

Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Zakład Bromatologii



Agnieszka Białek

Autoreferat

Warszawa 2016

1) Imię i nazwisko:

Agnieszka Białek

2) Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

Dyplom magistra farmacji w zakresie analityki farmaceutycznej uzyskany 31 marca 2005 roku na podstawie obronionej pracy magisterskiej pt.: *„Opracowanie i walidacja metody oznaczania zawartości fosforanu kodeiny i sulfogwajakolu w tabletkach Thiocodin”* wykonanej w Katedrze i Zakładzie Farmakognozji Akademii Medycznej w Warszawie pod opieką Pani dr Grażyny Glinkowskiej i w Laboratorium Kontroli Jakości Zakładów Farmaceutycznych „Unia” pod opieką Pani dr inż. Lidii Bukowskiej. Promotor: Pan prof. dr hab. Józef Kowalski.

Stopień doktora nauk farmaceutycznych nadany 1 lutego 2012 roku uchwałą Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego na podstawie przedstawionej rozprawy doktorskiej pt. *„Badanie wzajemnych zależności między zawartością sprzężonych dienów kwasu linolowego i innych kwasów tłuszczowych w diecie i tkankach szczurów w warunkach procesu nowotworowego”* wykonanej w Katedrze i Zakładzie Bromatologii. Promotor: Pan prof. WUM. dr hab. n. farm. Andrzej Tokarz, recenzenci: Pan prof. dr hab. Maciej Małecki, Pan dr hab. Paweł Zagrodzki.

Świadectwo ukończenia studiów podyplomowych „Zarządzanie projektem badawczym”, realizowanych przez Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni w roku akademickim 2013/2014, w ramach projektu „STER dla B+R”, współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego, z dnia 5 lipca 2014 roku.

Certyfikat Certified Project Management Associate IPMA Level D nr 317/2014 wydany dnia 5 lipca 2014 roku przez Biuro Certyfikacji IPMA Polska w oparciu o wymagania Biura Certyfikacji IPMA Polska oraz Wytyczne Kompetencji uznane przez International Project Management Association (IPMA).

Prawo wykonywania zawodu farmaceuty nr XIX/01/3343/2005 nadane uchwałą Okręgowej Rady Aptekarskiej w Warszawie nr 244/2005 z dnia 5 kwietnia 2005 roku.

3) Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

Od maja 2005 roku do grudnia 2012 roku byłam zatrudniona w Katedrze i Zakładzie Bromatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego na stanowisku asystenta. Od grudnia 2012 roku do chwili obecnej jestem zatrudniona w Zakładzie Bromatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego na stanowisku adiunkta.

4) Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) tytuł osiągnięcia naukowego/ artystycznego:

„Badanie wybranych właściwości biologicznych kwasów tłuszczowych posiadających układ sprzężonych wiązań podwójnych (CLA, CLnA)”

b) autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy,

Osiągnięciem naukowym jest spójny tematycznie cykl 14 publikacji naukowych (12 prac badawczych i 2 prace przeglądowe) opublikowanych w latach 2013-2016. We wszystkich tych pracach byłam autorem korespondencyjnym. Dla każdej pracy podano współczynnik oddziaływania czasopisma (*Impact Factor – ISI Journal Citation Report*) oraz punktację MNiSW. Wartości powyższych współczynników zostały przygotowane przez Bibliotekę Główną Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Analiza bibliometryczna stanowi Załącznik 7. do wniosku.

[A1] Białek A, Tokarz A. *Wpływ suplementacji diety sprzężonymi dienami kwasu linolowego na profil kwasów tłuszczowych w surowicy szczurów.* [w:] *Nauka o żywieniu człowieka – osiągnięcia i wyzwania*, monografia pokonferencyjna, Wydawnictwo SGGW, 2013, Warszawa, str. 150 – 157.

Wkład własny: współudział w koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, wykonanie analiz, opracowanie i analiza statystyczna uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A2] **Białek A**, Tokarz A. *Sprężone dieny kwasu linolowego jako potencjalny czynnik prewencyjny w profilaktyce nowotworów piersi*. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2013; 67: 6-14. (IF₂₀₁₃ **0,633**; MNiSW: **15** pkt.).

Wkład własny: współudział w opracowaniu koncepcji pracy, napisanie i redakcja manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A3] **Białek A**, Tokarz A, Zagrodzki P. *Zastosowanie metody analizy skupień do rozróżnienia grup zwierząt na podstawie stężeń kwasów tłuszczowych w surowicy krwi, w warunkach procesu nowotworowego*. [w:] Chemometria w rozwiązywaniu problemów nauki i praktyki. Zadora G, Zuba D, Parczewski A (red). Wydawnictwo Instytutu Ekspertyz Sądowych, Kraków, 2014, str. 261-265.

Wkład własny: współudział w koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, wykonanie analiz, opracowanie wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A4] **Białek A**, Tokarz A, Zagrodzki P. *Conjugated linoleic acids in diet of female rats inhibit the breast cancer formation in their offspring*. Journal of Food and Nutrition Research 2014; 53(1): 39-50. (IF₂₀₁₄ **0,804**; MNiSW: **20** pkt.).

Wkład własny: koncepcja badań, zaplanowanie i przeprowadzenie eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, wykonanie analiz, opracowanie uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A5] **Białek A**, Stawarska A, Tokarz A, Czuba K, Konarska A, Mazurkiewicz M, Stanimirova I. *Enrichment of maternal diet with conjugated linoleic acids influence desaturases activity and fatty acids profile in livers and hepatic microsomes of the offspring with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced mammary tumors*. Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research 2014; 71(5): 747-761 (IF₂₀₁₄ **0,737**; MNiSW: **15** pkt.).

Wkład własny: koncepcja badań, zaplanowanie i przeprowadzenie eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, koordynowanie wykonania analiz, wykonanie części analiz, opracowanie i analiza statystyczna części uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 60%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A6] **Białek A**, Teryks M, Tokarz A. *Sprężone trieny kwasu linolenowego (conjugated linolenic acid – CLnA, super CLA) – źródła i działanie biologiczne*. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2014; 68: 1238-1250. (IF₂₀₁₄ 0,573; MNiSW: 15 pkt.).

Wkład własny: współudział w opracowaniu koncepcji pracy, napisanie i redakcja manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A7] **Białek A**, Jelińska M, Bamburowicz-Klimkowska M, Tokarz A. *Wpływ wodnego ekstraktu z owoców przepękli i oleju z nasion granatowca właściwego na profil lipidowy u szczurów – badania wstępne*. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2014; 47(3): 270-276. (MNiSW: 5 pkt.).

Wkład własny: koncepcja badań, zaplanowanie i przeprowadzenie eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, współudział w wykonaniu analiz, opracowanie i analiza statystyczna uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A8] **Białek A**, Jelińska M, Bamburowicz-Klimkowska M, Tokarz A. *Effect of bitter melon aqueous extract and pomegranate oil on glucose concentration and lipid profile in blood of rats – preliminary study*. International Journal of Cardiology and Lipidology Research 2014; 1: 1-7.

Wkład własny: koncepcja badań, zaplanowanie i przeprowadzenie eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, współudział w wykonaniu analiz, opracowanie i analiza statystyczna uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A9] **Białek A**, Tokarz A, Zagrodzki P. *Conjugated linoleic acids (CLA) decrease the breast cancer risk in DMBA-treated rats*. Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research 2015; 72(6): 1163-1176 (IF₂₀₁₅ 0,877; MNiSW: 15 pkt.).

Wkład własny: współudział w koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, wykonanie analiz, opracowanie uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A10] **Białek A**, Jelińska M, Tokarz A. *Influence of maternal diet enrichment with conjugated linoleic acids on lipoxygenase metabolites of polyunsaturated fatty acids in serum of their offspring with 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced mammary tumors*. Prostaglandins and Other Lipid Mediators 2015; 116-117: 10-18 (IF₂₀₁₅ **2,905**; MNiSW: **25** pkt.).

Wkład własny: koncepcja badań, zaplanowanie i przeprowadzenie eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, współudział w wykonaniu analiz, opracowanie i analiza statystyczna uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A11] **Białek A**, Zagrodzki P, Tokarz A. *Chemometric analysis of the interactions among different parameters describing health conditions, breast cancer risk and fatty acids profile in serum of rats supplemented with conjugated linoleic acids*. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA) 2016; 106: 1-10 (IF₂₀₁₅ **3,155**; MNiSW: **25** pkt.).

Wkład własny: współudział w koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, wykonanie analiz, opracowanie uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 60%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A12] **Białek A**, Jelińska M, Tokarz A, Pergół A, Pinkiewicz K. *Influence of pomegranate seed oil and bitter melon aqueous extract on polyunsaturated fatty acids and their lipoxygenase metabolites concentration in serum of rats*. Prostaglandins and Other Lipid Mediators, 2016; DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2016.07.005. (IF₂₀₁₅ **2,905**; MNiSW: **25** pkt.).

Wkład własny: współudział w koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu eksperymentu z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, współudział w wykonaniu analiz, opracowanie i analiza statystyczna części uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A13] **Białek A**, Białek M, Jelińska M, Tokarz A. *Fatty acid composition and oxidative characteristics of novel edible oils in Poland*. CyTA – Journal of Food 2016; DOI: 10.1080/19476337.2016.1190406. (IF₂₀₁₅ **0,769**; MNiSW: **20** pkt.).

Wkład własny: koncepcja badań, zaplanowanie i przeprowadzenie badania, współudział w wykonaniu analiz, opracowanie i analiza statystyczna uzyskanych wyników, współudział w przygotowaniu manuskryptu oraz jego korekcie zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 65%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

[A14] **Białek A**, Białek M, Jelińska M, Tokarz A. *Fatty acid profile of new promising unconventional plant oils for cosmetic use*. International Journal of Cosmetic Science 2016; 38: 382-388, DOI 10.1111/ics.12301 (IF₂₀₁₅ **1,542**; MNiSW: **20** pkt.).

Wkład własny: koncepcja badań, zaplanowanie i przeprowadzenie badania, współudział w wykonaniu analiz, opracowanie i analiza statystyczna uzyskanych wyników, współudział w przygotowaniu manuskryptu oraz jego korekcie zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach, korespondencja z edytorem. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

Oświadczenia współautorów w Załączniku 5.

Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego w postępowaniu habilitacyjnym wynosi **14,900**, punkty MNiSW: **200**.

- c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

W ciągu ostatnich lat obserwuje się niezwykle dynamiczny rozwój nauk żywieniowych, czego efektem jest m.in. modyfikacja norm i obowiązujących zaleceń żywieniowych. W 2016 roku Instytut Żywności i Żywienia opublikował nową, zmodyfikowaną Piramidę Zdrowego Żywienia i Aktywności Fizycznej, zawierającą zbiór najbardziej aktualnych zasad komponowania prawidłowej diety (ryc. 1). Zgodnie z tymi zasadami produkty o kluczowym znaczeniu, które powinny stanowić podstawę prawidłowo zbilansowanej diety, zajmują w niej najniższe piętra, zaś te znajdujące się wyżej powinny być spożywane rzadziej i w mniejszych ilościach. Podstawą najnowszej piramidy jest codzienna aktywność fizyczna, która w połączeniu z odpowiednio skomponowaną dietą, ma pozwolić na utrzymanie prawidłowego stanu zdrowia. Za składniki diety o największym znaczeniu prozdrowotnym uznane zostały owoce i warzywa, zajmujące drugie piętro Piramidy, które powinny stanowić ponad 50% wszystkich składników pożywienia. Ważne jest także zachowanie właściwych proporcji pomiędzy grupą owoców a grupą warzyw. Ze względu na zawartość fruktozy owoce nie powinny przekraczać 1/3 udziału. Istotne znaczenie odgrywają także produkty zbożowe, zwłaszcza pełnoziarniste, stanowiące kolejne piętro Piramidy oraz nabiał. Spożycie mięsa, które zostało umieszczone na kolejnym poziomie Piramidy, należy ograniczyć a mięso czerwone i wysoce przetworzone lepiej zastąpić rybami

i mięsem drobiowym. Na szczycie Piramidy Zdrowego Żywienia i Aktywności Fizycznej umieszczono tłuszcze, których należy spożywać najmniej. Duże znaczenie ma zastąpienie tłuszczów zwierzęcych olejami roślinnymi, a także ograniczenie spożycia soli kuchennej i cukru oraz odpowiednia podaż płynów [1].

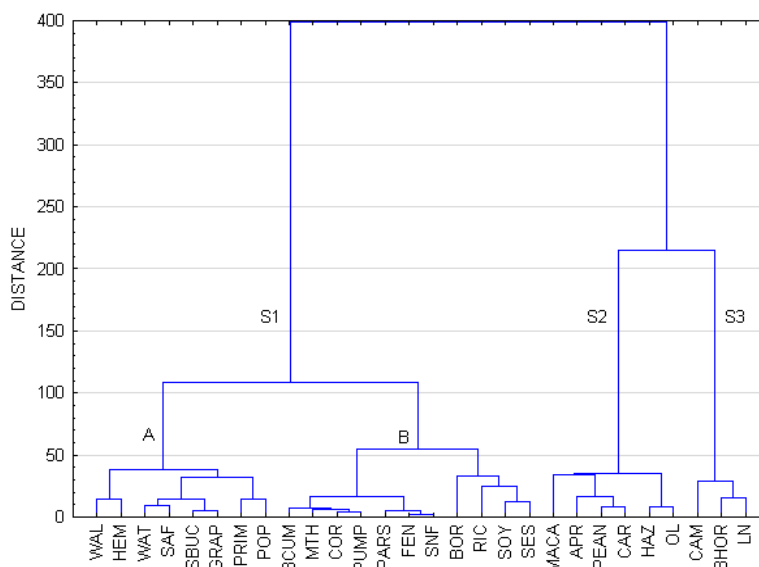


Ryc. 1. Piramida Zdrowego Żywienia i Aktywności Fizycznej [2].

Tłuszcze są jednym z najważniejszych składników odżywczych spożywanych w codziennej diecie. Ich istotne znaczenie wynika nie tylko z faktu, iż są najcenniejszym składnikiem energetycznym, czy nośnikiem dla witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, ale również z biologicznej aktywności kwasów tłuszczowych, które są głównymi ich składnikami.

Oleje roślinne są niezwykle cennymi składnikami diety nie tylko jako bogate źródła nienasyconych kwasów tłuszczowych, czy ze względu na brak w nich cholesterolu, ale także jako źródła naturalnych związków o właściwościach przeciwutleniających (tokoferoli czy karotenoidów) [3]. Asortyment olejów dostępnych na rynku uległ ostatnio znacznemu rozszerzeniu i obecnie obok zwyczajowo stosowanych olejów, takich jak rzepakowy, słonecznikowy czy oliwa, oferowane są także oleje pozyskiwane z orzechów (np. włoskich, laskowych, makadamia czy arachidowych), nasion owoców (np. winogron, wiśni, truskawek, moreli), nasion warzyw (np. marchwi, pietruszki, kopru) czy innych surowców (np. szarłat, czarnuszki, ogórecznika). Ze względu na brak pełnej charakterystyki tych „niekonwencjonalnych” olejów dokonano oceny profilu kwasów tłuszczowych techniką chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną oraz stabilności oksydacyjnej 28 olejów jadalnych [A13] i 17 olejów kosmetycznych [A14] dostępnych na rynku warszawskim.

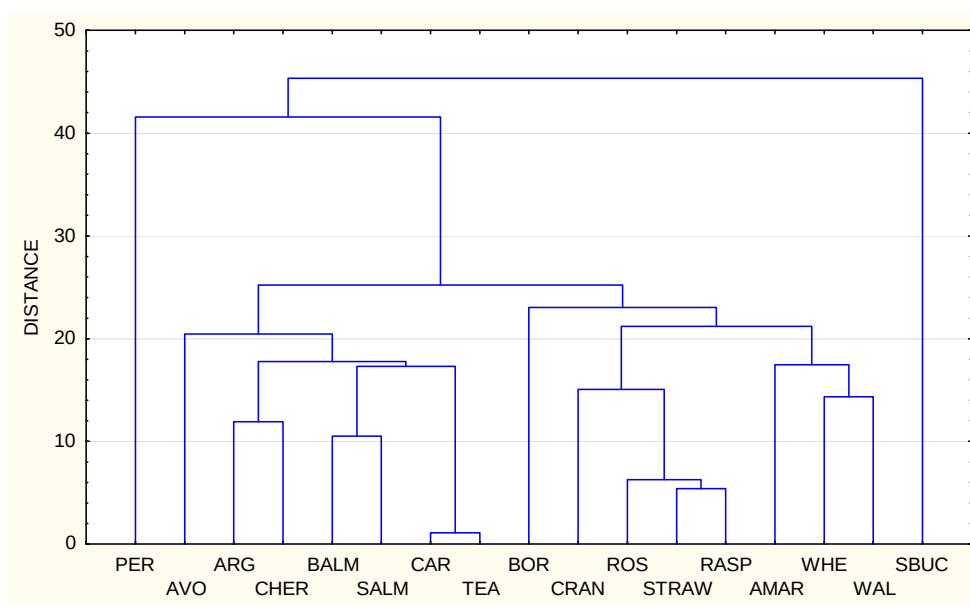
Oznaczono w nich udział procentowy 33 kwasów tłuszczowych, na podstawie którego wyznaczono indeks utlenialności (peroxidability index – PI). Ze względu na dużą ilość zgromadzonych danych do ich oceny zastosowano metodę analizy skupień. Została ona wykonana dla stężeń kwasów tłuszczowych, których zawartość oznaczono we wszystkich badanych olejach. Dane przed analizą zostały poddane standaryzacji. Podział dendrogramu, obrazującego strukturę zbioru obiektów, na skupienia wynikowe, został wykonany w oparciu o regułę Mojeny, przy założeniu, że wartość stałej k jest równa 1,25.



Ryc. 2. Dendrogram ilustrujący podobieństwo między badanymi olejami jadalnymi (metoda grupowania obiektów: procedura aglomeracyjna Warda; funkcja odległości: odległość euklidesowa; wskaźnik Mojeny $d = 142,75$) [A13].

W olejach jadalnych analiza skupień pozwoliła na wyodrębnienie trzech skupień: S1, S2 i S3. Różnice w profilu kwasów tłuszczowych pomiędzy wyodrębnionymi skupieniami zostały poddane analizie statystycznej za pomocą nieparametrycznego testu Kruskala-Wallisa w połączeniu z testem porównań wielokrotnych jako odpowiednikiem testów post-hoc. Jako poziom istotności przyjęto wartość $p \leq 0,05$. Istotne statystycznie różnice dotyczyły jedynie 4 spośród 17 analizowanych kwasów tłuszczowych i to one odpowiedzialne są z jednej strony za wyodrębnienie poszczególnych skupień, a z drugiej wskazują na podobieństwa pomiędzy olejami zaklasyfikowanymi do każdego ze skupień. Do skupienia S1 zostały włączone oleje charakteryzujące się wysokim udziałem kwasu linolowego, do skupienia S2 zostały włączone oleje o dużym udziale jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (kwasu palmitooleinowego i oleinowego), m.in. oleje z orzechów arachidowych, laskowych i makadamia, podczas gdy do skupienia S3 zostały włączone oleje bogate w kwas α -linolenowy. Potwierdza to, iż to właśnie te kwasy tłuszczowe decydują o jakości żywieniowej i zdrowotnej olejów jadalnych. Co więcej,

wykazano, iż oleje należące do skupień S2 i S3 są bardziej podobne do siebie pod względem profilu kwasów tłuszczowych, niż każde z nich do skupienia S1. Szczegółowa analiza profilu kwasów tłuszczowych olejów tworzących skupienie S1 pozwoliła na jego podział na dwa podskupienia (A i B), których profile kwasów tłuszczowych różniły się udziałem kwasów: mirystynowego i heptadekanowego. Wartości indeksu utlenialności były bardzo zróżnicowane pomiędzy analizowanymi olejami i wynosiły od 9,3 dla oliwy do 140,2 dla oleju z ogórecznika. Z drugiej jednak strony ten ostatni olej charakteryzował się najniższą wartością liczby nadtlenkowej PV ($3,07 \pm 1,76 \text{ meqO}_2/\text{kg}$ oleju). Wartość liczby kwasowej, wyrażająca ilość wolnych kwasów tłuszczowych w oleju, mieściła się w przedziale od $0,13 \pm 0,03 \text{ mg KOH/g}$ oleju do $5,91 \pm 0,08 \text{ mg KOH/g}$ oleju [A13].



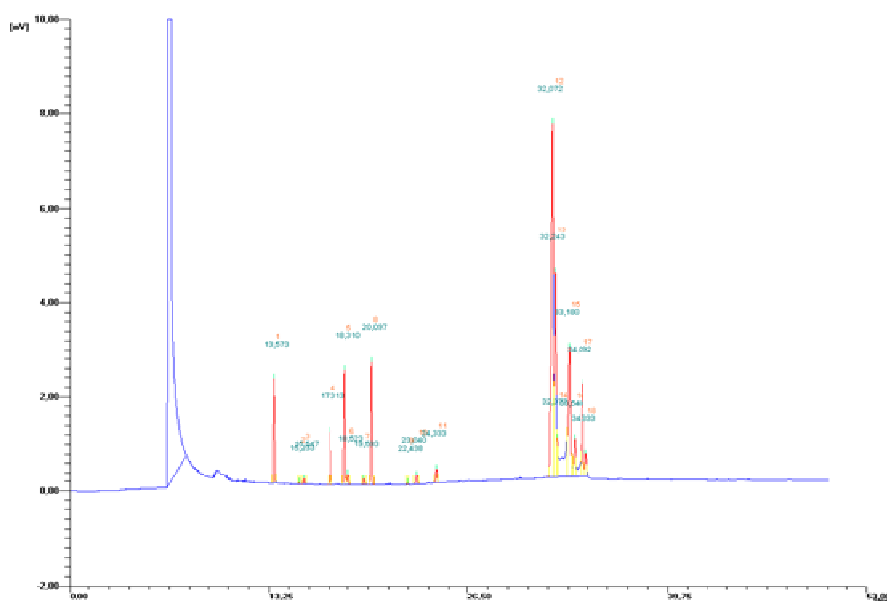
Ryc. 3. Dendrogram ilustrujący podobieństwo między badanymi olejami kosmetycznymi (metoda grupowania obiektów: procedura aglomeracyjna Warda; funkcja odległości: odległość euklidesowa; wskaźnik Mojeny $d = 33,14$) [A14].

W olejach kosmetycznych analiza skupień, wykonana na podstawie udziału procentowego 14 kwasów tłuszczowych obecnych we wszystkich analizowanych olejach, pozwoliła na wyodrębnienie trzech skupień: S1, S2 i S3. Skupienia S1 i S3 tworzył tylko jeden olej, odpowiednio olej z pachnotki w przypadku skupienia S1 i olej z rokitnika w przypadku skupienia S3. Olej z pachnotki charakteryzuje bardzo mały udział nasyconych kwasów tłuszczowych (8,5%) i bardzo duży udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (73,5%) podczas gdy w oleju z rokitnika te proporcje są odwrócone – 33,5% stanowią nasycone kwasy tłuszczowe i 5,2% stanowią wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Wśród olejów tworzących skupienie S2 zostały wyodrębnione dwa podskupienia (SA i SB), a różnice w profilu kwasów tłuszczowych pomiędzy nimi zostały poddane analizie statystycznej za pomocą

nieparametrycznego testu U Mann-Whitney’a. Jako poziom istotności przyjęto wartość $p \leq 0,05$. Do wyodrębnienia podskupień SA i SB przyczyniły się przede wszystkim różnice w zawartości kwasu linolowego ($p = 0,0015$), α -linolenowego ($p = 0,0092$) i oleinowego ($p = 0,0015$). Stabilność oksydacyjna badanych olejów kosmetycznych była zróżnicowana: indeks utlenialności mieścił się w zakresie od 8,9 do 135, zaś liczba nadtlenkowa – w zakresie od $0,82 \pm 0,18 \text{ meqO/kg}$ oleju do $232 \pm 13,8 \text{ meqO/kg}$ oleju [A14].

Zarówno w przypadku olejów jadalnych, jak i olejów przeznaczonych do celów kosmetycznych, informacje o profilu kwasów tłuszczowych, czy innych parametrach charakteryzujących ich jakość, mają zasadnicze znaczenie dla ich bezpiecznego i efektywnego stosowania.

Niezwykle interesującym profilem kwasów tłuszczowych charakteryzował się olej z nasion granatowca właściwego (*Punica granatum*, *Punicaceae*). Granatowiec właściwy znany jest i uprawiany od Starożytności. Wzmianki o jego uprawie sięgają 3 tysięcy lat p.n.e. Już Hipokrates doceniał jego właściwości w leczeniu niepłodności i łagodzeniu objawów menopauzy [A6]. W owocach tego gatunku obecnych jest wiele cennych pod względem aktywności biologicznej substancji. Sok z granatu jest bogatym źródłem flawonoidów (antocyjanidyn i katechin) oraz tanin, które są odpowiedzialne za około 90% aktywności antyoksydacyjnej tej rośliny. Nasiona granatu również wykazują silne właściwości przeciwutleniające, zawierają bowiem znaczne ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, witamin, polifenoli oraz związków mineralnych. W oleju pozyskiwanym z nasion granatowca znajduje się również należąca do izoflawonów genisteina, jednak jego głównym składnikiem jest kwas *cis*-9, *trans*-11, *cis*-13 oktadekatrienowy (tzw. kwas punikowy/ punicynowy) [4].



Ryc. 4. Chromatogram prezentujący profil kwasów tłuszczowych w oleju z nasion granatowca właściwego (*Punica granatum*).

W badanych próbkach oleju z nasion granatowca kwas punikowy stanowił $32,7 \pm 1,6\%$ wszystkich kwasów tłuszczowych, podczas gdy wspomniane wcześniej nienasycone kwasy tłuszczowe stanowiły jedynie odpowiednio: kwas oleinowy – $5,8 \pm 0,3\%$, kwas linolowy – $6,5 \pm 0,4\%$ i kwas α -linolenowy – $0,06 \pm 0,04\%$. Ze względu na niezwykle interesujący profil kwasów tłuszczowych olej z nasion granatowca uczyniono przedmiotem kolejnych badań, opisanych w dalszej części pracy.

Do oceny wyników uzyskanych podczas badania olejów zastosowano metodę analizy skupień. Podstawowym jej celem jest określenie, na podstawie dokonanych pomiarów, wewnętrznej struktury zbioru obiektów, zwłaszcza zaś wykrycie ich ewentualnych skupień. Oparta jest ona na założeniu, że bliskość obiektów w m-wymiarowej przestrzeni cech odzwierciedla również ich podobieństwo pod względem innych – jakościowych właściwości. Na wstępie najczęściej przyjmuje się założenie, że wszystkie cechy mają taki sam wpływ na grupowanie obiektów. Podstawą analizy skupień jest macierz odległości obiektów. Metoda ta wykorzystywana jest szczególnie często w sytuacji, gdy mamy do czynienia z jednoczesną analizą dużej liczby zmiennych, dlatego często stosuje się ją w badaniach, w których dokonuje się analizy pełnego profilu kwasów tłuszczowych. Metoda ta została także wykorzystana do rozróżnienia grup zwierząt na podstawie stężeń kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów w warunkach procesu nowotworowego [A3], co doprowadziło do stwierdzenia, że w danym eksperymencie profil kwasów tłuszczowych zależał zarówno od zastosowanej suplementacji diety, zastosowanej dawki, czasu prowadzenia suplementacji, jak i zastosowania czynnika kancerogennego. Przy bardziej złożonych eksperymentach, generujących bardzo dużą liczbę danych konieczne jest zastosowanie podejścia chemometrycznego. Chemometria, która jako dziedzina nauki powstała w połowie XX wieku, stawia sobie za cel wydobywanie przy użyciu metod statystyki i matematyki, użytecznej informacji z wielowymiarowych danych pomiarowych [5].

Podejście chemometryczne zostało zastosowane przy poszukiwaniu optymalnego modelu statystycznego, opisującego zależności pomiędzy zmiennymi opisującymi stan zdrowia zwierząt, ryzyko rozwoju raka piersi, profil kwasów w surowicy krwi szczurów, u których prowadzona była suplementacja diety sprzężonymi dienami kwasu linolowego w różnych dawkach i przez różny czas [A11]. Zastosowano w tym celu metodę najmniejszych cząstkowych kwadratów (Partial Least Square – PLS), co miało na celu ujawnienie i wyjaśnienie struktury korelacji pomiędzy stężeniami kwasów tłuszczowych, a zwiększeniem masy całego organizmu zwierząt oraz masą niektórych narządów (nerki, wątroba, serce, śledziona), pobranych po zakończeniu

eksperymentu. W konstruowanych modelach PLS, stężenia kwasów tłuszczowych spełniały rolę zmiennych objaśniających, a zmiany masy całego organizmu zwierząt oraz masy niektórych narządów na końcu eksperymentu traktowane były jako zmienne zależne. Uwzględnienie przesłanek natury biochemicznej oraz wyeliminowanie, w kolejnych krokach procedury (na podstawie odpowiednich kryteriów statystycznych) zmiennych o niskiej wartości eksplanacyjnej umożliwiło ukierunkowanie poszukiwań w sposób wyżej opisany. Optymalna liczba składowych ukrytych była wyznaczona metodą walidacji krzyżowej typu „wyrzucić jeden obiekt”. Do wizualizacji struktury wielowymiarowych danych (struktury korelacji pomiędzy zmiennymi objaśniającymi, oraz pomiędzy nimi a zmiennymi zależnymi) posłużono się wykresem wag PLS, który stanowi projekcję wag PLS na pierwsze zmienne ukryte. Zmienne, o wartościach bezwzględnych większych od 0,3 w odniesieniu do pierwszej lub drugiej zmiennej ukrytej są z sobą skorelowane (dodatnio lub ujemnie), o ile kąt, jaki tworzą pomiędzy sobą dwa wektory wag tych zmiennych o początku w punkcie [0,0] i końcach określonych przez odpowiednie wartości wag (czyli współrzędne rozpatrywanych zmiennych na wykresie wag PLS) jest różny od 90° . W celu ilościowego wyrażenia siły zależności pomiędzy zmiennymi, dla par skorelowanych zmiennych wyliczono iloczyny algebraiczne ich wag PLS, pomnożone dodatkowo przez cosinus kąta pomiędzy zmiennymi (uzyskane w ten sposób współczynniki noszą nazwę wag korelacyjnych). Podobnie jak w analizie skupień, w przypadku wielu brakujących danych, stężenie danego kwasu tłuszczowego nie było włączane do analizy.

Dla wszystkich grup zwierząt nie było możliwe skonstruowanie modelu PLS, spełniającego kryteria istotności statystycznej, co może być skutkiem ich dużej niejednorodności. Może to wynikać także z faktu, iż informacja zawarta w zmiennych objaśniających nie była wystarczająca dla wymodelowania zmiennych zależnych lub, że zależność pomiędzy macierzą zmiennych objaśniających, a macierzą zmiennych zależnych, może być bardziej skomplikowana aniżeli zależność liniowa badana w modelu PLS.

Modele PLS skonstruowano dla zwierząt tworzących skupienie S1, S2 (wyodrębnione w analizie skupień [A3]) i dla zwierząt nie poddanych działaniu czynnika kancerogennego, a analiza par skorelowanych parametrów w poszczególnych grupach pozwoliła na wyodrębnienie kilku prawidłowości. Najistotniejszym jednak wydaje się fakt, iż obserwowano istotną korelację między opóźnieniem wystąpienia pierwszego guza, a przynależnością do skupienia S2 (0,141). Biorąc pod uwagę fakt, iż skupienie to tworzyły grupy zwierząt suplementowanych przez długi okres czasu wysoką dawką CLA (korelacja 0,196), potwierdzono, iż ta modyfikacja diety w najkorzystniejszy sposób wpływała na profil kwasów tłuszczowych w surowicy, co skutkowało działaniem ochronnym. Co więcej, opóźnienie w czasie pojawienia się pierwszego guza nowotworowego było negatywnie skorelowane z całkowitą liczbą guzów

nowotworowych (-0,114), co mogło wskazywać na zmniejszoną zdolność do tworzenia przerzutów. Wszystkie te obserwacje wyraźnie podkreślały korzystny wpływ suplementacji diety zwierząt sprzężonymi dienami kwasu linolowego na zmniejszenie u nich ryzyka raka sutka [A11].

Pierwsze doniesienia o korzystnych dla zdrowia biologicznych właściwościach sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA - conjugated linoleic acids) pochodzą z roku 1987, kiedy to prof. Michael Pariza i jego zespół, badając potencjalne kancerogenne właściwości grillowanej wołowiny, odkryli, że sprzężone izomery kwasu linolowego, wyizolowane z mięsa, zahamowały indukowany chemicznie proces nowotworowy w obrębie skóry u myszy [6]. Nazwa CLA obejmuje pozycyjne i geometryczne izomery kwasu linolowego posiadające w łańcuchu węglowym układ dwóch sprzężonych wiązań podwójnych rozmieszczonych w różnych miejscach łańcucha i o różnych kombinacjach konfiguracji *cis* i *trans* [7]. Spośród wielu możliwych izomerów CLA najlepiej poznane i zbadane zostały kwasy: *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowy (kwas żwaczowy) oraz *trans*-10, *cis*-12 oktadekadienowy, z uwagi na ich różnorodną aktywność biologiczną [8]. W kolejnych latach powstało wiele prac badawczych potwierdzających użyteczność tych związków w profilaktyce i leczeniu wielu chorób cywilizacyjnych, zwłaszcza zaś nowotworów piersi [A2]. W cykl tych badań wpisują się także moje badania [A1, A3, A9, A11].

Według Światowej Organizacji Zdrowia prawidłowe żywienie, zwłaszcza karmienie piersią, odgrywa znaczącą rolę w zapewnieniu odpowiedniego stanu zdrowia i stanu odżywienia dzieci a także przekłada się na długoterminowe korzyści w okresie młodzieńczym i dorosłym [9]. W kontekście eksperymentów, dotyczących patogenezy chorób cywilizacyjnych, szczególnie interesującym kierunkiem badań wydaje się być ocena wpływu bodźca działającego podczas życia płodowego na ryzyko wystąpienia tych chorób w wieku dojrzałym. Hipoteza ta, zwana koncepcją "rozwojowego pochodzenia zdrowia i choroby" lub "programowania rozwojowego" zakłada, że działanie pewnego bodźca podczas najważniejszego okresu wzrostu i rozwoju, odbywającego się *in utero*, wprowadza długotrwałe zmiany rozwojowe i fizjologiczne w głównych tkankach i narządach, rzutuje także na ryzyko wystąpienia wielu chorób, w tym tzw. chorób cywilizacyjnych [10]. W tą koncepcję badawczą doskonale wpisuje się realizowany przeze mnie eksperyment z wykorzystaniem sprzężonych dienów kwasu linolowego, jako związków naturalnie występujących w mleku samic ssaków, których zawartość zależy od różnorodnych czynników żywieniowych i środowiskowych, zapoczątkowany podczas przygotowywania rozprawy doktorskiej i kontynuowany po jej obronie.

Nadrzędnym celem niniejszej pracy było określenie wpływu zwiększonej podaży sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA), w diecie samic szczurów, na ryzyko powstawania

i rozwoju stymulowanych chemicznie nowotworów sutka u ich potomstwa. Poszukiwano także zależności pomiędzy spożyciem tych kwasów tłuszczowych a ich zawartością oraz profilem kwasów tłuszczowych w tkankach i płynach ustrojowych zwierząt. Badaniami objęto surowicę krwi, wątroby, mikrosomy wątrobowe oraz guzy nowotworowe. Poszukując mechanizmów działania tej grupy kwasów tłuszczowych w zaplanowanym modelu badawczym zbadano także wpływ zastosowanej suplementacji na aktywność enzymów katalizujących przemiany wielonienasyconych kwasów tłuszczowych – $\Delta 6$ - i $\Delta 5$ -desaturazy oraz powstawanie lipoksygenazowych metabolitów tychże.

Badania z wykorzystaniem samic szczurów szczepu Sprague-Dawley, które jeszcze nigdy nie rodziły, pochodzących z Pracowni Zwierząt Laboratoryjnych Katedry i Zakładu Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, przeprowadzono po uzyskaniu zgody II Lokalnej Komisji Etycznej ds. Badań na Zwierzętach w Warszawie (38/2009). W trakcie trwania eksperymentu wszystkie zwierzęta miały zapewniony ciągły dostęp do wody i paszy (pasza hodowlana Labofeed H) oraz przebywały w pomieszczeniu o stałej wilgotności i temperaturze (21 °C), w którym zachowano 12-godzinny cykl światła i ciemności.

Po tygodniowym okresie adaptacji samice z pokolenia Fo (matczyne) zostały losowo przyporządkowane do jednej z dwóch grup eksperymentalnych. Grupa kontrolna otrzymywała sondą dożołądkową olej roślinny w ilości 0,15 ml/dzień, zaś grupa badana - preparat Bio-C.L.A. w ilości tożsamej, zawierający mieszaninę kwasów tłuszczowych, w której dwa główne izomery CLA stanowiły odpowiednio: $31,4 \pm 0,0\%$ (*cis*-9, *trans*-11 CLA) i $33,3 \pm 0,1\%$ (*trans*-10, *cis*-12). Suplementacja diety była prowadzona przez 10 dni przed pierwszym kojarzeniem, podczas ciąży i karmienia, aż do momentu odłączenia potomstwa w jego 30. dniu życia. Dieta samców z pokolenia Fo nie była w żaden sposób modyfikowana. Z uzyskanego potomstwa w dalszym eksperymencie zostały wykorzystane jedynie samice potomne (F1). Zostały one w obrębie stosowanych grup suplementacji losowo podzielone na dwie podgrupy, z których jedna była dalej suplementowana odpowiednio olejem roślinnym lub preparatem CLA w ilości 0,15 ml/dzień, zaś dieta drugiej podgrupy nie była w żaden sposób modyfikowana i zwierzęta spożywały standardową dietę (pasza hodowlana Labofeed H) i wodę w ilości *ad libitum*. U wszystkich zwierząt proces nowotworowy w obrębie gruczołów sutkowych był stymulowany poprzez podanie sondą dożołądkową 7,12- dimetylobenz[a]antracenu (DMBA) w dawce 80 mg/kg.m.c. w postaci zawiesiny w oleju roślinnym lub preparacie Bio-C.L.A. Eksperyment zakończono po 21 tygodniach prowadzenia suplementacji zwierząt potomnych.

Modele kancerogenezy chemicznie indukowanej u szczurów są od lat powszechnie stosowane w badaniach dotyczących samego procesu nowotworzenia jak i w badaniach nad sposobem prewencji czy leczenia tych schorzeń. Wśród najczęściej stosowanych kancerogenów

chemicznych można wymienić: 1-metylo-1-nitrozomocznik; 7,12-dimetylobenz[a]antracen; dietylnitrozoaminę i azoksymetan [11]. Pojedyncze dożołądkowe podanie DMBA szczególnie efektywnie indukuje powstawanie guzów sutka u młodych samic szczurów szczepu Sprague-Dawley, gdyż związek ten szczególnie silnie oddziałuje na gwałtownie proliferujące komórki w zakończeniach zrazików, w gruczołach sutkowych, tworząc w nich addukty z DNA, przez co współdziała w ich transformacji nowotworowej [12]. W mikrosomach wątrobowych szczurów DMBA jest metabolizowane do różnorodnych produktów, takich jak: DMBA-*trans*-5,6-diol, DMBA-*trans*-8,9-diol, 7-hidroksymetylo-12-MBA, 7-metylo-12-hidroksy-MBA, 2-hidroksy-DMBA, 4-hidroksy-DMBA i DMBA-*trans*-3,4-diol. Powstawanie ich jest metabolizowane przez różne izoformy cytochromu P450 [13]. Na poziomie gruczołu sutkowego DMBA działa poprzez swe metabolity, powstające zarówno w wątrobie jak i w gruczołach sutkowych, z których najistotniejszym jest 3,4-dihydrodiol-1,2-epoksyd, wykrywany przed wystąpieniem adduktów z DNA [12]. Aktywne metabolity DMBA, wiążąc się kowalencyjnie z DNA, powodują aktywację protoonkogenów, co jest jednym z możliwych mechanizmów działania DMBA. Metabolity te mogą także tworzyć addukty z białkami, przez co wpływają na wiele procesów komórkowych [13]. Efektywność działania DMBA zależy w dużej mierze od poziomu hormonów [11], zwłaszcza estrogenów [12] oraz aktywności układu immunologicznego [11]. W badaniach Ma i wsp. [14], wszystkie guzy sutka wyindukowane przez podanie 7,12-dimetylobenz[a]antracenu zawierały receptory estrogenowe α . Podanie zwierzętom potomnym czynnika kancerogennego skutkowało występowaniem guzów nowotworowych gruczołów sutkowych, które zostały zidentyfikowane w badaniu histopatologicznym jako gruczolakoraki sutka [A4]. Inne prace prowadzone w Katedrze i Zakładzie Bromatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z zastosowaniem tożsamego modelu kancerogenezy także prowadziły do pojawienia się u zwierząt eksperymentalnych gruczolakoraków sutka [15, 16]. Zapadalność na te nowotwory w podgrupach suplementowanych sprzężonymi dienami kwasu linolowego była istotnie niższa, niż w podgrupach otrzymujących dietę wzbogaconą w olej roślinny ($p = 0,0322$) i wynosiła jedynie 25% w podgrupie poddanej suplementacji dwuetapowej i 33% w podgrupie poddanej jednoetapowej suplementacji CLA. Niezwykle interesujące jest występowanie bardzo efektywnego hamowania procesu kancerogenezy w podgrupie poddanej suplementacji CLA jedynie na etapie życia płodowego, poprzez wzbogacanie diety matek w te kwasy tłuszczowe, w której takie parametry, jak masa guzów, czy ich ilość, były porównywalne lub niekiedy nawet niższe, niż w grupie poddanej dwuetapowej suplementacji CLA. Co więcej, guzy występujące w obu podgrupach otrzymujących CLA były mniej liczne oraz zdecydowanie mniejsze niż guzy, które wystąpiły w podgrupach kontrolnych [A4].

Oznaczenie profilu kwasów tłuszczowych w analizowanym materiale przeprowadzono techniką chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną. Kwasy tłuszczowe

estryfikowano do estrów metylowych przy użyciu 14% roztworu trifluorku boru w metanolu [17]. Warunki analizy: chromatograf gazowy Shimadzu GC-17A, kolumna BPX70 (60 m; 0,25 mm ID; 0,2 μ m grubość filmu; SGE); gaz nośny - Hel przy ciśnieniu 300 kPa, liniowa; prędkość 27,5 cm/s przy 140°C; temperatura komory nastrzykowej: 250 °C; temperatura detektora: 270°C; program temperaturowy pracy kolumny: 140°C przez 1 min, wzrost o 20°C/min do 200°C, 200°C przez 20 min, wzrost o 5°C/min do 220°C, 220°C przez 25 min; czas trwania analizy: 53 min.

Zastosowanie dwuetapowej suplementacji diety preparatem zawierającym sprzężone dieny kwasu linolowego w zdecydowany sposób wpłynęło na zmianę profilu kwasów tłuszczowych, zarówno w surowicy krwi [A4], w wątrobie, mikrosomach wątrobowych [A5], jak i w guzach nowotworowych [A4]. Wśród licznych zmian w materiale pochodzącym od tej podgrupy zwierząt obserwowano zwiększenie udziału procentowego w puli kwasów tłuszczowych kwasu dokozaheksaenowego oraz zmniejszenie udziału kwasu linolowego. Dotyczyło to wszystkich analizowanych próbek poza guzami nowotworowymi, w przypadku których tendencja była odwrotna. Gruczołakoraki sutka, które rozwinęły się u tych zwierząt, charakteryzował najwyższy udział kwasu linolowego oraz niski udział kwasu dokozaheksaenowego [A4].

Mimo, iż w używanym preparacie udział obu izomerów CLA wynosił łącznie ponad 60% i występowały one w porównywalnych ilościach (stosunek 1:1), ich ilość wbudowywana do organizmów zwierząt potomnych była niewielka. Co więcej, zawartość izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA znacznie przewyższała udział izomeru *trans*-10, *cis*-12 CLA w puli kwasów tłuszczowych. W największej ilości wystąpiły one oczywiście w materiale pobranych od zwierząt poddanych dwuetapowej suplementacji, jednak ich udział w całkowitej puli kwasów tłuszczowych nie przekroczył 1,0%. Udział procentowy kwasu *cis*-9, *trans*-11 CLA, wśród innych kwasów tłuszczowych, wyniósł odpowiednio $0,2 \pm 0,1\%$ w wątrobach, $0,2 \pm 0,0\%$ w mikrosomach wątrobowych i $0,3 \pm 0,1\%$ w surowicy krwi, zaś największe jego stężenie oznaczono w guzach nowotworowych, w których wyniosło ono $0,7 \pm 0,2\%$. Podobnie kwas *trans*-10, *cis*-12 CLA w największych ilościach wystąpił w gruczołakorakach sutka ($0,3 \pm 0,0\%$), a w pozostałym materiale jego udział był znikomy i nie przekroczył 0,1% [A4, A5]. Wykazano silną negatywną korelację pomiędzy poziomami obu oznaczonych izomerów CLA, a poziomami kwasu linolowego i kwasu eikozapentaenowego w surowicy krwi oraz silną dodatnią korelację pomiędzy poziomami obu izomerów CLA, a poziomami kwasu arachidonowego. Zawartość izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA była mocniej skorelowana z poziomami kwasu arachidonowego, podczas gdy udział izomeru *trans*-10, *cis*-12 CLA wyraźniej korelował z poziomami kwasu linolowego [A10].

Wątroba jest narządem kluczowym dla metabolizmu lipidów. Produkuje żółć, której główną funkcją jest ułatwianie jelitowej absorpcji lipidów i substancji rozpuszczalnych w tłuszczach

[18]. Jest miejscem biosyntezy, degradacji i przemian wolnych kwasów tłuszczowych, biosyntezy lipoprotein osocza (LDL - lipoproteiny o niskiej gęstości, VLDL - lipoproteiny o bardzo niskiej gęstości, HDL - lipoproteiny o wysokiej gęstości), cholesterolu oraz fosfolipidów [19]. Enzymami zaangażowanymi w transformację kwasów tłuszczowych są m.in. deaturazy, które katalizują reakcje wbudowania wiązania podwójnego do łańcucha węglowego kwasów tłuszczowych, jednak ich aktywność limitowana jest pozycją $\Delta 9$, dlatego kwas linolowy i α -linolenowy nie mogą być syntezowane w organizmie i muszą być dostarczane z dietą [20]. Zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w tkankach zależy zarówno od ich podaży z dietą, jak i od przemian, jakim ulegają w organizmie. Aktywność $\Delta 6$ - i $\Delta 5$ -desaturazy (E.C 1.14.19) jest głównym czynnikiem kontrolującym konwersję kwasu linolowego do kwasu arachidonowego i może ona zależeć od wielu czynników, zwłaszcza dietetycznych [21-23]. Ze względu na podobieństwo w budowie CLA mogą konkurować z innymi kwasami tłuszczowymi w szlakach metabolicznych, a także wpływać na aktywność enzymów katalizujących te przemiany.

Poza oznaczeniem profilu kwasów tłuszczowych w wątrobie i w mikrosomach wątrobowych zwierząt oznaczono także w sposób pośredni aktywność $\Delta 6$ - i $\Delta 5$ -desaturazy poprzez pomiar ilości kwasu arachidonowego powstającego *in vitro* z kwasu linolowego pod działaniem enzymów obecnych we frakcji mikrosomalnej wątroby oraz wyznaczono indeksy aktywności tych enzymów, będące stosunkiem stężenia produktu do substratu. Zawartość kwasów tłuszczowych w postaci estrów metylowych oznaczono techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV/VIS (chromatograf Merck Hitachi, pompa L-7100, kolumna YMC-Pack ODS-AM S-5 μm , temperatura pracy kolumny: 30°C, detektor L-74200, $\lambda=198\text{ nm}$).

Najwyższą aktywność enzymów, wyrażoną za pomocą wszystkich trzech parametrów, stwierdzono w przypadku podgrupy kontrolnej, którą poddano dwuetapowej suplementacji diety olejem roślinnym. W obu podgrupach suplementowanych sprzężonymi dniami kwasu linolowego obserwowano istotnie niższy przyrost zawartości kwasu arachidonowego i niższą aktywność indeksu $\Delta 6$ -desaturazy, co potwierdza hamowanie przez sprzężone dniy kwasu linolowego aktywności tego enzymu [A5]. Sprzężone dniy kwasu linolowego mogą być wbudowywane do fosfolipidów błonowych i do lipidów neutralnych zamiast kwasu linolowego, co z kolei ogranicza dostępność substratów z rodziny n-6. Jednocześnie CLA wpływa na metabolizm kwasu linolowego poprzez konkurowanie o enzymy kontrolujące przemiany obu związków, co prowadzi do zmniejszenia ilości metabolitów kwasu linolowego: kwasu arachidonowego i powstających z niego eikozanoidów, m.in. prostaglandyny E2. Podobne wyniki uzyskali inni badacze. Bretillon i wsp. [24] obserwowali hamowanie aktywności $\Delta 6$ -desaturazy

przez dwa główne izomery CLA, zaś Thijssen i wsp. [25] potwierdzili to działanie w badaniach *in vivo*, w których podobnie jak my nie stwierdzili wpływu stosowania mieszaniny izomerów CLA na aktywność $\Delta 5$ -desaturazy. Wyniki wielu prowadzonych badań dowiodły, że CLA wpływa na szlak przemian kwasów tłuszczowych na szlaku cyklooksygenazy powodując m.in. zmniejszenie stężenia tromboksanu A₂ i prostaglandyny E₂ [26], hamując ekspresję mRNA COX-2 [27] i regulując ekspresję białka EP2 [28].

Poza dobrze znanymi eikozanoidami powstającymi z wielonienasyconych kwasów tłuszczowych na szlaku działania cyklooksygenazy, coraz większe znaczenie w przebiegu różnorodnych stanów patologicznych, w tym w procesie kancerogenezy odgrywają metabolity powstające na szlakach działania lipooksygenazy. Zaliczamy do nich kwasy 15-, 12- i 5-hydroksyeikozatetraenowe (15-, 12-, 5-HETE) powstające z kwasu arachidonowego, kwasy 15-, 12- i 5-hydroksyeikozapentaenowe (15-, 12- i 5-HEPE) powstające z kwasu eikozapentaenowego i kwasy 13- i 9-hydroksyoktadekadienowe (13- i 9-HODE) powstające z kwasu linolowego. Ich działanie biologiczne w przebiegu procesu kancerogenezy jest zróżnicowane i może dotyczyć prawie każdego etapu tego procesu. Podwyższone poziomy 12- i 5-HETE oznaczone w komórkach nowotworowych przyczyniały się do pobudzenia proliferacji, angiogenezy i zdolności do tworzenia przerzutów [29-31]. Postanowiono zbadać, w jaki sposób zmieniają się poziomy tych metabolitów w przeprowadzonym eksperymencie badawczym w próbkach surowicy i guzów nowotworowych.

Zawartość HETE, HEPE i HODE oznaczono po uprzedniej ich ekstrakcji z materiału biologicznego do fazy stałej (SPE) techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją UV/VIS w układzie faz odwróconych, wykorzystując kolumnę Nucleosil C18 100-5 (4,6 mm x 250 mm, Macherey-Nagel) i przedkolumnę (Nucleosil 100-5, 4,6 mm x 8 mm, Macherey-Nagel). Wykorzystano zestaw Shimadzu złożony z pompy LC-10AS, detektora UV/VIS SPD-10AV i pieca CT0-10AS. Analizę przeprowadzono w temperaturze 30°C przy izokratycznym przepływie fazy ruchomej metanol-woda-kwas octowy (75:25:0,01) z prędkością 0,8 ml/min i detekcji przy $\lambda = 235$ nm.

Najwyższe poziomy metabolitów kwasu linolowego – HODE oznaczono w surowicy podgrupy suplementowanej dwuetapowo olejem roślinnym, podczas gdy w guzach nowotworowych sutka ich zawartość była znacząco wyższa w przypadku materiału pobranego od zwierząt należących do obu podgrup suplementowanych CLA. Najwyższe poziomy głównego metabolitu kwasu arachidonowego, tj. 12-HETE oznaczono w surowicy obu podgrup otrzymujących CLA w diecie. Nie stwierdzono jednak żadnej korelacji pomiędzy poziomami tego metabolitu a poziomami izomerów CLA w surowicy. Podobna sytuacja wystąpiła w przypadku drugiego z metabolitów kwasu arachidonowego – 15-HETE, zaś pomiędzy poziomami 5-HETE

w surowicy a poziomami izomeru trans-10, cis-12 wykazano istotną statystycznie pozytywną korelację. Zbadano także wpływ CLA na stosunek dwóch eikozanoidów o przeciwstawnym działaniu, 12-HETE/15-HETE i stwierdzono wyższe poziomy tego parametru w przypadku podgrup suplementowanych olejem roślinnym w porównaniu do grup suplementowanych CLA. Co więcej, odnotowano wyraźną negatywną korelację pomiędzy tym parametrem a poziomami obu oznaczonych w surowicy izomerów CLA. Poziomy metabolitów kwasu linolowego i kwasu arachidonowego były niższe w guzach nowotworowych podgrup suplementowanych olejem roślinnym, co może być wynikiem szybszego metabolizmu HETE i HODE w tych grupach do ich dalszych pochodnych [A10].

Wyniki uzyskane w tym eksperymencie wyraźnie potwierdzają, że sposób żywienia matki ma duże znaczenie dla stanu zdrowia jej dziecka. Co więcej, wydaje się, że zapewnienie odpowiedniej podaży sprzężonych dienów kwasu linolowego już na etapie życia płodowego i okresu niemowlęcego może mieć wyraźne przełożenie na zmniejszenie ryzyka rozwoju chorób nowotworowych w późniejszym okresie życia. Biorąc pod uwagę możliwe mechanizmy działania tej grupy kwasów tłuszczowych uzyskane wyniki potwierdzają, że jednym z nich jest konkurencja izomerów CLA z wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi oraz wpływ na ich metabolizm, zarówno poprzez hamowanie aktywności $\Delta 6$ -desaturazy, jak i poprzez wpływ na produkcję eikozanoidów na szlaku lipoksygenazy. Uzyskane wyniki wydają się na tyle interesujące, iż planowane są kolejne eksperymenty wpisujące się w koncepcję programowania rozwojowego, tym razem w kierunku zbadania potencjalnych możliwości zastosowania sprzężonych trienów kwasu linolenowego (CLnA).

Sprężone trieny kwasu linolenowego (conjugated linolenic acids - CLnA) nazywane są niekiedy „super CLA”. Są one izomerami kwasu oktadekatrienowego (C18:3), w których występuje układ sprzężonych trzech wiązań podwójnych, zlokalizowanych najczęściej w pozycjach 9, 11, 13 lub 8, 10, 12 łańcucha węglowego. Duże ilości tych związków można znaleźć w niektórych olejach roślinnych, gdzie stanowią ponad 60% w całkowitej puli kwasów tłuszczowych[32], dzięki czemu znacznie łatwiej można je wyizolować niż CLA. Do tej grupy kwasów tłuszczowych zaliczamy: kwas α -eleostearynowy (*cis*-9, *trans*-11, *trans*-13 C18:3) występujący w nasionach przepękli ogórkowatej (*Momordica charantia*), tungowca forda (*Aleurites fordii*) i wiśni wonnej (*Prunus mahaleb*), kwas punikowy (nazywany też kwasem punicynowym) (*cis*-9, *trans*-11, *cis*-13 C18:3) występujący w nasionach granatowca właściwego (*Punica granatum*), kwas katalpowy (*trans*-9, *trans*-11, *cis*-13 C18:3) występujący w nasionach surmii żółtokwiatowej (*Catalpa ovata*), kwas kalendulowy (*trans*-8, *trans*-10, *cis*-12 C18:3) występujący w nasionach nagietka zwyczajnego (*Callendula officinalis*) i kwas jakarandowy (*cis*-8, *trans*-10, *cis*-12 C18:3) występujący w nasionach jakarandy mimozolistnej (*Jacaranda*

mimosifolia) [A6]. W pracy przeglądowej pt. „Sprzężone trieny kwasu linolenowego (conjugated linolenic acid – CLnA, super CLA) – źródła i działanie biologiczne” [A6] dokonano przeglądu piśmiennictwa naukowego dotyczącego właściwości biologicznych sprzężonych trienów kwasu linolenowego pod kątem możliwości ich zastosowania w prewencji czy leczeniu chorób. CLnA mogą okazać się w przyszłości pomocne w prewencji i zwalczaniu wielu chorób, zwłaszcza cukrzycy, miażdżycy, otyłości, różnych typów nowotworów, w tym nowotworów sutka, prostaty czy jelita grubego. Interesujący jest także fakt, że na japońskiej wyspie Okinawa, słynącej z jednej z najwyższych średnich długości życia na świecie, spożycie przepękli ogórkowatej, bogatej w kwas α -eleostearynowy jest bardzo duże. Niektórzy badacze wiążą ze sobą te dwa fakty [32], co sugeruje kolejny kierunek badań dla tej grupy kwasów tłuszczowych, nad możliwym działaniem opóźniającym procesy starzenia.

Spośród wielu potencjalnych mechanizmów działania kwasów CLnA, niezwykle ważnym wydaje się być fakt, iż niektóre z nich mogą ulegać przekształceniu za pomocą odpowiednich oksydoreduktaz do CLA. Przykładowo kwas α -eleostearynowy może ulec uwodornieniu w pozycji 13, co spowoduje przekształcenie go w izomer *cis*-9, *trans*-11 CLA. Podobnej reakcji ulega kwas punikowy, który również ulega konwersji do *cis*-9, *trans*-11 CLA [32]. W badaniach *in vivo* wykazano, że tego typu reakcje zachodzą w nerkach, wątrobie, gruczole sutkowym i jelicie [33]. Udowodniono również, że ich szybkość jest największa, gdy wiązanie podwójne przy węglu 13. izomeru CLnA ma konfigurację *trans*.

Biorąc pod uwagę fakt, iż odpowiednie skomponowanie diety, aby uzyskać adekwatną dla spodziewanego efektu podaż CLA, jest zadaniem niezwykle trudnym, interesującą alternatywą wydaje się być zastosowanie w diecie olejów zawierających CLnA, które to kwasy występują w nich w znacznie większych ilościach niż CLA w produktach pochodzących od zwierząt poligastrycznych.

Spośród roślin będących źródłami sprzężonych trienów kwasu linolenowego dwie: przepękla ogórkowata i granatowiec właściwy są od Starożytności stosowane, jako rośliny jadalne i lecznicze. Przepękla ogórkowata (Balsamka ogórkowata) jest rośliną należącą do rodziny *Cucurbitaceae*. Występuje na terenie południowej-wschodniej Azji, w Ameryce Południowej, Ameryce Środkowej i we wschodniej części Afryki [32]. Znana jest pod różnymi nazwami angielskimi: bitter melon, bitter gourd, balsam pear, bitter apple, bitter cucumber, African cucumber, wild cucumber lub karela [34]. Przepękla ogórkowata jest rośliną całoroczną, rośnie w klimacie tropikalnym, na terenach nizinnych. Do celów kulinarnych wykorzystuje się głównie niedojrzałe owoce, których gorzki smak można usunąć poprzez moczenie w słonej wodzie i następnie: gotowanie, marynowanie lub smażenie [35]. W tradycyjnej medycynie chińskiej i indyjskiej wykorzystywane są głównie liście, suszone i świeże owoce lub świeży sok,

jako surowce o działaniu przeciwzapalnym, przeciwbakteryjnym, przeciwnowotworowym, przeciwwrzodowym i przeciwcukrzycowym [36]. Ponadto dostępne są także kapsułki ze zliofilizowanymi częściami rośliny [37], w której stwierdza się obecność flawonoidów, glikozydów (m.in. charantyny i momordyny), polifenoli, karotenoidów i witaminy C. Olej pozyskiwany z nasion jest bogaty w kwas α -eleostearynowy, którego zawartość wynosi ponad 50% [38].

Granatowiec właściwy należy do rodziny *Punicaceae*. Wywodzi się z południowo-wschodniej części Europy, ale obecnie spotykany jest na większości terenów tropikalnych i subtropikalnych [39]. Najczęściej spożywany jest świeży, ale może być też wykorzystywany do produkcji soków, win, likierów. Zastosowanie w lecznictwie znajduje zarówno świeży, jak i przetworzony sok z owocu granatu, dla którego wykazano działanie antyoksydacyjne oraz przeciwzapalne, wynikające z hamowania aktywności mediatorów stanu zapalnego: cyklooksygenaz i lipooksygenaz, będące efektem obecności w dużej ilości w soku flawonoidów, antocyjanów oraz kwasów fenolowych. Kora granatowca, będąca źródłem garbników i alkaloidów, wykazuje działanie przeciwpasożytnicze, a ekstrakt z kwiatów oraz olej z nasion wykazują działanie hipoglikemizujące [40]. Nasiona są bogate w wielonienasycone kwasy tłuszczowe, spośród których w największej ilości występuje kwas punikowy.

Wyniki wielu badań wskazują na korzystny wpływ na stan zdrowia preparatów leczniczych pozyskanych z tych roślin [A4]. Ponadto, szeroko dostępne na świecie są również suplementy diety oparte na tych składnikach. Doniesienia o prozdrowotnym działaniu przepękli, czy granatowca, oparte są na wynikach stosowania ich oddzielnie, nie ma zaś doniesień o efektach ich łącznego, jednoczesnego stosowania, podczas gdy coraz częściej w dyskusji naukowej podnosi się fakt zagrożenia dla zdrowia wynikający z jednoczesnego stosowania kilku suplementów diety. Wszystkie te przesłanki skłoniły mnie do przeprowadzenia eksperymentu mającego za cel nadrzędny zweryfikowanie, czy stosowanie oleju z nasion granatowca i wodnego ekstraktu z suszonych owoców przepękli ogórkowatej – dwóch preparatów dostępnych w handlu detalicznym w Polsce, oddzielnie lub razem, może wywierać korzystny efekt na organizm i czy nie wiąże się z zagrożeniem dla zdrowia. Według mojego stanu wiedzy był to pierwszy tego typu eksperyment, którego wyniki zostały opublikowane.

Badania z wykorzystaniem szczurów, jako organizmów modelowych, przeprowadzono po uzyskaniu zgody II Lokalnej Komisji Etycznej ds. Badań na Zwierzętach w Warszawie (56/2013). Samice szczurów szczepu Sprague-Dawley (n=48) po przywiezieniu do zwierzętarni w 30 dniu życia i po 7-dniowym okresie adaptacji zostały losowo przyporządkowane do jednej z 4 grup badawczych:

- K (n=12) – grupa kontrolna; zwierzęta otrzymywały paszę Labofeed H i wodę *ad libitum*;
- M (n=12) – zwierzęta otrzymywały paszę Labofeed H i wodny 2% (w/v) ekstrakt z suszonych owoców przepętkli ogórkowatej *ad libitum*;
- G (n=12) – zwierzęta otrzymywały paszę Labofeed H i wodę *ad libitum* a ponadto ich dieta była wzbogacana w olej z nasion granatowca właściwego podawany w ilości 0,15 ml/dzień sondą dożołądkową;
- G+M (n=12) - zwierzęta otrzymywały paszę Labofeed H i wodny 2% (w/v) ekstrakt z suszonych owoców przepętkli ogórkowatej *ad libitum* a ponadto ich dieta była wzbogacana w olej z nasion granatowca właściwego, podawany w ilości 0,15 ml/dzień sondą dożołądkową.

Ekstrakt z owoców przepętkli ogórkowatej przygotowywano codziennie, wg. wskazań na opakowaniu, dodając do odważonej ilość suszu (Tra Kho Qua, Gohyah Tea, CTE JSCO), zakupionego w handlu detalicznym, wodę o temp. 80°C w ilości odpowiedniej do uzyskania 2% ekstraktu. Po 10 minutach ekstrakt filtrowano i po osiągnięciu temperatury otoczenia podawano zwierzętom do picia. Olej z nasion granatowca właściwego, tłoczony na zimno, nierafinowany, zakupiono w handlu detalicznym. Wykonanie oznaczeń profilu kwasów tłuszczowych wykazało, że dominujący udział w nim miał kwas punikowy, który stanowił $32,7 \pm 1,6\%$ wszystkich kwasów tłuszczowych.

Suplementacja diety była prowadzona przez 21 tygodni. Ponadto, czterokrotnie w ciągu trwania badania (0, 7, 14, 21. tydzień), u sześciu zwierząt z każdej grupy, dokonano na czczo pomiaru stężenia cholesterolu całkowitego, frakcji HDL, frakcji LDL oraz triglicerydów, a także pomiaru glukozy we krwi żyłnej, pobranej z żyły ogonowej. W przebiegu cukrzycy wahaniom poziomu glukozy zazwyczaj towarzyszą też zaburzenia profilu lipidowego, ponieważ utrudnionemu transportowi glukozy do wnętrza komórek towarzyszy wzrost poziomu lipidów krążących we krwi. Pomiar wykonano za pomocą analizatora CardioChek™ P.A., przy użyciu pasków testowych Lipid Panel Test Strips (RedMed Poland Sp. z o.o.) i Glucose Test Strips (RedMed Poland Sp. z o.o.). U wszystkich zwierząt w surowicy krwi, pozyskanej *post mortem* po dekapitacji, w 21. tygodniu eksperymentu, oznaczono również profil kwasów tłuszczowych techniką chromatografii gazowej oraz poziom lipoksygenazowych metabolitów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (HETE, HODE i HEPE), techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej po ich uprzedniej ekstrakcji do fazy stałej (SPE).

Podjęta suplementacja diety nie wpłynęła negatywnie na ogólną kondycję i stan zdrowia zwierząt. U wszystkich suplementowanych zwierząt przyrost masy podczas eksperymentu był istotnie wyższy, niż w grupie kontrolnej [A8, A12]. Wykazano ponadto wyraźny wpływ

stosowania oleju z nasion granatowca na bezwzględną masę poszczególnych narządów, co nie potwierdziło się jednak po odniesieniu jej do masy ciała.

Grupa kontrolna charakteryzowała się najwyższym stężeniem glukozy na czczo na początku eksperymentu, które to stężenie malało z upływem czasu. Spożycie wodnego ekstraktu z suszonych owoców przepętkli ogórkowatej przez zwierzęta z grupy M nieznacznie obniżało stężenia glukozy na czczo podczas gdy olej z nasion granatowca wykazywał działanie antagonistyczne. Dowodzą tego zwłaszcza wyniki uzyskiwane dla grupy G+M, gdzie zastosowano suplementację dwoma preparatami łącznie [A8].

Nie stwierdzono, aby wprowadzenie do diety wodnego ekstraktu z suszonych owoców przepętkli wywierało korzystny wpływ na profil lipidowy krwi, gdyż wyniki dotyczące badanych parametrów w grupie M nie odbiegały znacząco od wyników uzyskanych dla grupy kontrolnej. Wprowadzenie do diety szczurów oleju z granatowca korzystnie wpływało na poziom cholesterolu całkowitego, który był istotnie niższy, niż w pozostałych grupach badawczych już w 14. ($p = 0,0106$) i w 21. tygodniu ($p=0,0143$) trwania eksperymentu. Podobną tendencję, choć mniej wyraźną obserwowano w przypadku grupy G+M. Stężenie triglicerydów wyraźnie wzrastało wraz z wiekiem zwierząt w grupie K, podczas gdy podawanie szczurom oleju z granatowca już od 14. tygodnia wyraźnie obniżało to stężenie, w porównaniu do grupy kontrolnej i grupy otrzymującej do picia jedynie wodny ekstrakt z owoców przepętkli ($p = 0,0006$ i $p < 0,0001$). Podobny efekt, choć nie tak wyraźny, obserwowano w przypadku grupy G+M. Zastosowanie w suplementacji diety szczurów oleju z granatowca w połączeniu z wodnym ekstraktem z owoców przepętkli korzystnie wpływało na poziom frakcji HDL, której stężenie było najwyższe w grupie G+M już w 14. i 21. tygodniu eksperymentu. Niestety, zastosowanie do wzbogacenia diety jedynie oleju z granatowca wyraźnie obniżało stężenie frakcji HDL w porównaniu do innych grup, co jest efektem wyraźnie niekorzystnym. W przypadku frakcji LDL obserwowano niezwykle duże wahania jej poziomów we wszystkich grupach badawczych [A7, A8]. Należy jednak podkreślić, że w kontekście analizowanych parametrów nie obserwowano synergistycznego oddziaływania badanych dwóch rodzajów suplementów, wręcz przeciwnie – część wyników wskazuje na ich działanie antagonistyczne.

Wyniki dotyczące profilu kwasów tłuszczowych i lipoksygenazowych metabolitów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych również częściowo potwierdzają tą obserwację. Przeciwnie działanie wodnego ekstraktu z suszonych nasion przepętkli ogórkowatej i oleju z nasion granatowca właściwego obserwowano m.in. w przypadku nasyconych kwasów tłuszczowych i kwasu linolowego, którego udział w całkowitej puli kwasów tłuszczowych olej z nasion granatowca wyraźnie zmniejszał, a wyciąg z owoców przepętkli ogórkowatej – zwiększał. W odniesieniu do lipoksygenazowych metabolitów kwasu linolowego (HODE) ich

najwyższy poziom stwierdzono również w grupie M, podczas gdy w grupach otrzymujących olej z nasion granatowca te poziomy były nieco niższe. Największy udział kwasu arachidonowego w puli kwasów tłuszczowych oznaczono w surowicy szczurów otrzymujących jedynie olej z nasion granatowca, istotnie większy niż w surowicy grupy kontrolnej ($p = 0,0002$). Podobnie w przypadku jego lipoksygenazowego metabolitu (12-HETE), oznaczanego w surowicy w najwyższych stężeniach, olej z nasion granatowca, zarówno podawany pojedynczo jak i łącznie z wodnym ekstraktem z owoców przepekli, wyraźnie zwiększał jego poziom ($p = 0,0277$). Co więcej, suplementacja diety zwierząt olejem z nasion granatowca prowadziła do obniżenia udziału kwasu eikozapentaenowego w puli kwasów tłuszczowych oraz jednego z jego metabolitów (15-HEPE), podczas gdy w przypadku 12-HEPE efekt był przeciwny. Analizując korelacje stężeń oznaczonych kwasów tłuszczowych i ich metabolitów w surowicy w poszczególnych grupach również można wnioskować o przeciwstawnym działaniu badanych preparatów, gdyż np. w grupie otrzymującej olej z nasion granatowca wystąpiła wyraźna ujemna korelacja między stężeniem 12-HEPE a stężeniem kwasu α -linolenowego ($r = -0,69$, $p = 0,0126$), zaś w grupie otrzymującej wodny wyciąg z suszonych nasion przepekli ogórkowatej, ta zależność miała charakter pozytywny ($r = 0,60$, $p = 0,0386$) [A12].

W zastosowanych układach dietetycznych nie stwierdzono obecności izomerów CLA. W diecie dwóch grup suplementowanych olejem z nasion granatowca (G i G+M) wykryto obecność kwasu punikowego, który stanowił $6,6 \pm 0,2\%$ wszystkich obecnych kwasów tłuszczowych oraz stwierdzono dość znaczne zawartości dwóch niezidentyfikowanych kwasów tłuszczowych, których udział wynosił odpowiednio $3,4 \pm 0,1\%$ i $3,5 \pm 0,2\%$. Na tym tle niezwykle interesujące wydają się być wyniki dotyczące udziału sprzężonych kwasów tłuszczowych w surowicy krwi badanych zwierząt. Obecność kwasu punikowego stwierdzono jedynie w próbkach surowicy z grupy G, suplementowanej wyłącznie olejem z nasion granatowca właściwego, zaś jego udział procentowy w puli kwasów tłuszczowych był niewielki i wynosił jedynie $0,98 \pm 0,53\%$. Obecność izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA stwierdzono w próbkach surowicy wszystkich grup, jednak w grupie kontrolnej udział tego kwasu tłuszczowego w całkowitej puli kwasów tłuszczowych był minimalny. W grupie G, której dieta była wzbogacana w olej z nasion granatowca, udział tego izomeru CLA nieznacznie przewyższał jego zawartość w grupie kontrolnej i wynosił $0,34 \pm 0,19\%$. Najwyższy poziom kwasu *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowego oznaczono w próbkach surowicy grupy M, otrzymującej jedynie wodny ekstrakt z suszonych owoców przepekli ogórkowatej ($1,81 \pm 0,44\%$). Poziom ten był znamienne wyższy niż wspomniane wcześniej poziomy w grupach K i G. Jest to wynik dość zaskakujący, biorąc pod uwagę fakt iż dieta tej grupy nie zawierała ani kwasu *cis*-9, *trans*-11 CLA ani kwasu punikowego. Jest to pierwsze tego typu doniesienie mówiące o takim wpływie ekstraktu wodnego z suszonych owoców przepekli ogórkowatej. Mimo, iż owoce przepekli ogórkowatej zawierają

znaczne ilości kwasu α -eleostearynowego, który może ulegać przemianom do kwasu *cis*-9, *trans*-11 CLA w reakcji zależnej od NADPH [32, 41], trudno jest oczekiwać znacznych ilości tego kwasu tłuszczowego w wodnym wyciągu z suszonych owoców. Uzyskane wyniki wskazują jednak, że pewne ilości tego kwasu mogą być w nim obecne oraz, że inne związki biologicznie aktywne mogą wpływać na profil kwasów tłuszczowych w surowicy krwi, w tym na poziomy izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA [A12].

Ze względu na pionierski charakter uzyskanych wyników zasadnym wydaje się podjęcie i prowadzenie dalszych badań, zwłaszcza z wykorzystaniem innych modeli badawczych, ze szczególnym uwzględnieniem działania tych produktów w stanach patologicznych, takich jak proces nowotworowy, miażdżyca czy cukrzyca, gdyż prewencja tego typu schorzeń jest często powodem stosowania suplementów diety pozyskanych z tych składników. Być może okaże się konieczne wprowadzenie pewnych ograniczeń, dotyczących jednoczesnego stosowania, zapewniających tym samym bezpieczeństwo ich stosowania.

Wnioski:

- 1). Biorąc pod uwagę bogaty i ciągle rosnący asortyment olejów dostępnych na rynku zasadnym jest prowadzenie badań ich jakości żywieniowej i zdrowotnej, w celu zapewnienia bezpieczeństwa stosowania.
- 2). Ze względu na dużą zawartość jednego spośród sprzężonych kwasów tłuszczowych – kwasu *cis*-9, *trans*-11, *cis*-13 oktadekadienowego (tzw. kwasu punikowego/punicynowego), wykazującego szereg właściwości biologicznych, na szczególną uwagę spośród olejów dostępnych na rynku, zasługuje olej z nasion granatowca właściwego.
- 3). Stosowanie zaawansowanych metod statystycznych i chemometrycznych w analizie bromatologicznej i badaniach na modelach zwierzęcych pozwala na wykrycie subtelnych zależności pomiędzy analizowanymi zmiennymi. Jest to szczególnie istotne i pomocne w poszukiwaniu mechanizmów działania składników diety, w tym sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA) i sprzężonych trienów kwasu linolenowego (CLnA).
- 4). Zapewnienie odpowiedniej podaży sprzężonych dienów kwasu linolowego już na etapie życia płodowego i okresu niemowlęcego może mieć wyraźny wpływ na zmniejszenie ryzyka rozwoju chorób nowotworowych w późniejszym okresie życia. Biorąc pod uwagę możliwe mechanizmy działania tej grupy kwasów tłuszczowych uzyskane wyniki potwierdzają, że jednym z nich jest konkurencja izomerów CLA z wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi w szlakach metabolicznych oraz wpływ na ich metabolizm,

zarówno poprzez hamowanie aktywności $\Delta 6$ -desaturazy, jak i poprzez wpływ na produkcję eikozanoidów na szlaku lipoksygenazy.

- 5). Sprężone dieny kwasu linolowego wpływają na powstawanie lipoksygenazowych metabolitów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, jednak najlepszym wskaźnikiem działania CLA wydaje się być stosunek eikozanoidów o przeciwnym działaniu: 12-HETE/15-HETE, który to parametr negatywnie korelował z poziomami dwóch izomerów CLA: kwasu *cis*-9, *trans*-11 CLA i *trans*-10, *cis*-12 CLA.
- 6). Sprężone trieny kwasu linolenowego (CLnA) po wprowadzeniu do organizmu, jako składniki diety, ulegają przekształceniu za pomocą odpowiednich enzymów do sprężonych dienów kwasu linolowego (CLA) i są wbudowywane do tkanek, a także wykazują działanie biologiczne. Udział CLA w puli kwasów tłuszczowych po spożyciu CLnA jest większy niż po zastosowaniu CLA.
- 7). CLnA spożywany wraz z dietą wpływa na profil lipidowy oraz na poziom glukozy we krwi zwierząt laboratoryjnych.
- 8). Olej z nasion granatowca właściwego i wodny ekstrakt z suszonych owoców przepękli ogórkowatej wyraźnie wpływają na profil kwasów tłuszczowych i na poziomy lipoksygenazowych metabolitów kwasów tłuszczowych w organizmach szczurów, jednak działanie to ma charakter przeciwny.
- 9). Suplementy diety pozyskiwane z roślin będących naturalnymi źródłami CLnA, podawane razem, mogą wykazywać działanie antagonistyczne i dlatego konieczna jest kontynuacja badań, aby możliwe było uzyskanie pełnych efektów prozdrowotnych.

Piśmiennictwo:

- [1] Piramida zdrowego żywienia i aktywności fizycznej. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2016.
- [2] http://www.izz.waw.pl/attachments/article/555/ulotka_z_pytaniami_druk.pdf (pobrano 1.03.2016)
- [3] Ramadan MF, Moersel JT. Screening of the antiradical action of vegetable oils. *Journal of Food Composition and Analysis* 2006; 19: 838-842.
- [4] Syed DB, Afaq F, Mukhtar H. Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. *Seminars in Cancer Biology* 2007; 17: 377-385.
- [5] Mazerski J. *Chemometria praktyczna*. Wydawnictwo MALAMUT, Warszawa, 2009.
- [6] Evans ME, Jonathon MB, McIntosh MK. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2002; 13: 508-516.

- [7] Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research* 2001; 40: 283-298.
- [8] Vyas D, Kadegowda AKG, Erdman RA. Dietary conjugated linoleic acid and hepatic steatosis: species-specific effects on liver and adipose lipid metabolism and gene expression. *Journal of Nutrition and Metabolism* 2012; Article ID 932928, doi: 10.1155/2012/932928.
- [9] World Health Organization: Essential Nutrition Actions. Improving maternal, newborn, infant and young child health and nutrition. WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland 2013.
- [10] Piotrowska I, Zgódką P, Milewska M, Błaszczuk M, Grzelkowska-Kowalczyk K. Programowanie rozwojowe chorób metabolicznych - przegląd wyników badań na zwierzęcych modelach doświadczalnych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 2014, 68: 899-911.
- [11] Macejova D, Brtko J. Chemically induced carcinogenesis: a comparison of 1-methyl-1-nitrosourea, 7,12-dimethylbenzanthracene, diethylnitroso-amine and azoxymethan models (minireview). *Endocrine Regulations* 2001; 35: 53-59.
- [12] Lenoir V, de Jonage-Canonico MBY, Perrin MH, Martin A, Scholler R, Kerdelhue B. Preventive and curative effect of melatonin on mammary carcinogenesis induced by dimethylbenz[a]anthracene in the female Sprague-Dawley rat. *Breast Cancer Research* 2005; 7: R470-R476.
- [13] Miranda CL, Henderson MC, Williams DE, Buhler DR. In vitro metabolism of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene by rainbow trout liver microsomes and trout P450 isoforms. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1997; 142: 123-132.
- [14] Ma DF, Katoh R, Zhou H, Wang PY. Promoting effects of milk on the development of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-induced mammary tumors in rats. *Acta Histochemica et Cytochemica* 2007; 40(2): 61-67.
- [15] Jelińska M, Tokarz A, Olędzka R, Czorniuk-Śliwa A. Effects of dietary linseed, evening primrose or fish oils on fatty acid and prostaglandin E2 contents in the rat livers and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced tumours. *Biochimica et Biophysica Acta* 2003; 1637: 193-199.
- [16] Białek A, Tokarz A, Dudek A, Kazimierska W, Bielecki W. Influence of diet enriched with conjugated linoleic acids on their distribution in tissues of rats with DMBA induced tumors. *Lipids in Health and Disease* 2010; 9: 126.
- [17] Bondia-Pons I, Molto-Puigmarti C, Castellote AI, Lopez-Sabater MC. Determination of conjugated linoleic acid in human plasma by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2007; 1157: 422– 429.
- [18] Ganong WF. *Fizjologia*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2009.
- [19] Nguyen P, Leray V, Diez M, Serisier S, Bloc'h JL, Siliart B, Dumon H. Liver lipid metabolism. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2008; 92: 272–283.
- [20] Achremowicz K, Szary-Sworst K. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe czynnikiem poprawy stanu zdrowia człowieka. *Żywność Nauka Technologia Jakość* 2005; 3(44): 23-35.

- [21] Ebbesson SOE, Lopez-Alvarenga JC, Okin PM, Devereux RB, Tejero ME. Heart rate is associated with markers of fatty acid desaturation: the GOCODAN study. *International Journal of Circumpolar Health* 2012; 71: 17343 doi: 10.3402/ijch.v71i0.17343
- [22] Behrouzian B, Baist PH. Mechanism of fatty acid desaturation: a bioorganic perspective. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2003; 68: 107 -112.
- [23] Wadhvani NS, Manglekar RR, Dangat KD, Kulkarni AV, Joshi SR. Effect of maternal micronutrients (folic acid, vitamin B12) and omega 3 fatty acids on liver fatty acid desaturases and transport proteins in Wistar rats. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2012; 86: 21-27.
- [24] Bretillon L, Chardigny JM, Gregoire S, Berdeaux O, Sebedio JL. Effects of conjugated linoleic acid isomers on the hepatic microsomal desaturation activities in vitro *Lipids* 1999; 34(9): 965-969.
- [25] Thijssen MA, Malpuech-Brugere C, Gregoire S, Chardigny JM, Sebedio JL. Effect of specific CLA isomers on plasma fatty acid profile and expression of desaturases in humans. *Lipids* 2005; 40(2): 137-145.
- [26] Stachowska E, Dolegowska B, Dziedziejko V, Rybicka M, Kaczmarczyk M, Bober J, Rac M, Machalinski B, Chlubek D. Prostaglandin E2 (PGE2) and thromboxane A2 (TXA2) synthesis is regulated by conjugated linoleic acids (CLA) in human macrophages. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2009; 60(1): 77-85.
- [27] Zhang JS, Chen BQ, Gao YH, Yang YM, Wang XL, Song Y, Sun WG. Effects of conjugated linoleic acid on the expression of critical enzymes of linoleic acid metabolism in tumor cell. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, 2005; 39(3): 195-198 (abstract).
- [28] Wang LS, Huang YW, Liu S, Chang HL, Ye W, Shu S, Sugimoto Y, Funk JA, Smeaks DD, Hill LN, Lin YC. Conjugated linoleic acid (CLA) modulates prostaglandin E2 (PGE2) signalling in canine mammary cells. *Anticancer Research* 2006; 26(2A): 889-898.
- [29] Rodríguez-Blanco G, Burgers PC, Dekker LJM, Jzermans JJN, Wildhagen MF, Schenk-Braat EAM, Bangma CH, Jenster G, Luider TM. Serum levels of arachidonic acid metabolites change during prostate cancer progression. *Prostate* 2014; 74: 618-627.
- [30] Tang K, Honn KV. 12(S)-HETE in cancer metastasis. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1999; 447: 181-191.
- [31] Chen GG, Xu H, Lee JF, Subramaniam M, Leung KL, Wang SH, Chan UP, Spelsberg TC. 15-hydroxy-eicosatetraenoic acid arrests growth of colorectal cancer cells via a peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent pathway. *International Journal of Cancer* 2003; 107: 837-843.
- [32] Tsuzuki T., Tokuyama Y., Igarashi M., Nakagawa K., Ohsaki Y., Komai M., Miyazawa T.: α -Eleostearic acid (9Z11E13E-18:3) is quickly converted to Conjugated Linoleic Acid (9Z11E-18:2) in rats. *Journal of Nutrition* 2004; 134: 2634-2639.
- [33] Yang L, Cao Y, Chen Jing-Nan, Chen Zhen-Yu: Oxidative stability of Conjugated Linolenic Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009; 57: 4212-4217.
- [34] Krawinkel MB, Keding GB. Bitter gourd (*Momordica charantia*): a dietary approach to hyperglycemia. *Nutrition Reviews* 2006; 64 (7): 331-337.

- [35] Bitter Gourd (*Momordica charantia*) http://cms.cnr.edu.bt/cms/files/docs/File/vegetable%20production/Study%20guides/Bitter%20gourd_HandOuts.pdf (30.04.2013)
- [36] Grover JK, Yadav SP. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *Journal of Ethnopharmacology* 2004; 93: 123-132.
- [37] Ray R, Raychoudhuri A, Steele R, Nerurkar P. Bitter Melon (*Momordica charantia*) Extract Inhibits Breast Cancer Cell Proliferation by Modulating Cell Cycle Regulatory Genes and Promotes Apoptosis. *Cancer Research* 2012; 70(5): 1925-1931.
- [38] Saha SS, Ghosh S, Ghosh M. Comparative study of hypocholesterolemic and hypolipidemic effects of conjugated linolenic acid isomers against induced biochemical perturbations and aberration in erythrocyte membrane fluidity. *European Journal of Nutrition* 2012; 51(4): 483-495.
- [39] Wink M, van Wyk BE. *Rośliny lecznicze świata*. Wyd. I polskie, MedPharm Polska, Wrocław 2004.
- [40] Rumpel L. Granat - bogate źródło antyutleniaczy. *Panacea* 2012; 38(1): 16-17.
- [41] Tsuzuki T, Kawakami Y, Abe R, Nakagawa K, Koba K, Imamura J, Iwata T, Ikeda I, Miyazawa T. Conjugated linolenic acid is slowly absorbed in rat intestine, but quickly converted to conjugated linoleic acid. *Journal of Nutrition* 2006; 136: 2153-2159.

5) Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych (artystycznych).

a) działalność naukowo-badawcza przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Moje zainteresowanie pracą naukowo-badawczą rozpoczęło się już podczas studiów na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Warszawie. W czasie ich trwania byłam członkinią Studenckiego Koła Naukowego „Mandragora” działającego przy Katedrze i Zakładzie Farmakognozji WUM. Mój udział w pracach badawczych Studenckiego Koła Naukowego zaowocował współautorstwem dwóch prac prezentowanych na krajowych i międzynarodowych studenckich konferencjach naukowych, z których jedna została opublikowana w *Farmacji Polskiej* („Porównanie aktywności antyoksydacyjnej oraz zawartości związków czynnych w herbatach czarnych i zielonych różnych gatunków, otrzymywanych z liści *Camellia sinensis* L. oraz w herbatkach ziołowych *Yerba mate* i *Rooibos* tea” *Farmacja Polska* 2002; 58: 965 – 971). Otrzymałam dwukrotnie, w roku akademickim 2003/2004 i 2004/2005, stypendium Ministra Zdrowia za bardzo dobre wyniki w nauce oraz osiągnięcia w działalności naukowej, oraz zajęłam IV miejsce w Finale Uczelnianym Konkursu na Najlepszego Studenta Akademii Medycznej w Warszawie Primus Inter Pares.

Po ukończeniu studiów na kierunku farmacja ze specjalnością analityka farmaceutyczna na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Warszawie i po odbyciu obowiązkowego sześciomiesięcznego stażu aptecznego podjęłam pracę na stanowisku asystenta w Katedrze

i Zakładzie Bromatologii pod kierunkiem Pana prof. dr hab. Andrzeja Tokarza. Od początku mojej pracy zostałam włączona w działalność dydaktyczną i naukową Zakładu. W początkowym okresie podjęłam współpracę z Panią dr Agnieszką Stawarską dotyczącą oceny sposobu żywienia osób starszych a od 2006 roku rozpoczęłam badania nad sprzężonymi dienami kwasu linolowego (CLA), dotyczące oceny ich występowania w produktach spożywczych oraz właściwości przeciwnowotworowych, najpierw jako uczestnik a następnie jako kierownik projektów naukowych (**P1-P3**). Badania te stały się głównym obszarem mojej pracy badawczej. Po opracowaniu i zwalidowaniu metody oznaczania CLA techniką chromatografii gazowej dokonałam oceny ich zawartości w wybranych produktach mleczarskich, dostępnych na rynku a także zbadałam zawartość tych kwasów tłuszczowych w próbkach mleka kobiecego oraz, na podstawie danych uzyskanych z ankiet wypełnianych przez pacjentki, wskazałam żywieniowe i środowiskowe czynniki wpływające na udział tej puli kwasów tłuszczowych w mleku kobiecym. Jednocześnie prowadziłam badania literaturowe dotyczące aspektów analitycznych i właściwości biologicznych sprzężonych kwasów tłuszczowych.

Następny etap mojej pracy stanowił eksperyment dotyczący właściwości przeciwnowotworowych CLA w raku piersi z wykorzystaniem samic szczurów szczepu Sprague-Dawley jako organizmów modelowych. Eksperyment ten uzyskał zgodę II Lokalnej Komisji Etycznej do spraw Badań na Zwierzętach w Warszawie (34/2008). Nadrzędnym celem podjętych badań było określenie wpływu zwiększonej podaży w diecie sprzężonych dienów kwasu linolowego na powstawanie nowotworów sutka. Poszukiwano także zależności pomiędzy spożyciem tych kwasów tłuszczowych a ich zawartością w surowicy i tkankach rakowych oraz profilem innych kwasów tłuszczowych w analizowanym materiale. Zbadano ponadto znaczenie powyższych związków dla dynamiki procesu peroksydacji lipidów w warunkach procesu nowotworowego. Druga część eksperymentu wpisywała się w nurt prac z zakresu programowania rozwojowego i miała na celu wykazanie znaczenia podaży w diecie matek w czasie ciąży i karmienia sprzężonych dienów kwasu linolowego dla stanu zdrowia potomstwa, także w życiu dorosłym. Dieta zwierząt była wzbogacana w preparat Bio-C.L.A., pozyskany od firmy Pharma Nord w ramach prowadzonej współpracy, zawierający mieszaninę dwóch głównych izomerów CLA: kwasu *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowego i *trans*-10, *cis*-12 oktadekadienowego, w stosunku ilościowym 1:1. Proces nowotworowy był stymulowany poprzez podanie zwierzętom w 50. dniu ich życia sondą dożołądkową 7,12-dimetylobenz[a]antracenu w dawce 80 mg/kg.m.c. w postaci zawiesiny w oleju roślinnym lub preparacie Bio-C.L.A. W badaniu histopatologicznym wyindukowanych guzów nowotworowych, wykonanym w ramach prowadzonej współpracy w Zakładzie Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, zostały one zidentyfikowane jako gruczolakoraki

(*adenocarcinoma*) i gruczolakoraki brodawkowe (*adenocarcinoma papillarae*) sutka o różnym stopniu zaawansowania. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że sprzężone dieny kwasu linolowego mogą hamować inicjowaną chemicznie kancerogenezę i przeciwdziałać występowaniu raka sutka. Obserwowano wyraźne działanie polegające na zmniejszaniu zapadalności i hamowaniu rozwoju guzów sutka u większości zwierząt otrzymujących preparat zawierający izomery CLA. Efektywność tego działania była zależna od zastosowanej dawki – najmniejszą zapadalność obserwowano w grupach, w których podawany preparat stanowił 2,0% w diecie. Ponadto wykazano, że wyższe stężenia kwasu żwaczowego w surowicy są skorelowane z mniejszym ryzykiem raka sutka, zaś profil kwasów tłuszczowych w surowicy krwi jest wypadkową zastosowanej suplementacji diety oraz współistniejących stanów patologicznych. Co więcej, zwiększona podaż CLA w diecie matek podczas ciąży i karmienia skutkowała ich wbudowaniem do tkanek dzieci oraz zmniejszonym ryzykiem rozwoju nowotworów sutka. Uzyskane wyniki stanowiły podstawę mojej pracy doktorskiej pt.: „Badanie wzajemnych zależności między zawartością sprzężonych dienów kwasu linolowego i innych kwasów tłuszczowych w diecie i tkankach szczurów w warunkach procesu nowotworowego”.

Istotnym elementem mojej pracy naukowej był udział w projekcie badawczym „Pożywienie Słowian” dotyczącym prób rekonstrukcji potraw i sposobów ich przygotowania stosowanych przez wczesnośredniowieczne plemiona zachodniosłowiańskie, realizowanym przez Muzeum Nadwiślańskie w Kazimierzu Dolnym w ramach Warsztatów Archeologii Doświadczalnej. Bazując na wiadomościach etnograficznych dotyczących kultury materialnej Słowian, oraz danych paleobotanicznych i archeozoologicznych podjęliśmy się odtworzenia potraw, jakie mogły stanowić podstawę wyżywienia wzmiankowanych powyżej plemion, zamieszkujących w VIII – X w. obszar Kotliny Chodelskiej. Podczas eksperymentów odtworzyliśmy w warunkach maksymalnie zbliżonych do wczesnośredniowiecznych szereg potraw a następnie, uwzględniając ich skład jakościowy oraz sposoby ich przygotowania, oceniliśmy ich wartość odżywczą, zarówno metodą rachunkową, jak i analityczną, wykorzystując standardowe metody stosowane w analizie żywności. Wyniki tych pionierskich w skali naszego kraju prac zostały opublikowane i były prezentowane na licznych konferencjach naukowych. Kontynuacją i uzupełnieniem prowadzonych badań było podjęcie współpracy z Instytutem Chemii Ogólnej i Ekologicznej Politechniki Łódzkiej dotyczącej analizy chemicznej pozostałości organicznych, zaabsorbowanych do wnętrza ścianek naczyń ceramicznych, zarówno zabytkowych jak i wykorzystywanych w eksperymentach archeologii doświadczalnej. Badania ceramiki, jednego z artefaktów najczęściej odkrywanych na stanowiskach archeologicznych, są powszechnie uważane za bogate źródło informacji o wielu aspektach życia społecznego dawnych cywilizacji. Do pełnego zrozumienia jej funkcji w ostatnich latach coraz częściej stosuje się analizę organicznych pozostałości stwierdzanych na i w ściankach naczyń. Poszukiwanie specyficznych

„biomarkerów”, czyli charakterystycznych związków, które pozostały praktycznie niezmienione na przestrzeni wieków czy określanie rozmieszczenia tych substancji w naczyniu (tzw. „odcisk palca” – ang. fingerprint) może uzupełnić czy znacznie pogłębić wnioskowanie o przeznaczeniu czy zastosowaniu naczynia, a co za tym idzie wzbogacić wiedzę o warunkach życia danej społeczności. Uzyskane wyniki dotyczące ceramiki zabytkowej wskazują na wyraźne zróżnicowanie ich domniemanej zawartości, odzwierciedlającej preferencje żywieniowe Słowian, co w kontekście jednoczesnego i zapewne intencjonalnego ich deponowania pod nasypem wału obronnego grodu, może potwierdzać proponowaną interpretację tego znaleziska jako ofiary zakładzinowej.

W ramach współpracy z dr Anitą Śliwińską z Katedry i Zakładu Biologii Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin Lecznicych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego opracowałam i zwalidowałam metodę oraz wykonałam oznaczenia zawartości hederageniny, kwasu ursolowego i kwasu oleanolowego w próbkach *Polyscias filicifolia* techniką chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną.

Podczas pracy w Katedrze i Zakładzie Bromatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w okresie przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych opublikowałam 12 prac oryginalnych (**01-012**), 4 prace przeglądowe (**P1-P4**) i 1 rozdział w monografii (**R1**) o łącznym współczynniku oddziaływania IF **2,239** (MNiSW: **94**). W 12 spośród nich jestem pierwszym autorem. Wykaz ogłoszonych publikacji naukowych znajduje się w Załączniku 3a. Zaprezentowałam również 3 prace na konferencjach międzynarodowych (**KM1-KM3**) i 15 prac na konferencjach krajowych (**KK1-KK15**). Trzy prace prezentowane na konferencjach krajowych zostały wyróżnione za wysoką wartość merytoryczną i nagrodzone (**N2-N4**).

b) działalność naukowo-badawcza po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych kontynuowałam prace nad właściwościami biologicznymi sprzężonych dienów kwasu linolowego, zwłaszcza w kontekście poszukiwania mechanizmów leżących u podstaw ich działania. Część uzyskanych wyników weszła w skład osiągnięcia naukowego w postępowaniu habilitacyjnym i została dogłębnie opisana powyżej. W innych pracach dotyczących sprzężonych dienów kwasu linolowego prowadzonych w Zakładzie Bromatologii wraz z Panią dr Agnieszką Stawarską wykazałyśmy, że poddanie samic szczurów szczepu Sprague-Dawley działaniu 7,12-diemtylobenz[a]antracenu - chemicznego kancerogenu, prowadziło do obniżenia stężenia kwasu *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowego (głównego izomeru CLA) w surowicy krwi oraz do zwiększenia aktywności

$\Delta 6$ - i $\Delta 5$ -desaturazy, enzymów kluczowych dla szlaków metabolicznych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Wprowadzenie do diety zwierząt preparatu zawierającego mieszaninę izomerów CLA zmniejszało zapadalność na raka sutka oraz zmniejszało aktywność $\Delta 6$ -desaturazy. CLA nie tylko konkurują z kwasem linolenowym i są zamiast niego wbudowywane do fosfolipidów, ale także poprzez wpływ na aktywność desaturaz prowadzą do zmniejszenia ilości powstających metabolitów kwasu linolowego, zwłaszcza kwasu arachidonowego i eikozanoidów, będących jego pochodnymi (015). W pracach prowadzonych z Panią dr Małgorzatą Jelińską we współpracy z Instytutem Żywności i Żywienia oznaczono zawartość 6 eikozanoidów, metabolitów kwasów tłuszczowych z rodziny n-6: kwasu linolowego (13- i 9-HODE) i kwasu arachidonowego (15-, 12-, 5-HETE i PGE₂) w surowicy i guzach sutka szczurów, których dieta była wzbogacana w izomery CLA po podaniu czynnika kancerogennego. Wykazano silną negatywną zależność między stężeniem izomeru *trans*-10, *cis*-12 CLA a poziomami 15-, 12- i 5-HETE, znacznie wyraźniejszą niż między stężeniami izomeru *cis*-9, *trans*-11 CLA a tymi eikozanoidami. Co więcej, wykazano iż znacznie lepszymi wskaźnikami zachodzącego procesu patologicznego są stosunki eikozanoidów o przeciwnym działaniu, np. 12-HETE/15-HETE, niż stężenia poszczególnych pojedynczych związków (014).

Niezwykle istotnym elementem mojej pracy były, prowadzone we współpracy z Panią dr Agnieszką Stawarską z mojego macierzystego Zakładu, badania nad wpływem różnorodnych czynników dietetycznych na aktywność enzymów katalizujących szlaki metaboliczne wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. W ramach prowadzonej współpracy wykonałam techniką chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną oznaczenie zawartości kwasów tłuszczowych w olejach, dietach i surowicy krwi zwierząt (szczury Wistar, samce), których dieta była wzbogacana w wybrane oleje roślinne (rzepakowy, słonecznikowy, oliwkowy) poddane lub nie obróbce cieplnej oraz wykonałam analizę statystyczną uzyskanych wyników. Wykazaliśmy, że produkty utleniania lipidów, powstające podczas ogrzewania olejów wpływają na profil kwasów tłuszczowych w surowicy krwi oraz na aktywność desaturaz, powodując wzrost aktywności $\Delta 6$ - a spadek aktywności $\Delta 5$ -desaturazy. Uzyskane wyniki zostały opublikowane (016).

Podjmując współpracę z Zakładem Analiz Instrumentalnych Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego uczestniczyłam w badaniach wyrobów cukierniczych przeznaczonych dla dzieci ze szczególnym naciskiem na zasadność stosowania ekstraktu polifenolowego z owoców aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa*) w celu poprawy stabilności oksydacyjnej frakcji lipidowej tych produktów (017, 019).

Istotnym elementem mojej pracy naukowej w okresie po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk farmaceutycznych był udział w projekcie „Stężenia nienasyconych kwasów

tłuszczowych omega-3: kwasu dokozaheksaenowego (DHA), kwasu eikozapentaenowego (EPA) i kwasu alfa-linolenowego (ALA) oraz kwasów omega-6: kwasu linolowego (LA), kwasu gamma-linolenowego (GLA) i kwasu arachidonowego (ARA) u zdrowych kobiet ciężarnych i kobiet z ciążą powikłaną nadciśnieniem indukowanym ciążą, cukrzycą ciężarnych leczoną dietą, cholestazą ciężarnych oraz ich dzieci” realizowanym przez II Katedrę i Klinikę Położnictwa i Ginekologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. W ramach tej współpracy opracowałam metodę i dokonałam oznaczenia techniką chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną pełnego profilu kwasów tłuszczowych oraz bezwzględnej zawartości 6 głównych kwasów tłuszczowych w rodzin n-3 i n-6 w próbkach surowicy krwi matek i w próbkach surowicy krwi pępowinowej ich dzieci. Łącznie przebadalam ok. 200 takich par matka-dziecko oraz opracowałam uzyskane wyniki.

W 2015 roku podjęłam współpracę z Panią prof. dr hab. Teresą Banaszkiewicz z Wydziału Przyrodniczego Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach, dotyczącą oznaczenia profilu kwasów tłuszczowych w próbkach mięśnia piersiowego, mięśnia udowego, mięśnia sercowego a także wątroby i tłuszczu sadełkowego kurcząt, których dieta była wzbogacana w olej z nasion winogron lub w olej z nasion granatowca właściwego. Część analityczna powyższych badań została już zakończona, zaś uzyskane wyniki zostały opracowane.

Obecnie, we współpracy z Panem mgr Tomaszem Lepionka, studentem niestacjonarnych studiów doktoranckich w naszym Zakładzie, prowadzę dalsze badania nad właściwościami biologicznymi oleju z nasion granatowca właściwego i wodnego ekstraktu z suszonych nasion przepętkli ogórkowatej, z wykorzystaniem zwierzęcego modelu nowotworu sutka. Na badania te uzyskałam zgodę II Lokalnej Komisji ds. Badań na Zwierzętach w Warszawie (54/2015).

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych w latach 2012-2016 opublikowałam, wykluczając publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego w postępowaniu habilitacyjnym, 7 prac oryginalnych (**O13-O19**) i 2 rozdziały w monografiach (**R2-R3**) o łącznym współczynniku oddziaływania IF **10,325** (MNiSW: **122** pkt.). Wykaz ogłoszonych publikacji naukowych znajduje się w Załączniku 3. Zaprezentowałam również 8 prac na konferencjach międzynarodowych (**KM4-KM11**) i 23 prace na konferencjach krajowych (**KK16-KK38**). 2 spośród prezentowanych prac zostały wyróżnione za wysoką wartość merytoryczną i nagrodzone (1 na konferencji międzynarodowej (**N6**) i 1 na konferencji krajowej (**N9**)).

c) Udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych:

i) konferencje międzynarodowe:

[KM1] Tokarz A, Stawarska A, Kolczewska M, **Białek A**. *Nutrition in the population of elderly people from Warsaw*. Plakat w języku angielskim, 4th Vienna Biocenter PhD Student Symposium Timing Age, 2 – 3.11.2006 r., Wiedeń, Austria.

[KM2] **Białek A**, Tokarz A, Romanowicz M. *Influence of different factors on rumenic acid concentration in milk of breastfeeding woman*. Plakat w języku angielskim, 19th International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 8 – 12.06.2008 r., Gdańsk, Polska.

[KM3] Tokarz A, Stawarska A, **Białek A**, Kolczewska M. *Nutrition in the population of elderly people: members of Warsaw community*. Plakat w języku angielskim, 5th European Congress on Nutrition and Health in Elderly People, 15 – 17. 09.2008 r., Warszawa, Polska.

[KM4] **Białek A**, Tokarz A, Stawarska A, Zagrodzki P. *Influence of Conjugated Linoleic Acids in diet of female Sprague-Dawley rats on mammary tumours appearance and fatty acid distribution in tissues of their offspring*. Plakat w języku angielskim, 5th International Congress on Nutrition and Cancer, 9 - 11.09.2012 r., Elazig, Turcja.

[KM5] Stawarska A, **Białek A**, Tokarz A. *Effect of conjugated linoleic acids (CLA) supplementation on the activity of $\Delta 6$ -desaturase in liver of rats with mammary tumors*. Plakat w języku angielskim, 5th International Congress on Nutrition and Cancer, 9 - 11.09.2012 r., Elazig, Turcja.

[KM6] **Białek A**, Jelińska M, Białek M, Tokarz A. *Quality parameters and fatty acids profile of selected edible oils*. Plakat w języku angielskim, XIX Sesja naukowa Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ – III Sesja międzynarodowa „Food Science Horizon” „Somewhere something incredible is waiting to be known”, 7 - 9.05.2014 r., Warszawa, Polska.

[KM7] **Białek A**, Bodecka J, Tokarz A. *Conjugated linoleic acids (CLA) and conjugated linolenic acids (CLnA) influences fatty acids profile and lipids peroxidation in tissues of rats*. Plakat w języku angielskim, Międzynarodowa konferencja “Analytical methods to study oxidative damage, antioxidants and drugs”, 4 - 7.06.2015 r., Białystok, Polska.

[KM8] Białek M, **Białek A**, Jelińska M, Tokarz A. *Fatty acid composition and oxidative characteristics of novel edible oils*. Plakat w języku angielskim, Międzynarodowa konferencja “Analytical methods to study oxidative damage, antioxidants and drugs”, 4 - 7.06.2015 r., Białystok, Polska.

[KM9] Stawarska A, **Białek A**, Tokarz A. *The effect of selected unheated and heated oils on the activity of enzymes participating in arachidonic acid formation and fatty acids profile*. Plakat

w języku angielskim, Międzynarodowa konferencja “Analytical methods to study oxidative damage, antioxidants and drugs”, 4 - 7.06.2015 r., Białystok, Polska.

[KM10] **Białek A**, Stawarska A, Tokarz A. *Pomegranate seed oil decreases desaturases activity and influences fatty acids profile in serum and tissues of rats*. Plakat w języku angielskim, 2nd International Young Scientists Symposium “Plants in Pharmacy and Nutrition”, 15 – 17.09.2016 r., Wrocław, Polska.

[KM11] **Białek A**, Czerwonka M, Lepionka T, Kaszperuk K, Banaszkiewicz T, Tokarz A. *Influence of pomegranate seed oil and grape seed oil on cholesterol content and fatty acids profile in livers of chickens*. Plakat w języku angielskim, 2nd International Young Scientists Symposium “Plants in Pharmacy and Nutrition”, 15 – 17.09.2016 r., Wrocław, Polska.

ii) konferencje krajowe:

[KK1] Tokarz A, **Białek A**, Stawarska A. *Opracowanie i walidacja metody oznaczania sprzężonych dienów kwasu linolowego metodą chromatografii gazowej*. Plakat w języku polskim, Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Bezpieczna żywność – racjonalne żywienie”, 8 – 9.06.2006 r., Ustroń.

[KK2] Tokarz A, **Białek A**, Stawarska A, Gołębiowska L. *Porównanie zawartości sprzężonych dienów kwasu linolowego – CLA w masłach dostępnych na rynku warszawskim w 2006 r.* Komunikat w języku polskim, V Krajowa Konferencja Naukowo – Szkoleniowa „Higiena żywności i żywienia podstawą zdrowia”, 3 – 6.09.2007 r., Zakopane.

[KK3] Tokarz A, **Białek A**, Krasowska M. *Zawartość sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA) w wybranych serach dojrzewających*. Plakat w języku polskim, XX Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego „Farmacja XXI wieku – wyzwania i nadzieje”, 25 – 28.09.2007 r., Katowice.

[KK4] Tokarz A, **Białek A**, Gołębiowska L, Krasowska M. *Zastosowanie metody chromatografii gazowej do oznaczania zawartości sprzężonych dienów kwasu linolowego w produktach mlecznych*. Plakat w języku polskim, VIII Konferencja Chromatograficzna „Zastosowanie technik chromatograficznych w analizie środowiskowej i klinicznej”, 21 – 23.04. 2008 r., Łódź.

[KK5] Tokarz A, Stawarska A, **Białek A**, Kolczewska M. *Ocena sposobu żywienia i suplementacji u ludzi starszych z terenu Warszawy*. Plakat w języku polskim, VIII Krajowe Warsztaty Żywnościowe „Metody ankietowe w badaniach żywieniowych”, 2 – 4.09.2008 r., Mrózek k/ Olsztynka.

[KK6] Tokarz A, **Białek A**, Krasowska M. *Ocena zawartości kwasu żwaczowego (cis-9, trans-11 CLA) w wybranych gatunkach serów*. Plakat w języku polskim, XIX Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Prawidłowa jakość żywności i racjonalne żywienie podstawą profilaktyki zdrowotnej”, 11 – 12.09.2008 r., Łódź.

[KK7] **Białek A**, Tokarz A, Wiśniowska A. *Wpływ różnorodnych czynników dietetycznych na zawartość kwasu żwaczowego (cis-9, trans-11 CLA) i profil kwasów tłuszczowych w surowicy szczurów. Cz. I*. Komunikat w języku polskim, XX Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Jakość zdrowotna żywności i żywienia oraz przedmiotów użytku", 10 – 11.09.2009 r., Warszawa.

[KK8] **Białek A**, Tokarz A, Wagner P. *Wpływ podaży w diecie ogrzewanych i nieogrzewanych olejów roślinnych na zawartość kwasu żwaczowego (cis-9, trans-11 CLA) i profil kwasów tłuszczowych w surowicy szczurów. Cz. II*. Plakat w języku polskim, XX Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Jakość zdrowotna żywności i żywienia oraz przedmiotów użytku", 10 – 11.09.2009 r., Warszawa.

[KK9] **Białek A**, Tokarz A, Gołębiowska L, Krasowska M. *Wykorzystanie techniki chromatografii gazowej w analizie sprzężonych dienów kwasu linolowego w wybranych produktach mleczarskich*. Plakat w języku polskim, VII Warszawskie Seminarium Doktorantów Chemików „ChemSession’10”, 14.05.2010 r., Warszawa.

[KK10] **Białek A**, Tokarz A, Dudek A, Kazimierska W, Bielecki W. *Wpływ diety wzbogaconej sprzężonymi dienami kwasu linolowego na ich rozmieszczenie w tkankach szczurów z wyindukowanymi DMBA nowotworami*. Plakat w języku polskim, VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej „Analityka dla społeczeństwa XXI wieku”, 4 - 9.07.2010 r., Kraków.

[KK11] Tokarz A, Jelińska M, **Białek A**, Stawarska A, Gmurczyk M, Seweryn T, Wagner P, Wiśniowska A. *Tłuszcze diety i ich przemiany zachodzące w organizmie szczurów*. Plakat w języku polskim, VIII Polska Konferencja Chemii Analitycznej „Analityka dla społeczeństwa XXI wieku”, 4 - 9.07.2010 r., Kraków.

[KK12] **Białek A**, Tokarz A, Kazimierska W, Bielecki W. *Wpływ suplementacji diety CLA na profil kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów w warunkach procesu nowotworowego*. Plakat w języku polskim, XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego „Farmacja Polska na tle Unii Europejskiej”, 12 – 15.09.2010 r., Gdańsk.

[KK13] Kałużna-Czaplińska J, **Białek A**, Lis P. *Analiza organicznych pozostałości w ceramice zabytkowej z grodziska w Chodliku oraz ceramice eksperymentalnej z zastosowaniem techniki*

GC/MS. Plakat w języku polskim, X Konferencja „Analiza chemiczna w ochronie zabytków”, 9 – 10.12.2010 r., Warszawa.

[KK14] **Białek A**, Tokarz A, Romanowicz M. *Wpływ wybranych czynników żywieniowych na zawartość kwasu cis-9, trans-11 oktadekadienowego w mleku kobiet karmiących*. Komunikat w języku polskim, VII Konferencja Naukowo – Szkoleniowa „Higiena żywności i żywienia podstawą zdrowia. Żywnienie wczoraj, dziś i jutro”, 6 – 9.09.2011 r., Szczecino.

[KK15] **Białek A**, Tokarz A, Zagrodzki P. *Wpływ sprzężonych dienów kwasu linolowego w diecie samic szczurów na ryzyko procesu nowotworowego u ich potomstwa*. Komunikat w języku polskim, Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Aspekty Zdrowotne Żywności i Żywnienia”, 21 – 23.09.2011 r., Białystok.

[KK16] **Białek A**, Tokarz A. *Sprzężone dieny kwasu linolowego w prewencji nowotworów*. Wykład w języku polskim, XXII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Żywność i Żywnienie w XXI wieku – wyzwania i nadzieje”, 5 – 7.09.2012 r., Wisła.

[KK17] **Białek A**, Tokarz A. *Wpływ sprzężonych dienów kwasu linolowego na dynamikę procesów peroksydacji lipidów w warunkach procesu nowotworowego*. Plakat w języku polskim, XXII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Żywność i Żywnienie w XXI wieku – wyzwania i nadzieje”, 5 – 7.09.2012 r., Wisła.

[KK18] **Białek A**, Jelińska M, Tokarz A. *Wykorzystanie HPLC w oznaczaniu lipoksygenazowych metabolitów kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów suplementowanych CLA*. Plakat w języku polskim, VII Konferencja „Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej”, 25 – 26.10.2012 r., Warszawa.

[KK19] Stawarska A, Tokarz A, **Białek A**. *Wpływ diety suplementowanej CLA na aktywność enzymów biorących udział w powstawaniu kwasu arachidonowego w mikrosomach wątrobowych szczurów*. Plakat w języku polskim, VII Konferencja „Analityczne zastosowania chromatografii cieczowej”, 25 – 26.10.2012 r., Warszawa.

[KK20] **Białek A**, Tokarz A, Zagrodzki P. *Zastosowanie metody PLS do analizy interakcji między kwasami tłuszczowymi w surowicy krwi szczurów w warunkach procesu nowotworowego*. Plakat w języku polskim, V Konferencja naukowo – szkoleniowa „Chemometria – metody i zastosowania. Zrozumieć podstawy metod chemometrycznych”, 18 – 21.10.2012 r., Zakopane.

[KK21] **Białek A**, Tokarz A. *Wartość odżywcza i jakość zdrowotna produktów spożywczych i potraw przygotowanych według „receptur wczesnośląskich” – mariaż bromatologii z archeologią doświadczalną*. Wykład w języku polskim, Sesja naukowa „Kulinaria w soczewce wiedzy”, 4.09.2012 r., Warszawa.

[KK22] **Białek A**, Jelińska M, Tokarz A. *Wpływ suplementacji CLA na powstawanie lipooksygenazowych metabolitów WNKT w surowicy krwi potomstwa szczurów w warunkach procesu nowotworowego*. Plakat w języku polskim, XXII Zjazd naukowy Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego „Farmacja – nauka – społeczeństwo”, 18 – 21.09.2013 r., Białystok.

[KK23] Jelińska M, **Białek A**, Mojska H, Gielecińska I, Tokarz A. *Wpływ sprzężonych dniów kwasu linolowego podawanych po wprowadzeniu karcinogenu na zawartość metabolitów kwasów tłuszczowych w surowicy krwi i nowotworach wywołanych u szczurów*. Plakat w języku polskim, XXII Zjazd naukowy Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego „Farmacja – nauka – społeczeństwo”, 18 – 21.09.2013 r., Białystok.

[KK24] Lepionka T, **Białek A**, Tokarz A. *Suplementacja diety sprzężonymi dniami kwasu linolowego (CLA) a ryzyko wystąpienia raka sutka i profil kwasów tłuszczowych w śledzionach szczurów*. Plakat w języku polskim, Ogólnopolskie Sympozjum Naukowe Studentów Wydziałów Farmaceutycznych „Projekt: Absolwent”, 16.02.2013 r., Warszawa.

[KK25] **Białek A**, Tokarz A. *Wpływ krótkotrwałej suplementacji diety sprzężonymi dniami kwasu linolowego na profil kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów*. Plakat w języku polskim, Międzynarodowa Konferencja Jubileuszowa „Nauka o żywieniu człowieka – osiągnięcia i wyzwania” z okazji 35-lecia istnienia Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW w Warszawie, 28 - 29.06.2013 r., Warszawa.

[KK26] Lepionka T, **Białek A**, Tokarz A. *Analiza profilu kwasów tłuszczowych w śledzionach szczurów suplementowanych sprzężonymi dniami kwasu linolowego (CLA) w warunkach procesu nowotworowego*. Komunikat w języku polskim, VIII Konferencja naukowo – szkoleniowa „Higiena żywności i żywienia podstawą zdrowia. Informatyka w naukach o żywności i żywieniu”, 3 – 6.09.2013 r., Biała Podlaska.

[KK27] **Białek A**, Jelińska M, Bamburowicz-Klimkowska M, Tokarz A. *Wpływ wodnego ekstraktu z owoców Przepękli ogórkowej i oleju z nasion Granatowca właściwego na profil lipidowy u szczurów – badania wstępne*. Plakat w języku polskim, XXIII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Bromatologia dla społeczeństwa XXI wieku”, 10 – 12.2014 r., Kraków.

[KK28] Jelińska M, Pyzik J, **Białek A**, Tokarz A. *Wpływ sprzężonych dniów kwasu linolowego na zawartość metabolitów kwasów arachidonowego i linolowego w nerkach szczurów z wywołanymi chemicznie nowotworami*. Plakat w języku polskim, XXIII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Bromatologia dla społeczeństwa XXI wieku”, 10 – 12.2014 r., Kraków.

[KK29] **Białek A**, Tokarz A. *Jadłospis słowiański w świetle aktualnej wiedzy żywieniowej*. Komunikat w języku polskim, Sesja naukowa „Kulinaria w soczewce wiedzy” 13.02.2014 r., Warszawa.

[KK30] Lepionka T, **Białek A**, Jelińska M, Tokarz A, Pergół A, Pinkiewicz A. *Analiza wpływu suplementacji diety szczurów olejem z nasion granatowca właściwego (*Punica granatum*) oraz wodnym ekstraktem z przepękli ogórkowatej (*Momordica charantia*) na stężenie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i ich metabolitów - produktów lipooksygenazy w surowicy*. Komunikat w języku polskim, VI Konferencja „Postępy w badaniach biomedycznych”, 5 - 6.12.2015 r., Warszawa.

[KK31] **Białek A**, Jelińska M, Bodecka J, Tokarz A. *Udział sprzężonych dienów i trienów kwasów tłuszczowych w diecie a profil kwasów tłuszczowych i intensywność procesów peroksydacyjnych w wątrobach szczurów*. Plakat w języku polskim, XXIV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Bezpieczna żywność i racjonalne żywienie podstawą zdrowia człowieka", 17 - 18.09.2015 r., Wrocław.

[KK32] Jelińska M, **Białek A**, Mojska H, Gielecińska I, Tokarz A. *Wpływ sprzężonych dienów kwasu linolowego podawanych przed wprowadzeniem karcinogenu na zawartość metabolitów kwasów tłuszczowych w surowicy krwi i nowotworach wywołanych u szczurów*. Plakat w języku polskim, XXIV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne "Bezpieczna żywność i racjonalne żywienie podstawą zdrowia człowieka", 17 - 18.09.2015 r., Wrocław.

[KK33] **Białek A**, Tokarz A, Tytż N, Banaszkiewicz T, Kaszperuk K. *Olej z nasion granatowca właściwego jako dodatek paszowy a profil kwasów tłuszczowych w podrobach drobiowych (wątroby)*. Komunikat w języku polskim, XXV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Jakość zdrowotna żywności i żywienia”, 12-13.09.2016 r., Józefów - Warszawa.

[KK34] **Białek A**, Tokarz A, Kucharczyk K, Banaszkiewicz T, Kaszperuk K. *Olej z nasion granatowca właściwego jako dodatek paszowy a profil kwasów tłuszczowych w podrobach drobiowych (serca)*. Plakat w języku polskim, XXV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Jakość zdrowotna żywności i żywienia”, 12-13.09.2016 r., Józefów - Warszawa.

[KK35] **Białek A**, Lepionka T, Jelińska M, Pergół A, Tokarz A. *Suplementacja diety olejem z nasion granatowca właściwego i/lub wodnym wyciągiem z przepękli ogórkowatej wpływa na zawartość sprzężonych dienów kwasu linolowego i na profil kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów*. Plakat w języku polskim, XXV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Jakość zdrowotna żywności i żywienia”, 12-13.09.2016 r., Józefów - Warszawa.

[KK36] Jelińska M, Pinkiewicz K, **Białek A**, Tokarz A. *Wpływ oleju z nasion granatowca i naparu z przepętkli ogórkowatej na zawartość metabolitów wybranych kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów*. Plakat w języku polskim, XXV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Jakość zdrowotna żywności i żywienia”, 12-13.09.2016 r., Józefów - Warszawa.

[KK37] Lepionka T, **Białek A**, Tokarz A, Banaszkiewicz T, Kaszperuk K. *Wpływ suplementacji diety kurcząt olejem z nasion granatowca właściwego i olejem z nasion winogron na profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu sadełkowym*. Komunikat w języku polskim, XXV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Jakość zdrowotna żywności i żywienia”, 12-13.09.2016 r., Józefów - Warszawa.

[KK38] Stawarska A, **Białek A**, Tokarz A. *Wpływ procesu nowotworowego i zróżnicowanej diety na aktywność $\Delta 6$ - i $\Delta 5$ desaturazy*. Plakat w języku polskim, XXV Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne „Jakość zdrowotna żywności i żywienia”, 12-13.09.2016 r., Józefów - Warszawa.

d) Udział w projektach naukowych

W czasie mojej dotychczasowej pracy naukowej uczestniczyłam w pięciu projektach naukowych, finansowanych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego i Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Pełniłam funkcje kierownika projektu trzech spośród nich, zaś w dwóch projektach byłam głównym wykonawcą. Pełna lista projektów naukowych została zamieszczona poniżej.

[P1] W latach 2006 – 2008 **wykonawca projektu** własnego AM nr FW12/W1/08 „Ocena występowania sprzężonych dienów kwasu linolowego w produktach żywnościowych, oraz ich znaczenia ochronnego w chemoprewencji procesu nowotworzenia.”

[P2] W latach 2008 – 2009 **kierownik projektu** młodego badacza AM nr FW12/WB2/09 „Ocena znaczenia sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA) w chemoprewencji procesu nowotworzenia.”

[P3] W latach 2009 – 2012 **wykonawca projektu** badawczego promotorskiego MNiSW N N405 362137 „Wpływ podaży sprzężonych dienów kwasu linolowego w diecie samic szczurów na ryzyko wystąpienia choroby nowotworowej u ich potomstwa.”

[P4] W latach 2010 – 2011 **kierownik projektu** młodego badacza WUM nr FW12/PM1/11 „Poszukiwanie mechanizmów działania sprzężonych dienów kwasu linolowego na młode organizmy w warunkach procesu nowotworowego.”

[P5] W roku 2014 **kierownik projektu** młodego badacza WUM nr FW12/PM31/14/14 „Sprzężone trieny kwasu linolenowego (CLnA) – aspekty analityczne i działanie biologiczne”

e) Nagrody i wyróżnienia

W czasie mojej dotychczasowej pracy zostałam trzykrotnie uhonorowana nagrodą dydaktyczną JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i dwukrotnie – nagrodą naukową JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Ponadto, sześciokrotnie moje prace prezentowane na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych zostały wyróżnione za wysoką wartość merytoryczną i nagrodzone. Pełna lista otrzymanych nagród została zamieszczona poniżej.

[N1] Nagroda Indywidualna Dydaktyczna III stopnia Rektora Akademii Medycznej w Warszawie za ogromne zaangażowanie i pełną inspiracji pracę na rzecz działalności Koła Naukowego „Bromatos”, a szczególnie za udział w pracach organizacyjnych dotyczących obozu naukowego organizowanego na bazie Warsztatów Archeologicznych, przyznana 29 października 2007 roku.

[N2] Nagroda za plakat „Tłuszcze diety i ich przemiany zachodzące w organizmie szczurów” prezentowany podczas sesji Analityka żywności w ramach VIII Polskiej Konferencji Chemii Analitycznej, 4 - 9 lipca 2010 roku, Kraków.

[N3] Wyróżnienie za pracę „Wpływ wybranych czynników żywieniowych na zawartość kwasu *cis*-9, *trans*-11 oktadekadienowego w mleku kobiet karmiących” prezentowaną na konferencji „Higiena żywności i Żywienia Podstawą Zdrowia – żywienie wczoraj, dziś, jutro”, 6-9 września 2011 roku, Szczytno.

[N4] Wyróżnienie za pracę „Wpływ sprzężonych dienów kwasu linolowego w diecie samic szczurów na ryzyko procesu nowotworowego u ich potomstwa” prezentowaną podczas XXI Ogólnopolskiego Sympozjum Bromatologicznego, 21-23 września 2011 roku, Białystok.

[N5] Wyróżnienie za pracę „Wpływ sprzężonych dienów kwasu linolowego na dynamikę procesów peroksydacji lipidów w warunkach procesu nowotworowego” prezentowaną podczas XXII Ogólnopolskiego Sympozjum Bromatologicznego, 5-7 września 2012 roku, Wisła.

[N6] I Nagroda za plakat „Influence of Conjugated Linoleic Acid in diet of female Sprague-Dawley rats on mammary tumours appearance and fatty acid distribution in tissues of their offspring” prezentowany na 5th International Congress on Nutrition and Cancer, 9-11 września 2012 roku, Elazığ, Turcja.

[N7] Nagroda Zespołowa Dydaktyczna II stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za współautorstwo skryptu pt. „ Skrypt do ćwiczeń z Bromatologii dla studentów

Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego”, przyznana 29 października 2012 roku.

[N8] Nagroda Indywidualna Naukowa III stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za autorstwo publikacji dotyczących wpływu sprzężonych dienów kwasu linolowego na profil kwasów tłuszczowych w tkankach w stanie nowotworowym, przyznana 29 października 2012 roku.

[N9] Wyróżnienie za cykl plakatów w sesji Bezpieczna żywność, zdrowe społeczeństwo (bromatologia, toksykologia) podczas XXII Naukowego Zjazdu PTFarm, 18-21 września 2013, Białystok.

[N10] Nagroda Zespołowa Dydaktyczna III stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za opracowanie skryptu do ćwiczeń z analizy składu i bezpieczeństwa żywności przeznaczonego dla studentów dietetyki Wydziału Nauki o Zdrowiu, przyznana w 2015 roku.

[N11] Nagroda Naukowa III stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za współautorstwo pracy pt. „Effect of conjugated linoleic acid mixture supplemented daily after carcinogen application on linoleic and arachidonic acid metabolites in rat serum and induced tumours”, przyznana w 2015 roku.

f) Kursy, szkolenia i staże

W okresie mojej pracy zawodowej uczestniczyłam w licznych kursach, szkoleniach, seminariach i stażach, organizowanych przez jednostki naukowe i komercyjne w kraju i za granicą. Pełna ich lista została zamieszczona poniżej.

[S1] Kurs „Technika PCR i jej zastosowania.” Organizator: DNA-Gdańsk we współpracy z A&A Biotechnology, 20 - 22.06.2005 r., Gdańsk;

[S2] Kurs pedagogiczny dla nauczycieli akademickich i słuchaczy studiów doktoranckich Akademii Medycznej w Warszawie. Organizator: Akademia Pedagogiki Specjalnej im. Marii Grzegorzewskiej i Akademia Medyczna w Warszawie, rok akademicki 2005/2006, Warszawa;

[S3] Kurs „Od genu do białka, od struktury do funkcji i dysfunkcji.” Organizator: Studium Medycyny Molekularnej, 16 - 20.04.2007 r., Warszawa;

[S4] Konferencja „Rola dialogu w medycynie.” Organizator: Akademia Medyczna w Warszawie, Centrum Kształcenia Podyplomowego, 16.04.2007 r., Warszawa;

[S5] Szkolenie okresowe w zakresie bhp dla pracowników zatrudnionych na stanowiskach naukowo-dydaktycznych i inżynierijno-technicznych. Organizator: Warszawski Uniwersytet Medyczny, 04.06.2008 r., Warszawa;

[S6] Kurs „Pierwsza pomoc medyczna w nagłym wypadku.” Organizator: Studium Medycyny Katastrof WUM, 23 - 24.09.2008 r., Warszawa;

[S7] Konferencja naukowo-szkoleniowa „Interherba 2008. Lek a suplement diety. Próba usystematyzowania problemów z koegzystencją na rynku.” Organizator: Instytut Roślin i Przetworów Zielarskich, 13.03.2008 r., Poznań;

[S8] Seminarium „Praktyczna statystyka w medycynie i farmacji. Planowanie badań i opracowywanie wyników.” Organizator: StatSoft Polska Sp. z o. o., 11.03.2008 r., Warszawa;

[S9] Seminarium „Najnowsze rozwiązania w metodach chromatograficznych w oparciu o produkty Macherey-Nagel.”, Organizator: LABART Sp. z o. o., 15.09.2008r., Warszawa;

[S10] Kurs „Molekularne metody badań w onkologii.” Organizator: MBS Serwis dla biologii molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, 10 - 12.05.2010 r., Łódź;

[S11] Szkolenie dla osób sprawujących opiekę nad zwierzętami doświadczalnymi. Organizator: Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, Uniwersytet Warszawski Wydział Biologii, Polskie Towarzystwo Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych, 02.12.2011 r., Warszawa;

[S12] Seminarium „Optymalizacja warunków analiz HPLC/MS i UHPLC/MS”. Organizator: Shim-Pol A.M. Borzymowski, Marzec 2013, Warszawa;

[S13] Seminarium „GWP – Dobra Praktyka Ważenia – teoria a rzeczywistość. Aspekty metrologiczne.” Organizator: Mettler-Toledo Sp. z o. o., 16.04.2013 r., Warszawa;

[S14] Szkolenie w zakresie ochrony własności intelektualnej i komercjalizacji wiedzy zorganizowane w ramach projektu „Staż Sukcesem Naukowca” przez Poznański Akademicki Inkubator Przedsiębiorczości, 14-15.12.2013 r., Warszawa;

[S15] Staż w Science Pharma Sp. z o. o. sp. j. (ul. Chełmska 30/34, Warszawa) w ramach Projektu pt.: „Staż Sukcesem Naukowca”, finansowanego z Priorytetu VIII Regionalne kadry gospodarki, Działania 8.2 Transfer wiedzy, Poddziałanie 8.2.1 Wsparcie dla współpracy sfery nauki i przedsiębiorstw Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego. Organizator: Poznański Akademicki Inkubator Przedsiębiorczości, 01.02. – 31.07.2014 r., Warszawa;

[S16] Szkolenie „Interakcje leku z pożywieniem – aspekty dydaktyczne.” Organizator: Zakład Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, 23.01.2015 r., Kraków;

[S17] Szkolenie dla osób wykonujących procedury, szkolenie dla osób odpowiedzialnych za planowanie i przeprowadzanie doświadczeń oraz ich prowadzenie, szkolenie dla osób uśmiercających zwierzęta wykorzystywane w procedurach. Organizator: I Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny, 25.11.-16.12.2015 r., Warszawa;

[S18] Szkolenie „Nowe możliwości wysokoprzepustowych badań *in vivo* i *in vitro*”. Organizator: AnimaLab i Centralne Laboratorium Zwierząt Doświadczalnych CEPT, 31.03.2016 r., Warszawa;

[S19] Szkolenie „Generate quality data by ensuring the health and genetic quality of your mouse colonies; Comparing models for obesity and diabetes research; Introduction to humanized mice for cancer immunotherapy.” Organizator: AnimaLab i Centralne Laboratorium Zwierząt Doświadczalnych CEPT, 16.05.2016 r., Warszawa;

[S20] One Day EFSA Summer School „*In silico/in vitro* approaches for food science” 9.09.2016 r., Parma, Włochy;

g) Członkostwo w towarzystwach naukowych i komitetach redakcyjnych

Od 2005 roku jestem członkiem Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego.

Od 2014 roku jestem członkiem komitetu redakcyjnego (editorial board member) International Journal of Cardiology and Lipidology Research.

Od 2014 roku jestem członkiem komitetu redakcyjnego (editorial board member) International Journal of Pharmaceutical Sciences and Developmental Research.

Od 2014 roku jestem członkiem International Project Management Association IPMA.

h) Recenzowanie publikacji w czasopismach naukowych

W latach 2013-2016 występowałam w roli recenzenta 31 prac zgłoszonych do publikacji w czasopismach krajowych i międzynarodowych: Journal of Gerontology and Geriatrics Research (1), Alternative and Integrative Medicine (1), Pediatrics and Therapeutics (3), Annals of Nutritional Disorders and Therapy (1), Journal of Gastrointestinal and Digestive System (1), Journal of Women's Health Care (1), Journal of Obesity and Weight Loss Therapy (1), Journal of Community Medicine and Health Education (2), European Journal of Lipid Science and Technology – IF 1,953 (1), International Journal of Cardiology and Lipidology Research (3), Journal of Occupational Medicine and Health Affairs (1), HSOA Journal of Food Science and Nutrition (1), African Journal of Biotechnology (1), Journal of Child and Adolescent Behaviour (1), Biology and Medicine (2), Journal of Pediatrics and Child Nutrition (1), International Journal

of Cancer and Oncology (1), Biomedicine & Pharmacotherapy- IF 2,326 (1), Scientific Reports Nature – IF 5,228 (1), Bromatologia i Chemia Toksykologiczna (5), Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego WUM (1).

6) Podsumowanie

Mój dorobek naukowy obejmuje:

- 29 prac oryginalnych, z czego 13 opublikowanych zostało w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Report (JCR), a 16 w czasopismach innych, niż znajdujące się w bazie Journal Citation Report (JCR). W 17 pracach byłam pierwszym autorem.
- 6 prac przeglądowych,
- 35 streszczeń z doniesień prezentowanych na konferencjach naukowych,
- 5 rozdziałów w monografiach,
- sumaryczny impact factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 27,464; łączna punktacja MNiSW: 416 pkt,
- liczba cytowań (bez autocytowań) publikacji według Web of Science TM Core Collection: 14,
- indeks Hirscha (h) według Web of Science TM Core Collection: 3.

Agnieszka Białek