

Received: 2011.03.28
Accepted: 2011.07.25
Published: 2011.08.10

Naturalne związki zaangażowane w kontrolę masy tkanki tłuszczowej w badaniach *in vitro**

Natural compounds involved in adipose tissue mass control in *in vitro* studies

Katarzyna Kowalska

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Streszczenie

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) uznała otyłość za epidemię XXI wieku. Otyłość to patologiczne nagromadzenie tkanki tłuszczowej w ustroju uwarunkowane wieloma czynnikami: metabolicznymi, endokrynologicznymi, genetycznymi, środowiskowymi oraz psychologicznymi i behawioralnymi. Jakość oraz ilość spożywanych pokarmów w dużym stopniu decyduje o nadmiernej akumulacji tłuszczu w organizmie. Strategią w prewencji otyłości jest m.in. właściwa dieta. Nie od dziś wiadomo, że dieta bogata w warzywa i owoce wpływa na zmniejszenie masy ciała. Komórki tłuszczowe (adipocyty) to nie tylko komórki magazynujące „energię”, ale wyspecjalizowane komórki będące pod wpływem działania różnorodnych hormonów, cytokin i składników pokarmowych, które działają pleiotropowo na organizm. Znajomość biologii adipocytów jest decydująca dla zrozumienia podstaw patofizjologii otyłości i schorzeń metabolicznych, takich jak cukrzyca typu 2. Ponadto racjonalne manipulowanie fizjologią adipocytów stwarza obiecujące podstawy terapii tych schorzeń. Masę tkanki tłuszczowej można zmniejszyć przez eliminację adipocytów w procesie apoptozy, poprzez hamowanie adipogenezy i zwiększanie lipolizy w komórkach tłuszczowych. Wiele naturalnych związków może potencjalnie indukować apoptozę, hamować adipogenezę i stymulować lipolizę w adipocytach. Różnorodne bioaktywne związki występujące w pożywieniu wpływają na różne etapy cyklu życiowego komórki tłuszczowej i mogą być naturalnym „lekiem” w prewencji otyłości.

Słowa kluczowe:

otyłość • adipocyty • adipogeneza • związki bioaktywne

Summary

The World Health Organization (WHO) has recognized obesity as an epidemic of the 21st century. Obesity is pathological fat accumulation in the body influenced by many factors: metabolic, endocrine, genetic, environmental, psychological and behavioral. The quality and quantity of food intake to a considerable degree determine excessive fat accumulation in the body. The strategy in obesity prevention includes, among other things, a proper diet. It is widely known that a diet rich in fruits and vegetables reduces body weight. Adipocytes are not only cells serving as storage depots for “energy”, but are also specialized cells influenced by various hormones, cytokines and nutrients, which have pleiotropic effects on the body. Knowledge of adipocyte biology is crucial for our understanding of the pathophysiological basis of obesity and metabolic diseases, such as type 2 diabetes. Furthermore, rational manipulation of adipose physiology is

* Praca finansowana w ramach projektu „Nowa żywność bioaktywna o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych” – PO IG 01.01.02-00-061/09.

a promising avenue for therapy of these conditions. Adipose tissue mass can be reduced through elimination of adipocytes by apoptosis, inhibition of adipogenesis and increased lipolysis in adipocytes. Natural products have a potential to induce apoptosis, inhibit adipogenesis and stimulate lipolysis in adipocytes. Various dietary bioactive compounds target different stages of the adipocyte life cycle and may be useful as natural therapeutic agents in obesity prevention.

Key words: obesity • adipocytes • adipogenesis • bioactive compounds

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=955499>

Word count: 3799

Tables: 2

Figures: –

References: 50

Adres autorki: mgr Katarzyna Kowalska, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań; e-mail: kaskakow@up.poznan.pl

WPROWADZENIE

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) uznała otyłość za epidemię XXI wieku. W krajach europejskich otyłość i nadwaga dotyczy 30–80% dorosłych, prawie 20% dzieci ma nadwagę, a co trzecie z nich jest otyłe. Problem nadwagi i otyłości dotyczy coraz większej liczby osób i rozprzestrzenia się w bardzo szybkim tempie [3]. W Polsce otyłość stwierdzono u około 4 milionów osób, co stanowi ponad 1/10 społeczeństwa [10].

Otyłość to patologiczne nagromadzenie tkanki tłuszczowej w ustroju. Nadmiar masy tłuszczowej generuje zaburzenia wtórne zwiększając ryzyko wystąpienia wielu chorób, m.in. choroby niedokrwiennej serca, nadciśnienia tętniczego, cukrzycy typu 2, dyslipidemii, określane mianem zespołu metabolicznego. U osób otyłych znacznie częściej występują choroby układu krążenia: niewydolność serca, zatorowość płucna, choroba niedokrwienności serca oraz żylaki kończyn dolnych [29]. Niekorzystnym zjawiskiem jest również to, że otyłość zwiększa ryzyko wystąpienia chorób nowotworowych, takich jak: rak piersi u kobiet po menopauzie, endometrium, jelita grubego, pęcherzyka żółciowego, trzustki i nerki [4]. Następstwem otyłości są również choroby układu pokarmowego: kamica żółciowa, choroba refluksowa i niealkoholowe stłuszczenie wątroby [31].

Otyłość jest uwarunkowana wieloma czynnikami: metabolicznymi, endokrynologicznymi, genetycznymi, środowiskowymi, psychologicznymi i behawioralnymi. W dużym stopniu jakość oraz ilość spożywanych pokarmów decyduje o nadmiernej akumulacji tłuszczu w organizmie, a otyłość pojawia się, gdy podaż energii jest większa niż jej użytkowanie i to przez dłuższy czas. Wzrost spożycia cukru i tłuszczu skutkuje wzrostem masy tkanki tłuszczowej, na szczęście niektóre komponenty żywności mogą zmniejszać ryzyko otyłości. Strategią w prewencji otyłości jest m.in. właściwa dieta. Nie od dziś wiadomo, że dieta bogata w warzywa i owoce wpływa na zmniejszenie masy ciała. Jednak mimo zaangażowania dużych środków nadal nie poznano mechanizmów biochemicznych, komórkowych i molekularnych, które są podłożem otyłości. Co więcej, liczne badania wykazały, że przyjmowanie pokarmu

i intensywność przemiany materii są jednym z najbardziej skomplikowanych procesów w organizmie ludzkim [31].

FIZJOLOGIA TKANKI TŁUSZCZOWEJ

Tkanka tłuszczowa odgrywa ważną rolę w procesach metabolicznych. Wydziela wiele substancji o podstawowym znaczeniu do prawidłowego funkcjonowania odległych narządów i tkanek. Jest niezbędna w procesie pokwitania i do zachowania płodności [27].

W naszym organizmie większość stanowi tzw. biała tkanka tłuszczowa (WAT – white adipose tissue). W skład białej tkanki tłuszczowej wchodzi adipocyty, preadipocyty, komórki endotelialne, mezenchymalne komórki macierzyste oraz komórki zapalne (monocyty/makrofagi), które również wykazują aktywność wydzielniczą [35].

Komórki tłuszczowe wpływają na metabolizm poprzez wytwarzane i uwalniane substancje o działaniu dokrewnym, które Shimomura określił terminem adipocytokiny [40]. Substancje wydzielane przez tkankę tłuszczową pełnią różne funkcje, endokrynną: leptyna, adiponektyna, angiotensynogen, rezystyna, estrogeny, czynnik martwicy guzów (tumor necrosis factor TNF- α), receptor aktywujący proliferację peroksyosomów γ (PPAR γ), interleukina 6 (IL-6), insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin growth factor 1 IGF-1), białka zakłócającego proces oksydacyjnej fosforylacji (uncoupling proteins UCPs); oraz parakrynną: lipaza lipoproteinowa (lipoprotein lipase LPL), białko stymulujące acylację ASP (acylation-stimulating protein ASP), adypsyna, inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu 1 (plasminogen activate inhibitor 1 PAI-1), wolne kwasy tłuszczowe (WKT) [1,35,44].

W przypadku otyłości ekspresja adipokin jest rozregulowana, a to prowadzi do hiperglikemii, hiperlipidemii, oporności na insulinę i chronicznego stanu zapalnego. W otyłości „rekrutacja” komórek odpornościowych, takich jak komórki T czy makrofagi w obrębie tkanki tłuszczowej wywołuje stan zapalny, który przyczynia się do lokalnej oporności na insulinę. Tkanka tłuszczowa niewrażliwa na insulinę prowadzi do niekontrolowanego uwalniania



Tabela 1. Etapy adipogenezy [27]

Etapy adipogenezy	Charakterystyka
Mezenchymalne prekursorzy	proliferaacja, zdolność do różnicowania w wielu kierunkach
Kierowanie na drogę preadipocyta	proliferaacja, skierowanie na drogę różnicowania w kierunku adipocytów, morfologia fibroblastu
Zatrzymanie cyklu komórkowego preadipocyta	zatrzymanie proliferacji przez kontaktowe zahamowanie wzrostu
Mitotyczna klonalna ekspansja	ponowny powrót cyklu komórkowego stymulowanego hormonalnie, kilka cykli podziałów komórkowych = mitotyczna klonalna ekspansja, indukcja ekspresji i aktywacja C/EBP β i C/EBP δ
Końcowy etap różnicowania	zatrzymanie cyklu komórkowego, indukcja ekspresji PPAR γ i C/EBP α , transkrypcyjna aktywacja genów adipocytów (genów metabolizujących lipidy i węglowodany, adipokiny)
Dojrzewanie adipocytów	wysoka ekspresja genów w adipocytach, transkrypcyjnie aktywne PPAR γ i C/EBP β , morfologia – komórki okrągłe, duża powierzchnia cytoplazmy zajęta przez krople lipidów

kwasów tłuszczowych, sekrecji prozapalnych cytokin, takich jak TNF- α , IL-6, MCP-1 (monocyte chemoattractant protein), MIP-1 α (macrophage inflammatory protein) i zmienia równowagę adipokiny, co ostatecznie wpływa na metabolizm lipoprotein i ogólnoustrojową oporność na insulinę [13].

Podczas wzrostu białej tkanki tłuszczowej pojawia się także niedotlenienie tkanki z powodu zredukowanego dostarczenia tlenu do przerosłych, hipertroficznym adipocytów. Wzrost stężenia kwasów tłuszczowych w adipocytach skutkuje zwiększeniem stresu oksydacyjnego poprzez aktywację oksydazy NADPH, powodując dysregulację w wytwarzaniu adipocytokiny, takich jak adiponektyna, PAI-1, IL-6 i MCP-1. Zwiększone dostarczanie glukozy do tkanki tłuszczowej powoduje także wzrost wytwarzania reaktywnych form tlenu (ROS) w adipocytach, co pobudza wytwarzanie cytokin prozapalnych [8,13,30]. Zwiększone wytwarzanie ROS przez kumulowany tłuszcz prowadzi do wzrostu stresu oksydacyjnego we krwi wpływając na inne organy, np. wątrobę, mięśnie szkieletowe i aortę. Wzrost sekrecji białek prozapalnych, chemokiny i czynników angiogennych ma na celu zwiększenie przepływu krwi w tkance z niedoborem tlenu [8,13].

ADIPOCYTY I ADIPOGENEZA

Znajomość biologii adipocytów jest decydująca dla zrozumienia podstaw patofizjologii otyłości i schorzeń metabolicznych. Ponadto racjonalne manipulowanie fizjologią adipocytów jest prawdopodobnie obiecującym kierunkiem terapii tych schorzeń.

Komórki białej tkanki tłuszczowej charakteryzują się niewielką zawartością cytoplazmy, bowiem większość ich stanowi kropla tłuszczu (są to tzw. komórki jednopęcherzykowe) – głównie triglicerydy, które są rozkładane na glicerol i wolne kwasy tłuszczowe. Wzrost tkanki tłuszczowej związany jest ze wzrostem hiperplastycznym (wzrost liczby komórek) oraz wzrostem hipertroficznym (wzrost rozmiaru komórek). Na poziomie komórkowym otyłość określamy jako wzrost liczby i wielkości adipocytów w procesie

różnicowania z preadipocytów [38]. Różnicowanie preadipocytów do dojrzałych komórek tłuszczowych (adipogeneza) jest regulowane przez kaskadę czynników transkrypcyjnych, które działając poprzez interakcję kontrolują ekspresję kilkuset genów adipogenicznych. Wiele różnorodnych czynników jądrowych wpływa na proces adipogenezy, jednak najważniejsze dla tego procesu są dwie rodziny: białka wiążące się z sekwencją CCAAT (CCAAT enhancer binding proteins) – C/EBPs i receptory aktywowane proliferatorami peroksysomów-PPAR [7,14].

Szczególną rolę w regulacji fizjologii adipocytów przypisuje się receptorom aktywowanym proliferatorami peroksysomów γ (peroxisome proliferator activated receptors-PPAR γ). Receptory PPAR γ bezpośrednio wpływają na geny regulujące glukoneogenezę, wychwyt i magazynowanie triglicerydów, lipolizę oraz syntezę adipocytokiny [6,12,43]. Genami, za których ekspresję bezpośrednio odpowiadają PPAR γ , są m.in. gen lipazy lipoproteinowej, białka transportującego kwasy tłuszczowe, receptor 1 oksydowanych LDL. Wszystkie one promują akumulację kwasów tłuszczowych przez adipocyty [22,24,28].

Liczba adipocytów wzrasta nie tylko jako rezultat proliferacji preadipocytów, ale także z powodu różnicowania. Indukcja różnicowania stymuluje klonalną ekspansję, której rezultatem jest podwojenie liczby komórek. Proces ten przebiega w kilku etapach i pociąga za sobą kaskadę czynników transkrypcyjnych, spośród których PPAR γ i C/EBPs, są głównymi determinantami losu adipocyta [7,27,39]. Adipogeneza jest wieloetapowym procesem prowadzącym do przekształcenia pierwotnych komórek zarodkowych i preadipocytów w dojrzałe adipocyty (tab. 1).

Wpływając na pewne mechanizmy, takie jak: ograniczenie procesu różnicowania preadipocytów, zmniejszenie lipogenezy, zwiększenie lipolizy i indukcję apoptozy w komórkach tłuszczowych możemy zapobiegać otyłości. Wydaje się konieczne dalsze prowadzenie badań dotyczących mechanizmu zjawisk między składnikami przyjmowanej diety a regulacją masy tkanki tłuszczowej w celu wykorzystania w terapii sugerowanego związku.

MODELOWA LINIA 3T3-L1 DO BADAŃ PROCESU ADIPOGENEZY *IN VITRO*

Jednocześnie ze wzrostem rozpowszechnienia nadwagi i otyłości w Europie i Stanach Zjednoczonych ostatnie lata przyniosły większe zainteresowanie badaczy otyłością oraz znaczne zwiększenie nakładów na badania poświęcone tej chorobie. Wiele badań i doniesień naukowych sugeruje, że mysie komórki 3T3-L1 są jednym z najlepiej poznanych, scharakteryzowanych i niezawodnych modeli *in vitro* do badania procesu adipogenezy i różnicowania preadipocytów w dojrzałe adipocyty. Linia 3T3-L1 jest szeroko wykorzystywana jako modelowa także do badania procesów lipolizy, apoptozy i syntezy cytokin w białej tkance tłuszczowej. W pełni zróżnicowane 3T3-L1 adipocyty zawierają większość cech morfologicznych, biochemicznych i odpowiedzi hormonalnej typowej dla adipocytów *in vivo* [11,39]. Komórki tej linii jako preadipocyty mają morfologię fibroblastów. Proliferyją aż do osiągnięcia pełnej konfluencji i kontaktowego zahamowania wzrostu w fazie G₁/G₁, co indukuje różnicowanie w kierunku adipocytów [11]. Stymulacja komórek 3T3-L1 kortykosteroidami: 3-izobutyl-1-metylsantaniną (IBMX), deksametazonem (DEX) i wysokimi dawkami insuliny pobudza mitotyczną klonalną ekspansję oraz uaktywnia mechanizmy genetyczne w kierunku różnicowania w dojrzałe adipocyty. Po około 5 dniach od indukcji różnicowania 90% komórek wykazuje fenotyp charakterystyczny dla dojrzałych adipocytów, kumulujących wewnątrz komórki krople tłuszczu [11,14,39].

NATURALNE ZWIĄZKI ZAANGAŻOWANE W KONTROLĘ MASY TKANKI TŁUSZCZOWEJ W BADANIACH *IN VITRO*

Polifenole roślinne, jak sama nazwa wskazuje, występują tylko w świecie roślinnym, a więc w owocach, kwiatach, liściach, nasionach, korzeniach, korze i częściach zdrewniałych. Polifenole roślinne chronią karotenoidy, witaminę C, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, lipoproteiny przed działaniem wolnych rodników. Wśród polifenoli dużą aktywność przeciwutleniającą wykazują flawonoidy zaliczane do barwników roślinnych. Występują w łądych, liściach i owocach prawie wszystkich roślin. Najwięcej flawonoidów zawierają pestki owoców cytrusowych. Pod względem budowy chemicznej wyodrębniono następujące grupy flawonoidów: flawony, flawonole, izoflawony, flawanony, dihydroflawonole, chalkany, auronony, neoflawony, biflawonoidy, C-glukoflawony, antocyjany i katechiny. Zwykle występują w połączeniu z cukrami. Od wieków używa się ich w medycynie naturalnej w celu prewencji raka, chorób serca, cukrzycy i innych. Flawonoidy są związkami, które nie mogą być zsyntetyzowane w organizmie ludzkim [32]. Stwierdzono, że związki te regulują wzrost, różnicowanie i proliferację tkanek, działając bezpośrednio na komórki docelowe. Rośliny medyczne i ekstrakty roślinne reprezentują najstarszą i najbardziej powszechną formę „leczenia” [45].

W tkance tłuszczowej wykazano, że polifenole mogą nasilać termogenezę, hamować adipogenezę poprzez inhibicję ekspresji genów C/EBP α , PPAR γ i SREBP-1 (sterol regulatory element binding protein) oraz promować apoptozę adipocytów, co ma odzwierciedlenie w masie ciała zwierząt i ludzi [5]. Wykazano, że w mechanizmie działania

antyadipogenego flawonoidów rolę odgrywa zablokowanie, poprzez fosforylację, substratu receptora insulinowego (IRS), przez co dochodzi do zahamowania pobierania glukozy oraz nasilenia lipolizy przez hormonozależną lipazę w tkance tłuszczowej. Zmniejszenie ekspresji genów C/EBP α , PPAR γ , SREBP-1 hamuje różnicowanie preadipocytów [5].

Naturalne związki mogą indukować apoptozę, hamować adipogenezę i stymulować proces lipolizy w komórkach tłuszczowych. Polifenole są silnymi antyoksydantami i indukcja apoptozy w adipocytach jest powiązana z ich właściwościami przeciwutleniającymi. Genisteina, epigallocatechiny, kwercetyna, resweratrol, ajoen wpływają na komórki tłuszczowe hamując adipogenezę lub indukując apoptozę. Kilka innych flawonoidów, np. naringenina, rutyna, hesperydyna, resweratrol i genisteina zmniejszają proliferację preadipocytów. Inne bioaktywne związki występujące w naturalnej żywności, takie jak fitosterole, wielonienasycone kwasy tłuszczowe i związki organiczne siarki wykazują działanie antyadipogenne [17,37].

Kwasy fenolowe, np. kwas kumarowy i chlorogenowy powodują zatrzymanie cyklu komórkowego preadipocytów w fazie G₁ w sposób zależny od czasu i dawki. Hsu i wsp. przeanalizowali wpływ flawonoidów i fenolokwasów na stężenie triglicerydów i na aktywność GPDH w komórkach tłuszczowych 3T3-L1. Kwas kumarowy oraz rutyna powstrzymały wewnątrzkomórkowe gromadzenie triglicerydów odpowiednio o 61 i 83%. Co więcej, te same składniki ograniczyły aktywność GPDH o 54% (kwas kumarowy) i 67% (rutyna). Związki te zmniejszyły także ujawnianie się receptorów PPAR γ oraz regulowały uwalnianie adiponektyny, hormonu, który reguluje wiele procesów metabolicznych. Wyniki te sugerują, że kwas kumarowy oraz rutyna mogą dawać pozytywne rezultaty w zwalczaniu zespołu metabolicznego i otyłości [16,17].

Karnozol i kwas karnozowy – główne związki rozmarynu – hamują różnicowanie preadipocytów 3T3-L1 w dojrzałe adipocyty. Zdolność ta związana jest z aktywacją ARE (antioxidant response element), elementu odpowiedzi antyoksydacyjnej, którego rolą polega na indukcji transkrypcji enzymów drugiej fazy. Oba związki znacząco zwiększyły wewnątrzkomórkowy poziom całkowitego glutationu (GSH), a właśnie stymulacja metabolizmu GSH może być krytycznym elementem w hamowaniu różnicowania preadipocytów w adipocyty. Według badaczy reaktywne formy tlenu mogą przyspieszać różnicowanie komórek tłuszczowych a stymulacja metabolizmu usuwa je. Proelektrofilne związki, takie jak karnozol i kwas karnozowy mogą być więc potencjalnymi „lekami” w prewencji otyłości i chorób z nią powiązanych [42].

Kwercetyna, flawonoid występujący powszechnie w owocach, warzywach, herbacie, winie, orzechach i nasionach, jest nieodłącznym składnikiem codziennej diety człowieka. Kwercetyna indukuje apoptozę w komórkach 3T3-L1 przez zmniejszenie potencjału błony mitochondrialnej oraz aktywację kaspazy 3, Bax i Bak. Kwercetyna zmniejsza ekspresję PPAR γ i Bcl-2, natomiast zwiększa poziom AMPK, kinazy białkowej aktywowanej 9'AMP. Rezultatem aktywacji tej kinazy jest fosforylacja jej substratu ACC (acetyl-CoA-karboksylazy). Zwiększenie poziomu nieaktywnej



fosforylowanej karboksylazy acetylo-CoA hamuje proces adipogenezy. Aktywacja AMPK prowadzi także do zahamowania syntezy cholesterolu oraz ograniczenia lipogenezy. Traktowanie dojrzałych adipocytów kwercetyną indukuje apoptozę w komórkach i jednocześnie zmniejsza fosforylację w ERK i JNK, które odgrywają główną rolę w procesie apoptozy. Kwercetyna zmniejsza ekspresję C/EBP α , PPAR γ i SREBP-1 [2].

Kapsaicyna ogranicza proliferację preadipocytów oraz indukuje apoptozę w komórkach tłuszczowych w wyniku aktywacji kaspazy 3, Bax, Bak i zmniejszeniu ekspresji białka Bcl-2. Kapsaicyna znacząco obniża ilość gromadzonych wewnątrz komórki triglicerydów oraz hamuje aktywność GPDH, również na ekspresję PPAR γ , C/EBP α i leptyny kapsaicyna działa hamująco, natomiast zwiększa stężenie białka adiponektyny [18].

Genisteina, izoflawon z soi i naringenina, flawanon z grejfruta hamują proliferację preadipocytów w sposób zależny od czasu i dawki. Genisteina w stężeniu 100 μ M po 48 godzinach ekspozycji hamuje proliferację komórek o 60%, natomiast naringenina w takiej dawce hamuje proliferację o 40%. Genisteina hamuje proliferację zarówno preadipocytów, jak i komórek różnicujących w adipocyty. W czasie różnicowania preadipocytów w dojrzałe adipocyty genisteina hamuje mitotyczną klonalną ekspansję, akumulację triglicerydów i ekspresję PPAR γ , natomiast naringenina nie wykazuje tego. W komórkach dojrzałych adipocytów genisteina zwiększa lipolizę. Blokowanie adipogenezy przez genisteinę prawdopodobnie odbywa się przez zahamowanie kinazy tyrozynowej aktywowanej mieszkanką różnicującą (IBMX, DEX, insulina). Bazując na tych badaniach można przypuszczać, że genisteina zwiększając lipolizę i hamując adipogenezę *in vitro*, może działać podobnie *in vivo* i prowadzić do zmniejszenia masy tkanki tłuszczowej [15].

Hwang i wsp. stwierdzili, że genisteina w dawkach 20–200 μ M znacząco hamuje proces różnicowania adipocytów i prowadzi do apoptozy dojrzałych adipocytów poprzez aktywację AMPK. Genisteina, EGCG i kapsaicyna stymulują wewnątrzkomórkowe uwalnianie ROS, które szybko aktywuje AMPK. AMPK jest nowym i istotnym komponentem obu procesów i różnicowania i apoptozy w dojrzałych adipocytach [20].

Eskuletyna powoduje zależny od czasu i dawki wzrost apoptozy w adipocytach, znacznie zmniejsza przeżywalność komórek tłuszczowych oraz hamuje adipogenezę w 3T3-L1 preadipocytach. Eskuletyna może zmieniać liczbę komórek tłuszczowych działając bezpośrednio na przeżywalność komórek, adipogenezę i apoptozę, ogranicza przeżywalność zarówno preadipocytów jak i dojrzałych adipocytów [48].

Ajoen – organiczny związek chemiczny występujący w czosnku, stanowi produkt rozpadu alliiny. Ajoen indukuje apoptozę w adipocytach 3T3-L1 w sposób zależny od czasu i dawki. Traktowanie komórek tłuszczowych ajoenem powoduje aktywację JNK i ERK, translokację AIF z mitochondrium do jądra. AIF (apoptosis inducing factor) – czynnik indukujący apoptozę jest mitochondrialną międzybłonową proteiną. W odpowiedzi na stymulację apoptozy AIF jest uwalniany z mitochondrium i przemieszcza się do jądra, gdzie bierze udział w indukcji kondensacji

chromatyny. W komórkach 3T3-L1 poddanych traktowaniu ajoenem zaobserwowano wzrost poziomu reaktywnych form tlenu, co dowodzi, że indukcja apoptozy adipocytów przez ajoen jest inicjowana przez generację wolnych rodników, która prowadzi do aktywacji AMPK, degradacji PARP-1, translokacji AIF i fragmentacji DNA. Ajoen redukuje także liczbę komórek tłuszczowych wpływając na obniżenie ich proliferacji [49].

Gallokatechina (GC), epigallokatechina (EGC), galusan epikatechiny (ECG) i galusan epigallokatechiny (EGCG) w stężeniu 5 μ M obniżają wewnątrzkomórkową akumulację lipidów w komórkach tłuszczowych odpowiednio do 67, 77, 75 i 84% w porównaniu do kontroli (100%). Przy dawce 30 μ M CG, EGC i EGCG zawartość tłuszczu w komórkach obniżyła się do 33, 34 i 47%. CG i EGC zahamowały także aktywność GPDH o 32 i 39% w porównaniu do aktywności komórek kontrolnych. Katechiny hamowały ekspresję głównych czynników transkrypcyjnych we wczesnej fazie różnicowania, takich jak PPAR γ i C/EBP α , oraz ekspresję transportera glukozy GLUT 4 w późnej fazie procesu różnicowania. Katechiny nie wpływały na stan fosforylacji oraz szlak sygnałowy insuliny. Spożycie zielonej herbaty może więc zapobiegać otyłości bez ryzyka wystąpienia działań niepożądanych, cytotoksyczności i redukcji wrażliwości na insulinę [9].

Rozkład triglicerydów w adipocytach z uwolnieniem glicerolu i kwasów tłuszczowych jest bardzo ważny w regulacji homeostazy energetycznej. Oprócz hamowania adipogenezy kilka naturalnych związków stymuluje lipolizę w komórkach tłuszczowych. Preadipocyty nie mają aktywności lipolitycznej aż do różnicowania w dojrzałe adipocyty. Procyjanidyny z nasion winogron stymulują lipolizę w komórkach 3T3-L1 poprzez wzrost poziomu cAMP i PKA. Procyjanidyny obniżają aktywność dehydrogenazy glicerolo-3-fosforanowej (GPDH) markera procesu różnicowania oraz powodują, że komórki 3T3-L1 kumulują mniej tłuszczu wewnątrz cytoplazmy [33,34].

Ostatnie badania dowodzą, że antocyjany, duża grupa barwników roślinnych występująca m.in. w owocach, warzywach i czerwonym winie może także stanowić znakomite źródło naturalnych związków w terapii otyłości i chorób z nią powiązanych. Dowiedziono już, że antocyjany są silnymi antyoksydantami i działają przeciwzapalnie. Obecnie wiemy, że antocyjany obniżają ekspresję wielu adipocytokin, np. IL-6 czy PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1). Antocyjany indukują ekspresję genu adiponektyny i aktywują kinazę AMPK w adipocytach [46].

Berberyna składnik *Cortidis rhizoma* hamuje różnicowanie i mitotyczną klonalną ekspansję preadipocytów 3T3-L1 w sposób zależny od czasu i dawki. Obniża transkrypcję mRNA i poziom białek czynników powiązanych z procesem adipogenezy np. PPAR γ i C/EBP α oraz ich regulatorów. Także inne markery zaangażowane w różnicowanie adipocytów, takie jak aP2 (adipocyte fatty acid – binding protein), CD36, LPL są hamowane przez berberynę. Badacze zaobserwowali, że PPAR α , β / δ , γ oraz C/EBP α są silnie hamowane przez berberynę na poziomie transkrypcyjnym. Stężenie mRNA PPAR γ było zredukowane o 98%, stężenie białka PPAR γ wykazywało podobne zmiany. Nadekspresja PPAR γ indukuje różnicowanie

adipocytów w komórkach 3T3-L1. Supresja PPAR γ blokuje adipogenezę i lipogenezę [19].

Kim i wsp. przebadali 18 różnych związków stilbenowych pod kątem hamowania adipogenezy. Sześć związków wykazało działanie antyadipogenne: stilbesterol, 3,5,4'-trimetoksytylben, resweratrol, ampelopsin A, vitisin A i vitisin B. Najefektywniej z wszystkich działał vitisin A z $IC_{50}=5,0 \mu M$. W stężeniu $10 \mu M$ vitisin A prawie całkowicie zahamował proces różnicowania komórek tłuszczowych. Vitisin A, pochodna resweratrolu hamuje różnicowanie adipocytów, zmniejsza akumulację tłuszczu, ekspresję PPAR γ i blokuje cykl komórkowy w fazie G $_1$ /S, a to powoduje pozostanie komórek w stadium preadipocytów. Vitisin A zwiększa ekspresję p21 i redukuje poziom fosforylacji Rb, co jest główną przyczyną zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G $_1$ [23].

Fracja oleju palmowego bogata w tokotrienol – TRF tłumi indukowaną insuliną ekspresję mRNA genów swoistych dla komórek tłuszczowych, takich jak PPAR γ , aP2 i C/EBP α . Aby potwierdzić supresyjne działanie TRF zbadano wpływ głównych komponentów frakcji, takich jak α -tokotrienol, γ -tokotrienol i α -tokoferol na proces różnicowania komórek tłuszczowych. α -tokotrienol i γ -tokotrienol znacznie obniżyły zaindukowaną insuliną ekspresję PPAR γ o 55 i 90%, podczas gdy α -tokoferol zwiększył ją. Dodatkowo γ -tokotrienol wpływał hamująco na ekspresję aP2 i C/EBP α , ograniczył akumulację triglicerydów w komórkach 3T3-L1 i obniżył stężenie białka PPAR γ w porównaniu do kontroli. γ -tokotrienol zahamował stymulowaną insuliną fosforylację Akt. Antyadipogenne działanie TRF zależy więc od α -tokotrienolu i γ -tokotrienolu, przy czym γ -tokotrienol wydaje się silniejszym inhibitorem adipogenezy niż α -tokotrienol. Witamina E (tokotrienol) obficie występuje w ziarnach zbóż, soi, jęczmieniu, owsie, otrębach ryżowych i oleju palmowym. Tokotrienole mogą zapobiegać otyłości poprzez supresję różnicowania preadipocytów w adipocyty, można by więc uznać je za witaminy antyadipogenne, jednak należałoby to działanie udowodnić także na ludziach [47].

Lek ziołowy o nazwie SH21B to kompozycja kilku ziół stosowana w tradycyjnej medycynie koreańskiej do leczenia otyłości. Składa się z 7 ziół: *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Prunus Armeniach Maxim*, *Ephedra sinica* Stapf, *Acorus gramineus* Soland, *Typha orientalia* Presl, *Polygala tenuifolia* Willd i *Nelumbonucifera* Gaesner. Mimo stosowania nigdy nie przebadano mechanizmu działania leku. W 2010 r. Lee i wsp. zbadali mechanizm działania tego specyfiku na linii komórkowej 3T3-L1. SH21B zapobiega akumulacji tłuszczu w komórkach tłuszczowych oraz znacznie zmniejsza ekspresję głównych czynników transkrypcyjnych zaangażowanych w proces adipogenezy, czego rezultatem jest spadek aktywności i liczby enzymów, które biorą udział w transporcie, wykorzystaniu i syntezie lipidów [26].

Ekstrakt wytwarzany z drożdży *Monascus purpureus* sfermentowanych na ryżu (powszechnie stosowana w kuchni chińskiej przyprawa – czerwony ryż drożdżowy) w komórkach 3T3-L1 znacząco zmniejsza aktywność GPDH i akumulację lipidów w sposób zależny od dawki. Poziom ekspresji mRNA PPAR γ i C/EBP α został znacznie obniżony w komórkach traktowanych ekstraktem. Ekstrakt hamował ekspresję PPAR γ także na poziomie białka oraz

ograniczał ekspresję aP2 i leptyny. Duże dawki ekstraktu (2 mg/ml) zmniejszyły aktywność GPDH i zawartość lipidów w komórkach o 93 i 86% w porównaniu do kontroli, nie działając toksycznie na komórki w tej dawce, natomiast ekspresja C/EBP α i PPAR γ zmniejszyła się o 55 i 37%. Ekspozycja komórek 3T3-L1 na ekstrakt obniżyła ekspresję mRNA aP2 o 52%, natomiast redukcja ekspresji leptyny wyniosła 51% [21].

Glukozamina to biopolimer pozyskiwany z chityny, składnika skorup zwierząt morskich, takich jak kraby i krewetki. Siarczan glukozaminy redukuje zawartość triglicerydów i zwiększa sekrecję glicerolu w adipocytach w sposób zależny od dawki. Glukozamina obniża ekspresję genów aP2, FAS (fatty acid synthase), LPL, ACS1 (acetyl-CoA synthase 1) oraz leptyny. Komórki 3T3-L1 w obecności glukozaminy aktywują AMPK α i β , a także jej substrat karboksylazę acetylo-CoA (ACC). Aktywacja AMPK prowadzi do zahamowania lipogenezy i syntezy triglicerydów w adipocytach. Glukozamina w zależności od dawki zmniejsza transkrypcję oraz ekspresję białek PPAR γ , C/EBP α i SREBP-1c [25]. Badania ostatnich lat wskazują, że głównym czynnikiem transkrypcyjnym, z którym insulina aktywuje ekspresję genów enzymów lipogennych jest SREBP-1c. SREBP-1c występuje w komórkach wielu różnych tkanek i narządów, ale szczególnie wysoki poziom ekspresji jest w wątrobie, tkance tłuszczowej, nadnerczach i mózgu. Działanie czynnika SREBP-1c (w przeciwieństwie do dwóch innych głównych izoform: SREBP-2 i SREBP-1a) jest ograniczone do regulacji ekspresji genów kodujących białka związane z biosyntezą kwasów tłuszczowych i triglicerydów. Jednakże zarówno badania *in vitro* jak i *in vivo* wskazują, że SREBP-1c nie jest jedynym czynnikiem niezbędnym do pełnej indukcji genów enzymów lipogennych w odpowiedzi na dietę bogatą w węglowodany [41] (tab. 2).

Badania nad synergistycznym oddziaływaniem aktywnych związków na komórki tłuszczowe sugerują, że pożądany efekt można osiągnąć stosując niższe dawki dwóch lub więcej składników i tym samym zmniejszyć potencjalną toksyczność.

Resweratrol i kwercetyna w stężeniu $25 \mu M$ ograniczyły wewnątrzkomórkową akumulację lipidów w dojrzałych adipocytach 3T3-L1 o $9,4 \pm 3,9\%$ w przypadku resweratrolu i o $15,9 \pm 2,5\%$ w przypadku kwercetyny. Traktowanie adipocytów jednocześnie kombinacją obu w stężeniu $25 \mu M$ zmniejszyło akumulację lipidów w komórkach aż o $68,6 \pm 0,7\%$. Resweratrol i kwercetyna znacząco zmniejszyły także ekspresję PPAR γ i C/EBP α . W dawce $100 \mu M$ resweratrol zmniejszył proliferację dojrzałych adipocytów o $18,1 \pm 0,6\%$, natomiast kwercetyna o $15,8 \pm 1\%$, oba związki zwiększyły apoptozę komórek po 48 godzinach ekspozycji odpowiednio o $120,5 \pm 8,3\%$ i $85,3 \pm 10\%$. Traktowanie komórek adipocytów jednocześnie kombinacją obu obniżyło żywotność o $73,5 \pm 0,9\%$ i zwiększyło apoptozę o $310,3 \pm 9,6\%$. W komórkach poddanych działaniu obu związków zwiększył się wpływ cytochromu c z mitochondriów do cytoplazmy a zmniejszyła fosforylacja kinazy białkowej ERK1/2 [50].

Guggulsteron (GS), fitosterol wyizolowany z rośliny *Commiphora mukul* oraz 1,25-dihydroksywitamina D $_3$



Tabela 2. Wpływ naturalnych związków na komórki tłuszczowe linii 3T3-L1

Związek	Mechanizm działania	Piśmiennictwo
Kwas kumarowy, kwas chlorogenowy, rutyna	↓ proliferacja preadipocytów, ↓ akumulacja triglicerydów, ↓ aktywność GPDH, ↓ ekspresja PPAR γ , ↑ adiponektyna, zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G $_1$	[16,17]
Karnozol, kwas karnozowy	hamowanie adipogenezy, ↑ indukcja GSH, ↑ aktywacja ARE	[42]
Kwercetyna	hamowanie adipogenezy, indukcja apoptozy: ↑ aktywacja kaspazy 3, ↑ Bax, ↑ Bak, ↓ Bcl-2, ↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ , ↓ SREBP-1, ↑ aktywacja AMPK, ↓ fosforylacja ERK i JNK	[2,50]
Kapsaicyna	↓ proliferacja preadipocytów, indukcja apoptozy: ↑ aktywacja kaspazy 3, ↑ Bax, ↑ Bak, ↓ Bcl-2, ↓ akumulacja triglicerydów, ↓ aktywność GPDH, ↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ , ↓ SREBP-1, ↓ leptyna, ↑ adiponektyna, ↑ aktywacja AMPK	[18,20]
Genisteina	↓ proliferacja preadipocytów i adipocytów, indukcja apoptozy, ↓ akumulacja triglicerydów, ↑ lipoliza, ↓ ekspresja PPAR γ , ↑ aktywacja AMPK	[15,20]
Naringenina	↓ proliferacja preadipocytów i adipocytów	[15]
Eskuletyna	hamowanie adipogenezy, indukcja apoptozy, ↓ proliferacja preadipocytów i adipocytów	[48]
Ajoen	hamowanie adipogenezy, indukcja apoptozy, ↑ aktywacja JNK i ERK, ↓ proliferacja preadipocytów, ↓ ekspresja PPAR γ , ↑ aktywacja AMPK, translokacja AIF	[49]
Katechiny: GC, EGC, ECG, EGCG	hamowanie adipogenezy, indukcja apoptozy, ↓ akumulacja triglicerydów, ↓ aktywność GPDH, ↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ , ↓ GLUT 4, ↑ aktywacja AMPK	[9,20]
Procyjanidyny	↑ lipoliza, ↑ poziom cAMP i PKA, ↓ akumulacja triglicerydów, ↓ aktywności GPDH	[33,34]
Antocyjany	↓ ekspresja IL-6, ↓ PAI-1, ↑ adiponektyna, ↑ aktywacja AMPK	[46]
Vitisin A	hamowanie adipogenezy, ↓ akumulacja triglicerydów, ↓ ekspresja PPAR γ , zablokowanie cyklu komórkowego w fazie G $_1$ /S, ↑ ekspresja p21, ↓ poziom fosforylacji Rb	[23]
Berberyna	hamowanie adipogenezy, ↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ , ↓ aP2, ↓ CD36, ↓ LPL	[19]
α i γ tokotrienol	↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ , ↓ aP2, ↓ akumulacja triglicerydów, ↓ fosforylacja Akt	[47]
Glukozamina	↓ akumulacja triglicerydów, ↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ , ↓ SREBP-1, ↓ leptyna, ↓ aP2, ↓ FAS, ↓ LPL, ↓ ACS1, ↑ aktywacja AMPK, ↑ lipoliza	[25]
Resweratrol + kwercetyna	hamowanie adipogenezy, indukcja apoptozy, ↓ proliferacja adipocytów, ↓ akumulacja triglicerydów, ↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ , ↓ fosforylacja ERK1/2	[50]
Guggulsteron + 1,25-dihydroksywitamina D $_3$	indukcja apoptozy, ↓ akumulacja triglicerydów, ↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ , ↓ aP2	[36]
Lek ziołowy SH21B	↓ akumulacja triglicerydów, ↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ	[26]
Ekstrakt z drożdży <i>Monascus purpureus</i>	↓ aktywność GPDH, ↓ akumulacja triglicerydów, ↓ ekspresja C/EBP α , ↓ PPAR γ , ↓ aP2, ↓ leptyna	[21]

hamują akumulację lipidów w komórkach 3T3-L, a kombinacja obu znacznie zwiększa ten efekt. Witamina 1,25(OH) $_2$ D $_3$ indukuje apoptozę komórek tłuszczowych, podczas gdy guggulsteron nie wywołuje takiego efektu. Natomiast traktowanie komórek tłuszczowych dwoma składnikami nasila proces apoptozy bardziej niż pojedyncze składniki. Badacze sugerują, że guggulsteron zwiększa właściwości proapoptotyczne i antyadipogenne witaminy D $_3$ w różniących preadipocytach 3T3-L1. Witamina D $_3$ w stężeniu 0,5 μ M i GS w stężeniu 3,12 μ M dodane do hodowli komórek tłuszczowych indywidualnie zmniejszyły akumulację lipidów o 29,3 \pm 3,4% i 29,7 \pm 2,7%, natomiast dodane do hodowli jednocześnie spowodowały spadek akumulacji

lipidów o 88,1 \pm 0,8%. Witamina D $_3$ zwiększyła apoptozę o 18,4 \pm 2,3%, podczas gdy GS nie wpływał znacząco na proces apoptozy. Kombinacja obu zwiększyła apoptozę komórek tłuszczowych o 47,1 \pm 5,8%. Dalsze analizy wykazały, że witamina D $_3$ w stężeniu 0,5 μ M znacznie zmniejsza ekspresję PPAR γ , C/EBP α i aP2 o 46,2 \pm 4,4%, 46,3 \pm 3,4 i 27,2 \pm 4,8%. Sam guggulsteron nie wywołał takiej zmiany, natomiast oba związki nasiliły ten efekt, zmniejszając ekspresję PPAR γ i C/EBP α o 55,7 \pm 1,4% i 50,5 \pm 2,3%, w przypadku aP2 obniżenie ekspresji wyniosło 50,8 \pm 5,3% [36].

Rezultatów badań *in vitro* na komórkach tłuszczowych nie można bezpośrednio ekstrapolować na efekty kliniczne,

pomagają one jednak wyjaśnić różne molekularne mechanizmy, na które naturalne produkty wpływają.

PODSUMOWANIE

Gwałtowna zmiana trybu życia, szeroka dostępność pożywienia, industrializacja, ograniczenie aktywności fizycznej spowodowała, że ludzie są narażeni na stałą ekspozycję na naturalne ligandy PPAR γ . Ich aktywacja prowadzi do wzmożonej adipogenezy, gromadzenia kwasów tłuszczowych i dodatniego bilansu energetycznego, co uważa się za jedną z przyczyn dramatycznego rozpowszechnienia otyłości i cukrzycy typu 2. Obecnie główne strategie przeciwdziałania otyłości można podzielić na 4 kategorie: redukcja spożycia, blokowanie absorpcji pożywienia, zwiększanie termogenezy oraz modulowanie metabolizmu tłuszczu i białek. Blokowanie różnicowania adipocytów jest strategią nieujęta w tych kategoriach, ponieważ moduluje akumulację tłuszczu. Różnorodne związki bioaktywne występujące w pożywieniu wpływają na różne etapy cyklu życiowego komórki tłuszczowej, ograniczając różnicowanie, zmniejszając lipogenezę, zwiększając

lipolizę i indukując apoptozę w komórkach tłuszczowych. Hamowanie różnicowania adipocytów jest powiązane z zapobieganiem otyłości, jednak kompletna inhibicja różnicowania jest niekorzystna dla ludzkiego zdrowia, ponieważ adipocyty odgrywają ważną fizjologicznie rolę w metabolizmie tłuszczu, utrzymaniu równowagi energetycznej organizmu i sekrecji adipocytokin. Dlatego ważne jest określenie takiej „dawki” produktu, która będzie działała umiarkowanie hamując na proces różnicowania adipocytów, a właśnie aktywne związki z naturalnych źródeł mogłyby być pomocne w prewencji otyłości znacznie ograniczając działania niepożądane. Dzięki badaniom *in vitro* coraz lepiej rozumiemy mechanizmy komórkowe prowadzące do zaburzeń czynności tkanki tłuszczowej, które wynikają z wewnątrzkomórkowego nagromadzenia lipidów, stresu oksydacyjnego, insulinooporności, zmian w sekrecji adipokin i mediatorów stanu zapalnego. Badania doświadczalne *in vitro* powinny być prowadzone równoległe z pracami klinicznymi *in vivo*, ponieważ tylko takie zestawienie technik badawczych pozwoli na osiągnięcie wiarygodnych rezultatów służących chorobom z otyłością.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ahima R.S., Flier J.S.: Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2000; 11: 327–332
- [2] Ahn J., Lee H., Kim S., Park J., Ha T.: The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008; 373: 545–549
- [3] Branca F., Nikogosian H., Lobstein T.: The challenge of obesity in the WHO European region and the strategies for response. *WHO 2007*
- [4] Calle E.E., Kaaks R.: Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat. Rev. Cancer*, 2004; 4: 579–591
- [5] Chien P.J., Chen Y.C., Lu S.C., Sheu F.: Dietary flavonoids suppress adipogenesis in 3T3-L1 preadipocyte. *J. Food Drug Anal.*, 2005; 13: 168–175
- [6] Dytfeld J., Horst-Sikorska W.: Znaczenie receptorów aktywowanych proliferatorami peroksydomów γ (PPAR γ) w fizjologii i patologii człowieka. *Przegląd Kardiologiczny* 2009; 4: 187–191
- [7] Feve B.: Adipogenesis: cellular and molecular aspects. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005; 19: 483–499
- [8] 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
- [9] Furuyashiki T., Nagayasu H., Aoki Y., Bessho H., Hashimoto T., Kanazawa K., Ashida H.: Tea catechin suppresses adipocyte differentiation accompanied by down-regulation of PPAR γ 2 and C/EBP α in 3T3-L1 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2004; 68: 2353–2359
- [10] Główny Urząd Statystyczny. Stan zdrowia ludności Polski w przekroju terytorialnym w 2004. Warszawa 2007. Dostępne na: <http://www.stat.gov.pl>
- [11] Green H., Kehinde O.: Sublines of mouse 3T3 cells that accumulate lipid. *Cell*, 1974; 1: 113–116
- [12] Gurnell M.: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and the regulation of adipocyte function: lessons from human genetic studies. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005; 19: 501–523
- [13] Gutierrez D.A., Puglisi M.J., Hasty A.H.: Impact of increased adipose tissue mass on inflammation, insulin resistance, and dyslipidemia. *Curr. Diab. Rep.*, 2009; 9: 26–32
- [14] Hamm J.K., Park B.H., Farmer S.R.: A role for C/EBP β in regulating peroxisome proliferator-activated receptor γ activity during adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 18464–18471
- [15] Harmon A.W., Harp J.B.: Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2001; 280: C807–C813
- [16] Hsu C.L., Huang S.L., Yen G.C.: Inhibitory effect of phenolic acid on the proliferation of 3T3-L1 preadipocytes in relation to their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 2006; 54: 4191–4197
- [17] Hsu C.L., Yen G.C.: Phenolic compounds: evidence for inhibitory effects against obesity and their underlying molecular signaling mechanisms. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2008; 52: 53–61
- [18] Hsu C.L., Yen G.C.: Effects of capsaicin on induction of apoptosis and inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 cells. *J. Agric. Food Chem.*, 2007; 55: 1730–1736
- [19] Huang C., Zhang Y.I., Gong Z., Sheng X.I.A., Li Z., Zhang W., Qin Y.: Berberine inhibits 3T3-L1 adipocyte differentiation through the PPAR γ pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006; 348: 571–578
- [20] Hwang J.T., Park J.J., Shin J.I., Lee Y.K., Lee S.K., Baik H.W., Ha J., Park O.J.: Genistein, EGCG, and capsaicin inhibit adipocyte differentiation process via activating AMP-activated protein kinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 338: 694–699
- [21] Jeon T., Hwang S.G., Hirai S., Matsui T., Yano H., Kawada T., Lim B.O., Park D.K.: Red yeast rice extracts suppress adipogenesis by down-regulating adipogenic transcription factors and gene expression in 3T3-L1 cells. *Life Sci.*, 2004; 75: 3195–3203
- [22] Kamińska K., Bogacka I., Wasielek M., Bogacki M.: Receptory aktywowane przez proliferatory peroksydomów i ich rola w rozrodzie. *Medycyna Wet.*, 2008; 64: 533–536
- [23] Kim S.H., Park H.S., Lee M.S., Cho Y.J., Kim Y.S., Hwang J.T., Sung M.J., Kim M.S., Kwon D.Y.: Vitisin A inhibits adipocyte differentiation through cell cycle arrest in 3T3-L1 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008; 372: 108–113
- [24] Kliewer S.A., Xu H.E., Lambert M.H., Willson T.M.: Peroxisome proliferator-activated receptors: from genes to physiology. *Recent Prog. Horm. Res.*, 2001; 56: 239–263
- [25] Kong C.S., Kim J.A., Kim S.K.: Anti-obesity effect of sulfated glucosamine by AMPK signal pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Food Chem. Toxicol.*, 2009; 47: 2401–2406
- [26] Lee H., Kang R., Yoon Y.: SH21B, an anti-obesity herbal composition, inhibits fat accumulation in 3T3-L1 adipocytes and high fat diet-induced obese mice through the modulation of the adipogenesis pathway. *J. Ethnopharmacol.*, 2010; 127: 709–717
- [27] Lefterova M.I., Lazar M.A.: New developments in adipogenesis. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2009; 27: 107–114
- [28] Lehrke M., Lazar M.A.: The many faces of PPAR γ . *Cell*, 2005; 123: 993–999
- [29] Mark D.H.: Deaths attributable to obesity. *JAMA*, 2005; 293: 1918–1919
- [30] Olszanecka-Glinianowicz M., Zahorska-Markiewicz B.: Otyłość jako choroba zapalna. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 249–257



- [31] Owecki M.: Otyłość epidemią XXI wieku. Przegląd Kardiometaboliczny, 2009; 4.1: 36–41
- [32] Peterson J., Dwyer J.: Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutr. Res.*, 1998; 18: 1995–2018
- [33] Pinet M., Blade M.C., Salvado M.J., Arola L., Ardevol A.: Intracellular mediators of procyanidin-induced lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 262–266
- [34] Pinet M., Blade M.C., Salvado M.J., Arola L., Hackl H., Quackenbush J., Trajanoski Z., Ardevol A.: Grape-seed derived procyanidins interfere with adipogenesis of 3T3-L1 cells at the onset of differentiation. *Int. J. Obes.*, 2005; 29: 934–941
- [35] Poulos S.P., Hausman D.B., Hausman G.J.: The development and endocrine functions of adipose tissue. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2010; 323: 20–34
- [36] Rayalam S., Della-Fera M.A., Ambati S., Boyan B., Baile C.A.: Enhanced effects of guggulsterone plus 1,25(OH)₂D₃ on 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007; 364: 450–456
- [37] Rayalam S., Della-Fera M.A., Baile C.A.: Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J. Nutr. Biochem.*, 2008; 19: 717–726
- [38] Rosen E.D., Spiegelman B.M.: Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*, 2006; 444: 847–853
- [39] Sadowski H.B., Wheeler T.T., Young D.A.: Gene expression during 3T3-L1 adipocyte differentiation. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 4722–4731
- [40] Shimomura I., Funahashi T., Takahashi M., Maeda K., Kotani K., Nakamura T., Yamashita S., Miura M., Fukusa Y., Takemura K., Tokunaga K., Matsuzawa Y.: Enhanced expression of PAI-1 in visceral FAT: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat. Med.*, 1996; 2: 800–803
- [41] Stoeckman A.K., Towle H.C.: The role of SREBP-1c in nutritional regulation of lipogenic enzyme gene expression. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 27029–27035
- [42] Takahashi T., Tabuchi T., Tamaki Y., Kosaka K., Takikawa S., Satoh T.: Carnosic acid and carnosol inhibit adipocyte differentiation in mouse 3T3-L1 cells through induction of phase 2 enzymes and activation glutathione metabolism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009; 382: 549–554
- [43] Tontonoz P., Spiegelman B.M.: Fat and beyond: the diverse biology of PPAR γ . *Annu. Rev. Biochem.*, 2008; 77: 289–312
- [44] Trayhurn P., Beattie J.H.: Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc. Nutr. Soc.*, 2001; 60: 329–339
- [45] Tsuda H., Ohshima Y., Nomoto H., Fujita K., Matsuda E., Iigo M., Takasuka N., Moore M.A.: Cancer prevention by natural compounds. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, 2004; 19: 245–263
- [46] Tsuda T.: Regulation of adipocyte function by anthocyanins: possibility of preventing the metabolic syndrome. *J. Agric. Food Chem.*, 2008; 56: 642–646
- [47] Uto-Kondo H., Ohmori R., Kiyose C., Kishimoto Y., Saito H., Igarashi O., Kondo K.: Tocotrienol suppresses adipocyte differentiation and Akt phosphorylation in 3T3-L1 preadipocytes. *J. Nutr.*, 2009; 139: 51–57
- [48] Yang J.Y., Della-Fera M.A., Hartzell D.L., Nelson-Dooley C., Hausman D.B., Baile C.A.: Esculetin induces apoptosis and inhibits adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Obesity*, 2006; 14: 1691–1699
- [49] Yang J.Y., Della-Fera M.A., Nelson-Dooley C., Baile C.A.: Molecular mechanisms of apoptosis induced by ajoene in 3T3-L1 adipocytes. *Obesity*, 2006; 14: 388–397
- [50] Yang J.Y., Della-Fera M.A., Rayalam S., Ambati S., Hartzell D.L., Park H.J., Baile C.A.: Enhanced inhibition of adipogenesis and induction of apoptosis in 3T3-L1 adipocytes with combinations of resveratrol and quercetin. *Life Sci.*, 2008; 82: 1032–1039

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.