

lek. Marta Kubasik

## Znaczenie cynku w patogenezie otyłości i jej powikłań

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu  
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: Prof. UPP dr hab. n. o zdr. Joanna Suliburska

Katedra i Zakład Leczenia Otyłości, Zaburzeń Metabolicznych oraz Dietetyki Klinicznej;  
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
Instytut Żywienia Człowieka i Dietetyki; Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu



Wydział Lekarski

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2021

*Dieta nie jest adekwatna, dopóki nie zawiera wystarczającą ilość minerałów - które ciało regularnie odkłada podczas procesu metabolizmu.*

*Znaczenie tej zasady jest oczywiste, gdy weźmie się pod uwagę jaką rolę odgrywa niedobór składników mineralnych w rozwoju choroby.*

**Kazimierz Funk**

Vitamin and mineral therapy  
U.S. Vitamin Corporation, 1936 r

## Wykaz skrótów zastosowanych we wzorach, tabelach i rycinach

|             |                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AACE        | <i>American Association of Clinical Endocrinologists</i> , Amerykańskie Stowarzyszenie Endokrynologów Klinicznych                                                                                                                                                                         |
| ACE         | American College of Endocrinology, Amerykańskie Kolegium Endokrynologiczne                                                                                                                                                                                                                |
| BAT         | <i>brown adipose tissue</i> , brązowa tkanka tłuszczowa                                                                                                                                                                                                                                   |
| BMI         | <i>body mass Index</i> , wskaźnik masy ciała                                                                                                                                                                                                                                              |
| CAT         | <i>catalase</i> , katalaza                                                                                                                                                                                                                                                                |
| CRP         | <i>C-reactive protein</i> , białko C- reaktywne                                                                                                                                                                                                                                           |
| DBP         | diastolic blood pressure, ciśnienie tętnicze rozkurczowe                                                                                                                                                                                                                                  |
| DRI         | dietary reference intakes, zalecane dzienne spożycie                                                                                                                                                                                                                                      |
| dSAT        | <i>deep subcutaneous adipose tissue</i> , głęboka podskórna tkanka tłuszczowa                                                                                                                                                                                                             |
| eGFR        | <i>estimated glomerular filtration rate</i> , szacowany wskaźnik filtracji kłębuszkowej                                                                                                                                                                                                   |
| ELISA       | <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i> , test immunoenzymatyczny                                                                                                                                                                                                                        |
| ESC         | <i>European Society of Cardiology</i> , Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne                                                                                                                                                                                                            |
| ESH         | <i>European Society of Hypertension</i> , Europejskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego                                                                                                                                                                                                 |
| FFA         | <i>free fatty acid</i> , wolne kwasy tłuszczowe (WKT)                                                                                                                                                                                                                                     |
| FHS         | Framingham Heart Study (badanie kliniczne)                                                                                                                                                                                                                                                |
| GPX         | <i>glutathione peroxidase</i> , peroksydaza glutationowa                                                                                                                                                                                                                                  |
| HDL         | <i>high-density lipoprotein cholesterol</i> , lipoproteiny wysokiej gęstości                                                                                                                                                                                                              |
| HOMA        | <i>homeostasis model assessment of insulin resistance</i> , wskaźnik insulinooporności                                                                                                                                                                                                    |
| IDF         | <i>International Diabetes Federation</i> , Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna                                                                                                                                                                                                       |
| LDL         | <i>low density lipoprotein</i> , lipoproteiny niskiej gęstości                                                                                                                                                                                                                            |
| LPL         | <i>lipoprotein lipase</i> , lipaza lipoproteinowa                                                                                                                                                                                                                                         |
| MMP         | <i>matrix metalloproteinases</i> , metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej                                                                                                                                                                                                           |
| NCEP-ATPIII | <i>National Cholesterol Education Program, Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, Adult Treatment Panel III</i> , Narodowy Program Edukacji Cholesterolowej na temat wykrywania, oceny i leczenia hipercholesterolemii u osób dorosłych |

|           |                                                                                                                |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NF-κB     | <i>nuclear factor kappa B</i> , jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B                                         |
| NHANES    | <i>National Health and Nutrition Examination Survey</i> , Narodowy Sondaż dotyczący Zdrowia i Odżywiania       |
| Nrf2      | <i>nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i> , czynnik jądrowy (pochodzący z erytrocytów 2) podobny do 2 |
| NOS       | <i>nitric oxide synthase</i> , syntaza tlenku azotu                                                            |
| NOX       | <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase</i> , izoforma oksydazy NADPH                           |
| NS        | brak istotności statystycznej                                                                                  |
| OECD      | <i>Organisation for Economic Cooperation and Development</i> , Organizacja Współpracy Gospodarczej i Rozwoju   |
| ORG       | <i>obesity related glomerulopathy</i> , glomerulopatia związana z otyłością                                    |
| ORRF      | <i>obesity related respiratory failure</i> , niewydolność oddechową związaną z otyłością                       |
| P         | poziom istotności statystycznej                                                                                |
| PAI-1     | <i>plasminogen activator inhibitor-1</i> , inhibitor aktywatora plazminogenu 1                                 |
| PPAR-γ/-α | <i>peroxisome proliferator-activated receptor-γ/-α</i> , receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów     |
| PvAT      | <i>perivascular adipose tissue</i> , okołonaczyniowa tkanka tłuszczowa                                         |
| R         | współczynnik korelacji                                                                                         |
| ROS       | <i>reactive oxygen species</i> , reaktywne formy tlenu                                                         |
| SAT       | <i>subcutaneous adipose tissue</i> , tkanka tłuszczowa podskórna                                               |
| SBP       | <i>systolic blood pressure</i> , ciśnienie tętnicze skurczowe                                                  |
| SD        | <i>standard deviation</i> , odchylenie standardowe                                                             |
| sdLDL     | <i>small dense low density lipoprotein</i> , małe gęste lipoproteiny niskiej gęstości                          |
| SOD       | <i>superoxide dismutase</i> , dysmutaza nadadtlenkowa                                                          |
| SREBP     | <i>sterol responsive element binding protein</i> , białko wiążące sekwencję odpowiedzi na sterole              |
| sSAT      | <i>superficial subcutaneous adipose tissue</i> , powierzchniowa podskórna tkanka tłuszczowa                    |
| TCH       | <i>total cholesterol</i> , cholesterol całkowity                                                               |

|               |                                                                                            |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| TG            | <i>triglycerides</i> , triglicerydy                                                        |
| TGF- $\beta$  | <i>transforming growth factor <math>\beta</math></i> , transformujący czynnik wzrostu beta |
| TIMP          | <i>tissue inhibitor of metalloproteinases</i> , tkankowy inhibitor metaloproteinaz         |
| TNF- $\alpha$ | <i>tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i> , czynnik martwicy nowotworów $\alpha$    |
| IDF           | <i>International Diabetes Federation</i> , Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna        |
| VAT           | <i>visceral adipose tissue</i> , tkanka tłuszczowa trzewna                                 |
| VLDL          | <i>very low density lipoprotein cholesterol</i> , lipoproteiny o bardzo małej gęstości     |
| WAT           | <i>white adipose tissue</i> , biała tkanka tłuszczowa                                      |
| WHO           | <i>World Health Organisation</i> , Światowa Organizacja Zdrowia                            |
| WHR           | <i>waist to hip ratio</i> , wskaźnik talia/biodra                                          |
| WC            | waist circumference, obwód talii                                                           |
| WOBASZ        | Wieloośrodkowe Ogólnopolskie Badanie Stanu Zdrowia Ludności                                |

## Spis treści

|                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. WSTĘP.....</b>                                                                 | <b>8</b>  |
| <b>2. PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA.....</b>                                                 | <b>9</b>  |
| <b>2.1. EPIDEMIOLOGIA OTYŁOŚCI W POLSCE I NA ŚWIECIE.....</b>                        | <b>9</b>  |
| <b>2.2. DEFINICJA OTYŁOŚCI .....</b>                                                 | <b>10</b> |
| <b>2.3. OTYŁOŚĆ A ZABURZENIA METABOLICZNE, STAN ZAPALNY I STRES OKSYDACYJNY.....</b> | <b>13</b> |
| <b>2.4. ROLA SKŁADNIKÓW MINERALNYCH W PATOGENEZIE OTYŁOŚCI.....</b>                  | <b>21</b> |
| <b>2.5. CYNK – ZNACZENIE DLA ZDROWIA.....</b>                                        | <b>24</b> |
| <b>2.6. ROLA CYNKU W ORGANIZMIE.....</b>                                             | <b>26</b> |
| <b>2.7. ETIOLOGIA NIEDOBORU CYNKU.....</b>                                           | <b>30</b> |
| <b>2.8. METALOPROTEINAZY JAKO NOWE MARKERY STANU ZAPALNEGO .....</b>                 | <b>32</b> |
| <b>2.8.1. KOLEGENAZY TYPU IV = ŻELATYNAZY (MMP-2 I MMP-9) .....</b>                  | <b>35</b> |
| <b>2.8.1.1. METALOPROTEINAZA MACIERZY ZEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ 2 (MMP-2) .....</b>         | <b>35</b> |
| <b>2.8.1.2. METALOPROTEINAZA MACIERZY ZEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ 9 (MMP-9) .....</b>         | <b>36</b> |
| <b>2.9. METALOPROTEINAZY A OTYŁOŚĆ .....</b>                                         | <b>37</b> |
| <b>3. CELE PRACY .....</b>                                                           | <b>39</b> |
| <b>4. MATERIAŁ I METODY .....</b>                                                    | <b>40</b> |
| <b>4.1. BADANA POPULACJA .....</b>                                                   | <b>40</b> |
| <b>4.2. METODYKA PRACY.....</b>                                                      | <b>42</b> |
| <b>4.3. ANALIZA STATYSTYCZNA .....</b>                                               | <b>45</b> |
| <b>4.4. KRYTYKA METODY .....</b>                                                     | <b>46</b> |
| <b>5. WYNIKI.....</b>                                                                | <b>48</b> |

|               |                                                                                                                              |                   |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| <b>5.1.</b>   | <b><u>CHARAKTERYSTYKA BADANYCH OSÓB.....</u></b>                                                                             | <b><u>48</u></b>  |
| <b>5.2.</b>   | <b><u>PORÓWNANIE GRUPY BADANEJ Z GRUPĄ KONTROLNĄ .....</u></b>                                                               | <b><u>51</u></b>  |
| <b>5.3.</b>   | <b><u>PORÓWNANIE STĘŻENIA CYNKU I METALOPROTEINAZ MMP-2 I MMP-9 W SUROWICY KRWI<br/>GRUPY BADANEJ I KONTROLNEJ .....</u></b> | <b><u>54</u></b>  |
| <b>5.4.</b>   | <b><u>PORÓWNANIE STĘŻENIA CYNKU I METALOPROTEINAZ MMP-2 I MMP-9 W SUROWICY KRWI<br/>OTYŁYCH KOBIET I MĘŻCZYŹN.....</u></b>   | <b><u>59</u></b>  |
| <b>5.5.</b>   | <b><u>ANALIZA KORELACYJNA MIĘDZY WYBRANYMI PARAMETRAMI .....</u></b>                                                         | <b><u>61</u></b>  |
| <b>5.5.1.</b> | <b><u>ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY WYBRANYMI PARAMETRAMI W GRUPIE KOBIET .....</u></b>                                                   | <b><u>63</u></b>  |
| <b>5.5.2.</b> | <b><u>ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY WYBRANYMI PARAMETRAMI W GRUPIE MĘŻCZYŹN .....</u></b>                                                 | <b><u>66</u></b>  |
| <b>5.6.</b>   | <b><u>ANALIZA REGRESJI .....</u></b>                                                                                         | <b><u>68</u></b>  |
| <b>5.6.1.</b> | <b><u>ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY CYNKIEM I METALOPROTEINAZAMI A WYBRANYMI PARAMETRAMI<br/>U KOBIET.....</u></b>                        | <b><u>68</u></b>  |
| <b>5.6.2.</b> | <b><u>ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY CYNKIEM I METALOPROTEINAZAMI A WYBRANYMI PARAMETRAMI<br/>U MĘŻCZYŹN .....</u></b>                     | <b><u>69</u></b>  |
| <b>6.</b>     | <b><u>DYSKUSJA.....</u></b>                                                                                                  | <b><u>71</u></b>  |
| <b>7.</b>     | <b><u>WNIOSKI .....</u></b>                                                                                                  | <b><u>80</u></b>  |
| <b>8.</b>     | <b><u>STRESZCZENIE.....</u></b>                                                                                              | <b><u>81</u></b>  |
| <b>9.</b>     | <b><u>SPIS RYCIN I WYKRESÓW.....</u></b>                                                                                     | <b><u>87</u></b>  |
| <b>10.</b>    | <b><u>SPIS TABEL.....</u></b>                                                                                                | <b><u>88</u></b>  |
| <b>11.</b>    | <b><u>PIŚMIENNICTWO.....</u></b>                                                                                             | <b><u>90</u></b>  |
| <b>12.</b>    | <b><u>ZAŁĄCZNIKI.....</u></b>                                                                                                | <b><u>106</u></b> |

## 1. Wstęp

Otyłość stanowi jeden z głównych problemów zdrowotnych XXI wieku. W 1998 roku Światowa Organizacja Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) oficjalnie uznała otyłość za chorobę, wpisując ją na Międzynarodową Listę Chorób i Problemów Zdrowotnych (tzw. klasyfikację ICD10) i zwróciła uwagę na jej globalny i ogólnospołeczny charakter [1,2]. Skala problemu stała się tak duża, że od 20 lat mówi się o ogólnoświatowej epidemii otyłości.

Znaczący postęp w zrozumieniu przyczyn i konsekwencji otyłości dokonał się pod koniec XX wieku. Przełomem było odkrycie w 1994 roku biologicznego białka - leptyny oraz innych substancji o działaniu dokrewnym, które Shimomura [3] określił terminem adipocytokiny. Badania nad tkanką tłuszczową dostarczają nowych informacji na temat mechanizmów biorących udział w regulacji bilansu energetycznego człowieka.

Cały czas poszukuje się nowych mechanizmów związanych z rozwojem otyłości i zaburzeń współistniejących. Wiadomo, że składniki mineralne odgrywają kluczową rolę w wielu procesach metabolicznych a ich niewłaściwe stężenie w organizmie jest związane z występowaniem wielu chorób. Jednym z niezbędnych pierwiastków w organizmie, który odgrywa znaczącą rolę w prawidłowym przebiegu procesów metabolicznych, w tym w utrzymaniu prawidłowego stanu antyoksydacyjnego, zapobieganiu procesom zapalnym, w regulowaniu ciśnienia tętniczego, gospodarki lipidowej i węglowodanowej, jest cynk. Niedobór cynku w organizmie przyczynia się do zaburzeń metabolicznych, co sugeruje, że zwiększona podaż tego mikroelementu, w tym suplementacja, może być korzystna w zapobieganiu chorobom metabolicznym. W badaniach wykazano związek pomiędzy metaloproteinazami zależnymi od cynku a gospodarką lipidową i węglowodanową. Zaobserwowano, że jedna z adipokin zależna od cynku: zinc- $\alpha$ -glikoproteina (ZAG) wpływa na metabolizm lipidów. Stwierdzono, że dieta wysokotłuszczowa, otyłość i stan zapalny hamują syntezę ZAG. Z kolei niskie stężenie tej adipokiny indukuje lipolizę tkanki tłuszczowej oraz koreluje ze wzrostem insulinooporności [4]. Badania nad związkiem gospodarki cynku z cytokinami, adipokinami i innymi markerami procesów metabolicznych są niezbędne, aby wyjaśnić jego rolę w rozwoju otyłości i jej powikłań. Modyfikacja stężenia cynku oraz metaloproteinaz w organizmie może stać się nowym celem w prewencji i leczeniu zaburzeń metabolicznych.



## 2. Przegląd piśmiennictwa

### 2.1. Epidemiologia otyłości w Polsce i na świecie

Z danych WHO na rok 2016 wynika, że problem otyłości dotyczy ponad 650 mln ludzi, co stanowi ogółem 13% populacji świata. Z kolei problem nadwagi dotyczy już 1,9 mld ludzi. Skala problemu otyłości wzrosła ponad trzykrotnie od ostatnich trzech dziesięcioleci. Na całym świecie jest więcej osób otyłych niż mających niedowagę. Nadmierna masa ciała stanowi piąty co do częstości czynnik ryzyka zgonów na świecie, a prawie 2,8 mln dorosłych ludzi umiera rocznie w wyniku nadwagi lub otyłości [5]. Niepokojącym faktem jest to, że coraz większą grupę osób z otyłością stanowią dzieci. W roku 2016 ponad 340 milionów dzieci i młodzieży w wieku 5-19 lat miało nadwagę lub otyłość. Częstość występowania nadwagi i otyłości wśród tej populacji wzrosła z 4% w 1975 roku do ponad 18% [5]. Częstość występowania nadwagi i otyłości dotyczy prawie jednej trzeciej ludności świata [6]. Dane wielu światowych organizacji zajmujących się ochroną i promocją zdrowia wskazują na stały wzrost masy ciała zarówno u dzieci jak i dorosłych.

Częstość występowania otyłości w polskiej populacji jest porównywalna do innych krajów europejskich. Wieloośrodkowe Ogólnopolskie Badanie Stanu Zdrowia Ludności (WOBASZ) przeprowadziło badania w Polsce w latach 2003 -2005 (WOBASZ I) i w latach 2013-2014 (WOBASZ II), wyniki badań wskazały, że masa ciała w populacji polskiej podczas ostatniej dekady stale rośnie. Częstość występowania otyłości (wskaźnik masy ciała [BMI]  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) wynosiła 24,4% u mężczyzn i 25,0% u kobiet, natomiast otyłość brzuszną (obwód talii  $\geq 102 \text{ cm}$  u mężczyzn lub  $\geq 88 \text{ cm}$  u kobiet) odnotowano u 32,2% mężczyzn i 45,7% kobiet [7]. Dane pochodzące z Europejskiego Badania Wywiadu Zdrowotnego, publikowane przez Eurostat wskazują, że prawie 1 osoba dorosła na 6 w Unii Europejskiej (UE) jest uważana za otyłą [8].

## 2.2. Definicja otyłości

Otyłością nazywamy patologiczne nagromadzenie tkanki tłuszczowej w organizmie, przekraczające jego fizjologiczne potrzeby i możliwości adaptacyjne, mogące prowadzić do niekorzystnych skutków dla zdrowia. Otyłość wymieniana jest w Międzynarodowej Statystycznej Klasyfikacji Chorób i Problemów Zdrowotnych Światowej Organizacji Zdrowia, jako „choroba spowodowana nadmierną podażą energii”. Patogeneza otyłości jest wieloczynnikowa, biorą w niej udział czynniki genetyczne, metaboliczne i środowiskowe [9]. Definicja i zasady klasyfikacji prawidłowej masy ciała opierają się nadal na pomiarach antropometrycznych. Należy zaznaczyć, że wskaźniki takie jak masa ciała, wzrost, obwód talii i bioder nie pozwalają na precyzyjne określenie ilości tkanki tłuszczowej, gdyż na masę ciała składają się m.in. masa mięśni, kości, wody pozakomórkowej oraz tkanki tłuszczowej. W celu rozpoznania otyłości można zastosować porównanie aktualnej z idealną (należną, pożądaną) masą ciała.

Otyłość definiuje masa ciała przekraczająca o 20% idealną masę ciała [10].

W praktyce stosuje się następujące wzory:

- Wzór Broca

dla mężczyzn 18-60 lat

należna masa ciała [kg] = (wzrost [cm] – 100) zmniejszamy wynik o 10%

dla kobiet 18-60 lat

należna masa ciała [kg] = (wzrost [cm] – 100) zmniejszamy wynik o 5%

- wzór Broca z poprawką Brugsha

dla osób o wzroście 155-164 cm

należna masa ciała [kg] = (wzrost [cm] – 100)

dla osób o wzroście 165-175 cm

należna masa ciała [kg] = (wzrost [cm] – 105)

dla osób o wzroście 176-190 cm

należna masa ciała [kg] = (wzrost [cm] – 110)

- wzór Lorenza

należna masa ciała (kobiety) = wzrost [cm] - 100 - ((wzrost [cm] - 150) / 2)

należna masa ciała (mężczyźni) = wzrost [cm] - 100 - ((wzrost [cm] - 150) / 4)

W praktyce klinicznej stan odżywienia mierzony jest za pomocą wskaźnika masy ciała (BMI - *body mass index*) zwany także wskaźnikiem Queteleta [11].

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) u osób dorosłych otyłość rozpoznajemy przy wartości BMI  $\geq 30,0 \text{ kg/m}^2$ .

**Tabela 1.** Klasyfikacja otyłości wg WHO (w oparciu o BMI) [12]

| BMI ( $\text{kg/m}^2$ ) | Klasyfikacja WHO         |
|-------------------------|--------------------------|
| < 18,5                  | Niedowaga                |
| 18,5-24,9               | Norma                    |
| 25,0-29,9               | Nadwaga                  |
| 30,0-34,9               | otyłość I°               |
| 35,0-39,9               | otyłość II°              |
| $\geq 40,0$             | otyłość III° (olbrzymia) |

Wskaźnik BMI obliczany jest według wzoru:

$$\text{BMI} = \text{masa ciała [kg]} / \text{wzrost [m]}^2$$

Według najnowszych wytycznych AACE (American Association of Clinical Endocrinologists) oraz ACE (American College of Endocrinology) z 2016 roku wyróżnia się trzy stopnie otyłości, które oprócz wskaźnika BMI uwzględniają również powikłania tej jednostki chorobowej: otyłość 0 stopnia  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ , bez powikłań otyłości; otyłość I stopnia  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$  i  $\geq 1$  powikłanie o lekkim lub umiarkowanym nasileniu; otyłość II stopnia  $\geq 25 \text{ kg/m}^2$  i  $\geq 1$  ciężkie powikłanie otyłości, które wymaga istotnego zmniejszenia masy ciała w celu efektywnego leczenia [13].

**Tabela 2.** Nowe kategorie otyłości – wytyczne The American Association of Clinical Endocrinologists / The American College of Endocrinology (AACE/ACE) [13]

| Rozpoznanie        | BMI ( $\text{kg/m}^2$ ) | Obecność powikłań                                            |
|--------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Nadwaga            | BMI $\geq 25 - 29.9$    | Bez powikłań otyłości                                        |
| Otyłość 0 stopnia  | BMI $\geq 30$           | Bez powikłań otyłości                                        |
| Otyłość I stopnia  | BMI $\geq 25$           | co najmniej 1 powikłanie<br>o łagodnym lub średnim nasileniu |
| Otyłość II stopnia | BMI $\geq 25$           | co najmniej 1 ciężkie powikłanie                             |

Amerykańskie wytyczne zwracają uwagę na konieczność szczegółowej analizy pacjentów z otyłością pod kątem powikłań narządowych i wdrożenia optymalnej terapii. Zaproponowany

algorytm składa z: wykonania badań przesiewowych, diagnozy i oceny klinicznej, wyborze terapii oraz określeniu celu leczenia. Nasilenie powikłań związanych z masą ciała, mają stanowić główne determinanty wyboru sposobu leczenia otyłości. Punktem końcowym ma być poprawa powikłań związanych z otyłością, a nie tylko ustalony spadek masy ciała. Parametr określający rozmieszczenie tkanki tłuszczowej brzusznej wprowadzony przez Międzynarodową Federację Diabetologiczną w 2005 roku (IDF International Diabetes Federation) to obwód talii (WC, ang. waist circumference) [14]. Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna (IDF, International Diabetes Federation) wydała kryteria progowe obwodu talii w celu identyfikacji osób z podwyższonym ryzykiem zdrowotnym związanym z otyłością. Otyłość brzuszna definiowana jako obwód talii > 94 cm dla mężczyzn i > 80 cm dla kobiet (dla populacji europejskiej) [14]. Otyłość brzuszna stanowi niezbędne kryterium do rozpoznania zespołu metabolicznego. Aktualnie za obowiązujące i równoległe funkcjonujące w piśmiennictwie uważa się kryteria IDF (International Diabetes Federation) oraz zmodyfikowane kryteria NCEP-ATPIII (National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III) [15, 16].

Wskaźnik talia-biodra (WHR, waist-to-hip ratio), to kolejny parametr, który oddaje stosunek obwodu talii do bioder i stanowi wskaźnik dystrybucji tkanki tłuszczowej w ciele człowieka. Dzięki niemu rozpoznajemy otyłość brzuszną inaczej nazywaną otyłością androidalną (WHR większy lub równy 0,8 u mężczyzn, u kobiet od 1,0) lub otyłość pośladkowo-udową, czyli gynoidalną (WHR mniejszy niż 0,8 u mężczyzn, u kobiet mniejszy niż 1,0) [17]. Dzięki takim pomiarom uzyskuje się informację, w którym miejscu ciała dochodzi do największej kumulacji tkanki tłuszczowej.

Wskaźnik WHR jest obliczany według wzoru:

$$\text{WHR} = \text{obwód talii [cm]} / \text{obwód bioder [cm]}$$

Metody antropometryczne wykorzystywane są w badaniach populacyjnych. W badaniach specjalistycznych dla precyzyjnego określenia zawartości tłuszczu wykorzystuje się: tomografię komputerową (CT *computed tomography*), magnetyczny rezonans jądrowy (MRI *magnetic resonance imaging*), rentgenowską absorpcjometrię podwójnej energii (DXA - *dual energy X-ray absorptiometry*) oraz analizę bioimpedancji elektrycznej (BIA, *bioelectrical impedance analysis*), ultrasonografię oraz metody izotopowe [18]. Metody obrazowania dostarczają informacji na temat przestrzennego rozmieszczenia tkanki tłuszczowej poprzez wykorzystanie różnic w obrazowaniu obserwowanych tkanek i narządów

jako projekcje dwuwymiarowe (2D) w DXA lub dwuwymiarowe i trójwymiarowe (3D) danych w CT i MRI. Metody obrazowania są uważane za najdokładniejsze narzędzia do pomiaru tkanki tłuszczowej w tkankach i narządach ciała, niemniej jednak mają również wady.

Otyłość ze względu na patogenezę, dzielimy na otyłość pierwotną (prostą), która stanowi większość przypadków (90%) oraz otyłość wtórna. Otyłość prosta jest wynikiem długotrwałego dodatniego bilansu energetycznego w wyniku nadmiaru podaży energii w stosunku do wydatkowania. Otyłość wtórna stanowi mniejszość przypadków, może wynikać z zaburzeń hormonalnych takich jak niedoczynność tarczycy, choroba i zespół Cushinga, niedobór hormonu wzrostu, rzekoma niedoczynności przytarczyc, hipogonadyzm, zespół policystycznych jajników, wyspiak trzustki. Ponadto otyłość wtórna może wystąpić po uszkodzeniu ośrodkowego układu nerwowego (guzy, stany zapalne, urazy, zabiegi chirurgiczne dotyczące zwłaszcza podwzgórza, gdzie znajdują się ośrodki odpowiedzialne za kontrolę apetytu) lub być związana z zaburzeniami genetycznymi takich jak wady chromosomalne (zespół Downa) lub rzadkie zespoły związane z mutacjami genów (zespół Lawrence-Moon-Biedla, Zespół Pradera-Williego). Dotychczas opisano 200 przypadków monogenowo dziedzicznej otyłości, związanych z mutacjami genu leptyny (genu *ob*), receptora typu 4 melanokortyny (MC4R) oraz proopiomelanokortyny (POMC) [19]. Otyłość wtórna może wynikać również w wyniku przyjmowania leków sprzyjających przyrostowi masy ciała, takich jak glikokortykosteroidy, estrogeny, progesteron, nadmierne dawki insuliny, pochodne sulfonilomocznika, niektóre leki przeciwpadaczkowe, przeciwdepresyjne i neuroleptyki [20, 21].

### **2.3. Otyłość a zaburzenia metaboliczne, stan zapalny i stres oksydacyjny**

Otyłość jest czynnikiem ryzyka rozwoju wielu chorób przewlekłych, zwiększając prawdopodobieństwo wystąpienia nadciśnienia tętniczego, dyslipidemii, cukrzycy typu 2, choroby niedokrwiennej serca, chorób wątroby i pęcherzyka żółciowego, chorób nerek, dny moczanowej, niektórych nowotworów czy depresji [22, 23].

U osób otyłych często stwierdza się określony profil lipidowy, określając ten typ dyslipidemii mianem aterogennej. Charakteryzuje się zwiększonym stężeniem triglicerydów (TG, *triglycerides*) wynoszącym  $> 150 \text{ mg/dl}$  ( $> 1,7 \text{ mmol/l}$ ), lipoprotein o bardzo małej gęstości (very-low-density lipoprotein – VLDL) zawierających TG, obniżonym stężeniem HDL-C: u mężczyzn  $< 40 \text{ mg/dl}$  ( $< 1 \text{ mmol/l}$ ), u kobiet  $< 45 \text{ mg/dl}$  ( $< 1,2 \text{ mmol/l}$ ) oraz obecnością

małych gęstych cząsteczek LDL (sdLDL, *small dense low density lipoprotein*), których nie oznacza się w praktyce klinicznej. Natomiast stężenie LDL-C (low-density lipoprotein) u tych osób bywa prawidłowe bądź podwyższone [24].

„Nowe” czynniki ryzyka choroby wieńcowej u osób otyłych z zespołem metabolicznym stały się obiektem wielu badań, nie tylko należą do nowych markerów rozwoju miażdżycy, ale wnoszą nowe informacje dotyczące ryzyka sercowo- naczyniowego i patogenezy rozwoju blaszek miażdżycowych [25].

Należą do nich:

- ❖ Apolipoproteina B (apoB) – zwiększone stężenie
- ❖ Lipoproteina a (Lpa)- zwiększone stężenie
- ❖ Fibrynogen- zwiększone stężenie
- ❖ Homocysteina- zwiększone stężenie
- ❖ Leptyna- zwiększone stężenie
- ❖ Interleukina 6 (IL-6) - zwiększone stężenie
- ❖ Białko C reaktywne (CRP)- zwiększone stężenie
- ❖ Asymetryczna dimetyloarginina (ADMA)- zwiększone stężenie
- ❖ Apolipoproteina AI (apoAI)- zmniejszone stężenie
- ❖ Adiponektyna- zmniejszone stężenie

W otyłości konsekwencją przeciążenia adipocytów i zwiększonej lipolizy w obrębie tkanki tłuszczowej jest nadmiar krążących we krwi triglicerydów i wolnych kwasów tłuszczowych (FFA, free fatty acids). W takiej sytuacji dochodzi do gromadzenia lipidów w narządach obwodowych (wątrobie, sercu, mięśniach, trzustce) rozwijając toksyczny odpowiedź znaną jako lipotoksyczność [26]. Nadmiar triglicerydów w adipocytach prowadzi do wytwarzania reaktywnych form tlenu (ROS, reactive oxygen species), adipocytokin oraz aktywacji kinaz, które nasilają transkrypcję genów zapalnych. W adipocytach wyróżnia się dwa rodzaje czynników transkrypcyjnych, które biorą udział w regulacji ekspresji genów enzymów lipogennych: receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów (PPAR, peroxisome proliferatoractivated receptor) oraz białko wiążące sekwencję odpowiedzi na sterole (SREBP, sterol responsive element binding protein).

Z wielu badań wynika, że otyłość ma silny związek z rozwojem cukrzycy i oporności na insulinę [27]. Patogeneza rozwoju cukrzycy związana jest z upośledzeniem funkcji komórek  $\beta$  wysp

trzustkowych, powodując brak prawidłowej kontroli stężenia glukozy we krwi. W cukrzycy typu 2 obserwuje się współistniejącą hiperinsulinemię, zmniejszoną insulinowrażliwość i zwiększona insulinooporność. W ciągu 10 letniej obserwacji przeprowadzonej w Stanach Zjednoczonych wykazano, że osoby z BMI wynoszącym 35,0 kg/m<sup>2</sup> lub więcej były około 20 razy bardziej narażone na rozwój cukrzycy [28]. Ścisły związek między otyłością a cukrzycą potwierdza fakt, że aż 90 % chorych na cukrzycę typu 2 ma nadmierną masę ciała [29]. U pacjentów z cukrzycą typu 2 z nadmierną masą ciała wykazano 25 % redukcję śmiertelności przy utracie 9–13 kg masy ciała [30]. Według PTD (Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego), należy wykonać oznaczenia glikemii (z krwi żyłnej) w celu wczesnego rozpoznania stanu przedcukrzycowego lub cukrzycy typu 2 u osób z nadwagą lub otyłością, u których stwierdza się BMI  $\geq 25$  kg/ m<sup>2</sup> i/lub obwód w talii > 80 cm (kobiety); > 94 cm (mężczyźni) [31].

Otyłość wiąże się ze spadkiem wrażliwości na insulinę tkanek obwodowych i wątroby. Tkanka tłuszczowa odgrywa kluczową rolę w indukcji insulinooporności przede wszystkim w mięśniach i wątrobie. Insulinooporność wzrasta wraz ze wzrostem wskaźnika masy ciała, obwodu talii, a zwłaszcza wskaźnika talia-biodro [32]. Fizjologicznie, insulina stymuluje wychwyt glukozy przez wątrobę, sprzyja lipogenezie, jednocześnie hamując lipolizę, a zatem powstrzymuje napływ wolnych kwasów tłuszczowych do krwiobiegu. Prawidłowe działanie insuliny upośredzają wydzielane przez tkankę tłuszczową cytokiny: IL-6, TNF- $\alpha$ , inhibitor 1 aktywatora plazminogenu (PAI-1), angiotensynogen i leptyna.

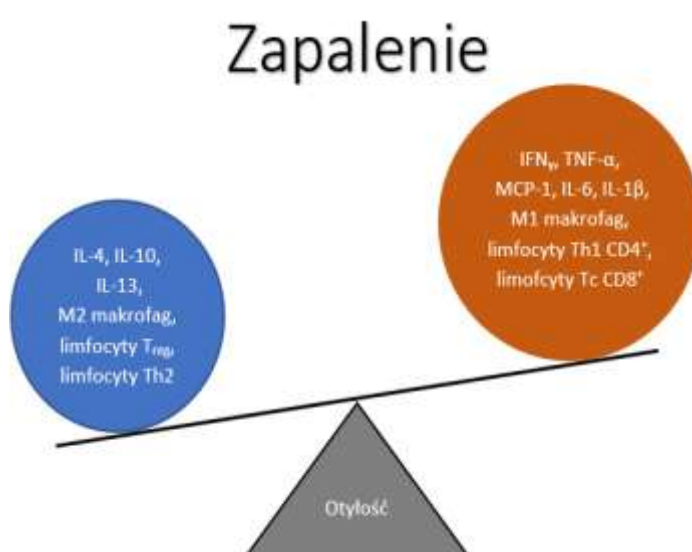
Z badań wynika, że nadmiar tkanki tłuszczowej trzewnej prowadzi do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego (LGI, *low grade inflammation*). Hipertroficzne adipocyty oraz komórki odpornościowe przyczyniają się do zwiększonego stężenia cytokin prozapalnych w krążeniu. Zapalenie jest fizjologiczną odpowiedzią organizmu na szkodliwe bodźce polegającą na skoordynowanym działaniu wielu typów komórek i mediatorów celem przywrócenia homeostazy. Przewlekłe zapalenie, w odróżnieniu od ostrego zapalenia charakteryzuje się obecnością limfocytów i makrofagów, ponadto w obrębie tkanki tłuszczowej dochodzi do proliferacji naczyń krwionośnych i tkanki łącznej. Stan zapalny towarzyszący otyłości nie wiąże się z cechami infekcji ani oznak autoimmunizacji. Zarówno makrofagi, jak i adipocyty są źródłem syntezy adipokin, cytokin prozapalnych, cząsteczek adhezyjnych, selektyn i chemokin. Adipocyty są zdolne do syntezy i uwalniania ogromnej ilości prozapalnych adipokin i cytokin, w tym leptyny, rezystyny, PAI-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , białka wiążącego

retinol 4, IL-1 $\beta$ , białka chemotaktycznego monocytów-1 (MCP-1), CRP, czynnika hamującego migrację makrofagów (MIF) oraz chemokiny z rodzin CC i CXC. [33].

Czynnik martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ ) jest silnym mediatorem procesów zapalnych, który zapoczątkowuje kaskadę zdarzeń immunologicznych. Aktywowane makrofagi uwalniają chemokiny, między innymi białko chemotaktyczne monocytów-1 oraz cytokiny. Makrofagi wywodzące się z monocytów krwi obwodowej napływają do tkanki tłuszczowej by przekształcić się w makrofagi typu M1 o charakterze prozapalnym. Przemieszczanie się między komórkami śródbłona naczynia umożliwiają enzymy z rodziny metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs, *matrix metalloproteinases*) między innymi metaloproteinaza 2 (MMP-2) i 9 (MMP-9), która przerywają ciągłość błony podstawnej naczynia krwionośnego. Zapalenie obejmuje również komórki pomocnicze T (CD4 +), które biorą kluczowy udział w odporności swoistej (nabytej). Dochodzi do zmiany w populacjach limfocytów T, spada liczba limfocytów Treg, które tłumią nadmierną odpowiedź zapalną, a rośnie liczba komórek CD4+Th1 oraz CD8+Tc, które wydzielają cytokiny prozapalne. Komórki Th1 charakteryzują się wydzielaniem IFN- $\gamma$ , cytokiny, która odgrywa kluczową rolę w aktywacji monocytów i makrofagów. Wzrasta również liczba limfocytów B, które prezentują antygen limfocytom T, co w konsekwencji wpływa na przemianę makrofagów w kierunku typu M1. Ilość makrofagów o fenotypie M2 spada, a te zaangażowane są w syntezę przeciwzapalnych interleukin m.in. IL-4, IL-10, IL-13 [34]. Nadmierna hipertrofia adipocytów może doprowadzić do ich pęknięcia. Obumarłe adipocyty, tworząc struktury podobne do korony (CLS, *crown like structures*), syntetyzują prozapalne cytokiny m.in. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6. W makrofagach o fenotypie M1 aktywacji ulegają prozapalne szlaki sygnalizacyjne zależne od czynnika jądrowego kappa B (NF- $\kappa$ B, *nuclear factor kappa B*). Aktywacja NF- $\kappa$ B indukuje ekspresję różnych genów prozapalnych, w tym genów kodujących cytokiny (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6), chemokiny oraz cząsteczek adhezyjnych ponadto reguluje proliferację komórek i ich apoptozę [35]. Między komórkami układu immunologicznego, a adipocytami obserwuje się dodatni sygnał sprzężenia zwrotnego doprowadzając do wzmacniania odpowiedzi i pogłębiania reakcji zapalnej. Zapaleniu towarzyszy reakcja ostrej fazy, która rozwija się przede wszystkim w wątrobie. Synteza białek ostrej fazy (BOF, APPs, *acute-phase proteins*) jest odpowiedzią ogólnoustrojową na toczące się zapalenie. Synteza wątrobowego białka C-reaktywnego (CRP, *C-reactive protein*), fibrynogenu i PAI-1 jest indukowana w odpowiedzi na prozapalne cytokiny wydzielane przez adipocyty,



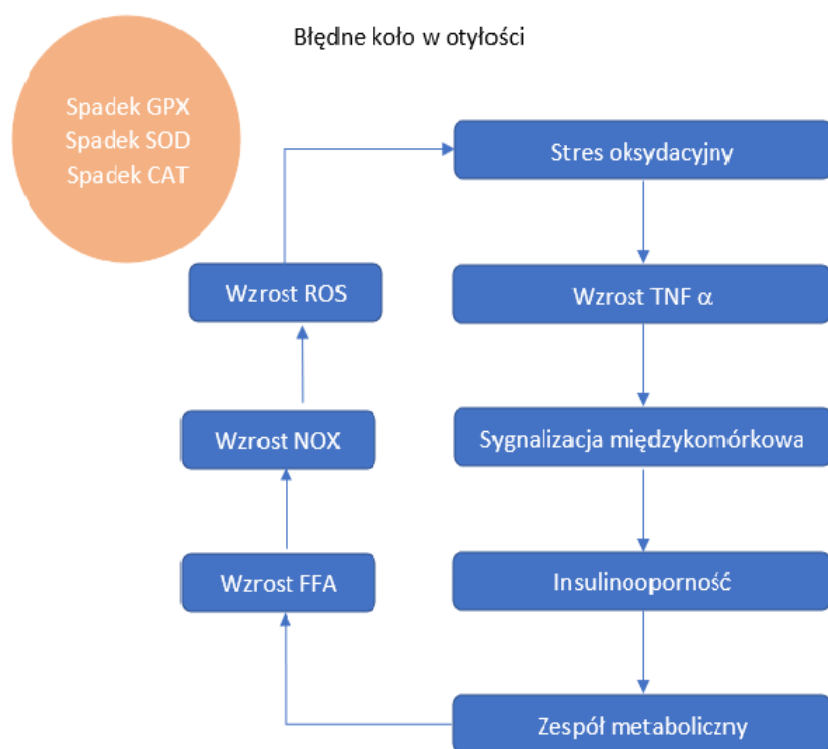
takie jak TNF- $\alpha$  i IL-6. Najsilniejszym aktywatorem BOF jest IL-6, natomiast IL-1 i TNF- $\alpha$  stymulują fibroblasty, komórki endotelium do syntezy IL-6 i dodatkowo wzmacniają jej biologiczną aktywność. Badania wykazały dodatnią korelację między wielkością adipocytów a TNF- $\alpha$ , IL-6 i CRP [36]. Uważa się, że IL-6 jest markerem otyłości trzewnej, ponieważ trzewna tkanka tłuszczowa uwalnia więcej IL-6 niż podskórna tkanka tłuszczowa. Zaobserwowano większe stężenie MCP-1, IL-6 oraz CRP w trzewnej tkance tłuszczowej położonej wewnątrztrzewnowo (VAT) niż w brzusznej tkance tłuszczowej podskórnej (SAT) [37, 38].



**Rycina 1.** Wykładniki stanu zapalnego w otyłości

*Stan zapalny w otyłości charakteryzuje się przewagą określonych komórek zapalnych – M1 makrofagów, limfocytów CD4+Th1 oraz CD8+Tc, które poprzez wydzielane czynniki prozapalne m.in.: IFN, TNF- $\alpha$ , MCP-1, IL-6, IL-1  $\beta$  potęgują proces zapalny*

W przebiegu otyłości wykazano wzrost produkcji ROS, wzrost syntezy wolnych kwasów tłuszczowych (FFA, free fatty acids), które indukują NOX, a te ostatnie prowadzą do wzrostu ROS zamykając tym samym błędne koło [39, 40].



**Rycina 2.** Stres oksydacyjny i wpływ na otyłość

**GPX** - peroksydaza glutationowa **SOD** - dysmutaza ponadtlenkowa (MnSOD, Cu/ZnSOD) **CAT** - katalaza **TNF- $\alpha$**  - czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$ , **NOX** -- izoforma oksydazy NADPH, **ROS** - reaktywne formy tlenu, **FFA** - wolne kwasy tłuszczowe

Nadmiar tkanki tłuszczowej prowadzi do wzrostu stężenia reaktywnych form tlenu (ROS). Głównym źródłem reaktywnych form tlenu w komórkach jest oksydaza NADPH = NOX. ROS bezpośrednio aktywują TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  indukuje odpowiedź immunologiczną, wzbudzając proces zapalny w obrębie tkanki tłuszczowej. TNF- $\alpha$  zaburza wrażliwość komórek na działanie insuliny poprzez obniżenie ekspresji genów kodujących receptor insuliny (IR), substrat receptora insuliny-1 (IRS-1), transporter dokomórkowy glukozy GLUT4. Dochodzi do insulinooporności. Insulinooporność potęgują FFA, które zaburzają funkcję komórek  $\beta$  trzustki obniżając wydzielanie insuliny. Mechanizmy antyoksydacyjne stają niewydolne z uwagi na wysokie stężenie ROS, dochodzi do spadku stężenia SOD, GPX, CAT.

Wolne rodniki tworzą się również w wyniku  $\beta$  -oksydacji kwasów tłuszczowych. W wyniku działania ROS dochodzi do uszkodzeń elementów komórkowych, a pierwszym ich celem staje się błona komórkowa w której dochodzi do peroksydacji lipidów błonowych. W wyniku zarówno enzymatycznej i nieenzymatycznej peroksydacji lipidów dochodzi do utleniania reszt wielonienasyconych kwasów tłuszczowych wchodzących w skład fosfolipidów, powodując zmianę ładunku na powierzchni błony i wzrost jej przepuszczalności, a w konsekwencji uszkodzenie komórki. Końcowymi produktami peroksydacji lipidów są izoprostany, dialdehyd malonowy (MDA) oraz  $\alpha$ ,  $\beta$  – nienasycone aldehydy, które nie są obojętnymi cząsteczkami [41].

Markerem wczesnych uszkodzeń białek jest białko oksydowane (AOPP, *advanced oxidation protein products*). Z kolei konsekwencją reakcji pochodnych karbonylowych białek

z reaktywnymi aldehydami są produkty lipooksydacji (ALEs, *advanced lipoxidation end-products*) będące przyczyną wielu chorób przewlekłych: sercowo-naczyniowych, neurodegeneracyjnych, autoimmunologicznych [42,43]. Mechanizmy prowadzące do uszkodzenia komórek obejmują również działanie ROS na białka, węglowodany i DNA. Reakcje ROS z cząsteczkami organicznymi prowadzi do powstania wolnych rodników substancji organicznych, w których niesparowany elektron wiąże się z atomem węgla lub azotu. ROS uczestniczą w reakcjach glikacji zachodzące pomiędzy monosacharydami i grupami aminowymi białek tworząc produkty glikacji (AGEs, *advanced glycation end-products*). Reakcjom tym sprzyja nagromadzenie glukozy oraz produktów jej metabolizmu w komórce, szczególnie zauważalnych u chorych z cukrzycą, co ma swoje konsekwencje w glikacji hemoglobiny (HbA1c) służący jako marker wyrównania metabolicznego cukrzycy [44]. Do białek szczególnie podatnych na tworzenie AGE należą: kolagen, albuminy osocza, krystalina soczewki oka oraz wspomniana hemoglobina. Kumulacja produktów glikacji kolagenu oraz krystaliny prowadzą do powikłań cukrzycowych i miażdżycowych. Kwasy nukleinowe są bardziej stabilne niż białka i lipidy, ze względu na efektywniejsze mechanizmy naprawy uszkodzeń. ROS oddziałują na zasady, reszty cukrowe oraz wiązania fosfodiesterowe. Wzrost stężenia 8-oxodG (8 -hydrokso-deoksyguanozyny) jest markerem oceniającym uszkodzenie materiału genetycznego [45]. Reasumując w wyniku ataku ROS na lipidy, białka, węglowodany i DNA dochodzi do powstania wolnorodnikowych produktów utleniania, które mają potencjał do generowania kolejnych wolnych rodników lub wchodzi w reakcje ze związkami produkowanymi przez komórkę. W wyniku nadmiernej produkcji ROS dochodzi do stresu oksydacyjnego, które definiujemy jako zaburzenie równowagi prooksydacyjno- antyoksydacyjnej w kierunku reakcji utleniania.

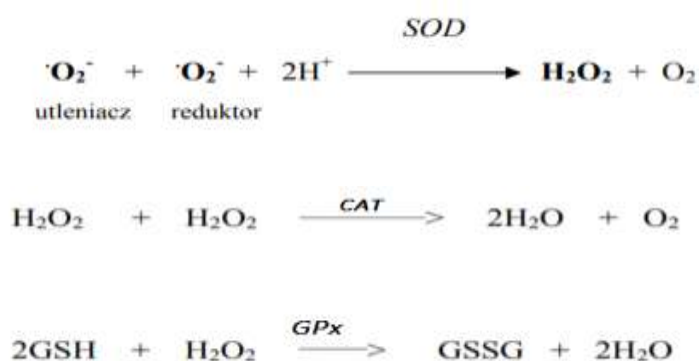
**Tabela 3.** Tlenowe związki reaktywne i ich prekursorzy

| Rodniki                                                 | Prekursory wolnych rodników                    |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Rodnik hydroksylowy HO <sup>•</sup>                     | Nadtlenoazotyn ONOO <sup>-</sup>               |
| Anionorodnik ponadtlenkowy O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> | Kwas chlorowy (kwas podchlorawy) HOCl          |
| Rodnik wodoronadtlenkowy HO <sub>2</sub> <sup>•</sup>   | Nadtlenek wodoru H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> |
| Rodnik alkoksylowy RO <sup>•</sup>                      | Tlen singletowy <sup>1</sup> O <sub>2</sub>    |
| Rodnik nadtlenkowy ROO <sup>•</sup>                     | Ozon O <sub>3</sub>                            |

Organizm wykształcił mechanizmy pozwalające zminimalizować uboczne skutki nadmiaru wolnych rodników za pomocą antyoksydantów. Antyoksydanty to związki odznaczające się właściwościami chroniącymi molekuły organizmu przed utlenianiem.

Ochronę antyoksydacyjną w organizmie człowieka można podzielić na trzy mechanizmy. Pierwszy mechanizm zapobiega wytwarzaniu wolnych rodników tlenowych lub przekształca w mniej aktywne ROS za pomocą enzymów: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GPx) oraz białek osocza o funkcji metaloprotein (albuminy, ceruloplazminy oraz transferryny). W kolejnym mechanizmie polegającym na przerwaniu reakcji wytwarzania ROS biorą udział: witaminy C, E polifenole, karotenoidy, betaliny. Trzeci mechanizm usuwa produkty reakcji wolnych rodników poprzez naprawę lub eliminowanie uszkodzonych cząstek. W tym procesie biorą udział polimerazy. Antyoksydanty można podzielić ze względu na lokalizację: wewnątrzkomórkową i zewnątrzkomórkową, ze względu na mechanizm działania na enzymatyczne i nieenzymatyczne i ze względu na pochodzenie na endogenne i egzogenne.

Wyizolowanie w 1969 roku enzymu dysmutazy ponadtlenkowej (SOD1) było początkiem wielu badań na temat równowagi redoks. Wyróżnia się trzy typy dysmutazy ponadtlenkowej (SOD, EC 1.15.1.1): cytoplazmatyczną zawierającą miedź i cynk (Cu, Zn-SOD, SOD1), mitochondrialną zawierającą mangan (Mn-SOD, SOD2) i zewnątrzkomórkową zawierającą cynk i miedź (extracellular, EC-SOD, SOD3). Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) rozpoczyna reakcję neutralizacji reaktywnych form tlenu, a więc wspomnianego wcześniej rodnika nadltlenkowego (która jako cząsteczka uwalniana jest z mitochondriów) do nadtlenku wodoru ( $H_2O_2$ ). Następnie  $H_2O_2$  jest neutralizowana do cząsteczki wody przez katalazę (w cytoplazmie lub w peroksysomach) i peroksydazę glutationową (GPx), której donorem elektronów jest glutation (GSH) [46, 47].



**Tabela 4.** Podział antyoksydantów [46]

| Lokalizacja antyoksydantów | Mechanizm działania antyoksydantów | Przykłady                                                                                                                   |
|----------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| wewnątrzkomórkowe          | enzymatyczne                       | Cu, Zn-SOD (SOD 1, SOD 2)<br>CAT<br>GSH-Px                                                                                  |
|                            | nieenzymatyczne                    | metaloproteiny<br>ferrytyna<br>metalotioneiny<br>glutathion<br>kwas moczowy<br>witaminy C, E i A<br>β-karoten               |
| zewnątrzkomórkowe          | enzymatyczne                       | EC-SOD                                                                                                                      |
|                            | nieenzymatyczne                    | metaloproteiny<br>transferyna<br>ceruloplazmina<br>albuminy<br>kwas moczowy<br>bilirubina<br>witaminy C, E i A<br>β-karoten |

Cu, Zn-SOD (SOD 1, SOD 2) wewnątrzkomórkowa dysmutaza ponadtlenkowa 1 i 2, **CAT** - katalaza  
GSH-Px- peroksydaza glutationowa, **EC-SOD** - zewnątrzkomórkowa dysmutaza ponadtlenkowa

## 2.4. Rola składników mineralnych w patogenezie otyłości

Udział składników mineralnych w kluczowych przemianach metabolicznych (chemicznych) w organizmie człowieka wskazuje na to, że ich niedobór może prowadzić do rozwoju chorób, w tym otyłości. W praktyce klinicznej, przykładem dobrze znanych chorób będących następstwem niedostatecznego spożycia składników odżywczych są niedokrwistość z niedoboru żelaza, wole endemiczne z powodu niedoboru jodu w diecie, osteoporoza wynikająca z obniżonej szczytowej masy kostnej z powodu niedostatecznego spożycia wapnia. Z kolei niedobór witamin powodują wady cewy nerwowej wynikające z niedoboru kwasu foliowego, krzywicę lub osteomalację z powodu niedoboru witaminy D.

Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) ponad dwa miliardy ludzi cierpi na niedobór mikropierwiastków na całym świecie, które wynikają przede wszystkim z niedożywienia i głodu. Okazuje się, że problem niedoborów składników mineralnych i witamin dotyczy również osób otyłych określając zjawisko niedożywieniem jakościowym. Występowanie niedoborów mikroelementów u osób otyłych w porównaniu do osób z prawidłową masą ciała tłumaczy się nieodpowiednimi nawykami żywieniowymi. Osoby otyłe częściej wybierają produkty ubogie w składniki odżywcze, w formie wysoce przetworzonej, będących źródłem

rafinowanych węglowodanów, bogate w nasycone kwasy tłuszczowe, sztuczne barwniki i substancje konserwujące.

Badania przeprowadzone przez Machado i wsp. [48] wykazały, że zalecane dzienne spożycie na mikroelementy przeznaczone dla populacji ogólnej DRI są niedostateczne dla osób otyłych. Zwraca uwagę na zwiększone zapotrzebowanie wśród osób z nadmierną masą ciała na witaminy i składniki mineralne. Badanie przeprowadzone przez Sánchez i wsp. [49], u chilijskich kobiet przed operacją bariatryczną wykazało niedobór żelaza u 13 % badanych, niedobór witaminy B12 u 10% oraz niedobór witaminy D u 71% badanych. Z kolei badanie de Luis DA i wsp. [50], wśród hiszpańskich kobiet przed operacją bariatryczną wykazało u 9,5% niedobór witaminy B12, u 25,2% kwasu foliowego, u 67,8% kobiet niedobór miedzi oraz 73,9% niedobór cynku. Niedobór witaminy D również dotyczył 71 % badanych. Zaburzenie gospodarki żelaza u otyłych osób (obniżone stężenie żelaza, obniżona saturacja transferryny, podwyższone stężenie ferrytyny) zostało wykazane w wielu badaniach klinicznych [51, 52, 53]. We wspomnianych badaniach pomimo obniżonego stężenia żelaza u badanych osób nie wykazano obniżonego stężenia hemoglobiny i niedokrwistości. Przyczynę tego zjawiska tłumaczy się niekorzystnym działaniem prozapalnych cytokin – interleukiny 1 oraz interleukiny 6 oraz leptyny, które wpływają na wzrost wydzielania hepcydyny w wątrobie, która blokuje transporter żelaza – ferroportynę (obecną w błonie komórkowej enterocytów), co ostatecznie wpływa na obniżone wchłanianie i dostępność żelaza w procesie erythropoezy [54]. Mikropierwiastki, będące kofaktorami enzymów antyoksydacyjnych, stanowią pierwszą linię obrony w dezaktywacji reaktywnych form tlenu, zanim ROS uszkodzą struktury komórkowe. W obronie antyoksydacyjnej biorą udział przede wszystkim: dysmutaza ponadtlenkowa (MnSOD, Cu/ZnSOD), która zawiera mangan, miedź i cynk, katalaza (CAT) zawierająca żelazo oraz peroksydaza glutationowa (GPX) zawierająca selen. Powyższe enzymy przeciwutleniające odgrywają niezbędną rolę w ochronnej zdolności przeciwutleniającej systemów biologicznych, szczególnie dotyczy to rodnika anionów ponadtlenkowych ( $O_2^{\bullet-}$ ), który jest nieustannie wytwarzany w prawidłowym metabolizmie organizmu, podczas mitochondrialnego szlaku produkcji energii, w którym zużywane jest około 90% dostarczonego tlenu do komórki. Miedź dzięki właściwościom oksydoredukcyjnym jest kofaktorem wielu reakcji enzymatycznych. Do białek miedziozależnych należą: ceruloplazmina tzw. ferroksydaza (enzym antyoksydacyjny, białko transportujące jony miedzi oraz żelaza), dysmutaza ponadtlenkowa (Cu, Zn SOD1 i SOD3), grupa metalotionein

oraz oksydaza cytochromu c (białko oddychania komórkowego w mitochondrium), hefajstyna (białko umożliwiające transport żelaza z przewodu pokarmowego), tyrozynaza (białko umożliwiające produkcję melaniny), hydroksylaza B – dopaminy (enzym wytwarzający neuroprzekaźniki), oksydaza lizylna (enzym wytwarzający kolagen i elastynę). Mangan bierze udział w procesach antyoksydacyjnych wchodząc w skład manganowej dysmutazy ponadtlenkowej (Mn-SOD). Mangan jest aktywatorem wielu enzymów (transferazy, hydrolazy, dekarboksylazy). Niezbędny w metabolizmie glukozy podczas przemiany pirogronianu w szczawiooctan (karboksylaza pirogronianowa) w celu wytworzenia szczawiooctanu, prekursora cyklu kwasu trikarboksylowego (cyklu Krebsa). Molibden reguluje aktywność enzymów m.in. oksydazy aldehydowej, dehydrogenazy aldehydowej (utlenianie aldehydu octowego do kwasu octowego). Molibden bierze udział w metabolizmie puryn i pirymidyn (oksydaza ksantynowa) oraz w detoksykacji siarczynów (oksydaza siarczynowa). Jod pełni funkcję antyoksydacyjną podczas utleniania jodku ( $I^-$ ) do jodu ( $I_2$ ) z wykorzystaniem nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ). Reakcja katalizowana jest przez peroksydazę tarczycową (TPO, thyroid peroxidase), która prowadzi do jodowania jodotyrozyn i ostateczne tworzenie hormonów tarczycy: trijodotyroniny (T3) i tyroksyny (T4). Selen jest niezbędny do aktywności antyoksydacyjnej peroksydazy glutationowej (GPX) rozkładając nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ) i nadtlenki lipidowe. Ponadto selen jest niezbędny do przemiany hormonów tarczycy (tyroksyny do trijodotyroniny) z udziałem dejodynazy. Niedobór jodu i selenu prowadzi do niedoczynności tarczycy. Badania udowodniły, że niedobór hormonów tarczycy powoduje spadek podstawowej przemiany materii (BMR, *basal metabolic rate*) co sprzyja przyrostowi masy ciała [55]. Wpływ hormonów tarczycy na otyłość wzbudza duże zainteresowanie. W tkance tłuszczowej wykazano obecność receptorów dla trijodotyroniny (T3) oraz hormonu tyreotropowego (TSH). Trijodotyronina (T3) kontroluje metabolizm i homeostazę energii i wpływa na masę ciała, termogenezę, lipolizę i metabolizm cholesterolu. Hormon stymulujący tarczycę (TSH) poprzez receptory w tkance tłuszczowej, indukuje różnicowanie preadipocytów do adipocytów i adipogenezę [56, 57].

W wielu badaniach udowodniono, że zwiększona podaż wapnia w diecie sprzyja redukcji masy ciała [58]. Modulowanie wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia w adipocytach za pomocą diety bogatobiałkowej prowadzi do hamowania lipogenezy poprzez zmniejszenie aktywności lipazy lipoproteinowej (LPL, lipoprotein lipase) oraz syntazy kwasów tłuszczowych (FAS, *fatty acid synthase*). Wapń obecny w przewodzie pokarmowym obniża wchłanianie kwasów

tłuszczowych w jelicie wskutek tworzenia z nimi trudno rozpuszczalnych soli, które ulegają wydaleniu. Najnowsze dowody wskazują pozytywny wpływ diety z wysoką zawartością wapnia na mikroflorę jelitową sprzyjającą wzrostowi bakterii mlekowych, które mają wpływ na zwiększoną integralność błony śluzowej jelit, min. poprzez produkcję krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (*short-chain fatty acid-SCFA*) z niestrawionych przez enzymy węglowodanów [59]. Badania udowodniły wpływ SCFA na uwalnianie glukagonopodobnego peptydu-1 (GLP-1) i peptydu YY (PYY) z komórek endokrynnych przewodu pokarmowego APUD (*amine precursor uptake and decarboxylation*). Dysbioza sprzyja wzrostowi masy ciała na skutek dodatkowych enzymów umożliwiających trawienie polisacharydów przez bakterie patogenne, co wiąże ze zwiększonym wchłanianiem węglowodanów prostych z pożywienia. Z kolei duża zawartość tłuszczu w diecie skutkuje zwiększoną ilością bakterii Gram-ujemnych we florze bakteryjnej przewodu pokarmowego co predysponuje do zaburzeń integralności błony śluzowej i indukcji stanu zapalnego.

Chrom ( $\text{Cr}^{3+}$ ) pełni głównie rolę w metabolizmie węglowodanów. Chelatowe kompleksy chromu z kwasem nikotynowym i jednym z trzech aminokwasów: glutaminianem, cysteiną lub glicyną tworzą czynnik tolerancji glukozy (GTF, *glucose tolerance factors*). Działanie GTF polega na zwiększeniu wrażliwości na insulinę poprzez wpływ na kaskadę sygnałów wewnątrzkomórkowych odpowiedzialnych za stymulację translokacji GLUT4 i zwiększeniu wychwytu glukozy. Popularność preparatów z chromem przyniosła dużą liczbę badań, a wpływ na masę ciała nie jest jednoznaczny, niemniej jednak wykazano poprawę profilu metabolicznego u chorych na cukrzycę typu 2 [60]. Zwrócono także uwagę na możliwy kancerogeny wpływ chromu w układach biologicznych, co ogranicza jego zastosowanie [61]. Kluczowe znaczenie w przemianach metabolicznych w organizmie ma cynk.

## 2.5. Cynk – znaczenie dla zdrowia

Cynk jest niezbędnym pierwiastkiem śladowym w żywieniu człowieka i ma istotne znaczenie dla podstawowych funkcji molekularnych. Niedobór cynku w organizmie wpływa na procesy fizjologiczne, biochemiczne oraz immunologiczne powodując uogólnione zaburzenia metaboliczne. Znaczenie cynku dla zdrowia człowieka zostało po raz pierwszy udokumentowane w 1961 roku po odkryciu niedoboru cynku u ludzi. Wcześniej badania na roślinach i zwierzętach potwierdziły niezbędność tego pierwiastka w układach biologicznych. Na podstawie swoich badań Raulin w 1989r udowodnił, że cynk jest niezbędny



dla wzrostu *Aspergillus Niger*. Ciężki niedobór cynku u ludzi, opisywany przez Prasad charakteryzował się typowymi objawami: opóźnieniem wzrostu, hipogonadyzmem u mężczyzn, osłabionym apetytem, spowolnieniem umysłowym, nieprawidłowym przystosowaniem do ciemności, zapaleniem skóry oraz opóźnionym gojeniem ran [62]. Acrodermatitis enteropathica jest rzadkim autosomalnym recesywnym zaburzeniem genetycznym, które powoduje upośledzone wchłaniania cynku, z powodu mutacji genu transportera Zip4.

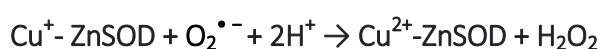
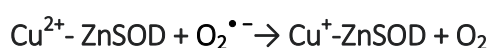
Cynk jest mikroelementem, którego dzienne zapotrzebowanie waha się w granicach 10-15 mg na dobę. Dobrymi źródłami cynku są białka, a bogate źródła obejmują czerwone mięso, wątrobę, nerki, serce, skorupiaki (najwyższe stężenie występuje w ostrygach). Białko roślinne, takie jak orzechy i rośliny strączkowe (fasola, ciecierzycza, groch i soczewica) są również dobrym źródłem cynku. W zbożach cynk znajduje się w ich otrębach i zarodkach. Wysoko rafinowane produkty zbożowe, takie jak biały ryż lub białe pieczywo, są ubogim źródłem cynku, ponieważ otręby bogate w cynk i zarodki są zwykle tracone w procesie mielenia. Produkty mleczne i drób są umiarkowanymi źródłami cynku, natomiast ubogie w ten pierwiastek są owoce i tłuszcze. Należy również pamiętać, że cynk ze źródeł roślinnych jest mniej biodostępny z powodu obecności fitynian (główna forma magazynowania fosforu w roślinach), które tworzą stabilne kompleksy chelatujące z cynkiem przy jelitowym pH zmniejszającym jego wchłanianie. Ponadto wysokie spożycie miedzi, żelaza lub kwasu fitynowego może prowadzić do złego wchłaniania cynku w diecie. Biodostępność cynku zależy również od interakcji z innymi składnikami żywności. Aminokwasy i kwasy organiczne (np. cytrynian) ułatwiają wchłanianie, działając jako ligandy cynku [63]. Wchłanianie cynku odbywa się w dwunastnicy i jelicie cienkim a jego biodostępność waha się między 20-40%. Całkowita zawartość tego pierwiastka w organizmie ludzkim wynosi 1,5 do 2,5 g. Rozkład cynku w tkankach jest różny, najwięcej cynku (około 86 %) znajduje się w mięśniach szkieletowych i kościach (57 % w mięśniach i 29% w kościach). Najwyższe stężenie cynku występuje w zębach (250 mg / kg), włosach (200 mg / kg) i prostaty (100 mg / kg). We krwi, nawet 80% cynku jest w erytrocytach, a tylko 16% w osoczu. W osoczu cynk związany jest z albuminą, transferyną oraz  $\alpha_2$  -makroglobuliną [64]. Wykazano, że białka te mogą wiązać do 90 % cynku z osocza, zmniejszając tym samym frakcję zjonizowaną pierwiastka. W osoczu stężenie cynku utrzymuje się w zakresie stężeń 10 – 18  $\mu\text{mol/L}$ , co stanowi 0,1 % ogólnej puli tego pierwiastka. Cynk gromadzi się przede wszystkim wewnątrzkomórkowo.

Utrzymanie homeostazy cynku osiągane jest dzięki skutecznie regulowanym mechanizmom wchłaniania i wydalania pierwiastka z przewodu pokarmowego, z kałem (1–5 mg / dzień), z moczem (0,4–0,6 mg / dzień) oraz innych strat (złuszczenie skóry, utrata włosów, pot, nasienie, krew). Komórkowe stężenia cynku są utrzymywane przez dwie klasy transporterów cynku: rodziny transporterów cynku ZnT (ZnT 1-10, SLC 30) i Zip (Zip 1-14, SLC39). Transportery ZnT promują komórkowy wypływ cynku, natomiast transportery Zip ułatwiają zewnątrzkomórkowy napływ cynku do cytoplazmy. Wewnątrzkomórkowe stężenie wolnego cynku jest regulowane przez transport przez błonę plazmatyczną, przechowywanie i uwalnianie w pęcherzykach (cynkosomach) w których cynk jest przechowywany jako kompleks z wieloma ligandami oraz przez wiązanie z wewnątrzkomórkową metalotioneiną (MT) tworząc kompleksy z maksymalnie siedmioma jonami cynku. Zmiany wewnątrzkomórkowego stężenia wolnego cynku kontrolują komórki odpornościowe poprzez regulację aktywności głównych cząsteczek sygnalizujących na poziomie jądra komórkowego, w tym kinaz, fosfatazy i czynników transkrypcyjnych. Mechanizmy homeostatyczne, które regulują stężenia cynku w organizmie są skuteczne, dlatego akumulacja cynku jest rzadko spotykana, w przeciwieństwie do innych pierwiastków śladowych: żelaza, miedzi. Niemniej jednak w przypadku przeciążenia cynkiem może dojść do zahamowania metabolizmu i funkcji mitochondriów [65].

## 2.6. Rola cynku w organizmie

Cynk jest pierwiastkiem, który bierze udział w wielu aspektach metabolizmu komórkowego, które można podzielić na trzy podstawowe funkcje: katalityczną, strukturalną oraz regulatorową. Cynk odgrywa kluczową rolę w rozwoju, różnicowaniu i wzroście komórek wielu tkanek, ponieważ występuje w ponad 300 enzymach i 2000 czynnikach transkrypcyjnych. Cynk jest jedynym metalem obecnym we wszystkich sześciu klasach enzymów (ustanowionych przez Międzynarodową Unię Biochemii) do których należą: oksydoreduktazy (dehydrogenaza alkoholowa, oksydaza glukozowa, dysmutaza nadtlenkowa), transferazy (polimeraza RNA II), hydrolazy (karboksypeptydaza, fosfataza zasadowa, deaminaza adenozyne fosfolipaza C), liazy (anhydraz węglanowa II), izomerazy (izomeraza fosforanowa) i ligazy (karboksylaza pirogronianowa) [66]. Anhydraz węglanowa, która katalizuje kluczową reakcję w regulacji równowagi kwasowo- zasadowej w organizmie człowieka, była pierwszym enzymem, w którym wykryto cynk w roli kofaktora. Pierwiastek ten, działa jako katalizator

enzymów przez formowanie kompleksów z substratami, biorących udział w metabolizmie lipidów, węglowodanów i białek. Spośród powyższych znanych enzymów cynk bierze udział w aktywacji wielu innych enzymów, endopeptydaz i egzoptydaz niezbędnych do metabolizmu białek w każdej komórce. Hydrolazy stanowią największą grupę enzymów zawierających cynk. Metaloproteiny macierzy pozakomórkowej MMP (matrix metalloproteinases) stanowią grupę enzymów zależnych od cynku, należących do grupy metacynkin. Posiadają w swojej cząsteczce atom cynku, będący katalizatorem enzymu. MMP biorą udział w procesach fizjologicznych (embriogeneza, gojenie ran). MMP mogą degradować wiele białek macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM, *extracellular matrix*) i błon podstawnych, w tym białka receptorowe, hormony, ponadto mogą aktywować cytokiny, chemokiny i czynniki wzrostu, dlatego pełnią istotną rolę w procesach zapalnych. Cynk bierze udział w metabolizmie kwasów nukleinowych, będąc kofaktorem dla enzymów takich jak: polimeraza DNA i RNA, odwrotna transkryptaza czy syntetaza tRNA. Z kolei element struktury tzw. "palca cynkowego" stanowi najliczniejszą grupę białek w genomie człowieka, stąd pełni wiele funkcji, m.in. uczestniczy w budowie czynników transkrypcyjnych, niezbędnych do procesu replikacji i transkrypcji DNA, kontrolując ostatecznie procesy proliferacji, różnicowanie i apoptozy komórek. Ponadto cynk zmniejsza stres oksydacyjny poprzez udział w syntezie enzymów antyoksydacyjnych [67]. Szczególna cecha tego mikroelementu wynika z faktu, że jest metalem obojętnym wobec reakcji redoks (występuje zawsze na drugim stopniu utlenienia). Cynk wchodzi w skład dysmutazy ponadtlenkowej (CuZnSOD), najważniejszego enzymu obecnego w cytoplazmie i jądrze każdej komórki, którego rolą jest neutralizacja anionorodnika ponadtlenkowego ( $O_2^{\bullet-}$ ), będącego produktem ubocznym utleniania tkankowego w mitochondriach [68].

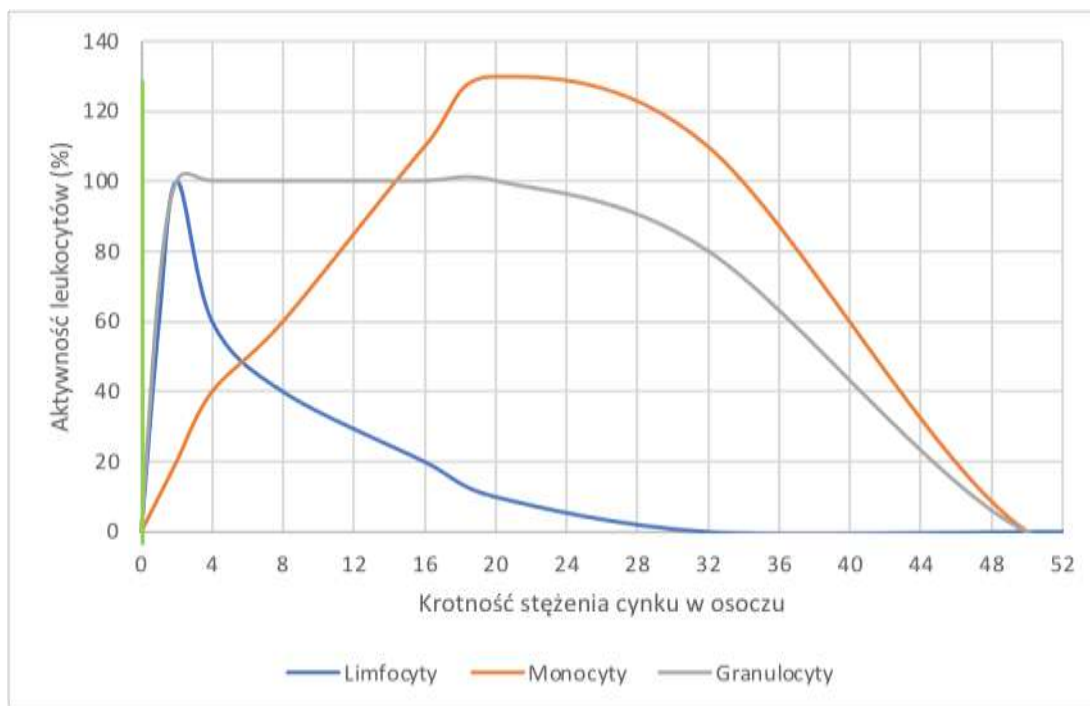


Inne mechanizmy, w których pośredniczy cynk, które mają wpływ na całkowity potencjał antyoksydacyjny TAS (total antioxidant status) to zdolność do hamowania receptora N-metyl-D-asparaginianowego (NMDA) w ośrodkowym układzie nerwowym [69]. Cynk reguluje czynność takich enzymów jak oksydaza NADPH (NOX), która również produkuje anionorodnik ponadtlenkowy czy syntetazę tlenku azotu (NOS), będącym potencjalnym źródłem

reaktywnych form azotu (RFN). Indukowana przez żelazo lub miedź peroksydacja lipidów, również zostaje zahamowana poprzez wiązania się cynku z fosfolipidami błon komórkowych. Cynk dodatkowo bierze udział w regulacji odpowiedzi na stres oksydacyjny za pomocą czynnika transkrypcyjnego Ntf2 (Nuclear factor (erythroid-derived 2) like 2), zwiększając jego ekspresję.

Ntf2 pełni kluczowe funkcje w ochronie komórek przed szkodliwymi skutkami stresu oksydacyjnego poprzez indukcję enzymów antyoksydacyjnych. Niedobór cynku hamuje jego aktywność [70]. Cynk uczestniczy w ochronie grup tiolowych (SH) białek poprzez ich wiązanie powodując wzmożoną syntezę metalotionein, które są silnymi wymiataczami metali ciężkich i reaktywnych form tlenu (ROS), przede wszystkim anionorodnika ponadtlenkowego i rodnika wodorotlenowego. Cynk bierze udział w przemianach niezbędne nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT): kwasu linolowego i  $\alpha$ -linolenowego. Cynk będąc kokafktorem dla takich enzymów jak: desaturaza i elongaza pośredniczy w syntezie kwasu dokozaheksaenowego (DHA), niezbędnego do prawidłowego rozwoju układu nerwowego oraz funkcjonowania mózgu i siatkówki. Ponadto siatkówka oka ludzkiego jest strukturą bogatą w cynk i niezbędnym elementem w prawidłowym funkcjonowaniu narządu wzroku [71]. Cynk bierze udział w utrzymywaniu prawidłowej glikemii, poprzez udział w syntezie, magazynowaniu i uwalnianiu insuliny z komórek  $\beta$  trzustki. Ponadto cynk ma zdolność do fosforylowania substratu receptora insuliny - IRS-1 (Insulin receptor substrate 1), tym samym bierze udział w metabolizmie glukozy, umożliwiając napływ glukozy do komórek. Cynk reguluje nie tylko wydzielanie insuliny, ale także glukagonu, pełniąc tym rolę czynnika sygnalizacyjnego pomiędzy dwoma antagonistycznie działającymi hormonami. Cynk pobudza wydzielanie glukagonu w odpowiedzi na niskie stężenie glukozy i hamuje gdy stężenie glukozy jest wysokie. Niedobór cynku może stwarzać predyspozycje do nietolerancji glukozy i insulinooporności [72]. Cynk wpływa na poprawę profilu lipidowego, obniża stężenie ApoB, ApoA1, cholesterolu całkowitego i cholesterolu LDL. Uznaje się, że cynk pełni rolę w zapobieganiu dyslipidemii miażdżycowej, hiperglikemii oraz hiperinsulinemii [73]. Cynk wpływa na redukcję masy ciała. Wpływ interwencji cynku na masę ciała został udowodniony w wielu badaniach i budzi nadzieję w walce z otyłością, niemniej jednak niezbędne są dalsze badania nad suplementacją cynku (przy wyższych dawkach lub dłuższych odstępach czasu), gdyż wiele badań zastosowało inne substancje oraz stężenia, a także inny czas obserwacji. Analizując wyniki badań zaobserwowano, że suplementacja cynkiem zarówno

w ilości 20 mg i 30 mg wiązała się ze spadkiem masy ciała [74, 75]. W niektórych badaniach dawka cynku była większa niż zalecana górna granica 40 mg /dobę [76]. Cynk jest niezbędny do utrzymywania prawidłowego funkcjonowania skóry i błon śluzowych. Proces gojenia ran wymaga zaangażowania wspomnianych wcześniej metaloproteinaz i makrofagów, których aktywność zależy od obecności enzymów zależnych od cynku. Cynk jest kluczowy dla prawidłowego rozwoju płciowego u mężczyzn, a niedobór tego pierwiastka prowadzi do dysfunkcji gonad. Mikropierwiastek ten bierze udział w rozwoju jąder, spermatogenezie, steroidogenezie oraz zapłodnieniu komórki jajowej [77]. Cynk bierze udział w prawidłowym funkcjonowaniu ośrodkowego układu nerwowego. W obecności glutaminianu bierze udział w przekazywaniu sygnałów między neuronami. Ponadto cynk jest elementem struktury obecnego w mózgu receptora N-metyl-D-asparaginianowego (NMDA), który wpływa na funkcje poznawcze (cognitive functions), mając wpływ na procesy uczenia się i pamięci [78]. Cynk jako antagonistą kadmu i ołowiu działa odtruwająco na metale ciężkie. Cynk konkuruje z metalami ciężkimi o przenośnik w przewodzie pokarmowym, zmniejszając ich wchłanianie, ponadto zwiększa się aktywność enzymów antyoksydacyjnych, w tym SOD [79]. Cynk działa immunomodulujące na układ odpornościowy, a jego wpływ zależy od stężenia pierwiastka w osoczu. Cynk jest niezbędny do rozwoju tkanki limfatycznej, a jako kofaktor hormonu grasicy (tymuliny) wpływa bezpośrednio na produkcję, dojrzewanie i aktywność limfocytów T. Niedobór cynku osłabia funkcje immunologiczną która prowadzi do: zmniejszenia liczby i aktywności komórek pomocniczych T, zmniejszenie aktywności komórek NK (Natural Killer), zmniejszenie produkcji przeciwciał, zmniejszenie aktywności neutrofili (chemotaksji, wybuchu oksydacyjnego), zmniejszenie aktywności makrofagów (fagocytozy, zabijania wewnątrzkomórkowego) [80]. Z drugiej strony cynk został scharakteryzowany jako dodatni i ujemny regulator cytokin prozapalnych, w szczególności IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , a decydujące znaczenie ma stężenie cynku [81]. Jak wykazują badania wzrost stężenia cynku w osoczu ponad pięćdziesiąt razy (stężenie cynku > 50  $\mu$ M) hamuje funkcję komórek odpornościowych [82]. Przedstawiony schemat wskazuje, że cynk hamuje aktywność limfocytów w stężeniach trzy-czterokrotnych od stężenia fizjologicznego, a wpływa nadal pobudzająco na aktywność monocytów oraz granulocytów.



**Rycina 3.** Aktywność leukocytów w zależności od stężenia cynku w osoczu [83]

Wpływ suplementacji cynku na populację limfocytów nadal jest niespójny. Kontrowersja wynika z nieustalonej dawki i czasu pobierania preparatu cynku, który miałby największe korzyści. Niemniej jednak wykazano, że cynk wpływa na populacje komórek Th1 CD4+, promując przeciwzapalne Treg i hamując prozapalne Th17 i Th9. Ponadto pobudza naturalną aktywność komórek NK, aktywność fagocytarną makrofagów i neutrofili [83].

## 2.7. Etiologia niedoboru cynku

Badania przeprowadzone w ciągu ostatniego dziesięciolecia sugerują, że niedobór cynku jest powszechny i dotyczy około 17% populacji na całym świecie [84]. Przyczyny tego zjawiska są złożone, najczęściej jest to spowodowane nieodpowiednim odżywianiem, wynikająca zarówno z ograniczonego dostępu do żywności bogatej w cynk, jak i zwiększoną podażą produktów pochodzenia roślinnego. W szczególności w krajach rozwijających się niedobór cynku wiąże się ze wzrostem zachorowalności i umieralności wśród dzieci. Zwiększone zapotrzebowanie występuje podczas intensywnej fazy anabolicznej w okresach wzrostu organizmu ze względu na kluczową rolę cynku w syntezie kwasów nukleinowych i w metabolizmie białek. W krajach uprzemysłowionych populacje ryzyka nabytego niedoboru cynku obejmują wegetarian, alkoholików oraz osoby niedożywione. Michael D. Corbo zaproponował klasyfikację przyczyn niedoboru cynku wyróżniając cztery typy [85]. Należą do nich: niewystarczające zaopatrzenie w cynk (typ I), które jest zwykle spowodowane

odżywianiem pozajelitowym i niedożywieniem. Zaburzenia odżywiania takie jak anoreksja, bulimia oraz odmienne nawyki żywieniowe (wegetarianizm, weganizm) mogą prowadzić do niedoboru cynku. Nadmierna utrata cynku (typu II) może wynikać z chorób w obrębie przewodu pokarmowego lub dróg moczowych. W typie III przyczyną niedoboru cynku jest zmniejszone wchłanianie cynku z przewodu pokarmowego, wynikające z toczącego się procesu zapalnego. Zwiększone zapotrzebowanie na cynk w typie IV dotyczy kobiet podczas ciąży i karmienia piersią. Analizując kwalifikację niedoboru cynku można stwierdzić, że niedobór cynku u osób otyłych jest związany z każdym z czterech głównych ich przyczyn. Proponowaną etiologię niedoboru cynku przedstawia tabela 5.

Dotychczasowe badania wskazują, że wśród otyłych osób dochodzi do zmiany rozkładu cynku w organizmie poprzez obniżenia stężenia krążącego cynku we krwi a także stężenia wewnątrzkomórkowego. Badania wykazały również zwiększoną utratę cynku z moczem przy równoczesnym obniżeniu stężenia tego pierwiastka w surowicy [86, 87, 88, 89].

W badaniach stwierdzono, że osoby otyłe mają niskie stężenie cynku w osoczu i erytrocytach wskazując liczne korelacje między parametrami biochemicznymi. Wśród pacjentów z otyłością olbrzymią kwalifikujących się do operacji bariatrycznych aż 73,9% miało niedobór cynku. Z kolei konsekwencją operacji bariatrycznej są kolejne deficyty żywieniowe (również niedobór cynku) wynikające z zaburzeń wchłaniania [50].

**Tabela 5.** Etiologia niedoboru cynku (wg Michael D. Corbo, modyfikacja własna) [85]

| Niewystarczające spożycie<br>(typ I)                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Zwiększona utrata<br>(typ II)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Niewystraczające wchłanianie<br>(typ III)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Zwiększone<br>zapotrzebowanie<br>(typ IV)                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Niemowlęta:</li> <li>- niskie stężenie cynku w surowicy u kobiety karmiącej piersią</li> <li>- niskie stężenie cynku w mleku u kobiety karmiącej piersią</li> <li>Żywnienie pozajelitowe</li> <li>Niektóre diety</li> <li>Anoreksja</li> <li>Bulimia</li> <li>Otyłość</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Przyczyny żołądkowo-jelitowe:</li> <li>-biegunka</li> <li>-przetoki jelitowe</li> <li>Marskość wątroby</li> <li>Infekcje</li> <li>Choroby nerek</li> <li>Cukrzyca</li> <li>Alkohol</li> <li>Leki: diuretyki</li> <li>Oparzenia</li> <li>Nadmierne pocenie się</li> <li>Hemodializa</li> <li>Otyłość</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Przyczyny dziedziczne:</li> <li>- acrodermatitis enteropatia</li> <li>- mutacja jelitowego transpotreta Zip4</li> <li>Przyczyny żołądkowo-jelitowe:</li> <li>- choroba Leśniowskiego Crohna</li> <li>- wrzodziejące zapalenie jelita grubego</li> <li>- nietolerancja glutenu</li> <li>- zespół krótkiego jelita</li> <li>- zespół jelita drażliwego</li> <li>Leki:</li> <li>- penicylamina, diuretyki</li> <li>Wysokie spożycie kwasu fitynowego, miedzi, żelaza</li> <li>Otyli pacjenci po operacjach bariatrycznych</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Ciąża</li> <li>Karmienie piersią</li> <li>Wcześnieaki</li> <li>Osoby starsze</li> <li>Otyłość</li> </ul> |

Pomimo wielu badań klinicznych oceniających zaburzenia stężenia cynku u osób otyłych, wnioski wciąż pozostają niejednoznaczne, gdyż niektóre z badań [90], nie wykazały obniżonego stężenia cynku u osób otyłych. Należy mieć na uwadze wpływ czynników, które zmieniają stężenie cynku w surowicy takie jak hipoproteinemia, infekcja, zapalenie, uraz czy stres. Dodatkowe obciążenie chorobami współistniejącymi lub powikłaniami otyłości potęgują zaburzenia stężeń tego mikropierwiastka. Potrzebne są dalsze badania na większej populacji pacjentów bez współistniejących powikłań kardiometabolicznych celem poszerzenia wiedzy i roli cynku w patogenezie otyłości.

## 2.8. Metaloproteinazy jako nowe markery stanu zapalnego

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP; matrix metalloproteinases) należą do enzymów proteolitycznych zależnych od jonów cynku ( $Zn^{2+}$ ), aktywowane przez kationy wapnia. Przekształcają białkowe składniki macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM, *extra cellular matrix*) regulując strukturę tkanki oraz błon podstawnych naczyń krwionośnych. Funkcje biologiczne MMP są znacznie bardziej złożone niż wcześniej zakładano. MMP odgrywają rolę w migracji komórek, adhezji komórka-komórka oraz w uwalnianiu i aktywacji pozakomórkowych czynników wzrostu i cytokin.

MMP mają korzystną funkcję w organizmie człowieka biorąc udział w takich procesach jak angiogeneza, apoptoza, rozwój kości, szkliwa zębów i systemu nerwowego, gojenie się ran, naprawa uszkodzeń rdzenia kręgowego, przebudowa endometrium w cyklu miesięcznym, rozwój i implantacja zarodka oraz przebudowę łożyska podczas ciąży. MMP są również zaangażowane w patogenezę wielu chorób, zwłaszcza związanych z procesami zapalnymi. Uważa się, że biorą udział w rozwoju nowotworów, zwłóknień, zapalenia stawów, chorób sercowo-naczyniowych, neurologicznych i autoimmunologicznych. Synteza metaloproteinaz zachodzi w większości komórek, należą do nich komórki nabłonkowe, fibroblasty, miocyty, keratynocyty, komórki śródbłonna, osteoblasty, płytki krwi, makrofagi, komórki nacieku zapalnego: monocyty, leukocyty i limfocyty jednojądrzaste, komórki nowotworowe. U człowieka wyróżnia się 23 metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej, a obecność tych enzymów została stwierdzona zarówno u zwierząt, jak i u roślin. Metaloproteinazy mają jednakowy schemat budowy. Wszystkie zawierają: peptyd sygnałowy, prodomenę i domenę katalityczną, z miejscem aktywnym zawierającym jon cynku (wyjątek stanowią MMP-7, MMP-26 i MMP-23, w których brakuje regionu zawiasowego i domeny złożonej



z hemopeksyny). MMP dzieli się na podgrupy zgodnie z kryterium ich budowy oraz swoistością. W zależności od swoistości substratowej wyróżnia się sześć podgrupy MMP: kolagenazy, żelatynazy, stromielizyny, matrylizyny i metaloproteinazy typu błonowego oraz inne niesklasyfikowane. Metaloproteinazy należą do endoproteaz, które trawią cząsteczki białek na mniejsze fragmenty, z kolei egzoproteazy odcinają pojedyncze aminokwasy na końcach cząsteczek. Ze względu na budowę domeny katalitycznej można podzielić endoproteazy na proteazy serynowe, cysteinowe, asparaginianowe oraz metaloproteinazy. MMP syntetyzowane są w formie enzymatycznie nieaktywnych proenzymów – zymogenów i w tej postaci są wydzielane poza komórkę lub pozostają związane z błonami komórkowymi (metaloproteinazy typu błonowego MT-MMP, *membrane-type matrix metalloproteinases*). Enzymy te pełnią funkcję również we wnętrzu komórki: w jądrze, cytoplazmie oraz w organellach komórkowych. Głównym, fizjologicznym aktywatorem MMP jest plazmina, generowana w przebiegu aktywacji układu krzepnięcia i fibrynolizy, a także inne czynniki: czynnik aktywujący płytki krwi (PDGF, *platelet-derived growth factor*), LPS (liposacharydy), IL-1, TNF- $\alpha$ , ROS, proteazy serynowe (trypsyna, chymotrypsyna i trombina), elastaza oraz MMP (-1, -2, -8, -9) [91]. Aktywność większości metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej jest jednak niska i regulowana na poziomie transkrypcji, poprzez aktywację prekursorowych zymogenów proMMP i oddziaływania z endogennymi swoistymi inhibitorami (TIMP, tkankowe inhibitory metaloproteinaz) oraz nieodwracalnie z nieswoistym inhibitorem  $\alpha$ 2-makroglobuliną. Białka TIMP stanowią rodzinę 4 glikoprotein: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 i TIMP-4, które hamują aktywność MMP poprzez oddziaływania z ich domeną katalityczną [92]. Blokada transkrypcji MMP zachodzi również pod wpływem działania transformującego czynnika wzrostu  $\beta$  (TGF- $\beta$ , *transforming growth factor  $\beta$* ) glikokortykosterydów, retinoli, hormonów tarczycy, hormonów płciowych oraz IL-4, IL-10 i IL-13 (cytokin przeciwzapalnych) [93]. Zachowanie równowagi MMP/TIMP ma kluczowe znaczenie dla utrzymania integralności w zakresie wszystkich podstawowych układów narządowych ustroju, a konsekwencją zmiany aktywności MMP jest rozwój procesów patologicznych.

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej biorą udział w odpowiedzi zapalnej, tworząc przestrzeń do migracji dla komórek układu odpornościowego dzięki możliwościom przekształcania składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) oraz poprzez oddziaływania na białka połączeń międzykomórkowych rozcinając receptory oddziaływań macierz-komórka

oraz komórka-komórka. Elementy macierzy zewnątrzkomórkowej stanowią dynamiczną, stale zmieniającą się strukturę, otaczającą komórki w różnego typu tkankach. Należą do niej białka strukturalne (kolagen, elastyna), białka tworzące kompleksy z polisacharydami (proteoglikany) oraz glikoproteiny adhezyjne (fibronektyna, laminina, witronektyna, tenascyna). Sygnały z macierzy zewnątrzkomórkowej przekazywane są do wnętrza komórki za pomocą receptorów integrynowych. ECM jest również miejscem magazynowania czynników wzrostu, cytokin i chemokin. Zatem ECM nie jest tylko pasywną strukturą, ale czynnym układem biologicznym wpływającym na funkcje komórek [94]. MMP, które są wydzielane przez komórki zapalne reagujące na cytokiny i chemokiny są zarówno efektorami i regulatorami stanu zapalnego. MMP umożliwiają degradację błony podstawnej naczyń umożliwiając migrację leukocytów z naczyń krwionośnych do miejsca zapalenia. Napływ komórek stanu zapalnego wiąże się z gwałtownym wzrostem aktywności metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej. Wykazano, że granulocyty oraz niewielka grupa makrofagów przechowuje w cytoplazmatycznych granulach duże ilości zsyntezowanych metaloproteinaz. Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej bezpośrednio aktywują czynnik transformujący TGF- $\beta$  (MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9), prekursor interleukin (MMP-2, MMP-3, MMP-9) oraz prozapalne cytokiny IL1 $\beta$  oraz TNF- $\alpha$  związany z błoną komórkową (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9, MMP-12). TGF- $\beta$  odgrywa kluczową rolę w stymulacji syntezy białek zewnątrzkomórkowej macierzy, zwiększa ekspresję genu kolagenu typu I, w przeciwieństwie do TNF- $\alpha$ , który ją hamuje. Stanowi kluczowy czynnik w procesach naprawczych oraz gojenia się ran, a także w procesie angiogenezy. MMP i TGF- $\beta$  tworzą pętlę wzajemnego oddziaływania. Nieaktywny prekursor TGF $\beta$  magazynowany przez macierz zewnątrzkomórkową jest aktywowany proteolitycznie przez MMP, z kolei TGF $\beta$  reguluje ekspresję MMP i inhibitorów tkankowych TIMP [95]. Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej zdolne są również do pozytywnej i negatywnej kontroli stężenia interleukiny IL-1 $\beta$ . Potrafią zarówno proteolitycznie ją aktywować, jak i degradować jej formy aktywne. MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8 i MMP-9 dezaktywują chemokiny poprzez odcięcie od ich cząsteczki peptydu. Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej biorą udział w procesach angiogenezy. Angiogeneza to proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych z już istniejących, który wymaga degradacji błony podstawnej naczyń krwionośnych i przebudowy składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Kluczowe działanie w tym procesie mają metaloproteiny macierzy

zewnątrzkomórkowej. W proces unaczynienia zaangażowane są głównie dwie żelatynazy – żelatynaza A (MMP-2) i żelatynaza B (MMP-9). MMP są niezbędne do uwalniania magazynowanych przez ECM czynników proangiogennych obejmujące takie czynniki jak naczyniowe czynniki wzrostu śródbłonna (VEGF), czynniki wzrostu fibroblastów (FGF), angiopoetyny, TGF  $\beta$ , PDGF, TNF- $\alpha$ , naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), IL-8 i angiogenina. Równolegle przekazywane są sygnały antyangiogenne celem zachowania równowagi [96]. W patologicznej angiogenezie równowaga ulega zaburzeniu, prowadząc do wielu patologii. Wzrost aktywności MMP jest związany również z natężeniem procesu angiogenezy w guzach nowotworowych [97]. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej biorą udział w rozwoju i regeneracji neuronów. W mięśniach szkieletowych MMP odgrywają ważną rolę w homeostazie komórek mięśni szkieletowych, ułatwiając dostęp komórek satelitarnych mięśni szkieletowych i regenerację w miejscach uszkodzonych. Podsumowując, metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej uczestniczą w procesach regeneracyjnych, wpływając na odtworzenie unaczynienia i unerwienia. A najważniejszymi procesami, które wymagają degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej to gojenie się ran, remodeling kości i udział w procesach zapalnych.

### **2.8.1. Kolegenazy typu IV = Żelatynazy (MMP-2 i MMP-9)**

MMP-2 oraz MMP-9 pełnią kluczową funkcję metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej jaką jest degradacja kolagenu typu IV (podstawowego elementu błony podstawnej naczyń krwionośnych) umożliwia komórkom migrację i udział podczas odpowiedzi zapalnej oraz remodelingu tkanek. MMP-2 i MMP-9 są szczególnie zaangażowane w inwazję nowotworu i powstawania przerzutów. MMP-2 i MMP-9 są strukturalnie podobne do innych proteinaz z rodziny MMP, ale różnią się tym, że mają domenę wiążącą kolagen złożoną z trzech powtórzeń tandemowych fibronektyny typu II na N-końcu domeny katalitycznej, co jest potrzebne dla wiązania żelatyny.

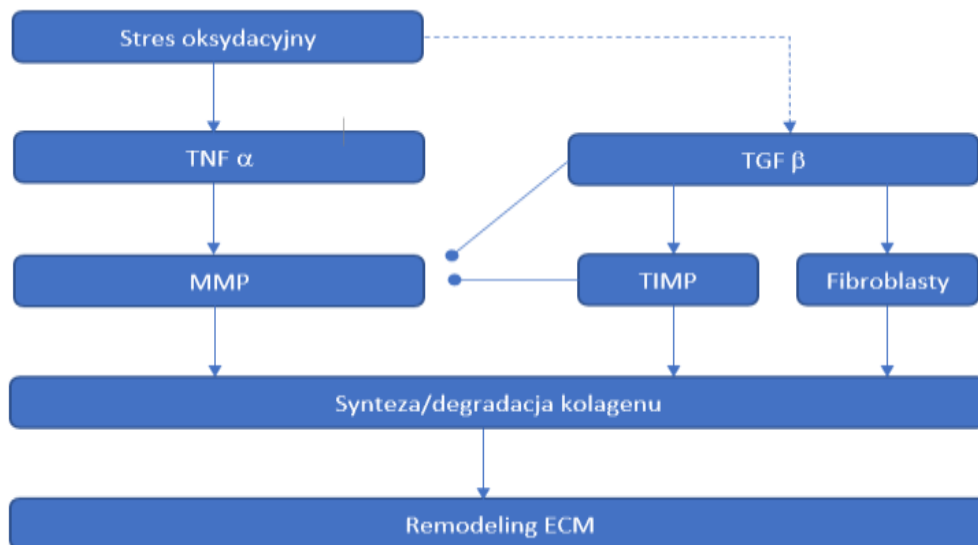
#### **2.8.1.1. Metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej 2 (MMP-2)**

jest nazywana także żelatynazą A lub kolagenazą typu IV o masie 72 kDa. Kodowana przez gen *MMP2* zlokalizowany na chromosomie 16q13-q21. MMP-2 jest enzymem wydzielanym głównie przez komórki niezapalne (fibroblasty, komórki śródbłonna i nabłonkowe) dzięki temu staje się częścią macierzy pozakomórkowej [98]. Aktywacja MMP-2 może nastąpić przez

proteolityczne usunięcie jej propeptydu, które jest przeprowadzane przez MMP typu błonowego lub proteazy serynowe. Czynniki nieproteolityczne, takie jak bioaktywne peptydy, siły hemodynamiczne, cytokiny, reaktywne formy tlenu i azotu, czynniki wzrostu również przyczyniają się do aktywacji MMP-2.

#### **2.8.1.2. Metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej 9 (MMP-9)**

to żelatynaza B, nazywana kolagenazą typu IV o masie 92 kDa. Kodowana przez gen *MMP9* zlokalizowana na chromosomie 20q11.2-q13.1. MMP-9 jest wydzielany głównie przez komórki zapalne (neutrofile, monocyty, makrofagi), ale również przez komórki nabłonkowe, fibroblasty, keratynocyty, osteoblasty. MMP-9 odgrywa kluczową rolę w migracji komórek zapalnych. Jak już wcześniej wspomniano, metaloproteinazy mają też swój negatywny udział prowadząc do progresji wielu chorób. Niewątpliwie przyczyniają się do tego MMP-2 i MMP-9 ze względu na zdolność do rozkładu dużej liczby komponentów ECM. Uznaje się, że nadmierna aktywność MMP-2 i MMP-9 przyczynia się do rozwoju miażdżycy, zawału serca, powstawaniu tętniaków oraz progresji nadciśnienia tętniczego i niewydolności serca [99]. Badania wykazały, że w zawale mięśnia sercowego występuje wzrost stężenia MMP-9 w monocytach i MMP-2 w komórkach mięśni gładkich. Podczas zawału serca dochodzi do wzrostu wydzielania troponin jako markera biochemicznego uszkodzenia serca. Wynika to z faktu, że troponiny są rozkładane przez wewnątrzkomórkowe proteazy (m.in. kalpaina-I, kaspazy, MMP-2). Przedmiotem szczególnych badań jest poznanie wpływu metaloproteinaz na proces przerzutowania nowotworów oraz unaczyniania nowotworu (neoangiogenezy). Komórki nowotworowe uzyskując zdolność do przenikania otaczających tkanek i naczyń krwionośnych, dzięki penetracji błony podstawnej naczyń krwionośnych i limfatycznych oraz degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej.



**Rycina 4.** Stres oksydacyjny i wpływ na aktywność MMP

MMP są niezbędne do przebudowy i rozwoju macierzy zewnątrzkomórkowej, a także do wzrostu i homeostazy tkanek. Stres oksydacyjny prowadzi do aktywacji:  $TNF-\alpha$ ,  $TGF-\beta$ , MMP.  $TNF-\alpha$  może stymulować MMP i hamować TIMP.  $TGF-\beta$  może hamować MMP i stymulować TIMP i fibroblasty. MMP degradowe kolagen, ale TIMP i fibroblasty hamują degradację kolagenu i promują syntezę kolagenu, co determinuje przebudowę kolagenu ECM.

## 2.9. Metaloproteiny a otyłość

Metaloproteiny macierzy pozakomórkowej, szczególnie aktywność MMP-2 i MMP-9 znalazły znaczenie w rozwoju i progresji toczącego się stanu zapalnego w otyłości [100]. Badania wykazały, że aktywność metaloprotein MMP-2 i MMP-9 rośnie wraz ze wzrostem wskaźnika BMI, co sugeruje nieprawidłowy metabolizm podczas adipogenezy. Istnieją również dowody na to, że stężenie krążących metaloprotein macierzy i ich inhibitorów tkankowych ulegają zmianie w otyłości i mogą mieć wpływ na jej patogenezę. Nadmierna ilość tkanki tłuszczowej charakteryzuje się stanem przewlekłego zapalenia, co prowadzi do niestabilności macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) wynikającej z jej ciągłej przebudowy. Szczególną rolę odgrywają metaloproteiny MMP-2 i MMP-9, które degradowe błonę podstawną naczyń krwionośnych, a tym samym sprzyjają migracji komórek zapalnych. Kolonizacja komórek zapalnych w obrębie adipocytów oraz ECM potęguje zapalenie. Zaburzenia metaboliczne w obrębie tkanki tłuszczowej mogą zakończyć się procesami degeneracyjnym, apoptozą i włóknieniem. Wzrost przepuszczalności naczyń wynikający z degradacji kolagenu IV przez żelatynazy MMP-2 i MMP-9 świadczą o głównej roli tych metaloprotein w ekspansji komórek zapalnych, cytokin, chemokin w obrębie tkanki tłuszczowej objętej procesem zapalnym. Dodatkowo MMP-9 wydzielane są przez komórki zapalne (neutrofile, monocyty,

makrofagi) co sugeruje, że jej wzrost jest markerem toczącego się jawnego stanu zapalnego. Słuszność tej tezy pokazują badania García-Prieto i wsp. [101] wśród otyłych osób poddanych operacji bariatrycznej. Wykazano spadek stężenia zarówno MMP-2, jak i MMP-9 w wyniku spadku masy ciała w czasie 12 miesięcy od operacji. Większą różnicę aktywności wykazano dla MMP-9. Co więcej, wykazano dodatnią korelację między liczbą leukocytów i liczbą neutrofilów a aktywnością MMP-9. MMP-9 odgrywa szczególną rolę w zaburzeniach gospodarki węglowodanowej, wynikającej z możliwości degradacji insuliny co sprzyja hiperglikemii. Bouloumié i in. [102] wykazali, że modulacja ECM poprzez MMP lub inhibitory metaloproteinaz (TIMP-1) mogą być ważnym kluczowym regulatorem różnicowania adipocytów. Z kolei Mazor i in. [103] wykazali, że obecność MMP-2 w podwzgórzu powoduje przyrost masy ciała u myszy. Otyłość indukuje aktywację MMP-2 w podwzgórzu, co osłabia późniejszą kaskadę sygnalizacyjną leptyny, wynikającą z jej częściowej degradacji. Ponadto badacze uznali, że wysokotłuszczowe i wysokokaloryczne diety mogą wywoływać stan zapalny wynikający nie tylko z zapalenia ogólnoustrojowego, ale także docierającego do podwzgórza, który cechuje wzrost aktywności MMP-2. Dowody sugerują udział MMP w otyłości. W badaniu na myszach, MMP - 2 jest silnie wyrażany w tkance tłuszczowej z otyłością indukowaną żywieniowo, a także u myszy genetycznie otyłych. Zahamowanie żelatynaz (MMP-2 i MMP-9) inhibitorem (Tolylsam) wykazało zmniejszenie przyrostu masy ciała nawet po spożyciu HFD (*high fat diet*). Co więcej, wykazano spadek stężenia leptyny oraz wzrost adiponektyny [104]. W badaniu Jaworski i wsp. [105] wykazano, że myszy pozbawione inhibitora metaloproteinaz (TIMP-2) mają zmniejszone hamowanie MMP i wykazują wzrost ilości tkanki tłuszczowej. Zablokowanie aktywności wyżej wymienionych enzymów mogłoby ograniczyć patologię wynikającą z istotnego wzrostu czynników prozapalnych. Tak samo jak zastosowanie specyficznych TIMP przeciwko konkretnym MMP mogłoby przynieść korzystny efekt terapeutyczny. Dotychczas trudno określić moment, w którym powinno się blokować aktywność metaloproteinaz, a także dalsze konsekwencje dla organizmu w wyniku modyfikacji ich stężenia.

### 3. Cele pracy

Celem głównym pracy była identyfikacja zależności między stężeniem cynku oraz stężeniem metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 z parametrami zaburzeń metabolicznych, stanu zapalnego, funkcją nerek i wątroby u osób otyłych.

Cel główny realizowany był przez następujące cele pomocnicze:

1. Ocena stężenia cynku w surowicy osób otyłych oraz określenie zależności między stężeniem cynku a gospodarką lipidową, stężeniem glukozy, parametrami funkcji nerek i wątroby, stężeniem CRP oraz ciśnieniem tętniczym u osób otyłych.
2. Ocena stężenia MMP-2 i MMP-9 w surowicy osób otyłych oraz określenie zależności między stężeniem metaloproteinaz a gospodarką lipidową, stężeniem glukozy, parametrami funkcji nerek i wątroby, stężeniem CRP oraz ciśnieniem tętniczym u osób otyłych.
3. Porównanie stężenia cynku i metaloproteinaz oraz ich korelacji z analizowanymi parametrami u kobiet i mężczyzn.

## **4. Materiał i metody**

### **4.1. Badana populacja**

Projekt badawczy został wyodrębniony z badania pt. „Ocena czynników ryzyka otyłości i jej powikłań” objętego Uchwałą Komisji Bioetycznej nr 359/15 z dnia 09.04.2015r.

Badanie „Znaczenie cynku w patogenezie otyłości i jej powikłań” uzyskało pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w dniu 10.01.2019r, uchwała nr 89/19.

Badania prowadzono w różnych miastach województwa wielkopolskiego, w ramach Pikników Wielkopolskich. Łącznie przebadano 829 osób, po zastosowaniu kryteriów włączenia i wyłączenia do dalszych badań włączono 517 osób.

Badania prowadzono w Instytucie Żywienia Człowieka i Dietetyki, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz w Katedrze i Zakładzie Leczenia Otyłości, Zaburzeń Metabolicznych i Dietetyki Klinicznej, Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

#### **Kryteria włączenia do badania:**

- uzyskanie pisemnej zgody pacjenta
- BMI > 30
- stabilna masa ciała w okresie miesiąca przed rozpoczęciem badania (dopuszczalne wahanie masy ciała  $\pm 1$  kg).
- wiek 18-65

#### **Kryteria włączenia do badania grupy kontrolnej:**

- uzyskanie pisemnej zgody pacjenta
- BMI < 25
- stabilna masa ciała w okresie miesiąca przed rozpoczęciem badania (dopuszczalne wahanie masy ciała  $\pm 1$  kg).
- wiek 18-65



**Kryteria wyłączenia z badania:**

- klinicznie istotny ostry lub przewlekły proces zapalny w obrębie układu oddechowego, pokarmowego, moczowo-płciowego, tkanki łącznej
- infekcja w okresie miesiąca przed rozpoczęciem badania
- nikotynizm, alkoholizm
- ciąża, poród lub laktacja w czasie badania i w okresie 3 miesięcy przed rozpoczęciem badania
- wtórna postać otyłości, wtórna postać nadciśnienia tętniczego
- wahania wartości ciśnienie tętniczego
- cukrzyca
- choroba niedokrwienna serca
- udar mózgu
- niewydolność serca
- klinicznie istotna arytmia
- trwająca złośliwa choroba nowotworowa
- stosowanie suplementów diety w okresie 3 miesięcy przed rozpoczęciem badania

## 4.2. Metodyka pracy

Po zakwalifikowaniu do badania na podstawie kryteriów włączenia i wyłączenia wszystkie osoby uczestniczące w badaniu zostały poddane niżej opisanym procedurom.

Pełne badanie przedmiotowe z oceną elementów antropometrycznych

- aktualna masa ciała i wzrost

Pomiar aktualnej masy ciała został przeprowadzony za pomocą wagi z dokładnością pomiaru 0,1 kg i wzrostomierza RADWAG WPT 100/200 OW (Radom, Polska). Pomiary zostały wykonane rano, na czczo, bez obuwia i w białym. Pomiar wzrostu został wykonany z dokładnością do 0,5 cm.

- wskaźnik masy ciała został wyliczony ze wzoru:  $BMI = \text{masa ciała [kg]} / \text{wzrost [m]}^2$

Ciepłota tętnicza została zmierzona zgodnie z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (European Society of Hypertension ESH) i Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (European Society of Cardiology ESC) z 2019 roku. Pomiar ciepłoty był dokonywany na obydwu ramionach. Pomiaru dokonano po 5 min odpoczynku. W przypadku różnicy ciepłoty > 10 mmHg między kończynami do analizy wybierano wynik z kończyny górnej z wyższym wskazaniem ciepłoty tętniczego. Kolejnych dwóch pomiarów dokonywano w odstępach dwuminutowych. Badania były przeprowadzone trzykrotnie w odstępach dwuminutowych w pozycji siedzącej. Odpowiednio dobrany mankiet zakładano na ramię na wysokości serca. Do badania użyto standardowo mankieta o szerokości 13 cm i długości 35 cm. Dla osób o obwodzie powyżej 32 cm użyto odpowiednio większego mankieta. Na podstawie uzyskanych trzech pomiarów obliczono średnią wartość ciepłoty tętniczego. Do badania użyto aparatu elektronicznego z walidacją ESH (model 705IT, Omron Corporation™, Kyoto, Japonia).

Badania laboratoryjne

Od wszystkich uczestników badania została pobrana krew żylna z żyły łokciowej. Pobranie miało miejsce rano po wypoczynku nocnym, na czczo, z co najmniej 12 godzin od ostatniego posiłku. Część krwi została poddana odwirowaniu, a otrzymaną surowicę zamrożono w temperaturze -80°C do dalszych analiz.

W surowicy wykonano oznaczenia następujących parametrów:

stężenie cynku, stężenie metaloproteinaz (MMP-2, MMP-9), stężenie CRP, stężenie cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL, cholesterolu HDL, triglicydy TG, stężenie glukozy, stężenie AST, stężenie ALT, stężenie kwasu moczowego, stężenie kreatyniny i eGFR.

Oznaczenia wykonano za pomocą następujących metod:

- cynk – metoda atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu (Atomic Absorption Spectrophotometer ZA3000, Hitachi, Tokyo, Japan)

Metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu wykonano oznaczenie stężenia cynku. Najpierw surowicę poddano mineralizacji z użyciem 65% kwasu azotowego (sectra pure, Merck) w mineralizatorze mikrofalowym (Speedwave XPERT, Berghof, Eningen, Germany). Po rozcieńczeniu prób wodą dejonizowaną oznaczono w nich stężenie cynku metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu (Atomic Absorption Spectrophotometer ZA3000, Hitachi, Tokyo, Japan). W celu określenia dokładności metody zastosowano certyfikowany materiał odniesienia: HUMAN ASSAYED MULTI-SERA-LEVEL 2 (Randox). Zgodność oznaczenia cynku w materiale odniesienia dla surowicy wynosiła 95%.

- metaloproteinazy (MMP-2, MMP-9) – metoda ELISA typu „sandwich” przy użyciu kitów firmy BIOlim.

Stężenie metaloproteinaz wykonano przy użyciu kitów firmy BIOlim metodą ELISA typu „sandwich”. Płytkę mikro ELISA została wstępnie pokryta przeciwciałem swoistym dla ludzkiego MMP-2 i MMP-9. Przeprowadzono inkubację z antygenem, a następnie z roztworem swoistej immunoglobuliny. Całość poddano inkubacji z roztworem przeciwciała drugorzędowego, wyznakowanego enzymem awidyna-peroksydaza chrzanowa (HRP). Uzyskano reakcję barwną, otrzymując kolor niebieski (tylko w miejscach w którym były obecne MMP). Reakcja enzym-substrat zakończono przez dodanie roztworu zatrzymującego, kolor zmienił się na żółty. Gęstość optyczną (OD) zmierzono spektrofotometrycznie przy długości fali  $450\text{ nm} \pm 2\text{ nm}$ . Wartość OD była proporcjonalna do stężenia ludzkiego MMP-2 i MMP-9. Obliczono stężenie MMP w próbkach porównując gęstość optyczną próbek z krzywą standardową

- CRP – metoda Immunoturbidymetryczna (latex) Cobas 6000 Integra 400 plus

Metodą immunoturbidymetryczną wykonano oznaczenie CRP. Badaną próbkę mieszano z buforem i zawiesiną lateksu. W tak powstałej mieszaninie dochodzi do swoistej reakcji

wiązania CRP z opłaszczonymi na cząstkach lateksu przeciwciałami przeciwko ludzkiemu CRP. Wynikiem reakcji są nierozpuszczalne agregaty, a absorbancja powstałej zawiesiny jest proporcjonalna do stężenia CRP w próbówce. Oznaczenia wykonano z użyciem analizatora biochemicznego firmy Roche Cobas Integra 400 Plus.

- glukoza – metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus
- kreatynina – metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus
- eGFR- metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus
- kwas moczowy – metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus
- AST metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus
- ALT metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus
- Cholesterol całkowity metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus
- HDL metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus
- LDL metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus
- TG metoda spektrofotometryczna Cobas 6000 Integra 400 plus

Metoda spektrofotometryczna polega na pomiarze intensywności światła przechodzącego przez roztwór próbki. Podstawową zasadą jest różne pochłanianie lub przepuszczanie światła w pewnym zakresie długości fali przez próbkę z badanym parametrem biochemicznym. Oznaczenia wykonano z użyciem analizatora biochemicznego firmy Roche Cobas Integra 400 plus.

#### 4.3. Analiza statystyczna

Obliczenia statystyczne zostały wykonane za pomocą programu firmy StatSoft, Inc. (2014), STATISTICA (data analysis software system), version 12 ([www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)). Wyniki przedstawiono za pomocą średniej, odchylenia standardowego (SD), mediany, minimum i maksimum. Wyniki uznano za istotne statystycznie przy wartości  $p < 0,05$ . Do oceny zgodności z rozkładem normalnym użyto test Shapiro-Wilka. Dane nie wykazywały zgodności z rozkładem normalnym. Porównanie między grupami wykonano za pomocą nieparametrycznego testu Manna-Whitney'a. Zależności między parametrami określono przy użyciu korelacji Spearmana. Przeprowadzono również analizę regresji wielorakiej.

#### 4.4. Krytyka metody

Ograniczeniem pracy jest włączenie do badania osób jedynie z rejonu Wielkopolski. Z jednej strony ogranicza to wnioskowanie do tej wąskiej grupy populacji, z drugiej jednak strony badanie prowadzono na specyficznej i można przyjąć, że bardziej homogenicznej populacji. W badanej populacji nie udało się zachować równych proporcji między kobietami i mężczyznami, wynikało to z faktu, że odsetek kobiet zgłaszających się do badania było znacząco większy. Poza tym zakres wieku osób włączonych do projektu był dość szeroki. Zaznaczyć jednak trzeba, że w obu grupach: badanej i kontrolnej mediany wieku nie różniły się istotnie.

W pracy nie ma również danych dotyczących stosowanych leków przez osoby biorące udział w badaniu. Informacja o stosowanych lekach mogłaby znacząco wpłynąć na interpretacje uzyskanych wyników. Te informacje na pewno zostaną uzupełnione w planowaniu kolejnych tego typu badań.

Z powodów ekonomicznych w projekcie nie oceniono: parametrów stresu oksydacyjnego (TAS), innych (niż CRP) parametrów zapalnych (IL-6, TNF- $\alpha$ ) oraz tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (TIMP). Nie oceniono stężenia insuliny i wskaźników insulinooporności.

Stężenie cynku oceniono jedynie na podstawie jego zawartości w surowicy, a warto byłoby oznaczyć stężenie tego pierwiastka również w erytrocytach.

Ważnym elementem w pracy, który stanowi jej ograniczenie jest brak parametrów żywieniowych. Nie przeprowadzono wywiadu żywieniowego i nie wykonano analizy sposobu żywienia badanych osób. Nie zaplanowano tej analizy z przyczyn czasowych i ekonomicznych. Projekt objął badaniem blisko tysiąc mieszkańców Wielkopolski i nie było możliwości przeprowadzenia rzetelnego wywiadu żywieniowego z tak dużą ilością osób badanych. Z podobnych przyczyn nie wykonano oceny składu ciała u badanych osób.

Należy jednak zaznaczyć, że w trakcie badania dokładnie przestrzegano procedur pobierania i przechowywania krwi. W pracy oceniano również ciśnienie tętnicze krwi. Pomiar przeprowadzono zgodnie z obowiązującymi standardami i wytycznymi towarzystw naukowych. W grupie pacjentów otyłych zastosowano szeroki mankieta. Dokładniejszą metodą jest 24 godzinny pomiar ciśnienia tętniczego metodą holterowską. Z uwagi na ograniczenia czasowe i ekonomiczne w niniejszej pracy nie wykonano tego badania.

Technika ELISA, która została użyta do oznaczenia MMPs jest użyteczną techniką jakościową i ilościową, w przeciwieństwie do zymografii, której brakuje swoistości i oceny ilościowej. Technika ELISA wykrywa zarówno aktywne, jak i nieaktywne formy enzymu i może nie odzwierciedlać faktycznej aktywności enzymu. Obserwowana w literaturze rozbieżność wyników stężenia MMPs w badanych populacjach może być również spowodowana innym podejściem metodycznym przeprowadzanych analiz.

## 5. Wyniki

### 5.1. Charakterystyka badanych osób

W niniejszej pracy przebadano łącznie 517 osób, 235 osób z otyłością oraz 282 osoby z prawidłową masą ciała, które stanowiły grupę kontrolną. Każdą grupę podzielono również na kobiety i mężczyzn. W badaniu wzięło udział łącznie 398 kobiet, w tym 173 z otyłością i 225 w grupie kontrolnej. Mężczyzn biorących udział w badaniu było mniej- 119 osób, w tym 62 z otyłością i 57 z prawidłową masą ciała.

Charakterystyka grupy ogółem, jak i charakterystyka wszystkich kobiet i mężczyzn są przedstawione w tabelach 6, 7 i 8.



Tabela 6. Charakterystyka osób badanych ogółem (n=517)

| Parametr                 | Średnia | SD     | Mediana | Minimum | Maksimum | Q1      | Q3      |
|--------------------------|---------|--------|---------|---------|----------|---------|---------|
| Wiek (lata)              | 53.08   | 14.79  | 57.00   | 19.00   | 65.00    | 40.00   | 61.00   |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 27.49   | 6.51   | 24.50   | 16.60   | 53.28    | 22.12   | 32.30   |
| Glukoza (mg/dl)          | 92.06   | 19.04  | 89.00   | 48.00   | 256.00   | 81.00   | 99.00   |
| SBP (mmHg)               | 133.03  | 20.71  | 130.00  | 87.00   | 205.00   | 118.00  | 146.00  |
| DBP (mmHg)               | 80.58   | 11.88  | 80.00   | 47.00   | 140.00   | 73.00   | 88.00   |
| HR                       | 77.50   | 12.64  | 75.00   | 17.00   | 121.00   | 69.00   | 84.00   |
| Kreatynina (mg/dl)       | 0.75    | 0.16   | 0.70    | 0.40    | 1.40     | 0.60    | 0.80    |
| eGFR (ml/min)            | 60.71   | 2.13   | 61.00   | 27.40   | 61.00    | 61.00   | 61.00   |
| Kwas moczowy (mg/dl)     | 4.95    | 1.37   | 4.70    | 1.90    | 10.70    | 4.00    | 5.80    |
| CRP (mg/l)               | 4.20    | 2.44   | 3.90    | 1.10    | 22.20    | 2.44    | 3.90    |
| AST (IU/l)               | 28.09   | 10.43  | 26.00   | 13.00   | 127.00   | 22.00   | 30.00   |
| ALT (IU/l)               | 29.81   | 17.57  | 26.00   | 10.00   | 188.00   | 20.00   | 33.00   |
| CHOL (mg/dl)             | 200.36  | 40.83  | 197.00  | 110.00  | 371.00   | 171.00  | 227.00  |
| HDL (mg/dl)              | 66.21   | 17.60  | 63.00   | 31.00   | 132.00   | 53.00   | 76.00   |
| LDL (mg/dl)              | 108.12  | 41.07  | 107.00  | 22.00   | 350.00   | 79.00   | 132.00  |
| TG (mg/dl)               | 140.13  | 100.78 | 118.00  | 29.00   | 1410.00  | 77.00   | 175.00  |
| MMP2 (ng/ml)             | 58.48   | 13.96  | 59.30   | 31.00   | 90.80    | 49.40   | 68.80   |
| MMP9 (ng/ml)             | 1420.28 | 275.36 | 1425.00 | 711.00  | 2053.00  | 1242.50 | 1608.00 |
| Zn (µg/ml)               | 0.89    | 0.26   | 0.84    | 0.27    | 1.98     | 0.70    | 1.05    |

Q1- kwartył pierwszy (25%), Q3-kwartył trzeci (75%), SD-odchylenie standardowe, BMI - wskaźnik masy ciała ( body mass index), SBP - skurczowe ciśnienie tętnicze (systolic blood pressure), DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze ( diastolic blood pressure), HR -częstość rytmu serca (heart rate), Kreat – kreatynina, eGFR - szacunkowy współczynnik przesączania kłębuszkowego ( estimated glomerular filtration rate ), kw. moczowy – kwas moczowy, CRP - białko ostrej fazy (C Reactive Protein), AST – aminotransferaza asparaginowa (aspartate aminotransferase ), ALT – aminotransferaza alaninowa (alanine aminotransferase ), CHOL – cholesterol całkowity, HDL – lipoproteina wysokiej gęstości ( high density lipoprotein), LDL - lipoproteina niskiej gęstości (low-density lipoprotein), TG – trójglicerydy ( triacyloglycerole ), MMP - Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (matrix metalloproteinases ), Zn – cynk

**Tabela 7.** Charakterystyka kobiet ogółem (n=398)

| Parametr                    | Średnia | SD     | Mediana | Minimum | Maksimum | Q1      | Q3      |
|-----------------------------|---------|--------|---------|---------|----------|---------|---------|
| Wiek (lata)                 | 52.68   | 14.87  | 56.00   | 19.00   | 65.00    | 40.00   | 61.00   |
| BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> ) | 27.39   | 6.71   | 24.30   | 16.60   | 53.28    | 22.10   | 32.50   |
| Glukoza<br>(mg/dl)          | 91.98   | 18.93  | 88.50   | 48.00   | 256.00   | 81.00   | 99.00   |
| SBP<br>(mmHg)               | 131.51  | 21.33  | 128.00  | 87.00   | 205.00   | 115.00  | 145.00  |
| DBP<br>(mmHg)               | 79.89   | 11.83  | 79.00   | 47.00   | 140.00   | 72.00   | 87.00   |
| HR                          | 78.22   | 12.39  | 76.00   | 48.00   | 121.00   | 70.00   | 85.00   |
| Kreatynina<br>(mg/dl)       | 0.71    | 0.14   | 0.70    | 0.40    | 1.30     | 0.60    | 0.80    |
| eGFR<br>(ml/min)            | 60.53   | 2.39   | 61.00   | 27.40   | 61.00    | 61.00   | 61.00   |
| Kwas<br>moczowy<br>(mg/dl)  | 4.66    | 1.26   | 4.50    | 1.90    | 10.70    | 3.80    | 5.30    |
| CRP<br>(mg/l)               | 4.40    | 2.55   | 3.90    | 1.50    | 22.20    | 3.00    | 3.90    |
| AST<br>(IU/l)               | 27.61   | 10.49  | 26.00   | 13.00   | 127.00   | 22.00   | 30.00   |
| ALT<br>(IU/l)               | 28.51   | 17.12  | 24.00   | 10.00   | 188.00   | 19.00   | 31.00   |
| CHOL<br>(mg/dl)             | 202.57  | 42.00  | 198.00  | 110.00  | 371.00   | 174.00  | 228.00  |
| HDL<br>(mg/dl)              | 69.13   | 17.79  | 67.00   | 34.00   | 132.00   | 56.00   | 80.00   |
| LDL<br>(mg/dl)              | 106.81  | 37.60  | 107.00  | 22.00   | 234.00   | 77.00   | 133.00  |
| TG<br>(mg/dl)               | 131.60  | 74.00  | 117.00  | 29.00   | 555.00   | 77.00   | 170.00  |
| MMP2<br>(ng/ml)             | 54.86   | 14.50  | 56.75   | 31.00   | 80.80    | 41.00   | 64.40   |
| MMP9<br>(ng/ml)             | 1349.18 | 294.37 | 1319.00 | 711.00  | 1927.00  | 1095.00 | 1551.00 |
| Zn<br>(µg/ml)               | 0.91    | 0.27   | 0.87    | 0.31    | 1.98     | 0.70    | 1.05    |

**Tabela 8.** Charakterystyka mężczyzn ogółem (n=119)

| Parametr                 | Średnia | SD     | Mediana | Minimum | Maksimum | Q1      | Q3      |
|--------------------------|---------|--------|---------|---------|----------|---------|---------|
| Wiek (lata)              | 54.42   | 14.49  | 58.00   | 23.00   | 65.00    | 41.00   | 60.00   |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 27.80   | 5.79   | 30.10   | 17.79   | 44.20    | 22.70   | 32.07   |
| Glukoza (mg/dl)          | 92.30   | 19.48  | 90.00   | 59.00   | 247.00   | 83.00   | 98.00   |
| SBP (mmHg)               | 136.92  | 21.58  | 136.00  | 109.0   | 200.00   | 125.00  | 150.00  |
| DBP (mmHg)               | 82.87   | 11.81  | 82.00   | 55.00   | 116.00   | 75.00   | 89.00   |
| HR                       | 75.09   | 13.20  | 74.00   | 17.00   | 114.00   | 67.00   | 81.00   |
| Kreatynina (mg/dl)       | 0.87    | 0.15   | 0.90    | 0.50    | 1.40     | 0.80    | 1.00    |
| eGFR (ml/min)            | 60.91   | 0.73   | 61.00   | 53.70   | 61.00    | 61.00   | 61.00   |
| Kwas moczowy (mg/dl)     | 5.94    | 1.27   | 5.90    | 2.80    | 8.70     | 5.00    | 6.70    |
| CRP (mg/l)               | 3.66    | 2.39   | 3.00    | 1.10    | 17.90    | 3.00    | 3.00    |
| AST (IU/l)               | 29.70   | 10.12  | 27.00   | 18.00   | 85.00    | 23.00   | 32.00   |
| ALT (IU/l)               | 34.29   | 18.42  | 29.50   | 12.00   | 148.00   | 22.50   | 41.50   |
| CHOL (mg/dl)             | 192.96  | 35.86  | 195.00  | 121.00  | 324.00   | 169.00  | 215.00  |
| HDL (mg/dl)              | 56.57   | 12.99  | 55.00   | 31.00   | 99.00    | 48.00   | 63.00   |
| LDL (mg/dl)              | 112.73  | 51.44  | 107.00  | 48.00   | 350.00   | 84.00   | 129.00  |
| TG (mg/dl)               | 168.37  | 157.49 | 124.00  | 42.00   | 1410.00  | 77.50   | 201.00  |
| MMP2 (ng/ml)             | 62.09   | 12.58  | 61.20   | 33.70   | 90.80    | 54.50   | 69.50   |
| MMP9 (ng/ml)             | 1491.38 | 238.49 | 1486.00 | 1001.00 | 2053.00  | 1351.00 | 1653.00 |
| Zn (µg/ml)               | 0.84    | 0.23   | 0.78    | 0.27    | 1.57     | 0.69    | 1.00    |

## 5.2. Porównanie grupy badanej z grupą kontrolną

Porównanie grupy osób otyłych i z prawidłową masą ciała wykazało wiele istotnych różnic w analizowanych parametrach. W grupie badanej stwierdzono znacząco wyższe wartości dla wskaźnika BMI, ciśnienia tętniczego, stężenia glukozy, kreatyniny, kwasu moczowego, AST,

ALT i trójglicerydów oraz znacząco niższe stężenie dla cholesterolu HDL w porównaniu z grupą kontrolną (Tabela 9).

**Tabela 9.** Porównanie wskaźnika BMI, ciśnienia tętniczego i parametrów biochemicznych w badanej populacji ogółem.

| Parametr                    | Grupa badana<br>(n=235) |         | Grupa kontrolna<br>(n=282) |         | P      |
|-----------------------------|-------------------------|---------|----------------------------|---------|--------|
|                             | średnia±SD              | mediana | średnia±SD                 | mediana |        |
| Wiek<br>(lata)              | 57.99±<br>12.45         | 62.00   | 53.98±<br>15.35            | 58.00   | NS     |
| BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> ) | 33.87±<br>3.84          | 32.70   | 22.21±<br>1.89             | 22.38   | <0.001 |
| Glukoza<br>(mg/dl)          | 95.28±<br>21.54         | 91.00   | 89.34±<br>16.18            | 86.00   | <0.001 |
| SBP<br>(mmHg)               | 140.97±<br>19.75        | 140.00  | 126.42±<br>19.23           | 123.00  | <0.001 |
| DBP<br>(mmHg)               | 84.69±<br>12.74         | 84.00   | 77.16±<br>9.92             | 76.00   | <0.001 |
| HR                          | 76.77±<br>11.65         | 75.00   | 78.12±<br>13.41            | 77.00   | NS     |
| Kreatynina<br>(mg/dl)       | 0.78±<br>0.17           | 0.80    | 0.72±<br>0.14              | 0.70    | <0.001 |
| eGFR<br>(ml/min)            | 60.53±<br>2.18          | 61.00   | 60.87±<br>2.06             | 61.00   | NS     |
| Kwas<br>moczowy<br>(mg/dl)  | 5.67±<br>1.38           | 5.50    | 4.32±<br>1.01              | 4.30    | <0.001 |
| CRP<br>(mg/l)               | 4.70±<br>3.43           | 3.00    | 4.17±<br>1.55              | 3.90    | <0.001 |
| AST<br>(IU/l)               | 29.99±<br>12.72         | 27.00   | 26.45±<br>7.61             | 25.00   | <0.001 |
| ALT<br>(IU/l)               | 36.70±<br>21.75         | 30.00   | 23.86±<br>9.55             | 22.00   | <0.001 |
| CHOL<br>(mg/dl)             | 199.76±<br>40.69        | 196.50  | 200.86±<br>41.03           | 200.00  | NS     |
| HDL<br>(mg/dl)              | 58.79±<br>14.11         | 58.00   | 72.71±<br>17.81            | 70.00   | <0.001 |
| LDL<br>(mg/dl)              | 110.06±<br>42.84        | 108.00  | 106.54±<br>39.58           | 99.00   | NS     |
| TG<br>(mg/dl)               | 172.85±<br>121.14       | 147.00  | 112.53±<br>68.67           | 94.00   | <0.001 |

NS-nie istotne statystycznie; p-poziom istotności; test Mann-Whitney'a ( $p<0.05$ )

Badaną populację ogółem, jak i kobiety i mężczyzn podzielono na podgrupy wyodrębniając grupę badaną - osoby otyłe i grupę kontrolną –osoby z prawidłową masą ciała.

Porównując otyłe kobiety z grupą kontrolną stwierdzono podobne różnice istotne statystycznie jak w populacji ogółem. W grupie badanej wykazano znacząco wyższe wartości dla wskaźnika BMI, ciśnienia tętniczego, stężenia glukozy, kreatyniny, kwasu moczowego, AST, ALT i triglicerydów oraz znacząco niższe stężenie dla cholesterolu HDL w porównaniu z grupą

kobiet o prawidłowej masie ciała. W grupie kontrolnej kobiet wykazano wyższe wartości mediany białka CRP (Tabela 10).

**Tabela 10.** Porównanie wskaźnika BMI, ciśnienia tętniczego i parametrów biochemicznych w badanej populacji kobiet.

| Parametr                   | Grupa badana<br>(n= 173) |         | Grupa kontrolna<br>(n=225) |         | P      |
|----------------------------|--------------------------|---------|----------------------------|---------|--------|
|                            | średnia±SD               | mediana | średnia±SD                 | mediana |        |
| Wiek<br>(lata)             | 58.14±<br>12.44          | 62.00   | 53.35±<br>15.19            | 58.00   | NS     |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )   | 34.25±<br>4.10           | 32.91   | 22.18±<br>1.88             | 22.38   | <0.001 |
| Glukoza<br>(mg/dl)         | 95.43±<br>20.45          | 91.00   | 89.40±<br>17.36            | 86.00   | <0.001 |
| SBP<br>(mmHg)              | 140.59±<br>20.59         | 139.00  | 124.60±<br>19.22           | 123.00  | <0.001 |
| DBP<br>(mmHg)              | 84.66±<br>12.85          | 83.00   | 76.30±<br>9.62             | 76.00   | <0.001 |
| HR                         | 77.93±<br>12.01          | 75.00   | 78.46±<br>12.62            | 77.00   | NS     |
| Kreatynina<br>(mg/dl)      | 0.74±<br>0.16            | 0.70    | 0.69±<br>0.13              | 0.70    | <0.001 |
| eGFR<br>(ml/min)           | 60.48±<br>2.35           | 61.00   | 60.84±<br>2.31             | 61.00   | NS     |
| Kwas<br>moczowy<br>(mg/dl) | 5.33±<br>1.28            | 5.20    | 4.10±<br>0.86              | 4.30    | <0.001 |
| CRP<br>(mg/l)              | 4.79±<br>3.42            | 3.00    | 4.17±<br>1.55              | 3.90    | <0.001 |
| AST<br>(IU/l)              | 29.99±<br>13.37          | 27.00   | 25.76±<br>7.14             | 25.00   | <0.001 |
| ALT<br>(IU/l)              | 35.48±<br>22.01          | 30.00   | 23.10±<br>9.12             | 22.00   | <0.001 |
| CHOL<br>(mg/dl)            | 201.30±<br>41.10         | 196.50  | 203.60±<br>42.68           | 200.00  | NS     |
| HDL<br>(mg/dl)             | 61.39±<br>14.60          | 60.00   | 75.19±<br>17.87            | 70.00   | <0.001 |
| LDL<br>(mg/dl)             | 107.45±<br>36.50         | 109.00  | 106.49±<br>38.34           | 99.00   | NS     |
| TG<br>(mg/dl)              | 160.77±<br>79.05         | 144.00  | 109.45±<br>61.95           | 94.00   | <0.001 |

NS-nie istotne statystycznie; p-poziom istotności; test Mann-Whitney'a ( $p<0.05$ )

W pracy porównano również grupę otyłych mężczyzn z grupą mężczyzn z prawidłową masą ciała. Wykazano, że w grupie badanej był istotnie wyższy wskaźnik BMI oraz znacząco wyższe ciśnienie tętnicze krwi, stężenie kwasu moczowego, ALT, trójglicerydów oraz istotnie niższe stężenie cholesterolu HDL aniżeli w grupie kontrolnej (Tabela 11).

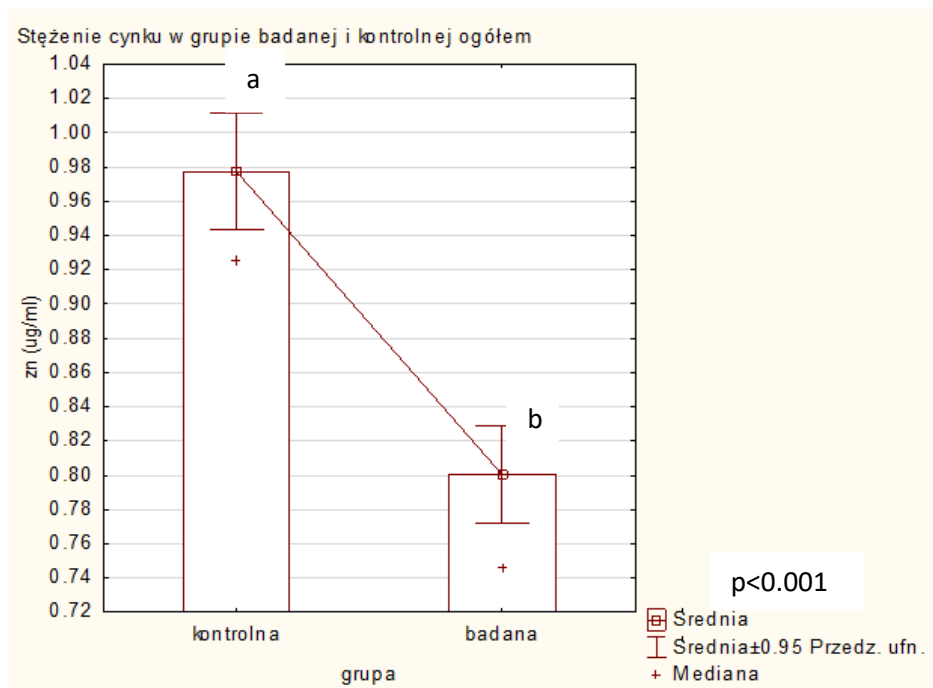
**Tabela 11.** Porównanie wskaźnika BMI, ciśnienia tętniczego i parametrów biochemicznych w badanej populacji mężczyzn.

| Parametr                    | Grupa badana<br>(n= 62) |         | Grupa kontrolna<br>(n=57) |         | P      |
|-----------------------------|-------------------------|---------|---------------------------|---------|--------|
|                             | średnia±SD              | mediana | średnia±SD                | mediana |        |
| Wiek<br>(lata)              | 57.13±<br>12.66         | 60.00   | 51.47±<br>15.83           | 55.00   | NS     |
| BMI<br>(kg/m <sup>2</sup> ) | 32.84±<br>2.75          | 32.00   | 22.32±<br>1.92            | 22.53   | <0.001 |
| Glukoza<br>(mg/dl)          | 95.23±<br>24.81         | 91.00   | 89.11±<br>10.43           | 89.00   | NS     |
| SBP<br>(mmHg)               | 142.05±<br>17.35        | 141.00  | 131.33±<br>24.34          | 130.00  | <0.001 |
| DBP<br>(mmHg)               | 84.94±<br>12.67         | 85.00   | 80.59±<br>10.41           | 80.00   | <0.05  |
| HR                          | 73.57±<br>9.58          | 73.00   | 76.76±<br>16.23           | 79.00   | NS     |
| Kreatynina<br>(mg/dl)       | 0.90±<br>0.15           | 0.90    | 0.85±<br>0.13             | 0.80    | NS     |
| eGFR<br>(ml/min)            | 60.83±<br>1.00          | 61.00   | 61.00±<br>0.00            | 61.00   | NS     |
| Kwas<br>moczowy<br>(mg/dl)  | 6.52±<br>1.18           | 6.60    | 5.26±<br>1.02             | 5.30    | <0.001 |
| CRP<br>(mg/l)               | 3.92±<br>2.91           | 3.00    | 3.35±<br>1.60             | 3.00    | NS     |
| AST<br>(IU/l)               | 30.10±<br>11.17         | 26.00   | 29.25±<br>8.83            | 28.00   | NS     |
| ALT<br>(IU/l)               | 40.33±<br>21.25         | 34.00   | 27.06±<br>10.68           | 26.00   | <0.001 |
| CHOL<br>(mg/dl)             | 195.70±<br>39.30        | 191.00  | 189.79±<br>31.51          | 197.00  | NS     |
| HDL<br>(mg/dl)              | 51.23±<br>9.44          | 51.00   | 62.83±<br>13.84           | 60.00   | <0.001 |
| LDL<br>(mg/dl)              | 117.87±<br>56.30        | 108.00  | 106.80±<br>45.08          | 98.50   | NS     |
| TG<br>(mg/dl)               | 206.00±<br>190.96       | 165.00  | 124.94±<br>90.62          | 88.00   | <0.001 |

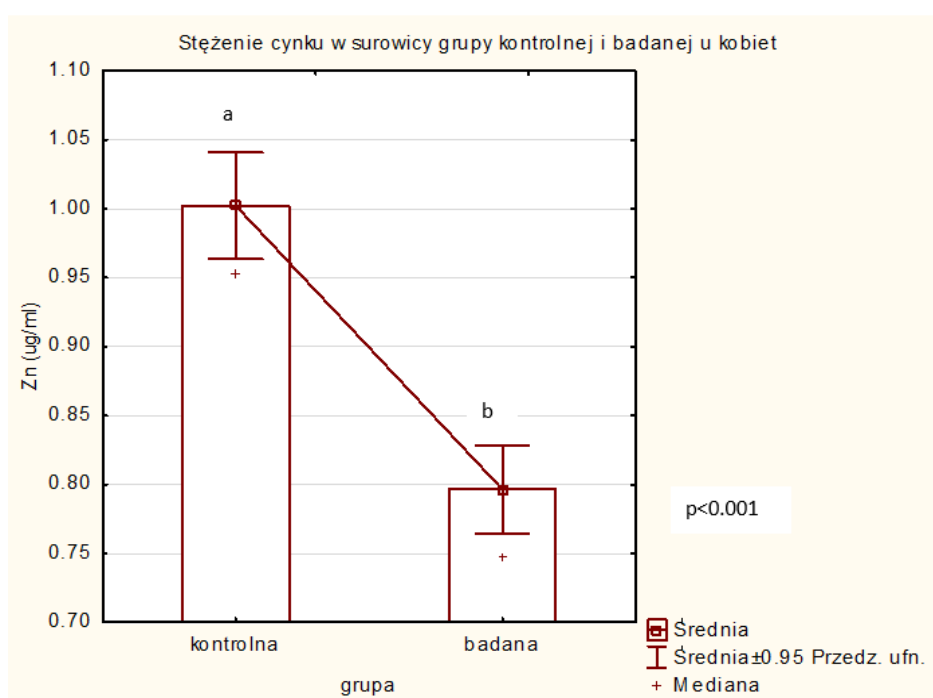
NS-nie istotne statystycznie; p-poziom istotności; test Mann-Whitney'a ( $p<0.05$ )

### 5.3. Porównanie stężenia cynku i metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w surowicy krwi grupy badanej i kontrolnej

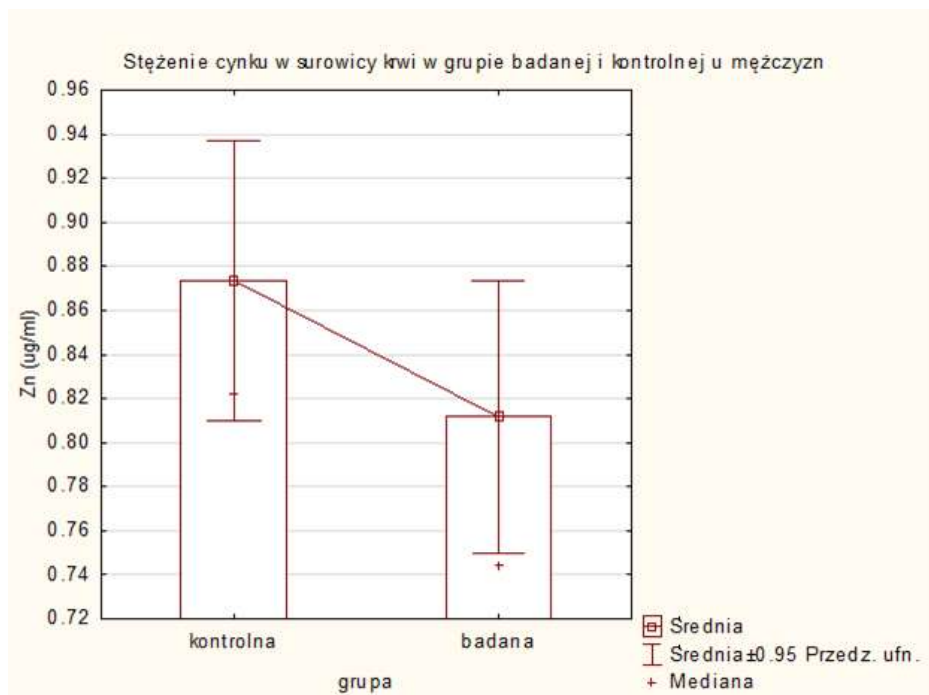
W pracy porównano stężenie cynku w grupie badanej i kontrolnej ogółem, u kobiet i u mężczyzn. Wykazano, że stężenie cynku w surowicy krwi jest istotnie niższe w grupie osób otyłych ogółem i u kobiet (Rycina 5 i 6;  $p<0.001$ ). Natomiast w grupie mężczyzn nie wykazano znaczących różnic w stężeniu cynku w surowicy krwi w grupie osób otyłych i z prawidłową masą ciała (Rycina 7).



**Rycina 5.** Wykres średniego stężenie cynku w surowicy osób badanych i kontrolnych ogółem  
Test Mann-Whitney'a ( $p < 0.001$ ); a,b – różnice istotne statystycznie

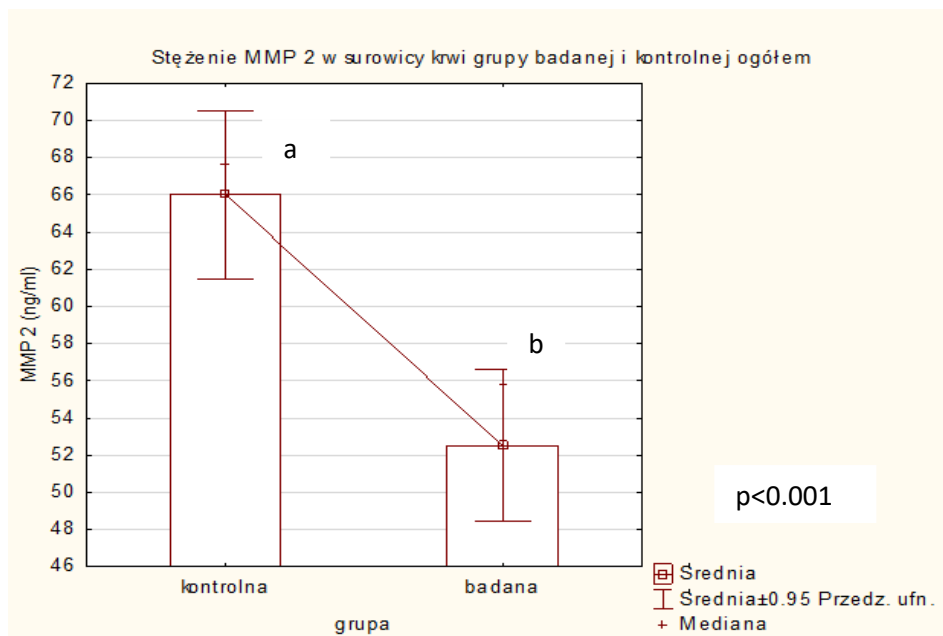


**Rycina 6.** Wykres średniego stężenia cynku w surowicy osób badanych i kontrolnych u kobiet  
Test Mann-Whitney'a ( $p < 0.001$ ); a,b – różnice istotne statystycznie



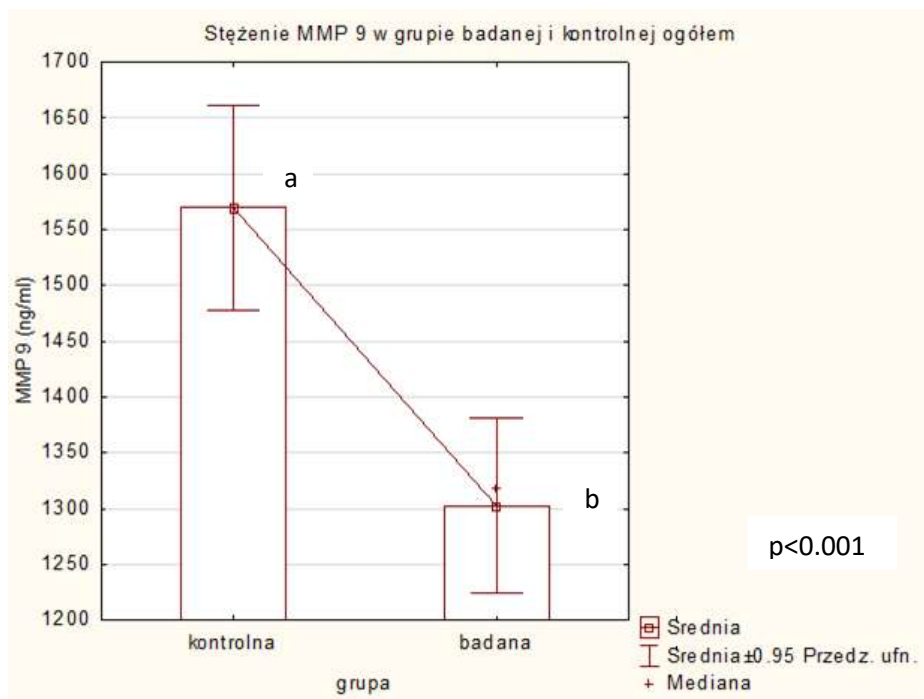
**Rycina 7.** Wykres średniego stężenia cynku w surowicy osób badanych i kontrolnych u mężczyzn  
 Test Mann-Whitney'a ( $p > 0.05$ )

Porównując stężenie metaloproteinaz stwierdzono istotnie niższe stężenia MMP-2 i MMP-9 w grupach osób otyłych, zarówno u kobiet jak u mężczyzn, w porównaniu z grupami kontrolnymi (Rycina 8-13)

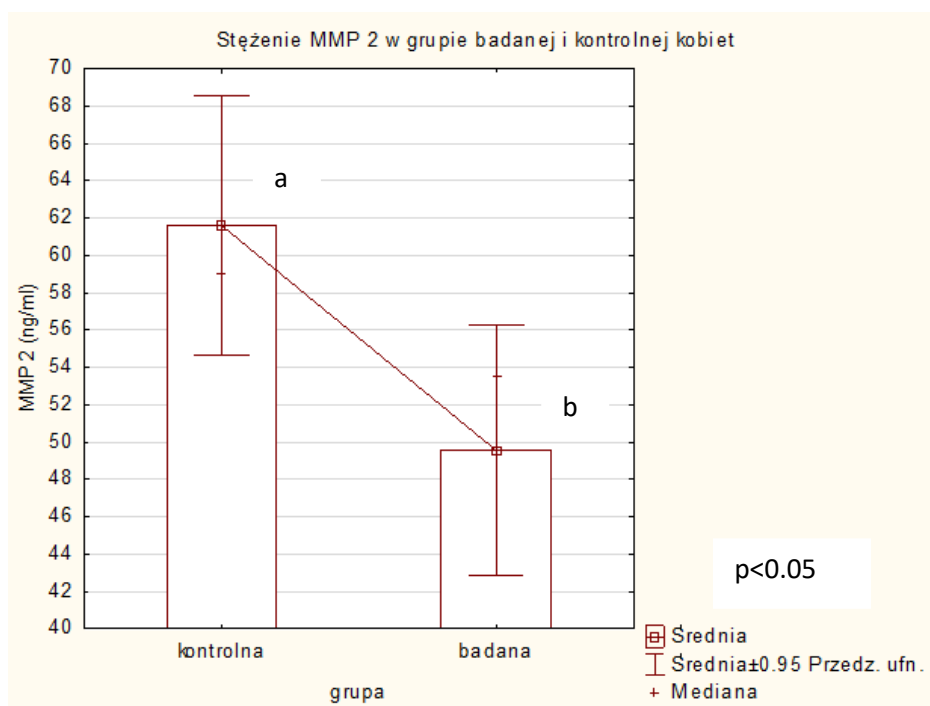


**Rycina 8.** Wykres stężenia MMP 2 w surowicy krwi grupy badanej i kontrolnej ogółem  
 Test Mann-Whitney'a ( $p < 0.001$ ); a,b-różnice istotne statystycznie

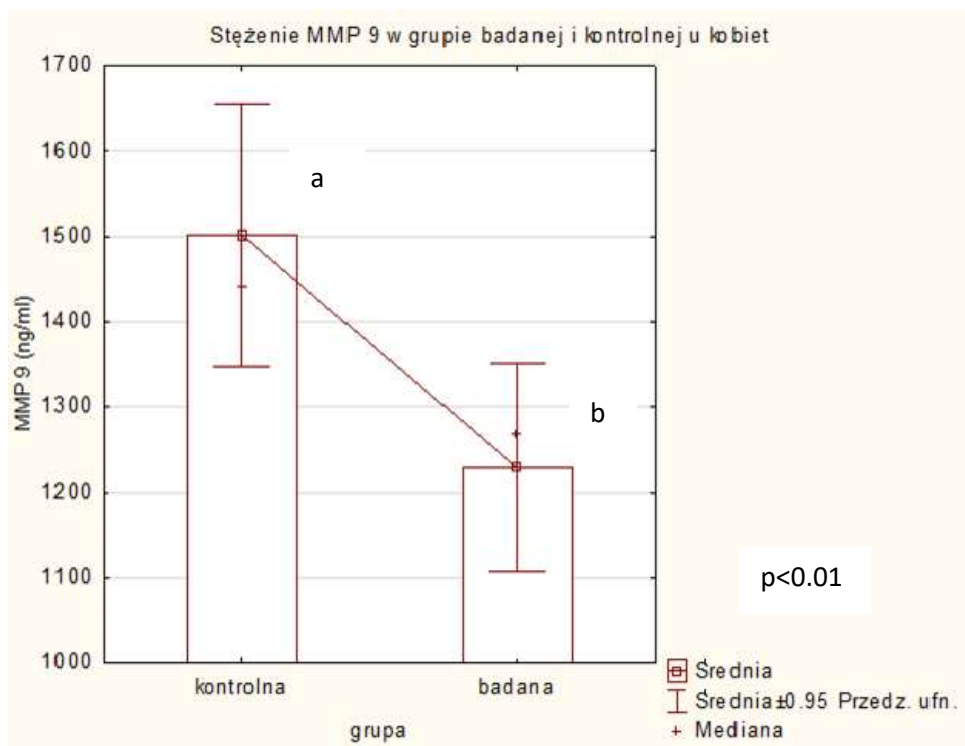




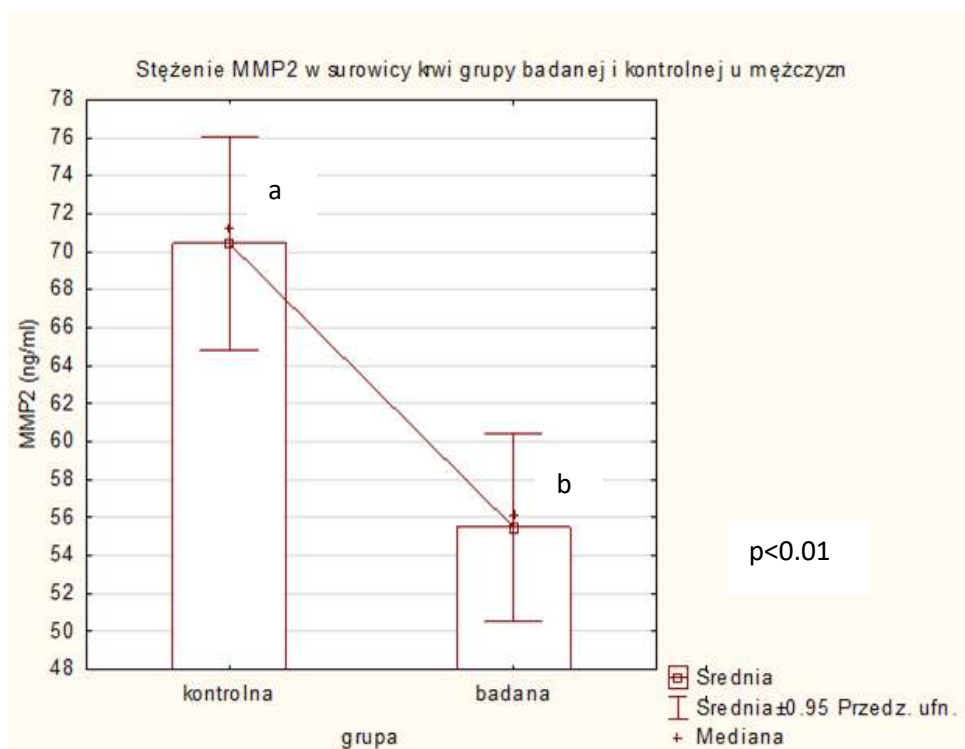
**Rycina 9.** Wykres stężenia MMP 9 w surowicy krwi grupy badanej i kontrolnej ogółem Test Mann-Whitney'a ( $p < 0.001$ ); a,b-różnice istotne statystycznie



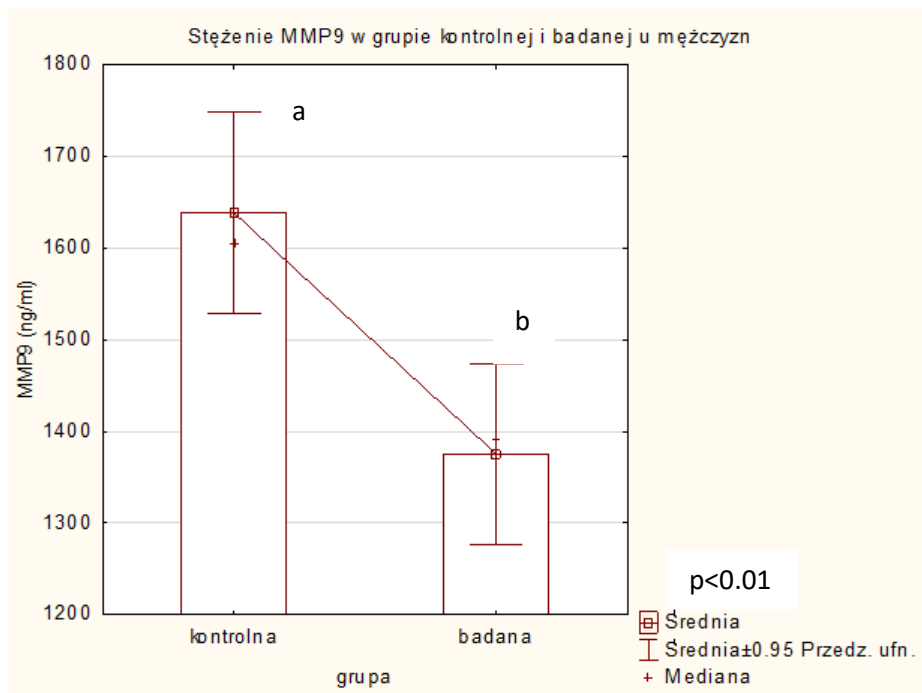
**Rycina 10.** Wykres stężenia MMP 2 w surowicy kobiet w grupie badanej i kontrolnej Test Mann-Whitney'a ( $p < 0.05$ ); a,b – różnice istotne statystycznie



**Rycina 11.** Wykres stężenia MMP 9 w surowicy kobiet w grupie badanej i kontrolnej Test Mann-Whitney'a ( $p < 0.01$ ); a,b – różnice istotne statystycznie



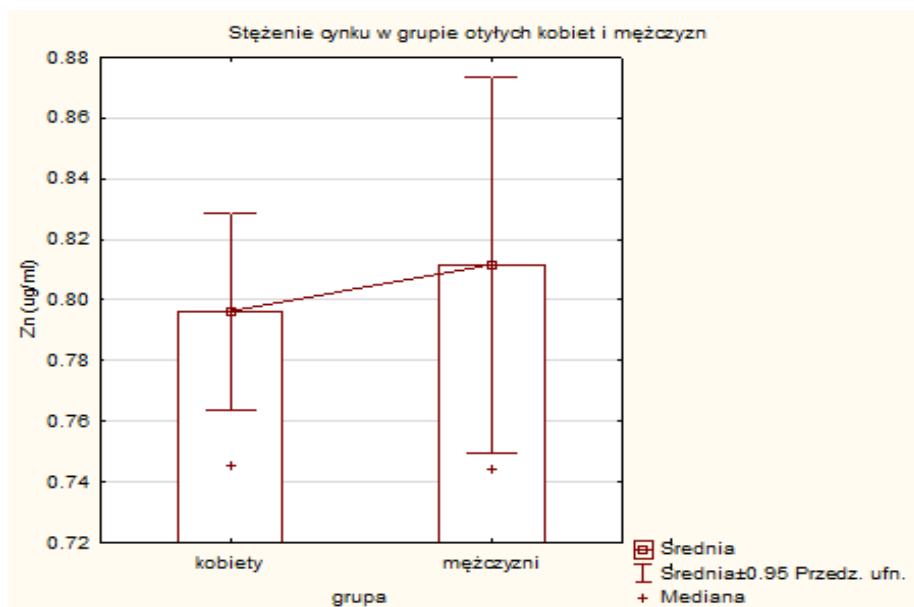
**Rycina 12.** Wykres stężenia MMP 2 w surowicy mężczyzn w grupie badanej i kontrolnej Test Mann-Whitney'a ( $p < 0.01$ ); a,b – różnice istotne statystycznie



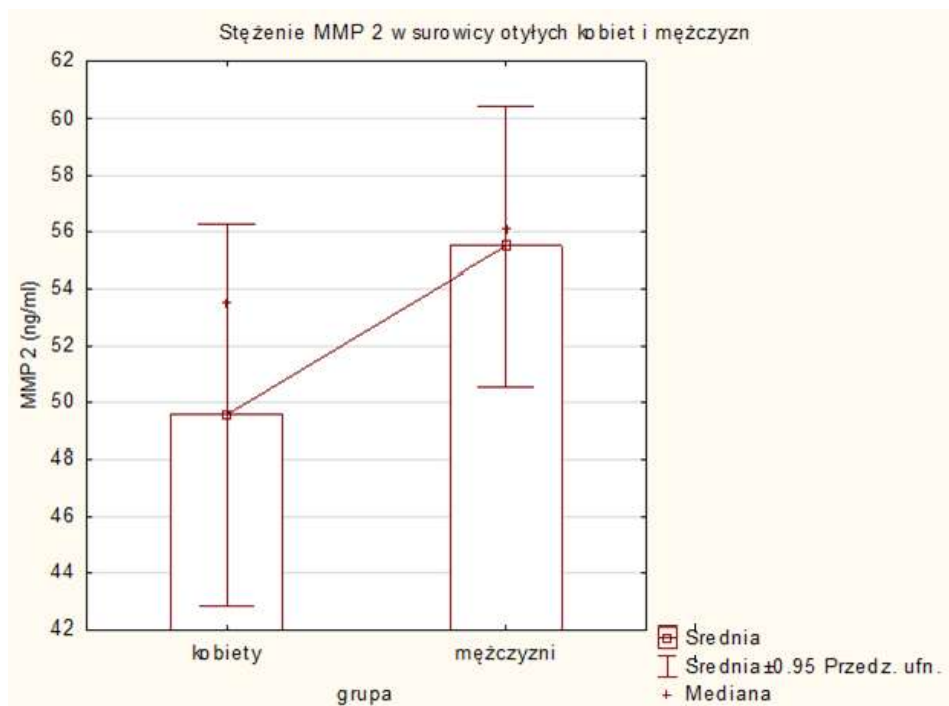
**Rycina 13.** Wykres stężenia MMP 9 w surowicy mężczyzn w grupie badanej i kontrolnej Test Mann-Whitney'a ( $p < 0.01$ ); a,b – różnice istotne statystycznie

#### 5.4. Porównanie stężenia cynku i metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w surowicy krwi otyłych kobiet i mężczyzn.

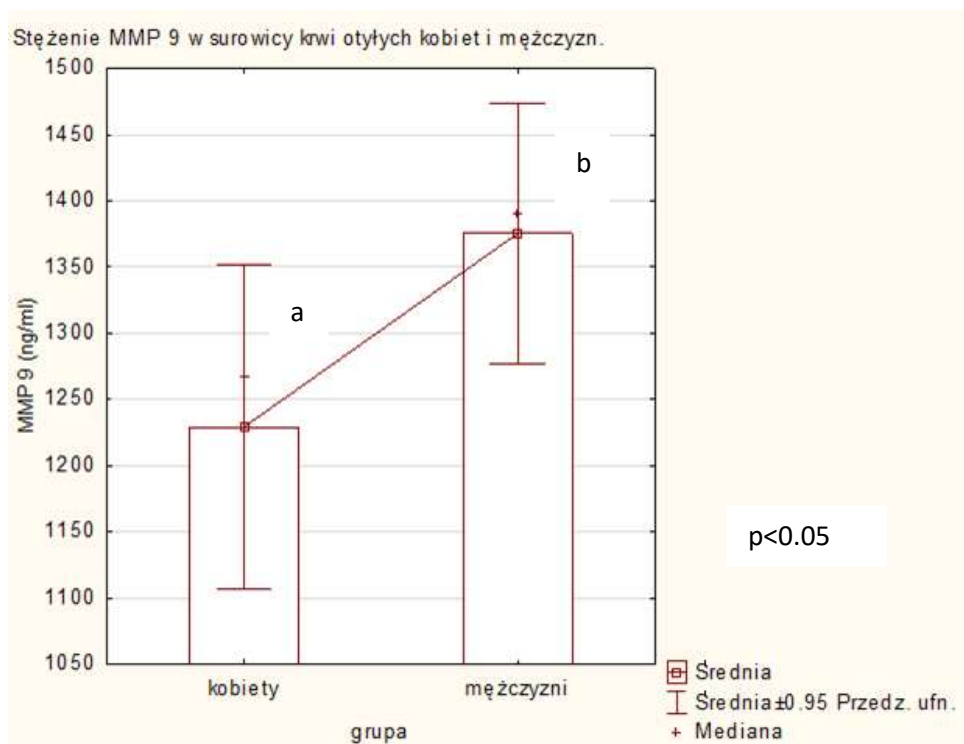
W pracy porównano stężenie cynku i metaloproteinaz w grupie otyłych kobiet i mężczyzn. Stwierdzono istotny wpływ płci na stężenie MMP-9. Wykazano istotnie niższe stężenie MMP-9 w surowicy otyłych kobiet w porównaniu z otyłymi mężczyznami (Rycina 14-16).



**Rycina 14.** Wykres przedstawiający porównanie stężeń cynku w surowicy krwi otyłych kobiet i mężczyzn Test Mann-Whitney'a ( $p > 0.05$ )



**Rycina 15.** Porównanie stężeń MMP 2 w surowicy krwi otyłych kobiet i mężczyzn  
Test Mann-Whitney'a ( $p > 0.05$ )



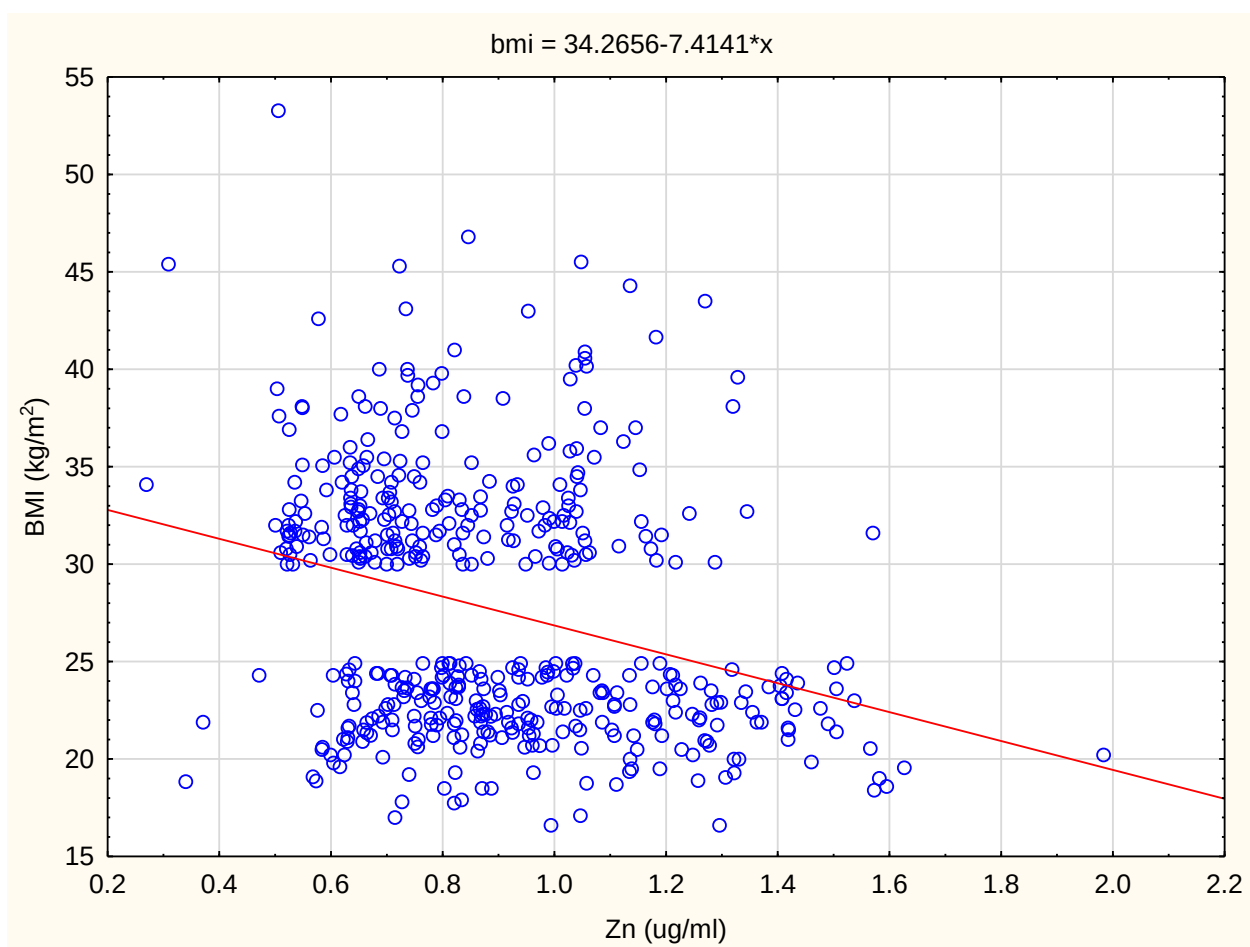
**Rycina 16.** Wykres przedstawiający porównanie stężeń MMP 9 w surowicy krwi otyłych kobiet i mężczyzn  
Test Mann-Whitney'a ( $p < 0.05$ )

## 5.5. Analiza korelacyjna między wybranymi parametrami

Uzyskane wyniki poddano analizie korelacyjnej. Sprawdzono występowanie korelacji między stężeniem cynku a wybranymi parametrami oraz stężeniem metaloproteinaz a wybranymi parametrami. Analizę przeprowadzono w całej badanej populacji, jak i we wszystkich podgrupach. W populacji ogółem stwierdzono występowanie istotnych negatywnych korelacji między stężeniem Zn a wiekiem, BMI, ciśnieniem tętniczym, stężeniami AST i ALT, stężeniem kreatyniny, TG i kwasem moczowym. Dodatnią korelację zaobserwowano między stężeniem Zn a cholesterolem HDL. Stężenie metaloproteinaz korelowało ujemnie ze wskaźnikiem BMI oraz stężeniem kwasu moczowego (MMP 2) (Tabela 12). Rozrzut między stężeniem Zn w surowicy a wskaźnikiem BMI w całej populacji przedstawiono na Rycinie 19. W grupie badanej wykazano istotne ujemne korelacje między stężeniem Zn a stężeniem TG oraz między stężeniem MMP-2 a wskaźnikiem BMI (Tabela 13). Natomiast w grupie kontrolnej istotne ujemne korelacje zaobserwowano dla stężeń Zn i ALT oraz stężenia Zn i ciśnienia tętniczego (Tabela 14). Poza tym w każdej badanej grupie i podgrupie wykazano istotne dodatnie korelacje między stężeniami MMP-2 i MMP-9.

**Tabela 12.** Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w całej badanej populacji.

|                          | MMP2  | MMP9  | Zn    |
|--------------------------|-------|-------|-------|
| Wiek (lata)              | -0.18 | -0.17 | -0.14 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | -0.52 | -0.48 | -0.28 |
| Glukoza (mg/dl)          | -0.20 | -0.16 | -0.05 |
| SBP (mmHg)               | -0.15 | -0.20 | -0.18 |
| DBP (mmHg)               | -0.09 | -0.11 | -0.15 |
| HR                       | 0.12  | 0.15  | 0.01  |
| Kreatynina(mg/dl)        | -0.03 | -0.04 | -0.14 |
| eGFR (ml/min)            | 0.07  | 0.08  | 0.06  |
| Kwas moczowy (mg/sl)     | -0.29 | -0.11 | -0.20 |
| CRP (mg/l)               | -0.09 | -0.07 | 0.10  |
| AST (IU/l)               | 0.00  | -0.01 | -0.13 |
| ALT(IU/l)                | -0.07 | -0.04 | -0.24 |
| CHOL (mg/dl)             | 0.10  | -0.02 | -0.01 |
| HDL (mg/dl)              | 0.21  | 0.06  | 0.19  |
| LDL(mg/dl)               | 0.07  | -0.05 | -0.02 |
| TG(mg/dl)                | -0.15 | -0.06 | -0.20 |
| MMP2 (ng/ml)             | -     | 0.87  | -0.04 |
| MMP9 (ng/ml)             | 0.87  | -     | -0.04 |
| Zn (µg/ml)               | -0.04 | -0.04 | -     |



Kolorem czerwonym oznaczono istotne korelacje ( $p < 0.05$ ); test Korelacji Spearmana

**Rycina 17.** Wykres zależności między stężeniem cynku i wskaźnikiem BMI w populacji ogółem

**Tabela 13.** Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie osób otyłych

|                         | MMP2         | MMP9        | Zn           |
|-------------------------|--------------|-------------|--------------|
| Wiek (lata)             | -0.24        | -0.26       | 0.00         |
| BMI ( $\text{kg/m}^2$ ) | <b>-0.39</b> | -0.30       | 0.06         |
| Glukoza (mg/dl)         | -0.32        | -0.25       | -0.01        |
| SBP (mmHg)              | -0.07        | -0.11       | 0.02         |
| DBP (mmHg)              | 0.17         | 0.13        | 0.01         |
| HR                      | 0.10         | 0.12        | 0.01         |
| Kreatynia (mg/dl)       | -0.03        | -0.03       | -0.09        |
| eGFR (ml/min)           | -0.04        | -0.01       | 0.00         |
| Kwas moczowy (mg/dl)    | -0.07        | 0.19        | 0.02         |
| CRP (mg/l)              | -0.05        | -0.01       | -0.04        |
| AST (IU/l)              | 0.11         | -0.01       | -0.01        |
| ALT (IU/l)              | 0.08         | 0.02        | -0.01        |
| CHOL (mg/dl)            | 0.07         | 0.02        | -0.07        |
| HDL (mg/dl)             | 0.21         | -0.05       | 0.03         |
| LDL (mg/dl)             | 0.20         | 0.12        | 0.03         |
| TG (mg/dl)              | -0.23        | 0.09        | <b>-0.18</b> |
| MMP2 (ng/ml)            | 1.00         | <b>0.84</b> | -0.14        |
| MMP9 (ng/ml)            | <b>0.84</b>  | 1.00        | -0.23        |
| Zn ( $\mu\text{g/ml}$ ) | -0.14        | -0.23       | 1.00         |

Kolorem czerwonym oznaczono istotne korelacje ( $p < 0.05$ ); test Korelacji Spearmana

**Tabela 14.** Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie kontrolnej

|                          | MMP2  | MMP9  | Zn    |
|--------------------------|-------|-------|-------|
| Wiek (lata)              | 0.25  | 0.29  | -0.08 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 0.06  | 0.02  | -0.03 |
| Glukoza (mg/dl)          | 0.03  | 0.03  | 0.01  |
| SBP (mmHg)               | 0.14  | 0.06  | -0.16 |
| DBP (mmHg)               | -0.07 | -0.08 | -0.13 |
| HR                       | 0.11  | 0.11  | 0.03  |
| Kreatynina(mg/dl)        | 0.20  | 0.02  | -0.11 |
| eGFR (ml/min)            | 0.02  | 0.01  | 0.05  |
| Kwas moczowy (mg/dl)     | -0.05 | 0.03  | -0.11 |
| CRP (mg/l)               | -0.29 | -0.27 | 0.05  |
| AST (IU/l)               | 0.04  | 0.14  | -0.10 |
| ALT(IU/l)                | 0.04  | 0.15  | -0.18 |
| CHOL (mg/dl)             | 0.35  | 0.14  | 0.01  |
| HDL (mg/dl)              | 0.03  | -0.02 | 0.11  |
| LDL (mg/dl)              | 0.30  | 0.06  | -0.03 |
| TG (mg/dl)               | 0.21  | 0.01  | -0.02 |
| MMP2 (ng/ml)             |       | 0.87  | -0.08 |
| MMP9 (ng/ml)             | 0.87  |       | 0.03  |
| Zn (µg/ml)               | -0.08 | 0.03  |       |

Kolorem czerwonym oznaczono istotne korelacje ( $p < 0.05$ ); test Korelacji Spearmana

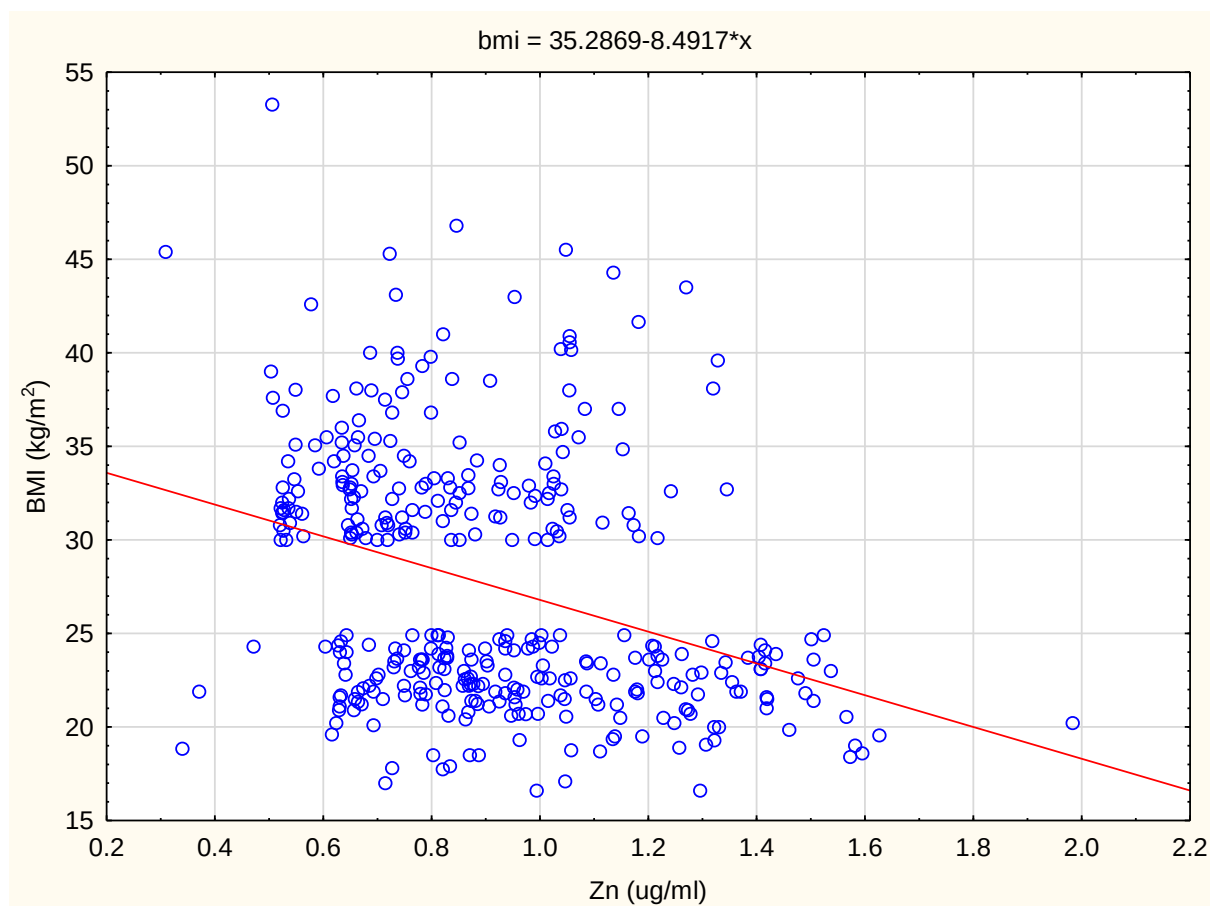
### 5.5.1. Zależność między wybranymi parametrami w grupie kobiet

W populacji badanych kobiet stwierdzono występowanie istotnych negatywnych korelacji między stężeniem Zn a wiekiem, BMI, ciśnieniem tętniczym, stężeniami AST i ALT, kreatyniny, TG i kwasem moczowym. Dodatnią korelację zaobserwowano między stężeniem Zn a cholesterolem HDL. Stężenie metaloproteinaz korelowało ujemnie ze wskaźnikiem BMI oraz kwasem moczowy. Dodatkowo zaobserwowano ujemną korelację między stężeniem MMP-9 a wiekiem oraz dodatnią między stężeniem MMP-2 a cholesterolem HDL (Tabela 15). Rozrzut między stężeniem cynku w surowicy a wskaźnikiem BMI w populacji kobiet przedstawiono na Rycinie 20. W grupie badanej wykazano istotne ujemne korelacje między stężeniem Zn a stężeniem TG oraz dodatnią korelację między stężeniem Zn a skurczowym ciśnieniem tętniczym (Tabela 16). Natomiast w grupie kontrolnej istotne ujemne korelacje zaobserwowano dla stężenia Zn i wartości SBP oraz dla stężeń Zn i ALT (Tabela 17).

**Tabela 15.** Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w populacji kobiet

|                          | MMP2  | MMP9  | Zn    |
|--------------------------|-------|-------|-------|
| Wiek (lata)              | -0.32 | -0.35 | -0.16 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | -0.44 | -0.45 | -0.34 |
| Glukoza (mg/dl)          | -0.13 | -0.05 | -0.05 |
| SBP (mmHg)               | -0.29 | -0.37 | -0.16 |
| DBP (mmHg)               | -0.21 | -0.14 | -0.15 |
| HR                       | -0.08 | -0.01 | 0.02  |
| Kreatynina (mg/dl)       | 0.09  | -0.06 | -0.12 |
| eGFR (ml/min)            | 0.03  | 0.03  | 0.09  |
| Kwas moczowy (mg/dl)     | -0.58 | -0.35 | -0.17 |
| CRP (mg/l)               | 0.18  | 0.17  | 0.11  |
| AST (IU/l)               | -0.15 | -0.24 | -0.16 |
| ALT(IU/l)                | -0.20 | -0.17 | -0.28 |
| CHOL (mg/dl)             | 0.25  | 0.06  | -0.04 |
| HDL (mg/dl)              | 0.45  | 0.28  | 0.16  |
| LDL (mg/dl)              | 0.13  | 0.00  | -0.05 |
| TG (mg/dl)               | -0.10 | -0.06 | -0.26 |
| MMP2 (ng/ml)             |       | 0.85  | -0.09 |
| MMP9 (ng/ml)             | 0.85  |       | -0.02 |
| Zn (µg/ml)               | -0.09 | -0.02 |       |

Kolorem czerwonym oznaczono istotne korelacje ( $p < 0.05$ ); test Korelacji Spearmana



**Rycina 18.** Wykres zależności między stężeniem cynku i wskaźnikiem BMI w populacji kobiet



**Tabela 16.** Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie otyłych kobiet

|                           | MMP2  | MMP9  | Zn    |
|---------------------------|-------|-------|-------|
| Wiek (lata)               | -0.39 | -0.45 | 0.00  |
| BMI ( kg/m <sup>2</sup> ) | -0.39 | -0.28 | 0.07  |
| Glukoza (mg/dl)           | -0.28 | -0.12 | 0.03  |
| SBP (mmHg)                | -0.20 | -0.19 | 0.16  |
| DBP (mmHg)                | 0.13  | 0.22  | 0.07  |
| HR                        | -0.03 | -0.02 | 0.02  |
| Kreatynina(mg/dl)         | 0.14  | 0.18  | -0.10 |
| eGFR (ml/min)             |       |       | -0.01 |
| Kwas moczowy (mg/dl)      | -0.42 | -0.12 | 0.01  |
| CRP (mg/l)                | 0.12  | 0.13  | 0.01  |
| AST (IU/l)                | 0.04  | -0.22 | -0.04 |
| ALT(IU/l)                 | 0.10  | 0.00  | -0.06 |
| CHOL (mg/dl)              | 0.44  | 0.37  | -0.06 |
| HDL (mg/dl)               | 0.24  | 0.05  | -0.01 |
| LDL(mg/dl)                | 0.43  | 0.45  | 0.01  |
| TG(mg/dl)                 | -0.10 | 0.02  | -0.28 |
| MMP2 (ng/ml)              |       | 0.88  | -0.19 |
| MMP9 (ng/ml)              | 0.88  |       | -0.25 |
| Zn (µg/ml)                | -0.19 | -0.25 |       |

Kolorem czerwonym oznaczono istotne korelacje (p<0.05); test Korelacji Spearmana

**Tabela 17.** Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie kontrolnej kobiet.

|                           | MMP2  | MMP9  | Zn    |
|---------------------------|-------|-------|-------|
| Wiek (lata)               | 0.09  | 0.16  | -0.04 |
| BMI ( kg/m <sup>2</sup> ) | 0.13  | 0.06  | -0.11 |
| Glukoza (mg/dl)           | 0.01  | -0.02 | 0.03  |
| SBP (mmHg)                | -0.03 | -0.18 | -0.15 |
| DBP (mmHg)                | -0.41 | -0.30 | -0.12 |
| HR                        | 0.05  | 0.28  | 0.02  |
| Kreatynina(mg/dl)         | 0.35  | 0.03  | -0.04 |
| eGFR (ml/min)             |       |       | 0.07  |
| Kwas .moczowy (mg/dl)     | -0.37 | -0.08 | 0.01  |
| CRP (mg/l)                | 0.05  | -0.02 | -0.09 |
| AST (IU/l)                | -0.13 | -0.03 | -0.09 |
| ALT(IU/l)                 | -0.14 | 0.05  | -0.17 |
| CHOL (mg/dl)              | 0.49  | 0.21  | -0.06 |
| HDL (mg/dl)               | 0.42  | 0.23  | 0.06  |
| LDL (mg/dl)               | 0.45  | 0.15  | -0.09 |
| TG (mg/dl)                | 0.17  | 0.19  | -0.04 |
| MMP2 (ng/ml)              |       | 0.78  | -0.08 |
| MMP9 (ng/ml)              | 0.78  |       | 0.16  |
| Zn (µg/ml)                | -0.08 | 0.16  |       |

Kolorem czerwonym oznaczono istotne korelacje (p<0.05); test Korelacji Spearmana

### 5.5.2. Zależność między wybranymi parametrami w grupie mężczyzn

W populacji badanych mężczyzn stwierdzono występowanie istotnych negatywnych korelacji między stężeniem Zn a skurczowym ciśnieniem tętniczym i białkiem CRP. Stężenie metaloproteinaz korelowało ujemnie ze wskaźnikiem BMI, stężeniem kreatyniny oraz kwasu moczowego (MMP2) (Tabela 18). W grupie badanej wykazano istotne ujemne korelacje między stężeniem cynku a skurczowym ciśnieniem tętniczym (Tabela 19). Natomiast w grupie kontrolnej istotną dodatnią korelację zaobserwowano dla Zn i wieku (Tabela 20).

**Tabela 18.** Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w populacji mężczyzn

|                          | MMP2  | MMP9  | Zn    |
|--------------------------|-------|-------|-------|
| Wiek (lata)              | -0.09 | -0.03 | -0.07 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | -0.67 | -0.62 | -0.05 |
| Glukoza (mg/dl)          | -0.26 | -0.29 | -0.02 |
| SBP (mmHg)               | 0.01  | -0.06 | -0.24 |
| DBP (mmHg)               | 0.07  | -0.04 | -0.14 |
| HR                       | 0.06  | 0.09  | -0.05 |
| Kreatynina (mg/dl)       | -0.43 | -0.48 | -0.09 |
| eGFR (ml/min)            | 0.16  | 0.20  | -0.04 |
| Kw.mocz (mg/dl)          | -0.37 | -0.25 | -0.10 |
| CRP (mg/l)               | -0.14 | -0.02 | -0.22 |
| AST (IU/l)               | 0.02  | 0.07  | 0.07  |
| ALT(IU/l)                | 0.00  | 0.00  | -0.04 |
| CHOL (mg/dl)             | 0.02  | 0.04  | 0.07  |
| HDL (mg/dl)              | 0.32  | 0.26  | 0.19  |
| LDL (mg/dl)              | 0.06  | 0.04  | 0.11  |
| TG (mg/dl)               | -0.30 | -0.20 | 0.00  |
| MMP2 (ng/ml)             | 1.00  | 0.86  | 0.05  |
| MMP9 (ng/ml)             | 0.86  | 1.00  | 0.00  |
| Zn (µg/ml)               | 0.05  | 0.00  | 1.00  |

Kolorem czerwonym oznaczono istotne korelacje ( $p < 0.05$ ), test Korelacji Spearmana

**Tabela 19.** Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie otyłych mężczyzn.

|                           | MMP2  | MMP9  | Zn    |
|---------------------------|-------|-------|-------|
| Wiek (lata)               | -0.15 | -0.15 | 0.01  |
| BMI ( kg/m <sup>2</sup> ) | -0.41 | -0.45 | 0.00  |
| Glukoza (mg/dl)           | -0.40 | -0.45 | -0.08 |
| SBP (mmHg)                | 0.20  | 0.11  | -0.50 |
| DBP (mmHg)                | 0.31  | 0.17  | -0.24 |
| HR                        | 0.02  | 0.06  | -0.27 |
| Kreat(mg/dl)              | -0.28 | -0.28 | -0.16 |
| eGFR (ml/min)             | -0.01 | 0.11  | -0.11 |
| Kw.mocz (mg/dl)           | 0.05  | 0.15  | 0.05  |
| CRP (mg/l)                | -0.06 | 0.18  | -0.26 |
| AST (IU/l)                | 0.14  | 0.11  | 0.09  |
| ALT(IU/l)                 | 0.12  | 0.03  | 0.11  |
| CHOL (mg/dl)              | -0.18 | -0.03 | -0.08 |
| HDL (mg/dl)               | 0.38  | 0.16  | 0.20  |
| LDL (mg/dl)               | 0.02  | 0.05  | 0.04  |
| TG (mg/dl)                | -0.42 | 0.01  | 0.01  |
| MMP2 (ng/ml)              | 1.00  | 0.81  | -0.05 |
| MMP9 (ng/ml)              | 0.81  | 1.00  | -0.15 |
| Zn (µg/ml)                | -0.05 | -0.15 | 1.00  |

Kolorem czerwonym oznaczono istotne korelacje ( $p < 0.05$ ); test Korelacji Spearmana

**Tabela 20.** Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie kontrolnej mężczyzn

|                          | MMP2  | MMP9  | Zn    |
|--------------------------|-------|-------|-------|
| Wiek (lata)              | -0.14 | -0.19 | 0.36  |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 0.41  | 0.50  | -0.14 |
| Glukoza (mg/dl)          | 0.12  | 0.16  | 0.06  |
| SBP (mmHg)               | 0.23  | 0.14  | 0.11  |
| DBP (mmHg)               | 0.31  | 0.25  | -0.02 |
| HR                       | 0.16  | -0.09 | 0.04  |
| Kreat(mg/dl)             | -0.09 | -0.02 | 0.03  |
| eGFR (ml/min)            |       |       |       |
| Kw.mocz (mg/dl)          | -0.16 | -0.17 | -0.18 |
| CRP (mg/l)               | 0.12  | 0.12  | -0.21 |
| AST (IU/l)               | -0.17 | 0.03  | 0.01  |
| ALT(IU/l)                | -0.17 | -0.21 | -0.09 |
| CHOL (mg/dl)             | 0.27  | 0.05  | 0.28  |
| HDL (mg/dl)              | 0.24  | 0.35  | 0.09  |
| LDL (mg/dl)              | 0.02  | -0.18 | 0.20  |
| TG (mg/dl)               | 0.08  | -0.31 | 0.12  |
| MMP2 (ng/ml)             | 1.00  | 0.86  | -0.01 |
| MMP9 (ng/ml)             | 0.86  | 1.00  | -0.04 |
| Zn (µg/ml)               | -0.01 | -0.04 | 1.00  |

Kolorem czerwonym oznaczono istotne korelacje ( $p < 0.05$ ); test Korelacji Spearmana.

## 5.6. Analiza regresji

W niniejszej pracy zbadano również zależność między Zn i metaloproteinazami a wybranymi parametrami antropometrycznymi i biochemicznymi u kobiet i mężczyzn. Badanymi czynnikami zależnymi były osobno analizowane stężenie Zn, MMP-2 i MMP-9 a czynnikami niezależnymi takie parametry jak: BMI, wiek, stężenie glukozy, skurczowe i rozkurczowe ciśnienie tętnicze, stężenie białka CRP, TG i cholesterolu całkowitego.

### 5.6.1. Zależność między cynkiem i metaloproteinazami a wybranymi parametrami u kobiet

Wykazano, że u kobiet stężenie Zn i MMP-9 było silnie zależne od wskaźnika BMI (Tabele 21 i 22). Natomiast stężenie MMP-2 zależało od wskaźnika BMI i stężenia cholesterolu całkowitego (Tabela 23).

**Tabela 21.** Analiza regresji dla cynku w populacji kobiet

| Parametr                 | Beta   | P     |
|--------------------------|--------|-------|
| Wyraz wolny              |        | 0.000 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | -0.301 | 0.000 |
| Wiek (lata)              | -0.077 | 0.229 |
| Glukoza (mg/dl)          | 0.087  | 0.119 |
| SBP (mmHg)               | 0.039  | 0.616 |
| DBP (mmHg)               | -0.049 | 0.489 |
| CRP (mg/l)               | -0.040 | 0.440 |
| TG (mg/dl)               | -0.094 | 0.102 |
| CHOL (mg/dl)             | -0.026 | 0.640 |

**Tabela 22.** Analiza regresji dla MMP-2 w populacji kobiet

| Parametr                 | Beta   | P     |
|--------------------------|--------|-------|
| Wyraz wolny              |        | 0.013 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | -0.384 | 0.035 |
| Wiek (lata)              | -0.190 | 0.350 |
| Glukoza (mg/dl)          | -0.105 | 0.531 |
| SBP (mmHg)               | -0.132 | 0.567 |
| DBP (mmHg)               | 0.087  | 0.649 |
| CRP (mg/l)               | -0.009 | 0.956 |
| TG (mg/dl)               | -0.104 | 0.544 |
| CHOL (mg/dl)             | 0.462  | 0.015 |

**Tabela 23.** Analiza regresji dla MMP-9 w populacji kobiet

| Parametr                 | Beta   | P     |
|--------------------------|--------|-------|
| Wyraz wolny              |        | 0.005 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | -0.402 | 0.047 |
| Wiek (lata)              | -0.133 | 0.559 |
| Glukoza (mg/dl)          | -0.094 | 0.615 |
| SBP (mmHg)               | -0.155 | 0.549 |
| DBP (mmHg)               | 0.102  | 0.636 |
| CRP (mg/l)               | -0.052 | 0.785 |
| TG (mg/dl)               | 0.041  | 0.831 |
| CHOL (mg/dl)             | 0.270  | 0.183 |

### 5.6.2. Zależność między cynkiem i metaloproteinazami a wybranymi parametrami u mężczyzn

W populacji mężczyzn wykazano silną zależność między stężeniem Zn a wartością skurczowego ciśnienia tętniczego (Tabela 24). U mężczyzn silnym predyktorem stężenia MMP-2 był wskaźnik BMI (Tabela 25), natomiast predyktorem MMP 9 u mężczyzn był wiek (Tabela 26).

**Tabela 24.** Analiza regresji dla Zn w populacji mężczyzn

| Parametr                 | Beta   | P     |
|--------------------------|--------|-------|
| Wyraz wolny              |        | 0.000 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | -0.024 | 0.823 |
| Wiek (lata)              | -0.098 | 0.347 |
| Glukoza (mg/dl)          | 0.023  | 0.828 |
| SBP (mmHg)               | -0.308 | 0.028 |
| DBP (mmHg)               | 0.074  | 0.590 |
| CRP (mg/l)               | -0.156 | 0.129 |
| TG (mg/dl)               | 0.067  | 0.563 |
| CHOL ( mg/dl)            | -0.058 | 0.628 |

**Tabela 25.** Analiza regresji dla MMP2 w populacji mężczyzn

| Parametr                  | Beta   | P     |
|---------------------------|--------|-------|
| Wyraz wolny               |        | 0.000 |
| BMI ( kg/m <sup>2</sup> ) | -0.752 | 0.000 |
| Wiek (lata)               | -0.141 | 0.359 |
| Glukoza (mg/dl)           | 0.215  | 0.199 |
| SBP (mmHg)                | 0.159  | 0.446 |
| DBP (mmHg)                | 0.102  | 0.604 |
| CRP (mg/l)                | -0.108 | 0.477 |
| TG (mg/dl)                | -0.061 | 0.735 |
| CHOL ( mg/dl)             | -0.144 | 0.425 |

**Tabela 26.** Analiza regresji dla MMP9 w populacji mężczyzn

| Parametr                 | Beta   | P     |
|--------------------------|--------|-------|
| Wyraz wolny              |        | 0.000 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 0.259  | 0.140 |
| Wiek (lata)              | -0.740 | 0.000 |
| Glukoza (mg/dl)          | -0.192 | 0.234 |
| SBP (mmHg)               | 0.167  | 0.440 |
| DBP (mmHg)               | 0.037  | 0.856 |
| CRP (mg/l)               | 0.020  | 0.898 |
| TG (mg/dl)               | -0.085 | 0.649 |
| CHOL (mg/dl)             | -0.101 | 0.590 |

## 6. Dyskusja

Rosnąca epidemia otyłości wzbudza duże zainteresowanie mechanizmami, które sprzyjają skutecznemu przechowywaniu energii w postaci tłuszczu, równocześnie badacze chcą zrozumieć i zminimalizować konsekwencje metaboliczne otyłości, takie jak insulinooporność, dyslipidemia, stłuszczenie wątroby, choroba niedokrwienna serca czy nadciśnienie tętnicze. Wzrost umieralności wśród osób otyłych oraz negatywne konsekwencje zdrowotne, społeczne i ekonomiczne zmuszają do podjęcia działań mających na celu wczesną diagnostykę i leczenie osób otyłych.

Związek zaburzeń masy ciała ze zwiększonym ryzykiem umieralności z powodu chorób sercowo-naczyniowych został potwierdzony w dużych badaniach populacyjnych takich jak Framingham Heart Study [106], NHANES III (National Health and Nutrition Examination Survey III) [107] oraz w polskim badaniu POL-MONICA [108]. Niepokojący jest fakt, że otyłość olbrzymia ( $BMI \geq 40,0 \text{ kg/m}^2$ ) skraca długość życia nawet o 8-10 lat [109].

Niniejszy projekt badawczy miał na celu badanie związku między otyłością a określonymi parametrami biochemicznych krwi, cynkiem a metaloproteinazami. Przebadano dużą grupę, liczącą 517 osób, w obu grupach badanej i kontrolnej znaczną przewagę stanowiły kobiety (odpowiednio 173 i 225 kobiet). Wynik ten tłumaczy się większym zainteresowaniem zdrowia oraz kampanii zdrowotnych jakim był ten projekt, u kobiet aniżeli u mężczyzn. Otyłość brzuszna dotyka częściej mężczyzn niż kobiet, dlatego mniejszy udział mężczyzn w badanej populacji może mieć wpływ na uzyskane wyniki. Wpływ składników mineralnych oraz witamin na fundamentalne procesy biochemiczne człowieka stały się inspiracją do podjęcia tematu niniejszej dysertacji, a mianowicie badania związku cynku i metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 z procesami metabolicznymi u osób otyłych. Informacje z dostępnych publikacji wskazują na nieprawidłowe stężenia cynku u osób otyłych oraz na pozytywne efekty leczenia stanów zapalnych (infekcje górnych dróg oddechowych oraz ostrych biegunek) [110, 111, 112], poprawę profilu glikemii i profilu lipidowego, a nawet redukcję masy ciała w wyniku zastosowanej suplementacji cynkiem, co budzi nadzieję wśród chorych w obecnej pandemii otyłości. Nieprawidłowa homeostaza cynku (obniżone stężenie cynku w surowicy krwi oraz wzrost stężenia tego pierwiastka w moczu) towarzysząca otyłości została potwierdzona w niektórych badaniach klinicznych [113]. Mechanizmy zaobserwowane u osób otyłych nadal nie są jasne, co utrudnia interpretację uzyskanych wyników.

Wzrost stężenia cynku w moczu stwierdza się także w trakcie nasilonego katabolizmu (Cuthbertson i in., 1972), hemolizy (Prasad i in., 1975) oraz marskości wątroby (Vallee i in., 1959). Badanie MT Bear [114] wykazało, że dynamika zmian stężenia cynku jest bardziej zauważalna w moczu niż w osoczu co sugeruje, że stężenie cynku w moczu może być również dobrym parametrem oceny gospodarki cynku w organizmie.

Analizę stężenia cynku we krwi utrudnia fakt, że pierwiastek ten jest regulowany przez wiele białek transportowych, a także wysokie stężenie wewnątrzkomórkowe. W przeciwieństwie do innych pierwiastków śladowych, takich jak żelazo (Fe), selen (Se) lub miedź (Cu), nie ma obecnie ustalonych specyficznych biomarkerów wskazujących na status cynku (Zn) w organizmie. W pracach badawczych najczęściej ocenia się stężenie cynku w surowicy lub osoczu krwi, w erytrocytach oraz w moczu. Warto zaznaczyć, że stężenie cynku w surowicy lub osoczu są względnie niewrażliwe na zmiany spożycia cynku w diecie czy suplementacji [115]. Nowym potencjalnym biomarkerem mogłaby być ocena ekspresji białek transportujących cynk (MT, metalotionein) w leukocytach (PBMC, *peripheral blood mononuclear cells*, jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej) [116]. Dane wskazują na szybką (48 godziną) reakcję w stężeniu metalotionein w wyniku zastosowanej suplementacji cynku.

Analizując uzyskane z niniejszego projektu wyniki, należy wziąć pod uwagę mechanizmy związku cynku z procesami zapalnymi. Wiedza na temat udziału pierwiastków śladowych podczas toczącego się procesu zapalnego najszerzej została poznana w przypadku żelaza poprzez ocenę stężenia hepcydyny jako głównego regulatora metabolizmu Fe oraz ferrytyny, jako głównego magazynu Fe podczas reakcji zapalnej. W przypadku miedzi (Cu) na skutek stanu zapalnego dochodzi do wzrostu produkcji ceruloplazminy, a w przypadku selenu do produkcji wewnątrzkomórkowych selenoprotein kosztem krążącego białka transportującego-selenoproteiny P.

Działanie cynku na układ odpornościowy został udowodniony, natomiast mechanizmy dystrybucji cynku są bardziej złożone i nadal niejasne.

Przejęciowy i szybki spadek stężenia cynku w osoczu jest wynikiem redystrybucji cynku do przedziałów komórkowych. Reakcja na proces zapalny dotyczy niemal wszystkich narządów, w tym komórek odpornościowych oraz białek zależnych od cynku. Znaczący przepływ cynku zachodzi od krążącej albuminy produkowanej w hepatocytach do wewnątrzkomórkowych metalotionein (MT). Wzrost cynku wewnątrzkomórkowego



tłumaczy się koniecznością dostarczenia dodatkowego cynku do syntezy białek, neutralizacji reaktywnych form azotu i tlenu oraz zapobiegania inwazji mikrobiologicznej.

W procesie zapalnym w wyniku zakażenia dochodzi do przesunięcia cynku z osocza do komórek, aby ograniczyć dostęp patogenu do tego pierwiastka. Paradoksalnie, mimo, że otyłość nie wiąże się z procesem zapalnym na tle zakażenia, to mechanizmy wrodzonej odporności pozostają te same. Toczący się w otyłości przewlekły proces zapalny doprowadza do powikłań narządowych, a te do pełnoobjawowych chorób.

Zawarte w tabeli 9 wyniki badań porównujące ciśnienie tętnicze oraz parametry biochemiczne krwi między grupą badaną a kontrolną (zarówno wśród kobiet i mężczyzn) wskazują na wyższe wartości ciśnienia tętniczego, wyższe stężenie glukozy, kreatyniny, kwasu moczowego wśród grupy badanej. Ponadto stwierdzono aterogenny profil lipidowy oraz podwyższone parametry czynności wątroby.

Uzyskane wyniki są charakterystyczne dla zaburzeń metabolicznych oraz powikłań otyłości, i są zgodne z wynikami prac innych autorów [117].

W niniejszym badaniu wykazano dodatnią korelację między cynkiem a cholesterolem HDL, ujemną między cynkiem a trójglicerydami TG oraz wiekiem, masą ciała, ciśnieniem tętniczym, ALT i kwasem moczowym. Wyniki wskazują na istotny związek niskiego stężenia cynku z markerami zespołu metabolicznego. Wyniki badań świadczą również o przeciwmiażdżycowym działaniu zarówno cynku jak i HDL. Przeciwmiażdżycowe działanie HDL związane jest z mechanizmem odwrotnego transportu cholesterolu (RCT), dane epidemiologiczne wskazują na silną odwrotną korelację pomiędzy stężeniem HDL a ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych. Poprawa profilu lipidowego z udziałem cynku wynika z mechanizmu redukcji stresu oksydacyjnego (w tym utleniania lipidów), hamowaniu NF- $\kappa$ B, hamowaniu produkcji cytokin zapalnych oraz wzroście ekspresji receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów  $\alpha$  (PPAR- $\alpha$ ). W praktyce klinicznej fibraty jako ligandy PPAR- $\alpha$  zastosowano w leczeniu dyslipidemii [118]. Metaanaliza Ranasinghe i wsp. [119] oraz Khazdouz i wsp. [120] udowodniła korzystny wpływ suplementacji cynku uzyskując spadek stężenia LDL, TG, cholesterolu całkowitego oraz wzrost frakcji HDL.

Nadmierna aktywność procesów zapalnych u otyłych może być mierzona za pomocą wielu białek osoczowych. W przebiegu otyłości wielokrotnie wykazano wzrost mediatorów zapalnych takich jak: białko C -reaktywne (CRP), interleukiny- 6 (IL-6), czynnika martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ ), białko chemotaktyczne monocytów (MCP-1) [35].

W niniejszej pracy oznaczono białko CRP jako parametr stanu zapalnego. W badaniu Frohlich [121] wykazano, że stężenie CRP jest zwiększone u osób z otyłych i rośnie liniowo wraz ze wzrostem liczby zaburzeń metabolicznych. W materiale własnym wykazano ujemną korelację między stężeniem cynku w surowicy a CRP u badanej grupy mężczyzn, nie stwierdzono takiej korelacji w grupie badanych kobiet. W badaniu mediana CRP była jednak wyższa u osób z prawidłową masą ciała.

Ponadto wykazano istotnie niższe stężenie cynku w surowicy u osób otyłych w porównaniu z osobami z prawidłową masą ciała (w obu grupach jednak stężenia cynku w surowicy krwi mieściło się w granicach normy).

Zaobserwowane w niniejszej pracy różnice w stężeniu cynku u kobiet i mężczyzn (rycina 6 i rycina 7) mogą wynikać z różnych preferencji żywieniowych. Mężczyźni częściej preferują pokarmy pochodzenia zwierzęcego i mięso (bogate w cynk), natomiast kobiety więcej spożywają produktów zbożowych bogatych w błonnik i fityniany, które obniżają biodostępność cynku [122]. W niniejszej pracy nie analizowano jednak preferencji żywieniowych oraz sposobu żywienia osób badanych. Wyższe stężenie cynku u mężczyzn w porównaniu do kobiet zaobserwowano również w badaniu Viegas-Crespo AM i wsp [123]. Biorąc pod uwagę, przeciwzapalne działanie cynku wydaje się, że reakcja zapalna może stanowić główną ścieżkę patofizjologiczną między cynkiem a otyłością. Niedobór cynku zakłóca rozwój i funkcję komórek T powodując zaburzenie równowagi między limfocytami Th1 do Th2. Wykazano, że cynk wpływa na spadek populacji komórek Th1 CD4 +, promując przeciwzapalne Treg i hamując prozapalne Th17 i Th9. Ponadto pobudza naturalną aktywność komórek zabójczych (NK), aktywność fagocytarną makrofagów i neutrofili [124]. Zaobserwowane w niniejszym badaniu niskie stężenie cynku we krwi grupy osób otyłych mogłoby stanowić marker toczącego się stanu zapalnego na wczesnym etapie zaburzeń metabolicznych.

Cynk jest niezbędnym mikropierwiastkiem, którego złożona rola w organizmie człowieka budzi nadzieję w zapobieganiu metabolicznych powikłań otyłości. Wieloczynnikowy charakter otyłości sprawia trudności terapeutyczne w walce z nadmierną masą ciała. Wyniki badań sugerują, że suplementacja cynkiem miałaby obiecujący potencjał jako nowy środek terapeutyczny poprawiający profil metaboliczny.

Otyłość wiąże się z nadmiernym wzrostem tkanki tłuszczowej, a jej rozwój zależy od właściwej sygnalizacji międzykomórkowej na skutek proteolizy licznych substratów MMPs (czynników

wzrostu, cytokin, receptorów, białek macierzy zewnątrzkomórkowej, białek adhezyjnych) oraz niezbędnej przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej [125].

W niniejszym projekcie badawczym oceniono stężenie zależnych od cynku metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP). Spośród zbadanych u człowieka 23 metaloproteinaz oznaczono przedstawicieli grupy żelatynaz. Należy zaznaczyć, że profil ekspresji MMPs w rozwoju otyłości nie jest w pełni zdefiniowany. Sprzeczność wyników prawdopodobnie związana jest z prowadzeniem badań na różnym etapie procesu remodelingu tkanki tłuszczowej i już obecnych powikłań metabolicznych u osób otyłych.

W niniejszym badaniu wykazano istotnie niższe stężenia MMP-2 i MMP-9 w grupach osób otyłych, (kobiet i mężczyzn), w porównaniu z grupami kontrolnymi. Ciekawym spostrzeżeniem w pracy było znamienne statystycznie obniżenie stężenie MMP-9 u otyłych kobiet w porównaniu do otyłych mężczyzn.

Wyniki badań biochemicznych przeprowadzonych wśród otyłych osób wykazują wzrost ekspresji MMP w wyniku stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego i aktywacji prozapalnych cytokin (IL-1, IL-6 TNF- $\alpha$ ), a także hormonów i czynników wzrostu [126]. W badaniu G. Derosa [100] wśród otyłych pacjentów, wykazano dodatnią korelację między MMP-2 i MMP-9 a BMI. Badania B. Florys B i B. Głowińska-Olszewska [127] wykazały wśród otyłej młodzieży dodatnią korelację między MMP-9 a BMI i ujemną korelację między MMP-2 a BMI. W niniejszym projekcie średnie stężenie MMP-2 w surowicy u osób otyłych było niższe w porównaniu z grupą kontrolną (52,52 ng/ml vs 66,02 ng/ml). Średnie stężenie MMP-9 w surowicy osób otyłych było również niższe niż w grupie kontrolnej (1302,43 ng/ml vs 1569,66 ng/ml). Przyczynę niskich stężeń metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w projekcie można tłumaczyć rygorystycznym kryteriom włączenia do badania, między innymi wykluczeniem z grupy badanej osób z chorobą niedokrwienną serca, cukrzycą czy wahaniami ciśnienia tętniczego. Poza tym nie można wykluczyć, że część badanych osób przyjmowała regularnie leki, w tym leki hipotensyjne. Liczne dane literaturowe wskazują na pozytywny wpływ leczenia nadciśnienia tętniczego i blokowania układu renina-angiotensyna -aldosteron (RAA) na stężenie metaloproteinaz w surowicy krwi [128, 129]. W licznych badaniach, między innymi Derosa i wsp [130], Schieffer i wsp [131] i Nakamura i wsp. [132] wykazano spadek stężeń żelatynaz w wyniku zastosowanej farmakoterapii hipotensyjnej.

Udowodnione korzystne działanie na metaloproteinazy mają leki z grupy I-ACE i ARB, które obniżają aktywność angiotensyny II, zmniejszają stres oksydacyjny oraz stan zapalny,

co ma wpływ na obniżenie stężenia MMP-2 i MMP-9 w surowicy krwi [133]. Korzystny wpływ również dotyczy leków hipolipemizujących [134] oraz stosowanych w leczeniu cukrzycy typu 2 [135].

Warto również zwrócić uwagę na fakt, że redukcja MMP-2 i MMP-9 zmniejsza aktywność IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$ , skutkując odwróceniem procesów molekularnych związanych z zapaleniem i zwłóknieniem. Ma to szczególne znaczenie, gdyż brak równowagi MMP/TIMP odgrywa ważną rolę w procesach patologicznych, związanych z przerostową przebudową naczyń i zwiększonym ryzykiem sercowo -naczyniowym [136]. Należy również zaznaczyć korzystny wpływ leków hipotensyjnych na parametry zapalne i niższych stężeń CRP u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym stosujących farmakoterapię [137]. Przedstawione powyżej zależności mogą częściowo tłumaczyć zaobserwowana w niniejszym badaniu niższą medianę CRP u otyłych kobiet aniżeli u kobiet z prawidłową masą ciała.

W prezentowanej pracy nie analizowano niestety innych parametrów stanu zapalnego, co dałoby szersze możliwości interpretacji uzyskanych wyników. Ponadto trzeba zaznaczyć, że znaczący odsetek kobiet zarówno w grupie otyłej jak i kontrolnej stanowiły kobiety po menopauzie, których stężenie estrogenów (E2, estradiolu) jest mniejsze niż u kobiet przed menopauzą. Powszechnie wiadomo, że kobiety po menopauzie stanowią grupę podwyższonego ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych [138]. A jednym z czynników jest brak ochronnego działania estrogenów na układ krążenia i podwyższone markery stanu zapalnego w okresie pomenopauzalnym (CRP, IL- 6, TNF-  $\alpha$ ) [139, 140] powodujące dysfunkcje śródbłonna [141].

Kolejną przyczyną obniżonych stężeń MMP u badanych osób mogą być preferencje żywieniowe. Flawonoidy obecne w warzywach i owocach wywierają działanie przeciwutleniające i przeciwzapalne, wpływając na obniżoną ekspresję i aktywację metaloproteinaz macierzy [142]. Niestety w niniejszej pracy nie oceniano zwyczajów żywieniowych badanych osób.

Mechanizm niższych stężeń metaloproteinaz u osób otyłych można upatrywać również w ich relacji z cynkiem. Zmiana stężenia cynku w organizmie może wpływać na ekspresję, stężenie i aktywność MMP. Metaloproteiny wymagają jonów cynku, aby utrzymać odpowiednią trzeciorzędową strukturę i funkcjonalne miejsca aktywne. Niższe stężenie MMP u osób otyłych może być związane z blokowaniem metaloproteinaz przez TIMPs lub wyczerpaniem ich form aktywnych przy jednoczesnym wstrzymaniu ich syntezy

wynikający z niedoboru cynku lub celowym ograniczaniem dostępności cynku do syntezy enzymów.

Wzrost aktywności MMP przyczynia się do nadmiernej degradacji błony podstawnej adipocytów, co wiąże się z ich uszkodzeniem i nasiloną odpowiedzią zapalną w obrębie tkanki tłuszczowej. Analiza 47 badań wpływu suplementacji cynkiem na aktywność MMP nadal nie jest jednoznaczna. Wykazano zarówno aktywujący jak i hamujący wpływ na aktywność MMP.

Różnice w wynikach tłumaczone są różną liczebnością grup badanych, czasem suplementacji i przyjmowaną dawką preparatu cynku [143]. Rozbieżność wyników badań prawdopodobnie jest również spowodowana niejednorodnym podejściem metodycznym i przeprowadzanych analiz. W niniejszym projekcie zostały również zbadane korelacje pomiędzy stężeniem MMP-2 i MMP-9 oraz biochemicznymi wykładnikami wybranych zaburzeń metabolicznych takich jak: stężenie glukozy na czczo, stężenie parametrów gospodarki lipidowej, ALT, AST, kwasu moczowego, przewlekłego stanu zapalnego (CRP) oraz ciśnienia tętniczego, BMI i cynku.

Analiza statystyczna wykazała ujemną korelację między metaloproteinazami a wskaźnikiem BMI oraz kwasem moczowym. Miricescu i wsp [144] również wykazali ujemną korelację między MMP a kwasem moczowym. Przyczyna wzrostu stężenia kwasu moczowego w surowicy u osób otyłych nie jest do końca znana, niemniej jednak sugeruje się kilka czynników, które mogą zwiększać stężenie kwasu moczowego. Należą do nich: dieta (bogata w związki purynowe, alkohol i fruktozę), hiperinsulinemia, która zwiększa reabsorpcję nerkową kwasu moczowego. Nie wyklucza się, że wzrost stężenia kwasu moczowego, antyoksydantu zewnątrz- i wewnątrzkomórkowego, stanowi odpowiedź adaptacyjną w celu ochrony przed szkodliwym działaniem wolnych rodników i stresu oksydacyjnego [145]. W niniejszym badaniu zaobserwowano również ujemną korelację między MMP-9 a wiekiem. Podobne obserwacje wykazali Bonnema i wsp [146]. W pracy stwierdzono dodatnią korelację między MMP-2 a cholesterolem HDL. W badaniu Miksztowicz i wsp. [147] wykazano ujemną korelację między MMP-2 a stężeniem cholesterolu HDL, a także ich podfrakcjami HDL2, HDL3. W badaniu Prystupa i wsp [148] wśród pacjentów z niewyrównaną metabolicznie cukrzycą typu 2 wykazano podobną korelację. Wykazano również, że aktywności MMP-2 maleje wraz ze wzrostem stężenia HDL. Bellostta i wsp [149] wykazali, że HDL hamuje aktywność MMP-2 przez zmniejszenie stresu oksydacyjnego na skutek redukcji reaktywnych form tlenu (ROS).

W pracy oceniono również, które z analizowanych parametrów antropometrycznych i biochemicznych miały największy i niezależny wpływ na stężenie cynku i metaloproteinaz w organizmie osób badanych. Wykazano, że u kobiet stężenie cynku i MMP-9 jest silnie zależne od wskaźnika BMI, stężenie MMP-2 jest zależne od wskaźnika BMI i stężenia cholesterolu całkowitego. W populacji mężczyzn wykazano silną zależność między stężeniem cynku a wartością skurczowego ciśnienia tętniczego. U mężczyzn silnym predyktorem stężenia MMP-2 jest wskaźnik BMI, natomiast predyktorem MMP-9 u mężczyzn jest wiek. Uzyskane wyniki wskazują na istotny związek wskaźnika BMI oraz parametrów zaburzeń lipidowych i wieku, jak i ciśnienia tętniczego ze stężeniem cynku i metaloproteinaz. Wpływ tych czynników na analizowane parametry jest zależny od płci.

Otyłość, zwłaszcza brzuszna stała się jednym z najsilniejszych czynników rozwoju nadciśnienia tętniczego [150, 151].

W niniejszym badaniu, grupie otyłych kobiet i mężczyzn wykazano znacząco wyższe wartości ciśnienia tętniczego niż w grupie kontrolnej. W całej badanej populacji oraz w grupie kontrolnej wykazano ujemną korelację między stężeniem cynku a ciśnieniem tętniczym. W grupie otyłych kobiet wykazano dodatnią korelację między cynkiem a skurczowym ciśnieniem tętniczym (SBP), negatywną korelację wykazano w grupie otyłych mężczyzn. Co więcej, w populacji mężczyzn wykazano silną zależność między stężeniem cynku a wartością skurczowego ciśnienia tętniczego (SBP).

Wyniki niniejszych badań wskazują na możliwy udział cynku w regulacji ciśnienia tętniczego. W badaniu polskim oceniono homeostazę cynku u osób z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Wykazano obniżone stężenie cynku w surowicy krwi, wzrost wydalania cynku z moczem, przy zwiększonym wchłanianiu tego pierwiastka z przewodu pokarmowego [152]. W badaniu eksperymentalnym na zwierzętach wykazano, że obniżona zawartość cynku w diecie wpływa na wzrost ciśnienia tętniczego poprzez spadek aktywności syntazy tlenu azotu (NOS) [153]. Z kolei suplementacja preparatem cynku w metaanalizie 20 badań randomizowanych nie wykazała wpływu na ciśnienie tętnicze krwi u badanych osób [120].

Ostatnie badania Williams i wsp [154] dowodzą, że niedobór cynku indukuje wzrost ciśnienia tętniczego poprzez stymulowanie retencji nerkowej sodu w szlaku zależnym od Na<sup>+</sup> + Cl<sup>-</sup>-kotransportera (NCC, Na-Cl cotransporter) w kanale krętym dystalnym nefronu. W praktyce klinicznej diuretyki tiazydowe stosowane w leczeniu nadciśnienia

tętniczego, wykorzystywane są celem blokowania transpotreta NCC, dzięki temu zwiększają natriurezę i diurezę.

Badacze sugerują, że cynk może pomóc w regulacji białek, które regulują NCC, ale bezpośredni związek między nadciśnieniem tętniczym wywołanym niedoborem cynku nie został wyjaśniony [155].

W niniejszej pracy wykazano ujemną korelację między MMP-9 a skurczowym ciśnieniem tętniczym w populacji kobiet. W wielu badaniach udowodniono wpływ MMP na niekontrolowany proces proteolityczny jako jeden z podstawowych mechanizmów rozwoju nadciśnienia tętniczego [156, 157, 158].

Otyłość predysponuje do współwystępowania czynników ryzyka sercowo- naczyniowego, które definiują zespół metaboliczny. Towarzyszące nowe, nieklasyczne czynniki ryzyka takie jak dysfunkcja śródbłonna, reakcja zapalna i stres oksydacyjny tłumaczą patogenezę niekorzystnych konsekwencji otyłości.

W badaniu postawiono hipotezę, że stężenie cynku w organizmie oraz aktywność metaloproteinaz MMP-2 i MMP- 9 ma związek z markerami zaburzeń metabolicznych u osób otyłych.

W badaniu dość jednorodnej populacji pochodzącej z jednego rejonu Polski wykazano, że obniżone stężenie cynku oraz metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 ma związek z otyłością oraz z parametrami stanu zapalnego i innymi zaburzeniami metabolicznymi.

Uzyskane wyniki oraz dane literaturowe nie są jednoznaczne i skłaniają do stawiania dalszych pytań. Wskazują także na konieczność prowadzenia dalszych badań nad znaczeniem cynku i metaloproteinaz w patologii otyłości. Nie wyklucza się, że strategiczna terapia ukierunkowana na profil MMP i stężenie cynku mogłaby zmniejszyć ryzyko powikłań sercowo-naczyniowych u osób otyłych.

## 7. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań wśród mieszkańców Wielkopolski można stwierdzić, że:

1. Niskie stężenie cynku w surowicy krwi współistnieje z otyłością w populacji kobiet.
2. Otyłość jest związana z obniżonymi stężeniami metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w surowicy krwi kobiet i mężczyzn.
3. Niskie stężenie cynku oraz metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 prawdopodobnie wpływa na zaburzenia metaboliczne, wzrost ciśnienia tętniczego, stan zapalny oraz niekorzystne zmiany w funkcji wątroby u osób otyłych.
4. Płeć ma wpływ na stężenie metaloproteinazy MMP-9 w surowicy krwi oraz na korelacje jakie występują pomiędzy stężeniem cynku i stężeniem metaloproteinaz a parametrami gospodarki lipidowej, wartościami ciśnienia tętniczego krwi, stężeniem CRP i parametrami funkcji wątroby.
5. Stężenie cynku i metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w surowicy krwi mogą być uznane jako dodatkowe markery zaburzeń metabolicznych związanych z otyłością.



## 8. Streszczenie

### Tytuł: Znaczenie cynku w patogenezie otyłości i jej powikłań

Otyłość jest chorobą wynikającą z nadmiernego nagromadzenia tkanki tłuszczowej, która zaburza prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Nie ma wątpliwości, że u podłoża otyłości leży nieodpowiedni sposób żywienia, którego wykładnikami w wymiarze biochemicznym są zaburzenia metaboliczne, w tym brak równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej. Konsekwencją nadmiernej masy ciała jest wzrost ryzyka wystąpienia powikłań, które prowadzą do rozwoju chorób.

Rosnąca częstość występowania otyłości skłania do poszukiwania nowych mechanizmów związanych z rozwojem otyłości i zaburzeń współistniejących. Wiadomo, że składniki mineralne odgrywają kluczową rolę w wielu procesach metabolicznych a ich niewłaściwe stężenie w organizmie jest związane z występowaniem wielu chorób. Jednym z niezbędnymi pierwiastków w organizmie, który odgrywa znaczącą rolę w prawidłowym przebiegu procesów metabolicznych jest cynk. W badaniach wykazano związek pomiędzy metaloproteinazami zależnymi od cynku a gospodarką lipidową i węglowodanową. Badania nad związkiem gospodarki cynku z cytokinami, adipokinami i innymi markerami procesów metabolicznych są niezbędne, aby wyjaśnić jego rolę w rozwoju otyłości i jej powikłań. Modyfikacja stężenia cynku w organizmie może stać się nowym celem w prewencji i leczeniu zaburzeń metabolicznych. Biorąc to pod uwagę celem głównym pracy była identyfikacja zależności między stężeniem cynku oraz stężeniem metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 z parametrami zaburzeń metabolicznych, stanu zapalnego, funkcją nerek i wątroby u osób otyłych.

### Materiał i metody

Do badania zakwalifikowano 517 osób z Województwa Wielkopolskiego, w obu grupach badanej i kontrolnej znaczną przewagę stanowiły kobiety (odpowiednio 173 i 225 kobiet). Mniejszą grupę stanowili mężczyźni, odpowiednio 62 mężczyzn w grupie badawczej i 57 mężczyzn w grupie kontrolnej. Wszyscy uczestnicy podpisali świadomą zgodę na udział w badaniu. Kryteria włączenia do badania stanowiły: wskaźnik BMI powyżej 30, stabilna masa ciała w okresie miesiąca przed rozpoczęciem badania, wiek 18-65, zgoda na udział w badaniu. Z badania wykluczono osoby, u których stwierdzono: klinicznie istotny ostry lub przewlekły

proces zapalny w obrębie układu oddechowego, pokarmowego, moczowo-płciowego, tkanki łącznej, infekcję w okresie miesiąca przed rozpoczęciem badania, nikotyzm, alkoholizm, ciążę, poród lub laktację w czasie badania i w okresie 3 miesięcy przed rozpoczęciem badania, wtórną postać otyłości, wtórna postać nadciśnienia tętniczego, wahania wartości ciśnienie tętniczego, cukrzycę, chorobę niedokrwienną serca, udar mózgu, niewydolność serca, klinicznie istotną arytmie, trwającą złośliwą chorobę nowotworową, stosowanie suplementów diety w okresie 3 miesięcy przed rozpoczęciem badania.

U wszystkich osób dokonano pomiarów masy ciała i wzrostu (obliczono wskaźnik masy ciała BMI) oraz zmierzono ciśnienie tętnicze. Od uczestników badania została pobrana krew z żyły łokciowej. W surowicy krwi oceniono parametry gospodarki lipidowej, glikemię na czczo, oznaczono parametry nerkowe (kreatyninę, eGFR) oraz parametry funkcji wątroby (ALT, AST). W surowicy krwi oznaczono również stężenie cynku, stężenie CRP, stężenie metaloproteinaz (MMP-2, MMP-9) i stężenie kwasu moczowego. Pomiaru masy ciała, wzrostu oraz ciśnienia tętniczego dokonano zgodnie z aktualnymi zaleceniami. Stężenie cynku w surowicy krwi oznaczono metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej. Oznaczenie metaloproteinaz wykonano metodą ELISA. Stężenie CRP oceniono metodą immunturbidymetryczną. Pozostałe parametry oznaczono metodami spektrofotometrycznymi. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy pomocy programu Statistica 12.0.

## Wyniki

Wykazano, że stężenie cynku w surowicy krwi jest istotnie niższe w grupie osób otyłych ogółem i u kobiet. Porównując stężenie metaloproteinaz stwierdzono istotnie niższe stężenia MMP-2 i MMP-9 w grupach osób otyłych, zarówno u kobiet jak u mężczyzn, w porównaniu z grupami kontrolnymi. Poza tym, wykazano istotnie niższe stężenie MMP-9 w surowicy otyłych kobiet w porównaniu z otyłymi mężczyznami.

Stężenie cynku i metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w surowicy krwi badanej populacji korelowało z wieloma parametrami procesów metabolicznych i ciśnienia tętniczego krwi. W grupie ogółem stwierdzono występowanie istotnych negatywnych korelacji między stężeniem Zn a wiekiem, BMI, ciśnieniem tętniczym, stężeniami AST i ALT, stężeniem kreatyniny, TG i kwasem moczowym. Dodatnią korelację zaobserwowano między stężeniem Zn a cholesterolem HDL. Stężenie metaloproteinaz korelowało ujemnie ze wskaźnikiem BMI oraz stężeniem kwasu moczowego (MMP 2). U osób otyłych wykazano istotne ujemne

korelacje między stężeniem Zn a stężeniem TG oraz między stężeniem MMP-2 a wskaźnikiem BMI. Natomiast w grupie kontrolnej istotne ujemne korelacje zaobserwowano dla stężeń Zn i ALT oraz stężenia Zn i ciśnienia tętniczego. Poza tym w każdej badanej grupie i podgrupie wykazano istotne dodatnie korelacje między stężeniami MMP-2 i MMP-9. Zaobserwowane w całej populacji istotne korelacje zostały w większości potwierdzone w populacji kobiet, ale nie u mężczyzn.

Analiza regresji wykazała, że wartość wskaźnika BMI jest niezależnym czynnikiem wpływającym na stężenie metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w populacji kobiet. U mężczyzn na stężenie MMP-2 wpływa przede wszystkim wskaźnik BMI a na stężenie MMP-9 ma wpływ wiek.

#### Wnioski

1. Niskie stężenie cynku w surowicy krwi współistnieje z otyłością w populacji kobiet.
2. Otyłość jest związana z obniżonymi stężeniami metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w surowicy krwi kobiet i mężczyzn.
3. Niskie stężenie cynku oraz metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 prawdopodobnie wpływa na zaburzenia metaboliczne, wzrost ciśnienia tętniczego, stan zapalny oraz niekorzystne zmiany w funkcji wątroby u osób otyłych.
4. Płeć ma wpływ na stężenie metaloproteinazy MMP-9 w surowicy krwi oraz na korelacje jakie występują pomiędzy stężeniem cynku i stężeniem metaloproteinaz a parametrami gospodarki lipidowej, wartościami ciśnienia tętniczego krwi, stężeniem CRP i parametrami funkcji wątroby.
5. Stężenie cynku i metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w surowicy krwi mogą być uznane jako dodatkowe markery zaburzeń metabolicznych związanych z otyłością.

## Summary:

### **Title: The role of zinc in the pathogenesis of obesity and its complications.**

Obesity is a condition which is the result of excessive fat accumulation that interferes with the body's proper functioning. There is no doubt that the root causes of obesity are inappropriate nutrition, the biochemical components of which are metabolic disorders, including pro-oxidant antioxidant imbalance. The consequence of excessive weight is an increased risk of complications that lead to the development of diseases. The growing incidence of obesity prompts the search for new mechanisms related to the development of obesity and associated disorders. It is now clear that minerals play a crucial role in many metabolic processes and their inappropriate concentration in the body is associated with the occurrence of many diseases. One of the essential elements in the body that plays a significant role in the proper course of metabolic processes is zinc. Studies have shown a correlation between zinc-dependent metalloproteinases and lipid and carbohydrate metabolism. Studies on the relationship of zinc metabolism with cytokines, adipokines and other markers of metabolic processes are necessary to explain its role in the development of obesity and its complications. Modifying the concentration of zinc in the body may become a new aim in the prevention and treatment of metabolic disorders. Taking this into account, the main goal of the study was to identify the relationship between the concentration of zinc and the concentration of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 with the parameters of metabolic disorders, inflammation, kidney and liver function in obese subjects.

### Material and methods:

The study included 517 people from the Greater Poland region, in both the study and control groups women dominated (173 and 225 women correspondingly). Men constituted a smaller group of 62 in the study group, and 57 in the control group, respectively. Anthropometric parameters and blood pressure were assessed.

All participants signed an informed consent form before participation in the study. The criteria for inclusion in the study were: BMI over 30, stable body weight in the month before the start of the study, age 18-65, consent to participate in the study.

The study excluded people with a clinically significant acute or chronic inflammatory process in the respiratory, digestive, urogenital systems, connective tissue, infection within one

month before the start of the study, smoking, alcoholism, pregnancy, childbirth or lactation during the study and within 3 months before the start of the study, secondary form of obesity, secondary form of arterial hypertension, fluctuations in blood pressure, diabetes, ischemic heart disease, stroke, heart failure, clinically significant arrhythmia, ongoing malignant neoplastic disease, use of dietary supplements within 3 months before starting the study. Body weight and height (BMI was calculated) and blood pressure were measured in all patients. Blood was drawn from the participants of the study from a vein in the arm. The parameters of lipid metabolism, fasting glycemia were assessed in the blood serum, renal parameters (creatinine, eGFR) and parameters of liver function (ALT, AST) were determined. The concentration of zinc, CRP, concentration of metalloproteinases (MMP-2, MMP-9) and uric acid concentration were also determined in the blood serum. Body weight, height and blood pressure were measured in accordance with the current recommendations. The concentration of zinc in the blood serum was determined by atomic absorption spectrometry.

Metalloproteinases were determined using the ELISA method. CRP concentration was assessed by immunoturbidimetric method. The remaining parameters were determined by spectrophotometric methods. The statistical analysis of the results was performed using the Statistica 12.0 program.

## Results

It has been shown that the concentration of zinc in the blood serum is significantly lower in the obese group as a whole and in women. Comparing the concentration of metalloproteinases, significantly lower concentrations of MMP-2 and MMP-9 were found in the obese groups, both in women and men, compared to the control groups. Moreover, a significantly lower concentration of MMP-9 in the serum of obese women was demonstrated compared to obese men.

The concentration of zinc and metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in the blood serum of the studied population correlated with many parameters of metabolic processes and blood pressure.

In the overall group, significant negative correlations were found between Zn concentration and age, BMI, blood pressure, AST and ALT concentrations, creatinine, TG and uric acid levels. A positive correlation was observed between Zn concentration and HDL cholesterol.

The concentration of metalloproteinases negatively correlated with the BMI index and the concentration of uric acid (MMP-2). In obese subjects, significant negative correlations were found between the Zn concentration and the TG concentration, and between the MMP-2 concentration and the BMI index. On the other hand, in the control group, significant negative correlations were observed for Zn and ALT concentrations, as well as for Zn concentrations and blood pressure.

Moreover, in each group and subgroup studied, significant positive correlations between the concentrations of MMP-2 and MMP-9 were found. The significant correlations observed in the whole population were mostly confirmed in the female population, but not in the male population.

Regression analysis showed that the value of BMI is an independent factor affecting the concentration of MMP-2 and MMP-9 metalloproteinases in the female population. In men, the concentration of MMP-2 is mainly influenced by the BMI index and the concentration of MMP-9 is influenced by age.

## Conclusions

1. Low concentration of zinc in the blood serum coexists with obesity in the female population.
2. Obesity is associated with decreased levels of MMP-2 and MMP-9 metalloproteinases in the blood serum of women and men.
3. Low concentration of zinc and the metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 probably affects metabolic disorders, increased blood pressure, inflammation and adverse changes in liver function in obese patients.
4. Sex influences the concentration of MMP-9 in the blood serum and the correlations between the concentration of zinc and the concentration of metalloproteinases and the parameters of lipid metabolism, blood pressure, CRP concentration and parameters of liver function.
5. Serum zinc and MMP-2 and MMP-9 metalloproteinases may be considered as additional markers of metabolic disorders associated with obesity.

## 9. Spis rycin i wykresów

Rycina 1. Wykładniki stanu zapalnego w otyłości

Rycina 2. Stres oksydacyjny i wpływ na otyłość

Rycina 3. Aktywność leukocytów w zależności od stężenia cynku w osoczu

Rycina 4. Stres oksydacyjny i wpływ na aktywność MMP

Rycina 5. Wykres średniego stężenia cynku w surowicy osób badanych i kontrolnych ogółem

Rycina 6. Wykres średniego stężenia cynku w surowicy osób badanych i kontrolnych u kobiet

Rycina 7. Wykres średniego stężenia cynku w surowicy osób badanych i kontrolnych u mężczyzn

Rycina 8. Wykres stężenia MMP 2 w surowicy krwi grupy badanej i kontrolnej ogółem

Rycina 9. Wykres stężenia MMP 9 w surowicy krwi grupy badanej i kontrolnej ogółem

Rycina 10. Wykres stężenia MMP 2 w surowicy kobiet w grupie badanej i kontrolnej

Rycina 11. Wykres stężenia MMP 9 w surowicy kobiet w grupie badanej i kontrolnej

Rycina 12. Wykres stężenia MMP 2 w surowicy mężczyzn w grupie badanej i kontrolnej

Rycina 13. Wykres stężenia MMP 9 w surowicy mężczyzn w grupie badanej i kontrolnej

Rycina 14. Wykres przedstawiający porównanie stężeń cynku w surowicy krwi otyłych kobiet i mężczyzn

Rycina 15. Porównanie stężeń MMP 2 w surowicy krwi otyłych kobiet i mężczyzn

Rycina 16. Wykres przedstawiający porównanie stężeń MMP 9 w surowicy krwi otyłych kobiet i mężczyzn.

Rycina 17. Wykres zależności między stężeniem cynku i wskaźnikiem BMI w populacji ogółem

Rycina 18. Wykres zależności między stężeniem cynku i wskaźnikiem BMI w populacji kobiet

## 10. Spis tabel

Tabela 1. Klasyfikacja otyłości wg WHO (w oparciu o BMI)

Tabela 2. Nowe kategorie otyłości – wytyczne The American Association of Clinical Endocrinologists / The American College of Endocrinology (AACE/ACE)

Tabela 3. Tlenowe związki reaktywne i ich prekursorzy

Tabela 4. Podział antyoksydantów

Tabela 5. Etiologia niedoboru cynku (wg Michael D. Corbo, modyfikacja własna)

Tabela 6. Charakterystyka osób badanych ogółem (n=517).

Tabela 7. Charakterystyka kobiet ogółem (n=398).

Tabela 8. Charakterystyka mężczyzn ogółem (n=119).

Tabela 9. Porównanie wskaźnika BMI, ciśnienia tętniczego i parametrów biochemicznych w badanej populacji ogółem

Tabela 10. Porównanie wskaźnika BMI, ciśnienia tętniczego i parametrów biochemicznych w badanej populacji kobiet

Tabela 11. Porównanie wskaźnika BMI, ciśnienia tętniczego i parametrów biochemicznych w badanej populacji mężczyzn

Tabela 12. Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w całej badanej populacji

Tabela 13. Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie osób otyłych

Tabela 14. Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie kontrolnej

Tabela 15. Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w populacji kobiet

Tabela 16. Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie otyłych kobiet

Tabela 17. Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie kontrolnej kobiet

Tabela 18. Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w populacji mężczyzn



Tabela 19. Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie otyłych mężczyzn

Tabela 20. Korelacja (współczynnik R) między stężeniem cynku i metaloproteinazami a pozostałymi parametrami w grupie kontrolnej mężczyzn

Tabela 21. Analiza regresji dla cynku w populacji kobiet

Tabela 22. Analiza regresji dla MMP 2 w populacji kobiet

Tabela 23. Analiza regresji dla MMP 9 w populacji kobiet

Tabela 24. Analiza regresji dla Zn w populacji mężczyzn

Tabela 25. Analiza regresji dla MMP2 w populacji mężczyzn

Tabela 26. Analiza regresji dla MMP9 w populacji mężczyzn

## 11. Piśmiennictwo

1. WHO Consultation on Obesity (1997: Geneva, Switzerland), World Health Organization. Division of Noncommunicable Diseases & World Health Organization. Programme of Nutrition, Family and Reproductive Health. (1998). Obesity: preventing and managing the global epidemic :report of a WHO Consultation on Obesity, Geneva, 3-5 June 1997. World Health Organization.  
[online: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/63854> ].
2. Międzynarodowa klasyfikacja chorób i problemów zdrowotnych ICD-10.  
[online: <http://srk.csioz.gov.pl>].
3. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specyfic gene dysregulated in obesity. J. Biol. Chem. 1996; 271(18): 10697-10703.
4. Severo JS, Morais JBS, Beserra JB, Dos Santos LR, de Sousa Melo SR, de Sousa GS, de Matos Neto EM, Henriques GS, do Nascimento Marreiro D. Role of Zinc in Zinc- $\alpha$ 2-Glycoprotein Metabolism in Obesity: a Review of Literature. Biol Trace Elem Res. 2020 Jan;193(1):81-88.
5. Obesity and overweight. Fact Sheets. World Health Organization, Updated February 2018 [online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> ].
6. Ng M, Fleming T, Robinson M, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 [published correction appears in Lancet. 2014 Aug 30;384(9945):746]. Lancet. 2014; 384(9945): 766-781.
7. Stepaniak U, Micek A, Waśkiewicz A, et al. Prevalence of general and abdominal obesity and overweight among adults in Poland. Results of the WOBASZ II study (2013-2014) and comparison with the WOBASZ study (2003-2005). Pol Arch Med Wewn. 2016; 126(9): 662–671.

8. Eurostat news release 2013/2016 - 20 October 2016 European Health Interview Survey Almost 1 adult in 6 in the EU is considered obese Share of obesity increases with age and decreases with education level  
[online: <https://ec.europa.eu/eurostat/documents/2995521/7700898/3-20102016-BP-EN.pdf/c26b037b-d5f3-4c05-89c1-00bf0b98d646> ]
9. Tatoń J, Czech A, Bernas M. Kliniczna definicja nadwagi i otyłości. Otyłość zespół metaboliczny. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 2007; 26-41.
10. Wronka L, Sińska B, Wójcik Z. Przegląd metod oceny stanu odżywienia osób dorosłych – cz. I: metody antropometryczne. Żyw Człow Metab. 2010; 37:268–280.
11. Garrow JS, Webster J. Quetelet's index (W/H<sup>2</sup>) as a measure of fatness. Int J Obes. 1985; 9(2): 147-153.
12. WHO: Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Geneva, WHO Technical Report Series 894, 2000.
13. Garvey WT, Mechanick JL, Brett EM, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Comprehensive Clinical Practice Guidelines for Medical Care of Patients with Obesity. Endocr. Pract. 2016; 22 (suppl. 3): 1–203.
14. Alberti KG, Zimmet PZ, Shaw J. The metabolic syndrome- a new worldwide definition. Lancet 2005; 366:1059-1062.
15. Grundy S.M., Brewer H.B., Cleeman J.I., Smith S.C., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 2004; 2 (24): e13.
16. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High BloodCholesterol in Adults. Executive summary of the third report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001; 285: 2486-2497.

17. Molarius A, Seidell JC, Sans S, Tuomilehto J, Kuulasmaa K. Waist and hip circumferences, and waist-hip ratio in 19 populations the WHO MONICA Project. *Int. J Obes Relat Metab Disord.* 1999; 23:116-25.
18. Prado CMM, Heymsfield SB. Lean tissue imaging: a new era for nutritional assessment and intervention. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2014; 38:940-953.
19. Buksinska-Lisik M, Lisik W, Zaleska T. Otyłość — choroba interdyscyplinarna. *Przew. Lek.* 2006; 1: 72–77.
20. Pérusse L, Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Snyder EE, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes Res.* 2005 Mar;13(3): 381-490.
21. Schwartz MW, Seeley RJ, Zeltser LM, et al. Obesity Pathogenesis: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev.* 2017;38(4): 267-296.
22. Field AE, Coakley EH, Must A, et al. Impact of Overweight on the Risk of Developing Common Chronic Diseases During a 10-Year Period. *Arch Intern Med.* 2001; 161(13): 1581–1586.
23. Vasan RS, Pencina MJ, Cobain M, Freiberg MS, D'Agostino RB. Estimated risks for developing obesity in the Framingham Heart Study. *Ann Intern Med.* 2005 Oct 4; 143(7): 473-480.
24. Klop B, Elte J, Cabezas M. Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. *Nutrients.* 2013 Apr; 5(4): 1218–1240.
25. Albert MA, Glynn RJ, Buring J, Ridker PM. Impact of traditional and novel risk factors on the relationship between socioeconomic status and incident cardiovascular events. *Circulation.* 2006; 114(24): 2619-2626.
26. Siemińska L. Tkanka tłuszczowa. Patofizjologia, rozmieszczenie, różnice płciowe oraz znaczenie w procesach zapalnych i nowotworowych. *Endokrynol Pol* 2007; 58 (4): 330–342.

27. Ohlson LO, Larsson B, Svärdsudd K, et al. The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. *Diabetes*. 1985; 34(10): 1055-1058.
28. Field AE, Coakley EH, Must A, et al. Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period. *Arch Intern Med*. 2001;161(13):1581-1586.
29. International Diabetes Federation. Types of diabetes. Secondary International Diabetes Federation. Types of diabetes. [online: <http://www.idf.org/types-diabetes> ]
30. Williamson DF, Thompson TJ, Thun M, Flanders D, Pamuk E, Byers T. Intentional weight loss and mortality among overweight individuals with diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(10):1499-1504.
31. Gumprecht J, et al. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę. *Diabetologia Praktyczna* 2019; 5(1): 8.
32. Després JP. Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome. *Nutrition*. 1993; 9(5): 452–459.
33. Ellulu MS, Patimah I, Khazaai H, Rahmat A, Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch Med Sci*. 2017; 13(4): 851-863.
34. Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm*. 2013; 2013:139239.
35. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- $\kappa$ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*. 2017; 2: 17023
36. Bahceci M, Gokalp D, Bahceci S, Tuzcu A, Atmaca S, Arikan S. The correlation between adiposity and adiponectin, tumor necrosis factor alpha, interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels. Is adipocyte size associated with inflammation in adults?. *J Endocrinol Invest*. 2007;30(3):210-214.
37. Park HS, Park JY, Yu R. Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005;69(1):29-35.

38. Huber J, Kiefer FW, Zeyda M, Ludvik B, Silberhumer GR, Prager G, et al. CC chemokine and CC chemokine receptor profiles in visceral and subcutaneous adipose tissue are altered in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93: 3215–21.
39. Codoñer-Franch P, Valls-Bellés V, Arilla-Codoñer A, Alonso-Iglesias. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Transl Res.* 2011; 158: 369-384.
40. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2004; 114: 1752-1761.
41. Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res.* 2004; 43:200-27.
- 42 Dwivedi S, Sharma A, Patrick B, Sharma R, Awasthi YC. Role of 4-hydroxynonenal and its metabolites in signaling. *Redox Rep.* 2007; 12: 4-10.
43. Dalle-Donne I, Aldini G, Carini M, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *J Cell Mol Med.* 2006; 10:389-406.
44. Wierusz-Wysocka B, Araszkiewicz A, Schlaffke J. Końcowe produkty glikacji — nowy biomarker cukrzycy i jej powikłań? *Diabetologia Kliniczna.* 2013; 2(3): 96-103.
45. Dizdaroglu M, Jaruga P, Rodriguez H. Measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry: comparison with measurement by gas chromatography-mass spectrometry. *Nucleic Acids Res.* 2001;29(3): E12.
46. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition,* 2002; 18: 872-879.
47. Wołonciej M, Milewska E, Roszkowska-Jakimiec W. Pierwiastki śladowe jako aktywatory enzymów antyoksydacyjnych. *Postepy Hig Med Dosw.* 2016; 70: 1483-1498.
48. Damms-Machado A, Weser G, Bischoff SC. Micronutrient deficiency in obese subjects undergoing low calorie diet. *Nutr J.* 2012;11: 34.

49. Sánchez A, et al. Micronutrient Deficiencies in Morbidly Obese Women Prior to Bariatric Surgery. *Obes Surg*. 2016; 26(2): 361-8.
50. de Luis DA, Pacheco D, Izaola O, Terroba MC, Cuellar L, Cabezas G. Micronutrient status in morbidly obese women before bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis*. 2013; 9(2): 323-327.
51. Wenzel BJ, Stults HB, Mayer J. Hypoferraemia in obese adolescents. *Lancet*. 1962 Aug 18; 2(7251): 27-8.
52. Ausk KJ, Ioannou GN. Is obesity associated with anemia of chronic disease? A population-based study. *Obesity (Silver Spring)*. 2008; 16(10): 2356-2361.
53. Zhao L, Zhang X, Shen Y, Fang X, Wang Y, Wang F. Obesity and iron deficiency: a quantitative meta-analysis. *Obes Rev*. 2015;16(12):1081-1093.
54. Bekri S, Gual P, Anty R, et al. Increased adipose tissue expression of hepcidin in severe obesity is independent from diabetes and NASH. *Gastroenterology*. 2006;131(3):788-796.
55. Kim B. Thyroid hormone as a determinant of energy expenditure and the basal metabolic rate. *Thyroid*. 2008;18(2):141-144. doi:10.1089/thy.2007.0266
56. Fox CS, Pencina MJ, D'Agostino RB, Murabito JM, Seely EW, Pearce EN, Vasan RS. Relations of thyroid function to body weight: cross-sectional and longitudinal observations in a community-based sample. *Arch Intern Med*. 2008 Mar 24; 168(6):587-92.
57. Comas, F., Lluch, A., Sabater, M. et al. Adipose tissue TSH as a new modulator of human adipocyte mitochondrial function. *Int J Obes* 43, 2019; 1611–1619.
58. Booth AO, Huggins CE, Wattanapenpaiboon N, Nowson CA. Effect of increasing dietary calcium through supplements and dairy food on body weight and body composition: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr*. 2015;114(7):1013-1025.
59. Gomes JM, Costa JA, Alfenas RC. Could the beneficial effects of dietary calcium on obesity and diabetes control be mediated by changes in intestinal microbiota and integrity?. *Br J Nutr*. 2015;114(11):1756-1765.

60. Pittler MH, Stevinson C, Ernst E: Chromium picolinate for reducing body weight: meta-analysis of randomized trials. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003; 27: 522–529.
61. Wang Y, Hong S, Gu Y, Song X, Zhao J. Carcinogenicity of chromium and chemoprevention: a brief update. *Onco Targets Ther*. 2017; 10: 4065–4079.
62. Tuerk MJ, Fazel N. Zinc deficiency. *Curr Opin Gastroenterol*. 2009; 25(2): 136-43.
63. King JC, Cousins RJ. Zinc. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, eds. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 10th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2006:271–285.
64. Lönnerdal B. Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr*. 2000;130 (5S Suppl):1378S-83S.
65. Dineley KE, Votyakova TV, Reynolds IJ. Zinc inhibition of cellular energy production: implications for mitochondria and neurodegeneration. *J Neurochem*. 2003; 85(3):563-70.
66. Maret W. Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life. *Adv Nutr*. 2013; 4(1): 82-91.
67. Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev*. 1993; 73: 79–118.
68. Oteiza PI. Zinc and the modulation of redox homeostasis. *Free Radic Biol Med*. 2012; 53(9): 1748-1759.
69. Peters S, Koh J, Choi DW. Zinc selectively blocks the action of Nmethyl-D-aspartate on cortical neurons. *Science*. 1987; 236:589-93.
70. Cortese MM, Suschek CV, Wetzell W, Kröncke KD, Kolb-Bachofen V. Zinc protects endothelial cells from hydrogen peroxide via Nrf2-dependent stimulation of glutathione biosynthesis. *Free Radic Biol Med*. 2008;44(12):2002-2012.
71. Karcioğlu ZA. Zinc in the eye. *Surv Ophthalmol*. 1982; 27(2): 114-122.
72. Wijesekara N, Chimienti F, Wheeler MB. Zinc, a regulator of islet function and glucose homeostasis. *Diabetes Obes Metab*. 2009;11(4): 202-214.



73. Ranasinghe P, Wathurapatha WS, Ishara MH, Jayawardana R, Galappaththy P, Katulanda P. Constantine GR. Effects of Zinc supplementation on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. *Ranasinghe et al. Nutrition & Metabolism*. 2015 (12): 26.
74. Payahoo L, Ostadrahimi A, Mobasser M, et al. Effects of zinc supplementation on the anthropometric measurements, lipid profiles and fasting blood glucose in the healthy obese adults. *Adv Pharm Bull*. 2013;3(1):161-165.
75. Rathnayake KM, Silva K, Jayawardana R. Effects of zinc supplementation on obesity: study protocol for a randomized controlled clinical trial. *Trials*. 2016;17(1):534.
76. National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements. [ online: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Zinc-HealthProfessional/#en63> ]
77. Zdrojewicz Z, Wiśniewska A. Rola cynku w seksualności mężczyzn. *Adv. Clin. Exp. Med*. 2005: 1295-1300.
78. Mellone M, Pelucchi S, Alberti L, Genazzani AA, Di Luca M, Gardoni F. Zinc transporter-1: a novel NMDA receptor-binding protein at the postsynaptic density. *J Neurochem*. 2015;132(2):159-168.
79. Zinc and multi-mineral supplementation should mitigate the pathogenic impact of cadmium exposure. McCarty MF *Med Hypotheses*. 2012; 79(5): 642-8.
80. Costarelli L, Muti E, Malavolta M, Cipriano C, Giacconi R, Tesei S, Piacenza F, Pierpaoli S, Gasparini N, Faloi E, Tirabassi G, Boscaro M, Polito A, Mauro B, Maiani F, Raguzzini A, Marcellini F, Giuli C, Papa R, Emanuelli M, Lattanzio F, Mocchegiani E. Distinctive modulation of inflammatory and metabolic parameters in relation to zinc nutritional status in adult overweight/obese subjects. *J Nutr Biochem*. 2010; 21(5):432-7.
81. Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. Oteiza PI, Olin KL, Fraga CG, Keen CL *J Nutr*. 1995; 125(4): 823-9.
82. Campo CA, Wellinghausen N, Faber C, Fischer A, Rink L. Zinc inhibits the mixed lymphocyte culture. *Biol Trace Elem Res*. 2001; 79(1):15-22.

83. Rink L. Zinc and the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2000; 59(4): 541-552.
84. Wessells KR, Singh GM, Brown KH. Estimating the Global Prevalence of Inadequate Zinc Intake from National Food Balance Sheets: Effects of Methodological Assumptions. *PLoS One*. 2012; 7(11): e50565.
85. Corbo MD, Lam J. Zinc deficiency and its management in the pediatric population: a literature review and proposed etiologic classification. *J Am Acad Dermatol*. 2013; 69(4): 616-624.e1.
86. Błażewicz A, Klatka M, Astel A, Partyka M, Kocjan R. Differences in trace metal concentrations (Co, Cu, Fe, Mn, Zn, Cd, and Ni) in whole blood, plasma, and urine of obese and nonobese children. *Biol Trace Elem Res*. 2013; 155(2): 190–200.
87. Sinha S, Sen S. Status of zinc and magnesium levels in type 2 diabetes mellitus and its relationship with glycemic status. *Int J Diabetes Dev Ctries*. 2014; 34(4):220–223
88. Chen MD, Lin PY, Sheu WH. Zinc status in plasma of obese individuals during glucose administration. *Biol Trace Elem Res*. 1997;60(1–2):123–9. doi: 10.1007/BF02783315. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
89. Marreiro DN, Fisberg M, Cozzolino SM. Zinc nutritional status in obese children and adolescents. *Biol Trace Elem Res*. 2002;86(2):107–22. doi: 10.1385/BTER:86:2:107.
90. Weisstaub, G, Hertrampf, E, Lopez de Romana, D et al. (2007) Plasma zinc concentration, body composition and physical activity in obese preschool children. *Biol Trace Elem Res* 118, 167–174
91. Trojanek J. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej i ich tkankowe inhibitory. *Postępy Biochem* 2012. 58: 353-362.
92. Brew K, Dinakarbandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta*. 2000; 1477(1-2):267-283.
93. Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007; 8: 221-33.

94. Hrabec E, Naduk J, Stręk M, Hrabec Z. Kolagenazy typu IV (MMP-2 i MMP-9) i ich substraty – białka macierzy pozakomorkowej, hormony, cytokiny, chemokiny i ich receptory. *Post. Biochem.* 2007; 53: 37–45.
95. Horiguchi M, Ota M, Rifkin DB. Matrix control of transforming growth factor- $\beta$  function. *J Biochem.* 2012; 152(4): 321–329.
96. Skóra J, Biegus J, Pupka A, Barć P, Sikora J, Szyber P. Molekularne podstawy angiogenezy. *Postępy Hig Med Dosw.* 2006; 60: 410-415.
97. Chojnacki M, Zając A, Pięt M. Udział metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej w rozwoju i progresji chorób nowotworowych. *Postępy Biochemii.* 2017; 63 (4): 277- 286.
98. Hrabec F, Naduk J, Stręk M i wsp. Kolagenazy typu IV (MMP-2 i MMP-9) i ich substraty – białka macierzy pozakomórkowej, hormony, cytokiny, hemokiny i ich receptory. *Post Biochem* 2007; 53: 37–45.
99. Prystupa A, Kancik E, Dyczko M. Metaloproteinazy macierzy MMP-2 i MMP-9 w surowicy pacjentów z cukrzycą typu 2. *Family Medicine & Primary Care Review* 2011, 13, 2: 229-232.
100. Derosa G, Ferrari I, D'Angelo A, et al. Matrix metalloproteinase-2 and -9 levels in obese patients. *Endothelium.* 2008;15(4):219-224.
101. García-Prieto CF, Gil-Ortega M, Vega-Martín E, et al. Beneficial Effect of Bariatric Surgery on Abnormal MMP-9 and AMPK Activities: Potential Markers of Obesity-Related CV Risk. *Front Physiol.* 2019; 10: 553.
102. Bouloumié A, Sengenès C, Portolan G, Galitzky J, Lafontan M. Adipocyte produces matrix metalloproteinases 2 and 9: involvement in adipose differentiation. *Diabetes.* 2001;50(9):2080-2086.
103. Mazar R, Friedmann-Morvinski D, Alsaigh T, et al. Cleavage of the leptin receptor by matrix metalloproteinase-2 promotes leptin resistance and obesity in mice. *Sci Transl Med.* 2018;10(455): 6324.
104. Van Hul M, Lijnen HR. A functional role of gelatinase A in the development of nutritionally induced obesity in mice. *J Thromb Haemost.* 2008;6(7):1198-1206.

105. Jaworski DM1, Sideleva O i wsp. Sexually dimorphic diet-induced insulin resistance in obese tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2)-deficient mice. *Endocrinology*. 2011 Apr;152(4):1300-13.
106. Hubert H.B., Feinleib M., McNamara P.M., Castelli W.P.: Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*, 1983; 67: 968-977.
107. Funk LM, Shan Y, Voils CI, Klope J, Hanrahan LP. Electronic Health Record Data Versus the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): A Comparison of Overweight and Obesity Rates. *Med Care*. 2017;55(6): 598-605.
108. Pająk A., Jamrozik E., Kawalec E. i wsp.: Zawał serca – zagrożenia i postępowanie. Długofalowa obserwacja populacji 280 000 kobiet i mężczyzn – Projekt Pol-Monica Kraków. Część III. *Epidemiologia i leczenie zawału serca. Przegl. Lek.*, 1996; 53: 767-778.
- 109 Prospective Studies Collaboration, Whitlock G, Lewington S, et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet*. 2009;373(9669):1083-1096.
110. Brooks WA, Santosham M, Naheed A, Goswami D, Wahed MA, Diener-West M, et al. Effect of weekly zinc supplements on incidence of pneumonia and diarrhoea in children younger than 2 years in an urban, low-income population in Bangladesh: randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 366: 999-1004
111. Lukacik M, Thomas RL, Aranda JV. A meta-analysis of the effects of oral zinc in the treatment of acute and persistent diarrhea. *Pediatrics* 2008; 121: 326-36.
112. Hulisz D. Efficacy of zinc against common cold viruses: an overview. *J Am Pharm Assoc* (2003) 2004; 44: 594-603.
113. Freitas EP, Cunha AT, Aquino SL, et al. Zinc Status Biomarkers and Cardiometabolic Risk Factors in Metabolic Syndrome: A Case Control Study. *Nutrients*. 2017;9(2):175.
114. M T Baer, J C King, Tissue zinc levels and zinc excretion during experimental zinc depletion in young men. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1984; 39 (4): 556–570.

115. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. Lowe NM, Fekete K, Decsi T, Am J Clin Nutr. 2009 Jun; 89(6): 2040S-2051S.
116. Aydemir TB, Blanchard RK, Cousins RJ. Zinc supplementation of young men alters metallothionein, zinc transporter, and cytokine gene expression in leukocyte populations. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006; 103(6):1699-704.
117. Harold E. Bays et al. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: A consensus statement from the National Lipid Association. Journal of Clinical Lipidology. 2013; 7 (4): 338 - 353.
118. Forman B.M., Chen J., Evans R.M.: Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\delta$ . Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997; 94: 4312-4317
119. Ranasinghe P, WS Wathurapatha, MH Ishara , R. Jayawardana, P. Galappaththy, P. Katulanda, GR Constantine. Effects of Zinc supplementation on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. Ranasinghe et al. Nutrition & Metabolism. 2015; 12: 26.
120. Khazdouz M, Djalalinia S, Sarrafi Zadeh S. et al. Effects of Zinc Supplementation on Cardiometabolic Risk Factors: a Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. Biol Trace Elem Res. 2020; 195: 373–398.
121. Frohlich M., Imhof A., Berg G. i wsp.: Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. Diabetes Care 2000; 23: 1835–1839.
122. Ma G, Li Y, Jin Y, Zhai F, Kok FJ, Yang X. Phytate intake and molar ratios of phytate to zinc, iron and calcium in the diets of people in China. Eur J Clin Nutr. 2007;61(3):368-374.
123. Viegas-Crespo AM, Pavao ML, Paulo O, Santos V, Santos MC & Neve J (2000): Trace element status (Se,Cu,Zn) and serum lipid profile in portuguese subjects of San Miguel Island. J. Trace Elements Med. Biol. 14, 1–5.
124. Rosenkranz, Eva et al. Zinc enhances the number of regulatory T cells in allergen-stimulated cells from atopic subjects. European Journal of Nutrition. 2015; 56: 557-567.

125. Cauwe B, Van den Steen PE, Opdenakker G. The biochemical, biological, and pathological kaleidoscope of cell surface substrates processed by matrix metalloproteinases. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2007;42(3):113-185.
126. Leal Vde O, Mafrá D. Adipokines in obesity. *Clin Chim Acta*. 2013;419: 87-94.
127. Florys B., Głowińska-Olszewska B., Urban M. Ocena stężenia wybranych metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-2, MMP-9) u dzieci i młodzieży z otyłością prostą. *Endokrynologia, Diabetologia i Choroby Przemiany Materii Wieku Rozwojowego*. 2006; 12: 179–183.
128. Fang H, Chen W, Gao Y, Shen Y, Luo M: Molecular mechanisms associated with Angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptide activity on vascular extracellular matrix remodeling. *Cardiology*. 2014; 127: 247- 255.
129. Onal IK, Altun B, Onal ED, Kirkpantur A, Oz SG, Turgan C: Serum levels of MMP-9 and TIMP-1 in primary hypertension and effect of antihypertensive treatment. *Eur J Int Med*. 2009; 20: 369-372.
130. Derosa G, Mugellini A, Pesce RM, D'Angelo A, Maffioli P: Barnidipine compared to lercanidipine in addition to losartan on endothelial damage and oxidative stress parameters in patients with hypertension and type 2 diabetes mellitus. *BMC Cardiovasc Disord* 2016; 16:66.
131. Schieffer B, Bunte C, Witte J, Hoepfer K, Boger RH, Schwedhelm E, Drexler H: Comparative Effects of AT1- Antagonism and Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition on Markers of Inflammation and Platelet Aggregation in Patients With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 44:362-368.
132. Nakamura T, Inoue T, Suzuki T, Kawagoe Y, Ueda Y, Koide H, Node K: Comparison of renal and vascular protective effects between telmisartan and amlodipine in hypertensive patients with chronic kidney disease with mild renal insufficiency. *Hypertens Res* 2008; 31: 841-850.
133. Harvey A, Montezano AC, Lopes RA, Rios F, Touyz RM: Vascular Fibrosis in Aging and Hypertension: Molecular Mechanisms and Clinical Implications. *Can J Cardiol* 2016; 32: 659-668.

134. AM Jr, Kastelein JJ et al. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet* 2009; 373 (9670): 1175–1182.
135. Ghanim H, Garg R, Aljada A, Mohanty P, Kumbkarni Y, Assian E et al. Suppression of nuclear factor-kappaB and stimulation of inhibitor kappaB by troglitazone: evidence for an anti-inflammatory effect and a potential antiatherosclerotic effect in the obese. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1306–1312.
136. Peeters SA, Engelen L, Buijs J, et al. Plasma matrix metalloproteinases are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in patients with type 1 diabetes: a 12-year follow-up study. *Cardiovasc Diabetol*. 2017; 16(1): 55  
doi: 10.1186/s12933-017-0539-1, indexed in Pubmed:28446168
137. Fulop T, Rule AD, Schmidt DW, Wiste HJ, Bailey KR, Kullo IJ et al. C-reactive protein among community-dwelling hypertensives on single-agent antihypertensive treatment. *J Am Soc Hypertens* 2009; 3 (4): 260–266.
138. Mosca L, Manson JE, Sutherland SE, et al. Cardiovascular disease in women: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Writing Group. *Circulation*. 1997; 96: 2468–2482.
139. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000; 342(12): 836-843.
140. Arenas IA, Armstrong SJ, Xu Y, Davidge ST. Chronic TNF $\alpha$  Inhibition Enhances Nitric Oxide Modulation of Vascular Function in Estrogen Deficient Rats. *Hypertension*. 2005; 46: 76–81.
141. Saltiki K, Doukas C, Kanakakis J, et al. Severity of cardiovascular disease in women: relation with exposure to endogenous estrogen. *Maturitas*. 2006; 55: 51–57.
142. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lemieux S, Lamarche B, Couillard C. Plasma matrix metalloproteinase (MMP)-9 levels are reduced following low-calorie cranberry juice supplementation in men. *J Am Coll Nutr*. 2009;28(6):694-701.

143. Nosrati R, Kheirouri S, Ghodsi R, Ojaghi H. The effects of zinc treatment on matrix metalloproteinases: A systematic review. *J Trace Elem Med Biol.* 2019; 56:107–115.
144. Miricescu D, Totan A, Calenic B, et al. Salivary biomarkers: relationship between oxidative stress and alveolar bone loss in chronic periodontitis. *Acta Odontol Scand.* 2014; 72(1): 42-47.
145. Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1981; 78:6858–6862.
146. Dirk Bonnema D, Carson S. Webb, Weems R. Pennington, et al. METALLOPROTEINASES (MMPs) AND TISSUE INHIBITOR OF METALLOPROTEINASES (TIMPs). *Card Fail.* 2007; 13(7): 530–540.
147. Miksztowicz V, Siseles N, Fernandez Machulsky N, et al. Increase in MMP-2 activity in overweight and obese women is associated with menopausal status. *Climacteric.* 2012; 15(6): 602-606.
148. Prystupa A, Kancik E, Dyczko M. Metaloproteinazy macierzy MMP-2 i MMP-9 w surowicy pacjentów z cukrzycą typu 2. *Family Medicine & Primary Care Review* 2011, 13, 2: 229-232
149. Bellosa S, Gomaschi M., Canavesi M, et al. Inhibition of MMP-2 activation and release as a novel mechanism for HDL-induced cardioprotection. *FEBS Letters* 2006; 580: 5974–5978.
150. Domienik-Karłowicz J, Lichodziejewska B, Lisik W, et al. Zmiany strukturalno-czynnościowe naczyń tętniczych spowodowane otyłością. *Choroby Serca i Naczyń.* 2010; 7(2): 80–84.
151. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circ Res.* 2015; 116(6): 991-1006.
152. Tubek S. Role of zinc in regulation of arterial blood pressure and in the etiopathogenesis of arterial hypertension. *Biol Trace Elem Res.* 2007; 117: 39–51.



153. Tomat, A., Weisstaub, A., Jauregui, A. et al. Moderate Zinc Deficiency Influences Arterial Blood Pressure and Vascular Nitric Oxide Pathway in Growing Rats. *Pediatr Res.* 2005; 58: 672–676 <https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000180540.55990.EB>
154. Clintoria R. Williams et al, Zinc Deficiency Induces Hypertension by Promoting Renal Sodium Reabsorption, *American Journal of Physiology-Renal Physiology* (2019). DOI: 10.1152/ajprenal.00487.2018
155. Verouti SN, Boscardin E, Hummler E, Frateschi S. Regulation of blood pressure and renal function by NCC and ENaC: lessons from genetically engineered mice. *Curr Opin Pharmacol.* 2015; 21: 60–72.
156. Schmid-Schönbein GW. Matrix metalloproteinases activities in hypertension: emerging opportunities. *Hypertension.* 2011; 57(1):24-25.
157. Friesse RS, Rao F, Khandrika S, et al. Matrix metalloproteinases: discrete elevations in essential hypertension and hypertensive end-stage renal disease. *Clin Exp Hypertens.* 2009; 31(7): 521-533.
158. Wang M, Kim SH, Monticone RE, Lakatta EG. Matrix metalloproteinases promote arterial remodeling in aging, hypertension, and atherosclerosis. *Hypertension.* 2015; 65(4): 698-703.

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM  
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

tel. (+48 61) 854 73 36  
www.bioetyka.ump.edu.pl

Ustawa (druki z 3 grudnia 1996 r. o wyrokach lekarskiej i lekarskiej pomocy) (Dz. U. z 2018 r., poz. 617, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 13 maja 1999 r. w sprawie wyodrębnienia zadań prowadzących i finansowanych oraz trybu działania komisji historycznych (Dz. U. z 1999 r., Nr 47, poz. 409); Ustawa i dnia 6 września 2001 r. o zmianie ustawy o pomocy społecznej (Dz. U. z 2017 r., poz. 2231 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie obwarunkowań akceptacji odpowiedzialności cywilnej (Dz. U. z 2004 r., Nr 101, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 18 maja 2004 r. zmieniającego rozporządzenie w sprawie obwarunkowań akceptacji odpowiedzialności cywilnej (Dz. U. z 2004 r., Nr 101, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie sposobu prowadzenia badań historycznych i udzielania pomocy (Dz. U. z 2004 r., Nr 101, poz. 1634 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie zgłoszenia odpowiedzialności cywilnej niepełnosprawnych produktów leczniczych (Dz. U. z 2004 r., Nr 104, poz. 1182); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 17 lutego 2016 r. w sprawie sposobu udzielania zgłoszenia i badania klinicznego produktu leczniczego lub aktywnego związku chemicznego do zastosowań opartych na działaniu tych substancji (Dz. U. z 2016 r., poz. 200); Ustawa z dnia 28 marca 2018 r. o wyrokach lekarskich (Dz. U. z 2017 r., poz. 231, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 12 grudnia 2010 r. w sprawie obwarunkowań akceptacji odpowiedzialności cywilnej (Dz. U. z 2010 r., Nr 194, poz. 1294); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 18 marca 2012 r. o Krajowej Reprezentacji Produktów Leczniczych, Wyrobnictwie Medycznym i Produktach Medycznych (Dz. U. z 2012 r., poz. 174 z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie Działu Produktów Klinicznych (Dz. U. z 2012 r., poz. 493); Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 12 grudnia 2018 r. w sprawie sposobu dokonywania prób klinicznych w trybie i badaniach klinicznych produktów leczniczych oraz: opłat za działanie w ramach rozporządzenia wykonawczego (Dz. U. z 2018 r., poz. 1994); w sprawie o publikacji informacji - Zarząd Wyższego Postępowania w Egzekucyjnym Medycynie; Uchwała Izby o sprawie KIC/2009.

(Aneks 1 z dnia 05.10.2016r., Aneks nr 2 z dnia 01.12.2016r., Aneks nr 3 z dnia 16.05.2018r., Aneks nr 4 z dnia 06.12.2018r., Aneks nr 5 z dnia 06.12.2018r., Aneks nr 6 z dnia 06.12.2018r., Aneks nr 7 z dnia 06.12.2018r., Aneks nr 8 z dnia 06.12.2018r., Aneks nr 9 z dnia 06.12.2018r.)

prof. zw. dr hab. med. Paweł Chęciński