

Otyłość jako czynnik ryzyka uszkodzeń oksydacyjnych lipidów błon komórkowych u kobiet w okresie pomenopauzalnym

Obesity as a risk factor for oxidative damage to membrane lipids in postmenopausal women

Janusz Szosland¹, Agnieszka Kokoszko^{1,3}, Krzysztof Zasada^{1,3}, Jan Stępnik¹, Andrzej Lewiński^{2,3},
Małgorzata Karbownik-Lewińska^{1,3}

¹Zakład Endokrynologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi,
kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Małgorzata Karbownik-Lewińska

²Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Andrzej Lewiński

³Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi,
kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Andrzej Lewiński

Przeгляд Menopauzalny 2010; 3: 159–164

Streszczenie

Wstęp: Otyłość stanowi jeden z głównych modyfikowalnych czynników ryzyka wystąpienia wielu nowotworów, przy czym moc predykcyjna otyłości w odniesieniu do ryzyka nowotworzenia wzrasta u kobiet w okresie pomenopauzalnym. Z kolei proces kancerogenezy jest związany z nasileniem stresu oksydacyjnego. Jednym ze wskaźników stresu oksydacyjnego jest poziom peroksydacji lipidów (*lipid peroxidation* – LPO), będącej wynikiem oksydacyjnego uszkodzenia lipidów błon komórkowych.

Cel pracy: Ocena stężenia LPO u kobiet w okresie pomenopauzalnym z nadwagą lub otyłością.

Materiały i metody: Do badania zakwalifikowano 42 kobiety w okresie pomenopauzalnym, w tym 35 kobiet z nadwagą lub z otyłością [wskaźnik masy ciała (*body mass index* – BMI) ≥ 25 kg/m²] oraz 7 kobiet z BMI < 25 kg/m² (grupa kontrolna), odpowiednio dobranych pod względem wieku. Stężenie dialdehydu malonowego oraz 4-hydroksyalkenalali (*malondialdehyde* + *4-hydroxyalkenals* – MDA + 4-HDA) jako wskaźnika LPO mierzono w surowicy. Dodatkowo, w analizie statystycznej wyników badania uwzględniono wartości innych wskaźników klinicznych i biochemicznych związanych z otyłością.

Wyniki: Poziom LPO był istotnie podwyższony u kobiet w okresie pomenopauzalnym z nadwagą lub otyłością i zwiększał się w kolejnych przedziałach BMI. Odnotowano dodatnią korelację pomiędzy poziomem LPO a masą ciała, BMI, obwodem talii, obwodem bioder i wskaźnikiem talia : biodra (*waist : hip ratio* – WHR). Masa ciała stanowiła jedyny niezależny dodatni czynnik predykcyjny dla nasilonego stresu oksydacyjnego. Z kolei poziom LPO stanowił jedyny dodatni czynnik determinujący otyłość.

Wnioski: Zwiększenie masy ciała przyczynia się bezpośrednio do nasilenia uszkodzenia oksydacyjnego lipidów błon komórkowych u kobiet w wieku pomenopauzalnym, co może stanowić jeden z mechanizmów podwyższonego ryzyka kancerogenezy.

Słowa kluczowe: okres pomenopauzalny, otyłość, stres oksydacyjny, peroksydacja lipidów, kancerogeneza

Summary

Introduction: Obesity does constitute one of the most common modifiable risk factors for cancer, with further increase in the risk in postmenopausal women. In turn, the process of cancerogenesis is associated with the enhanced oxidative stress. Lipid peroxidation (LPO), resulting from oxidative damage to membrane lipids, is the most frequently examined process to evaluate oxidative damage to macromolecules.

Aim of the study: The aim of the study was to evaluate the LPO level in overweight and obese postmenopausal women.

Materials and methods: Forty two postmenopausal women, i.e. 35 overweight or obese with a body mass index (BMI) ≥ 25 kg/m², and 7 with BMI < 25 kg/m² (Controls), well matched for age, were enrolled in the study. Concentration of malondialdehyde + 4-hydroxyalkenals (MDA + 4-HDA), as an index of LPO, was measured in the serum. Clinical and laboratory parameters, which are frequently affected by obesity, were also measured in the study.

Adres do korespondencji:

prof. dr hab. n. med. **Małgorzata Karbownik-Lewińska**, Zakład Endokrynologii Onkologicznej, Katedra Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Żeligowskiego 7/9, 90-752 Łódź; tel./faks +48 42 639 31 21, +48 42 271 13 43; e-mail: MKarbownik@hotmail.com

Results: The LPO level increased in overweight and obese postmenopausal women and its further increase was observed with the increasing BMI. Additionally, the LPO level correlated positively with body mass, BMI, waist or hip circumference and waist: hip ratio (WHR). Body weight was the only independent positive predictor for increased oxidative stress. In turn, the LPO level was the only independent positive determinant for obesity.

Conclusions: Increased body mass does contribute directly to enhanced oxidative damage to membrane lipids in postmenopausal women, a phenomenon which may constitute one of the mechanisms of an increased cancer risk.

Key words: postmenopausal women, obesity, oxidative stress, lipid peroxidation, cancerogenesis

Wstęp

Zarówno nadwaga, jak i otyłość stanowią główne modyfikowalne czynniki ryzyka wystąpienia wielu nowotworów, m.in. raka trzustki, jelita grubego, sutka, endometrium, gruczołu krokowego, nerki i przetyku [1–5]. Wykazano, że w przypadku niektórych nowotworów, np. raka sutka i raka endometrium, moc predykcyjna zwiększonej masy ciała w odniesieniu do ryzyka nowotworzenia wzrasta u kobiet w okresie pomenopauzalnym [4].

Proces kancerogenezy charakteryzuje się złożonym, wieloetapowym przebiegiem, w którym istotną rolę odgrywają mechanizmy stresu oksydacyjnego. Jednym ze wskaźników stresu oksydacyjnego, często wykorzystywanym w badaniach doświadczalnych i klinicznych, jest poziom peroksydacji lipidów (*lipid peroxidation* – LPO), będącej wynikiem oksydacyjnego uszkodzenia lipidów błon komórkowych [6–9].

Cel pracy

Celem pracy było zbadanie poziomu LPO w grupie kobiet w okresie pomenopauzalnym z nadwagą i otyłością oraz ocena zależności pomiędzy poziomem LPO a wartościami innych wskaźników klinicznych i biochemicznych związanych z otyłością.

Tab. I. Podstawowa charakterystyka grupy kobiet w okresie pomenopauzalnym z BMI < 25 kg/m² (grupa kontrolna) oraz grupy kobiet w okresie pomenopauzalnym z BMI ≥ 25 kg/m². Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą testu *t*-Studenta dla zmiennych niezależnych. Wyniki przedstawiono jako $\bar{x} \pm \text{SEM}$ (zakresy wartości przedstawiono w nawiasach okrągłych)

Parametr	Grupa kontrolna	Kobiety po menopauzie z BMI ≥ 25 kg/m ²
<i>n</i>	7	35
wiek [lata]	65,1 ± 2,7 (55–74)	63,1 ± 1,1 (18–79)
BMI [kg/m ²]	22,5 ± 0,6 (19,8–24,7)	30,4 ± 0,9* (25,1–44,5)

**p* < 0,05 vs grupa kontrolna

Materiał i metody

Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Do badania zakwalifikowano 42 kobiety w okresie pomenopauzalnym, w tym 35 z nadwagą lub otyłością (BMI ≥ 25 kg/m²) (grupa badana) (średni wiek ± SEM: 65,14 ± 2,74 roku) i 7 z prawidłowym BMI (18,5–24,9 kg/m²) (grupa kontrolna) (średni wiek ± SEM: 63,11 ± 1,11 roku), hospitalizowanych w Klinice Endokrynologii i Chorób Metabolicznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi) lub pozostających pod opieką Poradni Endokrynologicznej Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi oraz Poradni Endokrynologicznej Regionalnego Ośrodka Menopauzy i Osteoporozy (badania przeprowadzono w latach 2007–2008). Grupa badana i grupa kontrolna zostały dokładnie dobrane pod względem wieku (nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie między grupami) (tab. I).

Poziom LPO mierzono w próbkach krwi obwodowej pobieranej podczas wykonywania badań rutynowych. Krew odwirowywano (3000 × g, w temperaturze 4°C, przez 10 min), a uzyskaną surowicę przechowywano w temperaturze –70°C do czasu wykonania oznaczeń poziomu LPO.

Pomiar peroksydacji lipidów

W surowicy oznaczano stężenie produktów LPO – dialdehydu malonowego + 4-hydroksyalkenali (MDA + 4-HDA) przy użyciu zestawu odczynników LPO-586 kit [Calbiochem (La Jolla, CA, USA)] [8].

Stężenie produktów LPO w surowicy wyrażono jako ilość MDA + 4-HDA (nmol) na 1 ml surowicy.

Oznaczenia innych wskaźników

Poza poziomem LPO wykonywano następujące pomiary:

- stężenie glukozy, mierzone za pomocą metody enzymatycznej (z zastosowaniem dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej) oraz stężenie cholesterolu całkowitego, frakcji LDL cholesterolu, frakcji HDL cholesterolu, triglicerydów, mierzone z wykorzystaniem metody enzymatyczno-kolorymetrycznej, stężenie białka C-reaktywnego, mierzone przy użyciu metody immunoturbidymetrycznej oraz stężenie żelaza, mierzone przy użyciu

metody kolorymetrycznej z ferrozyną [Cobas INTEGRA 400/470 (Roche)]

- obwód talii (cm), obwód bioder (cm), WHR – mierzone w momencie kwalifikacji do badania;
- ciśnienie tętnicze skurczowe (RRs) i rozkurczowe (RRr) – mierzone w momencie kwalifikacji do badania.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono przy zastosowaniu testu *t*-Studenta dla dwóch zmiennych niezależnych oraz testu Studenta-Newmana-Keulsa, poprzedzonego jednokierunkową analizą wariancji (*one-way analysis of variance* – ANOVA) dla więcej niż dwóch zmiennych niezależnych. Wyniki przedstawiono jako średnią arytmetyczną \pm błąd standardowy średniej arytmetycznej ($\bar{x} \pm SEM$).

W celu określenia, która z pojedynczych zmiennych ciągłych mogłaby mieć wartość predykcyjną dla występowania nasilonego stresu oksydacyjnego lub otyłości, użyto jednowymiarowej, a następnie wielowymiarowej logistycznej analizy regresji.

Do określenia korelacji pomiędzy poszczególnymi parametrami użyto wskaźnika korelacji Pearsona (*r*).

Przyjęto $p < 0,05$ jako poziom znamiennej istotności statystycznej.

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą programu Statistica for Windows 7.0.

Wyniki

Zgodnie z kryteriami kwalifikacji pacjentek do badania, BMI był istotnie wyższy u kobiet w okresie pomenopauzal-

nym z nadwagą lub otyłością niż u kobiet z prawidłową masą ciała (tab. I).

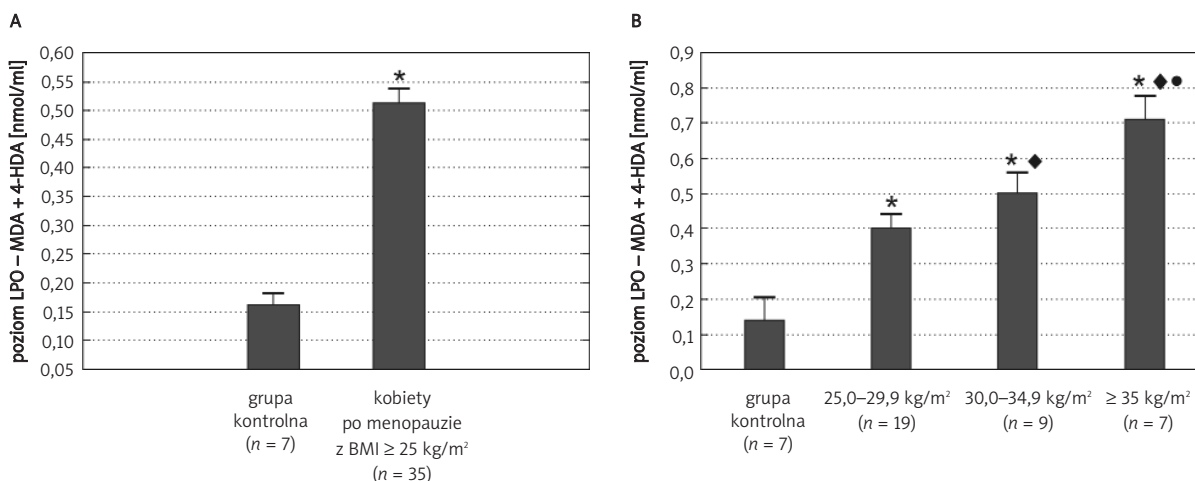
Odnotowano istotnie wyższy poziom LPO w surowicy u kobiet w okresie pomenopauzalnym z nadwagą lub otyłością w porównaniu z kobietami z BMI $< 25 \text{ kg/m}^2$ (ryc. 1A). Poziom LPO istotnie wzrastał w poszczególnych przedziałach BMI (ryc. 1B).

Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy poziomem LPO a masą ciała, BMI, obwodem talii, obwodem bioder oraz WHR (ryc. 2. i 3.). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem LPO a stężeniami wskaźników mierzonych we krwi.

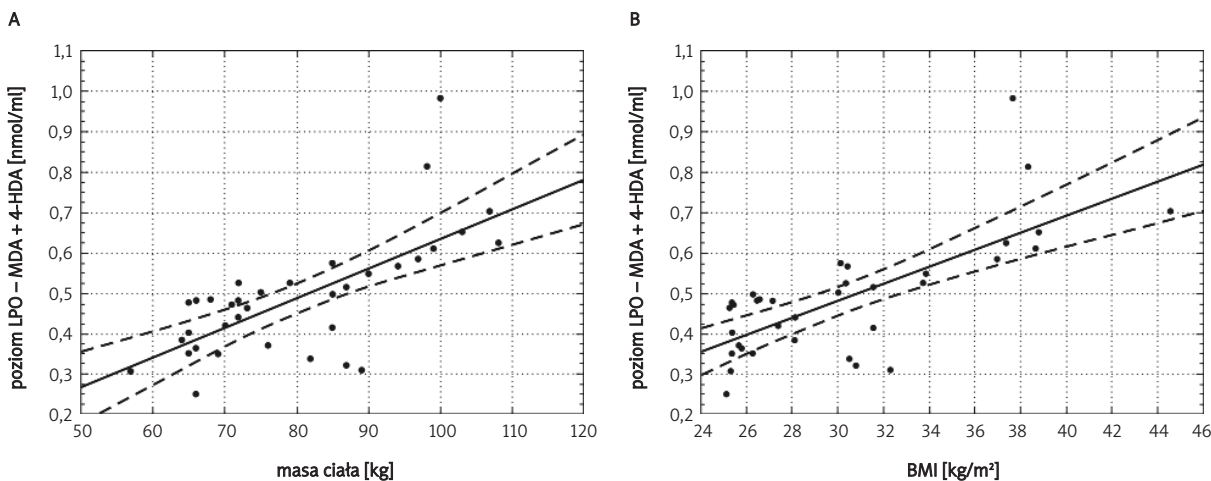
Przy użyciu modelu logistycznej analizy regresji stwierdzono, że masa ciała jest jedynym niezależnym czynnikiem predykcyjnym dla nasilonego stresu oksydacyjnego (tab. II). Z kolei poziom LPO okazał się jedynym niezależnym czynnikiem determinującym istnienie otyłości (tab. III).

Dyskusja

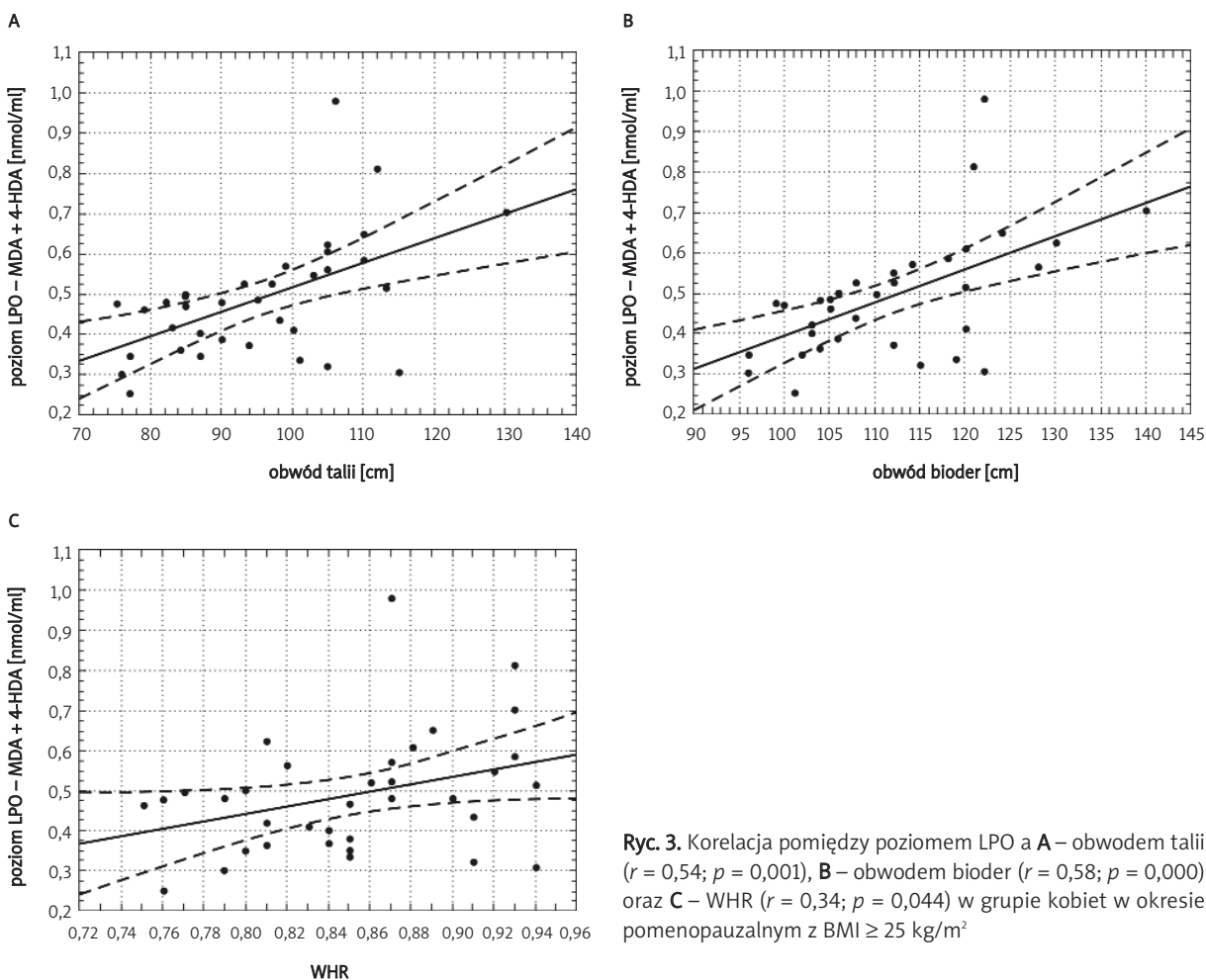
W opisywanym w niniejszej pracy badaniu wykazano, że nadwaga lub otyłość w okresie pomenopauzalnym powodują nasilenie uszkodzenia oksydacyjnego lipidów błon komórkowych, bezpośrednio zależne od stopnia otyłości. Odnotowane dodatnie korelacje pomiędzy poziomem LPO a masą ciała, BMI, obwodem talii, obwodem bioder oraz WHR są zgodne z oczekiwaniami, gdyż rozpatrywane czynniki są związane w sposób bezpośredni lub pośredni z definicją otyłości. Obserwacje poczynione w niniejszej pracy – że jedynym niezależnym czynnikiem predykcyjnym dla nasilonego stresu oksydacyjnego jest masa ciała oraz że poziom LPO jest jedynym niezależnym



Ryc. 1. A – poziom LPO w grupie kobiet w okresie pomenopauzalnym z BMI $< 25 \text{ kg/m}^2$ (grupa kontrolna) oraz w grupie kobiet w okresie pomenopauzalnym z BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą testu *t*-Studenta dla zmiennych niezależnych. **B** – poziom LPO w grupie kobiet w okresie pomenopauzalnym, podzielonej na podgrupy w zależności od wartości BMI. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą *t*-Studenta Newmana-Keulsa, poprzedzonego ANOVA. Poziom LPO został wyrażony jako stężenie MDA + 4-HDA (nmol) na 1 ml surowicy. Słupki pokazują $\bar{x} \pm SEM$; * $p < 0,05$ vs grupa kontrolna; ♦ $p < 0,05$ vs podgrupa z BMI 25,0–29,9 kg/m²; ♦♦ $p < 0,05$ vs podgrupa z BMI 30,0–34,9 kg/m²



Ryc. 2. Korelacja pomiędzy poziomem LPO a **A** – masą ciała ($r = 0,69$; $p = 0,000$) oraz **B** – BMI ($r = 0,73$; $p = 0,000$) w grupie kobiet w okresie pomenopauzalnym z BMI ≥ 25 kg/m²



Ryc. 3. Korelacja pomiędzy poziomem LPO a **A** – obwodem talii ($r = 0,54$; $p = 0,001$), **B** – obwodem bioder ($r = 0,58$; $p = 0,000$) oraz **C** – WHR ($r = 0,34$; $p = 0,044$) w grupie kobiet w okresie pomenopauzalnym z BMI ≥ 25 kg/m²

czynnikiem determinującym otyłość – wskazują na bezpośredni związek przyczynowo-skutkowy otyłości z nasileniem stresu oksydacyjnego oraz na prawdopodobny niekorzystny wpływ stresu oksydacyjnego na otyłość (mechanizm „błędnego koła”).

Wykazany związek pomiędzy zwiększoną masą ciała a nasileniem stresu oksydacyjnego znajduje potwierdzenie w wynikach przeprowadzonych wcześniej badań. I tak, w grupie dorosłych kobiet z otyłością odnotowano w erytrocytach zmniejszone stężenie glutationu, jedne-

Tab. II. Jednowymiarowa i wielowymiarowa logistyczna analiza regresji pojedynczych czynników determinujących nasilenie stresu oksydacyjnego (dla poziomu LPO > 0,245 nmol/ml, stanowiącego najniższą wartość LPO w grupie badanej) u kobiet w okresie pomenopauzalnym ($n = 42$)

Zmienna ciągła	Jednoczynnikowa analiza regresji			Wieloczynnikowa analiza regresji		
	OR	95% CI	<i>p</i>	OR	95% CI	<i>p</i>
wiek [lata]	0,95	0,84–1,09	0,463	–	–	–
wzrost [cm]	1,10	0,94–1,28	0,463	–	–	–
masa ciała [kg]	1,42	1,08–1,87	0,013*	1,51	1,00–2,28	0,048*
obwód talii [cm]	1,16	1,02–1,31	0,025*	–	–	–
obwód bioder [cm]	1,51	1,09–2,10	0,014*	–	–	–
RRs [mm Hg]	1,04	0,97–1,11	0,296	–	–	–
RRr [mm Hg]	1,11	1,00–1,23	0,046*	1,01	0,81–1,27	0,926
glukoza [mg/dl]	1,07	1,01–1,13	0,028*	1,09	0,93–1,29	0,285
białko C-reaktywne [mg/dl]	182,92	0,52–64017,02	0,244	–	–	–
żelazo [mg/dl]	1,01	0,98–1,03	0,589	–	–	–
cholesterol całkowity [mg/dl]	1,01	0,99–1,03	0,318	–	–	–
cholesterol frakcji HDL [mg/dl]	0,97	0,93–1,01	0,107	–	–	–
cholesterol frakcji LDL [mg/dl]	1,01	0,98–1,04	0,107	–	–	–

OR – iloraz szans, CI – przedział ufności
* $p < 0,05$

Tab. III. Jednowymiarowa logistyczna analiza regresji pojedynczych czynników determinujących rozwój otyłości ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$) u kobiet w okresie pomenopauzalnym ($n = 42$). Wśród zmiennych ciągłych nie zostały uwzględnione te czynniki, które w sposób pośredni lub bezpośredni determinują otyłość

Zmienna ciągła	Jednoczynnikowa analiza regresji		
	OR	95% CI	<i>p</i>
wiek [lata]	0,99	0,90–1,09	0,801
RRs [mm Hg]	0,99	0,94–1,03	0,592
RRr [mm Hg]	1,02	0,96–1,09	0,533
poziom LPO – MDA + 4-HDA [nmol/ml]	$6,32 \times 10^9$	$2,24 \times 10^9$–$17,82 \times 10^9$	0,006*
glukoza [mg/dl]	1,02	0,99–1,04	0,091
białko C-reaktywne [mg/dl]	7,50	0,99–57,01	0,051
żelazo [mg/dl]	1,00	0,99–1,02	0,775
cholesterol całkowity [mg/dl]	1,00	0,98–1,02	0,960
frakcja HDL cholesterolu [mg/dl]	0,98	0,94–1,02	0,287
frakcja LDL cholesterolu [mg/dl]	1,00	0,98–1,02	0,807

OR – iloraz szans, CI – przedział ufności
* $p < 0,05$

go z głównych wewnątrzpochodnych antyoksydantów, przy czym stężenie to zmniejszało się wraz ze wzrostem stopnia otyłości [10]. W innym badaniu u kobiet z otyłością stwierdzono zwiększone stężenie produktów LPO reagujących z kwasem tiobarbiturowym [11].

Jak wcześniej wykazano, sam okres pomenopauzalny jest związany ze zwiększonym oksydacyjnym uszkodzeniem lipidów błon komórkowych [12, 13], toteż – zgodnie z wynikami obecnej pracy – występująca w tym okresie otyłość dodatkowo nasila stres oksydacyjny.

Wyniki uzyskane w obecnej pracy mogą stanowić podstawę do wyjaśnienia mechanizmu zwiększonego ryzyka nowotworzenia u kobiet po menopauzie z nadwagą lub z otyłością. Jak powszechnie wiadomo, nasilone reakcje wolnorodnikowe związane są praktycznie z każdym etapem kancerogenezy. Stres oksydacyjny zwiększa ekspresję niektórych protoonkogenów (np. H- i K-*ras*, *c-myc*), a powodując oksydacyjne uszkodzenie cząsteczek biologicznych, w tym DNA, może pobudzać lub hamować procesy transkrypcji, zaburzać proces replikacji, a także destabilizować genom [14]. W wielu przeprowadzonych wcześniej badaniach wykazano bezpośredni związek pomiędzy otyłością a zwiększoną częstością występowania nowotworów złośliwych (raka sutka i raka endometrium) u kobiet w okresie pomenopauzalnym. W prospektywnym badaniu *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition* w grupie ponad 100 tysięcy kobiet po menopauzie stwierdzono, że nadwaga i otyłość, a także istotne zwiększenie masy ciała w okresie dorosłym, zwiększają o 30% ryzyko rozwoju raka sutka [15]. W tym samym badaniu, analizując kilkaset przypadków raka endometrium, wykazano, że wraz ze wzrostem masy ciała i BMI zwiększa się ryzyko rozwoju tego nowotworu w grupie kobiet po menopauzie [16].

Wnioski

Zwiększenie masy ciała przyczynia się bezpośrednio do nasilenia uszkodzenia oksydacyjnego lipidów błon komórkowych u kobiet w wieku pomenopauzalnym, co

może stanowić jeden z mechanizmów podwyższonego ryzyka kancerogenezy, a także innych chorób, głównie dotyczących układu krążenia.

Piśmiennictwo

1. Bianchini F, Kaaks R, Vainio H. Overweight, obesity, and cancer risk. *Lancet Oncol* 2002; 3: 565-74.
2. Ceschi M, Gutzwiller F, Moch H, et al. Epidemiology and pathophysiology of obesity as cause of cancer. *Swiss Med Wkly* 2007; 137: 50-6.
3. Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, et al. Cause-specific excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. *JAMA* 2007; 298: 2028-37.
4. Pischon T, Nöthlings U, Boeing H. Obesity and cancer. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 128-45.
5. Renehan AG, Tyson M, Egger M, et al. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *Lancet* 2008; 371: 569-78.
6. Karbownik M, Lewiński A. Melatonin reduces Fenton reaction-induced lipid peroxidation in porcine thyroid tissue. *J Cell Biochem* 2003; 90: 806-11.
7. Gitto E, Tan DX, Reiter RJ, et al. Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: studies with vitamin E, vitamin C, glutathione and desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. *J Pharm Pharmacol* 2001; 53: 1393-401.
8. Karbownik-Lewińska M, Kokoszko A, Lewandowski KC, et al. Growth hormone replacement reduces increased lipid peroxidation in growth hormone-deficient adults. *Clin Endocrinol* 2008; 68: 957-64.
9. Kokoszko A, Karbownik M, Lewiński A. Increased lipid peroxidation in growth hormone-deficient adult patients. *Neuroendocrinol Lett* 2006; 27: 225-30.
10. Khan NI, Naz L, Yasmeen G. Obesity: an independent risk factor for systemic oxidative stress. *Pak J Pharm Sci* 2006; 19: 62-5.
11. Konukoglu D, Serin O, Turhan MS. Plasma leptin and its relationship with lipid peroxidation and nitric oxide in obese female patients with or without hypertension. *Arch Med Res* 2006; 37: 602-6.
12. Bednarek-Tupikowska G, Bohdanowicz-Pawlak A, Bidzińska B, et al. Serum lipid peroxide levels and erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity in premenopausal and postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol* 2001; 15: 298-303.
13. Trevisan M, Browne R, Ram M, et al. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 348-56.
14. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res* 2004; 567: 1-61.
15. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, et al. Body size and breast cancer risk: Findings from the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2004; 111: 762-71.
16. Friedenreich C, Cust A, Lahmann PH, et al. Anthropometric factors and risk of endometrial cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer Causes Control* 2007; 18: 399-413.