Zakład Bromatologii
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny

dr n. farm. Barbara Anna Bobrowska-Korczak

Dokumentacja o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk farmaceutycznych

Załącznik nr 2

AUTOREFERAT

Warszawa 2015

SPIS TREŚCI

1. IMIĘ I NAZWISKO 3
2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE.....3
3. ZATRUDNIENIE W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH.....3
4. UKOŃCZONE KURSY.....4
5. REALIZOWANE GRANTY.....5
6. WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ – WYNIKAJĄCE 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, Z PÓŹN. ZM.).....6
6.1. TYTUŁ PRACY.....6
6.2. WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ.....6
6.3 OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO PRAC BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ, OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW I WNIOSKÓW.....8
7. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH.....24
7.1. DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWA-BADAWCZA PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA 24
7.2. DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWA-BADAWCZA PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA 32
8. PIŚMIENNICTWO.....35
9. WYKAZ PUBLIKACJI. DONIESIENIA NA ZJAZDACH I KONFERENCJACH.....39
9.1 WYKAZ PRAC OPUBLIKOWANYCH PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA 39
9.2. WYKAZ PRAC OPUBLIKOWANYCH PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA NIEWCHODZĄCYCH W CYKL PRAC BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM POSTĘPOWANIA HABILITACYJNEGO.....41
9.3. DONIESIENIA NA ZJAZDACH I KONFERENCJACH.....42
10. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA.....45

1. IMIĘ I NAZWISKO

Barbara Anna Bobrowska-Korczak

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE

▪ Tytuł zawodowy magistra farmacji uzyskałam w 1999 roku w Akademii Medycznej w Warszawie po obronie pracy magisterskiej pt: „Oznaczanie aflatoksyny M_1 w mleku metodą HPLC z detekcją fluorymetryczną z zastosowaniem kolumn powinowactwa immunologicznego". Promotorem pracy była Pani prof. dr hab. Regina Olędzka.

▪ Stopień doktora nauk farmaceutycznych został nadany przez Radę Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w 2007 roku na podstawie pracy pt: "Wpływ czynników dietetycznych na oksydacyjne uszkodzenia DNA, białek i tłuszczów w organizmach szczurów z wyindukowanymi DMBA nowotworami" (praca z wyróżnieniem). Promotorem pracy był Pan prof. WUM dr hab. Andrzej Tokarz.

▪ Prawo samodzielnego wykonywania zawodu aptekarza nadane Uchwałą Okręgowej Rady Aptekarskiej w Warszawie w 2000 roku.

▪ Roczne studia podyplomowe w zakresie chemii kosmetycznej, Politechnika Warszawska, Wydział Chemiczny, 2000 rok. Temat pracy dyplomowej: "Aktywatory melanogenezy".

▪ Pierwszy Stopień Specjalizacji w zakresie farmacji aptecznej uzyskałam w 2003 roku.

3. ZATRUDNIENIE W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

▪ 1.09.2000 -31.03.2008 – asystent w Katedrze i Zakładzie Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

▪ 1.04.2008 - do chwili obecnej – adiunkt w Katedrze i Zakładzie Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

4. UKOŃCZONE KURSY

1. Kurs pedagogiczny dla nauczycieli akademickich Akademii Medycznej w Warszawie, Akademia Medyczna w Warszawie, Warszawa, 2002.
2. Opieka nad pacjentem w wieku podeszłym, Okręgowa Izba Aptekarska, Warszawa, 2005.
3. Rola farmaceuty w profilaktyce chorób nowotworowych, Okręgowa Izba Aptekarska, Warszawa, 2005.
4. Wybrane aspekty opieki nad pacjentem kardiologicznym, Okręgowa Izba Aptekarska, Warszawa, 2005.
5. Współczesne problemy farmakoterapii chorób nowotworowych, Okręgowa Izba Aptekarska, Warszawa, 2005.
6. Doustne postacie leków o przedłużonym działaniu, Studium Kształcenia Podyplomowego na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Białymstoku, Łomża, 2005.
7. Rola farmaceuty w systemie wstrzymywania i wycofywania z obrotu oraz monitorowania bezpieczeństwa produktów leczniczych, Studium Kształcenia Podyplomowego na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Białymstoku, Łomża, 2005.
8. Postępy nauk farmaceutycznych cześć I, Akademia Medyczna w Warszawie, Wydział Farmaceutyczny, Warszawa, 2006.
9. Postępy nauk farmaceutycznych cześć II, Akademia Medyczna w Warszawie, Wydział Farmaceutyczny Warszawa, 2006.
10. Problemy współczesnej receptury, Akademia Medyczna w Warszawie, Wydział Farmaceutyczny Warszawa, 2006.
11. Biofarmaceutyczna ocena jakości postaci leku, Akademia Medyczna w Warszawie, Wydzał Farmaceutyczny, Warszawa, 2007.
12. Farmakokinetyka stosowana, Akademia Medyczna w Warszawie, Wydział Farmaceutyczny, Warszawa, 2008.
13. Molekularne Metody Genotypowania, Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa, 2009.
14. Molekularna Filogenetyka, Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa, 2010.
15. Postępy w farmakoterapii chorób układu krążenia, Studium Kształcenia Podyplomowego na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Białymstoku, Łomża, 2010.
16. Farmakoterapia chorób układu pokarmowego. Studium Kształcenia Podyplomowego na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Białymstoku, Łomża, 2010.

17. Profilaktyka oraz leczenie nadwagi, Uniwersytet Jagielloński Studium Kształcenia Podyplomowego Wydziału Farmaceutycznego, Warszawa, 2011.
18. Letni kurs hodowli komórek zwierzęcych, Zakład Cytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa, 2012.
19. Postępy w farmakoterapii układu krążenia część 2, Studium Kształcenia Podyplomowego na Wydziale Farmaceutycznym Akademii Medycznej w Białymstoku, Łomża, 2013.
20. Uzależnienie od alkoholu – choroba alkoholowa, zapobieganie, leczenie, skutki, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny, Warszawa, 2013.
21. Warsztaty cytometria przepływowa w onkologii molekularnej, Warszawa, 2014.
22. Współczesna antybiotyko- i chemioterapia chorób infekcyjnych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, Pułtusk, 2014.
23. Immunoprofilaktyka chorób infekcyjnych, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, Pułtusk, 2014.
24. Kursy odbyte w ramach specjalizacji I stopnia w zakresie farmacji aptecznej.

5. REALIZOWANE GRANTY

1. Grant uczelniany - projekt młodego badacza: "Badanie wpływu czynników dietetycznych na oksydacyjne uszkodzenia DNA z wykorzystaniem 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny jako biowskaźnika" FW12/WB2/2005, Katedra i Zakład Bromatologii, **kierownik projektu**.

2. Grant uczelniany - projekt młodego badacza: "Wpływ czynników dietetycznych na oksydacyjne uszkodzenia DNA, białek i tłuszczów w organizmach szczurów z wyindukowanymi DMBA nowotworami" FW/12/WB4/08, Katedra i Zakład Bromatologii, **kierownik projektu**.

3. Grant Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (NN405358339) pt: "Wpływ składników diety na wybrane biowskaźniki wczesnych zmian nowotworowych u szczurów traktowanych 7,12-dimetylobenzantracenem", okres realizacji: 2010-2014, Zakład Bromatologii, **kierownik projektu.**

6. WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ – WYNIKAJĄCE 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, Z PÓŹN. ZM.)

6.1. TYTUŁ ROZPRAWY HABILITACYJNEJ

OCENA WPŁYWU WYBRANYCH SKŁADNIKÓW MINERALNYCH I POLIFENOLI NA BIOWSKAŹNIKI W PROCESIE NOWOTWOROWYM WYWOŁANYM DMBA U SZCZURÓW

6.2. WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ

PRZEDMIOTEM POSTĘPOWANIA HABILITACYJNEGO JEST 12 PRAC O ŁĄCZNYM IF = 12,258 (MNiSW/KBN=169) WYKONANYCH I OPUBLIKOWANYCH W LATACH 2008-2014.

Publ.-1. B. Bobrowska, D. Skrajnowska, A. Tokarz: Effect of Cu supplementation on genomic instability in chemically-induced mammary carcinogenesis in the rat. Journal of Biomedical Science 2011, 18:95. **IF 1,980**

Publ.-2. B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, A. Tokarz, S. Bialek, E. Jezierska: Effect of zinc and polyphenols supplementation on antioxidative defense mechanisms and the frequency of microsatellite instability in chemically-induced mammary carcinogenesis in the rat. Cancer Biomarkers 2014, doi:103233/CBM 140445. **IF=1,186**

Publ.-3. B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, A. Tokarz, K. Szpaderska: Niestabilność mikrosatelitarna jako potencjalny marker do badań nutrigenomicznych. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2012, 3, 590-595.

Publ.-4. B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, A. Tokarz: Geny H-RAS1 I K-RAS1 jako potencjalne markery w raku piersi. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2012, 3, 586–589.

Publ.-5. B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, A. Tokarz: Effect of zinc and copper suplementation on the prognostic value of urinary 5-methyl-2'-deoxycytidine in DMBA-induced carcinogenesis in rats. Cancer Biomarkers 2013, 13, 403-410. **IF 1,186**

Publ.-6. B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, M. Feder, A. Tokarz: Wpływ olejów roślinnych na zawartość 7-metyloguaniny w surowicy krwi u szczurów. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2014, 47(3), 289-293.

Publ.-7. D. Skrajnowska, **B. Bobrowska–Korczak,** A. Tokarz, S. Bialek, E. Jezierska, J. Makowska: Copper and resveratrol attenuates serum catalase, glutathione peroxidase and element values in rats with DMBA-induced mammary carcinogenesis. Biological Trace Element Research 2013, 156, 271-278. **IF 1,608**

Publ.-8. B. Bobrowska, A. Tokarz, S. Bialek M. Seweryn: Effect of dietary supplementation on the prognostic value of urinary and serum 8-isoprostaglandin F2alpha in chemically-induced mammary carcinogenesis in the rat. Lipids in Health and Disease 2011, 10:40. **IF 2,170**

Publ.-9. B. Bobrowska, A. Tokarz, G. Grynkiewicz, S. Białek, M. Matysiak, T. Bat-Erdene: The effect of poliphenols on markers of oxitative damage and DMBA induced carcinogenesis in rats. Journal of Food Lipids 2009, 16, 103-112. **IF=1,070**

Publ.-10. B. Bobrowska-Korczak, D. Skrajnowska, A. Tokarz: The effect of dietary zinc - and polyphenols intake on DMBA-induced mammary tumorigenesis in rats. Journal of Biomedical Science 2012,19:43. **IF=2,458**

Publ.-11. D. Skrajnowska, **B. Bobrowska-Korczak,** M. Wereszczyńska, A. Tokarz: The effect of dietary zinc and polyphenols intake on hair mineral contents in rats with DMBA-induced mammary cancer. Polish Journal of Environmental Studies 2014, 23, 203-209. **IF 0,600**

Publ.-12. B. Bobrowska, A. Tokarz, G. Grynkiewicz: Rola składników diety w rozwoju procesu nowotworowego indukowanego 7,12-dimetylobenzantracenem u szczurów Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2009, 3, 1017–1023.

6.3 OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO PRAC BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ, OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW I WNIOSKÓW

Nowotwory złośliwe stanowią drugą przyczynę zgonów w Polsce, powodując ponad 26% zgonów wśród mężczyzn i 23% zgonów wśród kobiet. W populacji kobiet wiodącymi umiejscowieniami nowotworów są pierś, płuco i jelito grube (okrężnica i odbytnica). Dominujące wśród kobiet nowotwory piersi od początku ubiegłej dekady wykazują niewielki spadek umieralności (13% zgonów) przy stale rosnącej zachorowalności (obecnie około 23%) [1].

Przyjmuje się, że czynnikami sprzyjającymi rozwojowi nowotworów są: nieodpowiednia dieta, predyspozycje genetyczne i wpływ szkodliwych czynników środowiskowych. Predyspozycje genetyczne jako przyczyna powstawania nowotworów oceniane są na około 20% przypadków. Co najmniej 35% wszystkich chorób nowotworowych na świecie spowodowane jest niewłaściwym sposobem odżywiania, a w przypadku raka okrężnicy dieta jest odpowiedzialna za 80% przypadków tej choroby. Jeśli dołączyć do tego palenie papierosów i alkohol, udział diety w wywoływaniu nowotworów rośnie do 60%. Pozostałe przypadki przypisuje się wpływom kancerogenów środowiskowych [2].

Obecnie postęp nauki i medycyny w dziedzinie chorób nowotworowych jest ogromny, szczególnie rozwinęły się działania w obszarze profilaktyki i diagnostyki. Jednym z kierunków działań profilaktycznych jest poszukiwanie biowskaźników wczesnego wykrywania zmian patologicznych. Duże znaczenie mają również badania mechanizmów działania poszczególnych składników diety, które mogłyby zostać wykorzystane w profilaktyce, bądź wspomaganiu leczenia farmakologicznego.

Celem badań rozprawy habilitacyjnej jest ocena wpływu wybranych składników mineralnych (cynku i miedzi) w połączeniu ze związkami polifenolowymi (genisteiną, resweratrolem) na biowskaźniki przebiegu procesu nowotworowego wyindukowanego 7,12-dimetylobenz[a]antracenem (DMBA) u szczurów. Badania dotyczyły następujących biowskaźników: występowania niestabilności mikrosatelitarnych, procesu metylacji

DNA, procesów oksydo-redukcyjnych (peroksydacji lipidów, aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych) oraz zawartości i dystrybucji pierwiastków.

Obecnie w badaniach coraz więcej uwagi poświęconych jest wyjaśnieniu roli pierwiastków w procesie kancerogenezy. Właściwości prokancerogenne mają głównie arsen, nikiel, chrom, kobalt oraz żelazo, natomiast niedobry magnezu, wapnia, cynku i selenu sprzyjają wzrostowi ryzyka zachorowania na nowotwory. Przeprowadza się wiele badań, ale ich wyniki są bardzo niejednoznaczne, stąd brak ostatecznego stanowiska wobec tego problemu. Mnogość mechanizmów, przez które działają pierwiastki śladowe także uniemożliwia rozstrzygnięcie wielu kwestii związanych z powstawaniem guzów nowotworowych. Nie ma natomiast wątpliwości, co do tego, że istnieje korelacja między obecnością niektórych pierwiastków, a np. angiogenezą w tkance nowotworowej, wytwarzaniem wolnych rodników, czy uszkodzeniem DNA, które sprzyjają wystąpieniu niekorzystnych mutacji. Istotne dla problemu powstawania nowotworów jest określenie stężenia, w którym dany pierwiastek może inicjować proces nowotworzenia. Prowadzi się wiele badań naukowych w tym kierunku. Próbuje się także stworzyć różne terapie, w których to ogranicza się wzrost i rozwój nowotworu poprzez wiązanie nadmiaru danego pierwiastka w nieaktywne kompleksy. Przykładem może być leczenie hiperkalcemii, tak często towarzyszącej nowotworom piersi, gdzie wykorzystuje się dwufosfoniany usuwające nadmiar wapnia. Duże nadzieje wiąże się z badaniami właściwości cynku i selenu. Pierwiastki te wykazują przeciwnowotworową, ochronną rolę [3-8].

Mechanizm działania polifenoli jest złożony i jeszcze nie do końca wyjaśniony. Dotychczas wykazano, że są one m.in. zdolne do: zapobiegania mutagenezie, hamowania proliferacji komórek nowotworowych, indukcji apoptozy, zapobiegania przerzutom, indukcji różnicowania się komórek nowotworowych. Istnieją dowody potwierdzające ich zdolność do zmiatania wolnych rodników, tworzenia kompleksów z jonami metali katalizującymi powstawanie wolnych rodników, a także do hamowania niektórych enzymów uczestniczących w procesach oksydacyjnych. Ale związki polifenolowe mogą wykazywać także działanie prooksydacyjne. Kierunek ich działania zależy bowiem od szeregu czynników środowiskowych, od stanu organizmu, dawki i czasu stosowania tych związków [9-12]. Podobnie jak w przypadku składników mineralnych, mimo licznych badań wciąż jednak nie wiadomo, w jakich dawkach, w jakich zestawieniach, a przede wszystkim komu powinny być one podawane, aby osiągać najbardziej pożądane efekty zdrowotne, stąd zainteresowanie tym kierunkiem badań.

Materiałem do badań były tkanki pobrane po dekapitacji (guzy, tkanka okołonowotworowa, wątroba), krew i mocz, sierść samic szczurów Sprague – Dawley. Zwierzęta pochodziły z Pracowni Zwierząt Laboratoryjnych Katedry i Zakładu Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. **Na prowadzenie badań uzyskałam zgodę Komisji Etycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Warszawie** (Uchwała nr 12 z dnia 18 marca 2008 roku).

Szczury miały zapewniony ciągły dostęp do wody i paszy, przetrzymywane były w pomieszczeniu o stałej temperaturze i kontrolowanych fotookresie (12h/dzień).

Zwierzęta podzieliłam na dwie grupy badawcze:

Grupa I - grupa badana - szczury, którym podawałam w 50 i 80 dniu życia 7,12-dimetylo-benz[a]antracen w dawce 80 mg/kg masy ciała w celu wywołania nowotworów sutka,

Grupa II - grupa kontrolna - szczury, które przebywały w identycznych warunkach jak zwierzęta z grupy badanej, otrzymywały analogiczną dietę, nietraktowane DMBA.

Zwierzęta w obu grupach badawczych otrzymywały diety o zwiększonej zawartości:

- cynku 6.9 mg/mL (231 mg Zn (II)/kg diety) ($ZnSO_4$ $7H_2O$ w roztworze wodnym),
- cynku 6.9 mg/mL (231 mg Zn (II)/kg diety) i resweratrolu 0.1 mg/mL (0.2 mg/kg masy ciała) (w roztworze wodnym),
- cynku 6.9 mg/mL (231 mg Zn (II)/kg diety) i genisteiny 0.1 mg/mL (0.2 mg/kg masy ciała) (w roztworze wodnym),
- miedzi 1.3 mg/mL (42.6 mg Cu (II)/kg diety) ($CuSO_4$ $5H_2O$ w roztworze wodnym),
- miedzi 1.3 mg/mL (42.6 mg Cu (II)/kg diety) i resweratrolu 0.1 mg/mL (0.2 mg/kg masy ciała) (w roztworze wodnym).

Wyżej wymienione elementy diety podawałam zwierzętom doświadczalnym sondą dożołądkowo w ilości 0,4 ml/dzień/szczura od 40 dnia życia szczura do czasu dekapitacji (20 tydzień życia szczurów).

Dawki związków polifenolowych ustaliłam na podstawie zamieszczonych w piśmiennictwie danych dotyczących dziennego średniego spożycia w/w związków z dietą przez ludzi (w przeliczeniu na masę ciała) [13,14]. Dawki wybranych składników mineralnych ustaliłam na podstawie ich zawartości w diecie standardowej (Labofeed H) (77 mg Zn/kg paszy; 21,3 mg Cu/kg paszy) [15].

W celu uzyskania próbek moczu, szczury umieszczałam pojedynczo w klatkach metabolicznych na 24 godziny. Zebrany materiał zamrażałam w temperaturze – 70°C i

przechowywałam do czasu wykonania analizy. Mocz każdego zwierzęcia zbierałam raz w tygodniu od 10 do 19 tygodnia życia zwierząt.

Tkanki (guzy, tkanka okołonowotworowa, wątroba), krew oraz sierść badanych zwierząt pobrane były po dekapitacji zwierząt w 20 tygodniu ich życia.

Metody analityczne oceny wybranych biowskaźników opisane są w dalszych, poszczególnych częściach pracy.

Zastosowane w badaniach składniki diety w różnym stopniu wpływały na intensywność przebiegu indukowania guzów nowotworowych. W ocenie zachodzącego procesu nowotworowego uwzględniłam przede wszystkim takie czynniki jak: ciężar, a także liczba guzów w grupie, jak i czas pojawienia się pierwszych guzów, kiedy ich obecność pod skórą była wyczuwalna. Wyniki dotyczące ciężaru guzów i ich liczby pochodzą z 20 tygodnia życia szczurów (czas dekapitacji).

Niezależnie od zastosowanej diety efektywność indukcji nowotworowej za pomocą DMBA wynosiła 100% [**Publ.-1, Publ.-2**]. Jedynie w grupie szczurów otrzymujących Zn + genisteinę, u jednego szczura nie pojawiły się żadne guzy. Zaskakujące, iż skutkiem synergistycznej reakcji cynku i resweratrolu była stymulacja procesu nowotworowego, w odniesieniu do zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową, suplementowanych cynkiem bądź cynkiem i genisteiną. Pierwsze palpacyjnie wyczuwalne guzy w tej grupie pojawiły się bowiem już w 13 tygodniu, czyli dwa tygodnie wcześniej w porównaniu do w/w grup (w pozostałych grupach w 15 tygodniu). Grupa suplementowana Zn i resweratrolem charakteryzowała się najwyższą liczbą guzów u jednego szczura. W przypadku zwierząt otrzymujących miedź bądź miedź w połączeniu z resweratrolem pierwsze palpacyjnie wyczuwalne guzy pojawiły się w 14 tygodniu życia zwierząt.

Do oceny wpływu wybranych składników diety zastosowałam metodę badania niestabilności mikrosatelitarnych, loci ze zmienną liczbą tandemowych powtórzeń [**Publ.-1, Publ.-2, Publ.-3**]. Około 30% genomu człowieka tworzą tzw. sekwencje powtarzające, wśród których na szczególną uwagę zasługują te, które mają ułożenie tandemowe i formują tzw. satelitarny DNA [16]. Satelitarny DNA stanowi około 10% genomu i dzieli się na 3 frakcje: makro-, mini-, mikrosatelitarny DNA. Odcinki mikrosatelitarnego DNA nie są dłuższe od 1 kz, składają się z około 10-100 powtórzeń określonej sekwencji 2-6 zasad. Najczęściej występującymi sekwencjami mikrosatelitarnymi w genomach większości gatunków są powtórzenia dwunukleotydowe. Często występują układy typu: (AC)n, (AGC)n, (AATG)n. Funkcją bądź/i efektem obecności mikrosatelit w genomie są: organizacja chromatyny (organizacja chromosomów, struktura DNA, struktura telomerów i

centromerów), regulacja procesów metabolicznych w DNA (replikacja, rekombinacja, cykl komórkowy) oraz regulacja działania genów (transkrypcja, translacja, wiązanie białek) [16-19]. Biorąc pod uwagę wielopostaciowość sekwencji w danym powtarzającym się motywie, jak również różnorodność długości fragmentów, możliwość kombinacji występujących w genomie danego człowieka jest duża i umożliwia badania segregacji alleli w przypadkach przypuszczalnych chorób genetycznych (medycyna, weterynaria, rolnictwo), szacowanie zmienności genetycznej danej populacji, jak również badań pokrewieństwa (kryminalistyka, rolnictwo) [20]. Jednakże zmienność sekwencji mikrosatelitarnych może być również skutkiem zachodzących w tych regionach mutacji, prowadzących w konsekwencji do rozwoju procesu patologicznego, w tym nowotworowego. Zjawisko to określamy niestabilnością mikrosatelitarną. Im dłuższy motyw tym większe tempo mutacji [21]. Badania niestabilności sekwencji mikrosatelitarnych coraz częściej wykorzystywane są jako narzędzie w klasyfikacji różnych typów nowotworów. Niestabilność mikrosatelitarna została wykryta z różną częstotliwością w licznych nowotworach, między innymi w raku jelita grubego, endometrium, sutka, żołądka, trzustki, jajnika, prostaty, płuc, miedniczek nerkowych i moczowodu. Występuje zarówno w guzach dziedzicznych, jak i sporadycznych [16,22]. Mimo licznych badań niestabilności mikrosatelitarnego DNA w procesach patologicznych, w tym w nowotworach brakuje danych odnośnie wpływu składników diety na ten marker.

Celem badań była ocena wpływu wybranych polifenoli i składników mineralnych na występowanie niestabilności mikrosatelitarnych u szczurów traktowanych w celu wywołania nowotworu sutka DMBA. Materiałem do badań były krew, guzy, tkanki wątroby i tkanka okołonowotworowa szczurów samic szczepu Spraque-Dawley. Badaniem objęłam 14 sekwencji mikrosatelitarnych zlokalizowanych na chromosomach: 1, 3, 5, 7, 8, 15, 18: D1Mgh6 (127 pz), D1Mgh2 (150 pz), D3Mit3 (155 pz), D3Mgh5 (131 pz), D3Mgh7 (128 pz), D3Mgh9 (125 pz), D5Mgh5 (131 pz), D5Mit11 (145 pz), D5Mgh3 (102 pz), D7Mgh1 (126 pz), D7Mit11 (84 pz), D8Mgh11 (146 pz), D15Mgh4 (122 pz), D18Mgh3 (171 pz). Wyboru markerów mikrosatelitarnych oraz metody procedur analitycznych dokonałam w oparciu o dane pochodzące z piśmiennictwa [23,24]. Analizę niestabilności mikrosatelitarnych przeprowadziłam metodą elektroforezy na żelach poliakrylamidowych barwionych bromkiem etydyny. Powielanie sekwencji DNA przeprowadziłam metodą łańcuchowej reakcji polimerazy PCR. Niestabilność mikrosatelitarną oceniałam na podstawie obecności dodatkowego amplikonu o innej wielkości w żelu w próbkach materiału biologicznego pochodzącego od zwierząt z grup traktowanych DMBA w porównaniu do próbek materiału biologicznego uzyskanych od zwierząt nie traktowanych DMBA.

Wstępnie przeprowadziłam ocenę **występowania niestabilności sekwencji mikrosatelitarnych we krwi** szczurów traktowanych w celu wywołania nowotworu sutka 7,12-dimetylobenz[a]antracenem, w porównaniu do zwierząt nie otrzymujących czynnika kancerogennego. Materiał do badań pochodził od szczurów traktowanych DMBA, u których guzy były wyczuwalne palpacyjnie (okres późnej fazy rozwoju nowotworu) oraz od zwierząt, u których nie stwierdzono jeszcze wyczuwalnych palpacyjnie zmian (okres wczesnej fazy rozwoju nowotworu). Badaniem objełam następujące sekwencje mikrosatelitarne: D1Mgh6 (wielkość produktu PCR 127 pz), D5Mit11 (wielkość produktu PCR 145 pz), D5Mgh3 (wielkość produktu PCR 102 pz), D15Mgh4 (wielkość produktu PCR 122 pz), D18Mgh3 (wielkość produktu PCR 171 pz). Analiza wybranych sekwencji mikrosatelitarnych w zastosowanym modelu badawczym z indukowaniem guzów piersi za pomocą DMBA u szczurów nie wykazała jednak różnic w długości wybranych fragmentów DNA mikrosatelitarnego, zarówno we wczesnej, jak i późnej fazie rozwoju guza.

Pomimo stwierdzenia braku niestabilności mikrosatelitarnej we krwi szczurów w zastosowanym modelu kontynuowałam pracę z zastosowaniem jako materiału badawczego **guzów, tkanki wątroby i tkanki okołonowotworowej**. Badania występowania stabilności mikrosatelitarnej we krwi miały posłużyć szczególnie ocenie tego markera pod kątem diagnostycznym oraz prognostycznym u pacjentów chorych na nowotwory złośliwe, albowiem krew jest materiałem bardzo łatwo dostępnym. Badania prowadzone z zastosowaniem tkanek miały na celu ocenę wpływu składników diety na występowanie zmian w materiale genetycznym, które mogłyby być wykorzystane następnie w profilaktyce bądź wspomaganiu leczenia farmakologicznego.

W wyniku przeprowadzonych badań u szczurów otrzymujących wyłącznie dietę standardową niestabilność mikrosatelitarna występowała w wątrobach w przypadku 2. z 10 mikrosatelit (D3Mgh7 128 pz i D3Mgh9 125 pz). W przypadku dwóch próbek wątroby utrata heterozygotyczności występowała w 2. loci. Utrata heterozygotyczności w wątrobach występowała w 2. z 4. mikrosatelit znajdujących się na chromosomie 3. Dla żadnego z analizowanych markerów nie stwierdziłam obecności zmian mikrosatelitarnych w przypadku guzów nowotworowych [**Publ.-1**].

Dalsze badania dotyczyły wpływu suplementacji zwierząt polifenolami i składnikami mineralnymi na występowanie niestabilności mikrosatelitarnej. W oparciu o wyniki uzyskane w przypadku zwierząt otrzymujących dietę standardową wybrałam 4 mikrosatelity, w tym dwie w których wykryto zmiany w materiale genetycznym (D3Mgh7 i D3Mgh9) oraz kolejne 2 mikrosatelity, w których nie występowała niestabilność (D1Mgh6 oraz D8Mgh11) (wybane

losowo). Co ciekawe, zwierzęta które otrzymywały Cu (II) bądź Cu (II) w połączeniu z resweratrolem charakteryzowały się utratą heterozygotyczności mikrosatelity D3Mgh9 zarówno w wątrobach, jak również w guzach nowotworowych (odpowiednio ze względu na rodzaj suplementacji 50% i 40%). W przypadku, kiedy zwierzęta otrzymywały dietę wzbogaconą w Cu (II) i resweratrol występowała dodatkowo w wątrobach szczurów niestabilność mikrosatelity D1Mgh6 (2/8 próbek (25%)).

Z badań wynika, że mobilizacja miedzi endogennej, związanej w jądrze, np. przez resweratrol może wywoływać uszkodzenia i fragmentację DNA w ludzkich komórkach raka, co potwierdzają również nasze badania [25,26]. W badaniach tych bardzo ważne jest dobranie odpowiednio wysokiej dawki resweratrolu oraz czasu podawania [27-29]. Są bowiem doniesienia, że podaż resweratrolu (wykazującego podobieństwo do płciowych hormonów sterydowych) przed pokwitaniem wywołuje endokrynne zakłócenia powodujące nieregularne cykle z wydłużoną fazą rujową, zwiększając mnogość guzów sutka u szczurów. Należy podkreślić, że resweratrol wykazuje antykancerogenną aktywność na modelach zwierzęcych, gdy podawany jest osobnikom dorosłym [30]. Podwyższone stężenie miedzi w tkankach nowotworowych prawdopodobnie stymuluje rozwój guza w gruczole sutkowym, poprzez angiogenezę i oksydatywne uszkodzenia DNA.

W badaniach wpływu cynku wykazałam występowanie niestabilności sekwencji satelitarnych w wątrobach badanych zwierząt w przypadku mikrosatelit: D1Mgh6, D3Mgh7, D3Mgh9. Co ciekawe, zwierzęta które otrzymywały cynk w połączeniu z polifenolami charakteryzowały się niestabilnością mikrosatelitarną również w guzach (w przypadku suplementacji cynkiem i genisteiną stwierdziłam występowanie niestabilności mikrosatelity D3Mgh9 dla 100% badanych próbek, w przypadku połączenia cynku i resweratrolu w 1 z 10 próbek (mikrosatelita D3Mgh9)), natomiast w wątrobie niestabilność mikrosatelitarna występowała wyłącznie w przypadku mikrosatelity D3Mgh9 (odpowiednio 50% i 20%). Wykazałam wzrost występowania niestabilności mikrosatelitarnych u szczurów nietraktowanych DMBA i otrzymujących dodatkowo Zn **[Publ.-2]**

Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, że suplementacja wybranymi składnikami diety zwierząt z nowotworami indukowanymi DMBA ma duży wpływ na stabilność sekwencji mikrosatelitarnych chromosomalnego DNA. W piśmiennictwie wyraźnie brakuje danych na ten temat.

W pracy pt:" Niestabilność mikrosatelitarna jako potencjalny marker do badań nutrigenomicznych" **[Publ.-3]** przedstawiłam wyniki oceny występowania niestabilności sekwencji mikrosatelitarnych w DNA pochodzącym z tkanki okołonowotworowej i guzów

szczurów, traktowanych w celu wywołania nowotworu piersi 7,12-dimetylobenz[a]antracenem, w odniesieniu do DNA izolowanego z tkanki wątrobowej zwierząt nie otrzymujących czynnika kancerogennego. Spośród czterech badanych markerów niestabilność mikrosatelitarną stwierdziłam w przypadku mikrosatelit D1Mgh6 oraz D3Mgh9. W przypadku D1Mgh6 loci niestabilność dotyczyła 2 próbek guzów (20%) oraz 3 próbek tkanki okołonowotworowej (43%), natomiast w przypadku D3Mgh9 aż 100% guzów, 100% próbek tkanki okołonowotworowej oraz 50% próbek wątroby. Przeprowadzone badania nie wykazały zależności między występowaniem niestabilności w 2. loci, a efektywnością indukcji nowotworowej wyrażonej ilością guzów u jednego szczura, jak również maksymalną masą guza u jednego szczura. Stabilność mikrosatelitarną w przypadku wszystkich badanych próbek stwierdzono w przypadku mikrosatelit D3Mgh7 oraz D8Mgh11. Podsumowując uzyskane wyniki badań można stwierdzić, iż bardzo interesującym materiałem do badań, ze względu na obecność niestabilności mikrosatelitarnych, jest tkanka okołonowotworowa. W piśmiennictwie brakuje danych dotyczących tej tkanki. Tkanka okołonowotworowa jako tkanka prawidłowa powinna wykazywać cechy charakterystyczne dla materiału kontrolnego. W związku z uzyskanymi wynikami badań nasuwa się pytanie, czy obecność niestabilności sekwencji mikrosatelitarnych w tkance otaczającej guz piersi może świadczyć o rozprzestrzenianiu się komórek nowotworowych na sąsiednie tkanki.

W następnym etapie badań dokonałam oceny występowania mutacji w genach H-ras1 i K-ras1 w DNA pochodzącym z guzów nowotworowych szczurów traktowanych w celu wywołania nowotworu piersi 7,12-dimetylobenz[a]antracenem **[Publ.-4]**. Materiałem kontrolnym było DNA izolowane z tkanek wątroby pochodzących od szczurów nietraktowanych DMBA. Dokonałam oceny możliwości wykorzystania wybranych genów jako markerów w badaniach oddziaływania składników diety na genom. Podsumowując uzyskane wyniki analizy DNA stwierdziłam, że w zastosowanym modelu badawczym, zarówno w guzach nowotworowych (u szczurów traktowanych DMBA), jak i tkankach wątroby (w grupie kontrolnej) nie wykryto mutacji w amplifikowanych fragmentach genów H-ras1 oraz K-ras1. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdziłam, że występowanie mutacji w genach K-ras1 i H-ras1 jest zjawiskiem rzadko występującym i dlatego mało charakterystycznym w przypadku nowotworów piersi, indukowanych chemicznie za pomocą DMBA, co dyskwalifikuje zastosowany model badawczy do badań nutrigenomicznych.

Kolejnym zagadnieniem zaprezentowanym w powyższych publikacjach była ocena wpływu składników diety na proces metylacji DNA.

Metylacja DNA jest odwracalną modyfikacją epigenetyczną regulującą ekspresję genów. Zaburzenia profilu metylacji stwierdzono u pacjentów z chorobami genetycznymi, ale również w chorobach ośrodkowego układu nerwowego, układu sercowo-naczyniowego oraz w chorobach nowotworowych. Podczas procesu nowotworzenia dochodzić może do hipermetylacji wysp CpG, sekwencji powtórzonych DNA, genów uczestniczących w kontroli przebiegu cyklu komórkowego, oporności na leki, angiogenezy, różnicowania komórkowego, czy naprawy uszkodzonego DNA. Wpływ hipometylacji na onkogenezę wyraża się nadekspresją onkogenów spowodowaną demetylacją regionów promotorowych tych onkogenów [31]. Zmiany profilu metylacji DNA mogą być oceniane przez pomiar zawartości 5-metylo-2'-deoksycytydyny (5-MedC) w moczu i surowicy. Związek te uważany jest za obiecujący biowskaźnik w działaniach prewencyjnych i śledzeniu rozwoju procesu nowotworowego [32].

Celem badań była ocena wpływu cynku lub miedzi podawanych zwierzętom osobno, bądź w połączeniu z resweratrolem na proces metylacji DNA u szczurów indukowanych 7,12-dimetylobenz[a]antracenem. **Badania dotyczyły kinetyki zmian zawartości 5-metylo-2'-deoksycytydyny w moczu we wczesnej i późnej fazie tworzenia guzów (10, 14, 19 tydzień życia szczurów), jak również wpływu wybranych składników diety na ten proces [Publ.-5].**

Zawartość 5-MedC w moczu szczurów oznaczałam metodą ELISA przy zastosowaniu testu DNA Methylation EIA Kit firmy Cayman Chemical Company Ann Arbor MI. W celu ujednolicenia wyników zawartość 5-MedC przeliczałam na zawartość kreatyniny.

Zwierzęta traktowałam DMBA (80 mg/kg m.c., podawałam za pomocą sondy dożołądkowo, w oleju rzepakowym) w 7. tygodniu ich życia (w 50. dniu ich życia – uważa się, iż w tym czasie zwierzęta uzyskują dojrzałość płciową). Kiedy po 3. tygodniach zebrałam pierwszą partię moczu u żadnego z badanych zwierząt nie stwierdziłam występowania palpacyjnie wyczuwalnych guzów. Był to okres wczesnej fazy tworzenia nowotworu. Dawkę podtrzymującą DMBA (80 mg/kg mc) zwierzęta z grupy badanej otrzymały w 11. tygodniu życia (80. dzień życia). W 13. tygodniu w grupie zwierząt otrzymujących Zn i resweratrol wykryłam pierwszego guza u 1/10 szczurów. Indukcja nowotworów u zwierząt w 14. tygodniu ich życia była zależna od stosowanej suplementacji. U zwierząt otrzymujących Cu i/lub Zn z resweratrolem wynosiła około 20%. Wśród zwierząt suplementowanych miedzią 11%. W 19. tygodniu życia zwierząt zapadalność na nowotwory wynosiła 100% dla wszystkich badanych grup, niezależnie od stosowanej suplementacji.

W wyniku przeprowadzonych badań wykazałam, że kinetyka zmian zawartości 5-MedC w moczu szczurów zależy od etapu rozwoju procesu nowotworowego indukowanego DMBA, jak również od stosowanej suplementacji. Wykazałam, że w przypadku zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową, traktowanych DMBA, zawartość 5-MedC w moczu pochodzącym z 10. tygodnia była znacznie niższa w porównaniu z zawartością biowskaźnika w moczu pochodzącym z 19. tygodnia (43.56±14.34 vs. 71.84±42.64). Takiej zależności nie zaobserwowałam w przypadku zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową, ale nie traktowanych DMBA (37.87±24.99 vs 29.82±7.15). Zwierzęta traktowane DMBA i otrzymujące dodatkowo miedź, bądź miedź z resweratrolem charakteryzowały się znacznie wyższą zawartością badanego markera w moczu pochodzącym z 19. tygodnia w odniesieniu do zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową, jak również wzbogaconą w cynk. Dodatek do diety Zn u zwierząt traktowanych DMBA powoduje znaczne obniżenie zawartości 5-MedC (ze względu na wysokie wartości odchylenia standardowego wyniki istotne statystycznie uzyskano wyłącznie w 10. tygodniu), w stosunku do analogicznego okresu i zastosowania diety standardowej, natomiast w przypadku zwierząt nie traktowanych DMBA suplementacja cynkiem powoduje wzrost zawartości metylowanej pochodnej w moczu (wartości istotne statystycznie wykazano dla 14. tygodnia).

Podsumowując uzyskane wyniki badań stwierdziłam, że zawartość 5-metylo-2'-deoksycytydyny w moczu szczurów zależy od rodzaju zastosowanej suplementacji. Okazało się, że dawka resweratrolu była zbyt niska, aby zapobiec intensywnemu tworzeniu się badanej metylopochodnej stymulowanej obecnością w diecie miedzi, jak również rozwojem zachodzącego procesu nowotworowego.

5-metylo-2'-deoksycytydyna występuje bardzo powszechnie w ludzkim DNA. Powstaje w wyniku wprowadzenia grupy metylowej w pozycję C5 cytozyny na skutek działania metylotransferaz [31]. Związek ten jest markerem odzwierciedlającym poziom metylacji DNA. Z kolei do określenia narażenia na różne kancerogeny obecne w środowisku, które wprowadzają grupy alkilowe do nukleotydów DNA w innych pozycjach, niż te metylowane przez enzymy metylujące użytecznym biomarkerem jest 7-metyloguanina [33].

W związku z powyższym dokonałam walidacji metody HPLC z detekcją elektrochemiczną oznaczania 7-metyloguaniny w surowicy krwi. W analizie zawartości 7-metyloguaniny wykorzystałam metodę opracowaną przez Ichiba i współ. [34] z kilkoma własnymi modyfikacjami. Dokonałam oceny wpływu wybranych olejów roślinnych (oleju

lnianego, oliwkowego, słonecznikowego) na zawartość 7-metyloguaniny w surowicy krwi szczurów **[Publ.-6]**.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdziłam, istotny statystycznie wzrost zawartości badanego biowskaźnika u zwierząt otrzymujących olej lniany, w odniesieniu do zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową. Szczury otrzymujące oliwę charakteryzowały się znacznie niższą zawartością badanego biowskaźnika (w odniesieniu do zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową). Podobną zależność wykazałam oznaczając metodą ELISA zawartość 5-metylo-2'-deoksycytydyny w surowicy krwi szczurów otrzymujących analogiczne diety.

Podsumowując można stwierdzić, iż badania mechanizmu działania składników diety na proces metylacji DNA mogą mieć ogromne znaczenie w ich wykorzystaniu w profilaktyce, jak również wspomaganiu leczenia farmakologicznego nowotworów.

Uszkodzenia oksydacyjne materiału genetycznego prowadzące do zaburzenia stabilności mikrosatelitarnego DNA bądź zaburzeń procesu metylacji skutkować mogą rozwojem procesu nowotworowego. Dlatego w prowadzonych przeze mnie pracach ważne wydały się być **badania oceny wpływu wybranych składników diety na aktywność enzymów antyoksydacyjnych w zachodzącym procesie nowotworowym [Publ.-2, Publ.-7]**.

Kluczowym enzymem w procesie obrony antyoksydacyjnej jest dysmutaza ponadtlenkowa (SOD). Enzym ten katalizuje reakcję dysproporcjonowania anionorodnika ponadtlenkowego, powodując wytwarzanie nadtlenku wodoru. Obniżenie poziomu anionorodnika ponadtlenkowego w ustroju zapobiega reakcji Haber-Weissa i tworzeniu rodnika hydroksylowego, uważanego za najbardziej reaktywny i szkodliwy dla struktur komórkowych. Skutkiem obecności peroksydazy glutationowaej w komórce jest redukcja wytworzonego w reakcji z dysmutazą ponadtlenkową nadtlenku wodoru. Substratem w tej reakcji jest glutation (GSH). W wyniku reakcji nadtlenku wodoru z GSH powstaje woda i disulfid glutationu (GSSG), który następnie jest redukowany w obecności reduktazy glutationowej (kosztem NADPH). Oprócz nadtlenku wodoru substratem dla peroksydazy glutationowej mogą być nadtlenki organiczne, takie jak alifatyczne nadtlenki kwasów tłuszczowych. Fizjologiczną rolą katalazy, podobnie jak peroksydazy glutationowej jest usuwanie nadtlenku wodoru. Katalaza posiada właściwości peroksydazowe, utleniając takie substancje jak metanol, etanol, mrówczan, azotyny i chinony [35].

Do określenia aktywności wybranych enzymów zastosowałam metodę ELISA. W tym celu zastosowałam następujące testy firmy Cayman Chemical Company (1180 East Ellsworth

Road, Ann Arbor, MI, USA): Superoxide Dismutase Assay Kit; Glutathione Peroxidase Assay Kit, Catalase Assay Kit.

Szczególnie ciekawe wyniki badań uzyskałam w przypadku oceny aktywności katalazy i peroksydazy glutationowej w surowicy krwi szczurów. U zwierząt traktowanych DMBA i otrzymujących wyłącznie dietę standardową wykazałam istotnie statystyczną wyższą aktywność peroksydazy glutationowej, w porównaniu do zwierząt nie traktowanych DMBA, otrzymujących analogiczną dietę. Natomiast w przypadku katalazy bądź dysmutazy ponadtlenkowej nie zaobserwowałam istotnie statystycznych różnic w aktywności tego enzymu u zwierząt z wyindukowanymi nowotworami piersi, w porównaniu do szczurów z grupy kontrolnej. Jednakże, gdy zwierzęta dodatkowo suplementowałam cynkiem lub miedzią nie zaobserwowałam istotnych statystycznie różnic w aktywności peroksydazy we krwi szczurów traktowanych DMBA, w zestawieniu z aktywnością enzymu we krwi u zwierząt nie traktowanych DMBA i otrzymujących analogiczną dietę. Natomiast w przypadku katalazy istotnie statystyczną wyższą aktywność enzymu odnotowałam we krwi zwierząt nietraktowanych DMBA, w porównaniu do zwierząt indukowanych chemicznie w kierunku rozwoju nowotworu (zwierzęta suplementowane Zn bądź Cu).

Z przeprowadzonych badań wynika, że w surowicy zwierząt zarówno traktowanych DMBA, jak i nietraktowanych DMBA, a jednocześnie suplementowanych miedzią, nastąpił istotny statystycznie wzrost aktywności katalazy, w porównaniu do zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową (prawie trzykrotny dla grupy DMBA+ i czterokrotny dla grupy DMBA-).

Co ciekawe, zarówno u szczurów traktowanych, jak i nietraktowanych DMBA, nie wykazałam wpływu suplementacji cynkiem na aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, pomimo, iż właśnie cynk jest składnikiem tego enzymu.

Zwierzęta traktowane DMBA i otrzymujące dodatkowo cynk i genisteinę charakteryzowały się obniżoną aktywnością zarówno peroksydazy glutationowej, jak i katalazy w odniesieniu do zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową.

Otrzymane wyniki badań pozwalają stwierdzić, że rozwojowi procesu nowotworowego, indukowanego przez DMBA, u szczurów towarzyszy wzrost aktywności w surowicy krwi peroksydazy glutationowej, co może świadczyć o wzmożonym wytwarzaniu H_2O_2 podczas procesu nowotworowego.

W pracy pt: "Effect of dietary supplementation on the prognostic value of urinary and serum 8-isoprostaglandin F2alpha in chemically-induced mammary carcinogenesis in the rat" **[Publ.-8]** przedstawiłam wyniki badań **oceny wpływu cynku i miedzi na zawartość 8-**

izoprostaglandyny F2α (8-izoPGF$_{2\alpha}$) w surowicy i moczu szczurów traktowanych 7,12-dimetylobenz[a]antracenem. W poszukiwaniu najskuteczniejszych biowskaźnikow peroksydacji lipidów szczególną uwagę zwraca się ostatnio na grupę F2-izoprostanów, związków wytwarzanych z kwasu arachidonowego [36].

Zawartość 8-izoPGF$_{2\alpha}$ oznaczałam metodą immunoenzymatyczną ELISA, wykorzystując w tym celu test 8-isoprostane EIA Kit, firmy Cayman Chemical Company 1180 East Ellsworth Road, Ann Arbor, MI, USA. W celu ujednolicenia uzyskanych wyników zawartość 8-izoPGF$_{2\alpha}$ przeliczałam na kreatyninę.

Stwierdziłam, że traktowanie szczurów DMBA powoduje wzrost stężenie 8-izoPGF$_{2\alpha}$ w surowicy, jak i w moczu badanych zwierząt. Zawartość badanego biowskaźnika w płynach biologicznych pozostaje zależna od dodatku w diecie pierwiastków śladowych. Stosowanie diety z dodatkiem cynku, bądź cynku i polifenoli powoduje znaczne obniżenie stężenia 8-izoPGF$_{2\alpha}$ w moczu badanych zwierząt zarówno w grupie traktowanej jak i nie - DMBA. Natomiast stosowanie diety z dodatkiem miedzi, bądź miedzi i polifenoli stymuluje proces tworzenia 8-izoPGF$_{2\alpha}$ zarówno w grupie zwierząt traktowanych, jak i nie - DMBA. Nie wykazałam pozytywnej korelacji między zawartością 8-izoPGF$_{2\alpha}$ w moczu i surowicy badanych zwierząt a ryzykiem tworzenia guzów nowotworowych.

Zawartość 8-izoPGF$_{2\alpha}$ oznaczyłam również w surowicy szczurów otrzymujących genisteinę i resweratrol podawane w zawiesinie wodnej i olejowej. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdziłam, iż traktowanie szczurów DMBA powoduje wzrost zawartości 8-izoPGF$_{2\alpha}$ w surowicy krwi badanych zwierząt. Zawartość badanego biowskaźnika w surowicy pozostaje zależna od obecności w diecie zarówno olejów, jak i związków przeciwutleniających. Związki przeciwutleniające (genisteina i resweratrol) zastosowane w wybranych dawkach nie obniżają podwyższonej zawartości 8-izoPGF$_{2\alpha}$ wywołanej czynnikiem kancerogennym DMBA. Ze względu na zakres zmian, jakim podlega wybrany biowskaźnik i jego reakcję na składniki diety, wydaje się niemożliwe traktowanie go jako dobrego markera stanów patologicznych, natomiast może służyć dla oceny wpływ elementów diety na procesy prooksydacyjne w organizmie [**Publ.-9**].

Kolejnym zagadnieniem realizowanych w ramach prowadzonych prac była ocena przydatności klinicznej oznaczania stężeń pierwiastków i ich wzajemnych proporcji w przebiegu choroby nowotworowej i dalszego rokowania [**Publ.-7, Publ.-10, Publ.-11**]. Różnego typu zaburzenia zawartości, jak i homeostazy, składników mineralnych bardzo często indukują swoiste zmiany biochemiczne charakterystyczne dla wielu chorób, w tym chorób nowotworowych [37]. Dla przykładu niedobory Se, Zn i Mg mogą prowadzić do

zwiększenia ryzyka zachorowania na nowotwór [3,4,38-39]. Przeciwnie dostarczanie do organizmu nadmiaru Fe oraz Cu może sprzyjać wystąpieniu choroby nowotworowej [4-6,40-41]. Celem pracy było zbadanie wpływu diety wzbogaconej w cynk, miedź i związki polifenolowe – resweratrol oraz genisteinę na efektywność chemicznej indukcji nowotworowej gruczołu sutkowego oraz zmiany w zawartości wybranych pierwiastków (Zn, Cu, Mg, Fe, Ca). Rola tych składników mineralnych związana jest m. in. z prawidłowym funkcjonowaniem wielu enzymów oraz układu odpornościowego. A ich zawartość w tkankach zmienionych nowotworowo niekiedy znacznie odbiega od poziomów w tkankach zdrowych [42].

Materiałem do badań były guzy, surowica i sierść szczurów traktowanych DMBA, w odniesieniu do zdrowej tkanki, surowicy i sierści szczurów nie traktowanych czynnikiem kancerogennym.

Niezależnie od zastosowanej diety w guzach gruczołu sutkowego nastąpił wzrost zawartości Fe i spadek Mg, w porównaniu do zdrowej tkanki gruczołu sutkowego. W sierści grup badanych występował wzrost poziomu Fe (standard; +Zn) i spadek Mg oraz Ca i P, w stosunku do szczurów grup kontrolnych. We wszystkich badanych grupach nastąpiło obniżenie ilości Fe we krwi. Dodatkowe wzbogacanie diety szczurów w Zn lub Cu powodowało wzrost zawartości Cu w guzie, nie wpływając na poziom Zn (także w sierści). Zastosowanie w diecie szczurów dodatku Cu, wydaje się szczególnie silnie i odmiennie wpływać na dystrybucję badanych pierwiastków do sierści. Sierść wydaje się być potencjalnym materiałem do diagnostyki raka gruczołu sutkowego, wymaga to jednak dalszych badań.

Bardzo ważnym etapem w mojej pracy naukowej były badania prowadzone przy współpracy z Instytutem Farmaceutycznym w Warszawie. Badania dotyczyły oceny działania wybranych związków polifenolowych na przebieg procesu nowotworowego indukowanego 7,12-dimetylobenz[a]antracenem u szczurów. Część uzyskanych wyników została zaprezentowana w pracy doktorskiej (badania wpływu genisteiny, kwercetyny, resweratrolu w formach prostych). Jednak na szczególną uwagę zasługują późniejsze wyniki badań oceny wpływu pochodnych genisteiny - palmitynianu bądź benzylogenisteiny, zawieszonych w oleju rzepakowym lub układzie wodnym, na przebieg procesu nowotworowego. Bardzo silne współdziałanie z DMBA zaobserwowano w grupie zwierząt otrzymujących benzylogenisteinę (0,47 mg/ml) zawieszoną w oleju. Pierwsze palpacyjnie wyczuwalne guzy pojawiły się u szczurów w tej grupie już w 13 tygodniu życia zwierząt, zapadalność była 100%, a guzy mnogie. W przypadku benzylogenisteiny podawanej w

zawiesinie wodnej zapadalność w grupie wynosiła 86%, a pierwsze palpacyjnie wyczuwalne guzy pojawiły się w tej grupie dopiero w 17 tygodniu (tydzień później niż w przypadku diety standardowej). Efektem suplementacji zwierząt palmitynianem genisteiny podawanym w dawce 0,72 mg/ml w zawiesinie wodnej było obniżenie występowania ilości guzów w grupie do 67%, jak również spadek wagi guzów w odniesieniu do zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową. Co ciekawe zwiększenie ilości podawanej genisteiny w zawiesinie wodnej do 0,656 mg/ml (w przedstawionych w pracy doktorskiej wynikach badań genisteinę podawano w dawce 0,1 mg/ml oraz 0,375 mg/ml) nie wpływało korzystnie, podwyższało bowiem zapadalność do 100%, liczbę guzów u szczura do 3, a ich masę średnio do 2,7 g **[Publ.-12]**.

WNIOSKI:

1. Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, że suplementacja wybranymi składnikami diety zwierząt z nowotworami indukowanymi DMBA ma duży wpływ na stabilność sekwencji mikrosatelitarnych chromosomalnego DNA. Wzrost występowania niestabilności mikrosatelitarnych u szczurów nietraktowanych DMBA i otrzymujących dodatkowo Zn, potwierdza tezę o niebezpieczeństwie nieuzasadnionego długotrwałego stosowania suplementacji tym pierwiastkiem. Intensywność występowania niestabilności mikrosatelitarnych nie zależy od aktywności wybranych enzymów antyoksydacyjnych (katalazy, peroksydazy glutationowej i dysmutazy ponadtlenkowej). Bardzo interesującym materiałem do badań, ze względu na obecność niestabilności mikrosatelitarnych, jest tkanka okołonowotworowa. W związku z uzyskanymi wynikami badań nasuwa się pytanie czy obecność niestabilności sekwencji mikrosatelitarnych w tkance otaczającej guz piersi może świadczyć o rozprzestrzenianiu się komórek nowotworowych na sąsiednie tkanki.

2. Podsumowując uzyskane wyniki analizy DNA można stwierdzić, że w zastosowanym modelu badawczym, zarówno w guzach nowotworowych, jak i tkankach kontrolnych nie wykryto mutacji w amplifikowanych fragmentach genów H-ras1 oraz K-ras1.

3. Na podstawie uzyskanych danych można stwierdzić, że proces metylacji DNA jest zależny od zastosowanej suplementacji, jak i obecności czynnika kancerogennego. DMBA, czynnik, indukujący nowotwór piersi, powoduje wzrost zawartości 5-metylo-2'-deoksycytydyny w moczu badanych zwierząt. Zastosowana dawka resweratrolu była zbyt niska, aby zapobiec intensywnemu tworzeniu się badanej metylopochodnej stymulowanej obecnością w diecie

miedzi, jak również rozwojem zachodzącego procesu nowotworowego. Ze względu na zakres zmian jakim podlega zawartość 5-MedC w moczu badanych zwierząt niemożliwe staje się traktowanie tego związku jako dobrego markera wczesnych zmian patologicznych, wydaje się jednak być lepszym wskaźnikiem dla oceny elementów diety na proces metylacji DNA.

4. Z przedstawionych badań wynika, iż w przebiegu procesu nowotworowego suplementacja diety wybranymi polifenolami i składnikami mineralnymi ma wpływ na aktywność zarówno katalazy, jak i peroksydazy glutationowej.

5. Przedstawione w pracach wyniki badań wskazują, że tworzenie i wydalanie 8-izoprostaglandyny $F_{2\alpha}$ zależy od rodzaju spożywanej diety, jak i obecności czynnika kancerogennego. Na podstawie uzyskanych danych można stwierdzić, że zarówno cynk, jak i cynk w połączeniu z polifenolami powoduje znaczne obniżenie zawartości izoprostanów w moczu badanych zwierząt zarówno w grupie traktowanej, jak i nie-DMBA. Związki przeciwutleniające (genisteina, resweratrol) w zależności od rodzaju połączenia oraz medium w jakim są suplementowane mogą wykazywać właściwości pro- lub antyoksydacyjne. Nie wykazałam pozytywnej korelacji między zawartością 8-izo$PGF_{2\alpha}$ w moczu i surowicy badanych zwierząt a ryzykiem tworzenia guzów nowotworowych.

6. Podsumowując uzyskane wyniki badań można stwierdzić, iż w przebiegu choroby nowotworowej suplementacja zwierząt wybranymi składnikami diety ma wpływ na zawartość wybranych pierwiastków (Zn, Cu, Mg, Fe, Ca). Sierść wydaje się być potencjalnym materiałem do diagnostyki raka gruczołu sutkowego.

7. Intensywność przebiegu procesu nowotworowego indukowanego 7,12-dimetylobenz[a]antracenem u szczurów zależy od suplementacji zwierząt zarówno wybranymi związkami polifenolowymi, jak również składnikami mineralnymi. Zaskakujące, iż skutkiem synergistycznej reakcji cynku i resweratrolu była stymulacja procesu nowotworowego, w odniesieniu do zwierząt otrzymujących wyłącznie dietę standardową, suplementowanych cynkiem bądź cynkiem i genisteiną.

8. Poznanie mechanizmów oddziaływania składników diety w organizmie daje możliwość ich wykorzystania w profilaktyce i wspomaganiu terapii farmakologicznej, z równoczesnym zmniejszeniem niepożądanych działań leków, w chorobach nowotworowych.

Badania finansowane były z grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (NN405358339) pt: "Wpływ składników diety na wybrane biowskaźniki wczesnych zmian nowotworowych u szczurów traktowanych 7,12-dimetylobenzantracenem". W wymienionym grancie byłam **kierownikiem projektu.**

7. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

7.1 DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWO-BADAWCZA PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk farmaceutycznych opublikowałam 13 prac, w tym 10 prac oryginalnych i 3 prace przeglądowe (punkt 9.1). Liczba punktów MNiSW/KBN 26. Podczas zjazdów polskich i międzynarodowych zaprezentowałam 17 doniesień. Dwa doniesienia zostały wyróżnione za wysoką wartość merytoryczną.

Stacjonarne stężenie reaktywnych form tlenu (RFT) i szybkość reakcji RFT uszkadzających składniki komórki zależą od stanu równowagi pomiędzy szybkością wytwarzania RFT, a stężeniami antyoksydantów niskocząsteczkowych i aktywnością enzymów ochronnych. Zwiększenie szybkości wytwarzania RFT w organizmie, bądź niedobory czynników broniących organizm przed RFT prowadzą do wzmożenia niebezpiecznych dla składników organizmu reakcji indukowanych przez RFT. Zaburzenie homeostazy prowadzące do zwiększenia stacjonarnych stężeń RFT określone zostało jako „stres oksydacyjny" [35,43].

Helmut Sies [44] zdefiniował stres oksydacyjny jako „zaburzenie równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji utleniania".

Stres oksydacyjny leży u podłoża lub występuje w przebiegu wielu chorób. Do chorób, w etiopatogenezie których postulowano udział reaktywnych form tlenu, zaliczamy m.in.: astmę, AIDS, chorobę Alzheimera, chorobę Parkinsona, chorobę niedokrwienną serca, chorobę wrzodową żołądka i dwunastnicy, cukrzycę, dystrofię mięśniową, jaskrę, nowotwory, reumatoidalne zapalenie stawów, zespoły przyspieszonego starzenia [35,43].

W wyniku reakcji RFT z elementami komórki dochodzi do powstania uszkodzeń w strukturze białek, cukrów, lipidów czy kwasów nukleinowych. Wiele z tak utworzonych

zmodyfikowanych związków zostało dokładnie zbadanych i włączonych do grupy wskaźników oksydacyjnych uszkodzeń [35,43].

Ze względu na szczególną rolę, jaką pełnią kwasy nukleinowe w komórce, zmiany w ich strukturze są uważane za jedne z najbardziej niebezpiecznych. Mimo istniejących mechanizmów naprawczych, przewaga wpływu działania RFT nad systemami obronnymi prowadzi w końcu do pewnych uszkodzeń DNA. Ich efektem może być proces mutagenezy oraz rozwój nowotworu [35,43,45].

8-Hydroksy-2'-deoksyguanozyna (8-OHdG) jest jednym z najczęściej powstających i najlepiej poznanych produktów utleniania zasad DNA przez RFT. Odgrywa ona istotną rolę w poznawaniu procesów mutagenezy, karcinogenezy oraz mechanizmów toksycznego działania wielu czynników. Obecność 8-OHdG w DNA może prowadzić do mutacji, indukując błędny odczyt zmodyfikowanej zasady oraz zasad z nią sąsiadujących. Z badań wynika, że forma 6,8-diketo, która przeważa w warunkach fizjologicznych, może tworzyć pary z cytozyną, adeniną i tyminą. Najczęściej jednak w warunkach *in vivo* obserwowano transwersje GC→AT. Taka specyficzność błędów transkrypcji 8-OHdG jest szczególnie interesująca w świetle badań, dotyczących spektrum mutacji genu hamującego zmiany nowotworowe, kodującego białko p53. Stwierdzono, że za najczęściej występujące zmiany mutacyjne tego genu, które wykryto w nowotworach płuc i wątroby, odpowiedzialne są transwersje GC → AT. Rozpoznana i usunięta z genomu 8-OHdG nie ulega dalszemu metabolizmowi i jest wydalana z komórki, a następnie z organizmu z moczem. Uważa się, że zawartość 8-OHdG w moczu odzwierciedla poziom oksydacyjnych uszkodzeń DNA w całym organizmie. Na podstawie licznych eksperymentów stwierdzono związek między obecnością oksydacyjnie zmodyfikowanych nukleozydów, w tym 8-OHdG, a transformacją nowotworową komórki. Do końca jednakże nie wiadomo, czy zmodyfikowane zasady azotowe odgrywają przyczynową rolę w procesie kancerogenezy, czy też powstają w tkance nowotworowej, jako wynik zmienionego metabolizmu chorej tkanki [46,47].

W procesie oksydacji białek przez RFT może dochodzić do modyfikacji reszt aminokwasowych, grup prostetycznych (nieaminokwasowych składników białek złożonych), agregacji lub fragmentacji cząsteczek białkowych. Biologiczną konsekwencją tych zmian jest utrata ich aktywności biologicznej [35]. Jednym z najczęściej stosowanych obecnie biowskaźników oksydacyjnych uszkodzeń białek są grupy karbonylowe aminokwasów. Powstawanie tych ugrupowań jest reakcją nieodwracalną. W ostatnich latach przybywa badań, potwierdzających występowanie podwyższonego poziomu grup karbonylowych

aminokwasów w wielu stanach patologicznych. Zwiększona zawartość tak zmodyfikowanych oksydacyjnie białek może być przyczyną choroby lub pojawiać się w konsekwencji rozwoju danego schorzenia. Obecnie, do chorób związanych z obecnością grup karbonylowch aminokwasów, zalicza się: chorobę Alzheimera, chorobę Parkinsona, cukrzycę, miażdżycę, reumatoidalne zapalenie stawów, przewlekłe choroby płuc, dysplazję oskrzelowo-płucną, przewlekłą niewydolność nerek, mocznicę, łuszczycę, zaćmę, sepsę, stwardnienie zanikowe boczne, zespół ostrego wyczerpania oddechowego dorosłych, mukowiscydozę, nowotwory [48-50].

Peroksydacja lipidów (LPO) jest najbardziej znanym biologicznym łańcuchowym procesem wolnorodnikowym. W konsekwencji przebiegu tego procesu powstaje szereg aktywnych związków m.in. aldehydy: dialdehyd malonowy (MDA), 4-hydroksynonenal (4-HNE), isoprostany, sprzężone dieny, węglowodory: pentan, etan. Zwiększone stężenie produktów LPO wykryto w czasie przebiegu szeregu chorób u człowieka, w tym nowotworach, cukrzycy, miażdżycy, AIDS, stanach zapalnych, chorobie Alzheimera. Efektem obecności produktów LPO w komórce jest modyfikacja właściwości fizycznych błon komórkowych, polegająca głównie na zmianie ich przepuszczalności. Peroksydacja lipidów powoduje również zahamowanie aktywności enzymów błonowych i białek transportujących. Ponadto niektóre produkty powstałe w wyniku LPO są czynnikami rozprzęgającymi fosforylację oksydacyjną w mitochondriach, czyli osłabiają zależność pomiędzy transportem elektronów przez łańcuch oddechowy, a syntezą ATP w mitochondriach. Wśród biowskaźników peroksydacji lipidów wyróżnia się dialdehyd malonowy czy 8-izoprostaglandynę $F_{2\alpha}$ [35,36,43,51].

Badania czynników dietetycznych (w tym związków polifenolowych i kwasów tłuszczowych), które mogłyby zapobiegać lub zmniejszać stopień uszkodzeń wywołanych przez reaktywne formy tlenu, w oparciu o wybrane biowskaźniki (uszkodzeń DNA, białek i tłuszczów) mogą przyczynić się do szerszego spojrzenia na ich rolę w profilaktyce chorób nowotworowych i wspomaganiu leczenia farmakologicznego.

Celem podjętych badań była ocena wpływu czynników dietetycznych oraz patologicznych na reakcję organizmu mierzoną stężeniami wybranych biowskaźników oksydacyjnych uszkodzeń DNA, białek i tłuszczów, a także ocena wybranych markerów pod kątem ich wartości diagnostycznej. Badania dotyczyły następujących biowskaźników tj.: 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny (8-OHdG), grup karbonylowych białek i 8-izoprostaglandyny $F_{2\alpha}$ (8-izo$PGF_{2\alpha}$). Możliwość śledzenia zawartości powyższych związków pozwoliła na dokonanie oceny wpływu składników diety na procesy destrukcyjne

przebiegające w białkach, tłuszczach i kwasach nukleinowych, w których to kluczową rolę odgrywają reaktywne formy tlenu. Wykorzystane w badaniach związki niosą znamiona cennych markerów mogących służyć w poznawaniu procesów mutagenezy, kancerogenezy oraz toksyczności wolnych rodników [35,43].

W badaniach wykorzystałam model doświadczalny polegający na wywoływaniu procesu nowotworowego za pomocą 7,12-dimetylobenz[a]antracenu u samic szczurów Spraque-Dawley. Zwierzęta, u których indukowane były nowotwory otrzymywały diety wzbogacone w wybrane związki polifenolowe (resweratrol, kwercetynę i genisteinę) podawane w różnych stężeniach i medium (układ wodny i olejowy), jako czynniki o właściwościach antyoksydacyjnych (protekcyjnych) bądź oleje ogrzewane (w temp. 200°C przez 10 minut) i nie ogrzewane (oliwa, olej słonecznikowy, olej rzepakowy), jako czynniki o działaniu prooksydacyjnym. Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta nie traktowane DMBA.
Rodzaje diet zastosowane w badaniach:

- dieta wzbogacona oliwą nie ogrzewaną,
- dieta wzbogacona olejem słonecznikowym nie ogrzewanym,
- dieta wzbogacona olejem rzepakowym nie ogrzewanym,
- dieta wzbogacona oliwą ogrzewaną (10 minut, 200°C),
- dieta wzbogacona olejem słonecznikowym ogrzewanym (10 minut, 200°C),
- dieta wzbogacona olejem rzepakowym ogrzewanym (10 minut, 200°C).
- dieta wzbogacona w resweratrol w dawce 0,1 mg/ml w oleju rzepakowym,
- dieta wzbogacona w resweratrol w dawce 0,1 mg/ml w zawiesinie wodnej,
- dieta wzbogacona w genisteinę w dawce 0,375 mg/ml w oleju rzepakowym,
- dieta wzbogacona w genisteinę w dawce 0,375 mg/ml w zawiesinie wodnej,
- dieta wzbogacona w genisteinę w dawce 0,1 mg/ml w zawiesinie wodnej,
- dieta wzbogacona w kwercetynę w dawce 0,47 mg/ml w oleju rzepakowym,
- dieta wzbogacona w kwercetynę w dawce 0,48 mg/ml w zawiesinie wodnej,
- dieta wzbogacona w olej rzepakowy FP.V.

W celu uzyskania próbek moczu, szczury umieszczałam pojedynczo w klatkach metabolicznych na 24 godziny. Zebrany materiał zamrażałam w temperaturze – 70°C i przechowywałam do czasu wykonania analizy. Mocz każdego zwierzęcia zbierałam raz w tygodniu przez okres dwóch miesięcy (od 10 do 15 tygodnia życia szczura).
Badania na zwierzętach uzyskały zgodę komisji etycznej przy Akademii Medycznej w Warszawie.

Podsumowując uzyskane wyniki badań stwierdziłam, że wzbogacanie diet olejami może prowadzić do oksydacyjnych zmian zarówno w białkach, tłuszczach, jak i DNA. O intensywności tych zmian decyduje zarówno ilość, jak i jakość podawanych tłuszczów. Różnice występujące w składzie kwasów tłuszczowych w sposób istotny wpływały na otrzymane wyniki. Olej słonecznikowy, bogaty w dwunienasycony kwas linolowy (około 60%), wykazywał znacznie silniejsze działanie prooksydacyjne w porównaniu do oliwy oraz oleju rzepakowego, w których głównym kwasem jest jednonienasycony kwas oleinowy (odpowiednio ok. 70% i 58%). Natomiast obecność w diecie ogrzewanych olejów nie powodowała tak dużego wzrostu stężenia wszystkich badanych biowskaźników, w odniesieniu do grupy standardowej, jaki obserwowano w przypadku podawania analogicznych olejów nie ogrzewanych, co jest wynikiem przeciwnym do spodziewanego.

W związku z powyższym, można sądzić, że spożywanie nawet krótko ogrzewanych (200°C/10 min.) olejów, wywiera wyraźny wpływ na przebieg procesów zachodzących w organizmie. W przypadku zwierząt traktowanych DMBA silniejsze działanie prooksydacyjne białek, tłuszczów i DNA występowało u szczurów, którym podawano w diecie nie ogrzewane oleje w porównaniu do grup z dodatkiem olejów ogrzewanych. Wskazywałoby to, że prawdopodobnie kwasy tłuszczowe w niezmienionej formie, a więc ulegające dalszym przemianom metabolicznym (elongacji i desaturacji), a także nie działające destrukcyjnie na aktywność enzymów, mogą efektywniej uczestniczyć w mechanizmie biochemicznym uruchomianym przez DMBA. Być może duże znaczenie ma tutaj powstawanie eikozanoidów, związków o ogromnych możliwościach wielokierunkowego oddziaływania na organizm, między innymi mogących wpływać na procesy nowotworzenia.

W niniejszych badaniach wykazałam, że wzbogacanie diety w resweratrol, genisteinę i kwercetynę w zastosowanych stężeniach nie przyczyniało się do obniżania podwyższonego stężenia 8-OHdG w moczu zwierząt spowodowanego zainicjowanym przez DMBA procesem nowotworowym. A wręcz przeciwnie, traktowanie zwierząt tym kancerogenem (DMBA) w obecności oleju rzepakowego w diecie, jak również polifenoli powodowało wyraźną stymulację tworzenia się i wydalania 8-OHdG, w porównaniu do grupy zwierząt otrzymujących dietę standardową, jak i z udziałem wyłącznie oleju.

Natomiast obecność w/w związków polifenolowych hamowała powstawanie zoksydowanych białek stymulowanych działaniem DMBA. Zawartość grup karbonylowych aminokwasów w wątrobach szczurów traktowanych DMBA, otrzymujących resweratrol, kwercetynę lub genisteinę w zawiesinie olejowej, bądź wodnej była niższa w porównaniu do grup zwierząt otrzymujących dietę standardową, bądź wzbogaconą olejem rzepakowym.

Zmniejszenie stężenia biowskaźników peroksydacji białek może stanowić potwierdzenie właściwości antyoksydacyjnych związków polifenolowych, udowodnionych w licznych badaniach [9-12].

Zastosowane w badaniach wybrane składniki diety w różnym stopniu wpływały na intensywność przebiegu indukowania guzów nowotworowych. Szczególnie korzystny efekt uzyskałam w przypadku podawania w diecie resweratrolu (0,1 mg/ml) w formie zawiesiny wodnej. Nowotwory wystąpiły zaledwie u 40% indukowanych zwierząt. Natomiast w badaniach tych stosowanie diety z udziałem genisteiny zwłaszcza podawanej w zawiesinie olejowej (0,1 mg/ml; 0,375 mg/ml) przyczyniło się do wysokiej zapadalności na nowotwory (od 83 do 100%) wśród zwierząt otrzymujących DMBA. Nieco inaczej przebiegał proces nowotworzenia, kiedy zwierzętom podawano genisteinę w zawiesinie wodnej. Mimo bowiem stosunkowo wysokiej zapadalności (86%) wzrost guzów był wyraźnie wyhamowany, osiągały one znacznie mniejsze rozmiary (średnio 0,9g), w porównaniu do w/w grup, jak i występowanie ich u zwierząt przyjmowało formę pojedynczą, a nie mnogą.

Również podając szczurom dietę wzbogaconą w kwercetynę (0,47 mg/ml) w zawiesinie olejowej stwierdziłam zwiększoną zapadalność nowotworową (71%). Cechą charakterystyczną było występowanie guzów pojedynczych, ale osiągały one duże rozmiary (do 4,57g) w porównaniu do grupy odniesienia otrzymującej wyłącznie olej rzepakowy.

W prezentowanych badaniach związki polifenolowe podawałam w zawiesinie wodnej i olejowej. Efekt zmiany rozpuszczalnika dla poszczególnych związków przekładał się zarówno na zmiany w stężeniu badanego biowskaźnika w moczu szczurów (8-OHdG) oraz zawartości grup karbonylowych aminokwasów w wątrobach, jak również obraz przebiegu procesu nowotworowego. Stężenie 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny, jak również grup karbonylowych było znacznie wyższe u zwierząt otrzymujących diety wzbogacone w polifenole podawane w zawiesinie olejowej, w odniesieniu do zwierząt otrzymujących je w zawiesinie wodnej.

Celem badań była również ocena wybranych biowskaźników pod kątem ich wartości diagnostycznej. Wykazałam, że intensywność tworzenia i wydalania z organizmu 8-OHdG oraz 8-izoprostaglandyny $F_{2\alpha}$ stanowi wypadkową współdziałania różnych elementów składowych diety oraz czynnika kancerogennego. Otrzymane wyniki wskazują, że tłuszcze roślinne oddziaływują wyraźnie stymulująco zarówno na procesy oksydacyjne zachodzące w białkach, tłuszczach, jak i DNA. Bezwzględny poziom wydalanej z moczem 8-OHdG nie pozwala dokonać wczesnej oceny stopnia zagrożenia ryzykiem nowotworzenia, co wynika chociażby z przykładowej zależności, że zarówno w grupach zwierząt otrzymujących olej

rzepakowy, jak i resweratrol w zawiesinie wodnej stwierdzono bardzo niską efektywność indukcji guzów nowotworowych, przy czym u szczurów otrzymujących olej stwierdzono 2 krotny wzrost zawartości 8-OHdG w moczu, podczas gdy zawartość tego biowskaźnika nie zmieniła się w grupie zwierząt otrzymujących resweratrol. Podobne przykłady można przedstawić odnośnie zawartości grup karbonylowych aminokwasów w wątrobach i 8-izo$PGF_{2\alpha}$. A zatem w przypadku tak wrażliwego reagowania w/w biowskaźników, na wpływ diety związki te trudno jest uznawać za dobre markery wczesnych zmian patologicznych, natomiast czułość z jaką reagują na składniki diety czyni je znakomitymi wskaźnikami umożliwiającym dokonywanie oceniania badanych elementów diety pod kątem ich oddziaływania na procesy prooksydacyjne.

Uzyskane wyniki badań były podstawą rozprawy doktorskiej: pt: "Wpływ czynników dietetycznych na oksydacyjne uszkodzenia DNA, białek i tłuszczów w organizmach szczurów z wyindukowanymi DMBA nowotworami".

Badania prowadziłam w ramach dwóch grantów:
1. Grant uczelniany - projekt młodego badacza: "Badanie wpływu czynników dietetycznych na oksydacyjne uszkodzenia DNA z wykorzystaniem 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny jako biowskaźnika" FW12/WB2/2005, Katedra i Zakład Bromatologii.
2. Grant uczelniany - projekt młodego badacza: "Wpływ czynników dietetycznych na oksydacyjne uszkodzenia DNA, białek i tłuszczów w organizmach szczurów z wyindukowanymi DMBA nowotworami" FW/12/WB4/08, Katedra i Zakład Bromatologii.
W obu grantach byłam kierownikiem projektów.

Badania dotyczące wpływu wybranych związków polifenolowych na rozwój procesu nowotworowego zostały wykonane przy współpracy z Instytutem Farmaceutycznym w Warszawie.

Duże znaczenie w mojej pracy naukowej miały również badania sposobu żywienia studentów i doktorantów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie.

Prawidłowe odżywianie jest niezbędnym czynnikiem warunkującym zdrowie człowieka. Spożywanie produktów w nieodpowiednich ilościach i proporcjach w stosunku do fizjologicznych potrzeb organizmu prowadzi do poważnych problemów zdrowotnych. Wzrasta częstość występowania chorób cywilizacyjnych takich jak.: otyłość, cukrzyca,

choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie tętnicze, a także nowotwory [52]. W związku z powyższym bardzo istotna jest kontrola stanu odżywienia grup ludności, zaś wyniki badań są podstawą do tworzenia programów zdrowotnych w zakresie żywienia.

Badania prowadzone były metodą wywiadu o spożyciu z ostatnich 24 godzin poprzedzających badanie. Zebrane ankiety wykonane zostały zgodnie z zaleceniami Instytutu Żywności i Żywienia w Warszawie [53]. Ocena sposobu żywienia dokonana została w kategoriach ilościowych i jakościowych z uwzględnieniem odmiennego sposobu życia w zależności od płci, miejsca zamieszkania podczas roku akademickiego oraz roku studiów.

Podsumowując uzyskane wyniki stwierdzono, iż w ocenie jakościowej żywienie studentów Wydziału Farmaceutycznego nie było prawidłowe, występowały różnice w sposobie żywienia w zależności od płci i roku studiów. Szczególnie niewłaściwy sposób żywienia prezentowali studenci III roku. Większy udział procentowy w żywieniu prawidłowym i zadowalającym mieli mężczyźni, spożywali oni bowiem większe ilości posiłków które były ponadto bardziej urozmaicone. Ankietowanych charakteryzowało nieregularne spożycie posiłków i duże rozpiętości czasowe pomiędzy nimi. Należy zwrócić uwagę na stosunkowo niski udział w całodziennych racjach pokarmowych (CRP) warzyw i owoców.

W wyniku przeprowadzonej oceny ilościowej całodziennych racji pokarmowych również wykazano pewne nieprawidłowości w żywieniu badanych kobiet i mężczyzn, zróżnicowane w zależności od roku studiów i płci. Średnia wartość energetyczna całodziennych racji pokarmowych spożywanych przez studentów starszych lat studiów i doktorantów była wyższa w stosunku do CRP studentów trzech pierwszych lat studiów. Diety studentów II roku wypełniały zalecaną normę zaledwie w około 80%. U mężczyzn kaloryczność posiłków była prawidłowa, natomiast u kobiet za niska. W badaniach wykazano przekroczenie zalecanych norm dla energii pochodzącej z tłuszczów. Diety studentów wszystkich lat nie pokrywały zalecanych norm zapotrzebowania na wapń. Wyjątek stanowili słuchacze studium doktoranckiego. Większe zawartości tego pierwiastka obejmowały diety mężczyzn, w porównaniu do kobiet. Spożycie wapnia przez młodzież akademicką w Polsce jest bardzo niskie i sytuacja ta nie uległa poprawie na przełomie lat. Podobnie kształtowała się zawartość miedzi w całodziennych racjach pokarmowych badanych studentów. Stopień realizacji norm spożycia miedzi był nieprawidłowy dla studentów wszystkich lat i doktorantów. Podaż magnezu można uznać za prawidłową. Z badań wynika, że średnia zawartość żelaza i cynku w CRP kobiet nie wypełniała bezpiecznego poziomu spożycia. Problem suplementacji mikroelementami wymaga pogłębionych badań i większej kontroli ze

względu na występujący nadmiar żelaza w dietach mężczyzn. Zawartość fosforu w pokarmach studentów wszystkich lat i doktorantów znacznie przekraczały normy bezpiecznego poziomu spożycia.

Podsumowując uzyskane wyniki badań można stwierdzić, że w ocenie jakościowej i ilościowej żywienie studentów Wydziału Farmaceutycznego w analizowanym okresie nie było prawidłowe. Szczególnie chciałabym zwrócić uwagę na występowanie niedoborów spożycia wapnia i miedzi. Otrzymane wyniki wykazały, że stosowanie suplementów zawierających składniki mineralne nie uzupełniało niedoboru wapnia i miedzi spowodowanych składem diet.

Monitorowanie sposobu żywienia młodzieży akademickiej jest szczególnie istotne, albowiem wykazanie wad i nieprawidłowości, pozwala na odpowiednią korektę zarówno przez kształtowanie w tej grupie prawidłowych nawyków żywieniowych, jak i tworzenie programów edukacyjnych z zakresu żywienia.

7.2. DZIAŁALNOŚĆ NAUKOWO-BADAWCZA PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk farmaceutycznych, w latach 2008-2014, opublikowałam, wykluczając prace wchodzące w zakres postępowania habilitacyjnego, 10 prac, w tym 9 prac oryginalnych i 1 prace przeglądową (punkt 9.2). Liczba punktów MNiSW/KBN = 85 IF=1,373. Podczas zjazdów polskich i międzynarodowych zaprezentowałam 13 doniesień. Dwa doniesienia zostały wyróżnione za wysoką wartość merytoryczną.

Kontynuując badania rozpoczęte w ramach pracy doktorskiej dokonałam oceny wpływu wybranych olejów ogrzewanych lub nie ogrzewanych (oliwa lub olej słonecznikowy) bądź związków o właściwościach przeciwutleniających (resweratrol, genisteina, kwercetyna lub kurkumina) na proces peroksydacji lipidów wątroby, mierzony stężeniami powstającego dialdehydu malonowego (MDA). Równocześnie u zwierząt otrzymujących w/w czynniki indukowane były za pomocą DMBA nowotwory sutka (*adenocarcinoma*).

Dialdehyd malonowy jest najczęściej stosowanym markerem procesu peroksydacji lipidów [35].

Do oznaczenia zawartości wolnego MDA w materiale biologicznym wykorzystałam metodę spektrofotometryczną oparta na reakcji MDA z kwasem 2-tiobarbiturowym (TBA) [54].

Zwiększenie stężenia biowskaźnika peroksydacji lipidów w grupach zwierząt spożywających wybrane oleje potwierdza właściwości prooksydacyjne olejów roślinnyh, w tym oleju słonecznikowego (65% PUFA, 19% MUFA) oraz oliwy (70% MUFA, 11% PUFA). Obserwowane zmiany nie wykazywały jednak ścisłej korelacji pomiędzy rodzajem kwasów tłuszczowych zawartych w diecie, a obserwowanym wzrostem peroksydacji w tkankach. Nieco słabszy efekt stymulującego oddziaływania oleju słonecznikowego w porównaniu do oliwy na tworzenie się MDA może wynikać prawdopodobnie z różnic w bezwzględnym stężeniu związków przeciwutleniających (witaminy E) dodawanych w celach stabilizacyjnych do olejów. W przypadku oleju słonecznikowego i większej zawartości PUFA dodaje się więcej witaminy E niż do oliwy, z natury swej bardziej opornej na utlenianie. Otrzymane wyniki potwierdzają fakt, że podwyższona zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie wzmaga peroksydację lipidów. Zatem nienasycone kwasy tłuszczowe stymulują peroksydację i działają synergistycznie z czynnikiem kancerogennym stosowanym w badaniu (DMBA).

Otrzymane wyniki badań mogą świadczyć o tym, że związki przeciwutleniające (genisteina, kwercetyna, resweratrol i kurkumina) w zależności od stanu oksydacyjnego organizmu mogą wykazywać właściwości pro- lub antyoksydacyjne. Wyraźnie oddziaływały one hamująco na tworzenie się MDA podczas stymulacji procesu peroksydacyjnego, wynikającego z traktowania zwierząt DMBA. I równocześnie gdy brakowało czynnika prooksydacyjnego (DMBA) w/w przeciwutleniacze wzmagały peroksydację, przez co mogły przyczyniać się do wywoływania uszkodzeń oksydacyjnych.

Omawiając dorobek naukowy chciałaby również zwrócić uwagę na publikację teoretyczną pt: Metylacja DNA – wpływ wybranych naturalnych składników diety. Postępy Biologii Komórki 2014, 41(3), 417-428, autorzy: B. Bobrowska-Korczak, K. Bieniek, A. Tokarz. W pracy omówiona została rola folianów, witamin B2, B12 oraz B6, metioniny, wybranych składników mineralnych i związków polifenolowych w utrzymaniu prawidłowego modelu metylacji DNA. Zaburzenia ilościowe i metaboliczne w/w składników w organizmie mogą prowadzić do hypo/hypermetylacji DNA, których skutkiem może być rozwój szeregu chorób, w tym choroby nowotworowej.

Od dawna wiadomo, że jony cynku odgrywają istotną role w zachowaniu m.in. odpowiedniej odporności immunologicznej. Zarówno nadmiar jak i niedobór wewnątrzkomórkowego cynku, może doprowadzić do śmierci komórki [3]. Mechanizmy kontrolujące dostarczanie jonów cynku do wnętrza komórki mogą być kluczem do leczenia agresywnych nowotworów gruczołu sutkowego, bowiem w wielu pracach stwierdza się

wysoki poziom wewnatrzkomórkowego cynku jak i jego transporterów w tkance guza [55]. Świadczyć to może o zaburzonym przepływie cynku w czasie choroby nowotworowej. Otwartym pytaniem pozostaje – jak zablokować dopływ cynku do komórki raka? Czy oddziaływaniem bezpośrednim na transportery tych jonów (być może poprzez związki polifenolowe) czy w sposób bardziej pośredni, na przykład wykorzystując naturalnych antagonistów cynku. Stąd w ramach prac obejmujących cykl habilitacyjny – badałam poziom cynku w tkance guza gruczołu sutkowego oraz w odległej tkance magazynującej jaką jest sierść szczurów (potencjalny, nieinwazyjny materiał do wczesnej diagnozy).

Jednym ze znanych naturalnych antagonistów cynku są jony miedzi. W ramach cyklu habilitacyjnego dokonałam wiec oceny wpływu miedzi na zawartość cynku w surowicy i aktywność enzymów oksydacyjnych w czasie przewlekłej choroby nowotworowej. Ze względu na uzyskane wyniki zdecydowałam się kontynuować badania dotyczące wzajemnych zależności cynkowo-miedziowych. Szereg prac dodatkowych powstało więc w celu wyjaśnienia wzajemnych interakcji, szczególnie dotyczących rozmieszczenia tych pierwiastków w różnych tkankach szczura. Prace te nie stanowią podstawy habilitacyjnej.

Obecnie prowadzę prace mające na celu opracowanie modelu do badań oceny wpływu składników diety i wybranych biowskaźników w nowotworze prostaty.

Badania prowadzone są na szczurach samcach szczepu Spraque-Dawley z wszczepionym nowotworem prostaty. Grupę kontrolną stanowią szczury, którym nie zostały wszczepiane komórki nowotworowe. W badaniach pilotażowych (za zgodą Komisji Etycznej działającej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (nr 2/2014)) komórki nowotworowe LNCaP w ilości $1x10^6$ (w PBS 0,4 ml) wszczepione zostały dootrzewnowo i podskórnie szczurom w 90 dniu ich życia (n=15). Certyfikowana linia komórek androgenozależnego ludzkiego nowotworu prostaty pochodzi z banku ATTC (American Type Culture Collection, Menassas, VA). Badania prowadzę we współpracy z Katedrą Farmakognozji i Molekularnych Podstaw Fitoterapii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Wszczepienie komórek raka prostaty szczurom dootrzewnowo skutkuje występowaniem gruczolaka prostaty u 71% osobników w grupie, podskórnie odpowiednio 50%. Materiał biologiczny poddany został badaniom histopatologicznym.

Celem prowadzonych badań jest ocena wpływu wybranych składników mineralnych (cynku, selenu, żelaza, miedzi i wapnia) i związków polifenolowych (genisteiny, resweratrolu, galusanu epigalokatechiny) na rozwój i przebieg procesu nowotworowego. Poszczególne suplementy diety zwierzęta otrzymały od 70 dnia życia, w objętości 0,4 ml za

pomocą sondy dożołądkowej (zgoda Komisji Etycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (nr 45/2014)).

Materiałem do badań będzie mocz zbierany w okresie przed wyraźnym rozwinięciem guza nowotworowego oraz tkanki (wątroba, śledziona, nerki, guzy), a także próbki krwi pobrane po dekapitacji zwierząt w 21 tygodniu życia.

Na podstawie wyników badań uzyskanych w przypadku nowotworu piersi wydaję się być zasadne kontynuowanie badań szczególnie w zakresie poszukiwania markerów niestabilności mikrosatelitarnych i procesu metylacji DNA. Schorzenia gruczołu krokowego dotyczą około 50% mężczyzn po 50 roku życia i aż 75% po 80 roku życia. Badania wpływu składników diety na rozwój i przebieg procesu nowotworowego oraz wybrane biowskaźniki mogą mieć duże znaczenie w ich wykorzystywaniu w profilaktyce i wspomaganiu leczenia farmakologicznego nowotworów i innych schorzeń prostaty.

8. PIŚMIENNICTWO

[1] Didkowska J, Wojciechowska U, Zatoński W: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2011 roku. Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Krajowy Rejestr Nowotworów, Warszawa, 2013.

[2] Reddy L, Odhav B, Bhoola KD: Natural products for cancer prevention: a global perspective. Pharmacol Therapeut 2003; 99: 1-13.

[3] Franklin RB, Costello LC: Zinc as an anti-tumor agent in prostate cancer and in other cancers. Arch Biochem Biophys 2007; 463: 211-217.

[4] Donaldson MS: Nutrition and cancer: A review of the evidence for an anti-cancer diet. Nutr J 2004; 3: 19.

[5] Gurzau ES, Negau C, Gurzau AE: Essentials metals-case study on iron. Ecotoxicol Environ Safe 2003; 56 (1): 190-196.

[6] Nasulewicz A, Mazur A, Opolski A: Role of copper in tumor angiogenesis – clinical implications. J Trace Elem Med Biol 2004; 18 (1): 1-8.

[7] Pawlak WZ, Wawrocka-Pawlak M: Hiperkalcemia w chorobie nowotworowej - patofizjologia, diagnostyka, leczenie. Współcz Onkol 2003; 7(7): 482-496.

[8] Beyersmann D: Effects of carcinogenic metals on gene expression. Toxicol Lett 2002; 127: 63-68.

[9] Soobrattee MA, Neergheen VS, Luximon-Ramma A, Aruoma OI, Bahorun T: Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. Mutat Res 2005; 579: 200-213.

[10] Signorelli P, Ghidoni R: Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. J Nutr Biochem 2005; 16: 449-466.

[11] Malińska D, Kiersztan A: Flawonoidy - charakterystyka i znaczenie w terapii. Post Bioch 2004; 50: 182-196.

[12] Skibola CF, Smith MT: Potential health impacts of excessive flavonoid intake. Free Rad Biol Med 2000; 29: 375-383.

[13] Fremont L: Biological effects of resveratrol. Life Science 2000; 66: 663-673.

[14] Wakai K, Egami I, Kato K, Kawamura T, Tamakoshi A, Lin Y, Nakayama T, Wada M, Ohno Y: Dietary intake and sources of isoflavones among Japanese. Nutr Cancer 1999; 47:141-147.

[15] Skrajnowska D, Bobrowska B, Tokarz A, Kuras M, Rybicki P, Wachowicz M: The effect of zinc- and copper sulphate supplementation on tumour and hair concentrations of trace elements (Zn, Cu, Fe, Ca, Mg, P) in rats with DMBA-induced breast cancer. Pol J Environ Stud 2011; 20: 1585-1592.

[16] Kordek R, Bartkowiak J: Niestabilność mikrosatelitarna w nowotworach człowieka. Onkol Pol 1999; 2(2): 109-112.

[17] Fleischhacker M, Schmidt B: Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer – a survey. Biochem Bioph Acta 2007; 1775: 181-232.

[18] Mayall F, Fairweather S, Wilkins R, Chang B, Nicholls R: Microsatellite abnormalities in plasma of patients with breast carcinoma: concordance with the primary tumour. J Clin Pathol 1999; 52: 363-366.

[19] You-Chun L, Korol AB, Fahima T, Beiles A, Nevo E: Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. Mol Ecol 2002; 11: 2453-2465.

[20] Czarny M, Kwiatkowska J, Słomska M, Siemieniako B, Słomski R: Możliwości badawcze polimorficznych loci DNA człowieka i ich wykorzystanie w badaniach medyczno – sądowych. Arch Med Sąd Krym 1995; 45: 257-269.

[21] Bhargava A, Fuentes F: Mutational dynamics of microsatellites. Mol Biotechnol 2010; 44: 250–266.

[22] Śmigiel R, Stembalska A, Stal A, Jonkisz A: The microsatellite instability in patients with colon cancer treated in lower silesia. Adv Clin Exp Med 2006; 15(1): 29-36.

[23] Dahiya R, Lee C, Zhu Z, Thompson HJ: Microsatellite instability in an animal model of mammary carcinogenesis. Int J Oncol 1998; 13: 23-28.

[24] Toyota M, Ushijima T, Weisburger JH, Hosoya Y, Canzian F, Rivenson A, Imai K, Sugimura T, Nagao M: Microsatellite instability and lost of heterozygosity on chromosome 10 in rat mammary tumors induced by 2-amino-1-methyl-6phenylimidazo [4,5-b]pyridine. Mol Carcinogen 1996; 15: 176-182.

[25] Ahmad A, Syed FA, Singh S, Hadi SM: Prooxidant activity of resveratrol in the presence of copper ions: mutagenicity in plasmid DNA. Toxicol Lett 2005, 159:1-12.

[26] Clement MV, Hipara JL, Chawdhury SH, Pervaiz S: Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. Blood 1998; 92: 996-1002.

[27] Alkhalaf M, El-Mowafy A, Renno W, Rachid O, Ali A, Al-Attyiah R: Resveratrol-induced apoptosis in human breast cancer cells is mediated primarily through the caspase-3-dependent pathway. Med Res 2008; 39: 162-168.

[28] Ahmad A, Syed FA, Singh S, Hadi SM: Prooxidant activity of resveratrol in the presence of copper ions: mutagenicity in plasmid DNA. Toxicol Lett 2005; 159: 1-12.

[29] Hsu HY, Tsang SF, Lin KW, Yang SC, Lin CN: Cell death induced by flavonoid glycosides with and without copper. Food Chem Toxicol 2008; 46: 2394-2401.

[30] Bishayee A: Cancer prevention and treatment with resveratrol: from rodent studies to clinical trials. Cancer Prev Res 2009; 2: 409-418.

[31] Bobrowska-Korczak B, Bieniek K, Tokarz A: Metylacja DNA – wpływ wybranych naturalnych składników diety. Post Biol Komórki 2014; 41(3): 417-428.

[32] Itoh K, Aida S, Ishiwata S, Yamaguchi T, Ishida N, Mizugaki M, Immunochemical detection of urinary 5-methyl-2'-deoxycytidine as a potential biologic marker for leukemia. Clin Chim Acta 1995; 234: 37-45.

[33] Tamae K, Kawai K, Yamasaki S, Kawanami K, Ikeda M, Takahashi K, Miyamoto T, Kato N, Kasai H: Effect of age, smoking and other lifestyle factors on urinary 7-methylguanine and 8-hydroxydeoxyguanosine. Cancer Sci 2009; 100: 715-721.

[34] Ichiba M, Matsumoto A, Kondoh T, Horita M, Tomokuni K: Decreasing urinary PAH metabolites and 7-methyl-guanine after smoking cessation. Int Arch Occup Environ Health 2006; 79: 545-549.

[35] Bartosz G: Druga twarz tlenu. PWN, Warszawa, 2003.

[36] Montuschi P, Barnes PJ, Roberts LJ: Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. FASEB J 2004; 18: 1791-1800.

[37] Bhuloka Reddy S, Charles MJ, Naga Raju GJ, SeetharamI Deddy B, Seshi Reddy T, Rama Lakshmi PVB, Vijayan V: Trace elemental analysis of cancer – afflicted intestine by PIXE technique. Biol Trace Elem Res 2004; 102: 265-281.

[38] Wolf FI, Maier JAM, Nasulewicz A, Feillet-Coudray C, Simonacci M, Mazur A, Cittadini A: Magnesium and neoplasia: from carcinogenesis to tumor growth and progression or treatment. Arch Biochem Biophys 2007; 458(1): 24-32.

[39] Matsui T, Kobayashi H, Hirai S, Kawachi H, Yano H: Magnesium deficiency stimulated mRNA expression of tumor necrosis factor-α in skeletal muscle of rats. Nutr Res 2007; 27(1): 66-68.

[40] Desoize B: Cancer and Metals and Metal Compounds: Part II: Cancer treatment. Crit Rev Oncol/Hematol 2002; 42: 213-215.

[41] Gupte A, Mumper RJ: Elevated copper and oxidative stress in cancer cells as a target for cancer treatment. Cancer Treat Rev 2009; 35: 32-46.

[42] Memon AR, Tasneem GK, Hassan IA, Mohammad KJ, Mohammad BA, Nusrat J, Nasreen S: Evaluation of zinc status in whole blood and scalp hair of female cancer patients. Clin Chem Acta 2007; 379: 66-70.

[43] Griffiths RH, Moller L, Bartosz G, Bast A, Bertoni-Freddari C, Collins A, Cooke M, Coolen S, Haenen G, Hoberg AM, Loft S, Lunec J, Oliński R, Parry J, Pompella A, Poulsen H, Verhagen H, Astley SB: Biomarkers. Mol Aspects Med 2002; 23: 101-208.

[44] Sies H: Oxidative stress. Academic Press, New York, 1985.

[45] Marnett LJ: Oxyradicals and DNA damage. Carcinogenesis 2000; 21: 361-370.

[46] Oliński R, Jurgowiak M: Rola reaktywnych form tlenu w procesach mutagenezy i karcynogenezy. Postep Bioch 1999; 45: 50-57.

[47] Oliński R: Uszkodzenie DNA indukowane działaniem aktywnych form tlenu i ich rola w procesie karcynogenezy. Postep Hig Med Dośw 1993; 47: 463-474.

[48] Beal MF: Oxidatively modified proteins in aging and disease. Free Rad Biol Med 2002; 32: 797-803.

[49] Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R: Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. Clin Chim Acta 2003; 329: 23-38.

[50] Yilmaz IA, Akcay T, Cakatay U, Telci A, Ataus S, Yalcin V: Relation between bladder cancer and protein oxidation. Int Urol Nephrol 2003; 35: 345-350.

[51] Cracowski JL: Isoprostanes: an emerging role in vascular physiology and disease? Chem Phys Lipids 2004; 128: 75-83.

[52] Gertig H, Przysławski J: Bromatologia. Zarys nauki o żywności i żywieniu. PZWL, Warszawa, 2006.

[53] Charzewska J, Rogalska-Niedźwiedź M, Wajszczyk B, Chojnowska Z, Górajec M: Instrukcja sposobu przeprowadzania wywiadu o spożyciu z ostatnich 24 h poprzedzających badanie (materiały niepublikowane). Zakład Epid. Żyw. IŻŻ, Warszawa.

[54] Olędzka R, Pokorska-Lis G, Skrajnowska D, Tokarz A, Witkowska D, Woźniak J: Analiza bromatologiczna. Jakość zdrowotna żywności. Akademia Medyczna w Warszawie, 2004.

[55] Taylor KM, Hiscox S, Nicholson RI, Hogstrand C, Kille P: Protein kinase CK2 triggers cytostolic zinc signaling pathways by phosphorylation of zinc chanel ZIP7. Sci Signal 2012; 5: 1-19.

9. WYKAZ PUBLIKACJI. DONIESIENIA NA ZJAZDACH I KONFERENCJACH

9.1 WYKAZ PRAC OPUBLIKOWANYCH PRZED UZYSKANIEM STOPNIA DOKTORA

1. R. Olędzka, **B. Bobrowska**: Alergia pokarmowa. Farmacja Polska, 2001, 57, 10, 474-480.

2. R. Olędzka, J. Wiśniewska, M. Rogalska-Niedźwiedź, **B. Bobrowska**, A. Stawarska: Ocena sposobu żywienia studentów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie w roku akademickim 1999/2000. Żywienie Człowieka i Metabolizm, 2001, 28, 514-519.

3. R. Olędzka, I. Moczydłowska, M. Rogalska-Niedźwiedź, **B. Bobrowska**: Ocena ilościowa sposobu żywienia studentów Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej w roku akademickim 1999/2000. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2002, 35, 4, 315-322.

4. **B. Bobrowska**, R. Olędzka: Współczesne poglądy na rolę żywieniową luteiny i likopenu. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2002, 35, 3, 289-296.

5. R. Olędzka, B. Kozłowska, J. Wiśniewska, M. Rogalska-Niedźwiedź, **B. Bobrowska**: Ocena jakościowa i ilościowa sposobu żywienia studentów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie w zależności od roku studiów i miejsca zamieszkania w latach 1997/1999 i 1999/2000. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2003, 36, 237-242.

6. R. Olędzka, **B. Bobrowska**, K. Węgłowska, A. Szczepańska-Chudy: Stopień realizacji norm żywieniowych na wybrane składniki mineralne studentów i doktorantów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie w roku akademickim 2002/2003. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2004, 37, 4, 359-364.

7. R. Olędzka, K. Węgłowska, A. Szczepańska-Chudy, **B. Bobrowska**: Ocena sposobu żywienia studentów i doktorantów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie w roku akademickim 2002/2003. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2004, 37, 4, 353-358.

8. R. Olędzka, **B. Bobrowska**: Bezpieczeństwo żywności i chloropropanole. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2004, 37, 3, 243-248.

9. R. Olędzka, D. Karpińska, W. Majewska, **B. Bobrowska**: Ocena spożycia żelaza, cynku i miedzi przez studentów w całodziennych racjach pokarmowych i suplementach. Żywienie Człowieka i Metabolizm 2005, 32, 1, 455-460.

10. A. Tokarz, **B. Bobrowska**, M. Kosk: Wpływ termoksydacyjnie zmienionych tłuszczów roślinnych na wydzielanie 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny w moczu szczurów. Żywienie Człowieka i Metabolizm 2005, 32, 1, 351-356.

11. A. Tokarz, **B. Bobrowska**, M. Kosk, M. Dziurzyńska: Wpływ oliwy i oleju słonecznikowego na zawartość 8-OHdG w moczu we wczesnej fazie tworzenia się nowotworu sutka indukowanego 7,12-dimetylobenz[a]antracenem u szczurów. Nowiny Lekarskie 2005, 74, 4, 492-495.

12. A. Tokarz, B. Sadurska, **B. Bobrowska**: Wpływ tłuszczów roślinnych i DMBA na zawartość grup karbonylowych białek w wątrobie szczurów. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2006, 39, 237-241.

13. A. Tokarz, **B. Bobrowska**, G. Grynkiewicz, M. Matysiak: Wpływ wybranych polifenoli na proces utleniania białek w wątrobach szczurów z nowotworami indukowanymi DMBA. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2007, 2, 187-194.

9.2. WYKAZ PRAC OPUBLIKOWANYCH PO UZYSKANIU STOPNIA DOKTORA NIEWCHODZĄCYCH W CYKL PRAC BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM POSTĘPOWANIA HABILITACYJNEGO

1. A. Tokarz, **B. Bobrowska**, M. Kosk: 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biomarker for detection of the early stage induced adenocarcinoma in rats. Journal of Food Lipids 2008, 15, 3, 297-308. **IF=0,662**.

2. **B. Bobrowska**, A. Tokarz, M. Zając: Wpływ czynników dietetycznych na zawartość dialdehydu malonowego w wątrobach szczurów z wyidukowanymi DMBA nowotworami. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2008, 3, 489-495.

3. **B. Bobrowska**, A. Tokarz, S. Białek, T. Bat-Erdene: 8-IzoPGF2α w surowicy krwi jako biowskaźnik zmian zachodzących w procesie nowotworowym indukowanym DMBA u szczurów. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2009, 3, 1011–1016.

4. **B. Bobrowska**, A. Tokarz, M. Kamińska: Niestabilność mikrosatelitarna jako marker w badaniach wpływu składników diety na powstawanie nowotworów. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2010, 3, 323-329

5. **B. Bobrowska,** D. Skrajnowska, A. Tokarz, M. Kamińska: Niestabilność mikrosatelitarna jako potencjalny marker w raku piersi. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2011, 3, 497-502.

6. D. Skrajnowska, **B. Bobrowska**, A. Tokarz, M. Kuras: Wpływ miedzi i resweratrolu na zawartość wybranych pierwiastków w guzach nowotworowych u szczurów. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2011, 3, 567-571

7. D. Skrajnowska, **B. Bobrowska***, A. Tokarz, M. Kuras, P. Rybicki, M. Wachowicz: The effect of zinc- and copper sulphate supplementation on tumour and hair concentrations of trace elements (Zn, Cu, Fe, Ca, Mg, P) in rats with DMBA-induced breast cancer. Polish Journal of Environmental Studies 2011, 20, 6, 1585-1592 **IF 0,508**
*autor korespondencyjny

8. D. Skrajnowska, **B. Bobrowska**, M. Wereszczyńska, A. Tokarz: Wpływ suplementacji jonów miedzi i resweratrolu na zawartość składników mineralnych w sierści szczurów z wyidukowanym chemicznie nowotworem gruczołu sutkowego. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2012, 3, 580-585.

9. D. Skrajnowska, **B. Bobrowska**, A. Kazimierczuk, A. Tokarz Zawartość pierwiastków w kościach szczurów po podaniu jonów cynku, miedzi i związków polifenolowych. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna 2014, 3, 718-722.

10. **B. Bobrowska-Korczak**, K. Bieniek, A. Tokarz: Metylacja DNA – wpływ wybranych naturalnych składników diety. Postępy Biologii Komórki 2014, 41(3), 417-428. **IF 0,203**

9.3. DONIESIENIA NA ZJAZDACH I KONFERENCJACH

1. J. Postupolski, **B. Bobrowska**, E. Lędzion, K. Rybińska, J. Kurpińska-Jaworska, K. Karłowski: Oznaczanie aflatoksyny M_1 w mleku i modyfikowanych mieszankach mlecznych dla niemowląt i dzieci, Sympozium Żywność-Lek-Zdrowie, Łódź, 2000.
2. R. Olędzka, B. Kozłowska, M. Rogalska-Niedźwiedź, **B. Bobrowska**, A. Stawarska: Ocena ilościowa sposobu żywienia studentów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie w roku akademickim 1997/1998, XVIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Poznań, 2001.
3. R. Olędzka, B. Kozłowska, A. Stawarska, **B. Bobrowska**: Ocena jakościowa sposobu żywienia studentów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie w roku akademickim 1997/1998, XVIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Poznań, 2001.
4. R. Olędzka, I. Moczydłowska, M. Rogalska-Niedźwiedź, **B. Bobrowska**: Ocena ilościowa sposobu żywienia studentów Wydziału Chemicznego Politechniki

Warszawskiej w roku akademickim 1999/2000, Sympozjum: Bezpieczna żywność i prawidłowe odżywianie podstawą profilaktyki zdrowotnej, Wrocław, 2002.

5. R. Olędzka, B. Kozłowska, J. Wiśniewska, M. Rogalska-Niedźwiedź, **B. Bobrowska**: Ocena jakościowa sposobu żywienia studentów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie w zależności od roku studiów i miejsca zamieszkania, Sympozjum: Wartość zdrowotna i zanieczyszczenia żywności, Gdańsk, 2003.
6. R. Olędzka, B. Kozłowska, J. Wiśniewska, M. Rogalska-Niedźwiedź, **B. Bobrowska**: Ocena ilościowa sposobu żywienia studentów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie w zależności od roku studiów i miejsca zamieszkania, Sympozjum: Wartość zdrowotna i zanieczyszczenia żywności, Gdańsk, 2003.
7. R. Olędzka, K. Węgłowska, A. Szczepańska-Chudy, **B. Bobrowska**: Ocena ilościowa sposobu żywienia studentów Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie w roku akademickim 2002/2003, XIX Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Wrocław, 2004.
8. R. Olędzka, **B. Bobrowska**, K. Węgłowska, A. Szczepańska-Chudy: Spożycie składników mineralnych z dietą i suplementami przez studentów, Międzynarodowa Konferencja Naukowa, Fizjologiczne uwarunkowania postępowania dietetycznego, SGGW Warszawa, 2004.
9. A. Tokarz, **B. Bobrowska** M. Kosk, M. Dziurzyńska: 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyna jako wskaźnik oksydacyjnych uszkodzeń DNA procesie nowotworowym, Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Żywność, żywienie – nowe wyzwania, Białystok 2005.
10. **B. Bobrowska**, A. Tokarz, M. Kosk: Wpływ termooksydacyjnie zmienionych tłuszczów roślinnych na wydzielanie 8-hydroksy-2'-deoksyguanozyny w moczu szczurów, IV Krajowa konferencja Naukowo-Szkoleniowa z udziałem gości zagranicznych, Higiena żywności i żywienia podstawą zdrowia – makro i mikroelementy pierwiastki zdrowia, Jurata, 2005 – **wyróżnienie.**
11. A. Tokarz, **B. Bobrowska**, M. Kosk, M. Dziurzyńska: Wpływ oliwy i oleju słonecznikowego na zawartość 8-OHdG w moczu we wczesnej fazie tworzenia się nowotworu sutka indukowanego 7,12-dimetylo-benz[a]antracenem u szczurów, Konferencja naukowa żywność i żywienie – metodologia, ocena, zdrowie, Puszczykowo k. Poznania, 2005.
12. A. Tokarz, B. Sadurska, **B. Bobrowska**: Wpływ tłuszczów roślinnych i DMBA na zawartość grup karbonylowych białek w wątrobie szczurów, Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Ustroń, 2006.

13. A. Tokarz, **B. Bobrowska**, M. Matysiak, B. Sadurska, D. Skrajnowska: Wpływ wybranych polifenoli na zawartość grup karbonylowych aminokwasów w wątrobach szczurów z nowotworami indukowanymi DMBA, VII Krajowe warsztaty żywieniowe wzbogacanie żywności i suplementacja – korzyści i zagrożenia, Rogów, 2006 – **wyróżnienie.**
14. **B. Bobrowska**,A. Tokarz, G. Grynkiewicz, S. Bialek: The effect of genistein, resveratrol and quercetin upon urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rats with DMBA induced tumours, 3rd World Congress of the Board of Pharmaceutical Sciences of FIP, Amsterdam, 2007.
15. **B. Bobrowska**, A. Tokarz, K. S. Bialek: Kinetyka zmian zawartości 8-epiPGF2α w moczu szczurów traktowanych DMBA i otrzymujących dietę wzbogaconą olejem rzepakowym bądź słonecznikowym, V Krajowa Konferencja Naukowo-Szkoleniowa Higiena Żywności i Żywienia Podstawą Zdrowia, Zakopane, 2007.
16. A. Tokarz, **B. Bobrowska**, M. Kosk: Wpływ ogrzewanych olejów na oksydacyjne uszkodzenia DNA we wczesnej fazie tworzenia nowotworu sutka (adenocarcinoma) u szczurów, II Międzynarodowe Sympozjum Naukowe: Środowiskowe źródła zagrożeń zdrowotnych, Kazimierz Dolny, 2007.
17. **B. Bobrowska**, A. Tokarz, S. Białek: Wpływ termooksydacyjnie zmienionych tłuszczów roślinnych na zawartość 8-iso-prostaglandyny F2α w moczu szczurów we wczesnej fazie tworzenia nowotworu sutka indukowanego 7,8-dimetylobenzantracenem, Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Katowice, 2007.
18. **B. Bobrowska**, M. Seweryn, A. Tokarz, S. Bialek: Wpływ cynku i miedzi w połączeniu z wybranymi polifenoami na zawartość 8-izoprostaglandyny F2α w surowicy i moczu szczurów nowotworami indukowanymi 7,12-dimetylo-1,2-benz[a]antracenem, V Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmakologii Klinicznej i Terapii: Metody molekularne w farmakologii klinicznej od teorii do zastosowań, Poznań, 2009.
19. **B. Bobrowska**, A. Tokarz, S. Białek, T. Bat-Erdene: 8-izoPGF2α w surowicy krwi jako biowskaźnik zmian zachodzących w procesie nowotworowym indukowanym DMBA u szczurów, XX Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne: Jakość zdrowotna żywności i żywienia oraz przedmiotów użytku, Warszawa, 2009.
20. **B. Bobrowska**, A. Tokarz, G. Grynkiewicz: Rola składników diety w rozwoju procesu nowotworowego indukowanego 7,12-dimetylobenzantracenem u szczurów, XX Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne: Jakość zdrowotna żywności i żywienia oraz przedmiotów użytku, Warszawa, 2009.

21. **B. Bobrowska**, A. Tokarz, M. Kamińska: Niestabilność mikrosatelitarna jako marker w badaniach wpływu składników diety na powstawanie nowotworów, XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Gdańsk, 2010.
22. **B. Bobrowska**, D. Skrajnowska, A. Tokarz, M. Kamińska: Niestabilność mikrosatelitarna jako potencjalny marker w raku piersi, XXI Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne: Aspekty zdrowotne żywności i żywienia, Białystok, 2011.
23. D. Skrajnowska, **B. Bobrowska**, A. Tokarz, M. Kuras: Wpływ miedzi i resweratrolu na zawartość wybranych pierwiastków w guzach nowotworowych u szczurów, XXI Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne: Aspekty zdrowotne żywności i żywienia, Białystok, 2011.
24. **B. Bobrowska**, D. Skrajnowska, A. Tokarz: Microsatellite instability markers in mammary cancer, 11th European Nutrition Conference FENS, Madryt, 2011.
25. **B. Bobrowska-Korczak**, D. Skrajnowska, A. Tokarz, K. Szpaderska: „Niestabilność mikrosatelitarna jako potencjalny marker do badań nutrigenomicznych, XXII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Wisła, 2012.
26. **B. Bobrowska-Korczak**, D. Skrajnowska, A. Tokarz: H-ras1 i K-ras1 jako potencjalne markery w raku piersi, XXII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Wisła, 2012 – **wyróżnienie.**
27. D. Skrajnowska, **B. Bobrowska**, M. Wereszczyńska, A. Tokarz: Wpływ suplementacji jonów miedzi i resweratrolu na zawartość składników mineralnych w sierści szczurów z wyidukowanym chemicznie nowotworem gruczołu sutkowego, XXII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Wisła, 2012.
28. **B. Bobrowska – Korczak**, D. Skrajnowska, S. Białek, E. Jezierska, A. Tokarz: Wpływ składników diety na aktywność wybranych enzymów antyoksydacyjnych u szczurów w warunkach procesu nowotworowego, XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego "Farmacja – Nauka – Społeczeństwo", Białystok, 2013 – **wyróżnienie.**
29. **B. Bobrowska-Korczak**, D. Skrajnowska, M. Feder, A. Tokarz: Wpływ olejów roślinnych na zawartość 7-metyloguaniny w surowicy krwi szczurów, XXIII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Kraków, 2014.
30. D. Skrajnowska, **B. Bobrowska**, A. Tokarz, A. Kazimierczuk: Zawartość pierwiastków w kościach szczurów po doustnym podaniu jonów cynku, miedzi i związków polifenolowych, XXIII Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Kraków, 2014.

10. NAGRODY I WYRÓŻNIENIA

Nagroda Zespołowa Dydaktyczna Drugiego Stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za współautorstwo skryptu: „Skrypt do ćwiczeń z bromatologii dla studentów Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego" (2012).

Nagroda Zespołowa Naukowa Drugiego Stopnia Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za współautorstwo cyklu publikacji w zakresie badań nad biowskaźnikami i rolą diety w procesach nowotworowych (2013).

Brązowy Medal za Długoletnią Służbę (2014)

Wyróżnienia podczas zjazdów i konferencji.

Barbara Bobrowska-Korczak