

Paweł Rajewski^{1,2}, Gerard Drewa¹, Alina Woźniak¹, Celestyna Mila-Kierzenkowska¹,
Dorota Olszewska-Stonina¹, Piotr Rajewski³

¹Katedra Biologii Medycznej, *Collegium Medicum* w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Oddział Chorób Wewnętrznych i Nefrologii, Wielospecjalistyczny Szpital Miejski w Bydgoszczy

³Katedra i Klinika Neurologii, *Collegium Medicum* w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Analiza aktywności katepsyny D i α_1 -antytrypsyny u osób z otyłością oraz ocena wpływu zmiany masy ciała na wymienione parametry

The analysis of activity of cathepsin D and α_1 -antitrypsin with obese people and the evaluation of the influence of body mass changes to the above-mentioned parameters

STRESZCZENIE

WSTĘP. Otyłość jest chorobą przewlekłą charakteryzującą się zwiększeniem ilości tkanki tłuszczowej powyżej 25% u mężczyzn i powyżej 30% u kobiet oraz wskaźnikiem masy ciała (BMI, *body mass index*) ≥ 30 kg/m². Otyłość upośledza liczne funkcje metaboliczne i mechaniczne organizmu człowieka, prowadząc do pogorszenia jakości życia i zwiększenia ryzyka przedwczesnego zgonu. Celem niniejszej pracy była ocena wpływu zmiany masy ciała na aktywność katepsyny D i α_1 -antytrypsyny w surowicy krwi u osób z otyłością. Określono także BMI, masę ciała i obwód talii. Oznaczenie aktywności i stężenia wymienionych parametrów biochemicznych oraz antropometrycznych wykonano przed i po leczeniu nefarmakologicznym z zastosowaniem diety i wysiłku fizycznego.

MATERIAŁ I METODY. Badaną grupę stanowiło 67 pacjentów, 40 kobiet i 27 mężczyzn, w wieku 25–70 lat, z BMI 30–45,9 kg/m² i obwodem talii 81–125 cm u kobiet oraz 96–154 cm u mężczyzn. Otyli pacjenci stosowali dietę o obniżonej kaloryczności opartą na

modelu diety śródziemnomorskiej oraz poddani byli co najmniej 3 razy w tygodniu wysiłkowi fizycznemu (*nordic walking*, pływanie, spacer, jazda na rowerze). Grupę kontrolną stanowiło 56 zdrowych ochotników, 28 kobiet i 28 mężczyzn w wieku 32–89 lat, z normową i prawidłowym obwodem talii.

WYNIKI. Po 3-miesięcznym leczeniu z zastosowaniem diety i wysiłku fizycznego uzyskano istotne statystycznie zmniejszenie parametrów antropometrycznych. Średnia redukcja masy ciała wynosiła 6,6 kg, obwód talii zmniejszył się średnio o 6,1 cm, a BMI o 2,6 kg/m². Oceniana w niniejszej pracy aktywność katepsyny D w grupie kontrolnej oraz u osób otyłych była podobna. Wzrastała ona w sposób istotny statystycznie po zmniejszeniu masy ciała za pomocą ruchu i diety. Aktywność α_1 -antytrypsyny nie zmieniła się zarówno przed, jak i po leczeniu. Wykazano natomiast, że u osób z otyłością jest ona istotnie statystycznie wyższa niż u osób z prawidłową masą ciała. Stężenie białka całkowitego w surowicy krwi osób otyłych było istotnie statystycznie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast po 3-miesięcznym leczeniu nefarmakologicznym uległo istotnie statystycznej redukcji.

WNIOSKI.

1. Po 3-miesięcznym leczeniu nefarmakologicznym za pomocą diety i wysiłku fizycznego wykazano zmniejszenie masy ciała, obwodu talii i BMI.

Adres do korespondencji: dr n. med. Paweł Rajewski

Oddział Chorób Wewnętrznych i Nefrologii,

Wielospecjalistyczny Szpital Miejski

ul. Szpitalna 19, 85-826 Bydgoszcz

tel./faks: 52 370 92 91, e-mail: rajson@wp.pl

Copyright © 2010 Via Medica

Nadesłano: 25.10.2010 Przyjęto do druku: 09.12.2010

2. Trzymiesięczne leczenie niefarmakologiczne, obejmujące dietę i wysiłek fizyczny, spowodowało wzrost aktywności katepsyny D i obniżenie stężenia białka całkowitego.

3. Aktywność fizyczna i dieta są istotnymi czynnikami w redukcji tkanki tłuszczowej i masy ciała oraz w przywróceniu równowagi proteolityczno-antyproteolitycznej organizmu, która u osób z otyłością była zaburzona.

Słowa kluczowe: otyłość, katepsyna D, α_1 -antitrypsyna

Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii 2010, tom 6, nr 4, 155–166

ABSTRACT

INTRODUCTION. Obesity is a chronic disease which characterizes in the increase of adipose tissue by over 25% in men and by over 30% in women, and the body mass index (BMI) ≥ 30 kg/m². Obesity disables numerous metabolic and motor human function leading to deterioration of standard of living and increasing the risk of premature death.

The goal of the presented work is to evaluate the influence of body mass changes to the activity of cathepsin D and α_1 -antitrypsin in blood serum of obese people. BMI of obese people, body weight and waist size were determined. Marking of the activity and concentration of above-mentioned biochemical and anthropometric parameters were made before and after non-pharmacological treatment with physical exercise and diet.

MATERIAL AND METHODS. The examined group consisted of 67 patients (40 women and 27 men) aged 25–70 with BMI 30–45,9 kg/m², waist size 81–125 cm with women and 96–154 cm with men. The obese patients were on a diet with lowered caloric value based on the model of Mediterranean diet and were submitted at least three times a week to a physical effort (nordic walking, swimming, walks, cycling). The control group consisted of 56 healthy volunteers (28 women and 28 men) aged 32–89, with normal weight and waist size.

RESULTS. After a three-months treatment with physical exercise and diet the statistically relevant decrease of anthropometric parameters was achieved. The average loss of body weight amounted to 6.6 kg, waist size decreased by average of 6.1 cm and the BMI factor dropped by 2.6 kg/m². The activity of cathepsin D was similar in the control group and the obese people. It has grown in a statistically relevant way after decreasing the body weight with exercise and diet. The α_1 -antitrypsin activity did not change before, as well as after the treatment. It was, however, pointed out that it is statistically higher in the obese people than in people with normal weight. The concentration of the total protein in blood serum of obese people was statistically higher in comparison with the control group, whereas after three months of non-pharmacological treatment it dropped statistically.

CONCLUSIONS.

1. After three months of non-pharmacological treatment with exercise and diet the decrease in body weight, waist size and BMI was pointed out.

2. Three months of non-pharmacological treatment with physical exercise and diet caused an increase in the activity of cathepsin D and a decrease in concentration of the total protein.

3. Exercise and diet are significant factors in adipose tissue and body

mass reduction as well as in restoring of proteolytic-antiproteolytic balance in the organism which people with obesity were upset with.

Key words: obesity, cathepsin D, α_1 -antitrypsin

Endocrinology, Obesity and Metabolic Disorders 2010, vol. 6, No 4, 155–166

Wstęp

Otyłość jest przewlekłą chorobą stanowiącą coraz poważniejszy problem dla współczesnej medycyny. W ostatnich latach obserwuje się gwałtowny wzrost liczby otyłych osób na świecie, co powoduje, że stała się ona chorobą cywilizacyjną i zyskała miano epidemii XXI wieku. Przewlekłe powikłania otyłości, takie jak zaburzenia w gospodarce węglowodanowej w postaci nieprawidłowej glikemii na czczo, nietolerancji glukozy czy cukrzycy typu 2, zaburzenia w gospodarce lipidowej, nadciśnienie tętnicze, choroba niedokrwienna serca i inne są przyczyną istotnego pogorszenia jakości życia, inwalidztwa oraz zwiększenia śmiertelności i umieralności [1–5].

Badania POL MONICA Kraków i Warszawa (1983–1984) przeprowadzone w Polsce stwierdzają nadmierną masę ciała u ponad 65% badanej populacji, z czego otyłość rozpoznano u 30% kobiet i 20% mężczyzn. Podobne wyniki uzyskano w badaniu POL MONICA BIS w 2001 roku. Badania w ramach programu Nadciśnienie Tętnicze w Polsce Plus Zaburzenia Lipidowe i Cukrzyca (NATPOL PLUS) przeprowadzone w 2002 roku, oceniające rozpowszechnienie czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, wykazały nadwagę u 39% mężczyzn i 28,5% kobiet, a otyłość u 19% u kobiet i 18% u mężczyzn [6–8].

Otyłość brzuszną określaną na podstawie obwodu talii powyżej 102 cm stwierdzono u 19% mężczyzn oraz powyżej 88 cm u 35% kobiet. Wieloośrodkowe Badanie Stanu Zdrowia Ludności (WOBASZ) przeprowadzone w latach 2003–2005 dowiodło nadwagę u 40% mężczyzn i u 28% kobiet, a otyłość u 22% kobiet i 21% mężczyzn, zaś otyłość brzuszną u 25% mężczyzn i 43,6% kobiet [9, 10].

Ogólnopolski Program Prewencji Choroby Wieńcowej (POLSCREEN), przeprowadzony w latach 2002–2005, wykazał nadwagę i otyłość u 40,6% i 30,1% kobiet, natomiast u mężczyzn w 49,8% i 26,8% [11–14].

Patogeneza otyłości uwarunkowana jest wieloma czynnikami metabolicznymi, endokrynnymi, psychologicznymi, genetycznymi i środowiskowymi [1, 2, 4, 12]. Za przyczynę otyłości w ponad 90% przypadków uważa się dodatni bilans energetyczny wynikający z nadmiernego dostarczania energii w stosunku do potrzeb organizmu. Na podstawową przemianę materii orga-

nizm zużywa 60–74% dostarczonej energii, na aktywność fizyczną 15–30%, a termoregulację około 10%, natomiast nadmiar energii zostaje zmagazynowany w tkance tłuszczowej. Otyłość wtórna jest konsekwencją innych chorób, najczęściej o podłożu endokrynologicznym, genetycznym lub jatrogennym [13–18].

W metabolizmie dużą rolę odgrywają lizosomy [19]. Są to organelle gęste elektronowo, o średnicy 0,25–0,8 nm, ograniczone pojedynczą błoną lipoproteidową. Składają się z szeregu ziarnistości, grudek lub pęcherzyków, ale mogą również zawierać struktury laminarne. Charakteryzuje je znaczny polimorfizm, ponieważ ich wygląd w dużej mierze zależy od stanu czynnościowego.

Do najważniejszych funkcji fizjologicznych lizosomów należy wewnątrzkomórkowe trawienie substancji pokarmowych, w tym substancji resztkowych pochodzących z procesów metabolicznych. Lizosomy pełnią również funkcje obronne komórki poprzez trawienie mikroorganizmów. Biorą także udział w przebudowie fizjologicznej komórek, w procesie starzenia się organizmu i regeneracji, w przebudowie strukturalnej kości, w procesach osteolizy. Lizosomy odgrywają ważną rolę w tworzeniu błon jądrowych podczas podziałów mitotycznych, w gromadzeniu, transporcie i wydzielaniu substancji nierozpuszczalnych oraz w sekrecji niektórych barwników, na przykład tyreoglobuliny [20–22].

Błona białkowo-lipidowa otaczająca lizosomy stanowi mechaniczną barierę ochronną. W warunkach fizjologicznych, dzięki pompie protonowej zależnej od adenosynotrifosforanu (ATP, *adenosinetriphosphate*), przy braku substancji destabilizujących błonę nie dochodzi do naruszenia jej struktury przez enzymy hydrolityczne zawarte w lizosomach i do procesu autolizy. Jednakże wiele czynników fizycznych, chemicznych i biologicznych może wpływać z jednej strony na labilność błon lizosomalnych, a z drugiej mogą być one stabilizatorami tych błon.

Do czynników destabilizujących błony lizosomalne należą promienie ultrafioletowe, rentgenowskie, niedotlenienie, mrożenie i rozmrażanie tkanek, wysokie ciśnienie parcjalne tlenu, toksyny bakteryjne, przeciwciała heterogenne, testosteron, progesteron, endotoksyny, lizolecytyna, przeciwciała heterogenne, komponenty dopełniacza, jony wapnia, witamina A, c-GMP.

Do substancji stabilizujących błony lizosomalne należą teofilina, prostaglandyny E1 i E2, toksyny cholery, histamina, kortykosteroidy, antagoniści receptora β -adrenergicznego, winblastyna, cholesterol, kolchicina, c-AMP.

Katepsyna D jest proteazą lizosomalną zaliczaną do endopeptydaz aspartylowych. Nazwa katepsyna

wywodzi się od greckiego słowa „cathepsin” trawienie i została wprowadzona w 1929 roku przez Will-Stater i Baumaną. Katepsyna D występuje we wszystkich tkankach, ale największą aktywność obserwuje się w śledzionie, nerkach, wątrobie, łożysku, gruczołach potowych i łojowych oraz w niektórych procesach nowotworowych [22].

Aktywność katepsyny D regulowana jest przez wiele substancji chemicznych i biologicznych, na przykład przez czynniki wzrostu i zmianę pH. Katepsyna D uczestniczy w wielu procesach fizjologicznych, takich jak degradacja elementów macierzy pozakomórkowej, głównie błony podstawnej, aktywacji prokatepsyny B i L, inaktywacji inhibitorów lizosomalnych proteaz cysteinowych, w osadzaniu się zygoty w błonie doczesnej, w degradacji fibrynogenu oraz w wielu procesach patologicznych. Jest odpowiedzialna między innymi za uszkodzenie ściany jelita we wstrząsie krwotocznym, w patomechanizmie choroby wrzodowej żołądka, bierze udział w demielinizacji neuronów w stwardnieniu rozsianym i w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych [23–30].

Dużą rolę przypisuje się lizosomom w redukcji masy ciała. Enzymy lizosomalne są zaangażowane w trawienie odłożonych substancji zapasowych podczas kuracji odchudzających. Alfa₁-antytrypsyna (AAT) jest białkiem frakcji α_1 -globulin osocza krwi i należy do inhibitorów tak zwanych proteaz serynowych (serpinowych). Do grupy tej należą również α_1 -inhibitor plazminy i cytostatyny. Alfa₁-antytrypsyna jest glikoproteiną składającą się z 394 reszt aminokwasowych o masie 52 kDa i jest kodowana przez gen *SERPINA1* (AAT i A1AT) zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 14 (14q32.). Jej synteza odbywa się głównie w wątrobie i makrofagach.

Rola α_1 -antytrypsyny polega na hamowaniu nieswoistych plazmin i aktywacji plazminogenu i elastyny. Fizjologicznie, w prawidłowych komórkach aktywność proteaz jest normowana przez inhibitory, regulując tym samym równowagę między aktywnością enzymów proteolitycznych i ich inhibitorów, chroniąc komórki przed autolizą. Pod wpływem działania inhibitorów proteaz zmieniają się funkcje niektórych komórek odpornościowych, wykazując efekt immunosupresyjny. Alfa₁-antytrypsyna należy do białek ostrej fazy.

Należy przypuszczać, że katepsyna D oraz jej inhibitor α_1 -antytrypsyna mogą odgrywać pewną rolę w procesie redukcji masy ciała i dlatego obok innych wskaźników biochemicznych oznaczanych w laboratoriach rutynowo, poświęcono im uwagę w niniejszej pracy.

Celem pracy było oznaczenie w surowicy krwi pacjentów z otyłością przed i po 3-miesięcznym leczeniu niefarmakologicznym za pomocą ruchu i diety aktywności ka-

tepsyny D i α_1 -antytrypsyny oraz określenie wskaźnika masy ciała (BMI, *body mass index*), obwodu talii, masy ciała, przed i po leczeniu aktywnością fizyczną i dietą, oraz wpływu zmiany masy ciała na wymienione parametry biochemiczne antropometryczne u otyłych pacjentów.

Material i metody

Do badanej grupy zakwalifikowano 67 pacjentów obojga płci 40 kobiet i 27 mężczyzn w wieku 25–70 lat (śr. wieku $53,7 \pm 10,7$ lat) z rozpoznaną otyłością na podstawie BMI ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$), $30,0\text{--}45,9 \text{ kg/m}^2$ (śr. $33,8 \pm 3,8$) i/lub obwodu talii ($> 80 \text{ cm}$ dla kobiet i $> 94 \text{ cm}$ dla mężczyzn), to jest $81\text{--}125 \text{ cm}$ u kobiet i $96\text{--}154 \text{ cm}$ u mężczyzn (śr. $107,9 \pm 13,7$). Czas obserwacji i leczenia chorych wynosił 3 miesiące.

Otyłych pacjentów poddano leczeniu nefarmakologicznemu przez zaleconą modyfikację stylu życia, zmianę nawyków żywieniowych oraz zwiększenie aktywności fizycznej. Uczestniczyli oni w autorskim programie profilaktycznym: „Zapobieganie Otyłości i Zespołowi Metabolicznemu” na terenie Gminnej Poradni w Białych Błotach w okresie od września do grudnia 2008 roku (autor programu i lekarz prowadzący Paweł Rajewski).

Spotkania chorych były realizowane w formie systematycznie prowadzonych co 2 tygodnie seminariów tematycznych z udziałem lekarza, dietetyka i fizjoterapeuty. Pacjenci stosowali dietę opartą na modelu diety śródziemnomorskiej, zawierającej około $1200\text{--}1400 \text{ kcal/dobę}$ dla kobiet i $1400\text{--}1600 \text{ kcal/dobę}$ dla mężczyzn. Dieta składała się z 5 posiłków na dobę, spożywanych co 3 godziny i zawierała około 20–25% białka, 45–50% węglowodanów oraz 20–30% tłuszczów. Założony w zastosowanym leczeniu dietetycznym deficyt energetyczny wynosił $500\text{--}1000 \text{ kcal/dobę}$.

Co najmniej 3 razy w tygodniu chorzy wykonywali 30–45-minutowy umiarkowany wysiłek fizyczny (3–6 MET). Jeden raz w tygodniu fizjoterapeuta prowadził zajęcia *nordic walking*. W pozostałe dni pacjenci ćwiczyli sami, deklarując regularność i przestrzeganie zaleconego minimalnego czasu trwania treningu (rower 13%, basen 10%, *nordic walking* 44%, szybszy spacer 24%, aerobik 9%). Każdy trening składał się z 3 faz, z 10–15-minutowej rozgrzewki, treningu właściwego i stopniowego zmniejszania wysiłku (10–15 min).

U każdego z uczestników programu przed leczeniem i po 3 miesiącach obserwacji przeprowadzono badanie podmiotowe, przedmiotowe i laboratoryjne. Badanie podmiotowe obejmowało szczegółową anali-

zę dotychczasowego stylu życia z oceną nawyków żywieniowych, analizą jakościową i ilościową spożywanych pokarmów, czynników wpływających na odżywianie oraz oceną dotychczasowej aktywności fizycznej. Badanie przedmiotowe obejmowało pomiar wzrostu, masy ciała, obwodu talii, ciśnienia tętniczego oraz BMI.

Zakres badań laboratoryjnych obejmował oznaczenie w surowicy krwi stężenia glukozy na czczo, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL, frakcji LDL i triglicerydów; w uzasadnionych przypadkach dodatkowo doustnego testu obciążenia glukozą oraz stężenie TSH, a ponadto oznaczono aktywność Katepsyny D i AAT.

Grupa kontrolna

Grupę kontrolną stanowiło 56 zdrowych ochotników obojga płci, 28 kobiet i 28 mężczyzn, w wieku 32–89 lat (średnia $61,7 \pm 14,7$; min. 32,0; maks. 89,0) z prawidłową masą ciała, wyrażoną wskaźnikiem BMI $18,5\text{--}24,9 \text{ kg/m}^2$ i obwodem talii nie przekraczającym 80 cm u kobiet i 94 cm u mężczyzn.

Material do badań

Materiałem do badań laboratoryjnych była krew żylna w ilości 5 ml pobierana z żyły łokciowej. Każdy pacjent i osoba z grupy kontrolnej byli informowani o celowości wykonywanych badań, a następnie dobrowolności udziału w programie terapeutycznym.

Krew żylną pobierano 2-krotnie: na początku programu i po około 3 miesiącach po leczeniu. Krew pobierał wykwalifikowany personel medyczny do suchych, sterylnych probówek, w celu uzyskania surowicy krwi, którą następnie zamrażano i przechowywano w temperaturze -20°C do czasu wykonania oznaczeń.

Oznaczenia biochemiczne

W Katedrze Biologii Medycznej *Collegium Medicum* w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu oznaczano:

- stężenie białka całkowitego według Lowry'ego;
- aktywność Katepsyny D według metody Anson;
- aktywność α_1 -antytrypsyny metodą Erikksona.

Metody statystyczne

Do obliczeń statystycznych użyto pakietu STATISTICA 5.5 PL. Wykorzystano następujące procedury obliczeniowe: statystyki opisowe (średnia, rozkład liczebności, odchylenie standardowe, rozrzut), jednoznaczniowa analiza wariancji ANOVA (test F-Fishera), test *t*-Studenta dla prób zależnych, współczynnik korelacji liniowej *r*-Pearsona. W testach statystycznych przyjęto poziom istotności statystycznej dla $p < 0,05$.

Tabela 1. Masa ciała u otyłych pacjentów przed i po leczeniu

Masa ciała [kg]	Średnia \pm SD	Kobiety \pm SD	Mężczyźni \pm SD
Przed leczeniem	93,3 \pm 16,9	85,4 \pm 10,3	105,1 \pm 18,1
Po leczeniu	86,7 \pm 18,0	77,9 \pm 11,5	99,1 \pm 18,4
Różnica	6,6 \pm 1,1	7,5 \pm 1,2	6,0 \pm 0,3

Tabela 2. Obwód talii u otyłych pacjentów przed i po leczeniu

Obwód talii [cm]	Średnia \pm SD	Kobiety \pm SD	Mężczyźni \pm SD
Przed leczeniem	107,9 \pm 13,7	103,4 \pm 12,9	114,7 \pm 12,2
Po leczeniu	101,8 \pm 12,6	97,9 \pm 12,0	107,5 \pm 11,4
Różnica	6,1 \pm 1,1	5,5 \pm 0,9	7,2 \pm 0,8

Tabela 3. Wskaźnik masy ciała u otyłych pacjentów przed i po leczeniu

BMI [kg/m ²]	Średnia \pm SD	Kobiety \pm SD	Mężczyźni \pm SD
Przed leczeniem	33,8 \pm 3,8	33,0 \pm 2,8	34,9 \pm 4,7
Po leczeniu	31,2 \pm 3,9	30,2 \pm 3,1	32,7 \pm 4,5
Różnica	2,6 \pm 0,1	2,8 \pm 0,3	2,2 \pm 0,2

BMI (*body mass index*) — wskaźnik masy ciała

Wyniki

Parametry antropometryczne przed i po leczeniu

Masę ciała u otyłych pacjentów przed i po leczeniu przedstawiono w tabeli 1.

Po zastosowanym leczeniu u osób otyłych nastąpiło istotne statystycznie zmniejszenie masy ciała ($t = 16,73$; $p < 0,0000001$). Średnia redukcja masy ciała wynosiła $6,6 \text{ kg} \pm 1,1$ (min. 2,0 kg, maks. 16,0 kg). Masa ciała kobiet i mężczyzn różniła się istotnie statystycznie między sobą zarówno przed leczeniem ($F = 31,89$; $p < 0,0000001$), jak i po leczeniu ($F = 26,68$; $p < 0,000004$).

Obwód talii u osób otyłych

Obwód talii u otyłych pacjentów przedstawiono w tabeli 2.

Zmniejszenie obwodu talii było istotne statystycznie po leczeniu w porównaniu z okresem przed leczeniem ($t = 11,40$; $p < 0,0000001$). Średnie zmniejszenie obwodu talii w badanej grupie wynosiło $6,1 \text{ cm} \pm 1,1$. Sprawdzone również, czy istnieją różnice w obwodzie talii między kobietami a mężczyznami. Przy pomocy jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA wykazano, że kobiety i mężczyźni różnili się istotnie statystycznie pod względem obwodu talii zarówno przed

leczeniem ($F = 12,85$; $p < 0,0007$), jak i po leczeniu ($F = 8,75$; $p < 0,05$). W każdym przypadku mężczyźni mieli większy obwód talii niż kobiety. W grupie kontrolnej obwód talii kobiet nie przekraczał 80 cm, a u mężczyzn 94 cm.

Wskaźnik masy ciała u osób otyłych

Wartości wskaźnika masy ciała u otyłych pacjentów przedstawiono w tabeli 3.

Wskaźnik BMI zmniejszył się istotnie statystycznie w grupie badanej po zastosowanym leczeniu w porównaniu z okresem przed leczeniem ($t = 14,87$; $p < 0,000000$). Wskaźnik BMI zmniejszył się średnio u obojga płci o $2,6 \text{ kg/m}^2 \pm 0,1$ (min. o $0,6 \text{ kg/m}^2$, maks. o $6,6 \text{ kg/m}^2$).

Sprawdzono również czy istnieją istotne różnice w tym zakresie między kobietami a mężczyznami za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA, która wykazała, że kobiety i mężczyźni różnili się istotnie statystycznie pod względem BMI jedynie po leczeniu ($F = 5,34$; $p < 0,03$). Zauważono również, że różnica między kobietami i mężczyznami w wielkości wskaźnika masy ciała przed i po leczeniu była istotnie statystycznie wyższa u kobiet (śr. $2,66$ v. $1,81$) niż u mężczyzn ($F = 8,42$; $p < 0,006$). Wskaźnik masy ciała u osób w grupie kontrolnej nie przekraczał $24,9 \text{ kg/m}^2$.

Tabela 4. Aktywność katepsyny D (10^{-2} nM tyrozyny/mg białka) w surowicy krwi w grupie kontrolnej oraz u otyłych pacjentów przed i po leczeniu

Aktywność katepsyny D	Średnia \pm SD	Kobiety \pm SD	Mężczyźni \pm SD
Grupa kontrolna	22,6 \pm 13,7	23,1 \pm 12,2	22,6 \pm 13,7
U otyłych pacjentów przed leczeniem	21,5 \pm 9,9	22,8 \pm 9,5	19,7 \pm 10,2
U otyłych pacjentów po leczeniu	25,8 \pm 11,2	25,3 \pm 11,0	26,4 \pm 11,7
Różnica	-4,2 \pm 1,2	-2,5 \pm 1,5	-6,7 \pm 1,5

Tabela 5. Aktywność α_1 -antytrypsyny (mg trypsyny/ml surowicy) w surowicy krwi w grupie kontrolnej oraz u otyłych pacjentów przed i po leczeniu

Aktywność α_1 -antytrypsyny	Średnia \pm SD	Kobiety \pm SD	Mężczyźni \pm SD
Grupa kontrolna	0,7 \pm 0,5	0,7 \pm 0,4	0,7 \pm 0,5
U otyłych pacjentów przed leczeniem	1,0 \pm 0,2	1,0 \pm 0,2	1,0 \pm 0,2
U otyłych pacjentów po leczeniu	1,0 \pm 0,2	1,1 \pm 0,2	1,0 \pm 0,2
Różnica	0,0 \pm 0,0	-0,1 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0

Aktywność oznaczanych enzymów

Aktywność katepsyny D w surowicy krwi

Aktywność katepsyny D w surowicy krwi u otyłych pacjentów i w grupie kontrolnej przedstawiono w tabeli 4.

Zarówno przed, jak i po leczeniu u otyłych pacjentów aktywności katepsyny D były jednakowe jak w grupie osób zdrowych i wynosiły około 23 nM. U wszystkich osób otyłych po leczeniu aktywność katepsyny D w surowicy krwi wzrastała w sposób istotny statystycznie ($t = -2,90$; $p < 0,006$). Nie zaobserwowano różnicy w aktywności katepsyny D w surowicy krwi między kobietami a mężczyznami.

Aktywność α_1 -antytrypsyny w surowicy krwi

Aktywność α_1 -antytrypsyny w surowicy krwi u otyłych pacjentów i w grupie kontrolnej przedstawiono w tabeli 5.

Przed zastosowanym leczeniem stężenie α_1 -antytrypsyny było istotnie statystycznie wyższe w grupie badanej (1,0 mg) w porównaniu z grupą kontrolną (0,7 mg) ($F = 26,10$; $p < 0,000001$). Nie zaobserwowano istotnej statystycznej różnicy w stężeniu α_1 -antytrypsyny w surowicy krwi w grupie badanej, zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn po zastosowanym leczeniu w stosunku do okresu przed leczeniem (jednoczynnikowa analiza wariancji ANOVA).

Korelacje między oznaczanymi parametrami

Wyniki badań korelacji między parametrami biochemicznymi i antropometrycznymi przedstawiono w tabelach 6 i 7.

Dyskusja

W prezentowanej pracy podjęto istotny współczesny problem kliniczny jakim jest otyłość. W krajach rozwiniętych i rozwijających się, w tym również w Polsce, można zaobserwować gwałtowny wzrost liczby ludzi z nadmierną masą ciała.

W przeprowadzonym badaniu wśród otyłych osób zastosowano leczenie dietetyczne oparte na modelu diety śródziemnomorskiej oraz wysiłek fizyczny. Podstawową zasadą leczenia dietetycznego jest ujemny bilans energetyczny uzyskany przez zmniejszenie gęstości energetycznej diety (kalorie w produkcie dzielone przez jego masę) i ograniczenie wielkości spożywanych potraw.

W celu redukcji masy ciała zaleca się spożywanie o 500–1000 kcal na dobę mniej w stosunku do zapotrzebowania organizmu, co umożliwi zmniejszenie masy ciała o 0,5–1,0 kg w ciągu tygodnia. Najczęściej stosuje się diety zawierające 1000–1200 kcal dla kobiet i 1400–1800 kcal dla mężczyzn, z uwzględnieniem wszystkich niezbędnych dla organizmu składników [31–37].

Podstawowym celem leczenia otyłości jest redukcja masy ciała w ciągu 12 miesięcy o 10%. Dieta śródziemnomorska zawiera dużo błonnika roślinnego, cechuje się mniejszą gęstością energetyczną i mniejszym ładunkiem glikemicznym, co w połączeniu ze zwiększoną ilością spożywanej wody powoduje szybsze uczucie sytości. Zawarte w diecie tłuszcze nienasycone nasilają poposiłkową oksydację tłuszczów, termogenezę indukowaną pożywieniem i zwiększają cał-

Tabela 6. Korelacje między parametrami w badanej grupie przed zmianą masy ciała

	BMI1	MC1	OB_TAL1	BIALKO1	KATEP_1	ANTY_1	BMI1
BMI1							
MC1	,854 p = ,000						
OB_TAL1	,642 p = ,000	,680 p = ,000					
BIALKO1	-,034 p = ,807	,016 p = ,909	-,022 p = ,874				
KATEP_1	,157 p = ,258	,119 p = ,390	,062 p = ,656	,086 p = ,537			
ANTY_1	,075 p = ,589	,098 p = ,480	,174 p = ,207	-,256 p = ,061	-,224 p = ,104		

Tabela 7. Korelacje między parametrami w badanej grupie po zmianie masy ciała

	BMI2	MC2	OB_TAL2	BIALKO2	KATEP2	ANTY_2	BMI2
BMI2							
MC2	,944 p = ,000						
OB_TAL2	,861 p = ,000	,859 p = ,000					
BIALKO2	-,184 p = ,390	-,159 p = ,458	-,081 p = ,708				
KATEP2	,088 p = ,681	,125 p = ,562	,096 p = ,656	,446 p = ,029			
ANTY_2	-,068 p = ,753	-,089 p = ,679	-,057 p = ,793	,181 p = ,399	,326 p = ,121		

kowity wydatek energetyczny w porównaniu z innymi tłuszczami. Dieta śródziemnomorska nie jest monotonna, a przy tym smaczna i popularna, co przyczynia się do wysokiego stopnia jej przestrzegania przez pacjentów. Dieta ta przewiduje codzienne spożywanie warzyw i owoców, pieczywa wieloziarnistego, ryżu brązowego i kaszy. Przewiduje 3 razy w tygodniu ryby morskie, regularne spożywanie produktów mlecznych o obniżonej zawartości tłuszczu, oliwę z oliwek, orzechy, migdały i suszone owoce, wino oraz duże ilości wody mineralnej, a ogranicza spożywanie czerwonego mięsa [38–40]. W opisywanym w niniejszej pracy badaniu pacjenci z otyłością stosowali dietę śródziemnomorską o obniżonej kaloryczności.

Wysiłek fizyczny tylko w nieznacznym stopniu redukuje masę ciała, co zwiększa jednak ekspresję adiponektyny oraz zmniejsza uwalnianie cytokin prozapalnych z tkanki tłuszczowej. Mechanizmy te prowadzą do aktywacji kinazy aktywowanej 5'AMP (AMPK) z na-

stępową nasiloną oksydacją lipidów i hamowaniem syntezy kwasów tłuszczowych *de novo* oraz triglicerydów. Na tej drodze wysiłek fizyczny poprawia wrażliwość tkanek obwodowych, a zwłaszcza tkanki mięśniowej na działanie insuliny. Powoduje to większe spalanie glukozy w mięśniach i zmniejsza jej produkcję w wątrobie.

Brak wysiłku fizycznego nie tylko sprzyja otyłości, ale dodatkowo zwiększa produkcję niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych (wolne kwasy tłuszczowe) oraz zaburza transport glukozy w tkance mięśniowej [41–44].

W niniejszej pracy poddano analizie parametry antropometryczne, takie jak masa ciała, obwód talii i BMI. W grupie badanej przed zastosowaniem leczenia średnia masa ciała wynosiła 93,3 kg, zaś po leczeniu uzyskano istotną statystycznie redukcję masy ciała ($t = 17,73$; $p < 0,0000001$). Średnia redukcja masy ciała w grupie pacjentów z otyłością wynosiła 6,6 kg (min. 2,0 kg, maks. 16,0 kg).

W niniejszej pracy wykazano też istotne statystyczne różnice pod względem średniej masy ciała między kobietami a mężczyznami zarówno przed leczeniem 85,4 kg v. 105,1 kg ($F = 31,89$; $p < 0,0000001$), jak i po leczeniu 77,9 kg v. 99,1 kg ($F = 26,68$; $p < 0,000004$).

Obwód talii pacjentów z otyłością przed leczeniem wynosił średnio 107,9 cm. Po leczeniu nastąpiło istotne statystyczne ($t = 11,40$; $p < 0,0000001$) zmniejszenie obwodu talii (śr. o 6,1 cm). Maksymalna redukcja obwodu talii wynosiła 23,0 cm.

Różnica między średnim obwodem talii otyłych kobiet i mężczyzn była istotnie statystycznie mniejsza zarówno przed leczeniem 103,4 cm v. 114,7 cm ($F = 12,85$; $p < 0,0007$), jak i po leczeniu 97,9 cm v. 107,5 cm ($F = 8,75$; $p < 0,05$).

Wskaźnik masy ciała u otyłych pacjentów wynosił średnio 33,8 kg/m². Po leczeniu uzyskano istotnie statystycznie zmniejszenie wartości BMI ($t = 14,87$; $p < 0,0000001$) średnio o 2,6 kg/m². Wskaźnik masy ciała po leczeniu dietą i wysiłkiem fizycznym był statystycznie niższy u kobiet niż u mężczyzn 30,2 kg/m² v. 32,7 kg/m² ($F = 5,34$; $p < 0,03$). Zauważono także, że leczenie wpłynęło znamienne statystycznie w większym stopniu na zmianę wskaźnika BMI u otyłych kobiet względem mężczyzn ($F = 8,42$; $p < 0,006$).

Otrzymane wyniki świadczą o skuteczności zastosowanego leczenia nefarmakologicznego (odpowiedniej diety w połączeniu z systematycznym wysiłkiem fizycznym) na zmniejszenie masy ciała (śr. o 6,6 kg), BMI (śr. o 2,6 kg/m²) oraz obwodu talii (śr. o 6,1 cm). Wartość przedstawionych wyników jest podobna do rezultatów opisanych przez innych badaczy. Tempo redukcji masy ciała jest zgodne z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Badań nad Otyłością.

Aktywność katepsyny D w surowicy krwi pacjentów z otyłością wynosiła średnio $21,51 \times 10^{-2}$ nM tyrozyny/mg białka i była nieznacznie niższa niż u osób zdrowych. Aktywność tej hydrolazy lizosomalnej w surowicy krwi nie różniła się istotnie statystycznie od średniej aktywności w grupie kontrolnej osób z prawidłową masą ciała ($22,55 \times 10^{-2}$ nM tyrozyny/mg białka). Po 3-miesięcznym leczeniu nastąpił istotny statystycznie wzrost aktywności katepsyny D w grupie otyłych pacjentów, średnia aktywność wynosiła $25,75 \times 10^{-2}$ nM tyrozyny/mg białka ($t = -2,90$; $p < 0,006$). Nie zaobserwowano jednak różnic w aktywności katepsyny D w surowicy krwi między otyłymi kobietami a mężczyznami.

Otrzymane wyniki mogą świadczyć o tym, że zmiana masy ciała i zmniejszenie ilości tkanki tłuszczowej w organizmie może być wynikiem działania różnych hydrolaz lizosomalnych, między innymi li-

paz, peptydaz i glikozydaz. Jedną z najbardziej aktywnych peptydaz jest katepsyna D. Zwiększony wysiłek fizyczny i ograniczony transport aminokwasów, cukrów i tłuszczów do komórek mobilizuje ją do korzystania z materiałów zgromadzonych w tkankach. Prawdopodobnie wysiłek fizyczny i odpowiednia dieta są czynnikami ułatwiającymi lub mobilizującymi syntezę hydrolaz lizosomalnych *de novo*, stąd obserwowany wzrost ich aktywności podczas odchudzania. Często podczas redukcji masy ciała wytwarzane są ciała ketonowe, które są przyczyną zakwaszenia organizmu, co skutkuje obniżeniem pH komórki. Obniżone pH przyspiesza trawienie wewnątrzkomórkowe, ale może być również przyczyną wzrostu przepuszczalności błon lizosomalnych. Wysiłek fizyczny w procesie redukcji masy ciała zastosowany jako część postępowania nefarmakologicznego przyczynia się do wzrostu aktywności enzymów lizosomalnych. Wpływ wysiłku na zmianę aktywności enzymów antyoksydacyjnych i hydrolaz lizosomalnych opisano u piłkarzy [45].

Badania nad wpływem zmiany stylu życia na aktywność hydrolaz lizosomalnych są nieliczne. W większości dotyczą one zmiany aktywności różnych enzymów w tym lizosomalnych u osób poddanych wysiłkowi fizycznemu. Udowodniono, że wysiłek fizyczny powoduje wzrost aktywności enzymów lizosomalnych w surowicy krwi u sportowców trenujących różne dyscypliny sportowe [45].

Błona otaczająca lizosomy jest nieprzepuszczalna dla znajdujących się wewnątrz tych organelli enzymów hydrolitycznych. Różne czynniki chemiczne, biologiczne i fizyczne, jak na przykład niedotlenienie podczas wysiłku fizycznego, mogą być labilizatorami błon biologicznych i wpływać na zmianę aktywności ich enzymów. Redukcja masy ciała i tkanki tłuszczowej przebiegają prawdopodobnie przy udziale hydrolaz lizosomalnych. Labilizacja błon lizosomalnych prowadzi do uwolnienia zawartych tam enzymów do cytoplazmy, a następnie do przestrzeni międzykomórkowej i przejawia się zmianą ich aktywności w surowicy krwi. W efekcie zwiększenia przepuszczalności lub być może uszkodzenia błon lizosomalnych następuje wzrost aktywności enzymów hydrolitycznych w surowicy krwi [46, 47].

Jednym z mechanizmów destabilizacji błon lizosomalnych i wzrostu aktywności enzymów lizosomalnych w surowicy krwi jest wysiłek fizyczny. Potwierdzają to także inni autorzy [48].

Wśród zawodników sekcji podnoszenia ciężarów nastąpiła nieistotna statystycznie tendencja do wzrostu aktywności katepsyny D po upływie godziny od zakończenia treningu siłowego. Aktywność tego enzy-

mu zwiększyła się z 22,1 do $25,1 \times 10^{-2} \text{ nM} \times \text{mg}^{-1} \times \text{min}^{-1}$. Po upływie 24 godzin od treningu aktywność katepsyny D obniżyła się i była niższa niż przed treningiem ($p > 0,05$). Obniżenie aktywności katepsyny D po 24 godzinach od zakończenia treningu było istotne statystycznie w porównaniu z aktywnością tego enzymu po pierwszej godzinie od zakończenia wysiłku fizycznego ($p < 0,01$) [49].

Prawdopodobnie hydrolazy zostały zaangażowane w hydrolizę zniszczonych struktur komórkowych. Wśród kajakarek i kajakarzy po 6 dniach treningu nastąpił istotny statystycznie wzrost aktywności innych hydrolaz, na przykład arylosulfatazy i kwaśnej fosfatazy, a u wioślarzy wzrost aktywności katepsyny D. U wioślarzy po dłuższym okresie treningu nastąpił nawet ponad 2-krotny wzrost aktywności katepsyny D w surowicy krwi ($p < 0,01$). Alfa₁-antytrypsyna jest jednym z inhibitorów proteaz. Jest to glikoproteina o masie 56 kDa [50]. Hamuje ona aktywność trypsyny, chymotrypsyny, kolagenazy i elastazy, tworząc z nimi nieaktywne stabilne kompleksy [51].

Wraz ze wzrostem aktywności katepsyny D następuje obniżenie aktywności AAT. U osób otyłych aktywność AAT jest wyższa, a aktywność hydrolaz lizosomalnych niższa. W wyniku długotrwałego, umiarkowanego wysiłku fizycznego nie następuje zmiana aktywności AAT, zaś długotrwały intensywny trening u sportowców przyczynia się do obniżenia stężenia AAT.

Aktywność AAT u kajakarek jest prawie 3-krotnie niższa po 6. dniu treningu ($p < 0,01$), a po 10. dniu obniża się prawie 8-krotnie ($p < 0,01$). Aktywność AAT w surowicy krwi kajakarzy po 6 dniach treningu obniża się o 48% ($p < 0,001$).

Wyniki dotyczące leczenia otyłości za pomocą wysiłku fizycznego potwierdzają przytoczone obserwacje. W przeprowadzonym badaniu oznaczono aktywność inhibitora proteaz lizosomalnych α_1 -antytrypsyny w surowicy krwi. W grupie pacjentów ze stwierdzoną otyłością przed leczeniem stężenie tego inhibitora wynosiło średnio 1,0 mg trypsyny/ml surowicy i było istotnie statystycznie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną pacjentów z prawidłową masą ciała średnia aktywność AAT wynosiła 0,7 mg trypsyny/ml surowicy ($F = 26,10$; $p < 0,00000$). Po 3-miesięcznym leczeniu nefarmakologicznym w grupie pacjentów z otyłością nie zaobserwowano istotnej statystycznie zmiany w aktywności tego inhibitora. Zarówno przed leczeniem, jak i po leczeniu aktywność AAT wynosiła 1,0 mg trypsyny/ml surowicy. Nie zaobserwowano różnic w stężeniu AAT w surowicy krwi między otyłymi kobietami a otyłymi mężczyznami.

Zaobserwowana wyższa aktywność α_1 -antytrypsyny w surowicy krwi w grupie otyłych pacjentów w sto-

unku do grupy osób z prawidłową masą ciała może świadczyć o mechanizmie obronnym organizmu, zapobiegającym autolizie tkanek. Można przypuszczać, że aktywna para i endokrynnie trzewna tkanka tłuszczowa produkuje substancje proteolityczne, stąd wtórnie podwyższona aktywność tego inhibitora. W przypadku dłuższego leczenia otyłych pacjentów odpowiednią dietą i wysiłkiem fizycznym można przypuszczać, że aktywność α_1 -antytrypsyny w surowicy krwi powinna się zwiększyć, jako odpowiedź na wzrost aktywności enzymów lizosomalnych. Jest to mechanizm utrzymujący równowagę proteolityczno-antyproteolityczną w tkankach i całym organizmie.

Treningowi siłowemu towarzyszy niedokrwienie pracujących mięśni, dla których źródłem energii stają się procesy beztlenowe. Niedokrwienie powoduje wzrost wewnątrzkomórkowej koncentracji jonów wapnia (Ca^{+2}) i uszkodzenie włókien mięśniowych. Jony wapnia są też destabilizatorami błon lizosomalnych [52, 53].

Podczas intensywnego wysiłku fizycznego następuje mikrouszkodzenie miocytów, czego wielokrotnie dowiedziono na podstawie wzrostu aktywności kinazy kreatynowej, markera uszkodzeń komórek mięśniowych występującego w surowicy krwi po treningu fizycznym [54]. Lizosomy uszkodzonych komórek, w tym miocytów, pod wpływem wysiłku fizycznego uwalniają hydrolazy lizosomalne [55]. Dlatego wzrost aktywności enzymów lizosomalnych w surowicy krwi świadczy o uszkodzeniu lizosomów i uwalnianiu hydrolaz do cytoplazmy i krwi.

Wzrost aktywności enzymów lizosomalnych w tym katepsyny D po wysiłku fizycznym może być również związany z ich udziałem w tak zwanym obrocie metabolicznym białek mięśniowych. Wyższa aktywność enzymu świadczy o wzroście syntezy i katabolizmie białek we włóknach mięśniowych [56]. Wzrost aktywności katepsyny D po treningu fizycznym sportowców, jak również osób otyłych leczonych ruchem może być tego dowodem.

U otyłych osób w wyniku ćwiczeń fizycznych stężenie białka całkowitego zmniejszyło się z około 70,9 do 65,7 mg (kontrola 62,5 mg). Degradacja białek jest także przyczyną zmniejszenia masy ciała. Wzrost aktywności katepsyny D i obniżenie syntezy białek w mięśniach z jednoczesną ich degradacją wykazano u szczurów po wysiłku fizycznym.

W uszkodzonych tkankach gromadzą się makrofagi i neutofile, które uczestniczą w ich naprawie, ale które również uwalniają enzymy lizosomalne, co powoduje ich wzrost w surowicy krwi [57]. Nadmierna produkcja wolnych rodników występująca po wysiłku fizycznym przyspiesza peroksydację lipidów błon komórkowych i zwiększa

sza przepuszczalność lizosomów, przyczyniając się również do uwolnienia enzymów lizosomalnych i wzrostu ich aktywności w surowicy krwi [58].

Wysiłkowi fizycznemu o dużej intensywności towarzyszy niedotlenienie [59]. Podczas wysiłku fizycznego zwiększa się przepływ krwi przez mięśnie, a zmniejsza jednocześnie dopływ krwi do innych narządów, powodując w nich hipoksję. Podczas wysiłków fizycznych, przy których zapotrzebowanie na tlen przewyższa VO_{2max} , hipoksja może rozwijać się również w pracujących włóknach mięśniowych [60, 61].

Wysiłek fizyczny powoduje ponadto wzrost stężenia kwasu mlekowego w mięśniach i wątrobie, obniża pH, aktywuje deaminację AMP i przyspiesza akumulację inozyno-5'-monofosforanu i amoniaku w komórkach. Brak zmian aktywności hydrolaz lizosomalnych po wysiłku fizycznym może świadczyć o zmienionym pH działania dla tego enzymu. Wysiłek fizyczny może powodować wzrost pH wewnątrz lizosomów, przyczyniając się do zwiększenia przepuszczalności błon lizosomalnych, wskutek czego nie wszystkie enzymy lizosomalne mogą przedostać się do cytoplazmy i do surowicy krwi, co może tłumaczyć pogląd o selektywnym uwalnianiu hydrolaz lizosomalnych.

Podczas wysiłku fizycznego niektórzy badacze obserwowali również wzrost aktywności tylko niektórych enzymów lizosomalnych w surowicy krwi [62, 63]. Niektóre substancje chemiczne uwalniane podczas wysiłku fizycznego są stabilizatorami błon lizosomalnych. Należą do nich między innymi hormony steroidowe (aldosteron i kortyzol) [64]. Badania nad wpływem diety i ruchu na redukcję masy ciała oraz na aktywność enzymów lizosomalnych są nieliczne. Badania na zwierzętach potwierdzają, że dieta bogata w cholesterol powoduje wzrost aktywności enzymów lizosomalnych [65, 66]. U otyłych myszy stwierdzono istotnie statystycznie niższą aktywność katepsyny D w tkance wątrobowej, a wyższą w tkance trzustkowej w porównaniu z chudymi myszami [67]. U otyłych małp, zwłaszcza w skojarzeniu z cukrzycą, występuje wyższa aktywność enzymów lizosomalnych [68].

Odpowiednia dieta u otyłych chorych z zaburzeniami lipidowymi prowadzi do powrotu aktywności enzymów lizosomalnych do wartości prawidłowych [69]. U otyłych królików, u których wywołano cukrzycę eksperymentalną (Streptozotocin; Alloxan), występuje również wysoka aktywność enzymów lizosomalnych, w tym katepsyny [70–74]. Wysoka aktywność enzymów lizosomalnych występuje również u chorych na cukrzycę typu 1. Aktywność hydrolaz zależy od glikemii we współistniejących powikłaniach [75]. Wyrównanie glikemii powoduje obniżenie aktywności enzymów lizosomalnych i powrót do wartości prawidłowych [76]. Duży udział mają także inne inhibitory proteaz cysteinowych, na przykład stefina A w patogenezie cukrzycy typu 2 i otyłości [77].

Znamiennie statystycznie większa aktywność enzymów lizosomalnych występuje w surowicy krwi chorych na cukrzycę i pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, otrzymujących leki obniżające ciśnienie tętnicze krwi z grupy inhibitorów enzymów konwertazy aniotensyny (ACEI), na przykład ramipril [78].

Podsumowanie

Mimo że otyłość towarzyszyła człowiekowi od zawsze, to dopiero w ostatnim dziesięcioleciu stała się jednym z głównych tematów badawczych współczesnej medycyny. Zainteresowanie tą jednostką chorobową jest związane przede wszystkim z narastającą częstością jej występowania, szczególnie w krajach rozwiniętych i rozwijających się, oraz powikłaniami, do których w konsekwencji prowadzi, a które przyczyniają się w istotny sposób po pogorszeniu jakości życia i skrócenia jego trwania.

Ostatnie lata badań nad otyłością skupiają się nad rolą tkanki tłuszczowej i substancjami przez nią produkowanymi, a które odgrywają ważną rolę w patogenezie powikłań nadmiernej masy ciała. Wciąż odkrywane są nowe związki i wykazywana jest ich rola w zwiększonej zachorowalności na choroby układu sercowo-naczyniowego, cukrzycę typu 2, zaburzenia lipidowe i niektóre nowotwory u otyłych osób. Dlatego tak ważną rolę stanowią podejmowane kolejne badania nad tą jednostką chorobową. W prezentowanej pracy zwrócono uwagę na ważny aspekt równowagi proteolityczno-antyproteolitycznej, która u osób otyłych wydaje się być zaburzona i może stanowić również przyczynę jej powikłań. Wykazany w licznych pracach naukowych związek enzymów lizosomalnych, a w szczególności katepsyny D oraz inhibitorów proteaz, do której należy α_1 -antytrypsyna, z patogenezą wielu chorób, odnosi się również do badanej jednostki chorobowej. Zwiększona aktywność inhibitora proteaz u osób otyłych w porównaniu z osobami z prawidłową masą ciała może świadczyć o próbie przywrócenia fizjologicznej równowagi proteolityczno-antyproteolitycznej przez organizm. Mimo że aktywności katepsyny D w surowicy krwi osób otyłych i osób z prawidłową masą ciała są jednakowe, to nie można wykluczyć zmiany aktywności innych hydrolaz lizosomalnych, które nie były przedmiotem badań w niniejszej pracy, a których aktywność może dynamicznie zmieniać się u otyłych pacjentów. Zwiększone stężenie katepsyny D u otyłych pacjentów po leczeniu dietą i ruchem może świadczyć o jej roli w redukcji masy ciała i tkanki tłuszczowej, a tym samym pośrednio o roli w zmniejszaniu jej powikłań. W świetle otrzymanych wyników i narastającego problemu nadmiernej masy

ciała konieczna jest kontynuacja badań nad rolą enzymów lizosomalnych i ich inhibitorów w patogenezie otyłości.

Wnioski

1. Po 3-miesięcznym leczeniu niefarmakologicznym za pomocą diety i wysiłku fizycznego wykazano zmniejszenie masy ciała, obwodu talii i BMI.

2. Trzymiesięczne leczenie niefarmakologiczne, obejmujące dietę i wysiłek fizyczny, spowodowało wzrost aktywności katepsyny D i obniżenie stężenia białka całkowitego.

3. Aktywność fizyczna i dieta są istotnymi czynnikami w redukcji tkanki tłuszczowej i masy ciała oraz w przywróceniu równowagi proteolityczno-antyproteolitycznej organizmu, która u osób z otyłością była zaburzona.

Piśmiennictwo

- Pupek-Musialik D., Kujawska-Łuczak M., Bogdański P.: Otyłość i nadwaga — epidemia XII wieku. *Przew. Lek.* 2008; 1: 117–123.
- Gray D.S.: Otyłość. W: Dambro M. R. (red.). 5 minut konsultacji medycznych. Urban & Partner, Wrocław 1998; 570–571.
- Ganong W.F. Równowaga energetyczna, metabolizm i odżywianie. W: Ganong W.F. (red.). *Fizjologia*. PZWL, Warszawa 1994; 343–386.
- Krzyżanowska-Swiniarska B.: Otyłość prosta. W: Szczeklik A. (red.). *Choroby wewnętrzne*. Medycyna Praktyczna, Kraków 2005; 1222–1225.
- Kuulasmaa K., Tunstall-Pedoe H., Dobson A. i wsp.: WHO MONICA Project: estimation of contribution of changes in classic risk factors to trends in coronary — event rates across the WHO MONICA Project populations. *Lancet* 2000; 355: 675–687.
- Pająk A.: POL-MONICA Kraków. *Przeg. Lek.* 1996; 53: 703–846.
- Rywik S., Broda G., Piotrowski W., Wągrowaska H., Polakowska M., Pardo B.: Epidemiologia chorób układu krążenia. Program POL-MONICA Warszawa. *Kardiol. Pol.* 1996; (supl. 2): 7: 35.
- Rywik S., Pająk A., Broda G., Szczecińska D.: Częstość występowania nadwagi i otyłości w wybranych populacjach Polski — POL-MONICA Bis Project. *Med. Metabol.* 2003; 7: 8–15.
- Zdrojewski T., Bandosz P., Szpakowski P. i wsp.: Rozpowszechnienie głównych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego w Polsce. Wyniki badania NATPOL PLUS. *Kard. Pol.* 2004; 61 (supl.4): 1–26.
- Broda G., Rywik S.: Wielośrodkowe ogólnopolskie badanie zdrowia ludności — projekt WOBASZ. Zdefiniowanie problemu oraz cele badania. *Kard. Pol.* 2005; 63 (supl. 4): 601–604.
- Cieślirski A., Pająk A., Podolec P., Rynkiewicz A.: Ogólnopolski Program Prewencji Choroby Wieńcowej POLSCRE-EN. *Termedia*, Poznań 2006.
- Zahorska-Markiewicz B.: Otyłość — poradnik dla lekarzy. *Archi-Plus*, Kraków 2006.
- James P.T., Leach R., Kalamara E., Shayeghi M.: The world wide obesity epidemic. *Obes. Res.* 2001; 9 (supl. 4): 228S–233S.
- Siedel J.C.: Time trends in obesity: an epidemiological prospective. *Horm. Metab. Res.* 1997; 29: 155–158.
- Pi-Sunyer F. X.: The obesity epidemic: pathophysiology and consequences of obesity. *Obes. Res.* 2002; 10 (supl.): 97S–104S.
- Friedman J.M.: Obesity in the new millennium. *Nature* 2000; 404: 632–634.
- Slentz C.A., Duscha B.D., Johnson J.L. i wsp.: Effects of the amount of exercise on body weight, body composition, and measures of central obesity: STR-RIDE — a randomized controlled study. *Arch. Intern. Med.* 2004; 164: 31–39.
- Zahorska-Markiewicz B.: Skuteczność aktywności fizycznej w leczeniu otyłości. *Forum Fizjologii* 2008; 3: 6.
- Kawiak J., Mirecka J., Olszewska M., Warchol J.: *Podstawy cytofizjologii*. PWN, Warszawa 1992; 221–245, 261–270.
- Fukuda M., Tanaka A., Isshiki G.: Variation of lysosomal enzyme activity with gestational age in chronic villi. *Metab. Dis.* 1990; 13: 862–866.
- Bever C.T., Morgan K.D., Whitaker J.N.: Cathepsin D activity in the human peripheral blood mononuclear leukocytes. *Inflammation* 1989; 13: 309–316.
- Drewa T., Olszewska D., Makarewicz R., Drewa J., Woźniak A., Kowalke K.: Znaczenie katepsyny B i D i ich inhibitorów w procesach nowotworowych. *Pol. Merk. Lek.* 2001; XI: 61, 88.
- Warwas M., Taurowska E.: Znaczenie katepsyny D w przebiegu choroby nowotworowej. *Post. Hig. Med. Dośw.* 1993; 47: 277–288.
- Athanassiadon P., Sakellariou V., Michalakis S. i wsp.: Expression of cathepsin D, CA 125 and epidermal growth factor receptor in imprint smears carcinoma. *Gynecol. Obstet. Invest.* 1997; 43: 125–130.
- Crombach G., Ingenhorst A., Gohring U.J., Sharl A.: Cathepsin D concentrations in the cytosol of benign and malignant tumors of breast and female genital tract. *Tumordiagn. Ther.* 1992; 13: 14–18.
- Lösch A., Tenysfer C., Kohlberger P. i wsp.: Prognostic value of cathepsin D expression and association with histomorphological subtypes breast cancer. *Br. J. Cancer* 1998; 78: 205–209.
- Benraad J.T., Geurts-Moespot A., Sala M.: Quality control of cathepsin D measurement by the EORTC Receptor Study Group. *Eur. J. Cancer* 1992; 28: 72.
- Kozłowski L., Wojtukiewicz M.Z.: Rola enzymów proteolitycznych w progresji nowotworów skóry i powstawaniu przerzutów. *Post. Hig. Med. Dośw.* 1999; 53: 841.
- Rochefort H.: Biological and clinical significance of cathepsin D in breast cancer. *Acta Oncol.* 1992; 31: 125.
- Hibino T., Takanashi T., Takeda A., Leuthardt D., Baciou P., Goetinck P.F.: Cloning of psoriasis and cathepsin L — specific inhibitor, from psoriatic epidermis. *Mol. Biol. Cell.* 1995; 6: 345–353.
- Lutsey P. L., Steffen L. M., Stevens J.: Dietary intake and the development of the metabolic syndrome: the atherosclerosis risk in communities study. *Circulation* 2008; 117: 754–761.
- Report of the WHO consultation: obesity: preventing and managing the global epidemic. *World Health Organ Tech. Rep. Ser.* 2000; 894: 1–253.
- Hainer V., Finer N., Tsigos C. i wsp.: Management of obesity in adults: project for european primary care. *Int. J. Obes.* 2004; 28: 5226–5231.
- Zahorska-Markiewicz B.: Strategie postępowania w leczeniu otyłości. *Med. Dypl.* 2004; 13: 2–4.
- Tsigos C., Hainer V., Basdevant A., Finer N., Fried M., Mathus-Vliegen E.: Management of obesity in adults: European Clinical Practice Guidelines. *Obesity Facts* 2008; 1: 106–116.
- Thompson W.G., Cook D.A., Clark M.M., Bardia A., Levine J.A.: Treatment of obesity. *Mayo Clin. Proc.* 2007; 82: 93–102.
- Klein S., Allison D.B., Heymsfield S. B. i wsp.: Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, The Obesity Society; American Society for Nutrition; American Diabetes Association: waist circumference and cardiometabolic risk: a consensus statement from Shaping America's Health: Association for Weight Management and Obesity Prevention. *NAASO, The Obesity Society; the American Society for Nutrition; and the American Diabetes Association. Am. J. Clin. Nutr.* 2007; 85: 1197–1202.
- Sofi F., Cesari F., Abbate R. i wsp.: Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *BMI* 2008; 337: 134.

39. Esposito K., Marfella R., Ciotola M. i wsp.: Effect of Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 2004; 292: 1440–1446.
40. de Lorgeril M., Salen P., Martin J. L.: Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 1999; 99: 779–785.
41. Drygas W., Piotrowicz R., Jegier A., Kopeć G., Podolec P.: Aktywność fizyczna u osób zdrowych. *Forum Profilaktyki* 2008; 3.
42. Czarkowska-Pączek B., Przybylski J.: Procesy energetyczne zachodzące w organizmie w czasie wysiłku fizycznego. W: Czarkowska-Pączek B., Przybylski J. (red.). *Zarys wysiłku. Podręcznik dla studentów*. Urban & Partner, Wrocław 2006; 13–22.
43. Sternfeld B., Wang H., Quesenberry C. P. Jr., Abrams B., Everson-Rose S.A.: Physical activity and changes in weight changes and waist circumference in midlife women: findings from the Study of Women's Health Across. *Nation. Am. J. Epidemiol.* 2004; 160: 912–922.
44. Górski J.: *Metabolizm substratów energetycznych*. W: Górski J. (red.). *Fizjologiczne podstawy wysiłku fizycznego*. PZ WL, Warszawa 2002; 426–455.
45. Woźniak A., Drewa G., Chęsy G., Rakowski A., Woźniak B., Olszewska D.: Wpływ wysiłku fizycznego na aktywność wybranych enzymów lizosomalnych w surowicy krwi piłkarzy. *Med. Sport.* 1999; 100: 20–23.
46. Ostrowski K., Kawiak J.: *Cytofizjologia*. PZWL, Warszawa 1990.
47. Cullen M.J., Appleyard S.T., Bindoff L.: Morphologic aspects of muscle breakdown and lysosomal activation. *Ann. N. York Acad. Sci.* 1979; 230: 441–464.
48. Appell H.J., Soares J.M., Duarte J.A.: Exercise, muscle damage and fatigue. *Sports. Med.* 1992; 13: 108–115.
49. Woźniak A., Drewa T., Drewa G. i wsp.: Aktywność kwaśniej fosfatazy, katepsyny D i arylosulfatazy w surowicy krwi zawodników sekcji podnoszenia ciężarów po treningu siłowym. *Med. Sport.* 2001; 17: 351–354.
50. Graziadei I., Vogel W., Bomford A.: A novel binding site for the native hepatic acute-phase protein 1-antitrypsin expressed on the human hepatoma cell line hepG 2 and intestinal cell line Caco 2. *Liver* 2000; 20: 240–246.
51. Bhattacharyya J., Chaudhuri L.: Alpha1-antitrypsin: a possible tool for diagnosis of cervical cancer. *Biochem. Med. Metabol. Biol.* 1990; 43: 243–245.
52. Ebbeling C.B., Clarkson P.M.: Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med.* 1989; 7: 207–234.
53. Smolen J.E., Stoehr S.J., Boxer L.A.: Human neutrophils permeabilized with digitonin respond with lysosomal enzyme release when exposed to micromolar levels of free calcium. *Biochim. Biophys. Acta.* 1986; 886: 1–17.
54. McCully K.K.: Exercise-induced injury to skeletal muscle. *Fed. Proc.* 1986; 45: 2933–2936.
55. Giese A.C.: *Fizjologia komórki*. PWN, Warszawa 1985.
56. Young V.R.: Skeletal muscle and whole-body protein metabolism in relation to exercise. W: Poortmans J.R., Niset G. (red.). *Biochemistry of exercise IV*. A. Univ. Park. Press, Baltimore 1981.
57. Lewicki R., Tchórzewski H., Denys A., Kowalska M., Golinska A.: Effect of physical exercise on some parameters of immunity in conditioned sportsmen. *Int. J. Sports Med.* 1987; 8: 309–314.
58. Jajte J., Stetkiewicz J., Wrońska-Nofer T.: Combined exposure to m-xylene and ethanol: oxidative stress in the rat liver. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* 2003; 16: 345–350.
59. Di Meo S., Venditti P.: Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biol. Signals Recept.* 2001; 10: 125–140.
60. Harris R.T., Dudley G.A.: Exercise alters the distribution of ammonia and lactate in blood. *J. Appl. Physiol.* 1989; 66: 313–317.
61. Ohkuwa T., Itoh H., Yamamoto T., Yamazaki Y.: Comparison of t-PA and u-PA levels in maximal treadmill and deep-water running. *Prev. Med.* 2004; 39: 177–181.
62. Tsuboi M., Harasawa K., Izawa T., Komabayashi T., Fujinami H., Suda K.: Intralysosomal pH and release of lysosomal enzymes in the rat liver after exhaustive exercise. *J. Appl. Physiol.* 1993; 74: 1628–1634.
63. Woźniak A., Mila-Kierzenkowska C., Drewa T. i wsp.: Aktywność wybranych enzymów lizosomalnych w surowicy krwi kajakarzy po kriostymulacji ogólnoustrojowej. *Med. Sport* 2001; 17: 322–327.
64. Przybyłowski J., Zaborniak S., Obodyński K., Drozd S., Garmulewicz M.: Wpływ długotrwałego intensywnego wysiłku na stężenia we krwi aldosteronu, kortyzolu, testosteronu i niektóre parametry biochemiczne. *Med. Sport.* 2000; 106: 40–44.
65. Hayashi H., Hotta Y., Sakamoto N.: Lysosomal involvement in the fatty liver associated with diabetes mellitus. *Acta. Pathol. Jpn.* 1983; 33: 923–928.
66. Nehemiah J.L., Nivikoff A.B.: Unusual lysosomes in hamster hepatocytes. *Exp. Mol. Pathol.* 1974; 21: 398–423.
67. Schnell Landström A.H., Andersson A., Borg L.A.: Lysosomes and pancreatic islet function: adaptation of beta-cell lysosomes to various metabolic demands. *Metabolism* 1991; 4: 399–405.
68. Adebajo F.O., Hamilton C.L.: Catechol effect on the lysosomal enzymes in the adipose tissues of obese and obese-diabetic monkeys. *Int. J. Obes.* 1979; 3: 255–259.
69. Vasil'ev A.V., Shimanovskaia N.P., Pogozeva A.V., Samsonov M.A., Tutel'ian V.A.: Thrombocyte lysosomal hydrolase activity in patients with ischemic heart disease, hyperlipidemia and obesity against a background of different diets. *Voprosy Pitaniia* 1987; 11–12: 14–17.
70. Witek B., Król T., Kotataj A., Ochwanowska E., Stanisławska I., Słewa A.: The insulin, glucose and activity of lysosomal enzymes in the course of the model alloxan diabetes. *Neuroendocrinology Letters* 2001; 22: 238–242.
71. Wójtowicz Z., Burdan F., Pliszczyńska-Studen M., Kiś G., Golan J., Błaszczak M.: Aktywność enzymów lizosomalnych trzustki u królika w przebiegu cukrzycy doświadczalnej. *Ann. UMCS Sect. D* 2005; 60: 767–770.
72. Wójtowicz Z., Wrona W., Błaszczak M., Kiś G., Pliszczyńska-Studen M.: Aktywność enzymów lizosomalnych mięśnia szkieletowego u królika w przebiegu cukrzycy doświadczalnej. *Ann. UMCS Sect. D.* 2005; 60: 771–773.
73. Wójtowicz Z., Szkodziak P., Kiś G., Błaszczak M., Pliszczyńska-Studen M., Hadała-Kiś A.: Aktywność enzymów lizosomalnych wątroby u królika w przebiegu cukrzycy doświadczalnej. *Ann. UMCS Sect. D.* 2005; 60: 908–910.
74. Wójtowicz Z., Stelmasiak Z., Kiś G., Obel J.: Aktywność enzymów lizosomalnych w korze wzrokowej królików z doświadczalną cukrzycą. *Folia Neuropathol.* 1995; 33: 159–162.
75. Waters P.J., Flynn M.D., Corral R.J., Pennock C.A.: Increases in plasma lysosomal enzymes in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: relationship to diabetic complications and glycaemic control. *Diabetologia* 1992; 53: 991–995.
76. Mohanam S., Bose S., M.: Influence of Streptozotocin and Alloxan-induced diabetes in the rat on collagenase and certain lysosomal enzymes in relation to the degradation of connective tissue proteins. *Diabetologia* 1983; 25: 66–70.
77. Piwowar A., Fus I., Kanapik-Kordecka M., Warwas M.: Stefina A w osoczu krwi chorych na cukrzycę typu 2. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2004; 111: 319–325.
78. Russo L.M., Brammar G.C., Jerums G., Comper W.D., Osicka T.M.: The effect of ramipril on albumin excretion in diabetes and hypertension: the role of increased lysosomal activity and decreased transforming growth factor- β expression. *J. Hypertension* 2003; 21: 419–428.