

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego

Polskiej Akademii Nauk



Autoreferat

dr inż. Małgorzata Maria Białek

Jabłonna 2021

Spis treści

1. Imię i nazwisko:	7
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:	7
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych:	8
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy:	8
Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia:.....	8
Opis osiągnięcia.....	10
Podsumowanie wyników badań stanowiących osiągnięcie:	35
Aspekty nowości:.....	36
Spis piśmiennictwa:.....	37
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej:	45
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę:	46
Działalność dydaktyczna:	46
Działalność organizacyjna:	48
Działalność popularyzująca naukę:	48
7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej:	49
Nagrody, wyróżnienia, stypendia:	49
Współpraca z jednostkami naukowymi:	51
Kursy i szkolenia:.....	54

Wykaz skrótów:

AA – kwas arachidonowy
Ag⁺-HPLC-PDA - argentometryczna chromatografia cieczowa z detekcją fotodiodową
AHA - Amerykańskie Towarzystwo Kardiologiczne
ALA – kwas α -linolenowy
A-SFA – aterogenne nasycone kwasy tłuszczowe
CA – analiza skupień
CD – sprzężone dieny kwasów tłuszczowych
CFA – sprzężone kwasy tłuszczowe
CLA – sprzężone dieny kwasu linolowego
CLnA – sprzężone trieny kwasu linolenowego
COX – cyklooksygenaza
CT – sprzężone trieny kwasów tłuszczowych
DGLA – kwas dihomo-gamma linolenowy
DHA – kwas dokozaheksaenowy
DMBA - 7,12 -dimetylobenz(a)antracen
DOHaD – koncepcja rozwojowego pochodzenia zdrowia lub choroby
DPA – kwas dokozapentaenowy
EBM- medycyna oparta na dowodach
EPA – kwas eikozapentaenowy
FO – olej rybny
GC-MS - chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas
isoRLnA - kwas izorumelenowy
LA – kwas linolowy
LOX – lipooksygenaza
MDA – malondialdehyde /dialdehyd malonowy
PCA – analiza głównych składowych
PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe
RA – kwas żwaczowy
RLnA - kwas rumelenowy
RO – olej rzepakowy
VA – kwas wakcenyowy
WCRF/AICR - Międzynarodowy Fundusz Badań nad Rakiem, Amerykański Instytut Badań nad Rakiem

1. Imię i nazwisko:

Małgorzata Maria Białek

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne - z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

- 10.02.2016 r.** **Doktor nauk rolniczych** w dyscyplinie technologia żywności i żywienia; Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,
Tytuł rozprawy: „Projektowanie wyrobów cukierniczych o podwyższonej wartości odżywczej przeznaczonych dla dzieci”, promotor: dr hab. inż. Jarosława Rutkowska, recenzenci: dr hab. Agnieszka Nawirska-Olszańska, dr hab. Magdalena Karmać.
Dyplom z wyróżnieniem.
- 15.07.2010 r.** **Magister inżynier** technologii żywności i żywienia człowieka w zakresie żywienia człowieka i nauk konsumenckich; Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,
Tytuł pracy: „Zmiany w profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mlecznego produktów mleczarskich pochodzących z różnych regionów Polski”, promotor: dr inż. Jarosława Rutkowska
- 24.02.2009 r.** **Inżynier** technologii żywności i żywienia człowieka w zakresie żywienia człowieka i nauk konsumenckich; Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,

Tytuł pracy: „Właściwości prozdrowotne olejów roślinnych zawierających kwas γ -linolenowy i ich naturalne źródła”,
promotor: dr inż. Jarosława Rutkowska

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych:

- 03.2017 – obecnie** Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk, Zakład Żywienia Zwierząt,
stanowisko: adiunkt
- 09.2016 – 02.2017** Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk; Zakład Fizjologii Żywienia Zwierząt Przeżuwających,
stanowisko: asystent

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy:

Przedstawione do oceny w ramach postępowania habilitacyjnego osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2b Ustawy, zatytułowane **„Określenie wpływu źródeł tłuszczu o zróżnicowanym składzie kwasów tłuszczowych na profil lipidowy organizmu w stanie fizjologicznym i patologicznym – badania na modelach zwierząt gospodarskich i laboratoryjnych”** stanowi cykl powiązanych tematycznie 4 publikacji, o łącznym współczynniku oddziaływania (ang. *Impact Factor*; IF) równym **10,359** i sumie punktów ministerialnych równej **305**, opublikowanych w latach 2017 – 2020. We wszystkich publikacjach jestem pierwszym autorem i autorem korespondencyjnym.

Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia:

Dla każdej publikacji podano IF na rok opublikowania pracy oraz punktację MNiSW (dla prac opublikowanych w latach 2017 – 2018 według „Wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikację w tych

czasopismach” zgodnie z komunikatem MNiSW z dn. 26.01.2017 r., natomiast dla prac opublikowanych w latach 2019 – 2020 według „Wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych wraz z przypisaną liczbą punktów” zgodnie z komunikatem MEiN z dn. 09.02.2021 r.).

[1] **Białek M.**, Czauderna M., Białek A. (2017): Conjugated linolenic acid (CLnA) isomers as new bioactive lipid compounds in ruminant-derived food products. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 26(1), 3 - 17. IF = 0,9; MNiSW = 20 pkt.

Wkład własny: *Opracowanie koncepcji pracy, dokonanie przeglądu piśmiennictwa, przygotowanie rycin podsumowujących możliwe szlaki przemian metabolicznych kwasu α -linolenowego w organizmach zwierząt przeżuwających, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami recenzentów.*

Oświadczenia Współautorów w Załączniku 5.

[2] **Białek M.**, Czauderna M., Białek A. (2018): Partial replacement of rapeseed oil with fish oil and dietary antioxidants supplementation affects concentrations of biohydrogenation products and conjugated fatty acids in rumen and selected lamb tissues. *Animal Feed Science and Technology*, 241, 63-74. IF = 2,590; MNiSW = 45 pkt.

Wkład własny: *Opracowanie koncepcji badań, dominujący udział w opracowaniu metodyki oznaczania izomerów sprzężonych kwasów tłuszczowych techniką argentometrycznej jonowymiennej wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fotodiodową, przeprowadzenie hydrolizy prób biologicznych, ekstrakcji oraz przedkolumnowego upochodnienia analitów, wykonanie analiz techniką chromatografii cieczowej i gazowej, opracowanie wyników, przeprowadzenie analiz statystycznych i chemometrycznych, przygotowanie manuskryptu, udział w jego korekcie zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach.*

Oświadczenia Współautorów w Załączniku 5.

[3] **Białek M.**, Białek A., Czauderna M. (2019): Conjugated linoleic acid isomers affect profile of lipid compounds and intensity of their oxidation in heart of rats with

chemically induced mammary tumors – preliminary study. *Nutrients*, 11, 9, 2022. IF = 4,171; MNiSW = 140 pkt.

Wkład własny: *Opracowanie hipotezy badawczej oraz koncepcji badań, wykonanie oznaczeń analitycznych: przeprowadzenie hydrolizy prób biologicznych, ekstrakcji oraz przedkolumnowego upochodnienia analitów, wykonanie analiz techniką chromatografii gazowej oraz cieczowej, udział w opracowaniu wyników, przeprowadzenie analiz statystycznych, przygotowanie manuskryptu, udział w jego korekcie zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach.*

Oświadczenia Współautorów w Załączniku 5.

[4] **Białek M.**, Białek A., Czauderna M. (2020): Maternal and early postnatal diet supplemented with conjugated linoleic acid isomers affect lipid profile in hearts of offspring rats with mammary tumors. *Animals*, 10 (3), 464. IF = 2,323; MNiSW = 100 pkt.

Wkład własny: *Kierowanie projektem naukowym obejmującym badania opisane w pracy, opracowanie hipotezy badawczej oraz koncepcji badań, wykonanie części oznaczeń analitycznych: przeprowadzenie hydrolizy prób biologicznych, ekstrakcji oraz przedkolumnowego upochodnienia analitów, wykonanie analiz techniką chromatografii gazowej oraz cieczowej, udział w opracowaniu wyników, przeprowadzenie analiz statystycznych, przygotowanie manuskryptu oraz jego korekta zgodnie z uwagami otrzymanymi w recenzjach.*

Oświadczenia Współautorów w Załączniku 5.

Opis osiągnięcia:

Sprężone kwasy tłuszczowe (ang. *conjugated fatty acids*; CFA) to pozycyjne i geometryczne izomery kwasów tłuszczowych, w których łańcuchu węglowym znajduje się układ sprężonych (tj. oddzielonych jednym wiązaniem pojedynczym) dwóch lub więcej wiązań podwójnych. Najlepiej przebadanymi i poznanymi grupami tych kwasów są sprężone dieny kwasu linolowego (ang. *conjugated linoleic acids*;

CLA) oraz sprzężone trieny kwasu linolenowego (ang. *conjugated linolenic acids*; CLnA). Izomery CLA stanowią unikalny składnik tkanek zwierząt przeżuwających, jako że powstają one wskutek zachodzących w żwaczu przemian wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (ang. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA), m.in. kwasu linolowego (*cis-9,cis-12* C18:2; LA) i α -linolenowego (*cis-9,cis-12,cis-15* C18:3; ALA) pod wpływem enzymów pochodzenia mikrobiologicznego, m.in. anaerobowych bakterii *Butyrivibrio fibrisolvens* oraz innych szczepów z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* (Sieber i wsp., 2004; Ogawa i wsp., 2005). Jako produkt pośredni szlaku biowodorowania LA do kwasu stearynowego (C18:0) powstaje kwas żwaczowy, czyli izomer *cis-9,trans-11* C18:2 (ang. *rumenic acid*; RA), który stanowi ponad 90% wszystkich izomerów CLA obecnych w tkankach zwierząt poligastrycznych (Kramer i wsp., 1998). Kwas żwaczowy może także powstawać na drodze endogennej syntezy z izomeru *trans-11* C18:1, zwanego kwasem wakceniowym (ang. *vaccenic acid*; VA), na skutek działania $\Delta 9$ -desaturazy (Corl i wsp., 2001; Ogawa i wsp., 2005; Tanaka i wsp., 2005; Mapiye i wsp., 2015). Wybrane szczepy bakterii zasiedlających żwacz, m.in. *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* i *Bifidobacterium pseudolongum*, posiadają zdolności izomeryzacji ALA, podczas której powstają izomery CLnA (Destailats i wsp., 2005b; Bessa i wsp., 2007; Gómez-Cortés i wsp., 2009; Gorissen i wsp., 2010; Lee i wsp., 2011; Modaresi i wsp., 2011; Buccioni i wsp., 2012; Alves i wsp., 2014; Petersen i wsp., 2014; Saliba i wsp., 2014; Mapiye i wsp., 2015; Honkanen i wsp., 2016). Izomery CLnA występują także, w znacznie większych ilościach, w surowcach roślinnych, m.in. w granatowcu właściwym (*Punica granatum*, *Lythraceae*), przepękli ogórkowatej (*Momordica charantia*, *Cucurbitaceae*) i nagietku lekarskim (*Calendula officinalis*, *Asteraceae*), gdzie mogą stanowić nawet do 80% wszystkich kwasów tłuszczowych. W cząsteczkach izomerów CLnA syntezowanych w organizmach przeżuwaczy np. kwasu *cis-9,trans-11,cis-15* C18:3 (ang. *rumelenic acid*, kwas rumelenowy; RLnA) i kwasu *cis-9,trans-13,cis-15* C18:3 (ang. *isorumelenic acid*, kwas izorumelenowy; isoRLnA) jedynie dwa z trzech wiązań nienasyconych są sprzężone, i dlatego są one określane angielskim terminem „*conjugated diene type*”. Izomery syntezowane w tkankach roślin na skutek działania enzymu koniugazy, np. kwas *cis-9,trans-11,cis-13* C18:3 (ang. *punicic acid*, kwas punikowy), gromadzony w nasionach owoców granatowca właściwego, posiadają układ trzech wiązań sprzężonych i są określane

mianem „*conjugated triene type*” (Destailats i wsp., 2005a; Koba i wsp., 2007; Grossmann i wsp., 2010; Hennessy i wsp., 2011). Unikalna struktura CFA warunkuje ich specyficzne właściwości chemiczne oraz aktywność biologiczną, a także determinuje ilość tych kwasów tłuszczowych wchłanianych z przewodu pokarmowego i odkładanych w tkankach.

Modyfikacja składu dawki pokarmowej jest istotnym czynnikiem wpływającym na skład i jakość frakcji lipidowej tkanek przeżuwaczy. Wprowadzenie do racji pokarmowych tych zwierząt dodatkowych źródeł tłuszczu o zróżnicowanym profilu kwasów tłuszczowych daje możliwość modulowania procesów mikrobiologicznego uwodorowania tych biologicznie aktywnych związków w żwaczu. Co za tym idzie, stanowi skuteczną metodę modyfikacji profilu lipidowego, w tym zwiększania zawartości izomerów CFA w mleku i jadalnych częściach tuszy (Fontes, 2015). Oleje są najbardziej dostępnym źródłem tłuszczu dla mikroorganizmów odpowiedzialnych za procesy biouwodorowania zachodzące w żwaczu (Manso i wsp., 2016). Dodatek olejów rzepakowego, słonecznikowego, sojowego lub lnianego do dawki pokarmowej bydła mlecznego, opartej na kiszonce z traw lub kukurydzy, przyczyniał się do zmniejszenia całkowitej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych, jednocześnie powodując wzrost zawartości kwasu stearynowego i oleinowego (*cis-9 C18:1*) oraz zwiększenie zawartości PUFA, w tym izomerów CLA, w tłuszczu mlecznym (Jacobs i wsp., 2011; Lerch i wsp., 2012; Rutkowska i wsp., 2015; Jóźwik i wsp., 2016). Jednakże, nadmierny udział tłuszczu w dawce pokarmowej (powyżej 2-3% suchej masy) może mieć negatywny wpływ na mikroorganizmy zasiedlające żwacz (Kowalski, 2015). Dlatego też ilość oleju dodatkowo wprowadzonego do dawki pokarmowej przeżuwaczy musi być ściśle kontrolowana.

Zainteresowanie biologicznymi właściwościami izomerów CLA zapoczątkowały badania zespołu prof. Parizy, który prowadząc prace nad wpływem temperatury termicznej obróbki mięsa na powstawanie potencjalnie mutagennych i kancerogennych związków zaobserwował, że zarówno w surowej, jak i w poddanej obróbce termicznej wołowinie, występują czynniki hamujące powstawanie mutacji u bakterii *Salmonella typhimurium* (Pariza i wsp., 1979; Pariza i wsp., 1983). Następnie, podczas badań nad kancerogennymi właściwościami grillowanego mięsa wołowego na modelu mysim odkryto zdolność tych czynników, którymi okazały się

być izomery CLA, do inhibicji powstawania nowotworów skóry (Ha i wsp., 1987; Evans i wsp., 2002). W dalszych badaniach na modelu królika wykazano skuteczność izomerów CLA w przeciwdziałaniu miażdżycy (Lee i wsp., 1994; Kritchevsky i wsp., 2000, Kritchevsky i wsp., 2004). Podobnie izomery CLnA wykazują wiele różnorodnych właściwości biologicznych m.in. mogą zmieniać profil kwasów tłuszczowych różnych tkanek i wpływać na metabolizm lipidów nawet w większym stopniu niż izomery CLA (Koba i wsp., 2002; Yamasaki i wsp., 2006). Spośród potencjalnych mechanizmów działania izomerów CLnA niezwykle ważnym wydaje się być fakt ich metabolizowania na drodze redukcji jednego sprzężonego wiązania podwójnego do izomerów CLA. Stwierdzono bowiem, że efekty fizjologiczne izomerów CLnA wynikają głównie z działania ich metabolitów, w mniejszym zaś stopniu z ich działania *per se* (Tsuzuki i wsp., 2004).

Modyfikacja dawki pokarmowej zwierząt poligastrycznych jedynie w pewnym stopniu powoduje zwiększenie zawartość izomerów CLA w tkankach, czego konsekwencją jest zwiększona zawartość CLA w produktach spożywczych pochodzących od tych zwierząt, wynosząca średnio jedynie około 0,02 g/g tłuszczu. Z tego powodu uzyskanie podaży tych związków w codziennej diecie adekwatnej dla spodziewanego efektu biologicznego (tj. 1% w diecie dla właściwości przeciwnowotworowych (Ip i wsp., 1991; Corl i wsp., 2003)) jest niezwykle trudne. Dlatego uzasadnione wydaje się być stosowanie preparatów, stanowiących skoncentrowane źródło żywniowe izomerów CLA. Powstają one na skutek syntezy chemicznej z oleju roślinnego, naturalnie bogatego w kwas linolowy, na drodze izomeryzacji katalizowanej alkalicznie. Wprowadzenie do dawki pokarmowej źródeł tłuszczu o dominującym udziale konkretnej grupy kwasów tłuszczowych może nie tylko wpływać na zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych w tkankach organizmu, ale także modulować poziomy innych związków lipidowych (np. cholesterolu, tokoferoli) oraz intensywność ich przemian. Tym samym modyfikacji może ulegać całkowity profil lipidowy organizmu.

Nadrzędnym celem naukowym badań będących podstawą cyklu powiązanych tematycznie artykułów stanowiących niniejsze osiągnięcie naukowe było zbadanie wpływu modyfikacji dawek pokarmowych stosowanych w żywieniu zwierząt na profil lipidowy organizmu. Badania prowadzono na modelach zwierząt gospodarskich (owca) i laboratoryjnych (szczur), w stanie fizjologicznym oraz

patologicznym, z położeniem szczególnego nacisku na zawartość i przemiany sprzężonych kwasów tłuszczowych, których metabolizm nie jest do końca poznany.

Dotychczasowe badania nad mechanizmami powstawania izomerów CLnA w żwaczu skupiały się zwykle na jednej z wielu możliwych ścieżek przemian ALA. Z tego powodu w pracy przeglądowej dokonano całościowego podsumowania domniemanych oraz potwierdzonych doświadczalnie szlaków biouwodorowania tego kwasu, prowadzących do powstania izomerów CLnA (**publikacja 1**). Kolejny etap dotyczył wpływu modyfikacji składu dawki pokarmowej przeżuwaczy na profil lipidowy i procesy powstawania izomerów CFA. W doświadczeniu na modelu owcy zbadano efekt częściowego zastąpienia oleju rzepakowego olejem rybnym w połączeniu z dodatkiem związków o działaniu antyoksydacyjnym, na zawartość w płynie i bakteriach żwacza oraz tkankach wybranych kwasów tłuszczowych (LA i ALA) oraz pośrednich (niesprzężonych i sprzężonych – CFA) i końcowych (C18:0) produktów ich biouwodorowania (**publikacja 2**). Dalszy etap pracy poświęcono badaniom nad biologicznymi właściwościami i przemianami wybranych izomerów CFA u zwierząt laboratoryjnych w stanie fizjologicznym i patologicznym. Na modelu kardio-onkologicznym zbadano efekt wprowadzenia do diety izomerów *cis-9,trans-11* C18:2 oraz *trans-10,cis-12* C18:2 na profil lipidowy serc szczurów (**publikacja 3**). Kontynuując prace w doświadczeniu z zakresu programowania żywieniowego zbadano wpływ wzbogacania diety matek i nowo narodzonych zwierząt izomerami CLA na profil lipidowy serc szczurów potomnych z indukowanymi chemicznie nowotworami sutka (**publikacja 4**).

Główny szlak biouwodorowania kwasu α -linolenowego, inicjowany przez beztlenowe drobnoustroje, m.in. *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Butyrivibrio proteoclasticus*, *Propionibacterium acnes* (Buccioni i wsp., 2012), obejmuje szybką izomeryzację ALA, na skutek aktywności $\Delta 12$ -c, $\Delta 11$ -t-izomerazy, do kwasu *cis-9,trans-11,cis-15* C18:3 (Harfoot i wsp., 1997). Alternatywne szlaki biouwodorowania ALA w żwaczu prowadzą do powstania wielu izomerów C18:3 różniących się położeniem i geometrią podwójnego wiązania, w tym ich izomerów sprzężonych (Lee i wsp., 2011). Doświadczalnie potwierdzone ścieżki biouwodorowania izomerów C18:3 obejmują powstanie w pierwszym etapie tego procesu kwasów *trans-10,cis-12,cis-15* C18:3 (Griinari i wsp., 1999) i *cis-9,trans-13,cis-15* C18:3 (Destailats i wsp., 2005a). W treści pokarmowej dwunastnicy bydła wykryto kolejne trzy niesprzężone izomery C18:3:

cis-9,trans-12,cis-15 C18:3, *cis-9,trans-12,trans-15 C18:3* oraz *trans-9,trans-12,trans-15 C18:3* (Loor i wsp., 2004). W tłuszczu mleka owczego potwierdzono obecność kwasu *cis-9,trans-11,trans-15 C18:3* (Gómez-Cortés i wsp., 2009). Inkubacja ALA z treścią żwacza skutkowałą powstaniem kolejnych izomerów: *trans-9,trans-11,cis-15 C18:3*, *trans-9,trans-11,cis-13 C18:3*, *cis-7,cis-12,cis-15 C18:3*, *cis-8,cis-12,cis-15 C18:3* i *trans-8,cis-12,cis-15 C18:3*, na drodze różnych mechanizmów (Honkanen i wsp., 2016). Mnogość i różnorodność izomerów C18:3, powstających na skutek izomeryzacji ALA w żwaczu w wyniku reakcji uwodorowania, daje początek dużej liczbie izomerów C18:2, zarówno niesprężonych, jak i z układem wiązań sprężonych, m.in. *cis-9,trans-11 C18:2* i *trans-13,cis-15 C18:2* (Destailats i wsp., 2005b) oraz *cis-9,cis-11 C18:2*, *trans-8,trans-10 C18:2* i *cis-10,cis-12 C18:2* (Lee i wsp., 2011).

Istnieje także szereg innych, domniemanych szlaków biouwodorowania kwasu α -linolenowego. Kwas *trans-11,cis-15 C18:2* (ang. *vaccelenic acid*, kwas wakcelenowy) jest głównym izomerem C18:2 powstałym z kwasu rumelenowego, który można uznać za prekursor syntezy izomerów CLnA w wyniku aktywności $\Delta 9$ -desaturazy (Dugan i wsp., 2011). Wykazano również istnienie tzw. szlaków „*trans-10*” i „*trans-13*” biouwodorowania w żwaczu (Alves i wsp., 2014; Saliba i wsp., 2014). Pierwszy z nich, stwierdzony u zwierząt karmionych dawkami wysokoskrobiowymi, jest uważany za jedną z prawdopodobnych przyczyn indukowanego dietą obniżenia zawartości tłuszczu (ang. *diet-induced milk fat depression*; MFD) w mleku przeżuwaczy (Dewanckele i wsp., 2020). Szlak „*trans-13*” biouwodorowania, po raz pierwszy zaproponowany przez Destailats i wsp., (2005b), skutkuje powstaniem izomerów z podwójnym wiązaniem o konfiguracji *trans* przy węglu 13. (Lerch i wsp., 2012; Saliba i wsp., 2014, Loor i wsp., 2004), przy czym niektóre z nich mogą być również wytwarzane endogennie w tkankach na drodze $\Delta 9$ -desaturacji (Loor i wsp., 2005). Wyniki badań polegających na włączeniu do dawki pokarmowej przeżuwaczy oleju lnianego lub ekstrudowanych nasion lnu sugerowały, że możliwy jest kolejny alternatywny szlak biouwodorowania ALA, tzn. „*trans-14*” (Gómez-Cortés i wsp., 2009; Saliba i wsp., 2014).

Powyższe informacje dotyczące mechanizmów powstawania izomerów CLnA w organizmach zwierząt przeżuwających, pozyskane podczas przeglądu

piśmiennictwa (**publikacja 1**), a także niezwykle interesujące właściwości biologiczne tej grupy kwasów tłuszczowych (Białek i wsp., 2014b), stanowiły inspirację do podjęcia własnych badań na modelach zwierzęcych. Wydajność procesów biouwodorowania, zachodzących w żwaczu, a także konfiguracja geometryczna i położenie wiązań podwójnych w powstających produktach pośrednich determinują ilość kwasów tłuszczowych wchłanianych z przewodu pokarmowego i odkładanych w tkankach zwierząt. Kwas linolowy, α -linolenowy i długołańcuchowe PUFA są preferencyjnie włączane do frakcji polarnej lipidów (Wood i wsp., 2008), podczas gdy izomery C18:1, C18:2 i C18:3, powstające podczas biouwodorowania, są w sposób zróżnicowany wbudowywane w różne frakcje lipidów (Jerónimo i wsp., 2011). Kwasy takie jak VA, RA oraz kwas wakcelenowy i RLnA były zaś preferencyjnie wbudowywane do obojętnej frakcji tłuszczu śródmięśniowego jagniąt karmionych olejem lnianym. Zależność taka została potwierdzona również w tkankach szczurów otrzymujących dietę z dodatkiem kwasu żwaczowego lub zawierającą równomolową mieszaninę RLnA i isoRLnA w postaci wolnych kwasów tłuszczowych, lub triacylogliceroli (Plourde i wsp., 2006). Aby zweryfikować hipotezę badawczą mówiącą, iż sprzężone izomery CLnA mogą powstawać jako pośrednie produkty biouwodorowania na skutek żywieniowej modulacji procesów zachodzących w żwaczu, która jednocześnie może wpływać na stopień ich wbudowywania w tkanki, przeprowadzono eksperyment na modelu zwierząt gospodarskich, w którym dokonano modyfikacji składu dawki pokarmowej jagniąt. Celem doświadczenia było zbadanie efektu częściowego zastąpienia oleju rzepakowego olejem rybnym w połączeniu z dodatkiem związków o działaniu antyoksydacyjnym (kwasu karnozynowego i związków selenu), na zawartość wybranych kwasów tłuszczowych (LA i ALA) oraz pośrednich (niesprzężonych i sprzężonych – CFA) i końcowych (C18:0) produktów ich biouwodorowania w płynie i bakteriach żwacza oraz tkankach jagniąt (**publikacja 2**).

Doświadczenie wykonano na trzydziestu tryczkach rasy polskiej owcy nizinnej typu Corriedale o średniej masie ciała $30,5 \pm 2,6$ kg. Zwierzęta podzielono na pięć równolicznych grup, karmionych odpowiednio: grupa 0 (kontrolna) – dawką pokarmową z dodatkiem 3% oleju rzepakowego (RO); grupa I – dawką kontrolną, w której 1% RO zastąpiono 1% oleju rybnego (FO); grupa II – dawką stosowaną w grupie I z dodatkiem przeciwutleniaczy: 0,1% kwasu karnozynowego; grupa III –

dawką stosowaną w grupie II wzbogaconą o 0,35 mg selenu (w postaci selenowego preparatu drożdżowego)/kg dawki pokarmowej; grupa IV – dawką stosowaną w grupie II wzbogaconą o 0,35 mg selenu (w postaci selenianu sodu)/kg dawki pokarmowej. Materiał badawczy stanowił płyn i bakterie żwacza, wątroba oraz mięsień dwugłowy uda i mięsień najdłuższy grzbietu, które pobierano *post-mortem* 12 godzin po ostatnim podaniu owcom paszy. Układ doświadczalny zakładał jedynie częściowe zastąpienie oleju rzepakowego olejem rybnym (na poziomie 1%, tzn. 1/3 dodatkowej ilości tłuszczu wprowadzonej do dawki) aby, przy zachowaniu jego pozytywnego wpływu na procesy zachodzące w żwaczu, nie powodować niekorzystnych zmian w składzie populacji mikroorganizmów zasiedlających żwacz i ich aktywności enzymatycznej. Tłuszcze pochodzenia morskiego, takie jak oleje rybne i oleje pozyskane z alg, zmniejszają intensywność namnażania bakterii żwaczowych, odpowiedzialnych za konwersję kwasu wakcenenowego do kwasu stearynowego w żwaczu (bakterii z grupy B). Sprzyjają przez to przepływowi VA ze żwacza do dalszych odcinków przewodu pokarmowego przez co zwiększają wydajność endogenej syntezy kwasu żwaczowego (*cis-9,trans-11* C18:2) w gruczole mlekowym na skutek działania enzymu $\Delta 9$ -desaturazy. Zahamowanie ostatniego etapu biouwodorowania i akumulacja kwasów tłuszczowych, będących produktami pośrednimi tego procesu, uznawana jest za jeden ze sposobów zwiększania tkankowej syntezy izomerów CLA i tym samym, zwiększania zawartości tych bioaktywnych kwasów tłuszczowych w mleku i mięsie (AbuGhazaleh i wsp., 2004; Toral i wsp., 2010).

Częściowe zastąpienie oleju rzepakowego olejem rybnym w dawce pokarmowej jagniąt w odmienny sposób wpłynęło na zawartość izomerów sprzężonych kwasów tłuszczowych w płynie i bakteriach żwacza oraz w tkankach. Dodatek FO przyczynił się do obniżenia całkowitej zawartości izomerów CFA w płynie i bakteriach żwacza, natomiast w wątrobie oraz mięśniach udowym i grzbietowym jego wpływ na powstawanie kwasów tłuszczowych z tej grupy był odwrotny. Wpływ oleju rybnego na poszczególne grupy izomerów CFA w płynie i bakteriach żwacza był szczególnie widoczny w przypadku dwóch grup izomerów: sprzężonych dienów o konfiguracji *cis,trans/trans,cis* oraz sprzężonych trienów o konfiguracji *trans,trans,trans*. FO przyczyniał się do zahamowania ich syntezy w płynie żwaczowym, natomiast nasilał ten proces we frakcji bakteryjnej mikrobioty żwacza.

W tkankach całkowita zawartość izomerów CFA, jak również ilość poszczególnych typów tych izomerów, wykazywała tendencję wzrostową pod wpływem zastąpienia w racji pokarmowej owiec 1% oleju rzepakowego olejem rybnym. Zmiany te były szczególnie wyraźne w mięśniu najdłuższym grzbietu, gdzie zawartość poszczególnych CFA była kilkakrotnie większa w tkankach owiec, których dawka pokarmowa zawierała olej rybny. W przypadku kwasu żwaczowego wzrost ten był czterokrotny, co przełożyło się na najwyższe poziomy CFA i sprzężonych dienów (ang. *conjugated dienes*; CD) w mięśniu grzbietowym tych zwierząt. Włączenie oleju rybnego do dawki pokarmowej stosowanej w żywieniu owiec, spowodowało obniżenie zawartości kwasu stearynowego w bakteriach żwacza wszystkich grup eksperymentalnych w porównaniu do grupy kontrolnej. Stwierdzony efekt mógł być spowodowany obniżeniem aktywności bakterii żwaczowych z grupy B, odpowiedzialnych za konwersję izomerów C18:1 do C18:0 (Buccioni i wsp., 2012).

Biorąc pod uwagę znaczną zawartość w oleju rybnym PUFA, które są związkami podatnymi na procesy utleniania, w doświadczeniu zastosowano dodatki o właściwościach przeciwutleniających: kwas karnozynowy oraz dwie różne formy chemiczne selenu: organiczną – selenowy preparat drożdżowy oraz nieorganiczną - selenian sodu. Dodatki te znane są także ze zdolności modyfikowania składu i aktywności mikrobioty żwacza w procesach biouwodorowania lub izomeryzacji kwasów tłuszczowych, a tym samym biosyntezy kwasów tłuszczowych (Miltko i wsp., 2016; Morán i wsp., 2014; Kisidayova i wsp., 2014; Czauderna i wsp., 2013). Zastosowane w doświadczeniu substancje przeciwutleniające wykazują wobec oleju rybnego działanie synergistyczne lub antagonistyczne, w zależności zarówno od rodzaju badanego materiału biologicznego, jak i od rodzaju substancji dodanej do dawki. W płynie i bakteriach żwacza kwas karnozynowy i selenowy preparat drożdżowy działają synergistycznie, natomiast selenian sodu - antagonistycznie z olejem rybnym na syntezę izomerów CFA. W wątrobie oraz mięśniu najdłuższym grzbietu wszystkie dodatki paszowe wykazywały w stosunku do oleju rybnego działanie antagonistyczne na syntezę CFA. Wskazują na to poziomy izomerów CFA w tkankach owiec z grup żywionych paszą z dodatkiem przeciwutleniaczy. Niejednokrotnie były one obniżone do poziomu porównywalnego, lub nawet niższego, niż w grupie, której dawka pokarmowa nie była uzupełniana substancjami o właściwościach przeciwutleniających. Te obserwacje mogą potwierdzać

synergistyczne działanie związków selenu z kwasem karnozynowym, polegające na nasilaniu zdolności do hamowania syntezy CFA i/lub ograniczaniu procesu izomeryzacji kwasów tłuszczowych. W mięśni dwugłowym uda kwas karnozynowy znosił wpływ FO na syntezę CFA, podczas gdy seleno-związki działały synergistycznie z tym olejem. W wątrobie nieorganiczna forma chemiczna selenu, dodana do dawki pokarmowej owiec z grupy IV, najintensywniej zmniejszała ilości sprzężonych pośrednich produktów biouwodorowania, w porównaniu z grupą kontrolną. W mięśni dwugłowym uda jagniąt związki selenu, zwłaszcza jego forma organiczna, w największym stopniu stymulowały bioakumulację CFA i CD.

Wzbogacenie dawki pokarmowej jagniąt substancjami o właściwościach przeciwutleniających wpłynęło także na poziomy substratów oraz produktów pośrednich i produktów końcowych procesów biouwodorowania, zarówno w płynie i bakteriach żwacza, jak i w badanych tkankach. Niektóre badania sugerują, że mikrobiota zasiedlająca żwacz jest zdolna do syntezy *de novo* izomerów CLA (Bessa i wsp., 2007), ale dotychczas nigdy nie zostało to udowodnione empirycznie. Kwas wakcenyowy, kwas żwaczowy a także inne izomery CFA znajdujące się w płynie żwacza, pochodzą wyłącznie ze szlaku biouwodorowania (Vasta i wsp., 2009). Z tego powodu w niniejszym eksperymencie do obliczenia indeksów izomeryzacji i biouwodorowania LA i ALA wykorzystano zawartości określonych kwasów tłuszczowych w płynie żwacza. Zastosowane związki selenu silnie oddziaływały na procesy izomeryzacji i biouwodorowania w żwaczu a ich wpływ zależał od postaci chemicznej tego pierwiastka. Organiczna forma selenu istotnie hamowała stopień izomeryzacji, zarówno LA jak i ALA, w porównaniu do pozostałych grup eksperymentalnych. Nieorganiczna forma selenu wpływała hamująco na procesy biouwodorowania ALA, co było szczególnie widoczne wobec grupy kontrolnej oraz grupy zwierząt, których dawka zawierała olej rybny i kwas karnozynowy. Wyliczone w toku badań wskaźniki, uwzględniały oba etapy przemian PUFA zachodzące w żwaczu, a także mnogość możliwych produktów pośrednich tych procesów (ze szczególnym uwzględnieniem izomerów CFA (Lee i wsp., 2011)). Dzięki temu w możliwie szeroki i dogłębny sposób pozwoliły ocenić metabolizm PUFA w żwaczu, w porównaniu do innych, wcześniej używanych wskaźników, które opierały się na stosunku tylko jednego możliwego produktu pośredniego (kwasu wakcenyowego) do produktu końcowego (kwasu stearynowego) (Vasta i wsp., 2010).

Analiza głównych składowych (ang. *Principal Component Analysis*; PCA) wykazała dobre oddzielenie grupy karmionej paszą z dodatkiem 1% FO, bez udziału antyoksydantów, od pozostałych grup żywieniowych. Obserwowano także subtelne rozdzielenie dwóch grup karmionych paszą z dodatkiem selenu, ze względu na jego formę chemiczną. Wyniki PCA wskazują także, że częściowe zastąpienie RO przez FO skutkowało preferencyjnym wbudowywaniem izomerów CFA do wątroby i mięśnia najdłuższego grzbietu, natomiast dodatek selenu sprzyjał odkładaniu się izomerów CFA w mięśniu udowym.

W wyniku przeprowadzenia analizy skupień (ang. *Cluster Analysis*; CA) wyodrębniono cztery skupienia, odzwierciedlające zastosowaną modyfikację składu skarmianej paszy. Częściowe zastąpienie RO przez FO bez dodatku przeciwutleniaczy w najsilniejszy sposób modyfikowało profil CFA, ponieważ skupienie S1 (grupa I) znacząco różniło się od pozostałych wyodrębnionych skupień. Pomimo, że zwierzęta z grup, których dawki pokarmowe wzbogacane były w selen, otrzymywały jednakową ilość tego pierwiastka (0,35 mg selenu /kg dawki pokarmowej), zostały przypisane do różnych skupień (odpowiednio S3 i S4), co wskazuje na istotny wpływ zastosowanej formy chemicznej selenu. Wyniki CA wydają się ponadto sugerować, że wprowadzenie do dawki pokarmowej kwasu karnozynowego oraz selenowego preparatu drożdżowego w bardzo podobny sposób wpływało na ogólny profil CFA u jagniąt, ponieważ grupy II i III, należące do skupienia S3 były do siebie bardziej podobne niż do grupy IV, stanowiącej skupienie S4.

Podsumowując można stwierdzić, że częściowe zastąpienie oleju rzepakowego olejem rybnym w większym stopniu wpłynęło na profil sprzężonych niż niesprzężonych produktów pośrednich biouwodorowania i izomeryzacji LA i ALA. Jednoczesne uzupełnianie dawki pokarmowej jagniąt antyoksydantami oddziaływało synergistycznie z FO na zawartość izomerów CFA w płynie i bakteriach żwacza, natomiast w przypadku tkanek efekt ten był antagonistyczny. Wpływ związków selenu na poziomy CFA różnił się w zależności od formy chemicznej tego pierwiastka. Uzyskane wyniki potwierdzają, że organiczne i nieorganiczne związki Se mają zdolność modyfikowania procesów zachodzących w żwaczu, a tym samym mogą w konsekwencji prowadzić do korzystnej modyfikacji profilu kwasów tłuszczowych, w tym ich sprzężonych izomerów, w jadalnych częściach tuszy jagniąt.

Poprawna identyfikacja i analiza ilościowa poszczególnych izomerów CFA jest utrudniona z uwagi na ich niewielką zawartość w tkankach zwierzęcych a także brak standardów analitycznych dla wszystkich możliwych izomerów, częste przypadki koelucji oraz słabą rezolucję poszczególnych izomerów (Alves i wsp., 2014). Najtrudniejszym a jednocześnie najważniejszym zadaniem w identyfikacji izomerów CFA jest prawidłowe określenie położenia wiązania podwójnego w cząsteczce oraz jego konfiguracji geometrycznej (izomeria *cis/trans*). Biorąc pod uwagę fakt, że podczas biouwodorowania ALA zachodzącego w żwaczu może powstawać wiele produktów pośrednich, w tym także sprzężonych, o niezidentyfikowanej dotąd konfiguracji geometrycznej i położeniu wiązań podwójnych (co implikuje brak dostępnych standardów analitycznych dla tych związków), do ich dokładnej identyfikacji potrzebna jest prosta, specyficzna i selektywna metoda analityczna o zadowalającej dokładności i czułości. Dlatego za szczególnie nowatorski aspekt niniejszego osiągnięcia można uznać opracowanie chromatograficznej metody jakościowego i ilościowego oznaczania pełnego profilu izomerów CFA, w tym izomerów zawierających układ dwóch i trzech podwójnych wiązań sprzężonych w cząsteczce (sprzężonych dienów i sprzężonych trienów (ang. *conjugated trienes*; CT)), zarówno pochodzenia egzogenne, jak i endogenne. Argentometryczna chromatografia cieczowa z detekcją fotodiodową (Ag^+ -HPLC-PDA) pozwala na zadowalające rozdzielanie izomerów sprzężonych kwasów tłuszczowych, zarówno bez upochodnienia, jak i po ich uprzedniej metylacji, nie tylko w zależności od ilości i położenia wiązań podwójnych, ale także od ich konfiguracji geometrycznej (Roach i wsp., 2002; Czauderna i wsp., 2003a; Czauderna i wsp., 2011). Dotychczas stosowana w naszym zespole metoda Ag^+ -HPLC-PDA, zakładająca rozdział analitów w układzie dwóch kolumn jonowymiennych (Czauderna i wsp., 2005a; Czauderna i wsp., 2005b; Korniluk i wsp., 2006a; Korniluk i wsp., 2006b; Wąsowska i wsp., 2006), okazała się niewystarczająca do zrealizowania zamierzonych celów badawczych w zaprojektowanych układach doświadczalnych. Udoskonalona metoda, dzięki zastosowaniu układu czterech kolumn jonowymiennych, ładowanych Ag^+ , w której nie ma konieczności przeprowadzania przedkolumnowego upochodnienia, charakteryzuje się większą czułością, precyzją, specyficznością oraz selektywnością oznaczania ww. analitów. Opracowana oryginalna wysokorozdzielcza metoda Ag^+ -HPLC-PDA wraz z rutynowo stosowaną techniką chromatografii gazowej sprzężonej

ze spektrometrią mas (GC-MS) stanowi wyjątkowo skuteczny sposób monitorowania całego profilu lipidowego tkanek, a także jakości bioaktywnych surowców i dodatków paszowych, używanych jako żywieniowe czynniki eksperymentalne, np. oleju z nasion granatowca (Białek i wsp., 2019; Białek i wsp., 2020). Użyteczność tej metody została także potwierdzona w trakcie realizacji dalszych badań wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego (**publikacja 3, publikacja 4**).

Zainteresowanie bioaktywnymi właściwościami izomerów CLA zapoczątkowały wyniki uzyskane przez zespół prof. Parizy (Pariza i wsp., 1979; Pariza i wsp., 1983). Prowadzono liczne badania mające na celu potwierdzenie skuteczności izomerów CLA w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych, w tym nowotworów i miażdżycy (Ha i wsp., 1987; Lee i wsp., 1994; Kritchevsky i wsp., 2000; Evans i wsp., 2002; Kritchevsky i wsp., 2004; Fan i wsp., 2015). Rekomendowane przez Międzynarodowy Fundusz Badań nad Rakiem, Amerykański Instytut Badań nad Rakiem (ang. *World Cancer Research Fund/American Institute of Cancer Research*; WCRF/AICR) oraz Amerykańskie Towarzystwo Kardiologiczne (ang. *American Heart Association*; AHA) odejście od tzw. zachodniego modelu żywienia (ang. *Western diet*) poprzez m.in. ograniczenie spożycia przetworzonej wołowiny, pełnotłustego mleka i produktów mlecznych wydają się być „mieczem obosiecznym”, ponieważ to właśnie te produkty spożywcze stanowią główne dietetyczne źródło izomerów CLA dla ludzi. Jednak biorąc pod uwagę niską ich zawartość w produktach mlecznych (Białek i wsp., 2009), preparaty zawierające izomery CLA, powstałe na skutek syntezy chemicznej z oleju roślinnego, naturalnie bogatego w kwas linolowy (Białek i wsp., 2016), stanowią bogate, skoncentrowane źródło tych związków i zyskują na popularności wśród konsumentów.

Coraz częściej wskazuje się nie tylko na wspólne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych i nowotworów, ale także na zbliżone mechanizm patogenezy tych schorzeń (Koene i wsp., 2016; Mehta i wsp., 2018). Potwierdzają to wyniki badań pacjentów z rakiem piersi, otrzymujących chemioterapię i radioterapię, u których obserwowano zwiększone ryzyko wystąpienia chorób układu krążenia (Bradshaw i wsp., 2016; Blaes i wsp., 2017; Okwuosa i wsp., 2017; Clark i wsp., 2017; Vo i wsp., 2017; Blaes i wsp., 2021). Ze względu na wzrastającą liczbę osób wyleczonych z raka, starzenie się populacji, a także wzrost zapadalności na różne typy nowotworów

i choroby układu sercowo-naczyniowego, rośnie liczba pacjentów ze współistniejącymi chorobami onkologicznymi i kardiologicznymi. W celu zapewnienia optymalnych warunków terapeutycznych oraz uniknięcia możliwości ograniczenia stosowania określonych rodzajów terapii przez rozwój schorzeń współistniejących, rozwinęła się koncepcja „kardioonkologii” (Cardinale i wsp., 2008). Kardioonkologia jest dziedziną nauk medycznych, obejmującą opiekę nad pacjentami nowotworowymi z chorobami układu krążenia, jawnymi lub ukrytymi, zarówno istniejącymi jak i nabytymi podczas leczenia. Obejmuje ona również wczesne rozpoznawanie, łagodzenie i zapobieganie skutkom nowotworów i sposobom ich leczenia na układ sercowo-naczyniowy. Kardioonkologia dotyczy także poszukiwania i testowania nowych strategii terapeutycznych, zbierania nowych wskazań opartych na dowodach (ang. *evidence-based medicine*; EBM) oraz rozwijania interdyscyplinarnej wiedzy specjalistycznej w celu poprawy jakości życia i zdrowia pacjentów kardio-onkologicznych (Asteggiano i wsp., 2019; Ghosh i wsp., 2017). Biorąc pod uwagę olbrzymie koszty społeczne, zdrowotne i finansowe współistnienia chorób układu krążenia i nowotworów (Singleterry, 2017; Thornburg, 2015), niezwykle istotne jest poszukiwanie także skutecznych strategii profilaktycznych, dedykowanych zmniejszeniu ryzyka wystąpienia obu rodzajów chorób, oraz badanie ich mechanizmów biologicznych. U pacjentów onkologicznych nie poddanych terapii zaobserwowano, że także sam rozwijający się guz piersi może mieć szkodliwy wpływ na serce (Venneri i wsp., 2015). Może on także przyczyniać się do rozwoju ogólnoustrojowego stanu zapalnego, czego wyrazem jest zwiększenie stężenia biomarkerów sercowo-naczyniowych i zapalnych (Cubbon i wsp., 2016). To zjawisko potwierdzają badania, w których stwierdzono, że rozwijające się guzy nowotworowe wykazują duże powinowactwo do PUFA, dlatego w istotny sposób mogą zmieniać zawartość kwasów tłuszczowych w okolicznych tkankach (Arab, 2003).

Wcześniejsze badania potwierdziły skuteczność przeciwnowotworową izomerów CLA (Białek i wsp., 2014c; Białek i wsp., 2015a,b). Wykazano także potencjalne właściwości przeciwmiażdżycowe tych kwasów tłuszczowych (Lee i wsp., 1994; Kritchevsky i wsp., 2000; Kritchevsky i wsp., 2004; Nakamura i wsp., 2008). Badano również wpływ izomerów CLA na profil lipidowy serc zwierząt laboratoryjnych w stanie fizjologicznym (Kelley i wsp., 2006; Yuan i wsp., 2009; Alasnier i wsp., 2002), natomiast tego typu badania nie były dotychczas prowadzone na modelu

kardioonkologicznym, tzn. u zwierząt, u których rozwinął się proces nowotworowy. Postawiono hipotezę badawczą, że izomery CLA, podawane zwierzętom z guzami sutka, mogą wykazywać odmienny wpływ na poziomy wybranych biomarkerów chorób układu krążenia niż u zdrowych szczurów, oraz że wpływ ten może być korzystny w odniesieniu do mięśnia sercowego. W celu weryfikacji tej hipotezy podjęto badania nad wpływem izomerów CLA na zawartość kwasów tłuszczowych, finalnego produktu ich utleniania – dialdehydu malonowego (MDA), cholesterolu, produktów jego utleniania – oksysteroli u szczurów ze współistniejącym nowotworem piersi (**publikacja 3**).

Doświadczenie przeprowadzono na samicach szczurów szczepu Sprague-Dawley (n=46, wiek 30 dni), które zostały losowo przyporządkowane do jednej z 4 grup eksperymentalnych. Grupy te wyodrębniono na podstawie wzbogacania diety komercyjnym preparatem zawierającym równomolową mieszaninę dwóch głównych izomerów CLA (*cis*-9,*trans*-11 C18:2 i *trans*-10,*cis*-12 C18:2) lub olejem z krokosza barwierskiego (*Carthamus tinctorius*, *Asteraceae*) oraz stosowania kancerogenu (7,12-dimetylobenz(a)antracenu, DMBA). Materiałem badawczym były serca, pobrane *post mortem* w 21. tygodniu eksperymentu.

Obniżenie masy ciała szczurów z nowotworami sutka, które wystąpiło w większym stopniu wśród zwierząt suplementowanych olejem krokoszowym, niż w grupach suplementowanych izomerami CLA, można uznać za pierwszy objaw kacheksji nowotworowej. Zwiększenie masy serca oraz stosunku masy serca do całkowitej masy ciała, w konsekwencji obecności guza, było bardziej wyraźne u szczurów, którym podawano olej krokoszowy. Może to wskazywać na zwiększoną podatność na przerost mięśnia sercowego zwierząt pozbawionych suplementacji izomerami CLA po ekspozycji na chemiczny kancerogen.

Obserwowano wpływ czynników doświadczalnych (tj. modyfikacji diety i obecności guzów nowotworowych) oraz ich wzajemnych interakcji, zarówno na poziomy pojedynczych kwasów, jak i na sumaryczne zawartości ich poszczególnych grup (nasyconych, jednonienasyconych, wielonienasyconych). Wydaje się to mieć niebagatelne znaczenie, gdyż rola poszczególnych kwasów tłuszczowych, należących do różnych grup chemicznych, oraz ich metabolitów a także jej możliwe implikacje dla rozwoju mięśnia sercowego, są nadal niecałkowicie poznane. Dlatego podejmowane są badania mające na celu ustalenie mechanizmów, za pomocą których

składniki lipidowe diety wpływają na układ sercowo-naczyniowy (Van Bilsen i wsp., 2014). W przypadku wielonienasyconych kwasów tłuszczowych stwierdzono istotną interakcję wzbogacania diety oraz występowania guzów nowotworowych wobec całkowitej zawartości tej grupy kwasów tłuszczowych, PUFA z rodziny n-6 oraz kwasu dokozapentaenowego (*cis-7,cis-10,cis-13,cis-16,cis-19* C22:5; DPA). Ze względu na zdolność DPA do zakłócania szlaku cyklooksygenazy (COX) i przyspieszania szlaków lipooksygenazy (LOX), ten kwas tłuszczowy uważany jest za najsilniejszy inhibitor agregacji płytek stymulowanej kolagenem lub kwasem arachidonowym (*cis-5,cis-8,cis-11,cis-14* C20:4; AA) spośród długołańcuchowych PUFA z rodziny n-3 (Ayalew-Pervanchon i wsp., 2007). Zatem znaczący wzrost zawartości DPA w sercach szczurów z grupy CLAplus w porównaniu z grupą SAFplus może świadczyć o kardioochronnym działaniu izomerów CLA we współistniejącym procesie nowotworowym. Wystąpienie guzów nowotworowych w obrębie gruczołów sutkowych na skutek podania chemicznego kancerogenu istotnie wpłynęło na zawartość kwasów *cis-11,cis-14* C20:2 i dokozaheksaenowego (*cis-4,cis-7,cis-10,cis-13,cis-16,cis-19* C22:6; DHA). Wykazano również, że izomery CLA obecne w diecie hamują tworzenie się PUFA z rodziny n-6, w tym kwasu dihomogamma linolenowego (*cis-8,cis-11,cis-14* C20:3; DGLA) i AA w stanie fizjologicznym, co przypuszczalnie może również wpływać na biosyntezę prozapalnych eikozanoidów (Jelińska i wsp., 2017).

Stwierdzono istotny wpływ modyfikacji diety na zawartość dwóch głównych izomerów CLA w sercach szczurów. Chociaż stosowany preparat zawierał znaczną ilość tych izomerów CLA (łącznie 197,2 mg/g), tylko bardzo niewielka ich ilość została wbudowana do tkanki serca szczurów, odpowiednio z grup CLA (średnio 18,53 µg/g) i CLAplus (średnio 27,0 µg/g). Może to wynikać z faktu, że frakcja lipidowa serca charakteryzuje się znaczną zawartością fosfolipidów (podobnie jak wątroba i nerki), podczas gdy izomery CLA są preferencyjnie wbudowywane w triacyloglicerole (Alasnier i wsp., 2002). Niektóre hipotezy mówią o różnicach w wydajności metabolizmu komórkowego głównych izomerów CLA, wynikających z faktu, iż zawartość izomeru *trans-10,cis-12* C18:2 jest niższa w wątrobie, sercu i nerkach, niż zawartość izomeru *cis-9,trans-11* C18:2 (Alasnier i wsp., 2002). W niniejszym badaniu własnym wykazano natomiast, że obydwie izomery CLA z podobną wydajnością są

wbudowywane w tkankę sercową szczurów, niezależnie od współwystępowania guzów nowotworowych w obrębie gruczołów sutkowych.

W przypadku zawartości poszczególnych grup izomerów CFA stwierdzono istotny wpływ obu zastosowanych czynników eksperymentalnych oraz ich interakcji. Jednak najbardziej interesującą obserwacją jest stwierdzenie obecności sprzężonych izomerów kwasów tłuszczowych także w sercach zwierząt, których dieta nie była suplementowana izomerami CLA. Zdaje to się potwierdzać nasze wcześniejsze przypuszczenia o zdolności populacji drobnoustrojów, zasiedlających przewód pokarmowy szczurów (zwierząt monogastrycznych), do izomeryzacji i wprowadzania układu wiązań sprzężonych w łańcuch węglowy kwasów tłuszczowych (Białek i wsp., 2019). Aktywność ta mogła wynikać nie tylko z działania enzymów endogennych, ale także z nasilonej aktywności mikroflory zasiedlającej jelito ślepe szczurów, ponieważ izomery CLA wykazywały właściwości prebiotyczne (Chaplin i wsp., 2015). Takie działanie specyficznej mikroflory jelitowej szczurów zostało potwierdzone we wcześniejszych badaniach, w których szczepy gnotobiotyczne tych zwierząt, inokulowane mikrobiotą pochodzącą od zdrowych ludzi, nie były zdolne do wytworzenia izomerów CLA (Kamlage i wsp., 1999).

Serce uważane jest za narząd wewnętrzny, w którym procesy utleniania kwasów tłuszczowych zachodzą z bardzo dużą wydajnością (Waterland i wsp., 2006). Zastosowana modyfikacja diety istotnie wpływała na zawartość MDA - najpowszechniej wykorzystywanego biomarkera odzwierciedlającego intensywność procesów peroksydacji kwasów tłuszczowych, w sercach szczurów. Poziomy tego związku były niższe w grupach otrzymujących preparat zawierający izomery CLA, w porównaniu do grup otrzymujących paszę wzbogacaną olejem krokoszewym, co może świadczyć o potencjalnym silnym działaniu antyoksydacyjnym izomerów CLA. Podobne właściwości tych związków stwierdzono wcześniej nie tylko dla pojedynczych izomerów CLA, ale także w połączeniu np. ze związkami selenu (Czauderna i wsp., 2003b). Przypuszczalnie także w tym modelu zwierzęcym właściwości przeciwutleniające izomerów CLA związane są ze zmniejszeniem zachorowalności na raka piersi w grupie CLApplus w porównaniu do grupy SAFplus. Ta grupa CFA hamuje aktywność enzymów cytochromu P450, a w konsekwencji osłabia zdolność DMBA do indukcji procesu nowotworowego. Kancerogenność DMBA związana jest z jego lipofilowym charakterem, dzięki czemu może on gromadzić się

w tkance tłuszczowej gruczołu sutkowego przed aktywacją metaboliczną (Kerdelhué i wsp., 2016). W aktywację metaboliczną DMBA zaangażowane są enzymy cytochromu P450, zwłaszcza izoformy CYP1A1 i CYP1B1 (Lin i wsp., 2012). Biorąc pod uwagę, że różne izoformy cytochromu P450 biorą udział w metabolizmie takich kwasów tłuszczowych jak kwas eikozapentaenowy (*cis-5,cis-8,cis-11,cis-14,cis-17* C20:5; EPA), AA i DHA (Arnold i wsp., 2010), dostępność innych potencjalnych substratów (np. izomerów CFA, w tym CLA, CLnA oraz ich metabolitów) może wpływać na aktywność tych oksygenaz (Lepionka i wsp., 2019). Poszczególne izoformy CYP 450 biorą także udział w tworzeniu wybranych oksysteroli, będących produktami utleniania cholesterolu (Niki i wsp., 2005).

Oksysterole są jednym z uznanych czynników ryzyka miażdżycy, chorób neurodegeneracyjnych i nowotworowych (Poli i wsp., 2013; Griffiths i wsp., 2019). Wykazują one właściwości plejotropowe, gdyż mogą być zarówno biomarkerami, jak i prawdopodobną przyczyną różnych stanów patologicznych (patofizjologiczna aktywność biochemiczna oksysteroli może być nawet dwukrotnie większa w porównaniu z cholesterolem) (Brzeska i wsp., 2016). Ponieważ zarówno zastosowana w niniejszym doświadczeniu pasza laboratoryjna, jak i preparat CLA, nie były egzogennymi źródłami oksysteroli, można wnioskować, że całkowita ilość tych związków, oznaczona w sercach szczurów, pochodziła z oksydacyjnej transformacji cholesterolu, zarówno endogennego, jak i dostarczanego z dietą. Na zawartość cholesterolu w sercach szczurów nie wpłynął żaden z zastosowanych czynników eksperymentalnych. Czynniki te natomiast wywierały istotny wpływ jedynie na zawartość 7-ketocholesterolu (7K). Poziom tego oksysterolu, występującego w najwyższych ilościach i powstającego na drodze nieenzymatycznej, był niższy w grupach zwierząt otrzymujących preparat zawierający izomery CLA, co jest bardzo obiecującą obserwacją, ponieważ związek ten jest odpowiedzialny m.in. za tworzenie komórek piankowatych (Kulig i wsp., 2016). Obserwowano także podwyższony stosunek stężenia 7-ketocholesterolu do 7 β -hydroksycholesterolu w sercach szczurów z grupy SAFplus. Był on niższy w sercach szczurów suplementowanych CLA, niezależnie od obecności guzów nowotworowych. Stanowi to potwierdzenie korzystnego wpływu wzbogacania diety izomerami CLA na biomarkery chorób układu sercowo-naczyniowego, ponieważ 7-hydroksycholesterole są głównymi, obok 7K, oksysterolami występującymi w blaszce miażdżycowej (Kulig i wsp., 2016).

Podsumowując można stwierdzić, że zarówno wzbogacanie diety izomerami CLA, jak i występowanie guzów sutka, wpływają na wybrane lipidowe biomarkery chorób układu krążenia. Wprowadzenie do diety izomerów CLA może modyfikować profil kwasów tłuszczowych wbudowywanych do mięśnia sercowego a także znacząco wpływać na procesy utleniania lipidów poprzez hamowanie oksydacji PUFA. Współistniejący proces nowotworowy nasila zaś procesy utleniania cholesterolu. Istotne interakcje obu zastosowanych czynników eksperymentalnych zaobserwowano w przypadku całkowitej zawartości PUFA, PUFA z rodziny n-6 oraz CFA. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do wyjaśnienia dokładnego mechanizmu wpływu izomerów CLA na serce w przypadkach współistniejącej choroby nowotworowej. Dodatkowo, potwierdzona w badaniach kardioonkologicznych użyteczność modelu badawczego, dotychczas stosowanego do badań typowo onkologicznych, może także stanowić solidną podstawę i punkt wyjścia do dalszych badań, a także do podjęcia działań profilaktycznych.

W kontekście patogenezy i profilaktyki chorób cywilizacyjnych szczególnie interesującym zagadnieniem wydaje się być ocena wpływu bodźca działającego podczas życia płodowego na ryzyko wystąpienia tych chorób w wieku dojrzałym. Hipoteza ta zwana jest koncepcją "rozwojowego pochodzenia zdrowia i choroby" (ang. *developmental origins of health and disease*; DOHaD) lub "programowania rozwojowego" (ang. *developmental programming*) (Barker i wsp., 1989; Barker, 1993; Barker, 1995). Teoria programowania płodowego zakłada, że niekorzystne warunki środowiskowe, które wystąpią w trakcie kluczowego dla rozwoju osobniczego okresu wewnątrzmacicznego, mogą powodować nieodwracalne zmiany w morfologii, metabolizmie i funkcjach narządów. Zmiany te z jednej strony stanowią wyraz adaptacji do niekorzystnych warunków i zapewniają przetrwanie płodu, z drugiej jednak strony mogą powodować nieprawidłowe czynności narządów w wieku dorosłym (Kwon i wsp., 2017; Gluckman i wsp., 2008).

Dieta matki w okresie ciąży uważana jest za najważniejszy czynnik wpływający na rozwój i metabolizm płodu, głównie przez wpływ na kształtowanie się epigenetycznych mechanizmów regulacyjnych we wczesnym okresie życia, co znajduje swoje odzwierciedlenie w podatności potomstwa na choroby przewlekłe w wieku dorosłym (Waterland i wsp., 2006; Mennitti i wsp., 2015). Każda tkanka ma

tzw. krytyczne okno (ang. *critical window*), kiedy jest szczególnie podatna na modyfikacje środowiskowe. Niektóre tkanki kształtują się i rozwijają całkowicie przed urodzeniem, podczas gdy inne (m. in. mózg, układ pokarmowy, trzustka i tkanka tłuszczowa) rozwijają się także po urodzeniu (van der Beek i wsp., 2020). Wyniki zarówno badań epidemiologicznych, jak i doświadczeń na zwierzętach potwierdziły, że ekspozycja żywieniowa w krytycznych okresach rozwoju wpływa na ekspresję genów, a tym samym na procesy zachodzące w poszczególnych tkankach i narządach (Schulz, 2010; Prentice i wsp., 2011; Park i wsp., 2017; Chaplin i wsp., 2017).

Serce jest pierwszym narządem jaki zaczyna funkcjonować w zarodku i charakteryzuje się jedynie niewielkimi i krótkotrwałymi możliwościami regeneracji po uszkodzeniu na skutek działania różnorodnych czynników środowiskowych. Badania prowadzone na modelu zwierzęcym wykazały, że już po tygodniu od urodzenia serce myszy traci swój regeneracyjny potencjał. Spośród wszystkich narządów wewnętrznych płodu, to właśnie serce i naczynia krwionośne są najbardziej podatne na działanie czynników związanych z nieprawidłowym żywieniem w czasie ciąży. Dwoma krytycznymi „oknami czasowymi”, w których rozwijające się serce jest najbardziej narażone, są wczesny okres embrionalny i późny okres płodowy. W późnym okresie życia płodowego serce dokonuje dramatycznego przejścia od mięśnia składającego się z małych, pojedynczych miocytów, zawierających niewiele białka kurczliwego, do silnego mięśnia sercowego, składającego się z większych kardiomiocytów nieproliferujących, zdolnego do wytworzenia potężnej siły skurczowej. To właśnie podczas tego przejścia serce jest najbardziej podatne na uszkodzenia, skutkujące zwiększonym ryzykiem wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych w wieku późniejszym (Porrello i wsp., 2011; Bruneau i wsp., 2013; Thornburg, 2015). Wyniki badań, prowadzonych zarówno na modelach zwierzęcych, jak i u ludzi, jednoznacznie wskazują na wpływ występowania matczynej otyłości na funkcjonowanie układu sercowo naczyniowego u ich dorosłego potomstwa. U młodych, dorosłych myszy obserwowano przerost mięśnia sercowego, obniżenie siły skurczowej kardiomiocytów oraz nadekspresję genów markerowych chorób układu sercowo-naczyniowego. W późniejszym okresie życia u dorosłych osobników wykazano natomiast istotnie wyższą podatność na stres i zwiększoną ekspresję genów markerowych chorób układu sercowo-naczyniowego. Pacjenci,

będący dorosłym potomstwem otyłych matek, byli częściej hospitalizowani z powodu choroby wieńcowej, udaru czy innych schorzeń układu krążenia a także częściej na te choroby umierali (Ahmed i wsp., 2020).

Sposób żywienia matki wpływa m.in. na podaż kwasów tłuszczowych do płodu – w czasie ciąży przekazywane są one przez łożysko, natomiast w okresie laktacji są wydzielane do mleka (Kabaran i wsp., 2015). Biorąc pod uwagę obiecujące wyniki badań dotyczących zastosowania izomerów CLA, obecnych w diecie matki, w programowaniu ryzyka wystąpienia nowotworów u ich potomstwa (Białek i wsp., 2014c) w kolejnym etapie badań podjęto się weryfikacji dwóch hipotez badawczych. Jako pierwszą postawiono hipotezę, że zastosowanie izomerów CLA w programowaniu żywieniowym może dotyczyć także obniżania podatności na schorzenia układu krążenia poprzez modyfikację profilu lipidowego serc. Ponieważ istnieją przesłanki, że wczesny okres postnatalny jest równie istotny dla zapewnienia długoterminowego zdrowia, jak okres życia płodowego, a podobne warunki przed i po urodzeniu mogą zapobiegać chorobom (Plagemann i wsp., 2012), podjęto się także weryfikacji drugiej hipotezy, tzw. teorii „dopasowania” (ang. *match-mismatch*) poprzez wzbogacanie diety samic matczyńskich, zarówno w okresie ciąży, jak i karmienia potomstwa oraz poprzez kontynuację wzbogacania diety nowonarodzonych szczurów poprzez podawanie preparatu, który otrzymywała matka.

Weryfikacji powyższych hipotez służyły badania przeprowadzone w ramach działania naukowego nr. 2017/01/X/NZ9/01265 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w konkursie MINIATURA 1. Nadrzędnym celem tego projektu było zbadanie wpływu suplementacji diety samic szczurów izomerami CLA w okresie ciąży i karmienia, na wybrane biomarkery ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, w sercach ich potomstwa, z chemicznie indukowanymi nowotworami sutka. Dodatkowo zweryfikowano czy modyfikacja diety potomstwa we wczesnym okresie postnatalnym nasila efekty biologiczne wywołane wzbogacaniem diety matki w izomery CLA (**publikacja 4**).

Doświadczenie, przeprowadzone na samicach szczurów szczepu Sprague-Dawley, podzielone było na dwa etapy. W pierwszym z nich zwierzęta (n=8, wiek 30 dni) zostały losowo podzielone na podstawie wzbogacania diety komercyjnym preparatem zawierającym równomolową mieszaninę dwóch głównych izomerów

CLA (*cis-9,trans-11* C18:2 i *trans-10,cis-12* C18:2) lub olejem z krokosza barwierskiego (*Carthamus tinctorius*, *Asteraceae*) na dwie równoliczne grupy. W etapie drugim samice potomne (n=40, wiek 30 dni) z każdej grupy zostały podzielone na dwie podgrupy, z których jedna otrzymywała ten sam preparat co matka, zaś druga spożywała paszę hodowlaną Labofeed H. U wszystkich zwierząt potomnych wywoływano proces nowotworowy w obrębie gruczołów sutkowych przez podanie DMBA. Materiałem badawczym były serca zwierząt potomnych, pobrane *post mortem* w 21. tygodniu eksperymentu.

Wykazano, że zastosowane czynniki dietetyczne (wzbogacanie diety matki i potomstwa) wpływały na profil kwasów tłuszczowych serc szczurów potomnych w warunkach współistniejącego procesu nowotworowego. Korzystny wpływ modyfikacji diety matki był widoczny w przypadku sumarycznej zawartości aterogennych nasyconych kwasów tłuszczowych (A-SFA). Najniższe poziomy kwasu laurynowego (C12:0), palmitynowego (C16:0) i stearynowego (C18:0) stwierdzono w sercach zwierząt potomnych, u których nie kontynuowano wzbogacania diety. Wykazano tym samym, że wzbogacanie tylko diety matki izomerami CLA ma wystarczający wpływ ochronny na serca zwierząt potomnych. Podobne wyniki uzyskano w przypadku PUFA, gdyż brak modyfikacji diety szczurów potomnych spowodował istotne podwyższenie poziomów kwasów EPA, DPA a także zwiększenie sumarycznej zawartości PUFA z rodziny n-3 w ich sercach. Natomiast na skutek zastosowania ciągłej suplementacji diety potomstwa obserwowano obniżenie zawartości kwasu arachidonowego, co również można uznać za efekt korzystny, ponieważ zmniejszenie ilości AA może hamować powstawanie jego prozapalnych i pro-zakrzepowych metabolitów (prostaglandyna E2, tromboksan A2) powstających w szlaku COX. Sam AA jest endogennie syntetyzowany z LA w wyniku aktywności desaturazy i elongazy. Występuje konkurencja między PUFA z rodzin n-3 i n-6 o miejsca wiązania desaturaz, elongaz a także o COX i LOX (Bobiński i wsp., 2015). Podobną konkurencję można zaobserwować między izomerami CLA oraz PUFA z rodzin n-3 i n-6, co zostało potwierdzone w mikrosomach wątrobowych (Białek i wsp., 2014a). W niniejszym doświadczeniu wykazano, że wzbogacanie diety olejem krokoszowym, bogatym w LA, zwiększało indeks aktywności Δ 5-desaturazy i Δ 6-desaturazy, przy czym, jeśli wzbogacanie tym olejem dotyczyło tylko diety matek, efekt ten był mniej wyraźny. Dwuetapowa suplementacja diety izomerami CLA

wykazywała tendencję do zmniejszania wartości indeksów aktywności tych enzymów w sercach szczurów. Wykazano, że nieprzerwane wzbogacanie diety izomerami CLA powoduje niemal ośmiokrotne zwiększenie stosunku hipocholesterolemicznych kwasów tłuszczowych do hipercholesterolemicznych kwasów tłuszczowych w stosunku do ciągłego stosowania oleju krokoszowego, co jest zjawiskiem pozytywnym w kontekście obniżania ryzyka zapadalności na choroby układu sercowo-naczyniowego.

Metabolizm cholesterolu jest ściśle powiązany z metabolizmem kwasów tłuszczowych (Waterland i wsp., 2006). Zapotrzebowanie płodu na ten związek steroidowy jest wysokie, ponieważ odgrywa on ważną rolę w rozwoju rosnącego organizmu, m.in. w procesach proliferacji i różnicowania, a także komunikacji międzykomórkowej (Herrera i wsp., 2010). Ilości cholesterolu wbudowanego w serca zwierząt potomnych były podobne, niezależnie od zastosowanego czynnika żywieniowego. Cholesterol obecny w warstwach lipidowych jest w znacznym stopniu podatny na utlenianie (Kulig i wsp., 2016), a powstające podczas tego procesu oksysterole są bardziej polarne, i tym samym bardziej reaktywne, niż związek macierzysty. W stanach patologicznych, związanych z zaburzeniami profilu lipidowego i nasilonym stresem oksydacyjnym, stężenie tych związków wzrasta, a ich wpływ na właściwości fizyczne błon wewnątrzkomórkowych, w które są wbudowywane, może być znacznie większy (Sottero i wsp., 2019). W przebiegu miażdżycy oksysterole, początkowo inicjują upośledzenie funkcji śródbłonna naczyniowego, a następnie, po nadmiernej akumulacji, przyczyniają się do powstania komórek piankowatych i narastania blaszki miażdżycowej, a także są odpowiedzialne za jej niestabilność i możliwość oderwania się od ściany naczyń (Gargiulo i wsp., 2017). Ponieważ miażdżycy dotyczy nie tylko tętnic, ale także zastawek serca (Nakamura i wsp., 2008), a głównymi narządami docelowymi dla oksysteroli są serce i naczynia wieńcowe (Kulig i wsp., 2016), oznaczanie zawartości tych utlenionych pochodnych cholesterolu w doświadczeniu kardioonkologicznym jest w pełni uzasadnione. Wykazano, że ciągłe wzbogacanie diety zwierząt potomnych olejem krokoszowym nasilało powstawanie oksysteroli w ich sercach. W sercach potomstwa matek otrzymujących izomery CLA oznaczono istotnie niższe ilości 7α -hydroksycholesterolu i 7β -hydroksycholesterolu oraz $5\beta,6\beta$ -epoksydu cholesterolu, w porównaniu ze zwierzętami będącymi potomstwem matek otrzymujących olej

krokoszowy. Modyfikacja diety preparatem zawierającym izomery CLA, zarówno w czasie życia płodowego, jak i we wczesnym okresie postnatalnym, w najbardziej efektywny sposób zmniejszyła akumulację 7β -hydroksycholesterolu w sercach szczurów potomnych, co podkreśla korzystny wpływ przedłużonego przyjmowania izomerów CLA na serce.

Dialdehyd malonowy, podobnie jak oksysterole, może powstawać w wyniku reakcji nieenzymatycznego utleniania, lub może być produktem ubocznym enzymatycznego utleniania, które zachodzi podczas przemian eikozanoidów. Z miejsc, w których powstaje, MDA łatwo dyfunduje przez błony, docierając nawet do bardzo odległych tkanek. W nich, dzięki zdolności do tworzenia wiązań kowalencyjnych z innymi cząsteczkami, może modyfikować strukturę i właściwości błon komórkowych (Ayala i wsp., 2014). MDA wykazuje zdolność tworzenia usieciowań z kolagenem, co może przyczyniać się do usztywnienia naczyń krwionośnych oraz tkanki serca (Grotto i wsp., 2009). Na zawartość MDA w sercach potomstwa niekorzystnie wpływał fakt kontynuowania modyfikacji diety w okresie pourodzeniowym, przy czym wzrost poziomu tego związku w tkance serca był niezależny od rodzaju zastosowanego preparatu. Podobna zależność została wcześniej potwierdzona również w tkance wątroby (Białek i wsp., 2014a). Procesy utleniania lipidów są kontrolowane przez różne związki o właściwościach przeciwutleniających, np. tokoferole, których zawartość w osoczu płodu jest mniejsza niż w osoczu matek, ale wraz z rozwojem płodu w czasie ciąży następuje zwiększanie zawartości tych substancji we krwi dziecka (Herrera i wsp., 2010). Ilość tokoferolu odkładającego się w tkankach osobników potomnych zależy w znacznej mierze od intensywności procesów oksydacji lipidów. Tokoferole mogą osłabiać wydajność peroksydacji lipidów w tkance serca, co potwierdzają także wyniki dotyczące stężenia MDA. Podawanie izomerów CLA matkom istotnie zwiększało zawartość δ -tokoferolu a obniżało zawartość γ -tokoferolu w sercach ich potomstwa, co było szczególnie widoczne w grupach, w których zastosowano modyfikację diety przedłużoną na okres postnatalny. Uzyskane przez nas wyniki nie potwierdzają wcześniejszych obserwacji innych autorów, którzy wykazali jedynie minimalny wpływ suplementacji diety izomerami CLA na zawartość tokoferoli w tkankach młodych szczurów (Zeitz i wsp., 2016).

Zastosowane modyfikacje dietetyczne, zarówno u matek, jak i u zwierząt potomnych, w istotny sposób wpłynęły zarówno na zawartość dwóch głównych izomerów CLA, jak i na całkowitą zawartość izomerów CFA oraz na zawartość poszczególnych ich grup. Wzbogacanie diety szczurów preparatem zawierającym równomolową mieszaninę izomerów *cis-9,trans-11* C18:2 i *trans-10,cis-12* C18:2, spowodowało wbudowanie ich do serc zwierząt potomnych w każdej z grup w takim samym stosunku (1:1), niezależnie od tego, czy modyfikacja ich diety była kontynuowana, czy przerwana. Serca potomstwa matek otrzymujących izomery CLA, u którego kontynuowano wzbogacanie diety, zawierały niemal pięciokrotnie wyższy poziom tych głównych izomerów CLA, niż serca potomstwa, u których przerwano suplementację (średnio 14,2 µg/g i 2,87 µg/g). Według Alasnier i wsp. (2002) podawanie szczurom izomeru *trans-10,cis-12* C18:2 w większym stopniu przyczyniło się do modyfikacji profilu kwasów tłuszczowych w ich sercach, niż podawanie izomeru *cis-9,trans-11* C18:2. Wyniki uzyskane przez Kelley i wsp. (2006) wskazują na przeciwstawny wpływ tych dwóch izomerów CLA na zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniu sercowym. Wprowadzenie izomerów CLA do diety matki znacznie podwyższyło całkowitą zawartość CFA w sercach potomstwa, ze szczególnym uwzględnieniem grup różnych izomerów CD. Dalsze podawanie szczurom potomnym tego samego preparatu, co ich matkom, istotnie zwiększyło poziom wszystkich grup izomerów CT, w porównaniu z sercami zwierząt karmionych standardową paszą laboratoryjną. Uzyskane w niniejszym eksperymencie z zakresu programowania żywieniowego wyniki potwierdzają wcześniejsze przypuszczenia, że w organizmie szczura mogą zachodzić procesy izomeryzacji kwasów tłuszczowych oraz włączania nienasyconych wiązań do ich łańcuchów węglowych (**publikacja 3**). Wcześniej opublikowane prace sugerują, że procesy te związane są z modyfikacją składu mikrobioty zasiedlającej przewód pokarmowy i wynikającą z niej zmianą zawartości określonych metabolitów, która została potwierdzona w odpowiedzi na doustną suplementację diety myszy izomerem *trans-10,cis-12* C18:2 (Marques i wsp., 2015).

Podsumowując, wyniki potwierdzają skuteczność wzbogacania diety matki izomerami CLA w okresach krytycznych dla rozwoju potomstwa dla utrzymania jego prawidłowego stanu zdrowia. Oprócz wcześniej potwierdzonych właściwości przeciwnowotworowych, izomery CLA powodują korzystne zmiany w poziomach

lipidów uważanych za biomarkery chorób układu sercowo-naczyniowego w zwierzęcym kardioonkologicznym modelu programowania żywieniowego. W modelu tym wykazano także korzystny wpływ wzbogacania diety w izomery CLA, zarówno w okresie życia płodowego jak i we wczesnym okresie postnatalnym. Konieczne są jednak dalsze badania w celu ustalenia optymalnej dawki, optymalnego składu izomerów i bezpieczeństwa stosowania preparatów zawierających CLA u ludzi, szczególnie w okresie ciąży i karmienia piersią, w celu zmniejszenia ryzyka wystąpienia przewlekłych chorób niezakaźnych (tzw. chorób cywilizacyjnych) u ich dorosłego potomstwa.

Podsumowanie wyników badań stanowiących osiągnięcie:

Badania opisane w publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego pozwalają wyjaśnić rolę wzbogacania diety źródłami tłuszczu o zróżnicowanym składzie kwasów tłuszczowych w kształtowaniu profilu lipidowego organizmu, szczególnie wpływu na metabolizm związków lipidowych, intensywność ich peroksydacji oraz równowagę antyoksydacyjną, zarówno w stanie fizjologicznym, jak i w warunkach patologicznych.

Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski:

1. Zastosowanie oleju rybnego, kwasu karnozynowego i związków selenu w żywieniu przeżuwaczy istotnie wpływa na procesy izomeryzacji i biouwodorowania kwasów tłuszczowych w żwaczu, a tym samym prowadzi w jadalnych częściach tuszy do korzystnej modyfikacji profilu kwasów tłuszczowych, w tym do powstawania ich sprzężonych izomerów.
2. Wzbogacanie diety szczurów izomerami CLA korzystnie wpływa na wybrane biomarkery lipidowe chorób układu sercowo-naczyniowego, co wskazuje, że izomery CLA mogą znaleźć zastosowanie w dietoprofilaktyce przewlekłych chorób niezakaźnych (tzw. chorób cywilizacyjnych).
3. Korzystne zmiany wskaźników uznanych za biomarkery lipidowe chorób układu sercowo-naczyniowego, obserwowane w kardioonkologicznym doświadczeniu

z zakresu programowania żywieniowego, wskazuje na kardioprotekcyjne właściwości izomerów CLA.

Wniosek ogólny:

Modyfikacje składu dawek pokarmowych zwierząt istotnie wpływają na profil lipidowy organizmu, przyczyniając się nie tylko do poprawy wartości żywieniowej pozyskiwanych od nich produktów, ale także wpływając na ryzyko wystąpienia chorób.

Uzyskane wyniki mogą zostać wykorzystane zarówno w obszarze nauk o zwierzętach, do kształtowania prozdrowotnych właściwości produktów pochodzenia zwierzęcego, jak i stanowić punkt wyjścia do dalszych badań z obszaru żywienia człowieka, dotyczących profilaktyki dietozależnych chorób cywilizacyjnych.

Aspekty nowości:

Na uwagę zasługuje szeroki zakres prowadzonych przeze mnie badań. Obejmuje on zastosowanie jako modeli badawczych zarówno zwierząt gospodarskich, jak i laboratoryjnych, porównania wpływu preparatów wzbogacających dawkę pokarmową u zwierząt zdrowych, jak i chorych, a także połączenia badań z zakresu programowania żywieniowego z podejściem kardioonkologicznym.

Podkreślić należy także aspekty analityczne moich badań, zwłaszcza szerokie spektrum stosowanych metod instrumentalnych, w tym różnorodnych technik chromatograficznych, które na potrzeby realizacji badań opisanych w osiągnięciu, zostały opracowane (Ag⁺-HPLC-PDA) lub istotnie zmodyfikowane (GC-MS, GC-TOF-MS). Wszelkie działania analityczne, podejmowane w czasie realizacji niniejszych badań, miały na celu oznaczenie możliwie szerokiego spektrum związków lipidowych, a poprzez to uzyskanie możliwie pełnego profilu lipidowego organizmu modelowego poddanego modyfikacjom dawki pokarmowej oraz eksponowanego na dodatkowe czynniki eksperymentalne, jak chociażby współistniejący proces nowotworowy.

Temu samemu celowi, tzn. uzyskaniu możliwie najpełniejszego obrazu zmian zachodzących w organizmie pod wpływem zastosowanych czynników doświadczalnych, miały służyć metody statystyczne użyte do analizy wyników poszczególnych eksperymentów. Zastosowanie wieloczynnikowej analizy wariancji i metod chemometrycznych (PCA, CA) pozwoliło nie tylko na wykazanie efektów głównych (wpływu poszczególnych czynników doświadczalnych na badane zmienne), ale także określenie występowania potencjalnych interakcji pomiędzy samymi czynnikami oraz zredukowanie wielowymiarowości danych wejściowych, rozpoznanie w nich pewnych wzorców i ich klasyfikację.

Prowadzone przeze mnie badania mają charakter interdyscyplinarny gdyż łączą w sobie zagadnienia z obszaru nauk o zwierzętach i nauk żywieniowych, a także zagadnienia z obszaru nauk medycznych.

Spis piśmiennictwa:

AbuGhazaleh AA, Jenkins TC (2004): Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. *Journal of Dairy Science*, 87:645–651.

Ahmed A, Delgado-Olguin P (2020): Embryonic programming of heart disease in response to obesity during pregnancy. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 152:181-187.

Alasnier C, Berdeaux O, Chardigny JM, Sébédio JL (2002): Fatty acid composition and conjugated linoleic acid content of different tissues in rats fed individual conjugated linoleic acid isomers given as triacylglycerols. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:337–345.

Alves SP, Bessa RJB (2014): The trans-10,cis-15 18:2: a missing intermediate of trans-10 shifted rumen biohydrogenation pathway? *Lipids*, 49:527–541.

Arab L (2003): Biomarkers of fat and fatty acid intake. *Journal of Nutrition*, 133:925S–932S.

Arnold C, Konkol A, Fischer R, Schunck W-H (2010): Cytochrome P450-dependent metabolism of ω -6 and ω -3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Pharmacological Reports*, 62:536–547.

Asteggiano R, Suter T, Bax JJ (2019): Cardio-oncology: Principles and organisational issues. *e-Journal of Cardiology Practice*, 16:37.

Ayala A, Munoz MF, Aruelles S (2014): Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1–31.

Ayalew-Pervanchon A, Rousseau D, Moreau D, Assayag P, Weill P, Grynberg A (2007): Long-term effect of dietary α -linolenic acid or docosahexaenoic acid on incorporation of docosahexaenoic acid in membranes and its influence on rat heart in vivo. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 293:H2296–H2304.

Barker DJ, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth ME (1989): Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *British Medical Journal*, 298 (6673): 564-7.

Barker DJ (1993): Fetal origins of coronary heart disease. *British Heart Journal*, 69 (3): 195-6.

Barker DJP (1995): Fetal origins of coronary heart disease. *British Medical Journal*, 311 (6998): 171-174.

Bessa RJB, Alves SP, Jerónimo E, Alfaia CM, Prates JAM, Santos-Silva J (2007): Effect of lipid supplements on ruminal biohydrogenation intermediates and muscle fatty acids in lambs. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109:868-878.

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

Białek A, Tokarz A, Zagrodzki P (2015b): Conjugated linoleic acids (CLA) decrease the breast cancer risk in DMBA-treated rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 72(6):1163-1176.

Białek A, Białek M, Lepionka T, Tober E, Czauderna M (2020): The quality determination of selected commercial online purchased edible pomegranate seed oils with new argentometric liquid chromatography method. *Journal of Dietary Supplements*, DOI: 10.1080/19390211.2020.1770394

Białek A, Stawarska A, Tokarz A, Czuba K, Konarska A, Mazurkiewicz M, Stanimirova-Daszykowska I (2014a): Enrichment of maternal diet with conjugated linoleic acids influences desaturases activity and fatty acids profile in livers and hepatic microsomes of the offspring with 7,12-dimethylbenz[A]anthracene-induced mammary tumors. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 71: 747.

Białek A, Teryks M, Tokarz A (2014b): Sprzężone trieny kwasu linolenowego (conjugated linolenic acid – CLnA, super CLA) – źródła i działanie biologiczne. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 68:1238-1250.

Białek A, Tokarz A (2009): Źródła pokarmowe oraz efekty prozdrowotne sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA). *Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego*, 1:1-12.

Białek A, Zagrodzki P, Tokarz A (2014c): Conjugated linoleic acids in diet of female rats inhibit the breast cancer formation in their offspring. *Journal of Food and Nutrition Research*, 53(1):39-50.

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

Białek M, Białek A, Lepionka T, Paśko P, Galanty A, Tokarz A, Czauderna M (2019): *Punica granatum* (pomegranate) seed oil and *Momordica charantia* (bitter melon) extract affect the lipids profile and oxidative stability of femoral muscles of rats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121, 5, 1800420

Blaes A, Prizment A, Koene RJ, Konety S (2017): Cardio-oncology Related to Heart Failure: Common Risk Factors Between Cancer and Cardiovascular Disease. *Heart Failure Clinics*, 13:367-380.

Blaes A, Konety S (2021): Cardiovascular disease in breast cancer survivors: An important topic in breast cancer survivorship. *Journal of the National Cancer Institute*, 113(2):105-106.

- Bobiński R, Mikulska M (2015): The ins and outs of maternal-fetal fatty acid metabolism. *Acta Biochimica Polonica*, 62:499–507.
- Bradshaw PT, Stevens J, Khankari N, Teitelbaum SL, Neugut AI, Gammon MD (2016): Cardiovascular Disease Mortality Among Breast Cancer Survivors. *Epidemiology*, 27:6–13.
- Bruneau BG, Wu DK, Kelley MW, Tam PL, Nichols J, Smith A. (2013): Signaling and Transcriptional Networks in Heart Development and Regeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5:a008292.
- Brzeska M, Szymczyk K, Szterk A (2016): Current Knowledge about Oxysterols: A Review. *Journal of Food Science*, 81:R2299–R2308.
- Buccioni A, Decandia M, Minieri S, Molle G, Cabiddu A (2012): Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology*, 74:1–25.
- Cardinale D, Colombo A, Lamantia G, Colombo N, Civelli M, De Giacomi G, Pandini C, Sandri MT, Cipolla CM (2008): Cardio-oncology: a new medical issue. *E-cancer*, 2:126.
- Chaplin A, Palou A, Serra F (2017): Methylation analysis in fatty-acid-related genes reveals their plasticity associated with conjugated linoleic acid and calcium supplementation in adult mice. *European Journal of Nutrition*, 56:879–891.
- Chaplin A, Parra P, Serra F, Palou A (2015): Conjugated Linoleic Acid Supplementation under a High-Fat Diet Modulates Stomach Protein Expression and Intestinal Microbiota in Adult Mice. *PLoS ONE*, 10: e0125091.
- Clark RA, Marin TS, Berry NM, Atherton JJ, Foote JW, Koczwara B (2017): Cardiotoxicity and cardiovascular disease risk assessment for patients receiving breast cancer treatment. *Cardio-Oncology*, 3: 6.
- Corl BA, Baumgard LH, Dwyer DA, Griinari JM, Phillips BS, Bauman DE (2001): The role of $\Delta 9$ -desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 12:622-630.
- Corl BA, Barbano DM, Bauman DE, Ip C (2003): cis-9, trans-11 CLA derived endogenously from trans-11 18:1 reduces cancer risk in rats. *Journal of Nutrition*, 133(9): 2893-2900
- Cubbon RM, Lyon AR (2016): Cardio-oncology: Concepts and practice. *Indian Heart Journal*, 68:S77–S85.
- Czauderna M, Kowalczyk J, Korniluk K, Wąsowska I, Pastuszewska B (2005a): Dietary conjugated linoleic acid isomers and selenium affect the fatty acid profile in rat liver. *Journal of Animal and Feed Science*, 14(Suppl. 1):533-536
- Czauderna M, Kowalczyk J, Marounek M, Michalski JP, Rozbicka-Wieczorek AJ, Krajewska KA (2011): A new internal standard for HPLC assay of conjugated linoleic acid in animal tissues and milk. *Czech Journal of Animal Science*, 56:23–29.
- Czauderna M, Kowalczyk J, Pisulewski PM, Korniluk K (2005b): Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on the fatty acids content and CLA profile of egg yolks in laying hens. *Journal of Animal and Feed Science*, 14 (Suppl. 1):235-238.
- Czauderna M, Kowalczyk J, Wąsowska I, Niedźwiecka KM (2003a): Determination of conjugated linoleic acid isomers by liquid chromatography and photodiode array detection. *Journal of Animal and Feed Science*, 12:369–382.

Czauderna M, Kowalczyk J, Marounek M (2013): Selenite and selenate affect the fatty acid profile in vitro incubated ovine ruminal fluid containing linseed oil. *Czech Journal of Animal Science*, 58:328–341.

Czauderna M, Kowalczyk J, Wąsowska I, Niedźwiedzka K, Pastuszewska B (2003b): The effects of selenium and conjugated linoleic acid (CLA) isomers on fatty acid composition, CLA isomer content in tissues, and growth of rats. *Journal of Animal and Feed Science*, 12:865–881.

Destailats F, Berdeaux O, Sébédio J-L, Juaneda P, Grégoire S, Chardigny J-M, Bretillon L, Angers P (2005a): Metabolites of conjugated isomers of α -linolenic acid (CLnA) in the rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:1422–1427.

Destailats F, Trottier JP, Galvez JMG, Angers P (2005b): Analysis of α -linolenic acid biohydrogenation intermediates in milk fat with emphasis on conjugated linolenic acids. *Journal of Dairy Science*, 88:3231–3239.

Dewanckele L, Toral PG, Vlaeminck B, Fievez V (2020): Invited review: Role of rumen biohydrogenation intermediates and rumen microbes in diet-induced milk fat depression: An update. *Journal of Dairy Science*, 103(9):7655-7681.

Dugan MER, Aldai N, Aalhaus JL, Rolland DC, Kramer JKG (2011): Review: *Trans*-forming beef to provide healthier fatty acid profiles. *Canadian Journal of Animal Science*, 91:545–556.

Evans ME, Jonathon MB, McIntosh MK (2002): Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13:508-516.

Fan J, Kitajima S, Watanabe T, Xu J, Zhang J, Liu E, Chen YE (2015): Rabbit models for the study of human atherosclerosis: From pathophysiological mechanisms to translational medicine. *Pharmacology and Therapeutics*, 146: 104–119.

Fontes ALR (2015): Identification of bacterial strains able to produce CLnA isomers for a possible application in the elaboration of new functional food products. Master Thesis, Universidade Católica Portuguesa, Porto (Portugal).

Gargiulo S, Testa G, Gamba P, Staurenghi E, Poli G, Leonarduzzi G (2017): Oxysterols and 4-hydroxy-2-nonenal contribute to atherosclerotic plaque destabilization. *Free Radical Biology and Medicine*, 111:140–150.

Ghosh AK, Walker JM (2017): Cardio-Oncology – A new subspecialty with collaboration at its heart, *Indian Heart Journal*, 69:556–562.

Gluckman PD, Hanson MA, Phil D, Cooper C, Thornburg KL (2008): Effect of In Utero and Early-Life Conditions on Adult Health and Disease. *The New England Journal of Medicine*, 359(1):61–73.

Gómez-Cortés P, Tyburczy C, Brenna JT, Juarez M, de la Fuente MA (2009): Characterization of cis-9 trans-11 trans-15 C18:3 in milk fat by GC and covalent adduct chemical ionization tandem MS. *Journal of Lipid Research*, 50:2412-2420.

Gorissen L, Raes K, Weckx S, Dannenberger D, Leroy F, De Vuyst L, De Smet S (2010): Production of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid isomers by *Bifidobacterium* species. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(6):2257-2266.

Griffiths WJ, Wang Y (2019): Oxysterol research: a brief review. *Biochem Soc Trans*, 47(2):517–526.

Griinari JM, Bauman DE (1999): Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: M.P. Yurawecz, Mossoba M.M., J.K.G. Kramer, M.W. Pariza, G.J. Nelson (Editors). *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*. Volume 1. AOCS Press, Champaign, IL (USA), pp. 180–200.

Grossmann ME, Mizuno NK, Schuster T, Cleary MP (2010): Punicic acid is an ω -5 fatty acid capable of inhibiting breast cancer proliferation. *International Journal of Oncology*, 36(2):421-426.

Grotto D, Santa Maria L, Valentini J, Paniz C, Schmitt G, Garcia SC, Pomblum VJ, Rocha JBT, Farina M (2009): Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quimica Nova*, 32:169-174.

Ha YL, Grimm NK, Pariza MW (1987): Anticarcinogens from fried ground beef: heat - altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*, 8(12):1881-1887.

Harfoot CG, Hazlewood GP (1997): Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson, C.S. Stewart (Editors). *The Rumen Microbial Ecosystem*. Chapman & Hall, London (UK), str. 382-426

Hennessy AA, Ross RP, Devery R, Stanton C (2011): The health promoting properties of the conjugated isomers of α -linolenic acid. *Lipids* 46, 105-119.

Herrera E, Ortega-Senovilla H (2010): Maternal lipid metabolism during normal pregnancy and its implications to fetal development. *Journal of Clinical Lipidology*, 5:899-911.

Honkanen AM, Leskinen H, Toivonen V, McKain N, Wallace RJ, Shingfield KJ (2016): Metabolism of α -linolenic acid during incubations with strained bovine rumen contents: products and mechanisms. *British Journal of Nutrition*, 115:2093-2105.

Ip C, Chin SF, Scimeca JA, Pariza M (1991): Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Research*, 51(22): 6118-6124.

Jacobs AAA, van Baal J, Smits MA, Taweel HZH, Hendriks WH, van Vuuren AM, Dijkstra J (2011): Effects of feeding rapeseed oil, soybean oil, or linseed oil on stearoyl-CoA desaturase expression in the mammary gland of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(2):874 -887.

Jelińska M, Białek A, Gielecińska I, Mojska H, Tokarz A (2017): Impact of conjugated linoleic acid administered to rats prior and after carcinogenic agent on arachidonic and linoleic acid metabolites in serum and tumors. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 126:1-8.

Jerónimo E, Alves SP, Alfaia CM, Prates JM, Santos-Silva J, Bessa RJB (2011): Biohydrogenation intermediates are differentially deposited between polar and neutral intramuscular lipids of lambs. *European Journal Lipid Science and Technology*, 113:924-934.

Jóźwik A, Strzałkowska N, Markiewicz-Kęszycka M, Krzyżewski J, Lipińska P, Rutkowska J, Wróblewska J, Klusek J, Cooper RG (2016): Effects of replacing rapeseed cake with linseed cake in a corn-grass silage-based diet for milking cows. *Animal Science Papers and Reports*, 34(2):129-142.

Kabaran S, Besler TT (2015): Do fatty acids affect fetal programming? *Journal of Health, Population and Nutrition*, 33:1-9.

Kamlage B, Hartmann L, Gruhl B, Blaut M (1999): Intestinal microorganisms do not supply associated gnotobiotic rats with conjugated linoleic acid. *Journal of Nutrition*, 129:2212-2217.

Kelley DS, Bartolini GL, Newman JW, Vemuri M, Mackey BE (2006): Fatty acid composition of liver, adipose tissue, spleen, and heart of mice fed diets containing t10, c12-, and c9, t11-conjugated linoleic acid. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 74:331-338.

Kerdelhué B, Forest C, Coumoul X (2016): Dimethyl-Benz(a)anthracene: a mammary carcinogen and a neuroendocrine disruptor. *Biochimie Open*, 3:49-55.

Kišidayová S, Mihalíková K, Siroka P, Čobanová K, Váradyová Z (2014): Effects of inorganic and organic selenium on the fatty acid composition of rumen contents of sheep and the rumen bacteria and ciliated protozoa. *Animal Feed Science and Technology*, 193:51-57.

Koba K, Akahoshi A, Yamasaki M, Tanaka K, Yamada K, Iwata T, Kamegai T, Tsutsumi K, Sugano M (2002): Dietary conjugated linolenic acid in relation to CLA differently modifies body fat mass and serum and liver lipid levels in rats. *Lipids*, 37:343.

Koba K, Belury MA, Sugano M (2007): Potential health benefits of conjugated trienoic acids. *Lipid Technology*, 19:200–203.

Koene RJ, Prizment AE, Blaes A, Konety S (2016): Shared Risk Factors in Cardiovascular Disease and Cancer. *Circulation*, 133:1104–1114.

Korniluk K, Czauderna M, Kowalczyk J (2006a): Concentrations of conjugated linoleic acid isomers and their metabolites in abdominal fat of rats. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 15(Suppl. 1): 61-64.

Korniluk K, Czauderna M, Kowalczyk J, Mieczkowska A, Taciak M, Leng L (2006b): Influence of dietary conjugated linoleic acid isomers and selenium on growth, feed efficiency, and liver fatty acid profile in rats. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 15:131-146.

Kowalski ZM (2015): Pobranie, trawienie i wchłanianie [w:] Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo. Fizjologiczne i biochemiczne podstawy żywienia zwierząt, red. Jamróz D.. Wydawnictwo Naukowe PWN.

Kramer JKG, Parodi PW, Jensen RG, Mossoba MM, Yurawecz MP, Adlof RO (1998): Rumenic acid: A proposal common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids*, 33: 835.

Kritchevsky D, Tepper SA, Wright S, Czarnecki SK, Wilson TA, Nicolosi RJ (2004): Conjugated linoleic acid isomer effects in atherosclerosis: Growth and regression of lesions. *Lipids*, 39:611–616.

Kritchevsky D, Tepper SA, Wright S, Tso P, Czarnecki SK (2000): Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. *Journal of the American College of Nutrition*, 19:472S–477S.

Kulig W, Cwiklik L, Jurkiewicz P, Rog T, Vattulainen I (2016): Cholesterol oxidation products and their biological importance. *Chemistry and Physics of Lipids*, 199:144–160.

Kwon EJ, Kim YJ (2017): What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstetrics and Gynecology Science*, 60(6):506-519.

Lee YJ, Jenkins TC (2011): Biohydrogenation of linolenic acid to stearic acid by the rumen microbial population yields multiple intermediate conjugated diene isomers. *Journal of Nutrition*, 141:1445–1450.

Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW (1994): Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, 108:19–25.

Lepionka T, Białek A, Białek M, Czauderna M, Stawarska A, Wrzesień R, Bielecki W, Paško P, Galanty A, Bobrowska-Korczak B (2019): Mammary cancer risk and serum lipid profile of rats supplemented with pomegranate seed oil and bitter melon extract. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 142:33–45.

Lerch S, Shingfield KJ, Ferlay A, Vanhatalo A, Chilliard Y (2012): Rapeseed or linseed in grass-based diets: Effects of conjugated linoleic and conjugated linolenic acid isomers in milk fat from Holstein cows over 2 consecutive lactations. *Journal of Dairy Science*, 95:7269-7287.

Lin Y, Yao Y, Liu S, Wang L, Moorthy B, Xiong D, Cheng T, Ding X, Gu J (2012): Role of mammary epithelial and stromal P450 enzymes in the clearance and metabolic activation of 7,12-dimethylbenz (a) anthracene in mice. *Toxicology Letters*, 212:97–105.

Loor JJ, Ueda K, Ferlay A, Chilliard Y, Doreau M (2004): Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of *trans* fatty acid and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87:2472–2485.

Loor JJ, Ueda K, Ferlay A, Chilliard Y, Doreau M (2005): Intestinal flow and digestibility of *trans* fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) in dairy cows fed a high-concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. *Animal Feed Science and Technology*, 119:203–225.

Manso T, Gallardo B, Guerra-Rivas C (2016): Modifying milk and meat fat quality through feed changes. *Small Ruminant Research*, 142:31-37.

Mapiye C, Vahmani P, Mlambo V, Muchenje V, Dzama K, Hoffman LC, Dugan MER (2015): The *trans*-octadecenoic fatty acid profile of beef: Implications for global food and nutrition security. *Food Research International*, 76:992–1000.

Marques TM, Wall R, O'Sullivan O, Fitzgerald GF, Shanahan F, Quigley EM, Cotter PD, Cryan JF, Dinan TG, Ross RP, Stanton C (2015): Dietary *trans*-10, *cis*-12-conjugated linoleic acid alters fatty acid metabolism and microbiota composition in mice. *British Journal of Nutrition*, 113:728–738.

Mennitti LV, Oliveira JL, Morais CA, Estadella D, Oyama LM, Oller do Nascimento CM, Pisani LP (2015): Type of fatty acids in maternal diets during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 26:99–111.

Mehta LS, Watson KE, Barac A, Beckie TM, Bittner V, Cruz-Flores S, Dent S, Kondapalli L, Ky B, Okwuosa T, Pina IL, Santos Volgman A (2018): Cardiovascular Disease and Breast Cancer: Where These Entities Intersect: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, 137:e30–e66.

Miltko R, Rozbicka-Wieczorek JA, Więsyk E, Czauderna M (2016): The influence of different chemical forms of selenium added to the diet including carnosic acid, fish oil and rapeseed oil on the formation of volatile fatty acids and methane in the rumen, and fatty acid profiles in the rumen content and muscles of lambs. *Acta Veterinaria Brno*, 66:373–391.

Modaresi J, Fathi Nasri MH, Rashidi L, Dayani O, Kebreab E (2011): Effect of supplementation with pomegranate seed pulp on concentrations of conjugated linoleic acid and punicic acid in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 94:4075–4080.

Morán L, Andrés S, Mateo J, Blanco C, Soto S, Giráldez FJ (2014): Effect of dietary carnosic acid on meat quality from suckling lambs. *Small Ruminant Research*, 121:314–319.

Nakamura YK, Flintoff-Dye N, Omaye ST (2008): Conjugated linoleic acid modulation of risk factors associated with atherosclerosis. *Nutrition and Metabolism*, 5:22.

Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N (2005): Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338:668–676.

Ogawa J, Kishino S, Ando A, Sugimoto S, Miara K, Shimizu S (2005): Production of conjugated linoleic acids by lactic acid bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(4):355-364.

Okwuosa TM, Anzevino S, Rao R (2017): Cardiovascular disease in cancer survivors. *Postgraduate Medical Journal*, 93:82–90.

Pariza MW, Ashoor SH, Chu FS, Lund DB (1979): Effects of temperature and time on mutagen formation in pan-fried hamburger. *Cancer Letters*, 7(2-3):63-69.

Pariza MW, Loretz LJ, Storkson JM, Holland NC (1983): Mutagens and modulator of mutagenesis in fried ground beef. *Cancer Research*, 43:2444S –2446S.

Park JH, Kim SH, Lee MS, Kim MS (2017): Epigenetic modification by dietary factors: Implications in metabolic syndrome. *Molecular Aspects of Medicine*, 54:58–70.

Petersen MB (2014): The effect of forbs on rumen biohydrogenation of fatty acids and bovine milk fatty acid composition. PhD Thesis, Science and Technology, Aarhus University.

Plagemann A, Harder T, Schellong K, Schulz S, Stupin JH (2012): Early postnatal life as a critical time window for determination of long-term metabolic health. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, 26:641–653.

Plourde M, Sergiel J-P, Chardigny J-M, Grégoire S, Angers P, Sébédio J-L (2006): Absorption and metabolism of conjugated α -linolenic acid given as free fatty acids or triacylglycerols in rats. *Nutrition and Metabolism*, 3:8.

Poli G, Biasi F, Leonarduzzi G (2013): Oxysterols in the pathogenesis of major chronic diseases. *Redox Biology*, 1:125–130.

Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, Hill JA, Richardson JA, Olson EN, Sadek HA (2011): Transient Regenerative Potential of the Neonatal Mouse Heart. *Science*, 331:1078–1081.

Prentice A (2011): *The Influence of Maternal, Fetal and Child Nutrition on the Development of Chronic Disease in Later Life*; Scientific Advisory Committee on Nutrition; The Stationery Office Limited: London, UK.

Roach JAG, Mossoba MM, Yurawecz MP, Kramer JKG (2002): Chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers. *Analytica Chimica Acta*, 465:207–226.

Rutkowska J, Białek M, Bagnicka E, Jarczak J, Tambor K, Strzałkowska N, Jóźwik A, Krzyżewski J, Adamska A, Rutkowska E (2015): Effect of replacing extracted soybean meal with rapeseed cake in corn grass silage-based diet for dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 82(2):161-168.

Saliba L, Gervais R, Lebeuf Y, Chouinard PY (2014): Effect of feeding linseed oil in diets differing in forage to concentrate ratio: 1. Production performance and milk fat content of biohydrogenation intermediates of α -linolenic acid. *Journal of Dairy Research*, 81:82–90.

Schulz LC (2010): The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107:16757–16758.

Sieber R, Collomb M, Aeschlimann A, Jelen P, Eyer H (2004): Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products – a review. *International Dairy Journal*, 14:1-15.

Singleterry J (2017): *The Costs of Cancer Therapy*. American Cancer Society Cancer Action Network, 1–28.

Sottero B, Leonarduzzi G, Testa G, Gargiulo S, Poli G, Biasi F (2019): Lipid Oxidation Derived Aldehydes and Oxysterols Between Health and Disease. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121:1–16.

Tanaka K (2005): Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. *Animal Science Journal*, 76:291-303.

Thornburg KL (2015): The programming of cardiovascular disease. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 6:366–376.

Toral PG, Frutos P, Hervás G, Gómez-Cortés P, Juárez M, De La Fuente MA (2010): Changes in milk fatty acid profile and animal performance in response to fish oil supplementation, alone or in combination with sunflower oil, in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 93:1604–1615.

Tsuzuki T, Tokuyama Y, Igarashi M, Nakagawa K, Ohsaki Y, Komai M, Miyazawa T (2004): α -Eleostearic acid (9Z11E13E-18:3) is quickly converted to conjugated linoleic acid (9Z11E-18:2) in rats. *Journal of Nutrition*, 134(10): 2634-2639.

Van Bilsen M, Planavila A (2014): Fatty acids and cardiac disease: Fuel carrying a message. *Acta Physiologica*, 211: 476–490.

van der Beek EM, Oosting A (2020): Nutritional programming in early life: the role of dietary lipid quality for future health. *OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 27:15.

Vasta V, Mele M, Serra A, Scerra M, Luciano G, Lanza M, Priolo A (2009): Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. *Journal of Animal Science*, 87:2674–2684.

Vasta V, Yáñez-Ruiz DR, Mele M, Serra A, Luciano G, Lanza M, Biondi L, Priol A (2010): Bacterial and protozoal communities and fatty acid profile in the rumen of sheep fed a diet containing added tannins. *Applied and Environmental Microbiology*, 76:2549–2555.

Venneri L, Caliccio F, Manivarmane R, Pareek N, Baksi J, Rosen S, Senior R, Lyon A, Khattar RS (2015): Subclinical myocardial dysfunction in cancer patients: Is there a direct effect of tumour growth? [In:] *Proceedings of the European Heart Journal Cardiovasc Imaging Abstracts Supplement 16 (Supplement 2)*, Euro Echo 2015 Conference, Seville, Spain, 3 December 2015; p. ii127.

Vo JB, Nolan TS, Vance DE (2017): Cardiovascular disease risk among breast cancer survivors: An evolutionary concept analysis. *Nursing: Research and Reviews*, 7:9–16.

Wąsowska I, Czauderna M, Kowalczyk J, Wallace RJ (2006): Impact of selenite and selenate on conjugated linoleic acid isomers in incubated ruminal fluid. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 15(Suppl.1):97-100

Waterland RA, Rached MT (2006): Developmental establishment of epigenotype: A role for dietary fatty acids? *Scandinavian Journal of Food and Nutrition*, 50:21–26.

Wood JD, Enser M, Fisher AV, Nute GR, Sheard PR, Richardson RI, Hughes SI, Whittington FM (2008): Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78:343–358.

Yamasaki M, Kitagawa T, Koyanagi N, Chujo H, Maeda H, Kohno-Murase J, Imamura J, Tachibana H, Yamada K (2006): Dietary effect of pomegranate seed oil on immune function and lipid metabolism in mice. *Nutrition*, 22:54.

Yuan G-F, Sinclair AJ, Sun H-Y, Li D (2009): Fatty Acid Composition in Tissues of Mice Fed Diets Containing Conjugated Linolenic Acid and Conjugated Linoleic Acid. *Journal of Food Lipids*, 16:148–163.

Zeitl JO, Most E, Eder K (2016): Conjugated linoleic acid influences the metabolism of tocopherol in lactating rats but has little effect on tissue tocopherol concentrations in pups. *Lipids in Health Disease*, 15: 102.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej:

Potwierdzeniem aktywności naukowej, jaką wykazywałam się w więcej niż jednej instytucji naukowej są:

- Uzyskanie stopnia doktora nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Cykl publikacji naukowych będący podstawą nadania stopnia został uhonorowany zespołową nagrodą JM Rektora SGGW przyznaną w 2017 r. (Załączniki 4 i 6);
- Publikacja, będąca efektem współpracy z Zakładem Doskonalenia Zwierząt i Nutrigenomiki Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt Polskiej Akademii Nauk (obecnie: Zakład Biotechnologii i Nutrigenomiki Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk), afiliowana przy moim nazwisku przez obie jednostki naukowe (Załącznik 7):

Białek A., Białek M., Lepionka T., Czerwonka M., Czauderna M.: Chemometric analysis of fatty acids profile of ripening cheese. *Molecules*, 2020, 25 (8), 1814,

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę:

Działalność dydaktyczna:

W latach 2011 – 2014, w czasie studiów doktoranckich na Wydziale Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, prowadziłam laboratoryjne zajęcia dydaktyczne (ćwiczenia) z następujących przedmiotów:

- „Chemia żywności” dla studentów II roku studiów stacjonarnych, zaocznych i wieczorowych I stopnia na kierunku technologia żywności i żywienie człowieka;
- „Ogólna technologia żywności II” dla studentów II roku studiów wieczorowych i zaocznych I stopnia na kierunku żywienie człowieka;
- „Metody oceny produktów” dla studentów III roku studiów stacjonarnych na Międzywydziałowym Studium Towaroznawstwa
- „Nowoczesne metody analizy żywności” dla studentów I roku studiów stacjonarnych II stopnia na kierunku żywienie człowieka i ocena żywności.

Ponadto opracowałam materiały naukowe oraz instrukcje do następujących ćwiczeń:

- „Zastosowanie fermentacji mlekowej do produkcji kiszzonek warzywnych i mlecznych napojów fermentowanych” z przedmiotu „Ogólna technologia żywności II” dla studentów studiów niestacjonarnych;

- „Oznaczanie zawartości sprzężonych dienów i trienów” oraz „Oznaczanie zawartości koniugujących produktów oksydacji” z przedmiotu „Nowoczesne metody analizy żywności” dla studentów studiów stacjonarnych.

W latach 2013-2014 sprawowałam bezpośrednią opiekę nad 3 pracami magisterskimi, zrealizowanymi w Zakładzie Analiz Instrumentalnych Wydziału Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW i zakończonymi obroną:

1. mgr inż. Justyny Pauliny Radomskiej
2. mgr inż. Katarzyny Zasiem
3. mgr inż. Pauliny Wieczorek

Podczas pracy w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN przeprowadziłam zajęcia dydaktyczne z następujących przedmiotów:

- „Analiza instrumentalna” dla studentów I roku studiów II stopnia na kierunku zootechnika Wydziału Nauk o Zwierzętach SGGW (2017 r.);
- „Współczesne trendy w hodowli i chowie” dla doktorantów Wydziału Nauk o Zwierzętach SGGW (2018 r.);
- „Analiza produktów leczniczych” dla słuchaczy kierunku technik farmaceutyczny z Zespołu Medyczno-Społecznych Szkół Policealnych w Warszawie (2019 r.).

W latach 2019 - 2020 roku byłam opiekunem 6 uczniów Zespołu Szkół nr. 21 w Warszawie, specjalności technik analityk, podczas odbywania przez nich praktyk zawodowych w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN:

1. Pani Pauliny Budryk
2. Pana Filipa Gabrysiaka
3. Pani Patrycji Trusewicz
4. Pani Zuzanny Spychalskiej
5. Pani Wiktorii Walczak
6. Pani Adrianny Kuśmierk

Działalność organizacyjna:

W latach 2018 - 2020 byłam koordynatorem praktyk zawodowych i staży w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.

W 2018 roku przewodniczyłam wraz z mgr Bartoszem Jarosławem Przybył sesji „Animal Nutrition” na XV Międzynarodowej Konferencji Młodych Naukowców Conference of Young Researchers „Physiology and Biochemistry in Animal Nutrition”, 26-28.09.2018 r., Warszawa.

W 2019 roku byłam członkiem Komitetu Organizacyjnego Sympozjum Naukowego „Nauki o Zwierzętach w Praktyce Hodowlanej i Badaniach Biomedycznych”, współorganizowanego przez Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk z Wydziałem Hodowli, Bioinżynierii i Ochrony Zwierząt oraz z Instytutem Nauk o Zwierzętach Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

W kadencji 2019 – 2022 jestem członkiem Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk (przedstawiciel asystentów oraz adiunktów ze stopniem doktora), członkiem Kolegium Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk a także Sekretarzem Komisji ds. Rozwoju Kadry Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.

Od 2020 r. jestem w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk osobą odpowiedzialną za koordynację projektu PASIFIC (PASIFIC Navigator).

Działalność popularyzująca naukę:

W ramach działań popularyzujących naukę w 2012 roku aktywnie uczestniczyłam w Dniach SGGW.

W 2014 roku, jako laureatka stypendium i wsparcia towarzyszącego dla mazowieckich doktorantów (Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki, Działanie 8.2 Transfer wiedzy, Poddziałanie 8.2.2 Regionalne Strategie Innowacji), w programie

„Patent na patent” (emisja 25.11.2014 r. na antenie TVP Warszawa) zaprezentowałam założenia i najważniejsze osiągnięcia mojej rozprawy doktorskiej, ze szczególnym uwzględnieniem ich praktycznego zastosowania w przemyśle.

W 2017 roku przeprowadziłam w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk warsztaty „Właściwości witamin – na przykładzie witaminy C” dla uczniów z Gimnazjum w Klembowie.

W 2020 roku uczestniczyłam w Kampanii informacyjnej Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi oraz Krajowego Ośrodka Wsparcia Rolnictwa „Kupuj świadomie – PRODUKT POLSKI” poprzez sprawowanie opieki nad uczniami Zespołu Szkół nr 21 w Warszawie, którzy w ramach praktyk zawodowych przeprowadzili dyskusję i opracowali info-grafiki dotyczące jakości i bezpieczeństwa żywnościowego polskich produktów mleczarskich. Brałam także aktywny udział w 24. Festiwalu Nauki wygłaszając wykład on-line pt. „Jesteś tym, co jesz – a raczej tym, co jadła twoja mama. Kilka słów o programowaniu żywieniowym”.

W 2021 roku na seminarium dla pracowników Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk wygłosiłam wykład pt. „Program PASIFIC wyjątkową szansą na rozwój naukowy”.

7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej:

Nagrody, wyróżnienia, stypendia:

1. Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców przyznane w 2020 r. na okres 3 lat (decyzja numer STYP/15/1682/E-185/2020).
2. II nagroda w konkursie na najlepszą prezentację w sesji III „Jakość żywności” na XXVIII Sympozjum Bromatologicznym, 28-29.09.2020 r., Gdańsk za pracę pt.: „Profil kwasów tłuszczowych wybranych serów dojrzewających – analiza chemometryczna”.
3. Nagroda III stopnia Dyrektora Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk za wyróżniającą działalność organizacyjną na rzecz Instytutu w 2019 r.

4. Nagroda naukowa I stopnia JM Rektora Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego za publikację dotyczącą wpływu oleju rybnego i substancji przeciwutleniających na procesy bakteryjnej, enzymatycznej izomeryzacji i biouwodornienia nienasyconych kwasów tłuszczowych u przeżuwaczy w 2019 r.
5. Zespołowa nagroda JM Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie przyznana za cykl publikacji naukowych w 2017 r.
6. II nagroda w konkursie na najlepszą prezentację ustną na Międzynarodowej II Konferencji Młodych Naukowców „Biotechnologiczno-żywnościowe i hodowlane wyzwania XXI wieku”, Wydział Nauk o Zwierzętach, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, 25-26.05.2017 r. za wystąpienie pt. „Wpływ dodatku oleju rybnego i antyoksydantów do diety owiec na profil chemiczny krwi pełnej.
7. Zespołowa nagroda Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie przyznana za cykl publikacji naukowych w 2016 r.
8. Stypendium i wsparcie towarzyszące w ramach projektu systemowego Samorządu Województwa Mazowieckiego pn. Rozwój nauki – rozwojem regionu – stypendia i wsparcie towarzyszące dla mazowieckich doktorantów (Priorytet VIII Regionalne kadry gospodarki, Działanie 8.2 Transfer wiedzy, Poddziałanie 8.2.2 Regionalne Strategie Innowacji) - nr umowy 76/ES/ZS-III/W-POKL/14
9. II nagroda Fundacji im. E. Michalskiego „Polska Róża” za publikację: Rutkowska J., Adamska A., Pielat M., Białek M. „Porównanie składu i właściwości owoców dzikiej róży *Rosa rugosa* utrwalanych metodami liofilizacji i suszenia konwencjonalnego” *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 83 (4): 32-43. IF=0,155.
10. Wyróżnienie na XVI Sesji Naukowej Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności „Ewolucja żywności”, 12-13 maja 2011, Olsztyn, za wystąpienie pt. „Sezonowe zmiany w zawartości CLA tłuszczu mlecznego oraz aktywności $\Delta 9$ -desaturazy u krów rasy czarno-białej pochodzących z regionu górskiego”.
11. Stypendium dla najlepszych doktorantów z w roku akademickim 2011/2012, 2012/2013, 2014/2015.
12. Stypendium z dotacji podmiotowej na dofinansowanie zadań projakościowych przyznane za osiągnięcia naukowe w roku akademickim 2012/2013, 2013/2014, 2014/2015.

Współpraca z jednostkami naukowymi:

- współpraca z dr hab. Pawłem Paśko z Zakładu Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego i dr Agnieszką Galantą z Katedry i Zakładu Farmakognozji Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w zakresie badania składu i wybranych właściwości fitochemicznych wyciągu z przepękli ogórkowatej, której efektem są 2 publikacje naukowe:
 - Lepionka T., Białek A., Białek M., Czauderna M., Stawarska A., Wrzesień R., Bielecki W., Paśko P., Galanty A., Bobrowska-Korczak B. (2019): Mammary cancer risk and serum lipid profile of rats supplemented with pomegranate seed oil and bitter melon extract. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 142, 33-45.
 - Białek M., Białek A., Lepionka T., Paśko P., Galanty A., Tokarz A., Czauderna M. (2019): *Punica granatum* (pomegranate) seed oil and *Momordica charantia* (bitter melon) extract affect the lipids profile and oxidative stability of femoral muscles of rats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121, 5,

- współpraca z dr hab. Agnieszką Białek z Zakładu Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego oraz dr Tomaszem Lepionką z Samodzielnej Pracowni Higieny Żywności i Żywności Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii im. Gen. Karola Kaczkowskiego (obecnie Ośrodek Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Puławach) w zakresie badań nad przeciwnowotworowymi właściwościami oleju z nasion granatowca właściwego i wodnego ekstraktu z suszonych nasion przepękli ogórkowatej na zwierzęcym modelu nowotworu sutka, której efektem są 4 opublikowane oryginalne prace naukowe:
 - Lepionka T., Białek M., Czauderna M., Białek A. (2021): Pomegranate seed oil and bitter melon extract supplemented in diet influence the lipid profile and intensity of peroxidation in livers of SPRD rats exposed to a chemical carcinogen. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 152, 106495,
 - Białek A., Jelińska M., Białek M., Lepionka T., Czerwonka M., Czauderna M. (2020): The effect of diet supplementation with pomegranate and bitter melon on lipidomic profile of serum and cancerous tissues of rats with mammary tumors. *Antioxidants*, 9 (3), 243,
 - Lepionka T., Białek A., Białek M., Czauderna M., Stawarska A., Wrzesień R., Bielecki W., Paśko P., Galanty A., Bobrowska-Korczak B. (2019): Mammary cancer risk and serum lipid profile of rats supplemented with pomegranate seed oil and bitter melon extract. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 142, 33-45,

- Białek M., Białek A., Lepionka T., Paśko P., Galanty A., Tokarz A., Czauderna M. (2019): *Punica granatum* (pomegranate) seed oil and *Momordica charantia* (bitter melon) extract affect the lipids profile and oxidative stability of femoral muscles of rats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121, 5.

oraz streszczenie opublikowane w recenzowanych materiałach konferencyjnych:

- Lepionka T., Białek A., Białek M., Czauderna M., Bertrandt J., Anyżewska A., Łakomy R., Bobrowska-Korczak B. (2020): Effect of dietary modifications on the cholesterol level and selected indicators of oxidative processes in rats with mammary cancer. *Proceedings of the Nutrition Society*, 79, OCE2 (13th European Nutrition Conference, FENS 2019, 15-18 October 2019, Malnutrition in an Obese World: European Perspectives), E243.
- współpraca z prof. dr hab. Wiesławem Przybylskim i dr hab. Danutą Jaworską z Katedry Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności Wydziału Żywnienia Człowieka Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie w zakresie badania wpływu związków selenu na metabolizm kwasów tłuszczowych u owiec (*in vitro* oraz *in vivo*) a także właściwości biologicznych związków boru, której efektem są 2 publikacje naukowe:
 - Białek M., Czauderna M., Przybylski W., Jaworska D. (2020): Selenate and selenite affect ruminal metabolism of C18 unsaturated fatty acids and fatty acid composition of lamb tissues. *Livestock Science*, 241, 104249,
 - Białek M., Czauderna M., Krajewska K., Przybylski W. (2019): Selected physiological effect of boron compounds for animals and humans: a review. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 28, 307-320.
- współpraca z prof. dr hab. Franciszką Brzóska i dr hab. Bogdanem Śliwińskim z Zakładu Żywnienia Zwierząt i Paszoznawstwa Instytutu Zootechniki-Państwowego Instytutu Badawczego w zakresie badania wpływu wzbogacania diety kurcząt w oleje oraz związki o właściwościach przeciwutleniających, której efektem jest 1 publikacja naukowa:
 - Czauderna M., Białek M., Białek A., Brzóska F., Śliwiński B. (2020): Chemical form of dietary selenium affect the fatty acids profile and oxidative stability of muscles of broilers supplemented with lycopene and oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122, 2, 1900132.
- współpraca z prof. dr hab. Ewą Bulska i dr Anną Ruszczyńską z Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego w zakresie badań nad wpływem modyfikacji składu dawki pokarmowej na zawartość pierwiastków we krwi i wybranych tkankach zwierząt gospodarskich i laboratoryjnych, której efektem są 3 publikacje naukowe:
 - Czauderna M., Białek M., Krajewska K.A., Ruszczyńska A., Bulska E. (2017): Selenium supplementation into diets containing carnosic acid, fish and rapeseed oils affects the chemical profile of whole blood in lambs. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 26, 3, 192-20,

- Białek M., Białek A., Ruszczyńska A., Bulska E., Zaworski K., Czauderna M.: Evaluation of the influence of diet supplementation with conjugated linoleic acid isomers on elemental composition in the cardio-oncological nutritional programming rat model. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* (w recenzji),
- Białek A., Białek M., Ruszczyńska A., Bulska E., Czauderna M.: Cancer process more strongly influences elemental composition of myocardium than conjugated linoleic acids – chemometric approach to cardio-oncological studies. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* (w recenzji),
- współpraca z dr hab. Agnieszką Białek z Zakładu Biotechnologii i Nutrigenomiki Instytutu Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w zakresie badań nad składem frakcji lipidowej produktów spożywczych oraz bioaktywnymi właściwościami oleju z nasion granatowca właściwego na modelu szczura i kurcząt, której efektem są 4 opublikowane oryginalne prace naukowe:
 - Białek A., Białek M., Lepionka T., Czerwonka M., Czauderna M. (2020): Chemometric analysis of fatty acids profile of ripening cheese. *Molecules*, 25 (8), 1814,
 - Białek A., Białek M., Lepionka T., Tober E., Czauderna M. (2020): The quality determination of selected commercial online purchased edible pomegranate seed oils with new argentometric liquid chromatography method. *Journal of Dietary Supplements*, DOI: 10.1080/19390211.2020.1770394,
 - Białek A., Białek M., Czerwonka M., Lepionka T., Tyt N., Kucharczyk K., Tober E., Kaszperuk K., Banaszekiewicz T. (2020): Giblets and abdominal fat of pomegranate seed oil fed chickens as a source of bioactive fatty acids. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, DOI: 10.1111/jpn.13464,
 - Białek A., Białek M., Lepionka T., Pachniewicz P., Czauderna M. (2021): Oxysterols and lipidomic profile of myocardium of rats supplemented with pomegranate seed oil and/or bitter melon aqueous extract - cardio-oncological animal model research, *Chemistry and Physics of Lipids*, 235, 105057
- współpraca z dr Moniką Rużycką-Ayoush i dr Magdaleną Bamburowicz-Klimkowską z Katedry i Zakładu Toksykologii Stosowanej Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w zakresie badania wpływu diety wysokotłuszczowej na profil kwasów tłuszczowych szczurów z niealkoholowym stłuszczeniem wątroby, której efektem jest 1 publikacja naukowa:
 - Bamburowicz-Klimkowska M., Rużycka-Ayoush, Cieszanowski A., Szeszkowski W., Białek M., Malkowska A., Grudziński I.P.: New insights into NAFLD based on preclinical MRI studies. *Chemistry and Physics of Lipids* (w recenzji).

Kursy i szkolenia:

W czasie studiów doktoranckich a także podczas mojej pracy zawodowej aktywnie uczestniczyłam w licznych kursach, szkoleniach, seminariach i stażach, organizowanych przez jednostki naukowe i komercyjne. Pełna ich lista została zamieszczona poniżej.

- Webinarium „Tydzień z Klastrami: Klaster 6 – Żywność, biogospodarka, zasoby naturalne, rolnictwo i środowisko”, Organizator: Dział Krajowego Punktu Kontaktowego Programów Badawczych UE w NCBR;
- Webinarium „Tydzień z Klastrami: Klaster 1 – Zdrowie”, Organizator: Dział Krajowego Punktu Kontaktowego Programów Badawczych UE w NCBR;
- Webinarium nt. Horyzontu Europa: filar II – klastry, misje i partnerstwa, Organizator: Biuro Promocji Nauki PolSCA PAN w Brukseli;
- Webinarium inauguracyjne „Cykl webinarium PolSCA nt. Horyzontu Europa”, Organizator: Biuro Promocji Nauki PolSCA PAN w Brukseli;
- Webinarium nt. międzynarodowego konkursu Weave-UNISONO, Organizator: Biura Promocji Nauki PolSCA PAN w Brukseli i Narodowe Centrum Nauki;
- Webinarium „Badania przedkliniczne: finansowanie, etyka, organizacja, wdrażanie wyników”, Organizator: Centrum Transferu Wiedzy i Technologii Politechniki Gdańskiej, 02.02.2021 r.;
- Webinarium „Epigenetic and metabolic alternations in the tumor microenvironment”, Organizator: Cancers MDPI, 15 – 16 grudnia 2020 r.,
- Webinarium: „Techniki emisyjne w oznaczeniach pierwiastków”, Organizator: Perlan Technologies Polska Sp. z o.o., 15 grudnia 2020 r.,
- Szkolenie on-line „Analizy chemometryczne w STATISTICA – kurs podstawowy”, Organizator: Statsoft Polska Sp. z o.o., 16 – 17 listopada 2020 r.,
- XXIV Konferencja „Zastosowania statystyki i data mining w badaniach naukowych”. Organizator: StatSoft Polska, Warszawa, 21 października 2020 r.,
- IV Akademia Chemii Analitycznej on-line „Zaawansowane metody spektrofotometryczne i spektroskopowe: biochemia, farmacja, medycyna, źródła energii, środowisko i inżynieria materiałowa”, Organizator: SHIM-POL A.M. BORZYMOWSKI, 5-7 października 2020 r.,
- Webinarium „Praktyczne aspekty oznaczania azotu i białka w oparciu o metodę Kjeldahl’a”, Organizator: BÜCHI Labortechnik AG, 12.05.2020 r.;
- Webinarium „Spektrometria mas w kompleksowych analizach multiomicznych. Od dwuwymiarowej chromatografii cieczowej po wysokorozdzielczą spektrometrię mas w analizach metabolomicznych, proteomicznych i lipidomicznych”, Organizator: Perlan Technologies Polska Sp. z o.o., 07.05.2020 r.,

- Szkolenie e-learningowe „Przeciwdziałanie korupcji”, Organizator: Centralne Biuro Antykorupcyjne.
- Szkolenie e-learningowe „Korupcja w biznesie”, Organizator: Centralne Biuro Antykorupcyjne.
- Szkolenie e-learningowe „Korupcja w administracji publicznej”, Organizator: Centralne Biuro Antykorupcyjne.
- II Konferencja szkoleniowa PAN „Dozwolone i niedozwolone praktyki w korzystaniu z narzędzi statystycznych do celów badawczych” z cyklu „Dozwolone i niedozwolone praktyki w nauce”. Organizator: Polska Akademia Nauk, Warszawa.
- XXIII Konferencja „Zastosowania statystyki i data mining w badaniach naukowych”. Organizator: StatSoft Polska, Warszawa.
- I Konferencja szkoleniowa PAN „Dozwolone i niedozwolone praktyki w obróbce obrazu cyfrowego” z cyklu „Dozwolone i niedozwolone praktyki w nauce”. Organizator: Polska Akademia Nauk, Warszawa.
- Seminarium dotyczące biologii molekularnej. Organizator: Perlan Technologies Polska sp. z o.o., Warszawa, Polska.
- Seminarium dotyczące technik chromatograficznych i aparatury. Organizator: Perlan Technologies Polska sp. z o.o., Warszawa, Polska.
- Wykłady w ramach Forum Naukowego na 21. Międzynarodowych Targach Analityki i Technik Pomiarowych EuroLab 2019 i 8. Targach Techniki Kryminalistycznej CrimeLab 2019. Organizator: Wydział Chemii, Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego, Komitet Chemii Analitycznej Pan, Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej, Warszawa, Polska.
- Wykłady i warsztaty „Badania komórkowe oraz Mikroskopia fluorescencyjna i konfokalna”. Organizator: Animalab, Warszawa, Polska.
- Szkolenie w zakresie obsługi cytometru przepływowego BD™ FACSCelesta. Organizator: Becton Dickinson Polska Sp. z o.o., Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk, Jabłonna, Polska.
- Warsztaty „Techniczne aspekty wnioskowania w ZSUN OSF w kontekście nowych funkcjonalności w systemie”. Organizator: MNiSW i OPI PBI, Warszawa, Polska;
- Konferencja „Nutraceutyki i suplementy”. Organizator: Komisja Medyczna Polskiego Komitetu Olimpijskiego, Okręgowa Izba Aptekarska w Warszawie, Centrum Edukacji Medycznej, Polskie Towarzystwo Dietetyki, Warszawa, Polska.
- XXII Konferencja „Zastosowania statystyki i data mining w badaniach naukowych”. Organizator: StatSoft Polska, Warszawa.
- Seminarium naukowe „Najnowsze rozwiązania technologiczne dla chemii analitycznej”. Organizator: SHIM-POL A.M. BORZYMOWSKI, Warszawa.
- Warsztaty NCN dla wnioskodawców poświęcone przygotowaniu wniosków o finansowanie projektów badawczych. Organizator: Narodowe Centrum Nauki, Kraków.

- Szkolenie łączone dla osób odpowiedzialnych za planowanie i wykonywanie procedur i doświadczeń oraz uśmiercających zwierzęta. Organizator: Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN oraz Centralne Laboratorium Zwierząt Doświadczalnych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.
- Szkolenie dla osób uczestniczących w doświadczeniach. Organizator: Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN
- Szkolenie „Własność intelektualna i ochrona patentowa”. Organizator: Tomorrow Sp. z o.o., Warszawa.
- Szkolenie „Skuteczna komunikacja z biznesem” Organizator: Tomorrow Sp. z o.o., Warszawa.
- Szkolenie „Pozyskiwanie środków na badania naukowe, komercjalizacja oraz marketing innowacji”. Organizator: Tomorrow Sp. z o. o., Warszawa.
- Kurs nt. nawiązywania relacji z biznesem i instytucjami finansowymi. Organizator: Międzynarodowa Szkoła Bankowości i Finansów Sp. z o.o., Niepubliczna Placówka Kształcenia Ustawicznego, Warszawa
- Seminarium „GWP – Dobra Praktyka Ważenia – teoria a rzeczywistość. Aspekty metodologiczne.” Organizator: Mettler-Toledo Sp. z o.o., Warszawa
- Seminarium “Nowoczesne metody analizy żywności”. Organizator: Sigma Aldrich, Warszawa
- Erasmus Intensive Program “Organic Food Production Chain”. Organizator: SGGW, Warszawa
- Seminarium “GC i GC/MS”. Organizator: Perlan Technologies, Zegrze
- Seminarium “Zaawansowane technologie GC/GC-MS w nowoczesnym laboratorium”, Organizator: Sigma Aldrich, Warszawa

Martyna Białek

(podpis wnioskodawcy)