905-14. 113. Crocker AC, Farber S. Niemann-Pick disease: a review of eighteen patients. *Medicine (Baltimore).* 1958 Feb;37(1):1-95. 114. Schneider PB, Kennedy EP. Sphingomyelinase in normal human spleens and in spleens from subjects with Niemann-Pick disease. *J Lipid Res.* 1967 May;8(3):202-9.
115. Ory DS. The niemann-pick disease genes; regulators of cellular cholesterol homeostasis. *Trends Cardiovasc Med.* 2004 Feb;14(2):66-72. 116. Ory DS. Niemann-Pick type C: a disorder of cellular cholesterol trafficking. *Biochim Biophys Acta.* 2000 Dec 15;1529(1-3):331-9. 117. Neufeld EB, Cooney AM, Pitha J, Dawidowicz EA, Dwyer NK, Pentchev PG, Blanchette-Mackie EJ. Intracellular Trafficking of Cholesterol Monitored with a Cyclo-dextrin. *J. Biol. Chem.*, Aug 1996; 271: 21604 - 21613. 118. Vanier MT, Duthel S, Rodriguez-Lafrasse C, Pentchev P, Carstea ED. Genetic heterogeneity in Niemann-Pick C disease: a study using somatic cell hybridization and linkage analysis. *Am J Hum Genet.* 1996 Jan;58(1):118-25. 119. Steinberg SJ, Mondal D, Fensom AH. Co-cultivation of Niemann-Pick disease type C fibroblasts belonging to complementation groups alpha and beta stimulates LDL-derived cholesterol esterification. *J Inheret Metab Dis.* 1996;19(6):769-74.
120. Chen W, Sun Y, Welch C, Gorelik A, Leventhal AR, Tabas I, Tall AR. Preferential ATP-binding cassette transporter A1-mediated cholesterol efflux from late endosomes/lysosomes. *J Biol Chem.* 2001 Nov 23;276(47):43564-9. 121. Altmann SW, Davis HR Jr, Zhu LJ, Yao X, Hoos LM, Tetzloff G, Iyer SP, Maguire M, Golovko A, Zeng M, Wang L, Murgolo N, Graziano MP. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science.* 2004 Feb 20;303(5661):1201-4. 122. Lachmann RH, Platt FM. Substrate reduction therapy for glycosphingolipid storage disorders. *Expert Opin Investig Drugs.* 2001 Mar;10(3):455-66. 123. D'Azzo A. Gene transfer strategies for correction of lysosomal storage disorders. *Acta Haematol.* 2003;110(2-3):71-85. 124. Grabowski GA, Hopkin RJ. Enzyme therapy for lysosomal storage disease: principles, practice, and prospects. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2003;4:403-36.



dr H. Bukowska, dr med. I. Gorący, dr E. Żyżniewska-Banaszak, mgr K. Chełstowski,
prof. dr hab. M. Naruszewicz

Ocena wpływu napoju zawierającego sok owocowy, bakterie jogurtowe oraz witaminę C i kwas foliowy na poziom homocysteiny, profil lipidowy i jakość życia ocenianą rotterdamską listą symptomów, u młodych mężczyzn

Wprowadzenie

Aktualne badania żywieniowe w Polsce, jak i w innych krajach Europy Środkowej i Północnej, wskazują na istnienie znacznych niedoborów kwasu foliowego w diecie (1, 2), a także zmniejszenia się pozytywnej flory bakteryjnej w przewodzie pokarmowym (3). Jest to konsekwencja wysokiego stopnia przetwarzania żywności – i ograniczenia w niej flory bakteryjnej – w celu wydłużenia czasu przydatności spożycia. To zjawisko jest szczególnie zauważalne u młodzieży, która obecnie preferuje żywność typu „fast food”, o wysokiej kaloryczności oraz dużej zawartości soli, izomerów *trans* kwasów tłuszczowych i akryloamidu. Obserwuje się również wysokie spożycie napojów gazowanych, o znikomej wartości żywieniowej.

Te niekorzystne tendencje żywieniowe prowadzą do rozszerzania się występowania otyłości i dyslipidemii oraz mają bezpośredni wpływ na ogólny stan zdrowia młodych ludzi, w tym również na zdrowie psychiczne.

Pośrednio wpływa na to także niedobór kwasu foliowego w diecie, pozbawionej odpowiedniej ilości wartościowych warzyw i owoców. Brak odpowiedniej dawki, tj. przynajmniej 400 µg dziennie, kwasu foliowego, wpływa na podwyższenie poziomu homocysteiny we krwi.

Stężenie homocysteiny zależy od płci, wieku, funkcji nerek a także od stylu życia, szczególnie diety (spożycia metioniny) i statusu witaminowego (kwas foliowy, witamina B₆, witamina B₁₂), palenia tytoniu i aktywności fizycznej (4). Hiperhomocysteinemia jest uznanym i niezależnym czynnikiem ryzyka miażdżycy tętnic wieńcowych, mózgowych i obwodowych. Ten cytoksycyny aminokwas nie tylko ma niekorzystny wpływ na układ krążenia, ale także na zmniejszenie produkcji serotoniny w mózgu, a więc powoduje pogorszenie nastroju będącego istotną częścią witalności człowieka.

Innym ważnym zagadnieniem zdrowotnym jest stale powiększający się niedobór pozytywnej flory bakteryjnej u ludzi, będący konsekwencją spożycia wysoko przetworzonej żywności, antybiotykoterapii oraz przewlekłego stresu (3). To powoduje dysfunkcje przewodu pokarmowego, bóle brzucha, zaparcia i/lub biegunki, i wiąże się z kolei z obniżeniem się jakości życia.

Celem pracy była ocena wpływu napoju z soku owocowego, wzbogaconego we florę jogurtową, kwas foliowy i witaminę C, na poziom homocysteiny we krwi, profil lipidowy oraz na parametry jakości życia oceniane według rotterdamskiej listy symptomów (5).

Material i metody

Badany napój owocowy „Danviva” (firmy Danone) zawiera sok pomarańczowy, żywe kultury bakterii jogurtowych *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*, kwas foliowy, witaminę C. W 250 ml (jedno opakowanie) zawarte jest około 250 µg kwasu foliowego, co przy przeliczeniu na biodostępność, ocenianą na 67%, pozwala zapewnić około 1/2 dziennej zalecanej dawki. Zawartość witaminy C wynosi 22,5 mg/250 ml, co stanowi 15% zalecanego dziennego spożycia.

W badaniu wzięło udział 59 mężczyzn (wolontariuszy) w średnim wieku $21,9 \pm 1,8$ lat, w warunkach kontrolowanego żywienia i aktywności fizycznej. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Etycznej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Osoby z cukrzycą, chorobą wrzodową żołądka lub dwunastnicy zostały wykluczone z programu badań. Wszyscy uczestnicy stosowali normalną dietę, z dodatkiem dwa razy dziennie, rano i wieczorem, po 250 ml napoju owocowego „Danviva” (2 opakowania). Przed rozpoczęciem eksperymentu i po 4 tygodniach picia napoju owocowego u wszystkich badanych przeprowadzono ankietę dotyczącą tzw. rotterdamskiej listy symptomów, dokonano pomiaru ciśnienia krwi, masy ciała i wzrostu oraz pobrano krew na oznaczenia biochemiczne.

Oznaczano trójglicerydy, cholesterol całkowity i we frakcjach HDL i LDL, homocysteinę, kwas foliowy i morfologię krwi. Pomiaru stężeń trójglicerydów i cholesterolu dokonano metodami enzymatycznymi (GPO-PAP, CHOD-PAP), frakcje lipoprotein HDL i LDL otrzymano metodą strąceniową i oznaczano w nich poziom cholesterolu przy użyciu zestawów testowych firmy Roche. Homocysteinę oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją fluorescencyjną, przy użyciu zestawu testowego firmy Bio-Rad. Kwas foliowy oznaczano zestawem testowym firmy Abbott, opartym na technologii wychwytu jonowego, na analizatorze immunochemicznym IMx. Morfologię krwi wykonano na analizatorze Cell-Dyn 3500R firmy Abbott.

Obliczenia statystyczne wyników badań przeprowadzono przy pomocy pakietu Statistica 5.1 PL firmy StatSoft. Wyniki przedstawiono w postaci średnich arytmetycznych i odchyłeń standardowych dla badanych parametrów. Zbadano zgodność analizowanych zmiennych z rozkładem normalnym testem Kołmogorowa-Smirnowa. Dla porównania ocenianych parametrów przed i po 4 tygodniach spożycia badanego napoju zastosowano test t-Studenta dla danych sparowanych. Przyjęto po-

ziom istotności $p < 0,05$. Częstość symptomów z listy rotterdamskiej porównano testem χ^2 .

Omówienie wyników

Wartości ocenianych parametrów przedstawiają tabele 1 i 2

Nie stwierdzono znamienych różnic wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego krwi po 4 tygodniach picia napoju owocowego, jednakże u niektórych osób z podwyższonymi wartościami ciśnienia krwi obserwowano jego obniżenie. Nie było również zmian w wartościach wskaźnika masy ciała (BMI).

W badaniu profilu lipidowego stwierdzono brak znamienego wpływu spożycia napoju na stężenie cholesterolu całkowitego i trójglicerydów w osoczu. Jednakże wykazano wysoce znamienne obniżenie stężenia cholesterolu we frakcji LDL, z 93,6 mg/dL do 90,6 mg/dL ($p < 0,005$), co szczególnie uwidaczniało się w grupie osób z wyższym początkowym jego stężeniem. Zaobserwowano jednocześnie równoległy wzrost stężenia cholesterolu we frakcji HDL. To rzutowało w sposób istotny na poprawę wskaźnika aterogennego, wyznaczonego jako stosunek LDL-Ch / HDL-Ch, który po 4 tygodniach picia napoju zmalał z 1,97 do 1,85 ($p < 0,0001$).

W sposób wysoce znamieny statystycznie, po 4 tygodniach spożycia napoju „Danviva”, wzrosło stężenie kwasu foliowego w osoczu – z 7,4 µg/L do 11,7 µg/L – średni wzrost o 58,1% ($p < 0,0001$). Wyjściowe stężenia homocysteiny u 55 na 59 badanych mężczyzn były podwyższone (> 12 µmol/L). Stwierdzono bardzo znaczące obniżenie stężenia homocysteiny, ze średniej wartości 17,0 µmol/L do 11,2 µmol/L – spadek o 31,6% ($p < 0,0001$).

Badanie morfologii krwi wykazało brak wpływu picia napoju owocowego na poziom leukocytów i erytrocytów. Jednakże stwierdzono nieznaczny wzrost OB – z wartości 5,9 do 7,2 mm/godz. ($p < 0,05$), obniżenie stężenia hemoglobiny z 9,6 g/dL do 9,5 g/dL ($p < 0,05$) i hematokrytu z 46,8% do 46,2% ($p < 0,05$).

Na podstawie przeprowadzonej ankiety wg. tzw. rotterdamskiej listy symptomów stwierdzono, że po 4 tygodniach picia napoju „Danviva” istotnie spadła liczba osób zgłaszająca objawy: poczucia zmartwienia, zmęczenia, stałego podenerwowania, bólu głowy, trudności z koncentracją i zaparcia. W innych badanych objawach, takich jak trudności ze snem, brak apetytu, zgaga, biegunki i depresyjny nastrój – nie stwierdzono znamienych różnic.

Wydaje się, że taka kompozycja bakterii probiotycznych i kwasu foliowego w sposób niezwykle efektywny obniża poziom homocy-

steiny, która wpływa niekorzystnie nie tylko na układ krążenia, ale także na metabolizm serotoniny w mózgu.

Tak więc ogólna poprawa jakości życia, szczególnie u młodych ludzi obciążonych dużym stresem, może być osiągnięta poprzez produkty o charakterze żywności funkcjonalnej, jakim jest napój owocowy „Danviva”. Trzeba podkreślić szczególną efektywność badanego napoju w porównaniu do innych produktów suplementowanych kwasem foliowym, na przykład płatków śniadaniowych, które mogą zawierać także znaczące ilości akryloamidu powstałego w procesie prażenia. Z badań opublikowanych w *The New England Journal of Medicine* (6) wynika, że podawanie płatków owsianych (30 g) z podobną do badanego napoju ilością kwasu foliowego skutkuje tylko 14% spadkiem homocysteiny. W naszych badaniach ten spadek wyniósł 31,2%.

Tak więc badany napój owocowy może być zalecany zarówno młodym zdrowym ludziom jako produkt chroniący ich zdrowie jak i ludziom z wysokim ryzykiem chorób układu krążenia. Szczególną grupę, dla której napój wzbogacony w kwas foliowy może być niezwykle przydatny, stanowią kobiety w wieku rozrodczym, u których zapotrzebowanie w organizmie na kwas foliowy jest wysokie.

Wyniki naszych badań, oceniające wpływ napoju owocowego zawierającego zarówno bakterie jogurtowe jak i suplementy w postaci kwasu foliowego i witaminy C na ogólny stan zdrowia wykazały, że działa on efektywnie

i wielokierunkowo, poprawiając wskaźniki biochemiczne i podnosząc jakość życia.

Uzyskane wyniki wskazują na celowość kontynuacji i rozszerzenie zakresu badań.

Streszczenie

Aktualne badania wskazują na istnienie znacznych niedoborów w diecie kwasu foliowego, a także zmniejszania się pozytywnej flory bakteryjnej w przewodzie pokarmowym.

Celem pracy była ocena wpływu soku owocowego wzbogaconego w florę jogurtową, kwas foliowy i witaminę C, na poziom homocysteiny we krwi, profil lipidowy oraz na parametry jakości życia oceniane według rotterdamskiej listy symptomów.

Badania przeprowadzono u 59 młodych mężczyzn (wolontariuszy) w średnim wieku $21,9 \pm 1,8$ lat w warunkach kontrolowanego żywienia i aktywności fizycznej. Wszyscy uczestnicy stosowali normalną dietę z dodatkiem dwa razy dziennie 250 ml napoju „Danviva”, zawierającego sok pomarańczowy, bakterie jogurtowe, kwas foliowy – 250 $\mu\text{g}/250$ ml i witaminę C – 22,5 mg /250 ml. Przed rozpoczęciem badań i po 4 tygodniach picia napoju u wszystkich badanych przeprowadzono ankietę dotyczącą rotterdamskiej listy symptomów, dokonano pomiaru ciśnienia krwi, masy ciała i wzrostu oraz oznaczono trójglicerydy, cholesterol całkowity i we frakcjach HDL i LDL, homocysteinę, kwas foliowy i morfologię krwi.

Parametry	Przed badaniem	Po 4 tygodniach	p <
Wiek (lata)	21,9±1,8		
BMI (kg/m ²)	24,1±3,6	24,3±3,7	NS
Ciśnienie skurczowe (mmHg)	124±10	124±11	NS
Ciśnienie rozkurczowe (mmHg)	81±9	80±7	NS
Trójglicerydy (mg/dL)	82±33	83±31	NS
Cholesterol całkowity (mg/dL)	182±29	184±25	NS
HDL-Cholesterol (mg/dL)	49,0±8,8	50,4±8,4	0,001
LDL-Cholesterol (mg/dL)	93,6±17,4	90,6±14,7	0,005
LDL-Ch / HDL-Ch	1,97±0,50	1,85±0,46	0,0001
Homocysteina ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	17,0±4,5	11,2±2,4	0,0001
Kwas foliowy ($\mu\text{g}/\text{L}$)	7,4±1,7	11,7±1,5	0,0001
Morfologia krwi			
Hemoglobina (g/dL)	9,6±0,5	9,5±0,5	0,05
Hematokryt (%)	46,8±2,3	46,2±2,2	0,05
Erytrocyty ($\times 10^{12}/\text{L}$)	5,2±0,3	5,2±0,3	NS
Leukocyty ($\times 10^9/\text{L}$)	5,8±1,4	5,9±1,1	NS
OB (mm/godz.)	5,9±6,8	7,2±4,5	0,05

Tab.1 Charakterystyka badanej grupy, wartości parametrów biochemicznych i morfologia krwi przed i po 4 tygodniach picia napoju owocowego „Danviva”

Objawy	Przed %	Po %	p <
Poczucie zmartwienia	62	37	0,0001
Bóle głowy	67	32	0,05
Trudności z koncentracją	59	41	0,02
Poczucie stałego podenerwowania	56	43	0,05
Poczucie zmęczenia	57	42	0,05
Zaparcia	57	42	0,05

Tab.2 Procent osób zgłaszających objawy według rotterdamskiej listy symptomów, przed i po 4 tygodniach picia napoju owocowego „Danviva”

Po 4 tygodniach spożycia napoju stężenie kwasu foliowego w osoczu wzrosło istotnie, z 7,4 do 11,7 $\mu\text{g/L}$ – średni wzrost o 58,1% ($p < 0,0001$). Stwierdzono jednocześnie bardzo znaczące obniżenie stężenia homocysteiny, z 17,0 do 11,7 $\mu\text{mol/L}$ – średni spadek o 31,2% ($p < 0,0001$). Zaobserwowano również znamienne obniżenie stężenia LDL-Ch, z 93,6 do 90,6 mg/dL ($p < 0,005$), i wzrost stężenia HDL-Ch z 49,0 do 50,4 mg/dL ($p < 0,001$), co znacząco wpłynęło na poprawę wskaźnika aterogenego wyznaczonego jako stosunek LDL-Ch/HDL-Ch z 1,97 do 1,85 ($p < 0,0001$). Na podstawie przeprowadzonej ankiety, według rotterdamskiej listy symptomów stwierdzono, że po 4 tygodniach picia napoju istotnie obniżyła się liczba osób zgłaszająca objawy: poczucia zmartwienia, zmęczenia, stałego podenerwowania, bólu głowy, trudności z koncentracją i zaparcia.

Wyniki naszych badań, oceniające wpływ napoju owocowego, zawierającego zarówno bakterie jogurtowe jak i suplementy w postaci kwasu foliowego i witaminy C, na ogólny stan zdrowia wykazały, że działa on efektywnie i wielokierunkowo, poprawiając wskaźniki biochemiczne oraz podnosząc jakość życia.

Abstract

Current studies indicate the existence of significant dietary folic acid deficiencies and a reduction of positive bacterial flora in the gastrointestinal tract.

The objective of the study is to evaluate the effects of fruit juice with added yoghurt flora, folic acid and vitamin C on blood homocysteine level, lipid profile, and quality of life parameters assessed on the basis of the Rotterdam Symptom Checklist.

The study was conducted in 59 young men (volunteers) at a mean age of 21.9 ± 1.8 years in conditions of controlled nutrition and physical exercise. All participants were on normal diet supplemented twice a day by 250 ml of the “Danviva” drink containing orange juice, yoghurt bacteria, folic acid 250 $\mu\text{g}/250$ ml, and

vitamin C 22.5 mg/250 ml. Before the study and after 4 weeks of “Danviva” drinking all study subjects completed a questionnaire related to the Rotterdam Symptom Checklist and underwent blood pressure, weight, and height measurements, and biochemical tests including triglycerides, total cholesterol and HDL- and LDL-cholesterol, homocysteine, folic acid, and blood count.

After 4 weeks of drinking “Danviva”, folic acid concentration in plasma significantly increased from 7.4 to 11.7 $\mu\text{g/L}$ – the mean increase was by 58.1% ($p < 0,0001$). Moreover, a very significant lowering of homocysteine level from 17.0 to 11.7 $\mu\text{mol/L}$ was observed – the mean fall was by 31.2% ($p < 0,0001$). Other findings were a significant lowering of LDL-Ch from 93.6 to 90.6 mg/dL ($p < 0,005$) and HDL-Ch increase from 49.0 to 50.4 mg/dL ($p < 0,001$), which markedly contributed to the improvement of the atherogenic factor defined as the LDL-Ch / HDL-Ch ratio, from 1.97 to 1.85 ($p < 0,0001$). On the basis of the Rotterdam Symptom Checklist questionnaire it was found that after 4 weeks of drinking “Danviva” the number of persons who reported such symptoms as sensations of worry, fatigue, constant nervousness, headache, difficulties to concentrate, and constipation, had decreased significantly.

The results of our study assessing the general health effects of a fruit drink containing both yoghurt bacteria and supplements in the form of folic acid and vitamin C proved its effective and multi-directional action improving biochemical parameters and the quality of life assessed with the use of the Rotterdam Symptom Checklist.

Adres autorów:

Katedra Biochemii Klinicznej i Diagnostyki
Laboratoryjnej Pomorskiej Akademii Medycznej
al. Powstańców Wlkp. 72
70-111 Szczecin
habuk@sci.pam.szczecin.pl

Piśmiennictwo:

1. M. Rogalska-Niedźwiedz, E. Chabros, Z. Chwojnowska, B. Wajszczyk, J. Charzewska, Ś. Ziemiański: Badanie wielkości spożycia folianów w grupie kobiet w wieku prokreacyjnym. *Żywność Człowieka i Metabolizm*, 2000, XXVII, nr 2: 172-183. 2. K. Pietrzik, A. Bronstrup : Vitamins B12, B6 and folate as determinants of homocysteine concentration in the healthy population. *Eur J. Pediatr*, 1998, 157 [Suppl2]: 135-138. 3. S. Cunningham-Rundles, D. Ho Lin: Nutrition and the immune system of the gut. *Nutrition* 1998; 14: 573-579. 4. J. Selhub: Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* ,1993, 270: 2693-2727

5. E. Paci: Assessment of validity and clinical application of an Italian version of the Rotterdam Symptom Checklist. *Qual-Life-Res.* 1992, 1(2): 129-134. 6. M.R. Malinow, P.B. Duell, D.L. Hess et al.: Reduction of plasma homocyst(e)ine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. *The New England Journal of Medicine* 1998, 338,15: 1009



dr E. Stachowska^{1/}, dr I. Noceń^{1/}, dr med. K. Safranow^{1/}, dr T. Wesołowska^{2/},
dr med. L. Domański^{3/}, prof. dr hab. med. K. Ciechanowski^{3/}, prof. dr hab. med. D. Chlubek^{1/}

6-miesięczne stosowanie diety typu śródziemnomorskiego normalizuje stężenie miedzi i cynku w osoczu pacjentów po przeszczepach nerek

Wstęp

Pierwiastki śladowe: cynk i miedź, odgrywają istotną rolę w metabolizmie człowieka. Niektóre z tkanek i narządów charakteryzują się dużą zawartością obydwu pierwiastków, a ich ilość gromadzona w tkankach podlega osobniczemu zróżnicowaniu zależnemu od warunków środowiska, stanu zdrowia i stosowanej diety (1, 2).

Miedź uczestniczy w wielu kluczowych procesach: metabolizmie tkanki nerwowej, dojrzewaniu czerwonych i białych krwinek oraz syntezie niektórych enzymów. Niedobór tego pierwiastka doprowadza do powstawania zaburzeń procesów oksydacyjnych, metabolizmu i transportu żelaza, metabolizmu lipidów, syntezy melaniny. Niedobory miedzi mogą także doprowadzić do zaburzeń układu krążenia i układu nerwowego (1, 2).

Cynk jest składnikiem wielu kluczowych enzymów, w tym polimerazy DNA i RNA. Pierwiastek ten jest zaliczany do niezbędnych składników ludzkiego pożywienia (1, 2).

Stężenie obydwu pierwiastków w osoczu pacjentów poddawanych długotrwałym dializom ulega niekorzystnym zmianom (3). Przeszczep narządu jako zabieg przywracający prawidłowe funkcjonowanie organizmu może być czynnikiem normalizującym stężenie cynku i miedzi w osoczu (4). Drugim czynnikiem może być prawidłowo dobrana dieta, zapewniająca optymalną podaż wszystkich składników

mineralnych (5, 6, 7, 8). Dieta śródziemnomorska została z powodzeniem zastosowana u pacjentów po przeszczepach serca i nerek (5,6). U badanych zanotowano poprawę parametrów lipidowych osocza oraz korzystny wpływ na inne funkcje organizmu (5, 6).

Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy stosowanie diety typu śródziemnomorskiego wpływa na stężenie miedzi i cynku w osoczu i erytrocytach pacjentów po przeszczepach nerek.

Materiały i metody

Charakterystyka kliniczna pacjentów

Przedmiotem badań byli niepalący tytoniu biorcy nerki o stabilnej funkcji graftu, zakwalifikowani losowo do dwóch grup. Charakterystykę kliniczną pacjentów zawiera tabela 1. Grupę badaną stanowiło 21 osób, stosujących dietę typu śródziemnomorskiego. Grupę kontrolną stanowiło 16 osób. W tej grupie pacjenci stosowali zwykłą (izokaloryczną w stosunku do grupy badanej) dietę, charakterystyczną dla Europy środkowo-wschodniej.

Analizę przestrzegania diety przeprowadzono co 4 tygodnie za pomocą ankiet oraz chromatograficznej kontroli stężenia kwasu oleinowego w triacyloglicerolach izolowanych z osocza. Obliczenia danych uzyskanych z an-

kiet prowadzono za pomocą programu Dietetic (Jumar, Poland).

Pacjenci w obu grupach kontynuowali indywidualnie ustalone leczenie immunosupresyjne (cyklosporyna, prednison, azathioprin) oraz hipotensyjne (diuretyki, blokery kanału wapniowego, inhibitory konwertazy angiotensyny I).

Główne założenia dotyczące diety

Udział węglowodanów, tłuszczu i białka w uzyskiwaniu energii dziennej pochodzącej z racji pokarmowych: ok. 15% energii z utleniania białka, 47% z węglowodanów, 38% z kwasów tłuszczowych (w tym 10% stanowiły nasycone kwasy tłuszczowe, 22% mononienasycone, 6% polienienasycone kwasy tłuszczowe). Ilość cholesterolu: 165 mg±17 mg, ilość włókien roślinnych: 47,9 g/dzień.

Podaż dobową miedzi i cynku: zgodna z zaleceniami FAO/WHO, tj. cynk 15 mg, a miedź 0,5 µmol/kg masy ciała (9).

Badanie stężenia pierwiastków w osoczu

Od każdego z pacjentów czterokrotnie w ciągu trwania badań pobierano na antykoagulant po 5 ml krwi (przed rozpoczęciem badań, po 4 tygodniach trwania, po 8, oraz na zakończenie – po 24 tygodniach). Uzyskaną krew wirowano przy 800 x g przez 10 min, pobierając supernatant, który natychmiast zamrażano w temperaturze – 80° C. W celu określenia populacyjnej zawartości pierwiastków wykonano oznaczenia u ludzi zdrowych (n=16). Analizę stężenia cynku i miedzi w osoczu pacjentów przeprowadzono metodą absorpcji atomowej, wykorzystując spektrometr absorpcji atomowej PU 9100X (Philips).

Analiza statystyczna

W analizie statystycznej zastosowano testy nieparametryczne, gdyż rozkłady wielu spośród ocenianych zmiennych odbiegały istotnie od rozkładu normalnego (test Shapiro-Wilka). Dla wykazania istotności zmian w kolejnych 4 pomiarach, stosowano ANOVA Friedmanna. Jeśli różnice były istotne, stosowano następnie test kolejności par Wilcozona, dla porównania wartości 2 sparowanych pomiarów. Różnice pomiędzy grupą badaną i kontrolną oszacowano za pomocą testu U Manna-Whitneya.

Wyniki i ich omówienie

U osób po przeszczepie, niezależnie od stosowanej diety, odnotowano, począwszy od 1. miesiąca, stały, powolny spadek stężenia cynku w osoczu, aż do osiągnięcia wartości zbliżonej do obserwowanej w grupie osób zdrowych, tj. 0,77 mg/l (tab.2).

Stężenie miedzi w osoczu pacjentów po przeszczepach stosujących dietę uległo redukcji, przy czym zmiany pojawiły się dopiero po 2 miesiącach stosowania diety, utrzymując się do końca okresu obserwacji. Natomiast w grupie kontrolnej nie obserwowano istotnych statystycznie zmian stężenia miedzi w osoczu w trakcie półrocznego okresu obserwacji (tab.2).

Mierzona w erytrocytach zawartość obydwu pierwiastków (cynku i miedzi), przeliczona na stężenie hemoglobiny, wskazała na systematyczny wzrost stężenia miedzi w grupie badanej w trakcie dwóch pierwszych miesięcy diety (po miesiącu $p < 0,01$; po 2 miesiącach $p < 0,05$). Dalsze zmiany stężenia miedzi w obrębie grupy badanej były nieistotne statystycznie. Zmiany stężenia tego pierwiastka w grupie kontrolnej nie były istotne statystycznie. Zmiany stężenia cynku w erytrocytach obydwu grup nie były istotne statystycznie – tab.2.

Parametr	Grupa badana	Grupa kontrolna
Liczebność (n) (K/M)	21 (6/15)	16 (6/10)
Wiek (lata)	41±12,5	46±9,5
Okres dializowania przed przeszczepem (m-c)	28,4 (0-32)	18,2 (1-38)
Czas od przeszczepu do włączenia do badania (m-c)	10,7 (2-24)	11,3 (1-31)
Kreatynina w surowicy (mg/dl)	1,62±0,57	1,73±0,054
RRs (mm Hg)	134,7±17,4	139,4±22,6
RRd (mm Hg)	84,2±9,6	83,4±13,5
BMI (kg/m ²)	25,0±4,1	26,2±4,4
WHR	0,89±0,1	0,9±0,09
Leczenie immunosupresyjne i hipotensyjne	+	+

Tab.1 Charakterystyka kliniczna pacjentów po przeszczepach nerki. Podano wartości średnich arytmetycznych ±SD

Czas obserwacji (miesiące)	Grupa badana				Grupa kontrolna			
	0	1	2	6	0	1	2	6
Zn [mg/l]	1,12±0,3	1,27±0,4	1,01±0,6	0,66±0,3##	1,25±0,2	1,5±0,8	0,64±0,2	0,69±0,2 #
Zn/ER [µg/g Hb]	0,8±0,3	0,7±0,2	0,8±0,4	0,7±0,3	0,6±0,1	0,4±0,1	0,6±0,3	0,7±0,2
Cu [mg/l]	0,71±0,2	0,77±0,1#	0,80±0,2#	0,86±0,2#	0,81±0,3	1,03±0,2	0,73±0,2	0,73±0,4
Cu/ER [µg/g Hb]	0,02±0,01	0,03±0,01##	0,03±0,01#	0,03±0,01	0,04±0,02	0,03±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01

Tab.2 Zmiany stężenia cynku i miedzi w osoczu oraz erytrocytach u pacjentów po przeszczepie nerki. Podano wartości średnich arytmetycznych ±SD. Istotność różnic pomiędzy pomiarami w obrębie grupy, w stosunku do wartości wyjściowej, oznaczono znakiem # (test Wilcoxon). # – wartość $p < 0,05$; ## – wartość $p < 0,01$; ### wartość $p < 0,001$

Przewlekłe choroby nerek prowadzą do zmiany stężeń cynku i miedzi we krwi: redukcji stężenia cynku w osoczu przy jednoczesnym wzroście stężenia miedzi (4, 11). Powszechnie stosowana w leczeniu dializoterapia zmienia te wartości, powodując obniżenie stężenia cynku w osoczu chorych, co prowadzi u nich do niedoboru cynku (3). Podawanie dializowanym preparatów ludzkiej erytropoetyny łagodzi niekorzystne skutki dializoterapii, prowadząc do wzrostu stężenia cynku w osoczu (4, 12, 13).

W literaturze niewiele jest danych dotyczących zawartości pierwiastków śladowych w osoczu pacjentów po przeszczepach nerek. Wiadomo, że u tych pacjentów stężenie cynku w osoczu oraz wydalanie tego pierwiastka z moczem ulega zmianie. Reimold zaobserwował (10), że przez pierwsze 3 tygodnie po przeszczepie stężenie cynku w osoczu jest nadal niższe od obserwowanego w grupie osób zdrowych, jednak po upływie kolejnych 4 tygodni powraca do normy. Wydalanie cynku z moczem wzrasta w pierwszym tygodniu po transplantacji, wracając w dalszych tygodniach do normy (obserwowanej u osób zdrowych) (10). Także u dzieci z przeszczepionym narządem obserwowano stopniowe wyrównywanie stężeń cynku w osoczu do wartości prawidłowych (14, 15).

Uzyskane przez nas wyniki potwierdzają doniesienia, że przeszczep narządu jest czynnikiem normalizującym stężenie cynku i miedzi w osoczu. Tendencję do przywracania charakterystycznych dla osób zdrowych stężeń cynku w osoczu zauważa się w obydwu grupach pacjentów po przeszczepach (stosujących oraz niestosujących diety śródziemnomorskiej). Taką samą tendencję zanotowaliśmy dla obydwu pierwiastków w lizatach erytrocytarnych (tab.2).

Obserwowane przez nas stężenia cynku są zbliżone to tych, które odnotowano w badaniach Zimy, w których pomiary stężenia pierwiastków w osoczu przeprowadzano metodą spektrometrii masowej ze wzbudzeniem plazmowym (ICP-MS) (16).

Wydaje się, że sam przeszczep jest czynnikiem korygującym zawartość cynku i miedzi w osoczu oraz erytrocytach pacjentów po przeszczepie nerki. Dieta typu śródziemnomorskiego prawdopodobnie także ma korzystny wpływ na regulację zawartości miedzi i cynku w osoczu pacjentów po przeszczepach nerki.

Streszczenie

Pierwiastki śladowe: cynk i miedź, odgrywają istotną rolę w metabolizmie człowieka. Niektóre z tkanek i narządów charakteryzują się dużą zawartością obydwu pierwiastków, a ich ilość gromadzona w tkankach podlega osobniczemu zróżnicowaniu.

Stężenie obydwu pierwiastków w osoczu pacjentów poddawanych dializom ulega niekorzystnym zmianom. Przeszczep narządu może być czynnikiem normalizującym stężenie cynku i miedzi w osoczu. Drugim czynnikiem może być prawidłowo dobrana dieta, zapewniająca optymalną podaż wszystkich składników mineralnych. Wydaje się, że sam przeszczep jest czynnikiem korygującym zawartość cynku i miedzi w osoczu oraz erytrocytach pacjentów po przeszczepie nerki. Dieta typu śródziemnomorskiego wydaje się mieć także korzystny wpływ na regulację zawartości miedzi i cynku w osoczu pacjentów po przeszczepach nerki.

Abstract

Zinc and copper are trace elements playing an important role in human metabolism. Some tissues and organs contain significant amounts of both and individual variability in the content has been demonstrated.

Adverse changes in the plasma concentrations of both elements have been reported in hemodialyzed patients. Kidney grafting contributes to the normalization of plasma levels of zinc and copper. A proper diet is another measure for providing the patient with an optimal supply of all mineral components. It seems

that the graft per se modifies plasma and erythrocyte concentrations of zinc and copper. The Mediterranean diet also helps to improve plasma levels of zinc and copper in kidney graft recipients.

Adres autorów:

¹*Katedra i Zakład Biochemii i Chemii,*
²*Katedra Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej,*
³*Klinika Nefrologii i Transplantologii i Chorób Wewnętrznych,*
Pomorska Akademia Medyczna w Szczecinie
al. Powstańców Wlkp. 72
70-111 Szczecin
ewast@sci.pam.szczecin.pl

Piśmiennictwo:

1. Baranowska-Bosiacka I. 1996. Skutki zdrowotne zatrucia środowiska metalami ciężkimi. *Wszechświat*, 6, 148-149. 2. Baranowska-Bosiacka I. 1996. Skutki zdrowotne zatrucia środowiska metalami ciężkimi. *Wszechświat*, 5, 119-120. 3. Cullmann W, Vlaho M. 1981. Trace element changes in the serum of dialysis patients, *Fortschr. Med.*, 3, 413-414. 4. Prehn B. 1988. The trace elements zinc and copper in chronic renal failure, *Urol. Nephrol.*, 81, 35-42.
5. Barbagallo C.M., Cefalu A B, Gallo S, Rizzo M, Noto D, Cavera G, Camemi AR, Marino G, Cardarella R, Notarbartolo A, Avena M R. 1999. Effect of Mediterranean diet on lipid levels and cardiovascular risk in renal transplant recipients, *Nephron*, 2, 199–204. 6. Salen P, De Lorgeril M, Boissannat P, Monjaud I, Guidollet J, Dureu G, Renaud S. Effect of French Mediterranean Diet on heart transplant recipients with hypercholesterolemia, *Am. J. of Cardiol.*, 73, 825–827. 7. Stachowska E, Chlubek D, Ciechanowski K. 2001. Dieta śródziemnomorska czynnik kulturowy czy forma zapobiegania chorobom degeneracyjnym, *Pol. Merk. Lek.*, 63, 276-279. 8. Stachowska E, Chlubek D. 2002. Dieta typu śródziemnomorskiego jako czynnik wspomagający terapię pacjentów po przeszczepach, *Czynnik Ryzyka*, 1, 54-58. 9. Hasik J, Hryniewiecki L, Grzymisławski M. *Dietetyka*, 53-54, *Wydawnictwo Lekarski PZWL, Wydanie III*, 1999.
10. Reimold E. W. 1980. Zinc changes after renal allotransplantation, *South Med. J.*, 73, 1457- 1460. 11. Tsekova D, Tsachev K, Gruev I, Pina S. 1990. The serum concentration of trace elements in chronic kidney failure, *Vutr. Boles.*, 29, 69-73. 12. Taccone-Gallucci M, Lubrano R, Meloni C, Morosetti M, Manca Villahermosa S, Scoppi P. Red blood cell membrane lipid peroxidation and resistance to erythropoietin therapy in hemodialysis patients, *Clin. Nephrol.*, 1999, 52: 239-245. 13. Kamińska-Galwas B, Grzeszczak W, Jedryczko A, Pachelski J. 1993 Level of zinc, copper, selenium and nickel in serum of patients treated for chronic renal failure with haemodialysis – influence of erythropoietin therapy. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 89, 368-376. 14. Hosokawa S, Yoshida O. 1993. Effects of erythropoietin on trace elements in patients with chronic renal failure undergoing haemodialysis, *Nephron*, 65, 414-417.
15. Wilhelm M., Hanewinkel B., Blacker F. 1986. Influence of haemodialysis and renal transplantation on trace element concentrations in children with chronic renal failure, *Eur. J. Pediatr.*, 145, 372-376. 16. Togni E., Travaglini P, Beretta C, Bernardinelli L, Vegeto A, Mocchegiani E, Fabris N, Egidi F, Ponticelli C, Faglia G. 1990. Prolactin thymulin and zinc in chronic hemodialysis: effect of renal transplant, *J. Endocrinol.*, 13, 709- 715. 17. Zima T., Mestek O., Nemecek K., Bartova V., Fialova J., Tesar V., Suchanek M. 1998. Trace elements in hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Blood Purif.*, 16, 253-260.



dr med. M. Kozłowska-Wojciechowska

Rola kwasów omega-3 w redukcji ryzyka choroby niedokrwiennej serca

Najnowszy raport ekspertów Światowej Organizacji Zdrowia i Organizacji ds. Żywności i Rolnictwa (WHO/FAO 2002) przedstawia elementy stylu życia oraz składniki diety, których oddziaływanie na rozwój lub zapobieganie chorobom układu krążenia na tle miażdżycy jest bezsporne, nie podlegające dyskusji oraz prawdopodobne, wymagające potwierdzenia w jeszcze większej liczbie badań. Na liście tej umieszczono również tzw. czynniki możliwe, których oddziaływanie, jak dotąd, potwierdzone zostało w zbyt małych, wybranych populacjach, co tym samym sugeruje konieczność prowadzenia dalszych badań. Wyniki tej analizy przedstawiono w tabeli 1 (1).

W ślad za powyższym zestawieniem składowych stylu życia oraz czynników dietetycznych, eksperci FAO/WHO zaproponowali wprowadzenie zmian w dotychczasowych zaleceniach żywieniowych dla populacji general-

nych krajów rozwiniętych, które obejmują zalecenia szczególnie w odniesieniu do spożycia tłuszczów. Sugerują, aby udział energii z tłuszczu ogółem, w dziennych racjach pokarmowych, pozostawić na dotychczasowym poziomie, czyli w granicach od 15 do 30%, zmniejszając jednak udział energii z nasyconych kwasów tłuszczowych do 7%, a nie jak dotąd do 10% energii. Propozycja wprowadzenia takich zmian pokazuje, iż rola wyższego spożycia nasyconych kwasów tłuszczowych – jako czynnika zagrażającego zdrowiu populacji – nie budzi wątpliwości. Jest to zalecenie o tyle nowe, iż dotychczas redukcję spożycia tłuszczów nasyconych poniżej 7% zalecano w tzw. diecie II stopnia wg AHA (*American Heart Association*), obejmującej udział energii z tłuszczów <25%, nasyconych kwasów tłuszczowych <7%, cholesterolu pokarmowego <200 mg/dzień. Redukcja ta była proponowana do-

Elementy stylu życia	Zmniejszające ryzyko	Zwiększające ryzyko
Bezsporne	<ul style="list-style-type: none"> • owoce i warzywa • ryby i oleje rybne • kwas linolowy • potas • małe dawki alkoholu (ChNS) • regularna aktywność fizyczna 	<ul style="list-style-type: none"> • kwas mirystynowy i palmitynowy • kwasy <i>trans</i> • wysoka podaż sodu • otyłość • nadużywanie alkoholu (udar)
Prawdopodobne	<ul style="list-style-type: none"> • kwas α-linolenowy • błonnik pokarmowy • ziarna i orzechy • foliany • sterole i stanole 	<ul style="list-style-type: none"> • cholesterol pokarmowy • niefiltrowana, gotowana kawa • suplementacja β-karotenem
Możliwe	<ul style="list-style-type: none"> • flawonoidy • soja 	<ul style="list-style-type: none"> • tłuszcze bogate w kwas laurynowy

Tab.1 Elementy stylu życia, zmniejszające/zwiększające ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, wg raportu WHO/FAO (2002 rok)

tłuszcz całkowity	15-30% energii
SAT – kwasy tłuszczowe nasycone	<7% energii
PUFA – kwasy wielonienasycone	6-10% energii
omega-6	5-8% energii
omega-3	1-2% energii
kwasy tłuszczowe TRANS	<1% energii
MUFA – kwasy jednonienasycone	tłuszcz całk. (SAT + PUFA + TRANS)
węglowodany	55-75% energii
wolne cukry	<10% energii
białko	10-15% energii
cholesterol	<300 mg/dzień
chlorek sodu (sól)	<5 g/dzień (<2 g/dzień)
owoce i warzywa	≥400 g/dzień

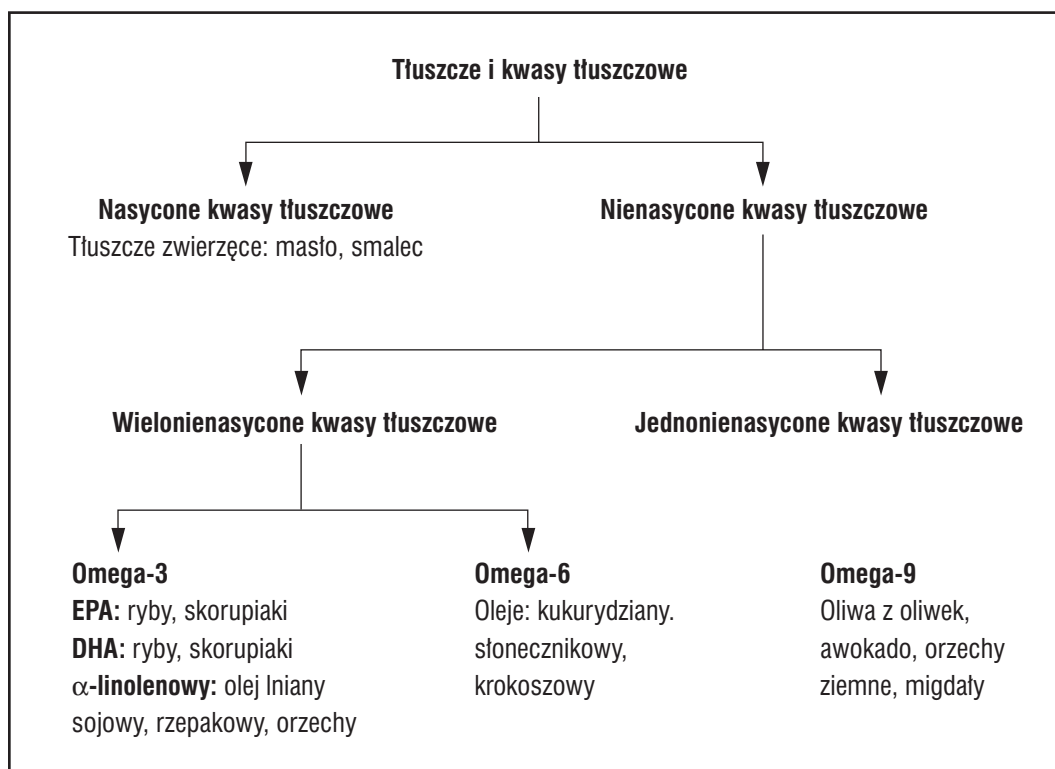
Tab.2 Zalecenia żywieniowe dla populacji, wg WHO/FAO (2002 rok)

piero jako kolejny etap leczenia pacjentów z zaburzeniami lipidowymi, wówczas, gdy zastosowanie diety I stopnia (energia z tłuszczów <30%, z nasyconych kwasów tłuszczowych <10%, cholesterolu <300 mg/dzień) nie pozwalała osiągnąć pożądaných efektów. Natomiast w najnowszych zaleceniach brak jest sugestii zmian w spożyciu cholesterolu pokarmowego, którego bezpieczna granica nadal wynosi 300 mg dziennie. Wytlumaczyć to można faktem, iż cholesterol pokarmowy jako czynnik izolowany, bez jednoczesnej podaży nasyconych kwasów tłuszczowych, u większości ludzi tylko w niewielkim stopniu wpływa na pod-

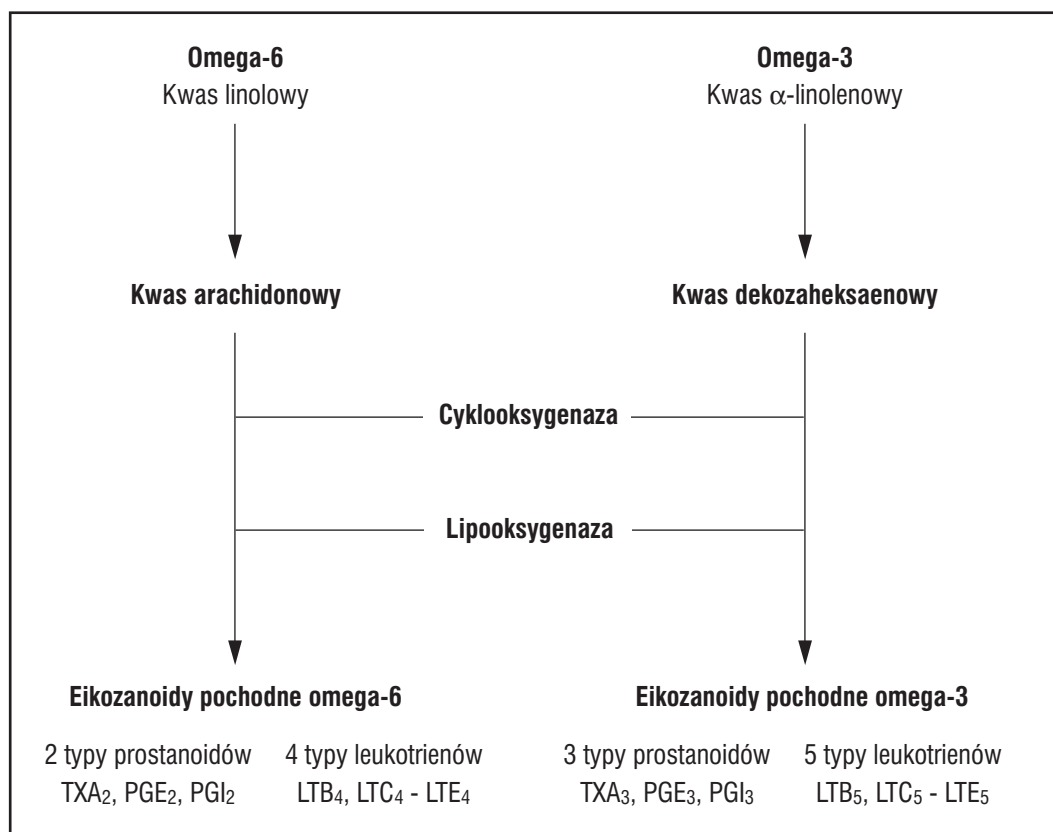
niesienie stężenia cholesterolu w surowicy krwi (1, 19).

Propozycję nowych zaleceń w odniesieniu do spożycia tłuszczów, proponowanych przez ekspertów WHO/FAO dla populacji generalnej, przedstawiono w tabeli 2.

Choć wiadomym jest, iż spożycie tłuszczów ogółem, jako produktów wysokoenergetycznych, należy ograniczać, to jednak w prawidłowo zestawionej diecie nie może zabraknąć wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. W żywności występują: kwas linolowy (LA), który w wyniku desaturacji i emulgacji przekształcony zostaje w kwasy rodziny omega-6, oraz kwas alfa-linolenowy (ALNA), będący prekursorem kwasów rodziny omega-3. Podstawowymi kwasami rodziny omega-6 są kwasy: arachidonowy (AA) i dihomogammalinolenowy (DHGLA), natomiast rodzina omega-3 to kwas eikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA) (ryc.1). Eikozanoidy wywodzące się z kwasu arachidonowego posiadają odwrotne właściwości metaboliczne niż te, które pochodzą z kwasu dokozaheksaenowego (ryc. 2). Dlatego, dla zachowania zdrowia, niezbędna jest równowaga podaży z żywnością obu rodzajów kwasów, omega-6 i omega-3. Uważa się, że w prawidłowo zbilansowanej diecie stosunek LA/ALNA powinien wynosić nie więcej niż 10. Stosunek ten sugeruje, że równie korzystne jest zwiększanie podaży pokarmowych źródeł kwasu alfa linolenowego, jak i zmniejszanie pokarmów dostarczających



Ryc.1 Rodzaje kwasów tłuszczowych występujących w żywności i ich główne źródła pokarmowe



Ryc.2 Przemiany kwasów omega-6 i omega-3 w organizmie człowieka (5)

kwas linolowy. Pamiętać należy, iż oba rodzaje kwasów tłuszczowych odgrywają rolę w zmniejszaniu ryzyka choroby niedokrwiennej serca (2, 7, 25).

Kwasy tłuszczowe omega-3 charakteryzują się szerokim działaniem w profilaktyce nie tylko choroby niedokrwiennej serca i udaru mózgu, ale również w chorobach autoimmunologicznych, reumatoidalnym zapaleniu stawów, chorobie Crohn'a czy niektórych chorobach nowotworowych. Jednakże najwięcej badań poświęcono ich działaniu w prewencji miażdżycy (5, 9, 10, 20, 23, 27).

Potencjalne mechanizmy działania kwasów omega-3 w redukcji ryzyka choroby niedokrwiennej serca sprowadzają się do działania antyarytmicznego, przeciwzakrzepowego, przeciwmiażdżycowego, przeciwzapalnego, poprawiającego funkcję śródbłonna naczyniowego, obniżania ciśnienia tętniczego i wreszcie redukcji poziomów trójglicerydów. Jednakże siła ich działania w organizmie zależna jest od rodzaju kwasu. Kwas dokozaheksaenowy, pochodzący z ryb i tłuszczu rybiego, oddziałuje przede wszystkim na lipidy i lipoproteiny, ciśnienie tętnicze, częstość rytmu serca i wielkość glikemii, natomiast kwas eikozapentaenowy przede wszystkim odpowiada za działanie antyagregacyjne (3, 4, 9, 16).

Dobrze udokumentowany, w licznych badaniach, jest wpływ kwasów omega-3 na obni-

żanie poziomu trójglicerydów w surowicy krwi ludzi. Jak wynika z badań, podaż ok. 4 g dziennie kwasów omega-3 pochodzących z tłuszczu ryb powoduje obniżenie stężenia trójglicerydów od 25–30%, jednakże przy jednoczesnym wzroście stężenia LDL-cholesterolu o 5–10% i HDL-cholesterolu o 1–3%. Takie zmiany są jednak zależne od wzajemnych relacji pomiędzy dawką kwasów tłuszczowych oraz wielkością stężenia trójglicerydów.

Inaczej przedstawia się wpływ kwasów omega-3 na redukcję poposiłkowego stężenia trójglicerydów. Efekt ten zależny jest bardziej od przewlekłego ich spożywania, nawet w mniejszych dawkach, np. poniżej 2 g dziennie, niż od jednorazowych dużych dawek. Tłuszcz rybi odgrywa szczególną rolę w leczeniu hipertrójglicydemii znacznego stopnia, gdy poziomy TG przekraczają 750 mg/dl. Jednakże wówczas efektywna dawka, bliska poziomowi 3–5 g/dz., może być dostarczona jedynie w postaci kapsułek i pod systematyczną kontrolą. Wpływ na redukcję TG w surowicy krwi wykazują oba rodzaje kwasów omega-3, czyli EPA i DHA. Stosowanie takich dawek w codziennej terapii wymaga stałej kontroli lekarskiej, gdyż u części pacjentów mogą wystąpić objawy samoistnego krwawienia, co jest bezwzględny wskazaniem do przerwania terapii, a następnie redukcji dawki. Pamiętać jednak należy, że kardioprotekcyjny efekt

Populacja	Zalecenia
Pacjenci bez udokumentowanej ch.n.s.	Wskazane jedzenie tłustych ryb morskich 2 x w tygodniu. Codziennie należy spożywać oleje i żywność bogatą w kwas α -linolenowy, takie jak: olej lniany, sojowy, orzechy
Pacjenci z udokumentowaną ch.n.s.	Należy spożywać około 1g EPA + DHA dziennie pochodzących z ryb morskich. W wyjątkowych przypadkach lekarz winien zdecydować o podawaniu kapsułek
Pacjenci z hipertrójglicerydemią	2–4g kwasów EPA+DHA dziennie w postaci kapsułek, ale pod stałą kontrolą lekarza

Tab.3 Zalecenia stosowania kwasów omega-3, wg AHA

	Biegunka	Cechy krwawienia	Rybi posmak	Pogorszenie glikemii u cukrzyków	Wzrost LDL-C u osób z HTG
Poniżej 1g/dz.	bardzo rzadko	bardzo rzadko	rzadko	bardzo rzadko	bardzo rzadko
Pomiędzy 1 a 3 g/dz.	możliwa	bardzo rzadko	łagodny	rzadko	łagodny
Powyżej 3 g/dz.	łagodna	rzadko	możliwy	możliwe	możliwy

Tab.4 Ryzyko objawów ubocznych przy spożywaniu rekomendowanych dawek kwasów omega-3

kwasów omega-3 uzyskuje się przy znacznie mniejszych dawkach kwasów, na poziomie ok. 1g/dz., co możliwe jest do pokrycia przez źródła pokarmowe (8, 11, 12, 17, 28).

Siłą oddziaływania kwasów tłuszczowych omega-3 w prewencji pierwotnej oraz szczególnie w prewencji wtórnej choroby niedokrwiennej serca jest ich działanie przeciwzakrzepowe. Wykazano, że kwasy omega-3 zmniejszają agregację płytek krwi, w wyniku czego wydłużony zostaje czas krwawienia. W niektórych badaniach stwierdzono, że suplementacja kwasami omega-3 powoduje zwiększenie fibrynolizy. Jednakże, jak wynika z badania CARDIA (*Coronary Artery Risk Development In young Adults*), podaż kwasów omega-3 ujemnie kojarzy się z poziomami fibrynogenu, czynnika VII, czynnika von Willebranda, wykazując brak znamiennej wpływu na te parametry przy zwyczajowej podaży ryb morskich (4 do 39 g/dz.) lub kwasów omega-3 (0,9 do 4,1 g/dz.). W nowszych badaniach stwierdzono jednak, u pacjentów z chorobą

niedokrwinną serca, że podaż 5,1 g/dziennie kwasów omega-3 przez okres 6 miesięcy powoduje redukcję poziomu czynnika von Willebranda o blisko 20% oraz trombomoduliny o ok. 8 ng/ml. Mechanizm ich oddziaływania na procesy zakrzepowe wymaga jednak dalszych badań (6, 11, 13, 14, 21).

Innym korzystnym oddziaływaniem kwasów omega-3 jest ich redukujący wpływ na poziom ciśnienia tętniczego. Wykazano, że podaż obu kwasów omega-3 powyżej 3 g/dz. sprzyja redukcji ciśnienia skurczowego średnio o 5,5 mmHg, a rozkurczowego o 3,5 mmHg, zarówno u osób hiper- jak i normotensyjnych. Stwierdzono jednocześnie, że siła oddziaływania obu kwasów nie jest jednakowa: bardziej hipotensyjne działanie stwierdza się w odniesieniu do kwasu dokozaheksaenowego – DHA, niż eikozapentaenowego – EPA. Należy jednocześnie zaznaczyć, że zwiększanie dawek powyżej zalecanych nie zwiększa efektu hipotensyjnego, a tym samym nie jest uzasadnione (13, 18, 26, 28).

Obu kwasom omega-3: DHA i EPA, od lat przypisuje się rolę w zmniejszaniu ryzyka nagłej śmierci sercowej. Przypuszcza się, że jest to możliwe dzięki ich antyarytmicznemu działaniu. Wykazano bowiem, że odpowiednie spożycie obu kwasów (przynajmniej jeden posiłek tygodniowo lub podaż 4,3 g/dz. kwasów omega-3) wpływa na stabilizację miokardium, powodując przyśpieszenie częstości rytmu serca u osób po przebytych zawałach serca, co skutkuje mniejszym ryzykiem śmiertelności z powodu zaburzeń rytmu serca. Ponadto stwierdzono, że oba kwasy, DHA i EPA, redukują spoczynkową częstość serca, zwiększając jednocześnie objętość napełniania lewokomorowego. Mechanizm antyarytmicznego działania obu kwasów sprowadza się do stymulowania

Produkt	Porcja w gramach – dostarczająca 1 g EPA+DHA
Tuńczyk świeży	66 - 357
Łosoś atlantycki	42,5 - 71
Makrela	54 - 250
Śledź	50
Sardynki	50 – 87
Halibut	85 – 213
Tuńczyk w puszcze	323
Sola	204
Dorsz	357
Krewetki	313

Tab. 5 Ilość wybranych części jadalnych ryb i skorupiaków morskich dostarczające 1 gram kwasów: eikozapentaenowego – EPA i dokozaheksaenowego – DHA

aktywności kanałów wapniowych w celu zapobieżenia przeładowaniu wapniem w okresie stresu, stymulowaniu aktywności mikrosomalnej Ca^{2+}/Mg^{2+} – ATP-azy oraz hamowaniu napięcia kanałów sodowych w miocytach sercowych, na co wpływ ma również kwas α -linolenowy (3, 22, 28).

Ponadto kwasy omega-3 są prekursorami prostaglandyn i leukotrienów, będąc jednocześnie inhibitorami syntezy cytokin i mitogenów. Stymulują śródłonkowy tlenek azotu, dzięki czemu przeciwdziałają procesom oksydacyjnym. Stąd ich właściwa podaż w diecie zapewnia działanie przeciwwzapalne (2, 24, 28).

Podsumowując efekty działania kwasów omega-3 w redukcji ryzyka choroby niedokrwiennej serca: zalecanie ich spożycia na poziomie 1-2% udziału energii w dziennych racjach pokarmowych winno być bezwzględnie spełnione, a to oznacza, iż ryby powinny zostać wpisane w jadłospisy wszystkich, przynajmniej dwa razy tygodniowo. Zalecenia profilaktycznego i terapeutycznego stosowania kwasów tłuszczowych omega-3 przedstawiono w tabeli 3. W tabeli 4 zaprezentowano prawdopodobną częstość objawów ubocznych w wyniku proponowanych dawek kwasów tłuszczowych, a ich pokarmowe źródła prezentuje tabela 5 (11, 28).

Streszczenie

Ryby, głównie morskie, takie jak makrela, pstrąg, śledź, sardynka, tuńczyk czy łosoś stanowią źródło dwóch rodzajów kwasów tłuszczowych omega-3 EPA i DHA, które wykazują kardioprotekcyjne działanie. W wielu badaniach udowodniono, że kwasy omega-3 redukują ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, jednakże badania te muszą być prowadzone nadal. Dotychczasowe badania sugerują, że odpowiednie spożycie kwasów omega-3 po-

woduje: obniżenie ryzyka zaburzeń rytmu serca, a tym samym nagłej śmierci sercowej; obniżenie ryzyka zakrzepów prowadzących do zawału serca i/lub udaru mózgu; redukcję poziomu trójglicerydów i remnantów; zmniejszenie tempa wzrostu blaszki miażdżycowej; poprawę funkcji śródbłonna; redukcję ciśnienia tętniczego i stanu zapalnego. AHA zaleca również spożywanie roślinnych źródeł kwasu omega-3 ALA, który występuje w tofu, produktach sojowych, orzechach, oleju lnianym i innych.

Summary

Fish, especially oily species like mackerel, trout, herring, sardines, tuna, and salmon, provide significant amounts of the two kinds of omega-3 fatty acids shown to be cardioprotective, EPA and DHA. The ways that omega-3 fatty acids reduce CVD risk are still being studied. However, research to date suggests that they can: decrease risk for arrhythmias, which can lead to sudden cardiac death, decrease risk for thrombosis, which can lead to heart attack and stroke, decrease triglyceride and remnant lipoprotein levels, decrease rate of growth of the atherosclerotic plaque, improve endothelial function, lower blood pressure, reduce inflammatory responses. The AHA also recommends eating plant-derived omega-3 fatty acids. Tofu and other forms of soybeans; walnuts and flaxseeds and their oils, all contain ALA.

Adres autora:

*Institut Żywności i Żywienia
ul. Powsińska 61/63
02-903 Warszawa
m.kozłowska@waw.pl*

Piśmiennictwo:

1. Diet, nutrition and prevention of chronic disease. Report of the Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva 2002.
2. Connor W.E.: Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am.J. Clin. Nutr.* 2000; 7 (suppl): 171S – 5S.
3. Kris-Etherton P.M., Harris W.S., Appel L.J.: Fish consumption, fish oils, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *A. Throm. Vas.Biol.* 2003; 23, e20.
4. Lee K.W., Lip G.Y.H.: The role of omega-3 fatty acids in the secondary prevention of cardiovascular disease. *Q. J. Med.* 2003, 96; 465-480.
5. Neil J. S.: Fish Consumption, Fish Oil, Lipids, and Coronary Heart Disease. *Circulation*; 1996; 94; 2337 – 2340.
6. Kromhout D. Fish consumption and sudden cardiac death. *JAMA.* 1998; 279: 65–66.
7. Harper Ch. R., Jacobson T.A.: The Fats of Life. *Arch. Intern. Med.* 2001; 161; 2185-2192.
8. Skerret P.J., Hennekens C.H.: Consumption of fish and fish oils and decreased risk of stroke. *Prev. Cardiol.* 2003, 6 (1); 38-41.
9. Nestel P.: Effects of fish oils and fish on cardiovascular disease. *Curr. Atheroscl. Rep.* 2001, 3(1); 68-73.
10. Gerhard O.N.: Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease. *BMJ*, 2004, 328; 406.
11. Din J.N., Newby D.E., Flapan A.D.: Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease – fishing for a natural treatment. *BMJ*, 2004, 328; 30-35.
12. Albert C.M., Campos H., Stampfer M.J., Ridker P.M., Manson J.E., Willett W.C., Ma J.: Blood Levels of Long-Chain n-3 Fatty Acids and the Risk of Sudden Death. *N.Engl. J.Med.* 2002, 346, 15; 1113-1118.
13. Mori T.A., Burke V., Puddey I.B., Watts G.S., O'Neal D.N., Best J.D., Bellin L.J.: Purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids have differential effects on serum lipids and lipoproteins, LDL particle size, glucose, and insulin in mildly hyperlipidemic men. *Am.J.Clin. Nutr.* 2000, 71; 1085-1094.
14. Knapp H.R. Dietary fatty acids in human thrombosis and hemostasis. *Am J Clin Nutr.* 1997; 65 (5 Suppl): 1687S–1698S.

15. Landmark K., Aursnes I.: Mercury, fish, fish oil and the risk of cardiovascular disease. *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* 2004, 22; 124(2); 198-200. 16. Barber M.D.: Omega – fatty acids and cardiovascular disease. *BMJ.* 2004, 328; 406. 17. Sirtori C.R., Galli C.: N-3 fatty acids and diabetes. *Biomed Pharmacother.* 2002, 56(8); 397-406. 18. Albert CM, Campos H, Stampfer MJ, Ridker PM, Manson JE, Willett WC, et al. Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N Engl J Med* 2002;346: 1113-8. 19. de Lorgeril M, Salen P, Martin JL, et al. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation.* 1999; 99: 779–785.
20. Murayama K., Yoneya S., Miyauchi O., Adachi-Usami E., Nishikawa M.: Fish oil (polyunsaturated fatty acid) prevents ischemic-induced injury the mammalian retina. *Exp. Eye. Res.* 2002, 74(6); 671-676. 21. Kristensen SD, Iversen AM, Schmidt EB. n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary thrombosis. *Lipids* 2001;36(suppl): S79-82. 22. Leaf A, Kang JX, Xiao YF, Billman GE. Clinical prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids and mechanism of prevention of arrhythmias by n-3 fish oils. *Circulation* 2003;107: 2646-52. 23. Nilsen DW, Albrektsen G, Landmark K, et al. Effects of a high-dose concentrate of n-3 fatty acids or corn oil introduced early after an acute myocardial infarction on serum triacylglycerol and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr.* 2001; 74: 50–56. 24. Simopoulos A.P.: Omega –3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J. Am. Coll. Nutr.* 2002, 21(6); 495-505.
25. Pearson T.A., Blair S.N., Daniels S.R. et al.: AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update. *Circulation*, 2002, 106; 388-391. 26. Daviglius ML, Stamler J, Orenca AJ, et al. Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1997; 336: 1046–1053. 27. Hu FB, Bronner L, Willett WC, et al. Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *JAMA.* 2002; 287: 1815–1821. 28. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ for the Nutrition Committee. AHA scientific statement. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 2002;106: 2747-57.

dnia.....

Z G Ł O S Z E N I E

Uprzejmie proszę o przyjęcie mnie w poczet członków
POLSKIEGO TOWARZYSTWA BADAŃ NAD MIAŻDŻYCĄ

.....
(podpis zgłaszającego)

DANE PERSONALNE

1. Imię i nazwisko
2. Tytuł lub stopień naukowy
3. Rodzaj ukończonych studiów (uczelnia, wydział, rok ukończenia)
.....
4. Stanowisko i miejsce pracy (kod, adres, telefon, e-mail)
.....
5. Kierunek pracy badawczej
.....
6. Adres prywatny (kod pocztowy), telefon,
.....
- e-mail

W kratkach prosimy zaznaczyć adres do korespondencji.

Członkostwo PTBnM gwarantuje bezpłatne otrzymywanie kolejnych egzemplarzy „Czynników Ryzyka“.

Przyjęto w poczet członków

Polskiego Towarzystwa Badań nad Miażdżycą w dniu

.....
(Przewodniczący)

.....
(Sekretarz)

Składka członkowska za rok 2004 wynosi 40 zł.

Nasze konto:

Polskie Towarzystwo Badań nad Miażdżycą

PKO II O/Szczecin 94 1020 4795 0000 9602 0080 1381