

I. Imię i nazwisko

Adriana Mika

II. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- 19 maja 2006 tytuł magistra biologii morza, kierunek: Oceanografia, Wydział Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego (UG)
- 1 lipca 2008 tytuł magistra ochrony środowiska, kierunek Ochrona Środowiska Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego
- 27 września 2013 Studium Podyplomowe Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego oraz Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (GUMed) - „Biologia Sądowa”. Praca podyplomowa wykonywana w Pracowni Toksykologii Sądowej Katedry Medycyny Sądowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
- 11 października 2013 tytuł doktora nauk biologicznych, specjalność: Biologia; rozprawa doktorska pt.:” Lipidy w mięśniu odwłokowym garneli bałtyckiej *Crangon crangon* (Linnaeus 1758) w cyklu rocznym” (promotor: prof. dr hab. Edward Skorkowski). Wydział Biologii Uniwersytetu Gdańskiego

III. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 10.2008 – 10.2013 Studia Doktoranckie UG (Wydział Biologii)
- 02.2014 – 03.2015 Staż podoktorski (Instytut Biochemii i Biofizyki PAN Warszawa)
- 08.2014-03.2017 umowa zlecenie GUMed (Klinika i Katedra Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych/Wydział Lekarski)
- 11.2016 - obecnie umowa o pracę GUMed (Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej/Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej)

IV. Osiągnięcia naukowe wynikające z art. 16 ust. 2 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Zaburzenia profilu kwasów tłuszczowych w otyłości olbrzymiej

Badania wchodzące w zakres osiągnięcia naukowego stanowią zbiór czterech oryginalnych prac i jedną pracę przeglądową. W czterech pracach jestem pierwszym autorem, w jednej drugim, jednak mój udział procentowy w jej realizację został oszacowany na 40%.

Prace wykonałam w Katedrze Analizy Środowiska Wydziału Chemii UG, kierowanej przez prof. dr hab. Piotra Stepnowskiego gdzie miałam dostęp do odpowiednio wyposażonego laboratorium chemicznego oraz aparatury badawczej, a także w Katedrze i Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, kierowanej przez dr hab. Tomasz Śledzińskiego.

b) Wykaz publikacji składających się na osiągnięcie naukowe

O1 Kaska L, **Mika A**, Stepnowski P, Proczko M, Ratnicki_Sklucki K, Sledzinski T, Goyke E, Swierczynski J (2014) The Relationship Between Specific Fatty Acids of Serum Lipids and Serum High Sensitivity C- Reactive Protein Levels in Morbidly Obese Women. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 34 (4): 1101-1108

IF = 2.875/MNiSW: 30

O2 **Mika A**, Kaska L, Stepnowski P, Proczko M, Ratnicki-Sklucki K, Goyke E, Sledzinski T (2015) Visceral and subcutaneous adipose tissue stearyl-CoA desaturase 1 mRNA levels and fatty acid desaturation index positively correlate with BMI in morbidly obese women. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117 (7), 926– 932

IF = 1.953/MNiSW: 25

O3 **Mika A**, Stepnowski P, Chmielewski M, Malgorzewicz S, Kaska L, Proczko M, Ratnicki-Sklucki K, Sledzinski M, Sledzinski T (2016) Increased Serum Level of Cyclopropaneoctanoic Acid 2-Hexyl in Patients with Hypertriglyceridemia-Related Disorders. *Lipids*, 51(7):867-873

IF = 1.892/MNiSW: 20

O4 **Mika A**, Stepnowski P, Kaska L, Proczko M, Wisniewski P, Sledzinski M, Sledzinski T (2016) A comprehensive study of serum odd- and branched-chain fatty acids in patients with excess weight. *Obesity (Silver Spring)*, 24(8):1669-1676

IF = 3.614/MNiSW: 35

O5 **Mika A**, Sledzinski T (2017) Alterations of specific lipid groups in serum of obese humans: a review. *Obesity Reviews*, 18: 247-272

IF = 7.51/MNiSW: 45

Łączny IF = 17.844/MNiSW: 155

c) Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

WPROWADZENIE

LIPIDY – OBSZAR POTENCJALNYCH BADAŃ ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH

Rozwój każdej choroby powoduje powstawanie zmodyfikowanych metabolitów. Jednak natura tych zmian w otyłości nie jest w pełni poznana/zrozumiała¹ i niewiele wiadomo o zmianach pośród konkretnych grup lipidów związanych z chorobą². Zmiany lipidowe mogą być przyczyną choroby, ale także mogą powstawać w trakcie terapii³. Bardzo duża różnorodność lipidów, obecność długolącuchowych kwasów tłuszczowych (KT) i różnych grup funkcyjnych w ich strukturze, sprawia, że lipid jest szczególnie wrażliwy na działanie różnych czynników, takich jak utlenianie i ulega modyfikacji⁴. Od dziesięcioleci badania lipidowe ograniczają się głównie do oznaczania lipidowych frakcji krwi – lipidogramu, w skład którego wchodzi stężenie triacylogliceroli (TAG), cholesterolu całkowitego, cholesterolu lipoprotein o małej gęstości (LDL) i wysokiej gęstości (HDL) w surowicy.

Lipidy liczą ponad 1mln 600 tys. przedstawicieli⁵, więc czy badanie tak heterogennej grupy powinno ograniczać się jedynie do zbadania lipidogramu? Ciągłe istnieje wiele ograniczeń dotyczących badań zmian profilu lipidów u otyłych ludzi. Problemem często nie do przejścia jest diagnostyka i monitorowanie zmian ilości i kompozycji wybranych grup lipidów. Wynika to z trudności w ich oznaczeniu z powodu braku odpowiedniej aparatury badawczej, limitu detekcji, kosztów badania, czy braku wykwalifikowanego personelu. Często te przeszkody wynikają z bardzo zmodyfikowanej budowy lipidu i jego właściwości chemicznych^{6,7}. Nie lada wyzwaniem jest także dostęp do materiału biologicznego/klinicznego, jego wstępna obróbka i stworzenie odpowiednich metod analitycznych. Lipidomika przez wiele lat była „spychana” na margines nauki ustępując miejsca proteomice czy genomice. Z czasem jednak naukowcy zaczęli doceniać rolę analiz lipidomicznych w badaniach różnorodnych ścieżek metabolicznych i funkcjonowania komórek, tkanek, narządów i całego organizmu.

Lipidy stanowią zbiór biologicznie aktywnych związków. Wiele z nich stanowi markery ryzyka chorób towarzyszących otyłości¹. Ciągłe rosnący na świecie problem otyłości, wymaga lepszych narzędzi do odpowiedniego monitorowania i rozwoju optymalnych strategii wczesnego zapobiegania i leczenia choroby. Identyfikacja nowych markerów lipidowych z pewnością zwiększy możliwość zrozumienia związku otyłości ze zmianami metabolicznymi, które są istotne z perspektywy diagnostycznej i terapeutycznej.

Kluczowym składnikiem większości lipidów są kwasy tłuszczowe. KT mogą krążyć we krwi w postaci wolnej lub stanowić podstawową część strukturalną złożonych lipidów. Budują fosfolipidy, sfingolipidy i glikolipidy wchodzące w skład błon komórkowych. Jednakże, są nie tylko podstawowymi budulcowymi i strukturalnymi komponentami złożonych polarnych lipidów, międzykomórkowymi przekaźnikami, biorącymi udział w procesach różnicowania, proliferacji i regeneracji komórek ⁸, ale także są głównym składnikiem TAG, stanowiących magazyn energii w tkance tłuszczowej ⁹. KT mogą być również syntetyzowane w wątrobie i tkance tłuszczowej.

Podwyższony poziom KT we krwi może być związany ze stresem oksydacyjnym, lipotoksycznością czy też hipertriglicerydemią ¹⁰. Nie tylko ilość, ale i rodzaj magazynowanych w tkance tłuszczowej i wydzielanych do krwi KT może mieć istotny wpływ w utrzymaniu równowagi metabolicznej organizmu. Niektórzy autorzy opisywali już zmiany w profilu KT we krwi otyłych pacjentów ¹¹⁻¹⁴. KT budujące TAG w wyniku hydrolizy uwalniane są z tkanki tłuszczowej i rozprowadzane wraz z krwią i mogą gromadzić się w różnych narządach. Nagromadzenie niektórych wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) jest toksycznym zjawiskiem, często notowanym w wielu stanach patologicznych w organizmie, wiele z nich negatywnie oddziałuje na metabolizm różnych tkanek, między innymi samej tkanki tłuszczowej ¹⁵⁻¹⁷. Inne WKT mają jednak prozdrowotne właściwości ^{18,19}. Powyższe dane wspierają hipotezę, że zmiany profilu KT w surowicy otyłych pacjentów mogą mieć wpływ na ekspresję genów w różnych tkankach i w konsekwencji na ich metabolizm, dlatego istotnym jest poznanie składu KT krążących we krwi pacjentów z otyłością olbrzymią, a także zbadanie wpływu enzymów związanych z metabolizmem KT zlokalizowanych w tkance tłuszczowej na formowanie profilu KT w surowicy. Zaburzenia metaboliczne związane ze zmianami profilu KT, wynikają także z faktu, iż budują one polarne lipidy, a co najważniejsze, lipidy te w swojej strukturze zawierają duże ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych (NKT). Są więc cennym magazynem niezbędnych nienasyconych KT jak kwasy omega 3 (n-3) i omega 6 (n-6) ⁸. To pociąga za sobą pewne negatywne skutki – zwiększona ilość nienasyconych KT wiąże się z większym narażeniem na działanie reaktywnych form tlenu (ROS), stresem oksydacyjnym i związanym z nim stanem zapalnym. W warunkach stresu oksydacyjnego komórka produkuje znaczne ilości ROS, które powodują utlenianie polarnych lipidów i powstawanie produktów ich peroksydacji ²⁰. Stres oksydacyjny związany jest z rozwojem chorób metabolicznych, w tym otyłości ²¹, ale także w pośredni sposób przyczynia się do powstawania nowotworów ²². Pod wpływem utleniania lipidów w błonach dochodzi do zaburzenia wewnętrznej homeostazy, do zaburzeń w syntezie DNA oraz naprawie jego uszkodzeń

i zmian w genomie komórki ²². Stąd, przedmiot badań jest istotny nie tylko w chorobach metabolicznych.

Głównym przedmiotem moich badań była precyzyjna ocena zmian profilu kwasów tłuszczowych poprzez zastosowanie techniki chromatografii gazowej sprzężoną ze spektrometrią mas (GC-MS) w otyłości, a także starałam się określić, jak zastosowana dieta wpływa na poziom nie tylko powszechnie znanych KT, ale także na poziom mało do tej pory zbadanych KT, które mogą pełnić ważne funkcje regulacyjne. Poszukiwałam związków lipidowych, mniej opisanych literaturze, czy to z powodu ich małej zawartości w surowicy i w tkankach, czy też z powodu ogromu lipidów budujących organizm ludzki. Kwasy te nazwane przeze mnie bioaktywnymi lipidami, pełnią ważne funkcje, a ich niedobory lub nadmiar, może negatywnie oddziaływać na organizm ludzki. Bioaktywne lipidy, to lipofilowe cząsteczki sygnałowe o dużym znaczeniu medycznym, a występujące w niewielkich ilościach. Moje badania wykazały związek między zaburzeniami bioaktywnych lipidów we krwi (rozgałęzione i nieparzysto-węglowe kwasy, kwasy z ugrupowaniem cyklopropanowym), a stanem zdrowia pacjentów z otyłością olbrzymią. Uzyskane wyniki badań pozwoliły sprawdzić czy kwasy tłuszczowe występujące w nieprawidłowych ilościach były związane ze stanem zdrowia pacjentów z otyłością olbrzymią. Wyniki badań umożliwiły także identyfikację niedoborów ważnych bioaktywnych lipidów u badanych pacjentów. Dodatkowym celem badawczym było określenie roli desaturacji kwasów tłuszczowych w tkance tłuszczowej w kształtowaniu się profilu KT w tkance tłuszczowej i surowicy u pacjentów z otyłością olbrzymią. Zbadałam także zależności pomiędzy wybranymi KT, a markerami stanu zdrowia pacjentów z otyłością.

Jedną z analizowanych grup KT były kwasy posiadające trójwęglowe pierścienie cykliczne rozmieszczone w różnych miejscach łańcucha alifatycznego. Kwasy tłuszczowe zawierające grupy cyklopropanowe notowane bywały w roślinach, gąbkach, osłonicach i pasożytach ²³⁻²⁵, a powszechnie obecne u bakterii odgrywają rolę w ich patogenności ²⁶. Kilka prac opisuje ich korzystne działanie. Ich ilość u bakterii wzrasta podczas obniżonego napięcia/prężności tlenu, w kwaśnym środowisku, wysokiej temperaturze i wysokim stężeniu soli ²⁷, dlatego wg naukowców w organizmie kwasy te mogą pełnić biologiczną rolę w odpowiedzi na stres środowiskowy ²⁷. Nieliczne dane z piśmiennictwa wskazują, że KT zawierające ugrupowania cyklopropanowe mają właściwości regulacyjne, wpływając na aktywność m.in. cyklooxygenazy ²⁸, ATP-azy miozynowej ²⁹, kinazy białkowej C (PKC-ε) ³⁰, desaturazy stearylo-CoA ³¹ oraz na stan zapalny ³². Biorąc pod uwagę powyższe dane można spodziewać się, że kwasy z ugrupowaniem cyklopropanowym pełnią funkcje regulacyjne, które mogą mieć wpływ na stan zdrowia otyłych pacjentów. Aby odpowiedzieć na to pytanie należy jednak

najpierw przeanalizować zależności pomiędzy ich poziomem we krwi, a parametrami antropometrycznymi i biochemicznymi opisującymi stan zdrowia pacjentów.

Innymi, mało poznanymi grupami KT są rozgałęzione (RKT) i nieparzysto-węglowe (NPKT) kwasy stanowiące także interesującą grupę związków o potencjalnych właściwościach prozdrowotnych. Kwasy rozgałęzione zwiększają płynność błon komórkowych, podobnie jak kwasy nienasycone, jednak są mniej podatne na utlenianie^{33,34}. Te specyficzne KT są w głównej mierze syntetyzowane przez bakterie, nieczęsto występują w tkankach przeżuwaczy i zwierząt morskich i stanowią jedynie 1-2% całkowitej zawartości KT w tkankach ssaków³⁵. Rozgałęzione KT opisywane były w ludzkiej skórze, krwi i mózgu, a także w komórkach nowotworowych^{36,37}. Mogą być zaangażowane w patogenezę wielu chorób. Gromadzenie się kwasu fitanowego i β -RKT, wynikające z zaburzeń α - i β -oksydacji, powoduje zaburzenia patobiochemiczne, jak choroba Refsuma i zespół Zellwegera^{34,38,39}. Inne RKT wykazują właściwości przeciwbakteryjne i przeciwnowotworowe³³. Z kolei, kwasy nieparzysto-węglowe wykazują działanie antybiotykowe, antynowotworowe, szczególnie w przypadku nowotworów pęcherza moczowego, piersi, okrężnicy, żołądka i raka wątroby³⁵, białaczki, raka gruczołu krokowego, gruczolakoraka gruczołu sutkowego⁴⁰, przeciwzapalne i niecytotoksyczne efekty immunosupresyjne⁴¹. Ponadto, NPKT mogą wykazywać właściwości przeciwutleniające, działając jako zmiatacze (akceptory) rodników hydroksylowych, hamując ich negatywne działanie⁴¹. Wykazano że wysokie spożycie nieparzysto-węglowych KT obniża stężenie cholesterolu LDL, a tym samym obniża ryzyko chorób sercowo-naczyniowych (ChSN)^{41,42} i zespołu metabolicznego³⁷. Pobieranie pokarmów obfitujących w kwasy 15 i 17-węglowe jest zalecane już od dzieciństwa, co przeciwdziała ChSN w późniejszym wieku⁴³, jednakże długołańcuchowe nieparzysto-węglowe KT jak 23 i 25-węglowe KT powodują chorobę Gauchera lub leukodystrofię metachromatyczną⁴⁴. Niekorzystne oddziaływanie tych kwasów zostało udokumentowane dość dawno, pozytywne aspekty są jednak ciągle odkrywane, podobnie jak stale nieznanym jest związek analizowanych przez mnie kwasów z otyłością. Tym bardziej brak danych na temat składu i działania RKT i NPKT popchnął mnie do zainteresowania się tą grupą KT. Dostępna literatura opiera się głównie na charakterystyce kwasów tłuszczowych 15:0 i 17:0.

OTYŁOŚĆ OLBRZYMIA – PARADOKS ROZWOJU CYWILIZACYJNEGO

Gwałtowny rozwój cywilizacyjny paradoksalnie prowadzi do coraz częstszego występowania otyłości. W 2014 roku ponad 600 milionów osób na całym świecie zostało sklasyfikowanych jako otyli, a ponad 1,9 mld dorosłych, jako osoby z nadwagą⁴⁵. Otyłość, w której wskaźnik BMI przekracza 35 i

towarzyszą jej dodatkowe choroby, to otyłość olbrzymia (*Morbid Obesity*). W Polsce częstość otyłości olbrzymiej w populacji ogólnej wynosi 1%, a w USA 5%^{46,47}. Według epidemiologicznych danych problem otyłości w ostatniej dekadzie w USA wzrósł o 30%, a na podstawie szacowań organizacji *Trust for America's Health* udział osób otyłych do 2030 roku może przekroczyć 50%⁴⁸, a do 2015 roku u około 2,3 mld dorosłych będzie mieć problem z nadwagą, zaś ponad 700 mln będzie otyłych⁴⁹.

Nadmierne odkładanie lipidów u pacjentów z otyłością olbrzymią powoduje zaburzenia metaboliczne i naczyniowe, hamując działanie insuliny i prowadząc do zaburzeń metabolizmu lipidów w tkance tłuszczowej, wątrobie, trzustce, nerkach, mięśniach szkieletowych i sercu⁵⁰.

Wyraźny postęp w chemii analitycznej umożliwił detekcję i identyfikację znanych, jak i nieznanych do tej pory grup KT i ich specyficznych przedstawicieli, umożliwił wnikliwą analizę ich budowy, właściwości chemicznych i biologicznych. Uzyskane wyniki wskazały na korelację pomiędzy stężeniem kwasów tłuszczowych w surowicy pacjentów a masą ciała i BMI. Wyższe ilości kwasów nasyconych i jednonienasyconych notowano właśnie u pacjentów z otyłością olbrzymią. Kwasy te podnoszą ilość cholesterolu we krwi, tym samym zwiększają ryzyko wystąpienia chorób naczyniowo-więńcowych oraz powodują przyrost masy ciała. Z kolei ilość niezbędnych nienasyconych KT, zwanymi wielonienasyconymi n-3 i n-6 jest obniżona u pacjentów otyłych. Kwasy te odpowiadają za utrzymanie odpowiedniego stanu zdrowia i samopoczucia, przeciwdziałają chorobom serca, a także zmniejszają ryzyko chorób neurodegeneracyjnych. Zachwianie podstawowego profilu kwasów tłuszczowych będzie odbijało się zarówno na stanie zdrowia jak i masie ciała.

Wyniki badań naukowych dowodzą, że nadwaga i otyłość to podstawowe przyczyny rozwoju wielu poważnych chorób przewlekłych, np. nadciśnienia tętniczego, chorób serca, chorób układu oddechowego, cukrzycy typu 2 oraz przedwczesnych zgonów, zaś w Polsce i na całym świecie zwiększa się częstość występowania nadwagi i otyłości. W publikacjach stanowiących osiągnięcie naukowe zaprezentowałam i przeanalizowałam szeroki zakres profilu kwasów tłuszczowych wraz z parametrami klinicznymi opisującymi stan zdrowia pacjentów i ryzyko wystąpienia chorób towarzyszących. Ciągłe jednak poszukujemy dowodów na wpływ KT na zdrowia pacjenta. Wprowadzanie badań *in vitro* i na modelach zwierzęcych może przyczynić się do rozwiązania tego problemu. Co więcej, obecnie realizowany przeze mnie projekt SONATA 11 finansowany przez NCN, w którym badania obejmują hodowle komórkowe, model myszy i ludzką tkankę tłuszczową, przybliży nas do poznania roli endogenego metabolizmu lipidów w formowaniu profilu lipidów we krwi pacjentów. Inne obecnie prowadzone przeze mnie badania z wykorzystaniem spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) przybliżą nas do szybkiej diagnostyki zmian pośród podstawowych grup lipidów,

odpowiadających także za patogenezę wielu chorób, co może znacznie rozszerzyć profil/zakres lipidogramu wykonywanego rutynowo przez laboratoria kliniczne.

Cele badań

- I. Precyzyjna ocena zmian profilu kwasów tłuszczowych w surowicy i tkance tłuszczowej u pacjentów z otyłością olbrzymią.
- II. Zbadanie zależności pomiędzy profilem kwasów tłuszczowych w surowicy a stanem zapalnym w otyłości olbrzymiej.
- III. Określenie roli desaturacji kwasów tłuszczowych w tkance tłuszczowej w kształtowaniu profilu kwasów tłuszczowych w tkance tłuszczowej i w surowicy u pacjentów z otyłością olbrzymią.
- IV. Identyfikacja nieznanych lub mało poznanych grup kwasów tłuszczowych i poznanie ich roli w patogenezie otyłości olbrzymiej.

Charakterystyka badań i omówienie uzyskanych wyników

O1 Kaska L, **Mika A**, Stepnowski P, Proczko M, Ratnicki_Sklucki K, Sledzinski T, Goyke E, Swierczynski J (2014) The Relationship Between Specific Fatty Acids of Serum Lipids and Serum High Sensitivity C- Reactive Protein Levels in Morbidly Obese Women. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 34 (4): 1101-1108

Do tej pory udokumentowano wiele pozytywnych aspektów działania najróżniejszych KT, na co zapewne wpływ ma miejsce występowanie danego kwasu. Przykładowo, kwas 16:1n-7 uwalniany z tkanki tłuszczowej, stymuluje działanie insuliny i hamuje stłuszczenie wątroby u myszy^{51,52}. Jednak, inne kwasy o właściwościach prozapalnych działają negatywnie, przyczyniając się do rozwoju choroby⁵³. Co więcej, liczne badania wskazują na związek otyłości z podwyższoną zawartością białka ostrej fazy, zwanego białkiem C-reaktywnym (CRP) w surowicy. CRP jest powszechnie uznawany za marker zapalny, jak również za predykcyjny marker ChSN. Prawdopodobny mechanizm molekularny zwiększenia stanu zapalnego w otyłości opiera się na uwalnianiu kilku rodzajów związków przez powiększone adipocyty i/lub przez infiltrujące tkankę tłuszczową przez makrofagi. Tymi związkami są głównie interleukina 6 (IL-6), która powoduje wzrost produkcji CRP w tkance tłuszczowej, co prowadzi do wzrostu stężenia CRP w surowicy⁵⁴ oraz nasycone KT (NKT), które pobudzają stan zapalny w tkance tłuszczowej poprzez ich konwersję do ceramidów, które to aktywują kinazy białkowe

C zeta (PKC- ζ) i kinazy aktywowane mitogenami (MAPK) w monocytach i makrofagach⁵⁵. Inną możliwością jest stymulowanie przez NKT ścieżek sygnałowych stanu zapalnego poprzez receptory typu "toll-like" i czynnik transkrypcyjny NF- κ B, co prowadzi do wzmocnienia transkrypcji genów prozapalnych^{55,56}. Odwrotną rolę przypisuje się kwasom n-3, szczególnie kwasowi eikozapentaenowym (20:5n-3; EPA) i dokozaheksaenowym (22:6n-3; DHA), które to są prekursorami przeciwzapalnych eikozanoidów i hamują ekspresję genów kodujących prozapalne białka⁵⁵. Istnieją także przesłanki, iż dieta bogata w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (WNKT), szczególnie w kwasy n-6, promuje stan zapalny w organizmie. Aby to zweryfikować, w pracy określiłam w surowicy otyłych pacjentów związek pomiędzy NKT, jednonienasycone kwasy tłuszczowe (JNKT) oraz WNKT, a stężeniem markerów zapalnych (CRP, IL-6, neutrofile, białe krwinki) oraz leptyną i adiponektyną, uznawanych odpowiednio za pro- i przeciwzapalną adipokinę⁵⁷. Został określony także związek między wybranymi KT, a podanymi powyżej markerami zapalnymi u osób z otyłością olbrzymią. Badaniu poddano 16 kobiet z otyłością olbrzymią bez cukrzycy, które czekając na zabieg bariatryczny odżywiały się niskokaloryczną (wysokobiałkową) dietą.

Zgodnie z przewidywaniem, obserwowałam silną dodatnią korelację między CRP a BMI, jak również nieco słabsze korelację CRP z IL-6 oraz CRP a neutrofilami. Także poziom prozapalnej adipokiny (leptyna) w surowicy był pozytywnie skorelowany z BMI, zaś dla przeciwzapalnej adipokiny (adiponektyna) i BMI notowałam odwrotną silną zależność. Masa ciała i BMI były pozytywnie skorelowane z IL-6, a IL-6 odwrotnie z adiponektyną. Przyjmuje się, że profil KT z surowicy wpływa na stężenie CRP. Poszukiwałam więc zależności między poszczególnymi KT a CRP. Analizując profil KT, zawartości NKT i JNKT były zbliżone i dodatnio skorelowane z CRP. Pośród profilu KT w surowicy pacjentów znacznie dominowały kwasy 16:0, 18:1 i 18:2n-6. CRP było silnie ujemnie skorelowane z kwasami n-3, ale także n-6. Wzrost stosunku kwasów n-6 do n-3 może nasilać procesy zapalne, ponieważ n-6 są prekursorami prozapalnych eikozanoidów⁵⁸, dlatego zbadalam związek między tym parametrem a CRP w surowicy chorych z otyłością olbrzymią. Potwierdziłam silną korelację ($R = 0,77$, $p < 0,01$). Podobnie, IL-6 w surowicy korelowała pozytywnie z większością NKT i JNKT, natomiast ujemnie z WNKT. Z przeprowadzonych analiz jasno wynika, iż rodzaj korelacji był związany z długością łańcucha. I tak, zarówno dla CRP i IL-6 notowałam dodatnią korelację dla nasyconych NKT i siła korelacji zmniejszała się wraz ze wzrostem długości łańcucha alifatycznego. Krótsze KT mogą aktywować odpowiednie receptory typu "toll-like"^{59,60}. Analiza 6 nasyconych KT o różnej długości łańcucha alifatycznego wskazała, że kwas laurynowy 12:0 jest znacznie silniejszym aktywatorem tych receptorów niż kwas palmitynowy 16:0, a ten znacznie silniejszym aktywatorem, niż

kwasy stearynowe 18:0⁵⁹. Podobnie siła związku i jego zwrot zależał od ilości wiązań nienasyconych. Stwierdzono, że wprowadzenie pojedynczego wiązania podwójnego w NKT zwiększa prozapalne właściwości JNKT, za co odpowiada desaturaza stearoilo-CoA obecna w wątrobie i tkance tłuszczowej, której przypisano istotną rolę w rozwoju stanu zapalnego, oporności na insulinę i otyłości⁶¹.

Oryginalnym osiągnięciem tej pracy było stwierdzenie, że związek zawartości kwasów tłuszczowych ze stanem zapalnym zależy od długości ich łańcucha. W przypadku WNKT właściwości przeciwzapalne skorelowane są z długością łańcucha, liczbą i lokalizacją wiązań podwójnych. Stwierdziłam silną dodatnią korelację ($R = 0,77$) pomiędzy stosunkiem WNKT n-6/n-3 a poziomem CRP w surowicy, co potwierdza przeciwzapalne właściwości kwasów n-3 i prozapalne właściwości kwasów n-6. Stan zapalny zaś głównie jest determinowany przez stosunek kwasów n-6 do n-3 w surowicy. Podsumowując, nasze odkrycie sugeruje, że dieta bogata w kwasy n-3, oraz o zmniejszonej zawartości nasyconych kwasów o średniej długości łańcucha alifatycznego (kwasy 12:0 i 14:0) i z jednym podwójnym wiązaniem (kwasy 16:1 i 18:1) może zmniejszać/łagodzić stan zapalny u pacjentów z otyłością olbrzymią.

O2 Mika A, Kaska L, Stepnowski P, Proczko M, Ratnicki-Sklucki K, Goyke E, Sledzinski T (2015) Visceral and subcutaneous adipose tissue stearyl-CoA desaturase 1 mRNA levels and fatty acid desaturation index positively correlate with BMI in morbidly obese women. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117 (7), 926–932

Otyłość związana jest z wieloma zaburzeniami, a KT pochodzące z żywności czy syntetyzowane w wątrobie i tkance tłuszczowej mogą przyczyniać się do pojawienia się i progresu tych zaburzeń^{55,61}. Desaturaza stearoilo-CoA 1 jest głównym enzymem biorącym udział w biosyntezie JNKT, która zachodzi głównie w wątrobie i tkance tłuszczowej. Wyniki badań gryzoni wskazują, że nadmierna aktywność SCD1 może odgrywać niekorzystną rolę w rozwoju otyłości i w związanych z nimi zaburzeniami/chorobami towarzyszącymi^{16,62}. Co więcej farmakologiczne hamowanie aktywności SCD1 może być korzystne w leczeniu otyłości i jej następstw^{62,63}. W dużej mierze determinuje to zainteresowanie działaniem SCD1 *in vivo*. Jej aktywność *in vivo* można określać izotopowo bądź też pośrednio poprzez indeks desaturacji (ID) wyrażający stosunek kwasu 18:1 do 18:0 w surowicy lub tkankach. Aktywność elongaz można wyrazić jako stosunek kwasu 18:0 do 16:0.

W przeprowadzonym przez mnie badaniu zmierzyłam ekspresję genu SCD1 w tkance tłuszczowej podskórnej i trzewnej u otyłych kobiet z różnym wskaźnikiem BMI, a także dokonałam porównania

ekspresji genu izoformy SCD1 i SCD5 w tkance tłuszczowej otyłych ludzi. ID całkowitych KT zawartych w lipidach w surowicy, w tkance tłuszczowej podskórnej i trzewnej został przeanalizowany u osób z otyłością olbrzymią kwalifikujących się do zabiegu bariatrycznego. Badaniu poddano 16 kobiet o średniej wartości BMI $43 \pm 8.8 \text{ kg/m}^2$, u których wykluczono choroby serca, nerek, wątroby i zaburzenia hormonalne. Pacjentki były na niskokalorycznej diecie przez 3 miesiące przed zabiegiem bariatrycznym, co skutkowało około 5% przedoperacyjnym zmniejszeniem masy ciała. Przeanalizowałam cały profil kwasów tłuszczowych zarówno w surowicy, jak i w skupiskach trzewnym i podskórnym tkanki tłuszczowej. Zawartość JNKT znacznie dominowała nad pozostałymi KT we wszystkich analizowanych tkankach i całkowita zawartość JNKT w tkance tłuszczowej była pozytywnie skorelowana z BMI, w przypadku nasyconych KT - odwrotnie. Wysoki poziom kwasu oleinowego w tkance tłuszczowej u otyłych osób może wynikać z katalizowanej przez SCD1 intensywnej desaturacji kwasu stearynowego. Indeks elongacji (IE 18:0/16:0) nie różnił się w surowicy i tkance tłuszczowej zaś IE w tkance tłuszczowej był odwrotnie skorelowany z BMI pacjenta. Sugeruje to, że niższe wartości aktywności elongazy mogą być powiązane z mniej korzystnym profilem czynników ryzyka/zespołu metabolicznego u osób otyłych. ID z kolei był znacząco wyższy w skupiskach tkanki tłuszczowej niż w surowicy otyłych pacjentów. Odnotowano także silną dodatnią korelację między ID tkanki tłuszczowej, a BMI pacjentów, ale nie było znaczącej statystycznie korelacji między ID w surowicy a BMI. Stwierdzono także pozytywną korelację pomiędzy poziomami mRNA SCD1 a ID w tkance tłuszczowej. Związek pomiędzy BMI pacjentów otyłych a ID 18:1/18:0 i mRNA SCD1 w tkance tłuszczowej, sugeruje że ekspresja genu SCD1 tkankowej i ID tkanki tłuszczowej są związane z otyłością. Ponadto, nasze ustalenia sugerują, że profil KT tkanki tłuszczowej ludzkiej może służyć jako biomarker ekspresji genu SCD1 w tej tkance. Stwierdzono także brak korelacji między ID z surowicy, a mRNA SCD1 w tkance tłuszczowej, co zostało określone wcześniej⁶⁴. W pracy badałam także ekspresję genu SCD1 i SCD5 w tkance tłuszczowej. Poziom mRNA SCD5 w tkance tłuszczowej otyłych osób był wyraźnie niższy od poziomu mRNA SCD1, co świadczyć może o niewielkiej roli izoformy SCD5 w desaturacji KT w tkance tłuszczowej. Jednak, SCD5 może być odpowiedzialna za desaturację w innych, specyficznych dla siebie tkankach. Zgodnie z pracą Wang'a i współ.⁶⁵ odgrywa ona istotną rolę podczas desaturacji KT w mózgu i w trzustce⁶⁵.

Podsumowując poziom mRNA SCD5 w tkance tłuszczowej był około 400 razy niższy niż SCD1 i nie korelował z BMI. Pozytywne korelacje między BMI a ID 18:1/18:0 trzewnej i podskórnej tkanki tłuszczowej, były znacznie silniejsze niż korelacja między ID w surowicy i BMI u chorych z otyłością olbrzymią.

O3 Mika A, Stepnowski P, Chmielewski M, Malgorzewicz S, Kaska L, Proczko M, Ratnicki-Sklucki K, Sledzinski M, Sledzinski T (2016) Increased Serum Level of Cyclopropanoic Acid 2-Hexyl in Patients with Hypertriglyceridemia-Related Disorders. *Lipids*, 51(7):867-873

Kwasy tłuszczowe z ugrupowaniem cyklopropanowym (CPKT) wykazują właściwości regulacyjne, co wykazano w wielu pracach²⁸⁻³². W pierwszej pracy dotyczącej CPKT, która była wykonana jeszcze w czasie studiów doktoranckich opisałam identyfikację CPKT i określiłam ich zawartość w tkance tłuszczowej i surowicy pacjentów z otyłością olbrzymią oraz podjęłam próbę określenia źródła ich pochodzenia⁶⁶. Praca ta po raz pierwszy wykazała obecność tych kwasów w organizmie ludzkim, a jednocześnie pozostawiła wiele nierozstrzygniętych kwestii na temat znaczenia patofizjologicznego CPKT. Dlatego w kolejnej pracy dotyczącej tej tematyki chciałam określić czy obecność specyficznych CPKT uwarunkowana jest rodzajem choroby. Czy kwasy te są specyficzne dla otyłych pacjentów, czy też charakterystyczne są dla schorzeń charakteryzujących się dyslipidemią. Dlatego badaniu poddano otyłe pacjentki, otyłe pacjentki po 3-miesięcznej kuracji niskokaloryczną dietą, u których dochodzi do znaczącej poprawy profilu lipidowego oraz pacjentki z przewlekłą chorobą nerek (PChN). Łącznie przebadano 76 osób. Etiologia zaburzeń lipidowych u pacjentów PChN różni się od otyłych pacjentów, jednak główne zmiany lipidowe, w tym podwyższone stężenia TAG, są zasadniczo takie same. PChN podobnie jak otyłość olbrzymia wiąże się z dużym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych (ChSN). Parametry biochemiczne i antropomorficzne zostały skorelowane z uzyskanymi wynikami, w celu określenia zależności między wybranymi kwasami a markerami zaburzeń metabolicznych.

Profil KT pochodzący z surowicy ludzkiej jest potwierdzonym czynnikiem determinującym ryzyko zespołu metabolicznego i chorób sercowo-naczyniowych⁶⁷. Mimo znacznych różnic w ilości kwasu 2-heksylo-cyklopropanooctowego (kwas 9,10 metylenoheksadekanowy, *cyclopropanoic acid 2-hexyl* - CPOA2H) u otyłych pacjentów i pacjentów poddanych diecie, BMI nie jest głównym determinantem zawartości CPOA2H w surowicy, ponieważ nie stwierdziłam istotnej korelacji pomiędzy zawartością CPOA2H w surowicy, a BMI. Istotną statystycznie korelację zanotowałam między stężeniem CPOA2H, a zawartością TAG w surowicy, co sugeruje, że CPOA2H współdziała z endogenną syntezą lipidów - na przykład poprzez wpływ na czynniki transkrypcyjne zaangażowane w ten proces, jak opisano wcześniej dla innych KT^{68,69}. Co istotne, korelacja pomiędzy poziomem CPOA2H i TAG może także świadczyć o wpływie diety na zawartość CPKT w wyniku spożycia wysokotłuszczowych potraw zawierających CPKT. Caligiani i współ.⁷⁰ niedawno opisali obecność 18-węglowego CPKT w

mleku krowim i nabiale. W poprzednim badaniu stwierdziliśmy, że CPOA2H występuje w TAG w ludzkiej surowicy i tkance tłuszczowej, co sugeruje, że CPKT mogą pochodzić z chylomikronów transportujących spożyte lipidy ⁶⁶. Ta hipoteza jest również poparta tym, że u otyłych pacjentek poddanych 3-miesięcznej diecie niskokalorycznej (niskotłuszczowej) obserwowaliśmy znacznie niższą zawartość CPOA2H w surowicy. Wyniki te potwierdzają uzyskane wyniki poprzedniej pracy, w której odnotowaliśmy obniżenie poziomu CPOA2H w tkance tłuszczowej szczurów, którym wprowadzono restrykcyjną dietę przez okres jednego miesiąca ⁶⁶. Co ciekawe jednak, u pacjentów z PChN o prawidłowej masie ciała obserwowaliśmy wysoką zawartość CPOA2H. Dieta zalecana w przebiegu PCHN charakteryzuje się niskotłuszczową dietą (chude mięso i ryby) stąd zasadnym wydaje się wiązanie podwyższonego poziomu CPOA2H z hipertriglicydemią, za czym przemawia także silna korelacja TAG z CPOA2H w surowicy. Co więcej, biorąc pod uwagę silne pozytywne korelacje między stężeniami CPKT, TAG i cholesterolu, a także podwyższonym poziomem CPOA2H u pacjentów otyłych i z PChN, można stwierdzić, że CPOA2H może negatywnie wpływać na metabolizm komórkowy lipidów. Podsumowując, wysoki poziom kwasu CPOA2H w surowicy związany jest z wysokimi stężeniami triacylogliceroli w surowicy, nie zaś z masą ciała lub BMI. Obecnie realizowany projekt, w którym przewidziano badania *in vitro* na liniach komórek tłuszczowych i wątroby, którym podawany jest kwas CPOA2H, pozwoli odpowiedzieć na pytanie czy kwasy z ugrupowaniem cyklopropanowym wpływają na komórkowy metabolizm lipidów. Wyniki badań na komórkach wątroby HepG2, wskazują na indukcję syntezy lipidów po traktowaniu ich CPOA2H, co może tłumaczyć korelacje pomiędzy stężeniem tego kwasu a stężeniem TAG u pacjentów otyłych i z PChN.

O4 Mika A, Stepnowski P, Kaska L, Proczko M, Wisniewski P, Sledzinski M, Sledzinski T (2016) A comprehensive study of serum odd- and branched-chain fatty acids in patients with excess weight. *Obesity (Silver Spring)*, 24(8):1669-1676

Podczas badań poszukiwałam związków lipidowych, które z powodu małej ilości nie były brane pod uwagę w badaniach i niewiele jest o nich informacji w piśmiennictwie, a ich rola w metabolizmie u pacjentów z nadwagą/otyłością, czy też u pacjentów z zaburzeniami wchodzącymi w ogół zaburzeń zespołu metabolicznego, nadal nie jest w pełni poznana i zrozumiana. Większość prac skupia się na KT o parzystej liczbie atomów węgla, z powodu ich przeważającej ilości we krwi - stanowią one do 90% wszystkich KT w surowicy ³⁴. Ale krew ludzka zawiera także inne struktury, jak KT o nieparzystej liczbie atomów węgla, kwasy rozgałęzione, kwasy krótkie i kwasy z najróżniejszymi podstawnikami. Pomimo niskiego poziomu w organizmie mogą one wpływać na działanie komórki,

tkanki czy narządu. Ich właściwości i znaczenie zostały dokładniej opisane we **WPROWADZENIU** pracy.

Podczas tych badań zajęłam się identyfikacją rozgałęzionych (RKT) i nieparzysto-węglowych KT (NPKT), także określeniem potencjalnych korelacji pomiędzy analizowanymi KT, a różnymi markerami chorób metabolicznych.

Grupę badawczą stanowiły 23 kobiety z otyłością olbrzymią, które kwalifikowały się do zabiegu bariatrycznego, ale nie rozpoczęły jeszcze niskokalorycznej diety. Kontrolę stanowiło 21 zdrowych ochotników o prawidłowej masie ciała. W surowicy otyłych pacjentów notowałam statystycznie podwyższone poziomy nasyconych i jednonienasyconych KT, jak również obniżony poziom kwasów n-3 i n-6 w stosunku do grupy kontrolnej. W surowicy badanych oznaczyłam i zidentyfikowałam także 6 nieparzysto-węglowych i 6 rozgałęzionych KT (trzy formy *iso* i 3 formy *anteiso*). W badaniu tym wykazałam, że otyłość jest związana z obniżonym poziomem *iso*-RKT w surowicy. Wynik ten jest zgodny z badaniami Su i współ.⁷¹, w których całkowita zawartość RKT tkanki tłuszczowej u osób z otyłością była niższa niż u osób szczupłych, a ich ilość rosła wraz z utratą wagi. Moje badania nie pokazały różnic w zawartości NPKT. Z kolei Wang i współ.⁴³ opisał niższe wartości kwasów 15 i 17-węglowych u nastolatków z nadwagą w porównaniu do kontroli. Uważa się iż kwasy te pochodzą z tłuszczu i mleka przeżuwaczy i uznawane są za markery ich spożycia³³. Inni uważają, że kwasy te są syntetyzowane *de novo* u ssaków⁷¹, z rozgałęzionych aminokwasów⁷². Nasze badania wskazały, że kwasy te mogą pochodzić z mleka i tłuszczu przeżuwaczy, jednak uzyskane dane są niewystarczające by wskazać, czy to dieta właśnie wpływa na ich poziom w surowicy. Odpowiedzi na to pytanie może dostarczyć obecnie realizowany przeze mnie projekt SONATA 11, dotyczący wpływu zabiegu bariatrycznego na poziom bioaktywnych lipidów w przebiegu otyłości olbrzymiej, którego głównym celem jest zbadanie krótko- i długofalowego wpływu zabiegu bariatrycznego typu OLBG (*omega loop gastric bypass*) na zawartość RKT i NPKT, oraz zbadanie ich pochodzenia. Przeanalizowałam także związek specyficznych KT ze stężeniem TAG w surowicy pacjentów. Okazało się, że otyłość wiąże się ze zmniejszeniem poziomu *iso*-RKT oraz ze zwiększeniem stężenia TAG w surowicy. Została także stwierdzona odwrotna korelacja pomiędzy *iso*-RKT w surowicy i TAG. TAG występują we krwi w lipoproteinach. Lipoproteiny o bardzo małej gęstości (VLDL) są utworzone w wątrobie natomiast chylomikrony są formowane w jelicie z tłuszczów pokarmowych. Próbkę krwi do badania były pobierane na czczo, więc większość TAG w surowicy pochodziła z VLDL powstałych w wątrobie. Co więcej, odnotowałam silną dodatnią korelację pomiędzy TAG w surowicy, a ID 18:1/18:0, co wskazuje

na to, że poziom TAG w surowicy odzwierciedla aktywność SCD1 w wątrobie, ponieważ TAG głównie zbudowane są z JNKT, które powstają z NKT w tym narządzie^{73,74}. Co więcej, podwyższona ekspresja SCD1 jest związana bezpośrednio z patogenezą chorób metabolicznych, w tym z otyłością⁷⁵. Stwierdzono także istotne ujemne korelacje między sumą *iso*-RKT w surowicy, a wartością ID 18:1/18:0. Oznacza to, że niższe poziomy *iso*-RKT u otyłych pacjentów mogą przyczynić się do większej syntezy TAG w wątrobie i skutkować zwiększeniem ich stężenia w surowicy. Pojawia się pytanie o mechanizm molekularny tej korelacji/połączenia. Badania na zwierzętach wskazują, że RKT mogą hamować syntezę TAG w wątrobie, wpływając jednocześnie na poziom TAG w surowicy⁷⁶. Dlatego szczególną uwagę należy poświęcić *iso*-RKT, które podczas moich analiz wykazały silne odwrotne korelacje z poziomem TAG, JNKT, oraz ID 18:1/18:0 w surowicy badanych pacjentów.

W następnym etapie badań wykazałam, że otyli pacjenci wykazali 5-krotnie wyższe stężenie CRP niż zdrowi ochotnicy. W badaniach Wanga i współ.⁴³ poziom NPKT 15 i 17-węglowych odwrotnie korelował z markerami stresu oksydacyjnego i stanu zapalnego (IL-6, CRP, czynnik martwicy nowotworu- α , adiponektyna, F2-izoprostany i 5-ketoprostaglandyna F2 α). Moje badania wykazały taką samą zależność między NPKT, a CRP. Poziom kwasów 15 i 17-węglowych w surowicy ujemnie korelował z BMI i CRP. Jednakże NPKT długłańcuchowe korelowały pozytywnie z CRP. Stąd wydaje się, że w zależności od długości łańcucha alifatycznego, kwasy te odgrywają różne role metaboliczne u pacjentów z otyłością olbrzymią. Dodatkowo wykazałam odwrotną korelację między poziomem CRP w surowicy a poziomem *iso*-RKT. Dlaczego tak się dzieje? Dlatego, że kwasy te występujące często na granicy detekcji aparatury, wykazują pewne właściwości przeciwzapalne. Co więcej, inni badacze donoszą o odwrotnej korelacji pomiędzy RKT lub NPKT, a opornością na insulinę i ryzykiem rozwoju cukrzycy typu II^{42,43}, a także poziomem RKT w tkance tłuszczowej a opornością na insulinę u osób z otyłością⁷¹. Doniesienia te są zgodne z naszymi wynikami, gdzie poziom insuliny w surowicy korelował odwrotnie z zawartością *iso*-RKT.

W mojej pracy rozważałam także, potencjalne korzyści z suplementacji kwasów rozgałęzionych. Stężenia *iso*-RKT u otyłych pacjentów są znacznie niższe, niż w grupie kontrolnej. Prawdopodobnie stan chorobowy może znacznie zmniejszać ich liczbę, a tym samym ich korzystne działanie. Właściwości *iso*-RKT, jak działanie przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe i przeciwnowotworowe i ich odwrotne korelacje z markerami chorób/zaburzeń metabolicznych wskazują, że podobnie jak w przypadku suplementacji kwasami n-3, może warto rozważyć suplementację badanymi kwasami. Pomimo ich małego stężenia w surowicy, biorąc pod uwagę zalety, które niesie ich obecność w organizmie, kwasy te powinny być podawane pacjentom z zespołem

metabolicznym i zaburzeniami lipidowymi, a dieta pacjentów z wieloma chorobami powinna być wzbogacona w ich ilości.

O5 Mika A, Sledzinski T (2017) Alterations of specific lipid groups in serum of obese humans: a review. *Obesity Reviews*, 18: 247-272

Chociaż rozwój otyłości jest wiązany z zaburzeniami lipidowymi, badania laboratoryjne lipidów ograniczają się zaledwie do tzw. lipidogramu. Wielu autorów przemawia za rozszerzeniem zakresu badanych związków lipidowych i określenia zmian w innych, wcześniej niebadanych grupach lipidów. Z pewnością w dzisiejszych czasach, kompleksowa ilościowa, strukturalna i funkcjonalna analiza konkretnych grup lipidów może prowadzić do identyfikacji nowych zaburzeń lipidowych w otyłości.

Przegląd ten koncentruje się na zmianach stężenia w surowicy pacjentów otyłych całkowitych KT, ale także KT wchodzących w skład fosfolipidów, produktów utleniania KT, jak oksylipiny oraz KT budujących sfingolipidy i ich metabolity. W pracy chciałam pokazać jak zmiany w składzie i zawartości wymienionych powyżej lipidów wpłyną na stan zdrowia i występowanie chorób towarzyszących w otyłości. Praca ta stanowi podsumowanie moich dotychczasowych badań lipidomicznych dotyczących otyłości jak również przedstawia kierunki badań którymi obecnie się zajmuję, lub planuję zająć się w przyszłości. Należy zaznaczyć, że przegląd ten został opublikowany w czasopiśmie o najwyższym IF (7.51) wśród czasopism bezpośrednio zajmujących się problem otyłości. Zmiany lipidowe obserwowane w otyłości obejmują zmiany profilu polarnych lipidów, które jako składniki błon komórkowych, będą powodowały zmiany w błonach komórkowych. Co więcej, stres oksydacyjny obserwowany w otyłości będzie wiązał się ze wzmożoną produkcją utlenionych pochodnych polarnych lipidów u osób otyłych^{50,77}, a jako że fosfolipidy i sfingolipidy w głównej mierze budowane są przez wielonienasycone KT, tym bardziej będą one podatne na utlenianie⁷⁸. Otyłość jest również związana z istotnymi ilościowymi i jakościowymi zmianami profilu KT w surowicy¹¹⁻¹⁴, a także, ze zmianami składu polarnych lipidów w erytrocytach^{79,80}. Stan zapalny i lipoliza promuje uwalnianie ceramidów, pośrednich związków w metabolizmie sfingolipidów z adipocytów otyłych pacjentów, co skutkuje wzrostem ich stężenia we krwi⁸¹. Ponadto BMI silnie koreluje z wysokim poziomem oksylipin powstałych podczas utleniania WNK⁷⁸.

W pracy opisałam także rolę diety i endogennej syntezy lipidów, jako czynników determinujących skład i stężenie lipidów w surowicy osób otyłych i powodujących zaburzenia lipidowe w surowicy, a także potencjalne zastosowanie różnych związków lipidowych jako markerów ryzyka chorób towarzyszących w otyłości. Zmiany metabolizmu lipidów wpływają na funkcjonowanie całego

organizmu. Jednakże, pomimo rosnącego problemu otyłości na świecie, wiedza o zmianach lipidowych ciągle jest niewystarczająca.

Określiłam granice naszej aktualnej wiedzy w zakresie zaburzeń lipidowych towarzyszących otyłości i wskazałam kierunki przyszłych badań. Powinny być one oparte na zaprojektowaniu wnikliwych badań, ponieważ pomimo ciągłego postępu w medycynie, otyłość i choroby jej towarzyszące, jak cukrzyca, oporność na insulinę, choroby sercowo-naczyniowe, dyslipidemia nadal stanowią i będą stanowić poważny problem społeczny. Należy zwrócić uwagę na metabolizm lipidów i ich metabolitów, aby wyjaśnić związek między otyłością, opornością na insulinę i innymi zaburzeniami związanymi z zespołem metabolicznym. Jednocześnie KT powinny być szczególnym celem poznawczym w strategii leczenia otyłości, ze względu na ich rolę w budowie błon komórkowych oraz jako czynnika determinującego ryzyko związane z zaburzeniami w otyłości.

Niezależnie od różnych terapii, otyłość stanowi wyzwanie dla rozwoju cywilizacji i przyszłych pokoleń. Należy uwzględnić modyfikacje stylu życia, co powinno stać się podstawą w leczeniu pacjentów z otyłością i związanych z nią chorób współistniejących. Szczególną uwagę należy zwrócić na występowanie w otyłości zmiany stężenia KT w surowicy, uważane za czynnik determinujący ryzyko wystąpienia zespołu metabolicznego i chorób sercowo-naczyniowych.

PODSUMOWANIE PRACY

Różnorodność chorób, czynników odpowiedzialnych za ich rozwój, związków chemicznych ulegających modyfikacji podczas powstawania i rozwoju choroby, a także w trakcie stosowanej terapii i remisji choroby, wymusza stały rozwój i ulepszanie narzędzi prognostycznych, diagnostycznych i prewencyjnych. Wraz z postępowaniem technologicznym, przedłużającym się czasem życia i stale polepszającym się komfortem życia, specyfika i zakres badań klinicznych musi ulec zmianie. W analizie różne procedury wstępnej obróbki badanego materiału, protokoły ekstrakcji próbki, materiały kalibracyjne, jak i wybór standardów wewnętrznych oraz złożoność aparatur analitycznych otwierają drzwi do polepszenia i przedłużenia życia ludzkiego, a niekiedy do obniżenia ryzyka zachorowania poprzez szybkie wykrycie załazków choroby. Często najlepszym rozwiązaniem jest dokładność metody analitycznej, ale i jej prostota⁸². Zasadę tą można przenieść na jakąkolwiek dziedzinę naszego życia, pracy i zdrowia. Dlatego też swoje badania lipidomiczne w głównej mierze oparłam na analizie profilu KT. Wynika to z faktu, iż prawie każdy związek z grupy lipidów budowany

jest przez co najmniej jeden kwas tłuszczowy. Pozostałymi komponentami mogą być zasady azotowe, kwas fosforowy (fosfolipidy) alkohole (sfingolipidy, glicerolipidy), cukry (glikolipidy, gangliozydy, cerebrozydy), itd. Stale powtarzający się komponent będzie determinował zmiany w układach złożonych. Popiera to wielu naukowców uważając, że, zaburzenia lipidowe obejmują zmiany profilu KT w polarnych lipidach^{50,77}. Otyłość związana jest z ilościowymi i jakościowymi zmianami profilu KT surowicy¹¹⁻¹⁴, które wywierają znaczący wpływ na metabolizm i ogólny stan zdrowia. Z kolei, zmiany metabolizmu lipidów w narządach, jak wątroba czy tkanka tłuszczowa, będą generować zmiany profilu KT surowicy pacjentów⁸³. Dlaczego tak się dzieje? Profil KT surowicy jest wypadkową endogennej syntezy oraz składu tłuszczu pobieranego z pożywienia⁸⁴. Jak wspomniano niejednokrotnie, nie wszystkie KT są szkodliwe, ale nie wszystkie też posiadają prozdrowotne właściwości. W zależności od budowy KT, długości łańcucha alifatycznego, ilości wiązań podwójnych, dodatkowych podstawników, pozostałych komponentów lipidu, źródła pochodzenia kwasu - wszystko to będzie determinowało jego wektor aktywności biologicznej. Co więcej, profil KT z tkanki tłuszczowej uznawany jest za właściwy marker wielu chorób, w tym cukrzycy, jednak jego wykorzystanie jest ograniczone z powodu braku dostępu do materiału biologicznego⁸⁵. Z drugiej strony, podczas lipolizy KT są uwalniane z tkanki tłuszczowej do surowicy, stąd surowica wydaje się świetnym materiałem do oznaczania wolnych KT jako markera KT pochodzących z tkanki tłuszczowej⁸⁶. Z kolei zmiany profilu KT w polarnych lipidach wchodzących w skład erytrocytów silnie związane są z profilem KT wątroby, przez co może on służyć jako marker dysfunkcji metabolizmu lipidów wątroby u otyłych pacjentów⁷⁹. Określenie profilu KT w surowicy staje się także cennym źródłem informacji o składzie naszej diety, jak i jakości spożywanego tłuszczu⁸⁷.

Wszystko to sugeruje, że otyłość jest związana ze zmianami profilu KT w wielu grupach lipidów. Zmiany te wydają się odzwierciedlać podwyższone ryzyko stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego, cukrzycy czy chorób sercowo-naczyniowych u otyłych pacjentów. Poznanie składu chemicznego wybranych grup lipidów oraz zmian biochemicznych we krwi pacjentów z otyłością olbrzymią, pozwoliło z jednej strony rozszerzyć wiedzę na temat ryzyka schorzeń u osób z otyłością olbrzymią, a z drugiej strony poznaliśmy mechanizm tych zmian, co w przyszłości stworzy możliwość zapobiegania lub leczenia niekorzystnych procesów metabolicznych zachodzących w organizmie osób otyłych. Możemy określić związek między składem kwasów tłuszczowych we krwi pacjentów, progresją choroby i chorobami towarzyszącymi otyłości. Otrzymane wyniki wskazują także na konieczność uzupełnienia wiedzy na temat niektórych ważnych bioaktywnych lipidów.

WNIOSKI

1. W surowicy i tkance tłuszczowej otyłych pacjentów zidentyfikowałam ponad 30 specyficznych kwasów tłuszczowych. W surowicy otyłych pacjentów stwierdziłam obniżony poziom wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz zwiększony poziom nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych. Taki profil może zwiększać ryzyko schorzeń towarzyszących otyłości olbrzymiej.
2. Znacznym osiągnięciem moich badań jest odkrycie, że długość łańcucha alifatycznego nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych będzie determinowała stan zapalny w otyłości. Właściwości przeciwzapalne wielonienasyconych kwasów tłuszczowych skorelowane są z długością łańcucha, liczbą i lokalizacją wiązań podwójnych.
3. Ekspresja desaturazy stearoilo-CoA oraz indeks desaturacji w tkance tłuszczowej są związane ze wskaźnikiem masy ciała otyłych pacjentów. Ekspresja desaturazy stearoilo-CoA koreluje pozytywnie z indeksem desaturacji w tkance tłuszczowej, czego nie stwierdzono w surowicy. Ekspresja izoformy SCD1 w tkance tłuszczowej jest wielokrotnie wyższa, niż SCD5, co wskazuje, że SCD5 nie odgrywa istotnej roli w procesie desaturacji w tej tkance.
4. Stężenie kwasu 2-heksylo-cyklopropanooctowego jest zwiększone w chorobach, którym towarzyszy hipertriglicydemia. Moje badania sugerują, że źródłem pochodzenia kwasu 2-heksylo-cyklopropanooctowego jest dieta.
5. W surowicy otyłych pacjentów zidentyfikowano mało poznane kwasy rozgałęzione i nieparzysto-węglowe. Obniżony poziom *iso* rozgałęzionych kwasów tłuszczowych u otyłych pacjentów może wpływać na stan zdrowia pacjentów. Istnieje silna odwrotna korelacja między poziomem triacylogliceroli w surowicy a *iso* rozgałęzionymi kwasami tłuszczowymi. Suplementacja wymienionymi kwasami może poprawić stan zdrowia otyłych pacjentów.

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

- BMI – wskaźnik masy ciała
- ChSN – choroby sercowo-naczyniowe
- CPKT – cyklopropanowe kwasy tłuszczowe
- CPOA2H - kwas 9,10 metylenoheksadekanowy (*cyclopropaneoctanoic acid 2-hexyl*)
- CRP – białko C-reaktywne
- DHA - kwas dokozaheksaenowy
- EPA – kwas eikozapentaenowy
- FASN – syntaza kwasów tłuszczowych
- GC-MS - chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas
- ID – indeks desaturacji 18:1/18:0
- IE – indeks elongacji 18:0/16:0
- IL-6 - interleukina 6
- KT – kwasy tłuszczowe
- LDL – lipoproteiny niskiej gęstości
- NCN – Narodowe Centrum Nauki
- NJKT – jednonienasycone kwasy tłuszczowe
- NKT – nasycone kwasy tłuszczowe
- NMR – magnetyczny rezonans jądrowy
- NPKT – nieparzysto-węglowe kwasy tłuszczowe
- OLGB – zabieg laparoskopowy *omega loop gastric bypass*
- PChN – przewlekła choroba nerek
- RKT – rozgałęzione kwasy tłuszczowe
- ROS – reaktywne formy tlenu
- SCD 1 – desaturaza stearoilo-CoA 1
- TAG – triacyloglicerole
- WKT – wolne kwasy tłuszczowe
- WNKT – wielonienasycone kwasy tłuszczowe
- VLDL – lipoproteiny bardzo niskiej gęstości

PIŚMIENNICTWO

1. Rauschert, S., Uhl, O., Koletzko, B. & Hellmuth, C. Metabolomic biomarkers for obesity in humans: A short review. *Ann. Nutr. Metab.* **64**, 314–324 (2014).
2. Barber, M. N. *et al.* Plasma lysophosphatidylcholine levels are reduced in obesity and type 2 diabetes. *PLoS One* **7**, e41456 (2012).
3. Bray, G. A. Medical Consequences of Obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 2583–2589 (2004).
4. Repetto, M., Semprine, J. & Boveris, A. Lipid Peroxidation : Chemical Mechanism , Biological Implications and Analytical Determination. *J. Free Radic. Biol. Med.* **1**, 3–30 (2012).
5. Li, L. *et al.* Mass spectrometry methodology in lipid analysis. *Int. J. Mol. Sci.* **15**, 10492–10507 (2014).
6. Cruwys, J. A., Dinsdale, R. M., Hawkes, F. R. & Hawkes, D. L. Development of a static headspace gas chromatographic procedure for the routine analysis of volatile fatty acids in wastewaters. *J. Chromatogr. A* **945**, 195–209 (2002).
7. Sumathi, M. E., Tembad, M. M., Jayaprakash, D. S. & Preethi, B. P. Study of lipid profile and oxidative stress in chronic renal failure. *Biomed. Res.* **21**, 451–456 (2010).
8. Guéraud, F. *et al.* Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radic. Res.* **44**, 1098–1124 (2010).
9. Mika, A., Gołębiowski, M., Skorkowski, E. & Stepnowski, P. Lipids of adult brown shrimp, *Crangon crangon*: seasonal variations in fatty acids class composition. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* **94**, 1–8 (2014).
10. Redinger, R. N. The pathophysiology of obesity and its clinical manifestations. *Gastroenterol. Hepatol.* **3**, 856–863 (2007).
11. Hernandez-Morante, J. J. *et al.* Relationship among adiponectin, adiponectin gene expression and fatty acids composition in morbidly obese patients. *Obes. Surg.* **17**, 516–24 (2007).
12. Kaska, L. *et al.* The Relationship Between Specific Fatty Acids of Serum Lipids and Serum High Sensitivity C- Reactive Protein Levels in Morbidly Obese Women. *Cell. Physiol. Biochem.* **34**, 1101–1108 (2014).

13. Kotronen, A. *et al.* Serum saturated fatty acids containing triacylglycerols are better markers of insulin resistance than total serum triacylglycerol concentrations. *Diabetologia* **52**, 684–690 (2009).
14. Sjögren, P. *et al.* Fatty acid desaturases in human adipose tissue: Relationships between gene expression, desaturation indexes and insulin resistance. *Diabetologia* **51**, 328–335 (2008).
15. Swierczynski, Julian, Sledzinski, T. in *Principles of Metabolic Surgery* | Springer 53–79 (2012). at <<http://www.springer.com/fr/book/9783642024108>>
16. Popeijus, H. E., Saris, W. H. M. & Mensink, R. P. Role of stearoyl-CoA desaturases in obesity and the metabolic syndrome. *Int. J. Obes. (Lond)*. **32**, 1076–82 (2008).
17. Burns, T. A., Kadegowda, A. K. G., Duckett, S. K., Pratt, S. L. & Jenkins, T. C. Palmitoleic (16:1 cis-9) and cis-vaccenic (18:1 cis-11) acid alter lipogenesis in bovine adipocyte cultures. *Lipids* **47**, 1143–53 (2012).
18. Buckley, J. D. & Howe, P. R. C. Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids may be beneficial for reducing obesity—a review. *Nutrients* **2**, 1212–1230 (2010).
19. Hennessy, A. A., Ross, R. P., Devery, R. & Stanton, C. The health promoting properties of the conjugated isomers of α -linolenic acid. *Lipids* **46**, 105–19 (2011).
20. Pamplona, R. Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: A causal role in aging and longevity. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **1777**, 1249–1262 (2008).
21. Sledzinski, T., Goyke, E., Smolenski, R. T., Sledzinski, Z. & Swierczynski, J. Decrease in serum protein carbonyl groups concentration and maintained hyperhomocysteinemia in patients undergoing bariatric surgery. *Obes. Surg.* **19**, 321–326 (2009).
22. Guo, C., Sun, L., Chen, X. & Zhang, D. Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. *Neural Regen. Res.* **8**, 2003–14 (2013).
23. Rob, T., Ogi, T., Maarisit, W., Taira, J. & Ueda, K. Isolation of C11 Compounds and a Cyclopropane Fatty Acid from an Okinawan Ascidian, *Diplosoma* sp. *Molecules* **16**, 9972–9982 (2011).
24. Carballeira, N. M., Montano, N., Vicente, J. & Rodriguez, A. D. Novel Cyclopropane Fatty Acids from the Phospholipids of the Caribbean Sponge *Pseudospongosorites suberitoides*.

- Lipids* **42**, 519–524 (2007).
25. Yu, X.-H., Rawat, R. & Shanklin, J. Characterization and analysis of the cotton cyclopropane fatty acid synthase family and their contribution to cyclopropane fatty acid synthesis. *BMC Plant Biol.* **11**, 97 (2011).
 26. Grogan, D. W., Cronan, J. E. & Jr. Cyclopropane ring formation in membrane lipids of bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **61**, 429–41 (1997).
 27. Sakurada, K. *et al.* Identification of cis-9,10-methylenehexadecanoic acid in submitochondrial particles of bovine heart. *Biochim. Biophys. Acta* **1437**, 214–22 (1999).
 28. Dong, L. *et al.* Human cyclooxygenase-2 is a sequence homodimer that functions as a conformational heterodimer. *J. Biol. Chem.* **286**, 19035–46 (2011).
 29. Sakurada, K. *et al.* cis-9,10-Methylenehexadecanoic acid inhibits contractility and actomyosin ATPase activity of guinea pig myocardium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **274**, 533–6 (2000).
 30. Kanno, T. *et al.* The linoleic acid derivative DCP-LA selectively activates PKC-ε, possibly binding to the phosphatidylserine binding site. *J. Lipid Res* **47**, 1146–1156 (2006).
 31. Kadegowda, A. K. G., Burns, T. A., Pratt, S. L. & Duckett, S. K. Inhibition of Stearoyl-CoA Desaturase 1 Reduces Lipogenesis in Primary Bovine Adipocytes. *Lipids* **48**, 967–976 (2013).
 32. Huang, J.-D., Amaral, J., Lee, J. W., Larrayoz, I. M. & Rodriguez, I. R. Sterculic acid antagonizes 7-ketocholesterol-mediated inflammation and inhibits choroidal neovascularization. *Biochim. Biophys. Acta* **1821**, 637–46 (2012).
 33. Vlaeminck, B., Fievez, V., Cabrita, A. R. J., Fonseca, A. J. M. & Dewhurst, R. J. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* **131**, 389–417 (2006).
 34. Jenkins, B., West, J. & Koulman, A. A Review of Odd-Chain Fatty Acid Metabolism and the Role of Pentadecanoic Acid (C15:0) and Heptadecanoic Acid (C17:0) in Health and Disease. *Molecules* **20**, 2425–2444 (2015).
 35. Adamska, A. & Rutkowska, J. Odd- and branched-chain fatty acids in milk fat – characteristic and health properties. *Postępy Hig Med Dosw* **68**, 998-1007 (2014).
 36. Kniazeva, M., Crawford, Q. T., Seiber, M., Wang, C.-Y. & Han, M. Monomethyl Branched-

- Chain Fatty Acids Play an Essential Role in *Caenorhabditis elegans* Development. *PLoS Biol.* **2**, e257 (2004).
37. Ran-Ressler, R. R., Bae, S., Lawrence, P., Wang, D. H. & Brenna, J. T. Branched-chain fatty acid content of foods and estimated intake in the USA. *Br. J. Nutr.* **112**, 565–72 (2014).
 38. Poulos, A. Lipid metabolism in Zellweger's syndrome. *Prog. Lipid Res.* **28**, 35–51 (1989).
 39. Mukherji, M. *et al.* The chemical biology of branched-chain lipid metabolism. *Prog. Lipid Res.* **42**, 359–76 (2003).
 40. Wongtangtharn, S. *et al.* Incorporation of branched-chain fatty acid into cellular lipids and caspase-independent apoptosis in human breast cancer cell line, SKBR-3. *Lipids Health Dis.* **4**, 29 (2005).
 41. Řezanka, T. & Sigler, K. Odd-numbered very-long-chain fatty acids from the microbial, animal and plant kingdoms. *Prog. Lipid Res.* **48**, 206–238 (2009).
 42. Warensjö, E. *et al.* Estimated intake of milk fat is negatively associated with cardiovascular risk factors and does not increase the risk of a first acute myocardial infarction. A prospective case-control study. *Br. J. Nutr.* **91**, 635–42 (2004).
 43. Wang, H. *et al.* Obesity Modifies the Relations Between Serum Markers of Dairy Fats and Inflammation and Oxidative Stress Among Adolescents. *Obesity* **19**, 2404–2410 (2011).
 44. Hajra A, R. S. Biosynthesis of the cerebroside odd-numbered fatty acids. *J Lipid Res* **3**, 327–332 (1962).
 45. WHO 2015. WHO | Obesity and overweight. at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
 46. Athyros, V. G., Tziomalos, K., Karagiannis, A. & Mikhailidis, D. P. Cardiovascular benefits of bariatric surgery in morbidly obese patients. *Obes. Rev.* **12**, 515–524 (2011).
 47. Wyleźol, M. *et al.* Polish recommendations for bariatric surgery. *Wideochirurgia i inne Tech. małoinwazyjne/Videosurgery Other Miniinvasive Tech. Suppl.* **4**, 8 (2009).
 48. Levi, J., Vinter, S., St Laurent, R. & Segal, L. F as in Fat. How Obesity Threatens America's Future 2012. *Trust Am. Heal.* (2012). at <http://www.trustforamerica.org/>

Johnson Foundation>

49. Prieto-Hontoria, P. L. *et al.* Role of obesity-associated dysfunctional adipose tissue in cancer: A molecular nutrition approach. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **1807**, 664–678 (2011).
50. Donovan, E. L., Pettine, S. M., Hickey, M. S., Hamilton, K. L. & Miller, B. F. Lipidomic analysis of human plasma reveals ether-linked lipids that are elevated in morbidly obese humans compared to lean. *Diabetol. Metab. Syndr.* **5**, 24 (2013).
51. Cao, H. *et al.* Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. *Cell* **134**, 933–44 (2008).
52. Pinnick, K. E. *et al.* Gluteofemoral adipose tissue plays a major role in production of the lipokine palmitoleate in humans. *Diabetes* **61**, 1399–403 (2012).
53. Schwartz, E. A. *et al.* Nutrient Modification of the Innate Immune Response A Novel Mechanism by Which Saturated Fatty Acids Greatly Amplify Monocyte Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **30**, 802-8 (2010)
54. Van Gaal, L. F., Mertens, I. L. & De Block, C. E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* **444**, 875–880 (2006).
55. Lee, J. Y., Zhao, L. & Hwang, D. H. Modulation of pattern recognition receptor-mediated inflammation and risk of chronic diseases by dietary fatty acids. *Nutr. Rev.* **68**, 38–61 (2010).
56. Han, C. Y. *et al.* Differential Effect of Saturated and Unsaturated Free Fatty Acids on the Generation of Monocyte Adhesion and Chemotactic Factors by Adipocytes: Dissociation of Adipocyte Hypertrophy From Inflammation. *Diabetes* **59**, 386–396 (2010).
57. de Heredia, F. P., Gómez-Martínez, S. & Marcos, A. Obesity, inflammation and the immune system. *Proc. Nutr. Soc.* **71**, 332–338 (2012).
58. Molendi-Coste, O., Legry, V. & Leclercq, I. A. Why and How Meet n-3 PUFA Dietary Recommendations? *Gastroenterol. Res. Pract.* **2011**, 364040 (2011).
59. Shaw, B. *et al.* Individual Saturated and Monounsaturated Fatty Acids Trigger Distinct Transcriptional Networks in Differentiated 3T3-L1 Preadipocytes. *J. Nutrigenet. Nutrigenomics* **6**, 1–15 (2013).
60. Perreault, M. *et al.* A distinct fatty acid profile underlies the reduced inflammatory state of

- metabolically healthy obese individuals. *PLoS One* **9**, (2014).
61. Sampath, H. & Ntambi, J. M. The role of stearoyl-CoA desaturase in obesity, insulin resistance, and inflammation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1243**, 47–53 (2011).
 62. Dobrzyn, A. & Ntambi, J. M. Stearoyl-CoA desaturase as a new drug target for obesity treatment. *Obes. Rev.* **6**, 169–174 (2005).
 63. Matter, H. *et al.* Benzimidazole-carboxamides as potent and bioavailable stearoyl-CoA desaturase (SCD1) inhibitors from ligand-based virtual screening and chemical optimization. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **23**, 1817–1822 (2013).
 64. Kotronen, A. *et al.* Comparison of lipid and fatty acid composition of the liver, subcutaneous and intra-abdominal adipose tissue, and serum. *Obesity (Silver Spring)*. **18**, 937–944 (2010).
 65. Wang, J. *et al.* Characterization of HSCD5, a novel human stearoyl-CoA desaturase unique to primates. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **332**, 735–42 (2005).
 66. Sledzinski, T. *et al.* Identification of cyclopropanoic acid 2-hexyl in human adipose tissue and serum. *Lipids* **48**, 839–48 (2013).
 67. Aro, A. Fatty acid composition of serum lipids: is this marker of fat intake still relevant for identifying metabolic and cardiovascular disorders? *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **13**, 253–5 (2003).
 68. Masi, L. N., Rodrigues, A. C. & Curi, R. Fatty acids regulation of inflammatory and metabolic genes. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **16**, 1 (2013).
 69. Fei, J., Cook, C. & Santanam, N. ω -6 lipids regulate PPAR turnover via reciprocal switch between PGC-1 alpha and ubiquitination. *Atherosclerosis* **222**, 395–401 (2012).
 70. Caligiani, A., Marseglia, A. & Palla, G. An Overview on the Presence of Cyclopropane Fatty Acids in Milk and Dairy Products. *J. Agric. Food Chem.* **62**, 7828–7832 (2014).
 71. Su, X. *et al.* Adipose tissue monomethyl branched-chain fatty acids and insulin sensitivity: Effects of obesity and weight loss. *Obesity* **23**, 329–334 (2015).
 72. Crown, S. B., Marze, N. & Antoniewicz, M. R. Catabolism of Branched Chain Amino Acids Contributes Significantly to Synthesis of Odd-Chain and Even-Chain Fatty Acids in 3T3-L1

- Adipocytes. *PLoS One* **10**, e0145850 (2015).
73. Ntambi, J. M. & Miyazaki, M. Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Prog. Lipid Res.* **43**, 91–104 (2004).
74. Dobrzyń, P. Stearoyl-CoA desaturase in the control of metabolic homeostasis. *Postępy Biochem.* **58**, 166–74 (2012).
75. Liu, X., Strable, M. S. & Ntambi, J. M. Stearoyl CoA Desaturase 1: Role in Cellular Inflammation and Stress. *Adv. Nutr. An Int. Rev. J.* **2**, 15–22 (2011).
76. Wahle KW, H. W. The effect of dietary methyl branched-chain fatty acids on aspects of hepatic lipid metabolism in the rat. *Br J Nutr* **47**, 61-67 (1982).
77. Murdolo, G. *et al.* Oxidative stress and lipid peroxidation by-products at the crossroad between adipose organ dysregulation and obesity-linked insulin resistance. *Biochimie* **95**, 585–594 (2013).
78. Pickens, C. A. *et al.* Plasma phospholipids, non-esterified plasma polyunsaturated fatty acids and oxylipids are associated with BMI. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* **95**, 31–40 (2015).
79. Elizondo, A. *et al.* Polyunsaturated fatty acid pattern in liver and erythrocyte phospholipids from obese patients. *Obesity (Silver Spring)*. **15**, 24–31 (2007).
80. del Genio, G. *et al.* Morbid Obesity is Associated to Altered Fatty Acid Profile of Erythrocyte Membranes. *J. Diabetes Metab.* **6**, 582 (2015).
81. Kang, S.-C., Kim, B.-R., Lee, S.-Y. & Park, T.-S. Sphingolipid metabolism and obesity-induced inflammation. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. **4**, 67 (2013).
82. Mika, A. & Stepnowski, P. Current methods of the analysis of immunosuppressive agents in clinical materials: A review. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **127**, 207–231 (2016).
83. Mika, A. & Sledzinski, T. Alterations of specific lipid groups in serum of obese humans: a review. *Obes. Rev.* **18**, 247 – 272 (2017).
84. Warensjö, E., Risérus, U. & Vessby, B. Fatty acid composition of serum lipids predicts the development of the metabolic syndrome in men. *Diabetologia* **48**, 1999–2005 (2005).

85. Garaulet, M., Hernandez-Morante, J. J., Tebar, F. J. & Zamora, S. Relation between degree of obesity and site-specific adipose tissue fatty acid composition in a Mediterranean population. *Nutrition* **27**, 170–6 (2011).
86. Hellmuth, C. *et al.* Association between Plasma Nonesterified Fatty Acids Species and Adipose Tissue Fatty Acid Composition. *PLoS One* **8**, 1–9 (2013).
87. Baylin, A. & Campos, H. The use of fatty acid biomarkers to reflect dietary intake. *Curr. Opin. Lipidol.* **17**, 22–7 (2006).

V. Wykaz innych opublikowanych prac oraz wskaźniki osiągnięć naukowych

I1 Mika A, Gołębiowski M, Szafranek J, Rokicki J, Stepnowski P (2010) Identification of lipids in the cuticle of the parasitic nematode *Anisakis simplex* and the somatic tissues of the Atlantic cod *Gadus morhua*. *Experimental Parasitology* **124**, 334-340

IF = 1.869/MNiSW: 27

I2 Niedzwiecka N, **Mika A**, Białk-Bielińska A, Stepnowski P, Skorkowski EF (2011) Effect of cadmium and glutathione on malic enzyme activity in brown shrimps (*Crangon crangon*) from the Gulf of Gdansk. *Oceanologia* **53**(3), 793-805

IF = 1.242/MNiSW: 20

I3 Mika A, Gołębiowski M, Skorkowski EF, Stepnowski P (2012) Composition of fatty acids and sterols composition in brown shrimp *Crangon crangon* and herring *Clupea harengus* membras from the Baltic Sea. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, **41**(2):57-64

IF = 0.400/MNiSW: 15

I4 Turyn J, **Mika A**, Stepnowski P, Swierczynski J (2012) Unusual increase of Scd1 and Elovl6 expression in rat inguinal adipose tissue. *Central European Journal of Biology*, **2**:192-200

IF = 0.818/MNiSW: 20

I5 Mika A, Skorkowski EF, Stepnowski P (2013) The Use of Different MS Techniques to Determine Glutathione Levels in Marine Tissues. *Food Analytical Methods*, **6**: 789-802

IF = 1.802/MNiSW: 30

I6 Mika A, Skorkowski EF, Stepnowski P, Gołębiowski M (2013) Identification of Lipid Components in the Abdominal Muscle of Fall-Caught *Crangon crangon* from a Coastal Area of the Baltic Sea. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **24**(3): 439-448

IF = 1.253/MNiSW: 25

I7 Mika A, Skorkowski EF, Stepnowski P, Gołębiowski M (2013) Lipid composition of the abdominal muscle of shrimp *Crangon crangon* from the Gulf of Gdansk in spring and winter periods. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 93(7): 1825–1833

IF = 1.129/MNiSW: 20

I8 Sledzinski T, Mika A, Stepnowski P, Proczko-Markuszczyńska M, Kaska L, Stefaniak T, Swierczyński J (2013) Identification of cyclopropaneoctanoic acid 2-hexyl in human adipose tissue and serum. *Lipids*, 48: 839–848

IF = 2.353/MNiSW: 25

I9 Mika A, Gołębiowski M, Skorkowski EF, Stepnowski P (2014) Lipids of adult brown shrimp, *Crangon crangon*: seasonal variations in fatty acids class composition. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 94(5): 993-1000

IF = 1.064/MNiSW: 20

I10 Mika A, Skorkowski EF, Stepnowski P (2014) Effect of Seasonal and Experimental Temperature on *de novo* Synthesis of Fatty Acids in *C. crangon*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 78 (9): 1529-1536

IF = 1.063 /MNiSW: 20

I11 Mika A, Stepnowski P (2016) Current methods of the analysis of immunosuppressive agents in clinical materials: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 127:207-231

IF = 3.169/MNiSW: 35

I12 Mika A, Swieżewska E, Stepnowski P (2016) Polar and neutral lipid composition and fatty acids profile in selected fish meals depending on raw material and grade of products. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 199-207

IF = 2.711/MNiSW: 40

I13 Mika A, Kobiela J, Czumaj A, Chmielewski M, Stepnowski P, Sledzinski T, Hyper-Elongation in Colorectal Cancer Tissue – Cerotic Acid is a Potential Novel Serum Metabolic Marker of Colorectal Malignancies. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, 41, 722-730

IF = 4.652/ MNiSW: 30

I14 Sikorska-Wiśniewska M, Mika A, Śledziński T, Małgorzewicz S, Stepnowski P, Rutkowski B, Chmielewski M (2017). Disorders of serum omega-3 fatty acid composition in dialyzed patients, and their associations with fat mass. *Renal Failure*, 39(1), 406-412

IF = 0.875/MNiSW: 15

I15 Pazda M, Stepnowski P, Sledzinski T, Chmielewski M, Mika A (2017) Suitability of selected chromatographic columns for analysis of fatty acids in dialyzed patients. *Biomedical Chromatography*, (DOI: 10.1002/bmc.4006)

IF = 1.729/MNiSW: 20

Łączny IF 26,129/MNiSW: 362

Prace opublikowane po doktoracie (I9-I15) IF 15,263/ MNiSW: 180

PRACE PRZYJĘTE DO DRUKU

I16 Mika A, Sledzinski T, Stepnowski (2017) Current progress of lipid analysis in metabolic diseases by mass spectrometry methods: A review. *Current Medical Chemistry*, (zaakceptowana – potwierdzenie w załączeniu)

IF = 3.455/MNiSW: 40

Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

Życiorys

Urodziłam się 8 września 1982 roku w Rydułtowach. Ukończyłam Szkołę Podstawową im. Kazimierza Wielkiego w Pstrążnej w 1997 roku, a następnie Liceum Ogólnokształcące Zespołu Szkół Ponadgimnazjalnych nr 1 w Rydułtowach. W 2001 roku rozpoczęłam studia na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego (Oceanografia), a 2 lata później w 2003 roku Ochronę Środowiska na Wydziale Chemii UG. W trakcie studiów na Wydziale Chemii UG skończyłam 3-letni kurs pedagogiczny, uprawniający mnie do nauczania chemii. Pracę magisterską ze specjalizacją Biologia Morza obroniłam 19 maja 2006 roku, zaś drugą pracę magisterską z tytułem magistra Ochrony Środowiska 1 lipca 2008 roku. Od 1 października 2008 roku rozpoczęłam studia doktoranckie z Biologii, Ekologii i Mikrobiologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu Gdańskiego. Dnia 11 października 2013 roku uzyskałam stopień doktora nauk biologicznych w zakresie Biologii. W przeciągu realizowanych studiów doktorskich opublikowałam 8 oryginalnych prac w czasopiśmie tzw. listy filadelfijskiej oraz 16 komunikatów zjazdowych na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Byłam głównym wykonawcą w projekcie (BW/8430-5-0453-0) dotyczącym opracowania metody izolacji i identyfikacji lipidów z materiału biologicznego technikami spektrometrii mas, który realizowany był na Wydziale Chemii UG, oraz kierownikiem projektu na Wydziale Biologii UG (BW 538-L165-0802-12), którego celem było opracowanie i walidacja szybkiej metody oznaczania peptydów w różnym materiale biologicznym także technikami spektrometrii mas. W roku 2013 otrzymałam indywidualną Nagrodę JM Rektora UG I stopnia za osiągnięcia naukowe i działalność w doktoranckim ruchu naukowym za rok 2011/2012. Rok później otrzymałam nagrodę zespołową JM Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego II stopnia za badania nad zmianami metabolicznymi w tkance tłuszczowej pacjentów z otyłością olbrzymią. Od roku 2011 rozpoczęłam współpracę z Gdańskim Uniwersytetem Medycznym w zakresie badań nad metabolizmem lipidów i zaburzeniami lipidowymi w otyłości olbrzymiej. W trakcie studiów doktoranckim podjęłam także studia podyplomowe „Biologia

Sądowa”, które prowadzone przez Wydział Biologii UG oraz Katedrę i Zakład Medycyny Sądowej GUMed. Pracę dyplomową wykonałam pod kierunkiem dr inż. Wiergowskiego w Pracowni Toksykologii Sądowej Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej GUMed, w której opracowałam metodę identyfikacji wybranych substancji psychoaktywnych z grupy amfetamin techniką GC/MS z wykorzystaniem programu do dekonwulacji i identyfikacji widm mas AMDIS i obroniłam ją 27 września 2013 roku. Do lutego 2014 roku realizowałam kilka prac zleconych dla GUMedu, których celem było oznaczenie profilu kwasów tłuszczowych w surowicy i w tkance tłuszczowej zwierząt i ludzi w różnych chorobach metabolicznych. 1 marca 2014 roku rozpoczęłam staż podoktorski w Zakładzie Lipidów Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie od kierownictwem prof. dr hab. Ewy Swieżewskiej, gdzie moim głównym celem badawczym była analiza lipidomiczna i proteomiczna w produktach pochodzenia morskiego technikami spektrometrii mas, dla Północnoatlantyckiej Organizacji Producentów (PAOP). Po rocznym stażu wróciłam do Gdańsku, gdzie na Wydziale Chemii UG rozpoczęłam, jako główny wykonawca, realizację projektu Opus 6 (NCN 2013/11/B/NZ5/00118) we współpracy z Kliniką i Katedrą Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych GUMed, dotyczącego zaburzeń lipidowych na różnych etapach rozwoju przewlekłej choroby nerek. W roku 2015 roku zostałam wykonawcą w projekcie Sonata 7 (NCN 2013/11/B/NZ5/00118), który jest ciągle realizowany w Zakładzie Genetyki Medycznej w Instytucie Matki i Dziecka w Warszawie na temat „zmian globalnej ekspresji genów a profil keratyn i lipidów w rzadkich chorobach skóry z grupy rybiej łuski”. Od roku 2012 rozpoczęłam intensywną współpracę z Katedrą i Zakładem Biochemii Farmaceutycznej GUMed, gdzie obecnie jestem zatrudniona i realizuję badania związane z opracowaniem, walidacją i identyfikacją różnych związków bioaktywnych w materiale klinicznym, w tym także u pacjentów z otyłością olbrzymią. Już w 2013 roku współpraca ta zaowocowała oryginalną pracą polegającą na identyfikacji do tej pory nie opisanych w surowicy ludzkiej kwasów z ugrupowaniem cyklopropanowym. Temat ten był kontynuowany w kolejnej pracy wchodzącej w skład obecnie prezentowanego osiągnięcia naukowego. Od roku 2014 nawiązałam współpracę z Wojskowym Instytutem Medycznym w Warszawie, Warszawskim Uniwersytetem Medycznym, Instytutem Matematyki, Informatyki i Mechaniki Uniwersytetu Gdańskiego, a także ciągle współpracuję z Instytutem Biochemii i Biofizyki PAN, dla których wykonuję badania naukowe, których celem jest identyfikacja zaburzeń lipidów złożonych, jak i kwasów tłuszczowych w różnych biofluidach w chorobach metabolicznych, skóry, a także nowotworach trzustki, jelita grubego i jajnika. W 2016r nawiązałam współpracę z Zakładem Chemii Bioorganicznej Politechniki Wrocławskiej, gdzie odbyłam dwutygodniowy staż w październiku 2016r i styczniu 2017r, a którego celem było

zastosowanie spektroskopii NMR jako narzędzia diagnostycznego do poszukiwania markerów metabolicznych w przewlekłej chorobie nerek. W ciągu trzech lat opublikowałam wyniki swoich badań i zespołu wymienionych jednostek naukowych w 11 pracach oryginalnych i 2 pracach przeglądowych w czasopismach tzw. listy filadelfijskiej, a moje wyniki były prezentowane w 5 komunikatach na konferencjach krajowych i międzynarodowych. 4 oryginalne prace i jedna praca przeglądowa stanowi osiągnięcie naukowe w postępowaniu habilitacyjnym. 7 lipcu 2016r. obronę pracy magisterskiej miała moja pierwsza dyplomantka Magdalena Pazda, obecnie prowadzę także inną pracę magisterską na Wydziale Chemii UG.

W bieżącym roku rozpoczęłam realizację projektu Sonata 11 (NCN 2016/21/D/NZ5/00219), którego jestem kierownikiem, a głównym tematem jest wpływ zabiegu bariatrycznego na poziom bioaktywnych lipidów, takich jak nietypowe kwasy tłuszczowe i produkty ich utleniania w przebiegu otyłości olbrzymiej. Jednocześnie od bieżącego roku jestem także koordynatorem badań chemicznych w projekcie SONATA BIS 6 (NCN 2016/22/E/NZ4/00665), którego tematem są zmiany metabolizmu lipidów w raku jelita grubego, a głównym zadaniem badawczym jest określenie ich roli w rozwoju nowotworu i ocena antyproliferacyjnych właściwości inhibitorów metabolizmu lipidów. Projekt ten realizowany jest w Katedrze i Zakładzie Biochemii Farmaceutycznej GUMed.

Działalność naukowa

Sumaryczny *impact factor* wynosi 43,973 (517 punktów MNiSW), a liczba cytowań wg Web of Science 42, a indeks Hirscha wynosi 4; Scopus 45 i indeks Hirscha 4, wg Google Scholar 66, indeks Hirscha 5, oraz wg ResearchGate liczba cytowań wynosi 54.

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk biologicznych wyniki moich badań zostały opublikowane w 8 oryginalnych pracach (IF= 10,866 MNiSW = 182) i zaprezentowane w 16 komunikatach zjazdowych, prezentowanych na krajowych i międzynarodowych konferencjach.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych mój dorobek obejmuje 11 oryginalnych prac i 2 prace przeglądowe (IF = 33,107 MNiSW = 335) oraz 5 komunikatów zjazdowych prezentowanych na krajowych i międzynarodowych konferencjach. W tym czasie byłam także wykonawcą 3 projektów NCN i jednego projektu jestem kierownikiem.

W mojej pracy naukowej, prócz badań składających się na osiągnięcia naukowe zajmowałam się również:

1. Opracowaniem i walidacją metody izolacji lipidów, a następnie ich identyfikacji technikami spektrometrii mas w organizmach pochodzenia morskiego:
 - a. pasożytach i ich gospodarzach, określając jednocześnie chemiczny cel i zapotrzebowanie pokarmowe infekujących organizmów (**I1**);
 - b. produktach rybnych stanowiących składnik pasz w rolnictwie i akwakulturze (**I12**)
2. Opracowaniem i walidacją metody izolacji lipidów, procedurą derywatywacji kwasów tłuszczowych, a następnie ich identyfikacji technikami spektrometrii mas pracując na organizmach pochodzenia morskiego:
 - a. organizmami stanowiącymi szczebel w naszej drabinie troficznej, określając jednocześnie skład lipidów i kwasów tłuszczowych w różnych tkankach, a także różnice sezonowe w magazynowaniu lipidów w ich tkance mięśniowej, uwarunkowane różnymi warunkami środowiskowymi (**I3, I6, I7, I9**)
3. Określenie intensywności syntezy kwasów tłuszczowych i oznaczenie ich produktów *de novo* lipogenezy u morskich organizmów (**I10**)
4. Opracowaniem i walidacją metody oznaczania aktywnych trójpeptydów (glutation utleniony i zredukowany) (**I2, I5**) a także :
 - a. określenie wpływu glutationu na aktywność enzymu jablczanowego
 - b. określenie roli detoksykacyjnej/właściwości antyoksydacyjnych glutationu w różnych tkankach organizmów morskich
5. Identyfikacją kwasów ze specyficznym ugrupowaniem cyklopropanowym (CPKT), którym przypisuje się właściwości regulacyjne (**I8**)
6. Oznaczaniem profilu kwasów tłuszczowych:
 - a. w tkance tłuszczowej szczurów, stanowiących model badawczy wpływu ograniczenia spożycia żywności (**I4**)
 - b. w tkance nowotworowej i zdrowej śluzówce jelita grubego, oraz surowicy pacjentów z rakiem jelita grubego (CRC), a także określenie potencjalnego biomarkera CRC (**I13**)
 - c. w surowicy dializowanych pacjentów z przewlekłej chorobie nerek oraz porównanie z grupą kontrolną zdrowych ochotników (**I15**)

7. Badaniem wpływu poziomu znacznie zmniejszonej zawartości wielonienasyconych kwasów n-3 w surowicy na funkcjonowanie organizmu dializowanych pacjentów oraz ich związku z masą ciała (**I14**)
8. W moim dorobku znajdują się także prace przeglądowe opisujące:
 - a. wyższość technik łączonych ze spektrometrią mas nad innymi metodami oznaczania leków ich metabolitów (**I11**)
 - b. popularność zastosowania spektrometrii mas w oznaczaniu lipidów w materiale klinicznym pacjentów z chorobami metabolicznymi (**I16**)

Wszystkie powyższe prace opierają się na wykorzystaniu potencjału jaki niesie ze sobą spektrometria mas. Jest to dla mnie szczególnie ważne patrząc na wykorzystanie potencjału chemika analityka. Z drugiej strony jako biochemik chciałam pokazać, jak profil kwasów tłuszczowych, ale także inne grupy lipidów, mimo różnych badanych matryc, są istotne, czy to w diagnostyce choroby (**pkt. 5, 6**), określeniu zaburzeń metabolizmu (**pkt. 5-7**), jako składniki morskich organizmów, a więc „składników pożywienia” determinujących rozwój innych organizmów (**pkt. 1-3**), co z kolei będzie miało przełożenie na jakość diety innych organizmów, w tym ludzkie. Nie można umniejszać roli także naturalnym związkom bioaktywnym, jak glutation, które poprzez swoje właściwości antyoksydacyjne chronią lipidy przed ich utlenieniem (**pkt. 4**). Sama także metoda badawcza musi być odpowiednia, alby uchwycić najmniejsze nawet różnice w zawartości różnych związków, a zastosowane narzędzie analityczne powinno cechować się bardzo szerokim zakresem detekcji, wysoką selektywnością i czułością, dużą przepustowością, niskimi kosztami i krótkim czasem analizy (**pkt. 8**).

Postęp w analizie lipidów poprzez zastosowanie spektrometrii mas (MS) pozwala na wykrycie zmian w składzie i zawartości lipidów, które są spowodowane rozwojem choroby. Co więcej, otwiera nowe możliwości identyfikacji i oznaczenia biomarkerów lipidowych, umożliwia wykrywanie nowych metabolitów, które są bardzo potrzebne w diagnozowaniu choroby, prognozowaniu i rozwoju terapeutycznym oraz pozwala na śledzenie metabolizmu wielu grup/klas lipidów. Postęp ten możliwy jest dzięki różnym źródłom jonizacji, analizatorom, technikom separacji, programom do kwantyfikacji i identyfikacji lipidów, a także rozległych, wielozadaniowych analiz statystycznych, stosowanych w MS. Analiza lipidowa w badaniach klinicznych jest wciąż ogromnym wyzwaniem ze względu na dużą różnorodność struktur lipidowych i ich różnych właściwości fizykochemicznych. Dlatego ciągle ulepszane są i powstają nowe procedury analityczne, opierające się na optymalizacji przygotowania

próbek i metodzie izolacji/ekstrakcji i analizie docelowej. Jednocześnie producenci oferują coraz lepsze narzędzia analityczne o ulepszonych parametrach.

Wiele z badanych przeze mnie chorób, stanowi poważny problem cywilizacyjny, jak choroby metaboliczne, czy nowotwory. Rozwój skutecznych strategii diagnostycznych i terapeutycznych wymaga pełnego zrozumienia patofizjologii tych chorób. Lipidy poprzez oddziaływanie z różnymi białkami, receptorami i szlakami sygnałowymi odgrywają kluczową rolę w wielu procesach komórkowych, takich jak metabolizm, magazynowanie energii, proliferacja i apoptoza. Oprócz czynników ryzyka środowiskowego i genetycznego, również zaburzenia metabolizmu lipidów i ich funkcji przyczyniają się do rozwoju choroby.

POZOSTAŁE GŁÓWNE KIERUNKI BADAŃ

Zburzenia profilu kwasów tłuszczowych w tkance nowotworowej jelita grubego

Rak jelita grubego (*colorectal cancer* - CRC) jest drugą najczęstszą przyczyną umieralności wśród pacjentów onkologicznych. Pomimo postępu leczenia wciąż potrzebne są nowe markery diagnostyczne i prognostyczne CRC oraz nowe cele terapeutyczne. Zaburzenia metabolizmu lipidów, węglowodanów, kwasów nukleinowych i aminokwasów w komórkach nowotworowych zostały już wcześniej udokumentowane. Ostatnie badania wskazują na nadekspresję syntazy kwasów tłuszczowych (FASN) w komórkach CRC, enzymu, który odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy energii i dostarcza kwasów tłuszczowych do produkcji lipidów w szybko dzielących się w komórkach CRC. Dlatego postanowiłam sprawdzić jak zwiększona aktywność enzymów lipidogennych wpływa na skład i zawartość kwasów tłuszczowych.

Do badań wykorzystałam materiał biologiczny w postaci próbek raka jelita grubego i prawidłowej błony śluzowej jelita grubego, które zostały pobrane od 19 pacjentów z rozpoznaniem raka jelita grubego w stadium zaawansowania I-III (I13). Celem było porównanie profilu KT w obu tkankach. Została także przebadana surowica pacjentów oraz 17 kontrolnych zdrowych. Ostatecznie stwierdziłam w tkance nowotworowej znacząco wyższy poziom nasyconych KT 22, 24 i 26-węglowych. Wynik ten wskazywał na wzmożoną elongację KT w tkance nowotworowej, dlatego kolejnym celem badań było zbadanie ekspresji genów elongazy KT. Stwierdziłam, że silniejsza ekspresja genu ELOVL1 i ELOVL6 była notowana w chorej tkance, w porównaniu do zdrowej śluzówki jelita (4 i 9-krotnie podwyższona, odpowiednio), oraz obserwowałam u nich wyższe wartości indeksu elongazy 18:0/16:0. Najważniejszym osiągnięciem tych badań, była identyfikacja kwasu

cerotynowego, (heksakozanowy, 26:0) w surowicy wszystkich pacjentów z CRC, przy czym żaden zdrowy uczestnik badania tego kwasu nie posiadał. Moje badania sugerują, że kwas ten pochodzi z komórek nowotworowych, gdzie zachodzi zwiększona elongacja KT. Kwas ten wydaje się być silnym kandydatem na specyficzny marker nowotworów jelita grubego.

Dalsze badania metabolizmu lipidów w raku jelita grubego oraz określenie ich roli w rozwoju nowotworu są w trakcie realizacji (projekt NCN –SONATA BIS 6). W projekcie ocenimy także właściwości antyproliferacyjne inhibitorów metabolizmu lipidów.

Zaburzenia profilu kwasów tłuszczowych u pacjentów w schyłkowej chorobie nerek

Choroby sercowo-naczyniowe (ChSN) są główną przyczyną śmierci u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek (PChN), a ich ryzyko wzrasta wraz z postępem choroby. Co więcej, to właśnie zaburzenia lipidowe - dyslipidemia, przyczynią się do rozwoju ChSN. W pracy **I14** opisano wyniki badań surowicy 33 hemodializowanych pacjentów i 22 zdrowych ochotników. Profil kwasów tłuszczowych u dializowanych pacjentów charakteryzował się znacznie mniejszą zawartością WNKT n-3, która zmniejszała się wraz z czasem dializowania i korelowała pozytywnie z masą tkanki tłuszczowej. To z pewnością zwiększa występowania u pacjentów z PChN ryzyko i częstość chorób sercowo-naczyniowych, jak również zwiększa stan zapalny organizmu i powoduje ogólne wyniszczenie organizmu i sarkopenię. Wyniki te wskazują, że wyższa masa ciała zapobiega deficytowi kwasów n-3 u dializowanych pacjentów.

W innej pracy analizowany był całkowity profil KT u pacjentów ze schyłkową chorobą nerek (**I15**). Także cały profil KT w surowicy został oznaczony we wszystkich stadiach rozwoju PChN, jak również w tkance tłuszczowej i surowicy pacjentów poddanych transplantacji nerki, w ramach realizowanego projektu NCN OPUS 6, a wyniki badań są w trakcie opracowania.

NOWE KIERUNKI BADAŃ METABOLICZNYCH

Metabolomika w chorobach metabolicznych

Przewlekła choroba nerek (PChN) jest jednym z głównych problemów współczesnej medycyny i ogromnym obciążeniem socjoekonomicznym. Szczegółowa wiedza na temat zmian metabolicznych związanych z jej rozwojem jest niezbędnym warunkiem aby zapobiec jej postępowi. Jednak wciąż mało wiadomo na temat zaburzeń metabolicznych w PChN. Podstawowym parametrem oceniającym

funkcję nerek jest stężenie mocznika i kreatyniny w surowicy oraz wskaźnik filtracji kłębuszkowej (GFR). Czy to wystarczy? Pomiary te są często mylne, zakłócone przez zmiany masy mięśniowej lub dietę. Dlatego ciągle poszukujemy nowych rozwiązań, aby monitorować funkcję nerek i tym bardziej oszacować ryzyko rozwoju choroby. Jednym z nich jest możliwość wykorzystania biofluidów pacjenta w celu poszukiwania zmian metabolicznych specyficznych dla rozwoju PChN, co zostało wykorzystane przeze mnie. Endogenne metabolity są głównymi prekursorami wielu kluczowych szlaków metabolicznych, a dysfunkcja szlaków może wpływać na funkcję metaboliczną całego organizmu. Dlatego, stężenia wybranych metabolitów mogą odzwierciedlać aktualny stan zdrowia pacjenta.

W tym badaniu wykorzystałam spektroskopię ^1H NMR i wielowymiarową analizę danych, aby określić specyficzne dla PChN zmiany w metabolitach surowicy pacjentów w stadium 3a i 3b rozwoju choroby. NMR jest szybką metodą analizy, często wykorzystywana do poszukiwania nowych biomarkerów w szerokim spektrum chorobowym. Zidentyfikowałam 31 metabolitów, w tym 17 endogennych metabolitów różniło się od grupy kontrolnej. Z kolei, analiza MetPA wykazała znaczne różnice międzygrupowe w 14 metabolitach i w 5 potencjalnych szlakach docelowych. Zmianie podlegał metabolizm argininy i proliny; metabolizm glicyny, seryny i treoniny; metabolizm pirogronianu; metabolizm D-glutaminy i D-glutaminianu oraz metabolizm tauryny i hypotauryny. Aby sprawdzić poprawność szacowania z wykorzystaniem NMR i modeli dyskryminacyjnych, wartości glukozy i kreatyniny otrzymane z rutynowego badania w laboratorium klinicznym zostały skorelowane z moimi wynikami. Silne korelacje ($R = 0,92$ i $R = 0,86$ dla kreatyny i glukozy) potwierdziły odpowiedni wybór metodyki badań. Ze śmiałością stwierdzam, że zastosowanie powyżej metody pozwala na ocenę zmieniających się poziomów metabolitów na różnych etapach rozwoju PChN, która zdecydowanie wywiera wpływ na konkretne szlaki metaboliczne. Badanie tą metodą pozwala także na monitorowaniu funkcji nerek oraz wykrywaniu PChN we wczesnych stadiach choroby.

Potencjalne wykorzystanie lipidomu surowicy w badaniach rutynowych

Drugim przykładem zastosowania spektroskopii ^1H NMR było użycie NMR do szybkiej diagnostyki zmian lipidomu w osoczu po zabiegu bariatrycznym. Standardowe badania lipidowe laboratoryjne obejmują proste oznaczenie cholesterolu całkowitego, triacylogliceroli i LDL. W naszym badaniu analizowano lipidy wyekstrahowane z surowicy 16 otyłych pacjentów przed i po zabiegu bariatrycznym. Stwierdziłam, że różne grupy lipidowe w surowicy zmniejszyły się w różnym stopniu

po zabiegu bariatrycznym. Co więcej, nasza metoda pozwoliła na szybkie, proste i nieinwazyjne wykrycie 30 grup strukturalnych różnych lipidów, w tym triacylogliceroli, fosfatydylocholiny, fosfatydyloetanolaminy, fosfatydyloglicerolu, sfingomieliny, całkowitej sumy fosfolipidów, całkowitego, wolnego i zestryfikowanego cholesterolu, całkowitej zawartości KT oraz zawartości nienasyconych KT. Stwierdzam, że analiza składu lipidowego surowicy w oparciu o pomiary NMR może znacząco rozszerzyć zakres rutynowo oznaczanych markerów lipidowych, co będzie bardzo ważne w klinicznej ocenie stanu zdrowia pacjentów otyłych przed i po zabiegu chirurgii bariatrycznej i śmiało może być stosowane w innych chorobach metabolicznych.

Narzędzia chemii analitycznej są szeroko stosowane w wielu różnych dziedzinach nauki i przemysłu, zyskują też coraz większą popularność w laboratoriach klinicznych. Ze względu na ich uniwersalny charakter, dostępność wielu standardów wewnętrznych i wysoką selektywność, techniki chemii analitycznej zapewniają wysokiej jakości dane, które mogą stanowić podstawę wielu nowych badań przesiewowych.

Pozostałe aktualnie prowadzone przeze mnie badania to:

- a. badania wpływu nadmiernej elongacji KT i identyfikacja długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w chorobach skóry;
- b. określanie zmian polarnych lipidów, kwasów tłuszczowych i cholesterolu w chorobie rybiej łuski;
- c. oznaczanie profilu KT, cholesterolu i lipidów złożonych w płynach puchlinowych pacjentek z rakiem jajnika;
- d. oznaczanie składu i zawartości hormonów steroidowych w komórkach raka trzustki;
- e. oznaczanie zaburzeń lipidowych w raku pęcherza moczowego;
- f. optymalizacja i walidacja metody do oznaczania kwasów żółciowych w surowicy u otyłych pacjentów.