
AUTOREFERAT

dr inż. Agnieszka Herosimczyk

Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki

Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

SZCZECIN 2021

SPIS TREŚCI

I. DANE OSOBOWE	3
II. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE	3
III. DOTYCHCZASOWE ZATRUDNIENIE W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH.....	3
IV. OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE WYNIKAJĄCE Z ART. 219 UST. 1 PKT. 2b USTAWY PRAWO O SZKOLNICTWIE WYŻSZYM I NAUCE (Dz.U.2018.0.1668 - USTAWA Z DNIA 20 LIPCA 2018 r.).....	4
A. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	4
B. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	4
C. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW. PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA.....	5
Wprowadzenie	5
Cel i zakres prac badawczych	9
Omówienie wyników prac wskazanych, jako szczególne osiągnięcie naukowe	10
Podsumowanie	20
Bibliografia	23
V. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH.....	27
VI. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ	38
VII. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ.	39
VIII. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO.....	43

I. DANE OSOBOWE

Imię i nazwisko: Agnieszka Herosimczyk

Miejsce pracy: Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Klemensa Janickiego 32,
71-270 Szczecin

Dane kontaktowe: Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Klemensa Janickiego 29,
71-270 Szczecin

II. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE

13.09.2005 r. magister inżynier, kierunek studiów: zootechnika, Akademia Rolnicza w Szczecinie, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,
temat pracy: „*Proteomowa analiza ekspresji białek osocza po spożyciu tłuszczu*”,
Promotor: dr hab. Małgorzata Ożgo, prof. ZUT

12.05.2010 r. doktor nauk rolniczych, dyscyplina: zootechnika, specjalność: fizjologia zwierząt; Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,
temat pracy: „*Zmiany proteomu osocza krwi cieląt w pierwszym tygodniu życia*”,
Promotor: prof. dr hab. Wiesław F. Skrzypczak

III. DOTYCHCZASOWE ZATRUDNIENIE W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

01.09.2010 r. – 31.08.2011 r. Katedra Fizjologii Cytobiologii i Proteomiki, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
stanowisko: adiunkt w wymiarze ½ etatu, pracownik naukowo-dydaktyczny

01.09.2011 r. – 31.12.2013 r. Katedra Fizjologii Cytobiologii i Proteomiki, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
stanowisko: adiunkt, pracownik naukowy

01.01.2014 r. – obecnie Katedra Fizjologii Cytobiologii i Proteomiki, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
stanowisko: adiunkt, pracownik naukowo-dydaktyczny

IV. OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE WYNIKAJĄCE Z ART. 219 UST. 1 PKT. 2b USTAWY PRAWO O SZKOLNICTWIE WYŻSZYM I NAUCE (Dz.U.2018.0.1668 - USTAWA Z DNIA 20 LIPCA 2018 r.)

A. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO: ***Analiza porównawcza proteomu wybranych tkanek oraz surowicy krwi rosnących świń żywionych mieszankami paszowymi o różnym dodatku inuliny (1, 2 i 3%).***

B. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe stanowi monotematyczny cykl czterech oryginalnych artykułów, opublikowanych w latach 2015-2020, których sumaryczna wartość wskaźnika IF jest równa **6,038**; natomiast liczba punktów MNiSW wynosi **275**.

Kopie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowią załącznik nr 5. Oświadczenia współautorów wyżej wymienionych prac wraz z określeniem ich indywidualnego wkładu stanowi załącznik nr 6.

Wartości wskaźnika impact factor publikacji podano według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania. Liczba punktów za publikację P-1 została przyznana na podstawie Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje naukowe w tych czasopismach, ustalonego na podstawie wykazów ogłoszonych w latach 2013-2016. Punktacja za publikacje P-2 oraz P-3 została przyznana na podstawie Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r., jako wykaz czasopism naukowych obowiązujący podczas ewaluacji za lata 2017-2018. Natomiast punktacja za publikację P-4 została przyznana na podstawie Komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 18 lutego 2021 r. o zmianie i sprostowaniu komunikatu w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych.

[P-1] Herosimczyk A., Lepczyński A., Ożgo M., Skomiał J., Dratwa-Chałupnik A., Tuśnio A., Taciak M., Barszcz M. 2015. Differentially expressed proteins in the blood serum of piglets in response to a diet supplemented with inulin. Polish Journal of Veterinary Sciences, 18, 541-548.

(IF : **0,719**; MNiSW: **20**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wiodącej roli w: opracowaniu koncepcji przeprowadzenia badań, gromadzeniu materiału biologicznego do analiz laboratoryjnych i danych do analiz statystycznych, przeprowadzaniu analiz laboratoryjnych i statystycznych oraz samodzielnym sformułowaniu wniosków, doborze piśmiennictwa z zakresu przedmiotu, napisaniu manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). **Indywidualny wkład - 60%***

[P-2] Herosimczyk A., Lepczyński A., Ożgo M., Barszcz M., Jaszczuk-Kubiak E., Pierzchała M., Tuśnio A., Skomiał J. 2017. Hepatic proteome changes induced by dietary supplementation with two levels of native chicory inulin in young pigs. Livestock Science, 203, 54-62.

(IF : **1,204**; MNiSW: **35**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wiodącej roli w: opracowaniu koncepcji przeprowadzenia badań, gromadzeniu materiału biologicznego do analiz laboratoryjnych i danych do analiz statystycznych; współdziałanie w przeprowadzaniu analiz laboratoryjnych i statystycznych; a także samodzielnym sformułowaniu wniosków, doborze piśmiennictwa z zakresu przedmiotu, napisaniu manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). **Indywidualny wkład - 60%***

[P-3] Herosimczyk A., Lepczyński A., Ożgo M., Barszcz M., Marynowska M., Tuśnio A., Taciak M., Markulen A., Skomiał J. 2018. Proteome changes in ileal mucosa of young pigs resulting from different levels of native chicory inulin in the diet. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 27, 229-237.

(IF : 0,875; MNiSW: 20)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wiodącej roli w: opracowaniu koncepcji przeprowadzenia badań, gromadzeniu materiału biologicznego do analiz laboratoryjnych i danych do analiz statystycznych, przeprowadzaniu analiz laboratoryjnych i statystycznych oraz samodzielnym sformułowaniu wniosków, doborze piśmiennictwa z zakresu przedmiotu, napisaniu manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). **Indywidualny wkład - 60%***

[P-4] Herosimczyk A., Lepczyński A., Ożgo M., Tuśnio A., Taciak M., Barszcz M. 2020. Effect of dietary inclusion of 1% or 3% of native chicory inulin on the large intestinal mucosa proteome of growing pigs. *Animal* 14, 1647-1658.

(IF: 3,240; MNiSW: 200)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na wiodącej roli w opracowaniu koncepcji przeprowadzenia badań, gromadzeniu materiału biologicznego do analiz laboratoryjnych i danych do analiz statystycznych, przeprowadzaniu analiz laboratoryjnych i statystycznych, samodzielnym sformułowaniu wniosków, doborze piśmiennictwa z zakresu przedmiotu, napisaniu manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny). **Indywidualny wkład - 60%***

Badania naukowe, opisane w w/w publikacjach zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu SONATA nr 2012/05/D/NZ9/01604 zatytułowanego „**Wykorzystanie technik proteomicznych do oceny wpływu diety z różnym udziałem fruktanów typu inulinowego na zmiany profili białkowych wybranych tkanek rosnących prosiąt**” (Zał. nr 7).

C. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO W/W PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA

Wprowadzenie

Od momentu usankcjonowania przez Unię Europejską, na początku 2006 roku, prawnego zakazu stosowania antybiotyków paszowych w produkcji zwierzęcej, wysiłki badaczy koncentrują się na poszukiwaniu alternatywnych, naturalnych związków, które poprzez stabilizację mikrobioty przewodu pokarmowego będą wywierały korzystny wpływ na status zdrowotny, produktywność, a w konsekwencji na jakość otrzymywanych od nich produktów. Spośród bioaktywnych składników diety, szczególne zainteresowanie, w kontekście ich działania prozdrowotnego wzbudzają prebiotyki. Termin prebiotyk wprowadzili w 1995 roku Gibson i Robefroid, określając w ten sposób składniki diety nie ulegające enzymatycznemu trawieniu w górnych odcinkach przewodu pokarmowego, które poprzez selektywną stymulację wzrostu i/lub aktywności wybranych bakterii bytujących w okrężnicy wpływają korzystnie na organizm gospodarza (Gibson i Robefroid 1995). W kolejnych latach (2004-2007), w miarę uzyskiwania coraz większej ilości informacji na temat działania tych substancji na organizm zwierząt oraz ludzi, definicja ta została uzupełniona i określała prebiotyki jako naturalne składniki pochodzenia roślinnego, które wywierają korzystny wpływ na zdrowie gospodarza w wyniku modulacji składu i aktywności mikrobioty jelitowej (Gibson i in. 2004; FAO Technical Meeting on Prebiotics 2007). Obecnie obowiązująca definicja prebiotyków została wypracowana i przyjęta w 2016 roku na spotkaniu

Międzynarodowego Towarzystwa Naukowego Probiotyków i Prebiotyków (ISAPP). Ostatecznie Panel Ekspertów określił prebiotyki, jako substraty, które są selektywnie wykorzystywane przez mikroorganizmy gospodarza przyczyniając się tym samym do poprawy stanu jego zdrowia (Gibson i in. 2017).

Do substancji spełniających kryteria stawiane prebiotykom należą między innymi fruktany typu inulinowego, do których zalicza się inulinę, oligofruktozę (OF) oraz fruktooligosacharydy (FOS). Związki te syntetyzowane są przez wiele roślin jadalnych, jako węglowodany zapasowe, przy czym dla potrzeb przemysłowej produkcji, inulinę ekstrahuje się głównie z korzenia cykorii (*Cichorium intybus*) (Świątkiewicz i Świątkiewicz 2008; Kulczyński i Gramza-Michałowska 2016). Inulina jest mieszaniną oligomerów i polimerów liniowych cząsteczek β -D-fruktozy połączonych ze sobą wiązaniami β (2-1) glikozydowym z jedną cząsteczką D-glukozy umieszczoną na końcu jej łańcucha. Stopień polimeryzacji (DP) natywnej inuliny, definiowany jako ilość poszczególnych jednostek fruktozy w łańcuchu, waha się w zakresie od 2-60, przy czym średnie DP wynosi 10. Z kolei oligofruktoza oraz fruktooligosacharydy zaliczane są do krótkołańcuchowych fruktanów zawierających 2-4 (FOS) oraz 2-10 (OF) reszt fruktozowych (Bosscher 2009). Ze względu na swoją specyficzną budowę chemiczną inulina jest odporna na działanie enzymów trawiennych wydzielanych na terenie układu pokarmowego. W niezmienionej formie dociera zatem do jelit gdzie pod wpływem rezydującej tam mikrobioty, głównie przy udziale bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* ulega fermentacji (Nines 1999; Patterson i in. 2010). W odróżnieniu od ludzi oraz innych zwierząt monogastrycznych, u których głównym miejscem hydrolizy bakteryjnej inuliny jest jelito grube, u świń znaczna jej degradacja (20-57%) może zachodzić już w jelicie czczym (Böhmer i in. 2005; Loh i in. 2006). Obserwowane zjawisko związane jest z obecnością wyraźnie większej ilości bakterii (10^7 - 10^9 jtk/g treści pokarmowej), głównie z rodzaju *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Enterobacterium*, *Bacillus* oraz *Bacteroides* w jelicie cienkim u odsadzonych prosiąt, w porównaniu z ludźmi (10^6 do 10^7 jtk/g) (Jensen i Jørgensen 1994; Konstantinov i in. 2006; Crespo-Piazuelo i in. 2018). Fermentacja bakteryjna inuliny wywiera efekt bifidogeny przejawiający się zwiększonym wzrostem populacji oraz aktywności metabolicznej pałeczek kwasu mlekowego, w szczególności z rodzaju *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus*, które konkurują z bakteriami chorobotwórczymi o miejsce adhezji na nabłonku jelitowym. W następstwie tego dochodzi do hamowania wzrostu potencjalnie patogennych drobnoustrojów, takich jak: *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni* czy też *Clostridium perfringens* (Świątkiewicz i Świątkiewicz 2008; Kulczyński i Gramza-Michałowska 2016). Wyniki badań, prowadzonych na świnich wskazują jednoznacznie, że miejsce fermentacji i wykazywany w związku z tym efekt bifidogeny inuliny jest ściśle uzależniony od stopnia jej polimeryzacji (DP) oraz procentowego jej udziału w diecie. Taki efekt stwierdzono w treści jelita grubego, głównie w kątnicy rosnących prosiąt żywionych paszą z dodatkiem inuliny (od 1% do 4%) o średnim DP wynoszącym 25 (Yasuda i in. 2007; Patterson i in. 2010) lub 23 (Barszcz i in. 2018a). Z kolei

Paßlack i in. (2012) w swoich badaniach, prowadzonych na odsadzonych prosiętach, wykazali, że suplementacja diety 4% długołańcuchową inuliną (DP=57) spowodowała zwiększenie ilości bakterii probiotycznych, dopiero w proksymalnym odcinku okrężnicy. W innym doświadczeniu, przeprowadzonym również na rosnących świniach, dowiedziono, że dodatek do paszy 3% inuliny o średnim DP wynoszącym 12, spowodował znaczną jej degradację (20-50%) już na terenie jelita czczego (Loh i in. 2006).

Produktami końcowymi fermentacji bakteryjnej inuliny są gazy, takie jak dwutlenek węgla i wodór, mleczany oraz krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (KKT), w tym głównie kwas masłowy, octowy i propionowy. Zwiększona synteza endogennych KKT przyczynia się do obniżenia pH treści jelit, stwarzając przez to niekorzystne warunki środowiska dla rozwoju patogennych drobnoustrojów (Czajkowska i Szponar 2018). Warto podkreślić, że stężenie tych kwasów jest zróżnicowane w poszczególnych odcinkach układu pokarmowego. Jak podają Diao i in. (2019) ich koncentracja jest najniższa w jelicie krętym (ok. 15 $\mu\text{mol/g}$ treści), wrasta zaś w jelicie ślepym (ok. 110 $\mu\text{mol/g}$) oraz w okrężnicy (ok. 102 $\mu\text{mol/g}$) odsadzonych prosiąt. Oszacowano, że około 5% krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych jest wydalanych wraz z kałem, natomiast pozostałe 95% jest absorbowane przez komórki nabłonka jelitowego. Do tej pory opisano istnienie dwóch głównych mechanizmów warunkujących wchłanianie KKT przez komórki nabłonka jelita cienkiego i grubego. KKT mogą być transportowane na drodze dyfuzji niezdysonowanych, uprotonowanych kwasów oraz na drodze transportu aktywnego, gdzie zdysocjowane formy kwasów przenoszone są do wnętrza komórek z udziałem swoistych transporterów błonowych. Aktywny transport KKT przez śluzówkę jelita odbywa się z udziałem dwóch transporterów: MCT1 - izoformy 1 transportera kwasów monokarboksylowych, który zależny jest od gradientu stężeń jonów H^+ po obu stronach błony komórkowej oraz zależnego od Na^+ transportera SMCT1 - izoforma 1 transportera kwasów monokarboksylowych związanego z sodem (den Besten i in. 2013; Czajkowska i Szponar 2018; Liu i in. 2018). Wchłonięte na tej drodze KKT wykorzystywane są między innymi jako substraty energetyczne. Spośród trzech głównych KKT najbardziej korzystne działanie w tym zakresie obserwuje się w przypadku kwasu masłowego, który zapewnia kolonocytom aż do 80% energii (Darcy-Vrillon i in. 1996; Kuczyńska i in. 2011). Innymi istotnymi funkcjami kwasu masłowego jest jego działanie przeciwzapalne, jak również stymulacja proliferacji i różnicowania komórek nabłonkowych jelita cienkiego oraz grubego, co może mieć fundamentalne znaczenie u zwierząt w okresie intensywnego wzrostu i rozwoju (Comalada i in. 2006). Ponadto, wyniki dotychczasowych badań prowadzonych na odsadzonych prosiętach wskazują, że KKT odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu prawidłowej struktury oraz funkcji bariery jelitowej. Efekty te realizowane są na drodze zwiększonej sekrecji mucyn (1 oraz 2), chroniących nabłonek jelitowy przed inwazją patogenów oraz toksyn, jak również poprzez zwiększenie ekspresji białek tworzących połączenia ścisłe (zonulina-1, okludyna, kładyna-1 oraz -4), determinujących utrzymanie integralności bariery jelitowej (Diao i in. 2019, Zhang i in. 2019). Na uwagę zasługuje fakt, że zwiększona

koncentracja KKT w świetle jelit wywiera dodatkowo stymulujący efekt na wchłanianie wybranych makro- i mikroelementów takich jak: wapń, magnez, żelazo, sód, cynk oraz miedź, poprzez zwiększenie ich rozpuszczalności i/lub aktywację swoistych dla nich transporterów (Scholz-Ahrens i Schrezenmeir 2007; Yasuda i in. 2009; Jolliff i Mahan 2015).

Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe oprócz swojego lokalnego działania na terenie jelit (głównie kwas masłowy), po dostaniu się do krążenia ogólnego, wywierają szereg efektów ogólnoustrojowych obejmujących między innymi modulację szlaków sygnałowych i metabolicznych w wielu tkankach i narządach. Większość kwasu octowego (70%) oraz propionowego (90%) powstałych w procesie fermentacji bakteryjnej inuliny, po wchłonięciu przez enterocyty, przedostają się krążeniem wrotnym do wątroby, gdzie wykorzystywane są nie tylko jako źródło energii, ale również jako substraty do syntezy cholesterolu i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz jako kosubstraty do produkcji glutaminy i glutaminianu. Pozostała część KKT jest metabolizowana między innymi przez mięsień sercowy, mięśnie szkieletowe, nerki oraz tkankę tłuszczową (den Besten i in. 2013; Czajkowska i Szponar 2018). Kwasy te wykazują swoje szerokie działanie metaboliczne wiążąc się z receptorami sprzężonymi z białkiem G – GPR41/FFAR3 (receptor wolnych kwasów tłuszczowych 3), GPR43/FFAR2 (receptor wolnych kwasów tłuszczowych 2), GPR109a (receptor kwasu hydroksykarboksyłowego 2) oraz Olfr78 (receptor węchowy 78), których obecność stwierdzono nie tylko w komórkach enterocytów i komórkach endokrynych nabłonka jelit, ale również w komórkach w/w narządów peryferycznych (Canfora i in. 2015; Priyadarshini i in. 2018). Za pośrednictwem FFAR3 krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, głównie kwas octowy i propionowy, wpływają na aktywność neuronów obwodowego układu nerwowego zwiększając sekrecję katecholamin (Kimura i in. 2011), poprawiają tolerancję glukozy oraz tkankową wrażliwość na insulinę (den Besten i in. 2013), jak również parametry profilu lipidowego, prowadząc między innymi do nasilenia β -oksydacji kwasów tłuszczowych czy też zahamowania syntezy głównych enzymów szlaku syntezy cholesterolu w wątrobie (Shimizu i in. 2019). Z kolei aktywacja receptorów FFAR2 przez KKT prowadzi między innymi do uwrażliwiania komórek mięśni szkieletowych na insulinę, zwiększając tym samym wychwyt glukozy oraz syntezę glikogenu mięśniowego (Canfora i in. 2015). Ponadto, stymulacja tych receptorów, znajdujących się na jelitowych komórkach wewnątrzwydzielniczych L, wpływa również na zwiększenie syntezy i uwalniania hormonów oreksygennych tj. jelitowego peptydu YY (PYY) i glukagonopodobnego peptydu 1 (GLP-1) (Czajkowska i Szponar 2018; Diao i in. 2019) oraz uruchamianiu odpowiedzi przeciwzapalnej (Parada Venegas i in. 2019). Receptory GPR109a zlokalizowane są głównie na powierzchni komórek immunokompetentnych, adipocytach oraz komórkach beta trzustki przy czym wykazują one powinowactwo jedynie do kwasu masłowego (Priyadarshini i in. 2018). Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że aktywacja GPR109a po związaniu z ligandem, uruchamia odpowiedź przeciwzapalną na skutek zwiększonej proliferacji limfocytów T regulatorowych (Treg) oraz

sekrecji IL-10 w okrężnicy (Furusawa i in. 2013). Kwas octowy i propionowy mogą również oddziaływać poprzez receptory Olfr78, których ekspresję stwierdzono między innymi na kolonocytach oraz na komórkach wewnątrzwydzielniczych L w okrężnicy (Fleischer i in. 2015). Nie mniej jednak fizjologiczne konsekwencje aktywacji tych receptorów w komórkach docelowych nie są do końca wyjaśnione i wymagają dalszych badań.

Interakcja krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych ze swoistymi receptorami błonowymi, uruchamia szlak przekazu sygnału do wewnątrzkomórkowych układów efektorowych, determinując tym samym odpowiedź biologiczną komórek docelowych, związaną między innymi z modyfikacją ekspresji genów. Powyższe zmiany mają wpływ na syntezę, degradację oraz potranslacyjną modyfikację białek, które z kolei warunkują cechy strukturalne, funkcjonalne i metaboliczne poszczególnych komórek, tkanek oraz całych narządów. Techniki proteomiczne znajdują coraz szersze zastosowanie w badaniach skierowanych na określenie zależności pomiędzy dietą i jej bioaktywnymi składnikami a odpowiedzią organizmu zwierzęcego na poziomie białek. Niewątpliwą zaletą tego rodzaju badań jest możliwość globalnej analizy zmian ich ekspresji oraz wzajemnych interakcji, co jest szczególnie istotne w kontekście próby wyjaśnienia molekularnych mechanizmów działania prebiotyków na poziomie wybranych tkanek u rosnących prosiąt.

Cel i zakres prac badawczych

Dostępne wyniki badań z zakresu nutrigenomiki wskazują jednoznacznie, że bioaktywne składniki diety, w tym również prebiotyki, wykazują pośredni wpływ na funkcje genów, nie tylko na terenie samego układu pokarmowego, ale również w tkankach peryferycznych, kształtując tym samym odpowiedź metaboliczną organizmu. Nie mniej jednak, biorąc pod uwagę fakt istnienia zjawiska alternatywnego splicingu oraz procesów potranslacyjnej modyfikacji białek, takich jak fosforylacja czy glikozylacja, które wpływają zarówno na strukturę jak i funkcję produktów końcowych ekspresji genów, włączenie technik proteomicznych do analizy wpływu podaży prebiotyków na zmiany profili białkowych wybranych tkanek może stanowić ważne uzupełnienie dotychczasowej wiedzy.

Biorąc powyższe pod uwagę **głównym celem naukowym prac składających się na cykl publikacji było określenie wpływu suplementacji diet rosnących świń różnym procentowym dodatkiem natywnej inuliny ekstrahowanej z cykorii na zmiany proteomu jelita cienkiego oraz grubego, wątroby, surowicy krwi, jak również ocena zmian wybranych wskaźników przemian biochemicznych w tkankach oraz osoczu krwi tych zwierząt.**

Natomiast, cele szczegółowe obejmowały:

- charakterystykę zmian w proteomie śluzówki dystalnego odcinka jelita cienkiego (jelita krętego) indukowanych podażą diet suplementowanych 1% lub 3% natywną inuliną oraz ocena wpływu w/w diet na zmiany statusu mineralnego osocza krwi rosnących prosiąt **[P-3]**;
- obserwację zmian na poziomie proteomu śluzówki jelita grubego (jelita ślepego, proksymalnego oraz dystalnego odcinka okrężnicy) u 50-dniowych prosiąt żywionych paszą z dodatkiem 1% lub 3% natywnej inuliny **[P-4]**;
- identyfikację zmian molekularnych w hepatocytach prosiąt na poziomie proteomu oraz wybranych genów, a także ocena zmian koncentracji wskaźników przemian metabolicznych w osoczu krwi oraz w wątrobie po podaży diet z 1% lub 3% udziałem inuliny **[P-2]**;
- analizę wpływu suplementacji diety 2% natywną inuliną jako czynnika regulującego parametry immunologiczne i wskaźniki przemian biochemicznych osocza krwi oraz jako czynnika indukującego zmiany proteomu surowicy krwi rosnących świń **[P-1]**.

Omówienie wyników prac wskazanych, jako szczególne osiągnięcie naukowe

Badania zostały przeprowadzone na zwierzętach będących mieszańcami komercyjnych linii świń PIC x Penarlan P76. Prosięta od momentu urodzenia do 9 dnia życia żywione były siarą i mlekiem matek, natomiast od 10 dnia życia miały wolny dostęp do paszy stałej, której skład był charakterystyczny dla grup badawczych. Po odsadzeniu, w 28 dniu życia, zwierzęta podzielono na odrębne grupy żywieniowe (n=8) i podawano im standardową mieszankę paszową opartą na zbożach (grupa kontrolna) lub pasze wzbogacone o 1% (**P-2, P-3, P-4**), 2% (**P-1**) lub 3% (**P-2, P-3, P-4**) natywną inulinę pozyskiwaną z korzenia cykorii. Inulina (Inulin Orafti® GR; BENEIO GmbH) zastosowana w doświadczeniu zawierała w swoim składzie około 92% inuliny o średnim poziomie polimeryzacji ≥ 10 oraz 8% innych węglowodanów takich jak glukoza, fruktoza oraz sacharoza. Po 40 dniowym okresie żywienia zarówno paszami kontrolnymi, jak i eksperymentalnymi (w 50 dniu życia), prosięta poddano ubojowi i pobrano materiał badawczy do dalszych analiz. Dokładny schemat przeprowadzonego eksperymentu wraz z grupami badanych zwierząt, opisem metod badawczych oraz zastosowanych analiz statystycznych, a także szczegółowa charakterystyka uzyskanych wyników zostały opisane w pracach składających się na osiągnięcie naukowe (**P-1, P-2, P-3, P-4**).

Działanie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, stanowiących główne, a zarazem końcowe produkty fermentacji bakteryjnej inuliny, może mieć charakter lokalny, manifestowany głównie na terenie jelit (**P-3, P-4**) oraz ogólnoustrojowy, obejmujący szereg tkanek oraz narządów organizmu gospodarza (**P-1, P-2**). Interakcje KKT ze swoistymi receptorami, wpływają na modulację szlaków sygnałowych i

metabolicznych, stymulując tym samym odpowiedź ze strony komórek docelowych, które wpływają między innymi na zmiany ekspresji genów oraz syntezy białek. Biorąc powyższe pod uwagę, nadrzędnym celem przedstawionych do oceny prac była ocena stopnia odpowiedzi organizmu rosnących prosiąt na poziomie proteomu wybranych tkanek oraz surowicy krwi w odpowiedzi na suplementację mieszanek paszowych natywną inuliną.

Wyniki badań dotyczących oceny wpływu podaży diet suplementowanych 1% lub 3% natywną inuliną na zmiany proteomu błony śluzowej jelita krętego rosnących prosiąt (**P-3**) wykazały przeciwny kierunek zmian ekspresji szeregu białek, szczególnie tych zaangażowanych w metabolizm oraz kontrolę wzrostu i podziału komórek nabłonkowych, w zależności od procentowej zawartości inuliny w paszy. Dodatek 1% inuliny do diety spowodował istotne zmiany ekspresji 10 białek, przy czym wszystkie wykazywały regulację w dół, w porównaniu z dietą kontrolną (**P-3, Tab. 1, Ryc. 1A**). Spośród nich na szczególną uwagę zasługuje obniżona ekspresja reduktazy aldozy (AR), białka, które katalizuje zależną od NADPH konwersję glukozy do sorbitolu oraz pośrednio zwiększa produkcję reaktywnych form tlenu (RFT). Wzmoczone wytwarzanie RFT prowadzi do aktywacji specyficznych czynników transkrypcyjnych, głównie jądrowego czynnika NF kappa B (NF- κ B), odgrywającego kluczową rolę między innymi w indukcji ekspresji cytokin prozapalnych oraz chemokin (Srivastava i in. 2011). Wyniki badań przeprowadzonych *in vitro* na liniach komórkowych ludzkiego raka jelita grubego (HT29) dowodzą, że zastosowanie inhibitora AR hamuje aktywność wielu czynników prozapalnych, w tym właśnie wcześniej wspomnianego czynnika NF- κ B, jak również cyklooksygenazy-2 (COX-2) oraz prostaglandyny 2 (PGE2) (Tammali i in. 2011). Ponadto, autorzy ci postulują, że reduktaza aldozy jest jednym z kluczowych czynników wpływających na adhezję, inwazję oraz tworzenie ognisk przerzutowych raka jelita grubego (Tammali i in. 2011). Biorąc powyższe pod uwagę, obserwowana w prezentowanym doświadczeniu obniżona ekspresja AR, a tym samym jak się wydaje ograniczenie aktywacji czynnika NF- κ B, może stanowić kolejny dowód potwierdzający przeciwzapalne oraz przeciwnowotworowe działanie inuliny na komórki nabłonkowe błony śluzowej jelit (Pasqualetti i in. 2014). Dalsza analiza proteomiczna wykazała, że dieta suplementowana 1% inuliną spowodowała istotne obniżenie ekspresji białek strukturalnych (lamina-B1, plastyna-2), białek które pośrednio lub bezpośrednio są zaangażowane w syntezę DNA, RNA, białek oraz polisacharydów (pirofosfataza nieorganiczna, czynnik elongacyjny 1-gamma), jak również tych, ściśle związanych z regulacją proliferacji komórkowej (białko wiążące histony RBBP4, białko 1 wiążące fosfatydyloetanolaminę). Powyższe dane wskazują, że dodatek 1% inuliny do paszy wywiera hamujący wpływ na aktywność proliferacyjną komórek nabłonka dystalnego odcinka jelita cienkiego. Ze względu na dobrze udokumentowany, stymulujący wpływ kwasu masłowego na proliferację komórek nabłonkowych, wydaje się, że obserwowane zmiany związane są właśnie z niedostateczną ilością tego metabolitu bakteryjnego. Powyższe znajduje swoje potwierdzenie w wynikach wcześniejszych badań,

przeprowadzonych na tych samych zwierzętach, wskazujących jednoznacznie, że suplementacja diety 1% natywną inuliną powoduje obniżenie koncentracji maślanu w poszczególnych odcinkach jelita grubego prosiąt (jelito ślepe, część proksymalna, środkowa oraz dystalna okrężnicy) w porównaniu z grupą kontrolną (Barszcz i in. 2018a). Podobne rezultaty uzyskali również Kien i in. (2006). Autorzy ci wykazali bowiem, zmniejszoną proliferację komórek nabłonka okrężnicy 12-dniowych prosiąt żywionych przez okres 14 dni preparatem mlekozastępczym wzbogaconym w 0,3% inulinę (Kien i in. 2006).

Z kolei dodatek 3% inuliny do paszy rosnących prosiąt spowodował istotne zmiany ekspresji 24 spotów białkowych, przy czym wszystkie wykazywały regulację w górę, w odniesieniu do grupy kontrolnej (**P-3, Tab. 2, Ryc. 1B**). W oparciu o biologiczne funkcje pełnione przez te białka można postulować, że 3% inulina wywiera stymulujący wpływ na proliferację komórek nabłonkowych jelita biodrowego, a tym samym może zwiększać powierzchnię wchłaniania. Przemawia za tym nasilona ekspresja białek wykazujących aktywność transkrypcyjną i translacyjną (białko rybosomalne 40 S, inhibitor rybonukleazy, izoforma X1 czynnika elongacyjnego 1-delta), białek odpowiedzialnych za proces fałdowania (przejęciowa ATPaza retikulum endoplazmatycznego, izomeraza disiarczkowa), jak również tych zaangażowanych w przeprowadzanie potranslacyjnych modyfikacji białek, głównie glikozylacji (fosfomannomutaza 2, gamma-glutamylotransferaza białkowo-glutaminowa 2). Podobne wyniki uzyskali w swych badaniach Tsukahara i in. (2003). Autorzy ci wykazali nie tylko zwiększenie ilości samych komórek nabłonkowych błony śluzowej jelita ślepego u odsadzonych prosiąt, ale również wzrost gęstości śluzu na skutek nasilonej syntezy oraz wydzielania mucyn przez te komórki, w odpowiedzi na podaż diety suplementowanej 10% FOS. Według Tsukahara i in. (2003) wzrost koncentracji KKT, szczególnie kwasu masłowego oraz walerianowego jest bezpośrednią przyczyną obserwowanego troficznego efektu FOS na błonę śluzową kątnicy prosiąt. Powyższe znajduje swoje potwierdzenie również w wynikach poprzednich badań, przeprowadzonych na tej samej grupie zwierząt, gdzie wykazano wzrost stężenia maślanu oraz walerianianu w treści jelita grubego u zwierząt żywionych paszą z dodatkiem 3% natywnej inuliny w odniesieniu do grupy kontrolnej (Barszcz i in. 2018a). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że kwas masłowy, oprócz tego, że stanowi główny substrat energetyczny dla kolonocytów, wpływa też bezpośrednio na uwalnianie glukagonopodobnego peptydu-2 (GLP-2) z komórek L śluzówki jelita krętego oraz okrężnicy (Burrin i in. 2001). Za pośrednictwem receptorów GLP-2R, których obecność stwierdza się na powierzchni błony śluzowej całego przewodu pokarmowego, GLP-2 zwiększa powierzchnię wchłaniania poprzez stymulację proliferacji oraz hamowanie apoptozy komórek nabłonkowych błony śluzowej jelit (Tappenden i in. 2003).

Ponadto, w niniejszej pracy oszacowano wpływ suplementacji diet 1% lub 3% inuliną na osoczowy status wybranych makro- i mikroelementów oraz równowagę pro- i antyoksydacyjną - PAB (**P-3, Tab. 3**). Nie wykazano istotnych zmian w koncentracji fosforu, żelaza, magnezu i wapnia w osoczu

krwi prosiąt w odpowiedzi na podaż diet eksperymentalnych. Z kolei, dodatek 3% inuliny do paszy spowodował istotny wzrost stężenia chlorków w osoczu krwi w porównaniu z grupą prosiąt żywionych 1% inuliną. Nie znajduje to potwierdzenia w wynikach naszych wcześniejszych badań, w których nie stwierdzono zmian koncentracji tego makroelementu w osoczu krwi świń żywionych dietami suplementowanymi 2% inuliną bądź 4% suszem z korzenia cykorii (Lepczyński i in. 2016). W dostępnej literaturze brak jest informacji dotyczących mechanizmów odpowiedzialnych za zmiany koncentracji chlorków w osoczu krwi po podaży prebiotyków. Jony chlorkowe są anionami zewnątrzkomórkowymi, które wraz z jonami sodu są w głównej mierze odpowiedzialne za utrzymywanie prawidłowego ciśnienia osmotycznego osocza krwi. Brak danych dotyczących zmian w wartościach ciśnienia osmotycznego osocza krwi, wielkości wolnej wody oraz koncentracji osoczowej jonów sodu uniemożliwiają całościową interpretację uzyskanych danych. Szczególnie zmiany w wielkości wolnej wody mogłyby być przydatnym parametrem, ponieważ w proporcjonalny sposób odzwierciedlają one zmiany w koncentracji chlorków oraz sodu w osoczu krwi. Wydaje się, że jednym z prawdopodobnych mechanizmów odpowiedzialnych za to zjawisko jest wzrost resorpcji zwrotnej chlorków na terenie nerek. Po procesie filtracji, jony chlorkowe są pasywnie resorbowane w kanalikach proksymalnych, następnie aktywnie na terenie pętli Henlego jak również są resorbowane w dystalnych kanalikach wraz z jonami sodu (Krick i in. 1998). Potwierdzeniem powyższego stwierdzenia, może być fakt odnotowania statystycznie istotnego wzrostu koncentracji sodu w nerkach prosiąt po podaży 2% inuliny oraz 4% suszu z korzenia cykorii (Lepczyński i in. 2021). Nie mniej jednak konieczne są dalsze badania mające na celu poznanie mechanizmu odpowiedzialnego za obserwowany w niniejszym doświadczeniu wzrost chlorków w osoczu krwi rosnących prosiąt po podaży inuliny.

Wyniki niniejszych badań dowodzą, że 3% dodatek natywnej inuliny do paszy wpłynął na poprawę osoczowego statusu oksydacyjno-antyoksydacyjnego. Znalazło to również potwierdzenie w rezultatach naszych najnowszych badań, w których 4% dodatek suszu z korzenia cykorii spowodował statystycznie istotne obniżenie wartości PAB zarówno w osoczu krwi jak i wątrobie rosnących prosiąt (Lepczyński i in. 2021). Jest to zgodne z ogólnym założeniem, że substancje prebiotyczne wykazują szerokie działanie antyoksydacyjne na organizm, co bez wątpienia przyczynia się do zniwelowania negatywnych skutków stresu oksydacyjnego (Pasqualetti i in. 2014; Rizvi i in. 2014).

W kolejnym doświadczeniu (**P-4**), określono wpływ dodatku do diet rosnących prosiąt 1% lub 3% natywnej inuliny na zmiany proteomu komórek nabłonkowych błony śluzowej trzech odcinków jelita grubego (jelito ślepe, proksymalny oraz dystalny odcinek okrężnicy). Wyniki tych badań wskazują jednoznacznie, że największy wpływ obu diet eksperymentalnych na zmiany profili białkowych był manifestowany na terenie śluzówki jelita ślepego (**P-4, Tab. 1, Tab. 2, Ryc. 1a, 1b**) oraz dystalnej części

okrężnicy (**P-4, Tab. 5, Tab. 6, Ryc. 3a, 3b**). Wśród głównych grup białek, wykazujących statystycznie istotne różnice w poziomie ekspresji, w odniesieniu do grupy kontrolnej, można wymienić: molekularne chaperony, białka zaangażowane w regulację cyklu komórkowego, biosyntezę białek oraz organizację cytoszkieletu jak również te kontrolujące szlaki metaboliczne.

Wykazano, że dodatek zarówno 1% jak i 3% inuliny do paszy, zaindukował wzrost ekspresji cytoplazmatycznych białek opiekuńczych w komórkach nabłonkowych błony śluzowej jelita ślepego oraz okrężnicy rosnących prosiąt. Do tej grupy białek należą: białka szoku cieplnego (HSP701B, HSP71, HSP75, HSP90A), kalretikulina, podjednostka alfa oraz beta białka 1 kompleksu T jak również białkowe izomerazy disiarczkowe – PDI (PDI3 oraz PDI6). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że system molekularnych chaperonów pełni zasadniczą funkcję w kontroli jakości białek, a tym samym umożliwia właściwą regulację homeostazy proteomu komórek w zmieniających się warunkach środowiska wewnętrznego i zewnętrznego (Bajzert i Stefaniak 2015). Aktywność chaperonów związana jest między innymi z prawidłowym fałdowaniem, translokacją oraz tworzeniem mostków disiarczkowych w białkach syntetyzowanych w świetle siateczki śródplazmatycznej, a także eliminacji tych o nieprawidłowej strukturze (Popielarski i in. 2014; Bajzert i Stefaniak 2015). Ponadto, wykazano, że białka szoku cieplnego biorą udział w utrzymywaniu integralności komórek nabłonkowych i niwelują uszkodzenia struktur komórkowych przez RFT (David i in. 2002). Wzrost ekspresji HSP60 oraz HSP27 stwierdzono również w wątrobie prosiąt otrzymujących paszę wzbogaconą 3% inuliną (**P-2**).

Ponadto, w grupie prosiąt żywionych 3% inuliną obserwowano prawie 4-krotny wzrost ekspresji winkuliny (VCL) w dystalnym odcinku okrężnicy, w odniesieniu do zwierząt z grupy kontrolnej. Ze względu na kluczową rolę, jaką białko to pełni w tworzeniu połączeń adhezyjnych typu komórka-komórka oraz komórka-substancja zewnątrzkomórkowa, można stwierdzić, że wzrost ekspresji VCL przyczynia się do utrzymania prawidłowej struktury oraz integralności błony śluzowej jelit. Prawdopodobny mechanizm leżący u podstaw tego zjawiska został zaproponowany przez Cani i in (2009). Autorzy ci obserwowali wzrost ekspresji genów kodujących białka tworzące połączenia ścisłe, tj. białka ZO-1 oraz okludyny w okrężnicy otyłych myszy suplementowanych oligofruktozą. Cani i in. (2009) postulują, że obserwowany efekt związany jest ze zwiększoną sekrecją GLP-2 z komórek nabłonkowych jelita krętego oraz okrężnicy w odpowiedzi na zwiększoną koncentrację metabolitów bakteryjnych, głównie kwasu masłowego oraz walerianowego. Znajduje to potwierdzenie w wynikach badań, przeprowadzonych na tej samej grupie zwierząt, gdzie wykazano wzrost stężenia maślanu oraz walerianianu w treści jelita grubego u zwierząt żywionych paszą z dodatkiem 3% natywnej inuliny w odniesieniu do grupy kontrolnej (Barszcz i in. 2018a). Dostępna literatura dostarcza również wiele dowodów potwierdzających troficzne działanie GLP-2 na komórki nabłonkowe błony śluzowej jelita cienkiego oraz grubego na drodze zwiększonej ekspresji kinazy białkowej aktywowanej mitogenami (MAPK) oraz hamowanie apoptozy oraz proteolizy (Burrin i in.

2007; Yu i in. 2014). Wzrost ekspresji białek odpowiadających za organizację cytoszkieletu, jak również tych zaangażowanych w kontrolę cyklu komórkowego czy proces biosyntezy białek, obserwowany w naszym doświadczeniu, wydaje się potwierdzać powyższe obserwacje. Największą dynamikę zmian akumulacji białek strukturalnych odnotowano w jelicie ślepym oraz w dystalnym odcinku okrężnicy. Wykazano, że białka te w głównej mierze są zaangażowane w regulację dynamiki filamentów aktynowych (izoforma X1 miozyny, gelsolina, kofilina-1, alfa-centraktyna, plastyna-2) oraz reorganizację mikrotubul (łańcuch alfa-1B oraz łańcuch beta tubuliny). Zmiany w organizacji cytoszkieletu aktynowego, obserwowanego na poziomie proteomu mogą wskazywać na zwiększoną proliferację komórek nabłonkowych jelita grubego. Nie mniej jednak, różnice dotyczące akumulacji białek nie znalazły swojego odzwierciedlenia w obrazach histologicznych wycinków błon śluzowych okrężnicy. Wyniki wcześniejszych badań, uwzględniających te same grupy prosiąt, nie wykazały istotnych zmian głębokości krypt jelitowych ani grubości mięśniówki proksymalnej, środkowej oraz dystalnej części okrężnicy w odpowiedzi na podaż diet suplementowanych 1% lub 3% natywną inuliną (Barszcz i in. 2018b).

Z kolei zmiany ekspresji białek związanych z metabolizmem komórkowym były ściśle związane z dostępnością substratów energetycznych (KKT lub glukoza), występujących w różnych częściach jelita grubego. W jelicie ślepym, stwierdzono istotne obniżenie ekspresji białek zaangażowanych w komórkowy metabolizm energetyczny (mitochondrialna izoforma X1 kinaza kreatynowej typu U, przejściowa ATPaza retikulum endoplazmatycznego, izoforma X2 sulfotransferazy tiosiarczanowej) oraz proces glikolizy (izoforma X1 alfa enolazy, mutaza fosfoglicerynianowa, izomeraza triosefosforanowa) w odpowiedzi na podaż obu diet eksperymentalnych. Powyższe zmiany świadczą o tym, że to właśnie metabolity bakteryjne, zwłaszcza kwas masłowy, a nie glukoza czy glutaminian są podstawowym substratem energetycznym dla komórek nabłonkowych wyściełających jelito ślepe oraz proksymalną część okrężnicy. Należy też podkreślić, że nawet w sytuacji dostępności dużych ilości substratów energetycznych, w zdrowych komórkach nabłonkowych gospodarza uaktywniane są mechanizmy ograniczające ich niekontrolowaną proliferację. Przemawia za tym obserwowana w niniejszym doświadczeniu regulacja w dół białek odpowiedzialnych za utrzymanie komórkowej homeostazy energetycznej. Ponadto, obniżona ekspresja białek związanych z procesem glikolizy, może stanowić kolejny dowód potwierdzający przeciwnowotworowe działanie inuliny na komórki nabłonkowe błony śluzowej jelit. Nasilony proces glikolizy cechuje bowiem komórki nowotworowe, włącznie z nowotworowo zmienionymi kolonocytami (Li i in. 2016). Komórki te charakteryzują się odmiennym metabolizmem określanym mianem efektu Warburga, wedle którego preferują one, nawet w obecności dostatecznie dużych ilości tlenu, oddychanie beztlenowe, wykorzystując jako substrat głównie glukozę (Li i in. 2016). Dalszym potwierdzeniem powyższego zjawiska jest obserwowana w naszym doświadczeniu obniżona ekspresja łańcucha B dehydrogenazy L-mleczanowej w proksymalnej części śluzówki okrężnicy. Białko

to katalizuje ostatni etap szlaku glikolitycznego, a mianowicie przejście pirogronianiu do mleczanu z jednoczesną regeneracją NAD⁺. Mleczan, który uwalniany jest do krwiobiegu z szybko proliferujących komórek nowotworowych przekształcany jest w wątrobie do glukozy (Sarnowska i in. 2016).

Ponadto, wykazano, że 3% dodatek inuliny do diety spowodował wzrost ekspresji proinflammatory (PHB) w komórkach nabłonkowych błony śluzowej jelita ślepego 50-dniowych prosiąt. PHB jest białkiem ograniczającym rozprzestrzenianie się procesu zapalnego poprzez indukcję czynnika transkrypcyjnego Nrf2, który z kolei kontroluje ekspresję genów kodujących liczne enzymy wchodzące w skład wewnątrzkomórkowych systemów antyoksydacyjnych (Theiss i in. 2009). Wyniki niniejszych badań wskazują również, że obie diety eksperymentalne zwiększyły aktywność naturalnych, antyoksydacyjnych mechanizmów obronnych w dystalnym odcinku okrężnicy, o czym świadczyć może wzrost ekspresji białek o charakterze cytoprotekcyjnym tj. katalaza oraz reduktaza karbonylowa (NADPH). Biorąc powyższe pod uwagę, można postulować, że zwiększona akumulacja w/w białek w śluzówce jelita ślepego oraz okrężnicy może przeciwdziałać prooksydacyjnym warunkom środowiska panującym w jelicie grubym (Sanders i in. 2004).

Podaż obu diet eksperymentalnych spowodowała wzrost ekspresji enzymów mitochondrialnych zaangażowanych w cykl Krebsa (podjednostka 75 kDa oksydoreduktazy NADH-ubichinon, hydrataza akonitanowa), metabolizm glutaminy (transaminaza glutaminowo-fruktozo-6-fosforanowa), szlak pentozowo-fosforanowy (izofорма X1 transketolazy) oraz w proces glikolizy (izofорма X1 alfa enolazy) w dystalnym odcinku okrężnicy prosiąt. Wyniki obserwacji własnych (Barszcz i in. 2018a) i danych z piśmiennictwa (Darcy-Vrillon i in. 1996) wskazują, że najniższa produkcja KKT obserwowana jest właśnie w tym odcinku jelita grubego, co powoduje, że głównym substratem energetycznym dla kolonocytów staje się glukoza.

Kolejna z prac zaliczana do osiągnięcia naukowego skierowana była na identyfikację zmian molekularnych w hepatocytach prosiąt na poziomie proteomu oraz wybranych genów, a także na ocenę zmian koncentracji wskaźników przemian metabolicznych w osoczu krwi oraz w wątrobie po podaży diet z 1% lub 3% udziałem inuliny (**P-2**). Na podstawie przeprowadzonego doświadczenia stwierdzono, że dodatek 3% inuliny do paszy wpłynął istotnie na zmiany ekspresji 27 spotów białkowych w wątrobie prosiąt. Nie zaobserwowano natomiast takiego wpływu w przypadku zastosowania diety suplementowanej 1% inuliną. W tej grupie żywieniowej bowiem, jedynie 2 białka wykazały zwiększoną akumulację w wątrobie, w odniesieniu do grupy kontrolnej (**P-2, Tab. 5, Ryc. 1**). Do głównych grup białek o istotnie różnicowanej ekspresji należą białka związane z organizacją cytoszkieletu, metabolizmem, stresem oksydacyjnym, jak również molekularne chaperony.

Większość kwasu propionowego (90%) powstałego w procesie fermentacji bakteryjnej inuliny, po wchłonięciu przez enterocyty, przedostaje się krążeniem wrotnym do wątroby, gdzie wykorzystywany jest nie tylko jako źródło energii, ale również jako substrat do syntezy glukozy w procesie glukoneogenezy. Na terenie wątroby propionian ulega konwersji do metylomalonylo-CoA oraz bursztynylo-CoA, przy czym ten ostatni jest produktem dla ligazy bursztynylo-CoA (SCS), białka umożliwiającego wprowadzenie propionianu do przemian pirogronianu, wchodzącego w szlak cyklu Krebsa (den Besten i in. 2013). W niniejszych badaniach wykazano, że 3% inulina spowodowała redukcję ekspresji podjednostki beta białka SCS, które katalizuje konwersję bursztynylo-CoA do bursztynianu, a tym samym umożliwia przekształcenie ADP/GDP do ATP/GTP (Van Hove i in. 2010). Zmniejszoną syntezę ATP w wątrobie myszy żywionych dietą z dodatkiem 5% roztworów soli sodowej kwasów masłowego, propionowego oraz octowego obserwowali również den Besten i in. (2015). Autorzy ci postulują, że obserwowane zjawisko związane jest z nasilonym rozprężaniem transportu elektronów z syntezą ATP w systemie fosforylacji oksydacyjnej w hepatocytach. Zwiększona glukoneogeneza wątrobowa, w trakcie której dochodzi do przekształcenia propionianu w cukier, wymaga również dostarczenia energii z ATP. Związany z tym wydatek energetyczny musi zostać zrekompensowany na drodze zwiększonej syntezy ATP w celu utrzymania homeostazy komórkowej (Gallis i in. 2007). Powyższe znajduje swoje odzwierciedlenie w wynikach naszych badań, wskazujących na zwiększoną wątrobową akumulację podjednostki β syntazy ATP (ATP5B), odpowiedzialnej za katalizowanie ostatniego etapu produkcji ATP, w grupie prosiąt żywionych 3% inuliną. Wyniki wcześniejszych prac badawczych przeprowadzonych *in vitro* na pierwotnych mysich hepatocytach dowodzą, że regulacja w górę tego białka w bezpośredni sposób przyczynia się do zwiększenia stężenia wewnątrzkomórkowego oraz zewnątrzkomórkowego ATP (Wang i in. 2014). Ponadto, rezultaty badań przedstawione przez Wang i in. (2014) wskazują na istnienie ścisłej korelacji pomiędzy wzrostem ekspresji wątrobowego białka ATP5B, a ograniczeniem depozycji lipidów w wątrobie u myszy z genetycznie uwarunkowaną cukrzycą typu 2 (myszy db/db). Nie znajduje to potwierdzenia w wynikach naszych badań, świadczących o tym, że dodatek zarówno 1% jak i 3% inuliny do diet rosnących prosiąt, powoduje istotny wzrost depozycji cholesterolu oraz triglicerydów (TG) w wątrobie (**P-2, Tab. 8**). Jest to zgodne z rezultatami naszych wcześniejszych badań przeprowadzonych na rosnących świniach, wskazujących na zwiększenie ekspresji białek wątrobowych biorących udział w biosyntezie cholesterolu w odpowiedzi na podaż diety suplementowanej 4% suszem z korzenia cykorii (Lepczyński i in. 2017). Warto nadmienić, że otrzymane wartości stężenia lipidów wątrobowych mieściły się w zakresie referencyjnym (Winnicka 2021). Parnell i Reimer (2010) obserwowali w swoich badaniach zredukowaną depozycję TG w wątrobie otyłych szczurów, żywionych 10% mieszanką prebiotyczną przez okres 10 dni. Przy czym, ta sama dieta podawana szczurom z prawidłową masą ciała spowodowała wzrost stężenia tego parametru w wątrobie (Parnell i Reimer 2010). Biorąc powyższe pod uwagę, wydaje

się, że korzystny wpływ prebiotyków na metabolizm lipidów w wątrobie, obserwowany u zwierząt ze zdiagnozowanymi zaburzeniami metabolicznymi, nie ujawnia się u osobników zdrowych. Zwiększona depozycja TG w wątrobie, szczególnie widoczna w grupie prosiąt żywionych dietą wzbogaconą 3% inuliną, jest przyczyną obserwowanego uruchomienia mechanizmów kompensujących, przejawiających się między innymi zwiększonym poziomem akumulacji mRNA oraz białek takich jak: CES1 (wątrobowa karboksylesteraza 1) oraz GPD1 (dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego 1). Oba te białka biorą bezpośredni udział w regulacji metabolizmu lipidów m.in. poprzez hydrolizę triglicerydów (CES1) oraz estryfikację wolnych kwasów tłuszczowych (GPD1) (Hagopian i in. 2008; Xu i in. 2014).

Jedynie 3% dodatek inuliny do paszy prosiąt spowodował obniżenie koncentracji osoczowej cholesterolu całkowitego oraz jego frakcji HDL. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku 28- oraz 84-dniowych świń żywionych dietą z udziałem 2% natywnej inuliny (Grela i in. 2014). Co ciekawe, wyniki Grela i in. (2014) nie znajdują jednak swojego potwierdzenia w naszych wcześniejszych badaniach (**P-1**). Nie wykazano bowiem wpływu podaży 2% inuliny na zmiany koncentracji cholesterolu całkowitego ani jego frakcji LDL czy HDL w osoczu krwi 50-dniowych prosiąt (**P-1, Tab. 2**). Z kolei, stosując 4% dodatek suszu z korzenia cykorii, wykazano statystycznie istotne obniżenie stężenia TG w osoczu krwi prosiąt, przy czym wartości cholesterolu całkowitego oraz jego poszczególnych frakcji pozostały niezmiennione (Lepczyński i in. 2015). Ponadto, nie odnotowano negatywnego wpływu suplementacji diet ze zróżnicowanym procentowym dodatkiem natywnej inuliny ekstrahowanej z cykorii na funkcje wątroby 50-dniowych prosiąt. Świadczy o tym brak zmian w aktywności podstawowych osoczowych parametrów biochemicznych wchodzących w skład panelu wątrobowego (**P-2, Tab. 7**). Co więcej, wykazano, że podaż obu diet eksperymentalnych wpłynęła istotnie na obniżenie koncentracji końcowych produktów peroksydacji lipidów, reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w wątrobie prosiąt. Pomiar stężenia TBARS jest powszechnie stosowanym wskaźnikiem stresu oksydacyjnego. Powyższe wyniki wskazują więc na antyoksydacyjny potencjał inuliny.

W kolejnej pracy przedłożonej jako osiągnięcie naukowe (**P-1**) wykazano, że główne zmiany proteomu surowicy krwi prosiąt żywionych paszą z dodatkiem 2% natywnej inuliny dotyczyły białek zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną, metabolizm cholesterolu oraz tych związanych z układem hemostazy (**P-1, Tab. 1, Ryc. 1**). W grupie zwierząt suplementowanych inuliną zaobserwowano statystycznie istotnie zmienioną akumulację produktów genowych związanych z układem fibrynolitycznym tj.: witronektynę (VT) oraz plazminogen (Plg), przy czym oba te białka wykazywały przeciwstawny kierunek zmian. W surowicy krwi zwierząt eksperymentalnych stwierdzono bowiem zmniejszoną ekspresję Plg z jednoczesnym wzrostem ekspresji VT. Nieaktywny biologicznie plazminogen zostaje przekształcony pod wpływem działania tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) lub urokinazowego

aktywatora plazminogenu (u-PAR) w plazminę, która katalizuje degradację usieciowanej fibryny. Obecnie uważa się, że t-PA ma największy wpływ na fizjologiczną regulację aktywności fibrynolitycznej, natomiast inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1) jest głównym inhibitorem t-PA oraz u-PA. Aktywna forma PAI-1 w krążeniu ogólnym jest stabilizowana poprzez wiązanie z karboksylowym końcem łańcucha witronektyny, której obecność stwierdza się zarówno w osoczu krwi jak i pozanacyniowo w macierzy pozakomórkowej (Bujak i in. 2002; Goswami i in. 2013). Wyniki wcześniejszych badań wskazują, że połączenie VT z PAI-1 powoduje 2-3-krotny wzrost okresu półtrwania tego inhibitora (Goswami i in. 2013). Ponadto, w warunkach doświadczeń *in vitro* wykazano, że witronektyna ma również zdolność wiązania na swojej powierzchni Plg (Yasar Yildiz i in. 2014). Biorąc powyższe pod uwagę prawdopodobnym jest, że działanie VT może mieć charakter dwutorowy, przejawiający się z jednej strony stabilizacją PAI-1 będącego głównym inhibitorem konwersji plazminogenu do plazminy oraz poprzez regulowanie ilości wolnego plazminogenu. Stanowi to pewne wyjaśnienie dla obserwowanej w naszym doświadczeniu 3-krotnej regulacji w górę witronektyny z jednoczesnym prawie dwukrotnym obniżeniem ekspresji Plg w surowicy krwi suplementowanych prosiąt. Nie mniej jednak ze względu na brak danych dotyczących koncentracji dwóch głównych czynników odzwierciedlających aktywność fibrynolityczną krwi (t-PA oraz PAI-1), nie można w pełni wnioskować czy dodatek 2% inuliny do paszy, wywiera modulujący wpływ na system fibrynolityczny. Ponadto, zastosowanie diet ze zróżnicowanym procentowym dodatkiem natywnej inuliny (1%, 2%, 3%), nie wpłynęło na zmiany koncentracji pozostałych składowych układu hemostazy w osoczu krwi prosiąt. Nie stwierdzono bowiem, istotnego wpływu suplementacji na osoczowe stężenie fibrynogenu, głównego białka związanego z krzepnięciem krwi, w odniesieniu do grupy kontrolnej (**P-1, Tab. 2** oraz **P-2, Tab. 7**).

Warto również nadmienić, że na powierzchni komórek prokariotycznych stwierdza się obecność licznych białek wykazujących funkcję receptorową wobec plazminogenu (Seweryn i in. 2007). Candela i wsp. (2007) wykorzystując w swoim eksperymencie cytometrię przepływową wraz z mikroskopią immunoelektronową wykazali również obecność takich specyficznych receptorów powierzchniowych plazminogenu ludzkiego w grupie bakterii z rodzaju *Bifidobacteria* (*B. lactis*, *B. bifidum* oraz *B. longum*). Według autorów jest to jeden z głównych mechanizmów wykorzystywanych przez bakterie probiotyczne do trwałej lub przejściowej kolonizacji przewodu pokarmowego. Opiera się on głównie na wykorzystaniu proteolitycznej aktywności plazminy, która oprócz fibryny, rozkłada również składniki macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) oraz współuczestniczy w aktywacji metaloproteinaz, prowadzącej do dalszej degradacji i przebudowy ECM (Jakubiszyn i in. 2006). Nie mniej jednak należy podkreślić, że uzyskane w naszym doświadczeniu wyniki nie są jednoznaczne i wskazują na konieczność dalszych badań, w celu pełnego wyjaśnienia modulującego wpływu prebiotyków na zmiany czynności układu fibrynolitycznego.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że witronektyna (VT), której ekspresja uległa istotnej regulacji w górę w surowicy krwi suplementowanych prosiąt, jest wielofunkcyjną glikoproteiną, pełniącą również ważną rolę w nieswoistej odpowiedzi organizmu. Jest ona bowiem jednym z głównych białek surowiczych hamujących aktywność układu dopełniacza, na etapie tworzenia kompleksu atakującego błonę (MAC) (Singh i in. 2010). Ze względu na fakt, że układ dopełniacza jest efektem reakcji zapalnej, obserwowane w niniejszym doświadczeniu zmiany ekspresji witronektyny, białka regulującego jego aktywność, oraz wybranych komponentów białkowych wchodzących w skład tego układu (łańcuch beta białka wiążącego C4b oraz łańcuch alfa komponentu C8) może stanowić kolejny dowód potwierdzający przeciwwzpalne działanie inuliny.

W doświadczeniu zaobserwowano również wpływ podaży diety suplementowanej 2% inuliną na obniżenie ekspresji łańcuchów ciężkich immunoglobulin klasy G w surowicy krwi prosiąt. Nie znajduje to jednak potwierdzenia na poziomie zmian stężenia całkowitego IgG w osoczu krwi u zwierząt żywionych dietą z dodatkiem 2% (**P-1, Tab. 2**) czy też 1% lub 3% natywnej inuliny (**P-2, Tab. 7**). Podobne wyniki zaobserwowano w przypadku 39-dniowych prosiąt, żywionych paszą z dodatkiem 1,5% inuliny (Taranu i in. 2012). Z kolei Grell i in. (2014) stosując dodatek 2% wodnego lub alkoholowego roztworu inuliny zaobserwowali statystycznie istotny wzrost koncentracji osoczowych IgG u 28- oraz 84-dniowych świń.

Ponadto, wykazano, że 2% dodatek natywnej inuliny do paszy rosnących prosiąt spowodował wzrost ekspresji dwóch apolipoprotein, a mianowicie A-I (apo A-I) oraz E (apo E), związanych funkcjonalnie z metabolizmem cholesterolu HDL. Apo A-I jest również aktywatorem acylotranferazy lecytyna-cholesterol (LCAT), enzymu biorącego udział w estryfikacji wolnego cholesterolu, co umożliwia jego transport w osoczu krwi oraz ogranicza jego akumulację i powstawanie zmian miażdżycowych w aorcie (Boisvert i in. 1999). Statystycznie istotna regulacja w górę apo A-I oraz apo E nie znalazła jednak odzwierciedlenia w podstawowych parametrach profilu lipidowego (cholesterol całkowity, frakcje cholesterolu związanego z HDL oraz LDL, trójglicerydy) osocza krwi prosiąt (**P-1, Tab. 2**).

Podsumowanie

Na podstawie uzyskanych wyników można wyciągnąć następujące stwierdzenia i wnioski:

1. Zastosowanie natywnej inuliny w ilości 1, 2 lub 3% mieszanki paszowej istotnie wpływa na zmiany profili białkowych śluzówki dystalnego odcinka jelita cienkiego, jelita grubego, wątroby oraz surowicy krwi rosnących prosiąt. W szczególności, suplementacja diety świń 3% inuliną wywiera najbardziej modyfikujący wpływ na proteom analizowanych tkanek.
2. Obserwowane zmiany poziomu ekspresji białek w komórkach nabłonkowych błony śluzowej jelita biodrowego wskazują, że 1% dodatek inuliny do paszy wpływa hamująco na ich aktywność

proliferyjną. Z kolei odmienny kierunek zmian ekspresji białek w dystalnym odcinku jelita cienkiego odnotowano stosując 3% dodatek inuliny. W oparciu o biologiczne funkcje pełnione przez te białka można stwierdzić, że 3% inulina wywiera stymulujący wpływ na proliferację komórek nabłonkowych śluzówki jelita biodrowego, a tym samym może przyczynić się do zwiększania jego powierzchni chłonnej. Przemawia za tym wzrost ekspresji białek wykazujących aktywność transkrypcyjną i translacyjną, białek odpowiedzialnych za proces fałdowania jak również tych zaangażowanych w przeprowadzanie ich potranslacyjnych modyfikacji, głównie glikozylacji **(P-3)**.

3. Największy wpływ obu diet eksperymentalnych na zmiany proteomu jelita grubego jest manifestowany na terenie śluzówki jelita ślepego oraz dystalnej części okrężnicy. Zarówno 1% jak i 3% dodatek inuliny do paszy indukuje wzrost ekspresji białek odpowiadających za organizację cytoszkieletu jak również tych zaangażowanych w kontrolę cyklu komórkowego czy proces biosyntezy białek, wskazując na zwiększoną proliferację komórek nabłonkowych jelita grubego **(P-4)**.
4. Zastosowanie w diecie 3% inuliny wpłynęło istotnie na wzrost ekspresji winkuliny w dystalnym odcinku okrężnicy. Białko to pełni kluczową funkcję w tworzeniu połączeń adhezyjnych typu komórka-komórka oraz komórka-macierz zewnątrzkomórkowa, przyczyniając się do utrzymania prawidłowej struktury oraz integralności błony śluzowej jelit. Ponadto, wykazano, że dodatek zarówno 1% jak i 3% inuliny do mieszanek paszowych indukuje wzrost ekspresji molekularnych chaperonów oraz foldaz, jak również zwiększa aktywność naturalnych, antyoksydacyjnych mechanizmów obronnych w dystalnym odcinku okrężnicy, o czym świadczyć może wzrost ekspresji szeregu białek o charakterze cytoprotekcyjnym **(P-4)**.
5. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na modulujący wpływ dodatku 1% lub 3% inuliny w diecie na zmiany ekspresji białek związanych z metabolizmem energetycznym w komórkach nabłonkowych wyściełających poszczególne części jelita grubego rosnących świń. W oparciu o biologiczne funkcje białek wykazujących zmienną ekspresję w analizowanych segmentach jelita grubego, można stwierdzić, że to metabolity bakteryjne, zwłaszcza kwas masłowy są podstawowym substratem energetycznym dla komórek błony śluzowej jelita ślepego oraz proksymalnej części okrężnicy, zaś glukoza wykorzystywana jest głównie przez komórki błony śluzowej dystalnej części okrężnicy **(P-4)**.
6. Nie odnotowano negatywnego wpływu suplementacji diet ze zróżnicowanym procentowym dodatkiem natywnej inuliny ekstrahowanej z cykorii (1%, 3%) na funkcje wątroby 50-dniowych

prosiąt. Świadczy o tym brak zmian w aktywności podstawowych osoczowych parametrów biochemicznych wchodzących w skład oznaczanego panelu wątrobowego (**P-2**).

7. Udział 3% inuliny w diecie rosnących prosiąt zwiększa depozycję triglicerydów oraz cholesterolu całkowitego w wątrobie i jednocześnie powoduje obniżenie osoczowej koncentracji cholesterolu całkowitego oraz jego frakcji HDL. Powyższe jest związane z uruchomieniem mechanizmów kompensujących w wątrobie, przejawiających się między innymi zwiększonym poziomem akumulacji mRNA oraz białek takich jak: CES1 oraz GPD1, które biorą bezpośredni udział w regulacji metabolizmu lipidów m.in. poprzez hydrolizę triglicerydów oraz estryfikację wolnych kwasów tłuszczowych (**P-2**).
8. Wykazano, że suplementacja mieszanek paszowych 1% lub 3% inuliną wpływa na poprawę statusu antyoksydacyjnego związanego z obniżeniem wartości TBARS w wątrobie (**P-2**) oraz PAB w osoczu krwi (**P-3**) rosnących prosiąt.
9. Dodatek do diety rosnących prosiąt 1, 2 lub 3% inuliny indukuje zmiany ekspresji szeregu białek wykazujących działanie przeciwzapalne w śluzówce jelita biodrowego (regulacja w dół AR, **P-3**), jelita ślepego (regulacja w górę PHB, **P-4**) oraz surowicy krwi (regulacja w górę VT, obniżona ekspresja wybranych białek układu dopełniacza, **P-1**).

Uzyskane wyniki wskazują jednoznacznie, że dodatek natywnej inuliny, naturalnego biopolimeru roślinnego, wywiera modyfikujący wpływ na zmiany proteomu wybranych tkanek rosnących prosiąt. Przy czym, najbardziej korzystny jej wpływ, przejawiający się istotnym wzrostem ekspresji białek związanych z proliferacją i różnicowaniem komórek nabłonkowych błony śluzowych jelita cienkiego oraz grubego, białek regulujących odpowiedź przeciwzapalną i antyoksydacyjną, jak również tych zaangażowanych w metabolizm lipidów, obserwowano głównie w grupie prosiąt żywionych dietą suplementowaną 3% inuliną. Przedstawione rezultaty stanowią ważne uzupełnienie dotychczasowej wiedzy o wpływie podaży inuliny na organizm zwierząt w okresie intensywnego wzrostu i rozwoju, jak również mogą być podstawą do dalszych, ukierunkowanych badań, dotyczących między innymi próby wyjaśnienia modulującego wpływu prebiotyków na czynność układu fibrynolitycznego.

Bibliografia

1. Bajzert J., Stefaniak T. 2015. Białka szoku cieplnego HSP60 i perspektywy ich wykorzystania jako antygenów szczepionkowych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 69, 1149-1168.
2. Barszcz M., Taciak M., Skomial J. 2018a. Influence of different inclusion levels and chain length of inulin on microbial ecology and the state of mucosal protective barrier in the large intestine of young pigs. *Animal Production Science*, 58, 1109-1118.
3. Barszcz M., Taciak M., Tuśnio A., Święch E., Bachanek I., Kowalczyk P., Borkowski A., Skomial J. 2018b. The effect of dietary level of two inulin types differing in chain length on biogenic amine concentration, oxidant-antioxidant balance and DNA repair in the colon of piglets. *PLoS ONE*, 13, e0202799.
4. Böhmer B.M., Branner G.R., Roth-Maier D.A. 2005. Precaecal and faecal digestibility of inulin (DP 10–12) or an inulin/*Enterococcus faecium* mix and effects on nutrient digestibility and microbial gut flora. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 89, 388-396.
5. Boisvert W.A., Black A.S., Curtiss L.K. 1999. ApoA1 reduces free cholesterol accumulation in atherosclerotic lesions of ApoE-deficient mice transplanted with ApoE-expressing macrophages. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 19, 525-530.
6. Bosscher D. 2009. Fructan prebiotics derived from inulin. W: Charalampopoulos D., Rastall R.A. (eds) *Prebiotics and probiotics science and technology*. Springer, New York, USA.
7. Bujak R., Sinkiewicz W., Błażejowski J., Budzyński J., Żekanowska E. 2002. Tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA) i jego inhibitor typu 1 (PAI-1) u chorych z ostrym zawałem serca. *Folia Cardiologica*, 9, 311-318.
8. Burrin D.G., Petersen Y., Stoll B., Sangild P. 2001. Glucagon-like peptide 2: a nutrient-responsive gut growth factor. *Journal of Nutrition*, 131, 709-712.
9. Burrin D.G., Stoll B., Guan X., Cui L., Chang X., Hadsell D. 2007. GLP-2 rapidly activates divergent intracellular signalling pathways involved in intestinal cell survival and proliferation in neonatal piglets. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 292, 281-291.
10. Candela M., Bergmann S., Vici M., Vitali B., Turrone S., Eikmanns B.J., Hammerschmidt S., Brigidi P. 2007. Binding of human plasminogen to *Bifidobacterium*. *Journal of Bacteriology*, 189, 5929-5936.
11. Canfora E.E., Jocken J.W., Blaak E.E. 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology*, 11, 577-591.
12. Cani P.D., Possemiers S., Van de Wiele T., Guiot Y., Everard A., Rottier O., Geurts L., Naslain D., Neyrinck A., Lambert D.M., Muccioli G.G., Delzenne N.M. 2009. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*, 58, 1091-103.
13. Comalada M., Bailón E., de Haro O., Lara-Villoslada F., Xaus J., Zarzuelo A., Gálvez J. 2006. The effects of short-chain fatty acids on colon epithelial proliferation and survival depend on the cellular phenotype. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 132, 487-497.
14. Crespo-Piazuelo D., Estellé J., Revilla M., Criado-Mesas L., Ramayo-Caldas Y., Óvilo C., Fernández A.I., Ballester M., Folch J.M. 2018. Characterization of bacterial microbiota compositions along the intestinal tract in pigs and their interactions and functions. *Scientific Reports*, 8, 12727.
15. Czajkowska A., Szopnar B. 2018. Krótkokłańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA) jako produkty metabolizmu bakterii jelitowych oraz ich znaczenie dla organizmu gospodarza. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 72, 131-142.
16. Darcy-Vrillon B., Cherbuy C., Morel M.T., Durand M., Duée P.H. 1996. Short chain fatty acid and glucose metabolism in isolated pig colonocytes: modulation by NH₄⁺. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 156, 145-151.
17. Darcy-Vrillon B., Cherbuy C., Morel M.T., Durand M., Duée P.H. 1996. Short chain fatty acid and glucose metabolism in isolated pig colonocytes: modulation by NH₄⁺. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 156, 145-151.
18. David J.C., Grongnet J.F., Lalles J.P. 2002. Weaning affects the expression of heat shock proteins in different regions of the gastrointestinal tract of piglets. *Journal of Nutrition* 132, 2551-2561.
19. den Besten G., Bleeker A., Gerding A., van Eunen K., Havinga R., van Dijk T.H., Oosterveer M.H., Jonker J.W., Groen A.K., Reijngoud D.J., Bakker B.M. 2015. Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a PPAR γ -dependent switch from lipogenesis to fat oxidation. *Diabetes*, 64, 2398-2408.
20. den Besten G., van Eunen K., Groen A.K., Venema K., Reijngoud D.J., Bakker B.M. 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*, 54, 2325-2340.
21. Diao H., Jiao A.R., Yu B., Mao X.B., Chen D.W. 2019 Gastric infusion of short-chain fatty acids can improve intestinal barrier function in weaned piglets. *Genes & Nutrition*, 14, 4.
22. FAO Technical Meeting on Prebiotics. 2007. Food Quality and Standards Service (AGNS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAO Technical meeting Report.

23. Fleischer J., Bumbalo R., Bautze V., Strotmann J., Breer H. 2015. Expression of odorant receptor Olfr78 in enteroendocrine cells of the colon. *Cell and Tissue Research*, 361, 697-710.
24. Furusawa Y., Obata Y., Fukuda S., Endo T.A., Nakato G., Takahashi D., Nakanishi Y., Uetake C., Kato K., Kato T., Takahashi M., Fukuda N.N., Murakami S., Miyauchi E., Hino S., Atarashi K., Onawa S., Fujimura Y., Lockett T., Clarke J.M., Topping D.L., Tomita M., Hori S., Ohara O., Morita T., Koseki H., Kikuchi J., Honda K., Hase K., Ohno H. 2013. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*, 504, 446-50.
25. Gallis J.L., Tissier P., Gin H., Beauvieux M.C. 2007. Decrease in oxidative phosphorylation yield in presence of butyrate in perfused liver isolated from fed rats. *BMC Physiology*, 7, 8.
26. Gibson G.R., Hutkins R., Sanders M.E., Prescott S.L., Reimer R.A., Salminen S.J., Scott K., Stanton C., Swanson K.S., Cani P.D., Verbeke K., Reid G. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14, 491-502.
27. Gibson G.R., Probert H.M., van Loo J., Rastall R.A., Roberfroid M.B. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17, 259-275.
28. Gibson G.R., Roberfroid M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
29. Goswami S., Thompson L.C., Wickman L., Peterson C.B. 2013. The cellular microenvironment modulates the role of PAI-1 and vitronectin in mediating cell-matrix interactions. *Advances in Biological Chemistry*, 3, 114-132.
30. Grela E.R., Sobolewska S., Kowalczyk-Vasilev E., Krasucki W. 2014. Effect of dietary inulin source on piglet performance, immunoglobulin concentration, and plasma lipid profile. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 58, 453-458.
31. Hagopian K., Ramsey J.J., Weindruch R. 2008. Enzymes of glycerol and glyceraldehyde metabolism in mouse liver: effects of caloric restriction and age on activities. *Bioscience Reports*, 28, 107-115.
32. Jakubiszyn E., Dziegiel P., Zabel M. 2006. System aktywacji plazminogenu w migracji komórek. *Postępy Biologii Komórki*, 33, 123-135.
33. Jensen B.B., Jørgensen H. 1994. Effect of dietary fiber on microbial activity and microbial gas production in various regions of the gastrointestinal tract of pigs. *Applied Environmental Microbiology*, 60, 1897-1904.
34. Jolliff J.S., Mahan D.C. 2015. Effect of dietary inulin and phytase on mineral digestibility and tissue retention in weanling and growing swine. *American Society of Animal Science*, 90, 3012-3022/
35. Kien C.L., Schmitz-Brown M., Solley T., Sun D., Frankel W.L., 2006. Increased colonic luminal synthesis of butyric acid is associated with lowered colonic cell proliferation in piglets. *Journal of Nutrition* 136, 64-69.
36. Kimura I., Inoue D., Maeda T., Hara T., Ichimura A., Miyauchi S., Kobayashi M., Hirasawa A., Tsujimoto G. 2011. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 8030-8035.
37. Konstantinov S.R., Awati A.A., Williams B.A., Miller B.G., Jones P., Stokes C.R., Akkermans A.D., Smidt H., de Vos W.M. 2006. Post-natal development of the porcine microbiota composition and activities. *Environmental Microbiology*, 8, 1191-1199.
38. Krick W., Dölle A., Hagos Y., Burckhardt G. 1998. Characterization of the chloride conductance in porcine renal brush-border membrane vesicles. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 435, 415-421.
39. Kuczyńska B., Wasilewska A., Biczysko M., Banasiewicz T., Drews M. 2011. Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe – mechanizmy działania, potencjalne zastosowania kliniczne oraz zalecenia dietetyczne. *Nowiny Lekarskie*, 4, 299-304.
40. Kulczyński B., Gramza-Michałowska A. 2016. Właściwości prozdrowotne fruktanów typu inuliny. *Medycyna Rodzinna*, 19, 86-90.
41. Lepczyński A., Herosimczyk A., Barszcz M., Ozgo M., Taciak M., Skomial J. 2016. Inulin-type fructans trigger changes in iron concentration and activity of bone metabolism biomarkers in blood plasma of growing pigs. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 25, 343-347.
42. Lepczyński A., Herosimczyk A., Barszcz M., Ozgo M., Michałek K., Grabowska M., Tuśnio A., Szczerbińska D., Skomial J. 2021. Diet supplemented either with dried chicory root or chicory inulin significantly influence kidney and liver mineral content and antioxidative capacity in growing pigs. *Animal*, 15, 100129.
43. Lepczyński A., Herosimczyk A., Ozgo M., Skomial J., Taciak M., Barszcz M., Bereżecka N. 2015. Dietary supplementation with dried chicory root triggers changes in the blood serum proteins engaged in the clotting process and the innate immune response in growing pigs. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 66, 47-55.
44. Lepczyński A., Herosimczyk A., Ozgo M., Marynowska M., Pawlikowska M., Barszcz M., Taciak M., Skomial J. 2017. Dietary chicory root and chicory inulin trigger changes in energetic metabolism, stress prevention and cytoskeletal

- proteins in the liver of growing pigs - a proteomic study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101, e225-e236.
45. Li C., Zhang G., Zhao L., Ma Z., Chen H. 2016. Metabolic reprogramming in cancer cells: glycolysis, glutaminolysis, and Bcl-2 proteins as novel therapeutic targets for cancer. *World Journal of Surgical Oncology*, 14, 15.
 46. Liu H., Wang J., He T., Becker S., Zhang G., Li D., Ma X. 2018. Butyrate: a double-edged sword for health? *Advances in Nutrition*, 9, 21-29.
 47. Loh G., Eberhard M., Brunner R.M., Hennig U., Kuhla S., Kleessen B., Metges C.C. 2006. Inulin alters the intestinal microbiota and short-chain fatty acid concentrations in growing pigs regardless of their basal diet. *Journal of Nutrition*, 136, 1198-1202.
 48. Niness K.R. 1999. Inulin and Oligofructose: What are they? *Journal of Nutrition*, 129, 1402S-1406S.
 49. Parada Venegas D., De la Fuente M.K., Landskron G., González M.J., Quera R., Dijkstra G., Harmsen H.J.M., Faber K.N., Hermoso M.A. 2019. Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Immunology*, 10, 277.
 50. Parnell J.A., Reimer R.A. 2010. Effect of prebiotic fibre supplementation on hepatic gene expression and serum lipids: a dose-response study in JCR:LA-cp rats. *British Journal of Nutrition*, 103, 1577-1584.
 51. Pasqualetti V., Altomare A., Guarino MP, Locato V, Cocca S, Cimini S, Palma R, Alloni R, De Gara L, Cicala M. 2014. Antioxidant activity of inulin and its role in the prevention of human colonic muscle cell impairment induced by lipopolysaccharide mucosal exposure. *PLoS One*, 9, e98031.
 52. Pasqualetti V., Altomare A., Guarino M.P., Locato V., Cocca S., Cimini S., Palma R., Alloni R., De Gara L., Cicala M. 2014. Antioxidant activity of inulin and its role in the prevention of human colonic muscle cell impairment induced by lipopolysaccharide mucosal exposure. *PLoS One*, 9, e98031.
 53. Paßlack N., Al-samman M., Vahjen W., Männer K., Zentek J. 2012. Chain length of inulin affects its degradation and the microbiota in the gastrointestinal tract of weaned piglets after a short-term dietary application. *Livestock Science*, 149, 128-136.
 54. Patterson J.K., Yasuda K., Welch R.M., Miller D.D., Lei X.G. 2010. Supplemental dietary inulin of variable chain lengths alters intestinal bacterial populations in young pigs. *Journal of Nutrition*, 140, 2158-2161.
 55. Popielarski M., Ponamarczuk H., Sobierajska K., Świątkowska M. 2014. Rola izomerazy disiarczkowej w aktywacji integryn. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 68, 666-683.
 56. Priyadarshini M., Kotlo K.U., Dudeja P.K., Layden B.T. 2018. Role of short chain fatty acid receptors in intestinal physiology and pathophysiology. *Comprehensive Physiology*, 8, 1091-1115.
 57. Rizvi W., Fayazuddin M., Shariq S., Singh O., Moin S., Akhtar K., Kumar A. 2014. Anti-inflammatory activity of roots of *Cichorium intybus* due to its inhibitory effect on various cytokines and antioxidant activity. *Ancient Science of Life*, 34, 44-49.
 58. Sanders L.M., Henderson C.E., Hong M.Y., Barhoumi R., Burghardt R.C., Carroll R.J., Turner N.D., Chapkin R.S., Lupton J.R. 2004. Pro-oxidant environment of the colon compared to the small intestine may contribute to greater cancer susceptibility. *Cancer Letters*, 208, 155-161.
 59. Sarnowska E., Leszczyński M., Macech-Klicka E., Stachowiak M., Siedlecki J.A. 2016. Zaburzenia metabolizmu i funkcji enzymów metabolicznych a proces nowotworzenia. *Nowotwory Journal of Oncology*, 66, 151-159.
 60. Scholz-Ahrens K.E., Schrezenmeir J. 2007. Inulin and oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animal trials. *Journal of Nutrition*, 137(11 Suppl), 2513S-2523S.
 61. Seweryn E., Pietkiewicz J., Szamborska A., Gamian A. 2007. Enolaza na powierzchni komórek eukariota i prokariota jako receptor plazminogenu ludzkiego. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 61, 672-682.
 62. Shimizu H., Masujima Y., Ushiroda C., Mizushima R., Taira S., Ohue-Kitano R., Kimura I. 2019. Dietary short-chain fatty acid intake improves the hepatic metabolic condition via FFAR3. *Scientific Reports*, 9, 16574.
 63. Singh B., Su Y.C., Riesbeck K. 2010. Vitronectin in bacterial pathogenesis: a host protein used in complement escape and cellular invasion. *Molecular Microbiology*, 78, 545-560.
 64. Srivastava S.K., Yadav U.C., Reddy A.B., Saxena A., Tammali R., Shoeb M., Ansari N.H., Bhatnagar A., Petrash M.J., Srivastava S., Ramana K.V. 2011. Aldose reductase inhibition suppresses oxidative stress-induced inflammatory disorders. *Chemico-Biological Interactions*, 191, 330-338.
 65. Świątkiewicz S., Świątkiewicz M. 2008. Zastosowanie fruktanów o właściwościach prebiotycznych w żywieniu zwierząt gospodarskich. *Medycyna Weterynaryjna*, 64, 987-990.
 66. Tammali R., Reddy A.B., Saxena A., Rychahou P.G., Evers B.M., Qiu S., Awasthi S., Ramana K.V., Srivastava S.K. 2011. Inhibition of aldose reductase prevents colon cancer metastasis. *Carcinogenesis*, 32, 1259-1267.
 67. Tappenden K.A., Albin D.M., Bartholome A.L., Mangian H.F. 2003. Glucagon-like peptide-2 and short-chain fatty acids: a new twist to an old story. *Journal of Nutrition*, 133, 3717-3720.

68. Taranu I., Marin D.E., Untea A., Janczyk P., Motiu M., Criste R.D., Souffrant W.B. 2012. Effect of dietary natural supplements on immune response and mineral bioavailability in piglets after weaning. *Czech Journal of Animal Sciences*, 57, 332-343.
69. Theiss A.L., Vijay-Kumar M., Obertone T.S., Jones D.P., Hansen J.M., Gewirtz A.T., Merlin D., Sitaraman S.V. 2009. Prohibitin is a novel regulator of antioxidant response that attenuates colonic inflammation in mice. *Gastroenterology*, 137, 199-208.
70. Tsukahara T., Iwasaki Y., Nakayama K., Ushida K. 2003. Stimulation of butyrate production in the large intestine of weaning piglets by dietary fructooligosaccharides and its influence on the histological variables of the large intestinal mucosa. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 49, 414-421.
71. Van Hove J.L., Saenz M.S., Thomas J.A., Gallagher R.C., Lovell M.A., Fenton L.Z., Shanske S., Myers S.M., Wanders R.J., Ruiten J., Turkenburg M., Waterham H.R. 2010. Succinyl-CoA ligase deficiency: a mitochondrial hepatoencephalomyopathy. *Pediatric Research*, 68, 159-164.
72. Wang C., Chen Z., Li S., Zhang Y., Jia S., Li J., Chi Y., Miao Y., Guan Y., Yang J. 2014. Hepatic overexpression of ATP synthase β subunit activates PI3K/Akt pathway to ameliorate hyperglycemia of diabetic mice. *Diabetes*, 63, 947-959.
73. Winnicka A. 2021. Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. Wydawnictwo SGGW. ISBN: 9788375839845.
74. Xu J., Li Y., Chen W.D., Xu Y., Yin L., Ge X., Jadhav K., Adorini L., Zhang Y. 2014. Hepatic carboxylesterase 1 is essential for both normal and farnesoid X receptor-controlled lipid homeostasis. *Hepatology*, 59, 1761-1771.
75. Yasar Yildiz S., Kuru P., Toksoy Oner E., Agirbasli M. 2014. Functional stability of plasminogen activator inhibitor-1. *Scientific World Journal*, 2014, 858293.
76. Yasuda K., Dawson H.D., Wasmuth E.V., Roneker C.A., Chen C., Urban J.F., Welch R.M., Miller D.D., Lei X.G. 2009. Supplemental dietary inulin influences expression of iron and inflammation related genes in young pigs. *Journal of Nutrition*, 139, 2018-2023.
77. Yasuda K., Maiorano R., Welch R.M., Miller D.D., Lei X.G. 2007. Cecum is the major degradation site of ingested inulin in young pigs. *Journal of Nutrition*, 137, 2399-2404.
78. Yu C., Jia G., Jiang Y., Deng Q., Chen Z., Xu Z., Chen X., Wang K. 2014. Effect of glucagon-like peptide 2 on tight junction in jejunal epithelium of weaned pigs through MAPK signalling pathway. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27, 733-742.
79. Zhang Y., Chen H., Zhu W., Yu K. 2019. Cecal infusion of sodium propionate promotes intestinal development and jejunal barrier function in growing pigs. *Animals*, 9, 284.

V. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

Przed uzyskaniem stopnia doktora

W okresie trwania studiów magisterskich, uzyskałam możliwość odbycia dwóch staży naukowych w Narodowym Instytucie Badań Agronomicznych (INRA) w Saint-Genès-Champagnelle we Francji (**Zał. 9a, 9b, 9d**). Efektem tych pobytów była realizacja badań wchodzących w zakres mojej pracy magisterskiej zatytułowanej „Proteomowa analiza ekspresji białek osocza po spożyciu tłuszczu” oraz opublikowanie pierwszego artykułu o charakterze przeglądowym (**Zał. 4, 1.2.5**) dotyczącego charakterystyki dostępnych narzędzi proteomicznych i ich potencjalnego zastosowania w analizie składu białkowego osocza krwi.

Pracę naukową w ramach studiów doktoranckich rozpoczęłam w Katedrze Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki (lata 2005-2010). W roku 2006 odbyłam kolejny, dwumiesięczny staż naukowy w Narodowym Instytucie Badań Agronomicznych (INRA) we Francji w ramach stypendium Rządu Francuskiego (**Zał. 9c, 9d**), w trakcie którego doskonalłam swój warsztat laboratoryjny, prowadząc analizy z wykorzystaniem elektroforezy dwukierunkowej. Powyższe zainteresowania technikami proteomicznymi, a szczególnie możliwość ich implementacji w celu poznania i lepszego zrozumienia czynności nerek znalazły swoje odzwierciedlenie w kolejnej, współautorskiej pracy przeglądowej (**Zał. 4, 1.4.2**).

W latach 2008-2009 byłam głównym wykonawcą projektu badawczego (grant promotorski, nr N N311 318836, **Zał. 4, 5.3**) finansowanego ze środków MNiSW, dotyczącego zmian proteomu osocza krwi cieląt w pierwszym tygodniu życia. Ponadto, w roku 2008 uzyskałam stypendium w ramach projektu „Inwestycja w wiedzę motorem rozwoju innowacyjności w regionie” współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego i Budżetu Państwa Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki 2007-2013 (**Zał. 8**). Jednocześnie uczestniczyłam w realizacji prac doświadczalnych prowadzonych w Katedrze Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki, związanych głównie z wybranymi aspektami fizjologii okresu neonatalnego zwierząt gospodarskich. W tym czasie powstały 2 oryginalne prace, w tym jedna opublikowana w czasopiśmie z listy JCR, w której dokonano analizy frakcji białek niskocząsteczkowych wydalonych wraz z moczem u koźląt w pierwszym miesiącu ich życia (**Zał. 4, 1.1.33**). Natomiast w kolejnej pracy dokonano analizy zmian koncentracji miedzi w osoczu krwi koźląt w pierwszym miesiącu życia. Wyniki tych badań wykazały, że najbardziej dynamiczne zmiany w zakresie stężenia tego pierwiastka zachodzą głównie w pierwszych 10 dniach życia (**Zał. 4, 1.3.4**). Byłam także autorką oraz współautorką 4 doniesień konferencyjnych, w tym 3 o zasięgu międzynarodowym (**Zał. 4, 2.29-2.32**) oraz współautorką rozdziału w monografii naukowej (**Zał. 4, 3.1**). W roku 2010 obroniłam z wyróżnieniem pracę doktorską zatytułowaną „Zmiany proteomu osocza krwi cieląt w pierwszym tygodniu życia”.

Po uzyskaniu stopnia doktora

Po obronie pracy doktorskiej, w roku 2011 zostałam zatrudniona w Katedrze Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki, początkowo na etacie pracownika naukowo-dydaktycznego, a następnie aż do roku 2014 na etacie adiunkta naukowego. Od roku 2014 aż do chwili obecnej pozostaję zatrudniona na etacie naukowo-dydaktycznym.

Moja dotychczasowa aktywność naukowo-badawcza i publikacyjna, poza tematyką omówioną w cyklu artykułów składających się na osiągnięcie naukowe, obejmuje następujące zagadnienia:

1. Wybrane aspekty fizjologii okresu neonatalnego cieląt.
2. Proteomika jako nowoczesne narzędzie umożliwiające określanie składu białkowego płynów ustrojowych oraz wybranych tkanek zwierząt hodowlanych.
3. Prebiotyki i synbiotyki jako aktywne modyfikatory ekspresji genów oraz białek w narządach, tkankach i płynach ustrojowych zwierząt gospodarskich.
4. Wpływ diety wysokotłuszczowej na organizm człowieka i zwierząt doświadczalnych.
5. Proteomika i jej zastosowanie w poszukiwaniu wskaźników białkowych charakterystycznych dla wybranych procesów patofizjologicznych u zwierząt hodowlanych, laboratoryjnych oraz u człowieka.
6. Molekularne aspekty przedimplantacyjnego okresu ciąży u myszy.

ad. 1. Wybrane aspekty fizjologii okresu neonatalnego cieląt

Publikacje naukowe wpisujące się w niniejszy nurt badawczy są wynikiem realizacji dwóch projektów finansowanych ze środków MNiSW (grant promotorski, nr N N311 318836, **Zał. 4, 5.3**; grant własny, N N311 016239, **Zał. 4, 5.2**).

Wśród prac wchodzących w tę tematykę należy wymienić pięć artykułów dotyczących oceny wpływu żywienia siarą i mlekiem matek (**Zał. 4, 1.1.26, 1.2.4**) lub preparatem mlekozastępczym na zmiany proteomu osocza krwi (**Zał. 4, 1.1.19**) oraz podstawowych wskaźników biochemicznych (**Zał. 4, 1.1.30, 1.1.32**) u cieląt w pierwszych dwóch tygodniach życia. Wykazano, że w kolejnych godzinach pierwszego tygodnia życia cieląt, zachodzą intensywne przemiany o charakterze nie tylko anabolicznym, ale również katabolicznym. Wskazują na to zarówno zmiany ekspresji białek jak i zmiany koncentracji organicznych składników osocza krwi. Procesy te, szczególnie nasilone w pierwszych 24-48 godzinach życia, mogą wskazywać na intensywną przebudowę tkanek, w tym uszczelnianie bariery jelitowej dla makrocząsteczek. Wyniki niniejszych badań dowodzą, że pierwsze pobranie siary jest istotnym czynnikiem zwiększającym intensywność przemian metabolicznych, zwłaszcza lipidowych. Wzrost ekspresji białek, uczestniczących w regulacji tych procesów w czasie rozwoju postnatalnego, wskazuje na ich aktywne uczestnictwo w utrzymywaniu równowagi metabolicznej noworodka. Obecność białek

ostrej fazy, stanowiących większość zidentyfikowanych białek na żelach 2-D, może wskazywać na pourodzeniową aktywację mechanizmów rekompensujących, niedojrzały funkcjonalnie, układ immunologiczny cieląt. Ponadto, wykazano, że organizm zdrowych cieląt noworodków sprawnie reguluje homeostazę wodno-elektrolitową. Na podstawie uzyskanych rezultatów należy sądzić, że zwiększające się z wiekiem wchłanianie jelitowe składników mineralnych stanowi istotne ogniwo regulacji bilansu makro- i mikroelementów.

Z kolei podaż cielętom preparatu mlekozastępczego, w drugim tygodniu życia, spowodowała obniżenie ekspresji apo A-IV oraz koncentracji podstawowych parametrów lipidowych w porównaniu z grupą zwierząt żywionych mlekiem matek, co wskazuje na zmiany jakościowe tłuszczu w diecie. Ponadto, w grupie cieląt żywionych preparatem mlekozastępczym odnotowano niższą koncentrację białka ogólnego oraz albuminy w osoczu krwi. Otrzymane wyniki świadczą o znacznie niższej strawności białka zawartego w preparacie w porównaniu z mlekiem matek.

Kolejne prace skierowane były na określenie adaptacyjnych zmian czynności nerek u cieląt w pierwszym tygodniu życia i dotyczyły analizy wielkości ładunku przesączonego, resorpcji kanalikowej oraz wydalania chlorków (**Zał. 4, 1.3.2**) oraz potasu wraz z moczem (**Zał. 4, 1.1.31**) oraz wybranych parametrów osocza krwi (**Zał. 4, 1.3.3**). W efekcie przeprowadzonych badań stwierdzono, że nerki cieląt wykazują dużą sprawność w zakresie regulacji równowagi elektrolitowej krwi w okresie neonatalnym. Ponadto, wykazano, że decydującym mechanizmem warunkującym wydalanie chlorków oraz potasu z moczem są zmiany wielkości resorpcji tych elektrolitów w kanalikach nerkowych, a nie zmiany wielkości ich ładunku przesączonego. Dowiedziono również, że istotnym zmianom ulega zarówno koncentracja, jak i procentowy udział albumin oraz białek o masach cząsteczkowych wyższych i niższych od albumin w osoczu krwi cieląt w pierwszym tygodniu życia. Wydaje się, że obserwowane zmiany są zależne przede wszystkim od składu jakościowego pobieranego pokarmu (siara oraz mleko), ale także od sprawności wchłaniania jelitowego, natężenia metabolizmu i usuwania białek drogą nerkową.

Ponadto, w omawiany zakres osiągnięć naukowych wpisuje się jedna praca o charakterze przeglądowym (**Zał. 4, 1.2.4**) oraz dwie oryginalne publikacje (**Zał. 4, 1.1.15, 1.1.16**), w których przedstawiono wyniki badań dotyczących określenia wpływu występowania biegunki osmotycznej, spowodowanej przekroczeniem udziału laktozy w preparacie mlekozastępczym, na zmiany proteomu osocza krwi oraz moczu cieląt w drugim tygodniu życia. Analizy proteomiczne wykazały, że krótkotrwała podaż nadmiaru laktozy w diecie zaindukowała istotny wzrost ekspresji białek ostrej fazy w osoczu krwi (fibrynogen, alfa-1-b glikoproteina oraz alfa-1 antytrypsyna) oraz w moczu cieląt (serotransferyna, alfa-1-b glikoproteina), wskazując tym samym na występowanie stresu wywołanego nieprawidłowościami we wchłanianiu wody i podrażnieniem przewodu pokarmowego. Ponadto, wystąpienie biegunki osmotycznej spowodowało zaburzenia wchłaniania tłuszczów na ternie jelit, czego odzwierciedleniem była regulacja

w górę osoczowych białek zaangażowanych w metabolizm lipidów – apo A-IV oraz apo E. W moczu cieląt, pochodzących z grupy eksperymentalnej, wykazano również obniżoną ekspresję białka wiążącego hormony płciowe oraz cytochromu P450 2E1 z jednoczesną regulacją w górę syntazy cytrynianowej ATP.

Kolejna publikacja dotyczyła immunohistochemicznej lokalizacji akwaporyny 2 (AQP2), białka pełniącego istotną funkcję w regulacji wydalania wody, w nerkach 7-miesięcznych cieląt (**Zał. 4, 1.1.25**). Przeprowadzone analizy wykazały obecność AQP2 w komórkach nabłonka sześciennego kanalików zbiorczych w promieniach rdzennych kory oraz warstwie rdzennej nerek cieląt. Na szczególną uwagę zasługuje fakt występowania silniejszego wybarwienia AQP2 w błonie podstawnej komórek kanalików zbiorczych, wskazując tym samym na znacznie większy udział tego białka w transporcie wody z komórek głównych do przestrzeni okołokanalikowej u cieląt w porównaniu do innych gatunków zwierząt oraz ludzi.

ad. 2. Proteomika jako nowoczesne narzędzie umożliwiające określanie składu białkowego płynów ustrojowych oraz wybranych tkanek zwierząt hodowlanych

Ważnym zakresem tematycznym mojej pracy badawczej była implementacja narzędzi proteomicznych tj. połączenia elektroforezy jedno- i dwukierunkowej (1-DE, 2-DE) wraz ze spektrometrią mas typu MALDI-TOF, MALDI-TOF-TOF-MS/MS oraz chromatografii cieczowej połączonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) w celu globalnej charakterystyki składu białkowego wybranych tkanek oraz płynów ustrojowych zwierząt gospodarskich. Dwie publikacje z zakresu omawianego osiągnięcia naukowo-badawczego dotyczyły dopracowywania metodyki pozwalającej na efektywne usunięcie z surowicy krwi prosiąt oraz cieląt frakcji białek wysokokopijnych z wykorzystaniem heksapeptydowych bibliotek kombinatorycznych, celem zwiększenia rozdzielczości pozostałych białek na żelach 2-D (**Zał. 4, 1.1.23**) oraz ich późniejszej detekcji przy użyciu barwników kolorymetrycznych (**Zał. 4, 1.3.1**). Jest to szczególnie istotne, bowiem to białka średnio- i niskokopijne uznawane są za czynniki regulacyjne, które w głównej mierze decydują o przebiegu szeregu procesów fizjologicznych oraz patofizjologicznych i to one tak naprawdę leżą w obszarze zainteresowań badań proteomicznych.

Kolejna praca wpisująca się w tę tematykę skierowana była na utworzenie profilu białkowego osocza krwi cieląt w 7 dniu życia (**Zał. 4, 1.1.29**). Białka osocza krwi zostały rozdzielone metodą 2-DE w zakresie pH 4-7 oraz mas cząsteczkowych pomiędzy 20 a 250 kDa. Wśród 79 zidentyfikowanych spotów białkowych, znajdowały się białka związane z procesem krzepnięcia krwi (łańcuch alfa fibrynogenu, prekursor łańcucha gamma-B fibrynogenu, czynnik von Willebranda), metabolizmem i/lub transportem lipidów (apo A-I, apo A-IV, apo E), białka układu dopełniacza (prekursor subkomponentu C1s, prekursor podjednostki B subkomponentu C1q), białka wiążące oraz transportujące (albumina, serotransferyna, białko wiążące witaminę D, gelsolina), inhibitory proteaz (prekursor alfa-1-antyproteinazy), białka

strukturalne (aktywa cytoplazmatyczna 1, łańcuch alfa-3 tropomiozyny, łańcuch alfa-4 tropomiozyny, łańcuch beta-1 tubuliny) oraz inne białka takie jak: prekursor klusteryny, białko 78 kDa regulowane glukozą oraz serynowo/treoninowa kinaza białkowa 38. Ta sama technika badawcza została zastosowana w celu opracowania dwuwymiarowej mapy białkowej odzwierciedlającej charakterystyczną dystrybucję białek surowicy krwi, zdrowych, 50-dniowych prosiąt (**Zał. 4, 1.1.21**). W efekcie przeprowadzonych badań zidentyfikowano 105 spotów białkowych, reprezentujących 37 różnych produktów ekspresji genów. Na uwagę zasługuje fakt, że w niniejszej pracy zidentyfikowano 12 białek, których obecność nie została wcześniej potwierdzona w surowicy lub osoczu krwi prosiąt z wykorzystaniem narzędzi proteomicznych. Wśród nich możemy wyróżnić: czynnik H układu dopełniacza, prekursor subkomponentu C1s, komponent C3d, izoformę X1 molekuly CD5, izoformę X2 łańcucha alfa białka wiążącego C4b, łańcuch beta białka wiążącego C4b, properdynę, antygen CD14, izoformę X1 antytrombiny-III, fikolinę-2 oraz apolipoproteinę C-II. Z kolei, badania skierowane na utworzenie mapy osocza krwi koni półkwi Arabskiej pozwoliły na wyodrębnienie 22 białek, które wcześniej nie zostały zidentyfikowane na mapach 2-D (**Zał. 4, 1.1.11**). Przyporządkowano je do następujących procesów biologicznych: białka związane z procesem krzepnięcia krwi (łańcuch alfa oraz beta fibrynogenu, łańcuch B czynnika krzepnięcia XIII, kofaktor 2 heparyny, białko C zależne od witaminy K), białka układu dopełniacza (subkomponent C1r, subkomponent C1s, łańcuch alfa białka wiążącego C4b), białka zaangażowane w mechanizmy wrodzonej odporności humoralnej (fikolina 1, antygen CD5, białko podobne do apolipoproteiny r), białka związane z metabolizmem lipidów oraz ochroną antyoksydacyjną (apo E, fosfolipaza D1 specyficzna dla glikanów fosfatydyloinozytolu, surowicza paraoksynaza/arylesteraza 1, białko podobne do karboksylesterazy wątrobowej, prekursor peroksydazy glutationowej 3), białka związane z organizacją cytoszkieletu (aktywa cytoplazmatyczna 1, łańcuch alfa-4 tropomiozyny, łańcuch alfa-1A tubuliny), adhezją komórkową (cingulina, fibulina-1) oraz syntezą białek (39S mitochondrialne białko L17).

Proteomiczna analiza moczu 6-dniowych cieląt w oparciu o łączone techniki 2-DE z MALDI-TOF-TOF-MS/MS oraz 1-DE z LC-MS/MS pozwoliła na identyfikację 692 produktów ekspresji genów (**Zał. 4, 1.1.5**). Wśród nich obserwowano obecność unikatowych białek związanych z rozwojem embrionalnym (ameloblastyna, alfa-fetoproteina, białko delta, homolog indyjski białka hedgog, wariant transkrypcyjny fibronektyny 1 embrionalnej), białek zaangażowanych w rozwój funkcjonalny nerek (kalbindyna, glipikan 3, nidogen 1, pro-katepsyna H) oraz białek biorących udział w nerkowej regulacji bilansu wodno-elektrolitowego (enzym konwertujący angiotensynę, angiotensynogen, AQP-1, ezryna, uromodulina).

Ponadto, w omawiany zakres osiągnięć naukowych wpisuje się praca dotycząca charakterystyki proteomu wątroby rosnących świń (**Zał. 4, 1.1.8**). W tym celu białka rozdzielono z użyciem elektroforezy 2-D, w zakresie pH 4-7 oraz mas cząsteczkowych mieszczących się pomiędzy 15 a 250 kDa. Wśród 265

zidentyfikowanych spotów białkowych, znajdowały się białka związane z metabolizmem węglowodanów, w tym w proces glikolizy i glukoneogenezy (izofорма X1 alfa enolazy, mitochondrialna dehydrogenaza aldehydowa, dehydrogenaza 4-trimetyloamoniobutyraldehydowa, izofорма X1 galaktokinazy, izofорма X1 ketoheksokinazy), białka zaangażowane w metabolizm lipidów, w tym w syntezę i degradację kwasów tłuszczowych (dehydrogenaza acylo-CoA średniołańcuchowych oraz krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, dehydrogenaza acylo-CoA krótkołańcuchowych, rozgałęzionych kwasów tłuszczowych, mitochondrialny łańcuch alfa karboksylazy propionilo-CoA), metabolizm cholesterolu (apo A-I, kinaza mewalonianowa) oraz kwasów żółciowych (dehydrogenaza-4 3-oksy-5 beta-steroidowa, N-acylotransferaza kwas żółciowy-CoA: aminokwas). Ponadto, wykazano obecność białek biorących udział w metabolizmie aminokwasów tj. arginininy oraz proliny (agmatynaza mitochondrialna, dehydrogenaza 4-trimetyloamoniobutyraldehydowa, arginaza-1, mitochondrialna amidinotransferaza glicyny, aminopeptydaza cytozolowa), glicyny, seryny i treoniny (S-metylotransferaza betaina-homocysteina, dehydrataza serynowa), alaniny, asparagianinu i glutaminianu (dehydrogenaza 1 glutaminianu, syntetaza glutaminianu). Zidentyfikowano również białka zaangażowane w biodegradację oraz metabolizm leków oraz ksenobiotyków (beta-ureidopropionaza, S-metylotransferaza tiopuryny, N-metylotransferaza indoletylaminy, fosforybozylotransferaza hipoksantynowo-guaninowa, metylotransferaza arsenowa, esteraza wątrobowa).

Inna praca z tego zakresu tematycznego dotyczyła utworzenia map 2-D odzwierciedlających profil białkowy kory nerek 9-miesięcznych lisów polarnych (**Zał. 4, 1.1.24**). Przeprowadzone analizy proteomiczne pozwoliły na identyfikację 16 białek, które zostały skategoryzowane zgodnie z pełnionymi przez nie funkcjami biologicznymi na zaangażowane w: metabolizm lipidów (apo A-I, aminotransferaza 4-aminomasłowa, podjednostka beta enzymu tryfunkcyjnego), metabolizm aminokwasów (dehydrogenaza 1 glutaminianu, dehydrogenaza delta-1-pyrolino-5-karboksylanowa), metabolizm energetyczny (podjednostka beta syntazy ATP, dehydrogenaza alkoholowa, hydrataza akonitanowa) oraz wiązanie i transport (albumina surowicza, białko wiążące retinol).

Kolejna grupa artykułów wpisująca się w niniejszy nurt badawczy dotyczyła charakterystyki proteomu osocza krwi (**Zał. 4, 1.1.27**), mięśnia sercowego oraz osierdzia (**Zał. 4, 1.1.17**) jak również nerek (**Zał. 4, 1.1.18**) suma afrykańskiego, który jest uznanym gatunkiem ryb w polskim przemyśle rybnym ze względu na niskie wymagania środowiskowe i łatwość w osiągnięciu dobrych efektów tuczu. W rezultacie przeprowadzonych analiz z wykorzystaniem elektroforezy 2-DE otrzymano mapy białkowe w/w tkanek w zakresie mas cząsteczkowych występujących pomiędzy 15 a 150 kDa oraz zakresie pH 3-10 (serce, osierdzie, osocze krwi), 4-7 (nerka). Białka, charakterystyczne dla badanego medium zostały zidentyfikowane jako homologi innych gatunków ryb m.in. Danio prądkowanego, co wskazuje na bardzo ubogi zakres informacji dostępny w bazach danych dla suma afrykańskiego w czasie przygotowywania

niniejszych prac. Uzyskane mapy umożliwią różnicowanie profili białkowych w badaniach skierowanych na charakterystykę zmian zachodzących pod wpływem procesów patologicznych czy też działania innego czynnika doświadczalnego (np. czynnika żywieniowego). Narzędzia proteomiczne mogą zatem stanowić wsparcie diagnostyczne i prognostyczne umożliwiające poszukiwanie nowych wskaźników białkowych wskazujących na wartość użytkową ryb, co zostało szeroko ujęte w pracy przeglądowej (**Zał. 4, 1.2.2**).

ad. 3. Prebiotyki i synbiotyki jako aktywne modyfikatory ekspresji genów oraz białek w narządach, tkankach i płynach ustrojowych zwierząt gospodarskich

Istotnym etapem w mojej pracy naukowej było podjęcie badań dotyczących wykorzystania substancji o działaniu prebiotycznym w żywieniu rosnących prosiąt. Publikacje wpisujące się w niniejszy nurt badawczy są wynikiem realizacji projektu finansowanego ze środków NCN („SONATA”, nr 2012/05/D/NZ9/01604, **Zał. 7**). Głównym celem niniejszego doświadczenia było określenie wpływu dodatku do mieszanek paszowych 4% suszu z korzenia cykorii lub 2% natywnej inuliny ekstrahowanej z korzenia cykorii na proteom surowicy krwi, błony śluzowej jelita krętego, wątroby oraz kory i rdzenia nerek, a także na zmiany podstawowych wskaźników biochemicznych osocza krwi, wątroby oraz nerek 50-dniowych prosiąt (**Zał. 4, 1.1.3, 1.1.9, 1.1.10, 1.1.12, 1.1.13, 1.1.14, 1.1.20**). W efekcie przeprowadzonych badań stwierdzono, że susz z korzenia cykorii powoduje wzrost ekspresji białek zaangażowanych w ochronę przed stresem oksydacyjnym w wątrobie (peroksyredoksyna 5 oraz 6, dysmutaza ponadtlenkowa 1, białko 1 wiążące selen) oraz w błonie śluzowej jelita krętego (aneksyna A2), jak również powoduje istotną regulację w dół białek surowicznych związanych z odpowiedzią ostrej fazy (białko C-reaktywne, białko wiążące komponent dopełniacza C4, składnik dopełniacza C6 oraz antygen CD14), wskazując tym samym na antyoksydacyjny i przeciwzapalny potencjał tego suplementu diety. Ponadto, wykazano, że dodatek suszu z cykorii do mieszanek paszowych wpływa na poprawę statusu antyoksydacyjnego związanego z obniżeniem wartości TBARS w wątrobie oraz PAB w osoczu krwi i wątrobie młodych zwierząt. W niniejszych doświadczeniach dowiedziono również, że poprzez wpływ na ekspresję szeregu białek związanych z funkcjonalną dojrzałością oraz integralnością nabłonka jelita krętego (keratyna 20, jądrowy antygen komórek proliferujących, aneksyna A2, białko 3 związane z aktyną) susz z cykorii ma istotne znaczenie w utrzymaniu szczelności bariery jelitowej. Przy stosowaniu suplementacji mieszanek paszowych 2% inuliną lub 4% suszem z cykorii odnotowano istotne obniżenie ekspresji transferyny (Tf) w rdzeniu nerek 50-dniowych prosiąt. Główną funkcją pełnioną przez Tf jest transport jonów żelaza w krążeniu ogólnym i dostarczanie go do wnętrza komórek za pośrednictwem receptora dla transferyny. Biorąc pod uwagę fakt, że w warunkach niedoboru żelaza obserwuje się wzrost stężenia tego białka, uzyskane w doświadczeniu wyniki wskazują, że obie substancje prebiotyczne przyczyniły się do

zwiększenia biodostępności żelaza. Przemawia za tym również wzrost koncentracji żelaza, obserwowany w osoczu krwi suplementowanych zwierząt. Co więcej, podaż obu diet eksperymentalnych wpłynęła istotnie na zmiany koncentracji sodu, potasu, wapnia, cynku, seleniu oraz kadmu w wątrobie oraz nerkach prosiąt. Na szczególną uwagę zasługuje wzrost depozycji seleniu oraz sodu w obu analizowanych narządach. Selen, poza silnym działaniem antyoksydacyjnym oraz immunomodulacyjnym, w sposób pośredni chroni organizm przed toksycznym działaniem metali ciężkich tworząc z nimi trwałe kompleksy. Powstałe na tej drodze selenki metali ciężkich cechują się niską rozpuszczalnością, przez co zostają wyłączone z dalszych przemian biochemicznych i zostają wydalone z organizmu. Powyższe znajduje potwierdzenie w wynikach naszych badań, wskazujących na wzrost koncentracji Se przy jednoczesnym obniżaniu się poziomu Cd. Efekt ten jest szczególnie dostrzegalny w grupie prosiąt żywionych dietą suplementowaną suszem z cykorii. Wykazany w naszych poprzednich badaniach wpływ fruktanów typu inulinowego na zwiększoną depozycję wybranych makro- i mikroelementów w nerkach wywiera również pośredni efekt przejawiający się ingerencją w mechanizmy regulacji gospodarki wodno-elektrolitowej. Potwierdzeniem tego są rezultaty eksperymentu dotyczącego oceny wpływu suplementacji mieszanek paszowych 1%, 2%, 3% natywną inuliną lub 4% suszem z korzenia cykorii na zmiany ekspresji AQP2 w nerkach prosiąt. Białko to regulowane jest przez wazopresynę, która uczestniczy we wbudowywaniu AQP2 w błonę komórkową kanalików zbiorczych nerek, umożliwiając tym samym wchłanianie zwrotne wody. Ograniczona ekspresja AQP2 jest związana z zaburzeniami, w których ma miejsce nadmierna utrata wody z organizmu. Wyniki niniejszych badań wskazują jednoznacznie, że ekspresja AQP2 w nerkach prosiąt wrasta wraz z udziałem inuliny w diecie.

Inne prace z tego zakresu tematycznego dotyczyły wpływu prebiotyków (P1: inulina) oraz synbiotyków (S1: inulina + *Lactobacillus lactis subsp. cremoris*, S2: galaktooligosacharydy + *Lactobacillus salivarius*, S3: oligosacharydy z rodziny rafinozy + *Lactobacillus plantarum*) podanych *in ovo* na zmiany ekspresji szeregu genów związanych z metabolizmem oraz odpowiedzią immunologiczną w mięśniach, jelicie grubym oraz obwodowych tkankach limfoidalnych u kurcząt brojlerów (Zał. 4, 1.1.4, 1.1.6). Zmiany ekspresji analizowanych genów wskazują jednoznacznie, że stymulacja *in ovo* synbiotykami S2 wpływa na zwiększenie wrażliwości komórek na insulinę, zwiększając tym samym wychwytywanie glukozy, jak również poprawia parametry profilu lipidowego, prowadząc między innymi do nasilenia procesu beta oksydacji kwasów tłuszczowych w mięśniach piersiowych 7-dniowych kurcząt brojlerów. Analizowano również wpływ prebiotyku (P1) i synbiotyku (S1) podanego *in ovo* na obwodowe tkanki limfoidalne (śledziona, migdałki jelitowe) poprzez analizę zmian ekspresji genów związanych z układem immunologicznym u 35-dniowych brojlerów. Szczególnie nasilone immunomodulacyjne działanie przejawiające się indukcją ekspresji szeregu genów zostało odnotowane jedynie w grupie ptaków stymulowanych *in ovo* synbiotykami.

Należy podkreślić, że wszystkie badania prowadzone w tym zakresie są wynikiem współpracy z krajowymi ośrodkami badawczymi tj. Zakładem Żywienia Zwierząt, Instytutu Fizjologii i Żywienia im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk oraz Katedrą Biotechnologii i Genetyki Zwierząt, Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy, w ramach projektów badawczych współrealizowanych przez pracowników Katedry.

ad. 4. Wpływ diety wysokotłuszczowej na organizm człowieka i zwierząt doświadczalnych

Pierwsza praca wpisująca się w niniejszy nurt badawczy dotyczy analizy wpływu diety wysokotłuszczowej na zmiany proteomu osocza krwi u ludzi (**zał. 4, 1.1.28**). Eksperyment został przeprowadzony na siedmiu, zdrowych, niepalących mężczyznach w wieku około 50 lat. Materiałem do badań była krew pobrana na czczo oraz po 4 godzinach od spożycia śmietany w ilości 50 g tłuszczu/1m² powierzchni ciała. Ilościowa, porównawcza analiza profili białkowych osocza krwi przeprowadzona z wykorzystaniem elektroforezy 2-D oraz spektrometrii mas typu MALDI-TOF wykazała zmiany ekspresji 22 spotów białkowych po spożyciu diety wysokotłuszczowej. Spośród nich, regulację w górę wykazywały białka związane głównie z procesem hemostazy (teranektyna oraz fibrynogen) oraz z układem dopełniacza (C3, C4 oraz ficolina-3) odgrywających kluczową rolę w patogenezie miażdżycy.

W tym zakresie tematycznym mojej działalności naukowo-badawczej ukazała się również praca mająca na celu określenie wpływu podaży przez okres 3 miesięcy trzech diet wysokotłuszczowych zawierających nasycone kwasy tłuszczowe lub charakteryzujących się znacznym udziałem nienasyconych kwasów tłuszczowych n-6 oraz n-3 o różnym ich wzajemnym stosunku tj. 14:1 oraz 5:1 na zmiany histologiczne oraz molekularne mięśnia sercowego myszy (**zał. 4, 1.1.2**). Charakterystyka obrazów histologicznych mięśnia sercowego wykazała występowanie hipertrofii oraz zwłóknienia we wszystkich badanych grupach żywieniowych przy czym najbardziej nasilone zmiany odnotowano u myszy otrzymujących dietę bogatą w nasycone kwasy tłuszczowe. Najliczniejszą grupą białek, których ekspresja uległa istotnej regulacji w górę w odpowiedzi na podaż wszystkich trzech diet wysokotłuszczowych są białka zaangażowane w metabolizm lipidów, wskazując tym samym na aktywację mechanizmów skierowanych na wykorzystanie kwasów tłuszczowych jako potencjalnych substratów energetycznych w procesie beta oksydacji w mitochondriach. Ponadto, obserwowano zmiany ekspresji szeregu białek zaangażowanych między innymi w regulację cyklu kwasów trkarboksylowych, glikolizę, łańcuch oddechowy, stres oksydacyjny jak również białek strukturalnych związanych z aparatem kurczliwym kardiomiocytów.

ad. 5. Proteomika i jej zastosowanie w poszukiwaniu wskaźników białkowych charakterystycznych dla wybranych procesów patofizjologicznych u zwierząt hodowlanych, laboratoryjnych oraz u człowieka

Kompleksowa analiza proteomu oferuje również duże możliwości diagnostyczne i terapeutyczne pozwalając tym samym na pełniejsze monitorowanie postępu i przebiegu wielu jednostek chorobowych. Porównywanie profili białkowych osobników zdrowych i chorych pozwala wykrywać obecność różnych białek, wysoce specyficznych dla danego schorzenia, które mogą być traktowane jako potencjalne markery nie tylko we wczesnej diagnostyce, ale również w działaniach prewencyjnych i terapeutycznych. Biorąc powyższe pod uwagę dwie kolejne prace o charakterze przeglądowym skupiały się właśnie na podsumowaniu dotychczasowych wyników badań proteomicznych prowadzonych zarówno na ludziach jak i zwierzętach ze zdiagnozowanymi chorobami nerek (zał. 4, 1.4.1) oraz układu sercowo-naczyniowego (zał. 4, 1.2.1).

Jednym z bogatych w białka mediów odzwierciedlających stan fizjologiczny organizmu jest surowica krwi. Ten płyn ustrojowy poprzez kontakt z szeregiem tkanek i narządów ma integrujący i scalający wpływ na metabolizm, a zawarte w nim białka zmieniają swoją koncentrację pod wpływem działania wielu czynników, w tym również patologicznych. Dlatego też w kolejnych badaniach prowadzonych w ramach współpracy z Katedrą Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie podjęto się próby określenia zmian proteomu surowicy krwi u świń zarażonych formami inwazyjnymi *Trichinella spiralis*, *Trichinella britovi* oraz *Trichinella pseudospiralis* (zał. 4, 1.1.7). Analiza porównawcza profili białkowych surowicy krwi pobranej w 13 oraz 60 dniu po zarażeniu została przeprowadzona z wykorzystaniem elektroforezy 2-D oraz spektrometrii mas typu MALDI-TOF. Wzór ekspresji poszczególnych białek na żelach był zróżnicowany i ściśle zależny od gatunku nicienia wywołującego infekcję pasożytniczą. Wśród białek wykazujących zmiany profilu akumulacji w surowicy krwi świń zarażonych trzema gatunkami *Trichinella* można wymienić: region stały łańcucha ciężkiego IgM, wolny lekki łańcuch lambda, łańcuch gamma IgG, antytrombina-III, klusteryna, białko homeobox Mohawk, izoforma X1 układu dopełniacza C3, amyloid surowiczy, apo A-I oraz apo A-IV.

ad. 6. Molekularne aspekty przedimplantacyjnego okresu ciąży u myszy

W omawiany zakres osiągnięć naukowo-badawczych wpisują się dwie prace powstałe w wyniku współpracy pracowników Katedry Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki z Laboratorium Immunologii Rozrodu w IITD PAN we Wrocławiu, dotyczące analizy oddziaływań zachodzących na poziomie molekularnym związanych z implantacją zarodka i inwazją trofoblastu do endometrium (zał. 4, 1.1.1,

1.1.22). W doświadczeniach tych podjęto się między innymi próby określenia różnic zachodzących w proteomach obwodowych limfocytów CD4(+) wyizolowanych ze śledziony ciężarnych myszy lub od samic będących w ciąży rzekomej. Ilościowa, porównawcza analiza profili białkowych limfocytów CD4(+) przeprowadzona z wykorzystaniem elektroforezy 2-D wykazała zmiany ekspresji 25 spotów białkowych przy czym 12 z nich wykazywało obniżoną, a pozostałe 13 zwiększoną ekspresję u myszy ciężarnych w porównaniu do tych będących w pseudociąży. Analizy z wykorzystaniem spektrometru masowego typu MALDI-TOF pozwoliły na skuteczną identyfikację 11 z nich. Wśród nich znalazły się następujące białka: podjednostka beta syntazy ATP, białko rybosomalne 40S, podjednostka alfa-1E oraz alfa-2 białka zakrywającego koniec kolczasty mikrofilamentu aktynowego, cytoplazmatyczna dehydrogenaza jabłczanowa, łańcuch alfa tropomiozyny alfa, inhibitor 1 oraz 2 dysocjacji Rho GDP, anhydraza węglanowa, kofilina-1 oraz typ-4 podjednostki beta proteasomu. Największe zmiany akumulacji tych białek dotyczyły kofiliny-1 oraz dehydrogenazy jabłczanowej, których ekspresja była odpowiednio 4- i 7-krotnie niższa w przypadku limfocytów ciężarnych myszy. W efekcie przeprowadzonych analiz utworzono również pierwszą mapę 2-D odzwierciedlającą charakterystyczny profil białkowy limfocytów CD4(+) ciężarnych myszy. Wśród zidentyfikowanych białek znalazły się białka związane z cytoszkieletem (34%), z syntezą białek (27%), ochroną przed stresem oksydacyjnym (9%) oraz ochroną immunologiczną (4%), białka zaangażowane w wewnątrzkomórkowe kaskady sygnalizacyjne (9%) oraz te związane z metabolizmem podstawowym (7%) oraz procesami energetycznymi (10%).

Ponadto, wykazano różnice w jakości lokalnych (macica) oraz obwodowych (limfocyty T) sygnałów zarodkowych wysyłanych przed implantacją w zależności od tego czy zarodek jest prawidłowy czy też uszkodzony (traktowany TNF α). Wyniki przeprowadzonych badań dowodzą, że obecność zarodków, traktowanych TNF α , powoduje zmiany ekspresji 84 genów w macicy u ciężarnych myszy. Ponad 87% tych genów koduje białka istotne dla transdukcji sygnału jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF kappa B. Z kolei analiza proteomiczna limfocytów T, wyizolowanych ze śledziony wykazała istotne zmiany ekspresji 8 białek zachodzących pod wpływem obecności w macicy uszkodzonych zarodków. Wśród nich znajdowały się białka zaangażowane w utrzymanie stabilności cytoszkieletu oraz ruchliwości limfocytów jak również te odpowiedzialne za procesy immunomodulacyjne oraz odpowiedź na stres komórkowy.

VI. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ

W roku 2005, w trakcie trwania studiów magisterskich, dzięki współpracy prowadzonej przez pracowników Katedry Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki z Narodowym Instytutem Badań Agronomicznych (INRA) we Francji miałam możliwość odbycia w tej jednostce dwóch staży naukowych (**Zał. 9a, 9b, 9d**). Efektem tych pobytów była realizacja badań wchodzących w zakres mojej pracy magisterskiej, jak również szczegółowe zapoznanie się z aspektami metodycznymi analiz prowadzonych z wykorzystaniem elektroforezy dwukierunkowej (2-DE). Kolejny, trzeci staż odbyłam w czasie trwania studiów doktoranckich, w tej samej jednostce naukowej (**Zał. 9c, 9d**), dzięki przyznanemu mi stypendium Rządu Francuskiego (**Zał. 9e**). Uzyskana w trakcie tych trzech wyjazdów wiedza i umiejętności, a także opracowane protokoły metodyczne zostały wykorzystane w większości publikacji stanowiących mój dorobek naukowy w zakresie badań proteomicznych. Ponadto, wymiernym efektem tych staży było opublikowanie dwóch artykułów naukowych o charakterze przeglądowym (**Zał. 9i, 9j**) oraz jedną oryginalną pracę badawczą (**Zał. 9k**). Należy podkreślić, że doświadczenie pracowników Katedry z zakresu technik proteomicznych zdobyte na drodze współpracy z Narodowym Instytutem Badań Agronomicznych (INRA) pozwoliło na uzyskanie grantu aparaturowego umożliwiającego utworzenie nowoczesnego laboratorium proteomicznego w jednostce macierzystej (**zał. 4, 5.4**).

Po uzyskaniu w 2010 roku stopnia doktora nauk rolniczych odbyłam kolejne dwa staże naukowe. Pierwszy z nich został zrealizowany w Katedrze Badań nad Nowotworami i Medycyny Molekularnej, Norweskiego Uniwersytetu Nauki i Technologii (NTNU) w Trondheim (**Zał. 9g**). Wyjazd ten został sfinansowany ze środków Fundacji Rozwoju Systemu Edukacji w ramach Funduszu Stypendialnego i Szkoleniowego (**Zał. 9f**). W trakcie dwutygodniowego stażu rozszerzałam swój warsztat badawczy wykonując analizy z wykorzystaniem elektroforezy różnicującej w żelu poliakrylamidowym (2-D DIGE), a także identyfikacji białek z użyciem spektrometru masowego typu MALDI-TOF/TOF. W tym czasie, brałam również udział w dopracowywaniu założeń metodycznych dotyczących przygotowania materiału biologicznego (tkanki zwierzęce) do analiz proteomicznych. Działania te umożliwiły mi przygotowanie założeń projektu, który został w roku 2012 sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki (**Zał. 7**). Wyniki badań powstałe na skutek realizacji tego grantu zostały opublikowane w licznych pracach (**Zał. 4, 1.1.3, 1.1.9, 1.1.10, 1.1.12, 1.1.13, 1.1.14, 1.1.20, 1.1.21, 1.1.23**), również w tych, które wchodzą w skład jednotematycznego cyklu publikacji, stanowiącego prezentowane w niniejszym autoreferacie osiągnięcie naukowe. W roku 2016, odbyłam kolejny staż naukowy w Zakładzie Podstaw Żywienia Zwierząt Monogastrycznych Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN w Jabłonnej. W trakcie

dwutygodniowego pobytu rozszerzałam swój warsztat badawczy wykonując analizy z zakresu chromatografii gazowej, wysokosprawnej chromatografii cieczowej oraz uczestnicząc w oznaczaniu wskaźników biochemicznych osocza krwi z wykorzystaniem multidyscyplinarnego spektrofotometru diagnostycznego. Listę zrealizowanych krajowych oraz zagranicznych staży naukowych zestawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Krajowe i zagraniczne staże naukowe odbyte przed oraz po uzyskaniu stopnia doktora

Lp.	Staże odbyte przed uzyskaniem stopnia doktora	Data
1.1	Narodowy Instytut Badań Agronomicznych (INRA), Saint-Genès-Champanelle, Francja (Stypendium INRA), Jednostka Żywienia Człowieka	01. 2005 – 03. 2005
1.2	Narodowy Instytut Badań Agronomicznych (INRA), Saint-Genès-Champanelle, Francja (Stypendium INRA), Jednostka Żywienia Człowieka	07. 2005 – 08. 2005
1.3	Narodowy Instytut Badań Agronomicznych (INRA), Saint-Genès-Champanelle, Francja (Stypendium Rządu Francuskiego), Jednostka Żywienia Człowieka	07. 2006 – 09. 2006
Lp.	Staże odbyte po uzyskaniu stopnia doktora	Data
1.4	Norweski Uniwersytet Nauki i Technologii (NTNU), Trondheim, Norwegia (Stypendium w ramach Funduszu Stypendialnego i Szkoleniowego), Katedra Badań nad Nowotworami i Medycyny Molekularnej	01.10.2011 – 16.10. 2011
1.5	Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk w Jabłonie, Zakład Żywienia Zwierząt	10.07.2016 – 25.07.2016

VII. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ

Do mojej działalności dydaktycznej należy zaliczyć prowadzenie zajęć na macierzystej Uczelni w ramach 15 przedmiotów na trzech, obecnie prowadzonych na Wydziale Biotechnologii i Hodowli Zwierząt kierunkach kształcenia: zootechnika, biotechnologia oraz kynologia, a także na dwóch, wygaszonych już kierunkach studiów: biologia oraz bioinformatyka. Lista prowadzonych kursów została zestawiona w Tabeli 2.

Tabela 2. Wykaz prowadzonych zajęć dydaktycznych (w języku polskim oraz angielskim)

Lp.	Przedmiot	Kierunek	Forma zajęć	Rok/stopień
2.1	Fizjologia zwierząt	Zootechnika	ćwiczenia laboratoryjne	II/°I
		Kynologia	ćwiczenia laboratoryjne	II/°I
		Biotechnologia	ćwiczenia laboratoryjne/audytoryjne	II/°I
		Biologia	ćwiczenia laboratoryjne/audytoryjne	II/°I
2.2	Animal physiology	Erasmus+	wykłady/ćwiczenia laboratoryjne	-
2.3	Anatomia funkcjonalna i fizjologia ssaków	Bioinformatyka	ćwiczenia laboratoryjne/audytoryjne	II/°I
2.4	Fizjologia zwierząt z anatomią	Rolnictwo	ćwiczenia laboratoryjne/audytoryjne	I/°I
2.5	Biologia komórki	Biotechnologia	ćwiczenia laboratoryjne/audytoryjne	I/°I
		Biologia	ćwiczenia laboratoryjne/audytoryjne	I/°I
		Bioinformatyka	ćwiczenia laboratoryjne	I/°I
		Mikrobiologia stosowana	ćwiczenia laboratoryjne	I/°I
2.6	Proteomika	Biotechnologia	wykłady/ćwiczenia laboratoryjne	II/II°
		Biologia	wykłady/ćwiczenia laboratoryjne	III/I°
		Mikrobiologia stosowana	wykłady/ćwiczenia laboratoryjne	I/II°
2.7	Proteomics	Erasmus+	wykłady/ćwiczenia laboratoryjne	-
2.8	Genomika i proteomika	Bioinformatyka	wykłady/ćwiczenia laboratoryjne	III/I°
2.9	Markery i mapy białkowe	Biotechnologia	wykłady/ćwiczenia audytoryjne	III/II°
		Biologia	wykłady/ćwiczenia audytoryjne	III/II°
2.10	Fizjologia wysiłku fizycznego	Biologia	wykłady/ćwiczenia audytoryjne	IV/I°
2.11	Fizjologiczne konsekwencje genetycznej modyfikacji czynności organizmu	Biotechnologia	konwersatoria	I/II°
2.12	Urządzenia technologiczne i aparatura badawcza w biotechnologii	Biotechnologia	wykłady/ćwiczenia audytoryjne	IV/I°

2.13	Molekularne wskaźniki predykcyjne płynów ustrojowych	Biotechnologia	wykłady/ćwiczenia audytoryjne	III/II°
		Biologia	wykłady/ćwiczenia audytoryjne	III/II°
2.14	Białkowe markery w ocenie zdrowia i wydolności fizycznej koni	Zootechnika	wykłady/ćwiczenia audytoryjne	III/II°
2.15	Etologia i behawior	Kynologia	wykłady/ćwiczenia audytoryjne	II/I°

Ponadto, w latach 2013-2020 pełniłam opiekę naukową nad sześcioma studentami w ramach międzynarodowego programu praktyk zawodowych dla studentów kierunków technicznych – IAESTE (Tabela 3).

Tabela 3. Opieka naukowa nad studentami w ramach programu IAESTE

Lp.	Studenci z ośrodków zagranicznych	Data
3.1	Alejandro Santos Mejia; Pablo de Olavide University in Seville; Hiszpania	14.10.2019 - 13.01.2020
3.2	Sofia Tsaknia; National Technical University of Athens (NTUA); Grecja	01.03.2019 - 31.05.2019
3.3	Angela Da Silva Braga; Federal University of Tocantins; Brazylia	06.11.2018 - 05.02.2019
3.4	Maria Victoria Pantano Diaz; National University of San Juan; Argentyna	04.05.2017 - 03.08.2017
3.5	Oswaldo Galeana Morales; Morelia University of Technology; Meksyk	03.10.2016 - 14.01.2017
3.6	Zehua Wang; University of Shanghai for Science and Technology; Chiny	02.07.2013 - 20.12.2013

Pod moją opieką naukową w latach 2018-2021 zrealizowanych zostało 7 prac dyplomowych, w tym 4 prace inżynierskie oraz 3 prace magisterskie.

W latach 2017-2020 odbyłam cztery staże dydaktyczne finansowane w ramach programu Erasmus+ (**Zał. 10a, 10b, 10c, 10d**). Trzy z nich realizowane były na Wydziale Nauk Rolniczych Uniwersytetu Grzegorza Mendla w Brnie oraz jeden na Wydziale Nauk Biologicznych Uniwersytetu Arystotelesa w Salonikach, podczas których prowadziłam seminaria dla doktorantów oraz pracowników wydziału, jak również przeprowadziłam zajęcia z przedmiotu „Animal physiology” (Tabela 4). W efekcie wyjazdu te stworzyły możliwość rozszerzenia dotychczasowej współpracy międzynarodowej w wymiarze dydaktycznym oraz badawczym. Dr hab. Petr Sláma, pracownik Wydziału Nauk Rolniczych Uniwersytetu Grzegorza Mendla w Brnie trzykrotnie wygłosił wykłady dla pracowników i studentów macierzystego Wydziału w latach 2017-2019. Ponadto, współpraca ta zaowocowała powstaniem oryginalnego artykułu naukowego (**Zał. 4, 1.1.4**).

Tabela 4. Wyjazdy dydaktyczne w ramach programu Erasmus+

Lp.	Instytucja przyjmująca	Data
4.1	Uniwersytet Mendla w Brnie, Brno, Czechy	17.04.2017 - 21.04.2017
4.2	Uniwersytet Mendla w Brnie, Brno, Czechy	23.04.2018 - 27.04.2018
4.3	Uniwersytet Arystotelesa w Salonikach, Saloniki, Grecja	06.05.2019 - 10.05.2019
4.4	Uniwersytet Mendla w Brnie, Brno, Czechy	22.09.2020 - 24.09.2020

Z kolei, zestawienie głównych obszarów działalności organizacyjnej oraz tej na rzecz promocji nauki przedstawiono w Tabelach 5 oraz 6.

Tabela 5. Działalność organizacyjna

Lp.	Funkcja	Data
5.1	Członek Rady Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt ZUT w Szczecinie	2016-2019
5.2	Członek Wydziałowej Komisji Kwalifikacyjnej na wyjazdy dydaktyczne realizowane w ramach programu Erasmus+	2016-2020
5.3	Członek Komisji Egzaminacyjnej z języka angielskiego dla doktorantów	2016-2020
5.4	Członek Rady programowej dla kierunku Biotechnologia	2016-2020 2020-2024
5.5	Członek Rady programowej dla kierunku Kynologia	2020-2024
5.6	Członek Rady Naukowej Dyscypliny zootechnika i rybactwo	2020-2024

Tabela 6. Działalność na rzecz promocji nauki

Lp.	Funkcja	Rok akademicki
6.1	Realizacja warsztatów „Krew darem życia” w ramach programu „Licealista w świecie nauki” (3 edycje)	2016/2017 2018/2019
6.2	Realizacja warsztatów dla seniorów w ramach programu Zachodniopomorskiego Technologicznego Uniwersytetu Trzeciego Wieku (1 edycja)	2017/2018
6.3	Współprowadząca szkolenia/warsztaty z zakresu analizy białek metodami elektroforetycznymi: 3 edycje dla studentów V roku studiów stacjonarnych kierunku Biotechnologia, Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt	2011/2012
6.4	Współprowadząca szkolenia/warsztaty z zakresu analizy białek metodami elektroforetycznymi: 5 edycji - dla przedsiębiorców, przedstawicieli sanepidów, terenowych oddziałów weterynaryjnych i laboratoriów badania jakości produktów spożywczych oraz przedstawicieli polskich ośrodków naukowych	2004/2005 2005/2006

VIII. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

Mój dorobek naukowy obejmuje łącznie 85 pozycji bibliograficznych w tym: 48 publikacji naukowych, 3 rozdziały w monografiach naukowych, 2 rozdziały w skrypcie oraz 32 doniesienia i komunikaty prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Wśród publikacji naukowych, 42 artykuły zostały opublikowane w czasopiśmie z listy JCR (w tym 4 stanowią cykl wskazany, jako szczególne osiągnięcie w postępowaniu habilitacyjnym), kolejnych 6 pozycji zostało opublikowanych w recenzowanych czasopiśmie z części B wykazu czasopiśmie Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Biorąc pod uwagę wartości wskaźników bibliometrycznych przypisanych zgodnie z rokiem wydania poszczególnych publikacji, łączna wartość dorobku naukowego w przeliczeniu na punkty MNiSW wynosi 1881. Sumaryczny *Impact Factor* wszystkich publikacji jest równy 66,757. Zestawienie dorobku naukowego z liczbą pozycji bibliograficznych, nazwą czasopiśmie, wartości IF i z uwzględnieniem punktów MNiSW, przed oraz po uzyskaniu stopnia doktora przedstawiono w Tabelach 7 oraz 8.

Liczba cytowań publikacji (na dzień 03.08.2021)

Liczba cytowań według bazy Web of Science (core collection) wynosi - **203**, bez autocytowań - **135**

Liczba cytowań według bazy Scopus wynosi - **218**, bez autocytowań - **116**

Liczba cytowań według bazy Google Scholar wynosi - **297**, bez autocytowań – **brak danych**

Informacja o posiadanym indeksie Hirscha

Indeks Hirscha według bazy Web of Science wynosi - **9**

Indeks Hirscha według bazy Scopus wynosi - **9**

Index Hirscha według bazy Google Scholar wynosi – **10**

Tabela 7. Zestawienie dorobku naukowego wg. liczby pozycji bibliograficznych, wartości IF^A z uwzględnieniem punktów MNiSW^{B,C,D,E,F}, przed oraz po uzyskaniu stopnia doktora

Rodzaj publikacji	Przed uzyskaniem stopnia doktora		Po uzyskaniu stopnia doktora				Ogółem	
			Jednotematyczny cykl publikacji		Pozostałe publikacje			
	IF	pkt. wg. MNiSW	IF	pkt. wg. MNiSW	IF	pkt. wg. MNiSW	IF	pkt. wg. MNiSW
Prace oryginalne w czasopismach z bazy JCR	1,489	24 (1)	6,038	275 (4)	54,970	1460 (32)	62,497	1759 (37)
Prace oryginalne w czasopismach spoza bazy JCR	-	6 (1)	-	-	-	21 (3)	-	27 (4)
Artykuły przeglądowe w czasopismach z bazy JCR	2,974	20 (1)	-	-	1,286	50 (4)	4,260	70 (5)
Artykuły przeglądowe w czasopismach spoza bazy JCR	-	10 (1)	-	-	-	5 (1)	-	15 (2)
Doniesienia i komunikaty	-	- (4)	-	-	-	- (28)	-	- (32)
Rozdziały w monografiach	-	3 (1)	-	-	-	7 (2)	-	10 (3)
Rozdziały w skryptach	-	-	-	-	-	0 (2)	-	0 (2)
Ogółem	4,463	63 (9)	6,038	275 (4)	56,256	1543 (72)	66,757	1881 (85)

A Wartości wskaźnika *impact factor* publikacji podano według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania (dla publikacji z 2021, dla których IF nie został obliczony podano ostatni aktualny).

B Liczba punktów została przyznana na podstawie Komunikatu nr 16/2009 Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 16 lipca 2009 r. w sprawie uzupełnienia wykazu wybranych czasopism wraz z liczbą punktów za umieszczoną w nich publikację naukową.

C Liczba punktów została przyznana na podstawie Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 grudnia 2012 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje naukowe w tych czasopismach.

D Liczba punktów została przyznana na podstawie Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych wraz z liczbą punktów przyznawanych za publikacje naukowe w tych czasopismach, ustalonego na podstawie wykazów ogłoszonych w latach 2013-2016.

E Liczba punktów została przyznana na podstawie Komunikatu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 25 stycznia 2017 r., jako wykaz czasopism naukowych obowiązujący podczas ewaluacji za lata 2017-2018.

F Liczba punktów została przyznana na podstawie Komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 18 lutego 2021 r. o zmianie i sprostowaniu komunikatu w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych.

* W nawiasach podano liczbę publikacji;

Tabela 8. Zestawienie dorobku naukowego wg. liczby publikacji wraz z nazwami czasopism w których w/w artykuły zostały opublikowane

Rodzaj publikacji	Przed uzyskaniem stopnia doktora	Po uzyskaniu stopnia doktora	Łącznie
1. Oryginalne opublikowane prace twórcze	2	39	41
a. w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC)	1	36	37
Journal of Physiology and Pharmacology	1	4	5
Folia Biologica (Kraków)	-	3	3
Journal of Animal and Feed Sciences	-	3	3
Medycyna Weterynaryjna	-	3	3
Polish Journal of Veterinary Sciences	-	4	4
Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences	-	3	3
Archives of Animal Breeding	-	1	1
Biotechnic & Histochemistry	-	1	1
Turkish Journal of Biology	-	1	1
Clinical Nutrition	-	1	1
Livestock Science	-	1	1
Animal	-	3	3
Pathogens	-	1	1
Animals	-	2	2
Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition	-	2	2
Frontiers in Veterinary Science	-	2	2
Nutrients	-	1	1
b. w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	1	3	4
Acta Scientiarum Polonorum, Medicina Veterinaria	1	-	1
Acta Scientiarum Polonorum, Zootechnica	-	2	2
Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis, Zootechnica	-	1	1
2. Prace Przeglądowe	2	5	7
a. w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC)	1	4	5
Journal of Physiology and Pharmacology	1	-	1
Medycyna Weterynaryjna	-	3	3
Journal of Elementology	-	1	1
b. w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie Journal Citation Reports (JCR)	1	1	2
Journal of Pre-Clinical and Clinical Research	-	1	1
Medycyna Weterynaryjna	1	-	1
3. Inne publikacje	5	32	37
a. doniesienia i komunikaty	4	28	32
b. rozdziały w monografiach	1	2	3
c. rozdziały w skryptach	-	2	2
Razem	9	72	85

Szczecin, 03.08.2021 r.

Agnieszka Herosimczyk

 dr inż. Agnieszka Herosimczyk