

AUTOREFERAT

1. Imię i Nazwisko:

Monika Katarzyna Duda

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

2005 – doktor nauk medycznych w zakresie biologii medycznej, Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie.

Tytuł rozprawy doktorskiej: *Mechanizm ochronnego działania hartowania niedokrwieniem na śródbłonek naczyniowy w niedokrwionym i reperfundowanym sercu; Rola endoteliny, kanałów potasowych ATP-zależnych i wolnych rodników tlenowych.*

2000 – magister analityki medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Akademia Medyczna w Bydgoszczy.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych:

2008 – obecnie – adiunkt, Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

2007 – 2008 – Post Doctoral Fellowship, Division of Cardiology, Department of Medicine University of Maryland, Baltimore, US

2005 – 2006 – Post Doctoral Fellowship, Department of Physiology and Biophysics, CASE Western Reserve University, Cleveland, US

2000 – 2005 – asystent, Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

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

a) Tytuł osiągnięcia naukowego:

Kardioprotekcyjny efekt ω -3 wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w niewydolności serca

b) (Autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa):

(1) Duda MK, O'Shea KM, Stanley WC. *Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for the treatment of heart failure: mechanisms and clinical potential.* Cardiovasc Res. 2009; 84(1): 33-41. Review.
IF – 5.801

(2) Duda MK, O'Shea KM, Lei B, Barrows BR, Azimzadeh AM, McElfresh TE, Hoit BD, Kop WJ, Stanley WC. *Dietary supplementation with omega-3 PUFA increases adiponectin and attenuates ventricular remodeling and dysfunction with pressure overload.* Cardiovasc Res. 2007; 76(2): 303-10.
IF – 6.127

- (3) **Duda MK**, O'Shea KM, Tintinu A, Xu W, Khairallah RJ, Barrows BR, Chess DJ, Azimzadeh AM, Harris WS, Sharov VG, Sabbah HN, Stanley WC. *Fish oil, but not flaxseed oil, decreases inflammation and prevents pressure overload-induced cardiac dysfunction*. *Cardiovasc Res*. 2009; 81(2): 319-27.
IF – 5.801
- (4) Shah KB, **Duda MK**, O'Shea KM, Sparagna GC, Chess DJ, Khairallah RJ, Robillard-Frayne I, Xu W, Murphy RC, Des Rosiers C, Stanley WC. *The cardioprotective effects of fish oil during pressure overload are blocked by high fat intake: role of cardiac phospholipid remodeling*. *Hypertension*. 2009; 54(3): 605-11.
IF – 6.614
- (5) **Duda M**, 2015 Patent: *Zastosowanie oleju zawierającego kwas dokozaheksaenowy DHA do wytwarzania leku przeznaczonego do leczenia patologii mięśnia sercowego wtórnych do przecięcia ciśnieniowego i/lub objętościowego*. Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej.

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

Badania epidemiologiczne pokazują, że niewydolność serca rozpoznawana jest u 1–2% populacji dorosłych mieszkańców krajów rozwiniętych. Zachorowalność rośnie wraz z wiekiem i w grupie powyżej 70 roku życia częstość występowania przekracza 10% [1, 2]. Do najczęstszych przyczyn uszkodzenia mięśnia sercowego skutkującego rozwojem niewydolności serca należą: choroba wieńcowa (~70% przypadków), nadciśnienie tętnicze (~20%) oraz wady zastawkowe (~10%) [3]. Obecna terapia stosowana w niewydolności serca skierowana jest głównie na zmniejszenie aktywności neurohormonalnej (antagoniści receptorów β -adrenergicznych, inhibitory konwertazy angiotensyny, antagoniści receptorów dla angiotensyny i aldosteronu) oraz mechaniczne odciążenie lewej komory serca (LV). Pomimo optymalnego leczenia, długoterminowe rokowanie chorych pozostaje złe – około 50% pacjentów umiera w ciągu 5 lat [2]. Wraz z obserwowanym trendem wzrostu długości życia, rosła będzie liczba chorych z niewydolnością serca. A zatem, jednym z wyzwań współczesnej medycyny jest poszukiwanie nowych metod zapobiegających rozwojowi niewydolności serca, jaki i jej leczenia.

Międzynarodowe towarzystwa kardiologiczne rekomendują dietę bogatą w tłuste morskie ryby, obfite w ω -3 wielonienasycone kwasy tłuszczowe (ω -3 WNKT) – kwas dokozaheksaenowy (DHA) i kwas eikozapentaenowy (EPA), w profilaktyce chorób sercowo-naczyniowych. Suplementacja 1 g/dobę EPA+DHA zalecana jest w prewencji wtórnej choroby wieńcowej serca, zmniejsza ryzyko wystąpienia kolejnego incydentu niedokrwiennego, arytmii i nagłej śmierci sercowej [4, 5]. Wyższe dawki EPA+DHA 3–4 g/dobę są skuteczne w leczeniu hipertrójglicydemii [6]. Badania epidemiologiczne sugerują, że ω -3 WNKT mogą okazać się również skuteczne w zapobieganiu rozwojowi niewydolności serca. W badaniu *Cardiovascular Health Study*, w czasie 12-letniej obserwacji 4 738 mężczyzn powyżej 65 roku życia zauważono, że wśród osób spożywających ryby 1–2 razy w tygodniu ryzyko rozwoju niewydolności serca było mniejsze o 20%, a wśród osób spożywających, co najmniej 3 razy w tygodniu o 31%, niż u tych, którzy spożywali ryby rzadziej niż 1 raz w miesiącu [7]. Ponadto, ilość EPA+DHA w diecie korelowała ujemnie z ryzykiem wystąpienia niewydolności serca. Wyniki te zostały potwierdzone w kolejnych dużych prospektywnych badaniach populacyjnych [8].

ω -3 WNKT należą do rodziny tzw. niezbędnych kwasów tłuszczowych, które muszą być regularnie dostarczane z dietą. ω -3 WNKT nie mogą być syntetyzowane *de novo* w organizmie człowieka (jak i innych ssaków) ze względu na brak desaturazy – enzymu, który odpowiada za powstawanie

podwójnych wiązań w pozycji ω -3. Prekursorem rodziny ω -3 jest kwas α -linolenowy (ALA, 18:3 ω -3), który na drodze elongacji i desaturacji łańcucha węglowodanowego jest przekształcany do aktywniejszych biologicznie EPA (20:5 ω -3) i DHA (22:6 ω -3). Bogatym źródłem EPA i DHA są tłuste czerwone morskie ryby (np. łosoś, tuńczyk, śledź). Jednak ryby również nie syntetyzują EPA i DHA, a jedynie je gromadzą, pierwotnym źródłem ω -3 WNKT jest plankton oraz algi morskie. DHA występuje także w mleku matek i jajach. Natomiast bogate w ALA są tłuszcze roślinne takie jak olej lniany, olej rzepakowy i oliwa z oliwek oraz orzechy.

Dostarczone z pokarmem ω -3 WNKT trafiają do krwi, z której są wychwytywane przez komórki docelowe, min. kardiomiocyty i adipocyty. Dokomórkowy transport odbywa się poprzez szybką bierną dyfuzję typu *flip-flop* lub z udziałem białek transportujących kwasy tłuszczowe FAT/CD36 (*fatty acid translocase/CD36*) i FATP (*fatty acid transport protein*). W komórkach ω -3 WNKT są szybko przekształcane do cząsteczek acylo-CoA, które mogą być estryfikowane do fosfolipidów i wbudowywane do błon komórkowych. Wpływa to na właściwości błon plazmatycznych i w konsekwencji na funkcjonowanie związanych z nimi enzymów, receptorów i kanałów jonowych. Uwalnianie z fosfolipidów błonowych przez fosfolipazę A₂ ω -3 WNKT mogą stać się substratem do produkcji eikozanoidów. Z udziałem białek wiążących acylo-CoA ω -3 WNKT mogą być również transportowane do jądra komórkowego, gdzie modulują aktywność jądrowych receptorów i czynników transkrypcyjnych. Z opisaną wielokierunkową aktywnością ω -3 WNKT związane jest ich szerokie spektrum działania. EPA+DHA modyfikują korzystnie profil lipidowy surowicy obniżając poziom trójglicerydów i prowadząc do niewielkiego wzrostu stężenia HDL i wzrostu wielkości cząsteczek LDL. Łagodzą odczyn zapalny zmniejszając uwalnianie prozapalnych cytokin i syntezę eikozanoidów z kwasu arachidonowego oraz zwiększając produkcję przeciwzapalnych resolwin i adiponektyny. Wpływają na funkcjonowanie mitochondriów, czego konsekwencją jest efektywniejsza produkcja ATP. Wywierają efekt hipotensyjny u chorych z nadciśnieniem tętniczym, co może być wynikiem zwiększonej produkcji tlenu azotu i poprawie funkcji śródbłonna. Obszerne informacje dotyczące aktywności biologicznej ω -3 WNKT i wynikające z tego potencjalnie korzystne efekty ich działania zostały opisane w pracy poglądowej „*Omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation for the treatment of heart failure: mechanisms and clinical potential*” *Cardiovasc Res.* 2009; 84(1): 33-41, wchodzącej w skład mojego osiągnięcia habilitacyjnego.

Przytoczone obserwacje epidemiologiczne skłoniły nas do podjęcia badań eksperymentalnych oceniających skuteczność suplementacji diety ω -3 WNKT w zapobieganiu rozwojowi niewydolności serca. ***Celem badań doświadczalnych, które zostały opisane w pracach przedstawionych, jako osiągnięcie habilitacyjne, była ocena potencjalnie korzystnego wpływu ω -3 WNKT na mięsień sercowy poddany chronicznemu przeciążeniu ciśnieniowemu oraz poznanie elementów mechanizmu odpowiedzialnego za to działanie.*** W doświadczeniach wykorzystaliśmy model, w którym przeciążenie ciśnieniowe LV serca szczura indukowane jest zwężeniem aorty brzusznej. Model ten charakteryzuje się przerostem, postępującą przebudową, co w konsekwencji prowadzi do upośledzenia funkcji skurczowej LV i rozwoju niewydolności serca. Na poziomie molekularnym obserwowana jest apoptoza oraz wzrost ekspresji mRNA dla natriuretycznego peptydu przedsionkowego (ANP) i przesunięcie ekspresji mRNA dla łańcuchów ciężkich miozyny (MHC) z izoformy α na izoformę β (przyjęte markery przerostu LV i niewydolności serca [9, 10]).

Wyniki pierwszych doświadczeń zostały przedstawione w pracy „*Dietary supplementation with omega-3 PUFA increases adiponectin and attenuates ventricular remodeling and dysfunction with pressure overload*” *Cardiovasc Res.* 2007; 76(2): 303-10. Nasze badania pokazały, że w grupie zwierząt karmionych dietą wzbogaconą olejem rybnym bogatym w ω -3 WNKT, w dawce odpowiadającej suplementacji u ludzi 6.2 g/dobę EPA+DHA, przerost LV w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe był

mniejszy niż u zwierząt karmionych dietą kontrolną (18% vs. 31%) (efekt kardioprotekcyjny). EPA+DHA zapobiegały także przebudowie i upośledzeniu funkcji skurczowej LV, o czym świadczyły mniejszy wzrost objętości późno-rozkurczowej i późno-skurczowej oraz poprawa frakcji wyrzutowej LV (efekt kardioprotekcyjny) w porównaniu do zwierząt bez suplementacji ω -3 WNK. EPA i DHA są silnymi aktywatorami rodziny jądrowych czynników transkrypcyjnych PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*) [11]. W adipocytach PPAR γ kontrolują ekspresję adiponektyny [12], hormonu o korzystnym wpływie na układ sercowo-naczyniowy [13]. Wcześniejsze badania pokazują, że myszy pozbawione genu dla adiponektyny miały większy przerost i dysfunkcję LV oraz wyższą śmiertelność w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe niż myszy kontrolne, a efektowi temu zapobiegała terapia genowa przywracająca syntezę białka [14]. W naszych badaniach kardioprotekcyjny efekt suplementacji diety EPA+DHA był związany ze wzrostem ekspresji mRNA dla adiponektyny w najądrzastej tkance tłuszczowej a w konsekwencji zwiększonym jej stężeniem w osoczu. Chociaż tkanka tłuszczowa uważana jest za główne źródło hormonu, obserwowaliśmy niewielką ekspresję mRNA dla adiponektyny w sercu, co wskazuje również na jej miejscową produkcję. Obecność receptorów dla adiponektyny typu 1 i 2 w tkance LV świadczy o jej bezpośrednim działaniu na komórki miokardium. Sercowa ekspresja mRNA dla adiponektyny była obniżona u zwierząt z przeciążeniem ciśnieniowym karmionych dietą kontrolną, a zapobiegała temu dieta z ω -3 WNK. Ochronne działanie adiponektyny na serce łączone jest m.in. z aktywacją kinazy zależnej od AMP (AMPK) [13, 14] i zahamowaniem pro-przerostowej kinazy białkowej B (Akt) [15]. Jednak w naszych badaniach nie obserwowaliśmy znaczącego wpływu suplementacji diety ω -3 WNTK na aktywność kinaz AMPK i Akt.

Jak pokazuje literatura, nasilonemu przerostowi i niewydolności serca towarzyszy spadek sercowej ekspresji PPAR α [16], które to kontrolują syntezę białek uczestniczących w metabolizmie kwasów tłuszczowych i biogenezie mitochondrialnej [17]. EPA i DHA są silnymi aktywatorami rodziny PPAR, co sugeruje, że jednym z korzystnych efektów ich działania może być aktywniejszy metabolizm kwasów tłuszczowych, poprawa funkcjonowania mitochondriów i efektywniejsza produkcja ATP. W omawianej pracy nie zaobserwowaliśmy jednak wpływu ω -3 WNK na poziom ekspresji mRNA dla PPAR α i ekspresji mRNA dla genów regulowanych przez PPAR α (acylotransferazy karnityno-palmitynowej CPT 1 β , białka rozprzegającego UCP3, syntazy cytrynianowej, dehydrogenazy acylo-CoA średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych MCAD i kinazy dehydrogenazy pirogronianowej PDK4) oraz aktywności enzymów syntazy cytrynianowej i MCAD.

Podsumowując, suplementacja diety ω -3 WNK zapobiegała dysfunkcji LV wywołanej przeciążeniem ciśnieniowym, a efekt ten był związany ze wzrostem ekspresji adiponektyny w tkance tłuszczowej i w konsekwencji ze zwiększonym jej stężeniem w osoczu.

Wkrótce po opublikowaniu omówionej powyżej pracy, ukazały się wyniki pierwszego badania klinicznego, w którym zastosowano suplementację ω -3 WNK u pacjentów z niewydolnością serca (II-IV klasa NYHA) – GISSI-HF [18]. Zaobserwowano, jedynie istotną statystycznie 9% redukcję liczby zgonów i 8% spadek liczby hospitalizacji. Interpretując niewielkie korzyści ze stosowania suplementacji ω -3 WNK, należy zwrócić uwagę, że pacjenci przyjmowali niską dawkę \sim 0.85 g/dobę EPA+DHA na dobę. W świetle tych badań postanowiliśmy sprawdzić czy korzyści wynikające z przyjmowania ω -3 WNK zależą od wielkości suplementacji, a wyniki badań zostały przedstawione w publikacji „*Fish oil, but not flaxseed oil, decreases inflammation and prevents pressure overload-induced cardiac dysfunction*” *Cardiovasc Res.* 2009; 81(2): 319-27. W tym celu, zastosowaliśmy trzy wielkości suplementacji diety rybim olejem, które odpowiadały dawkom 1.6, 5.1 i 15.5 g/dobę EPA+DHA u ludzi. Wyniki doświadczeń pokazały, że u szczurów z przeciążeniem ciśnieniowym ω -3 WNK zapobiegały

przebudowie i dysfunkcji skurczowej LV proporcjonalnie do ilości EPA+DHA w diecie. Kardioprotekcyjny wpływ ω -3 WNKT na przebudowę LV obserwowaliśmy na poziomie makroskopowym jak i na poziomie molekularnym. U szczurów z przeciążeniem ciśnieniowym, suplementacja diety ω -3 WNKT proporcjonalnie do dawki zmniejszała fragmentację DNA (świadcząca o apoptozie komórek) oraz przesunięcie ekspresji mRNA dla MHC z izoformy α na izoformę β w porównaniu do zwierząt karmionych dietą kontrolną. Wyniki naszych doświadczeń znalazły potwierdzenie w późniejszym badaniu klinicznym. Do badania zakwalifikowano pacjentów z niewydolnością serca (III i IV klasa NYHA) o etiologii innej niż niedokrwienność. Po 3 miesiącach stosowania suplementacji EPA+DHA obserwowano zależny od dawki wzrost frakcji wyrzutowej: $24\pm 7\%$ vs. $29\pm 8\%$ dla dawki 4 g/dobę ($p=0.005$) oraz $24\pm 8\%$ vs. $27\pm 8\%$ dla dawki 1 g/dobę ($p=0.02$) [19].

Wyniki uzyskanych badań pozwoliły nam także na lepsze poznanie mechanizmu odpowiedzialnego za kardioprotekcyjne działanie ω -3 WNKT. Suplementacja diety olejem rybim prowadziła do istotnych zmian w składzie lipidowym błon komórkowych – obserwowaliśmy wzrost ilości EPA i DHA w błonach lipidowych LV, czemu towarzyszył spadek zawartości kwasów arachidonowego (20:4 ω -6) i oleinowego (18:1 ω -9), a zmiany te były proporcjonalne do wielkości suplementacji. W modelach liposomów pokazano, że fosfolipidy zawierające DHA mają charakterystyczny kształt, któremu zawdzięczają dużą elastyczność i giętkość, dodatkowo występuje przestrzenne niedopasowanie cząsteczek DHA z cholesterolem i sfingofosfolipidami [20, 21]. W konsekwencji błony o dużej zawartości DHA w fosfolipidach charakteryzują się mniejszą grubością, mniejszym stopniem upakowania i zwiększoną płynnością. A zatem obserwowane przez nas zmiany w składzie lipidowym błon, w tym 2-3 krotny wzrost ilości DHA, mogą wiązać się ze zmianami fizykochemicznymi błon komórkowych i wpływać na funkcjonowanie związanych z nimi receptorów, kanałów jonowych i enzymów.

Tak jak we wcześniejszych badaniach suplementacja diety EPA+DHA prowadziła do wzrostu stężenia adiponektyny w osoczu, dodatkowo jej poziom był wprost proporcjonalny do wielkości suplementacji. Zauważyliśmy także, że wraz ze zwiększającym się stężeniem adiponektyny zmniejszały się przebudowa ($r = -0.71$, $p < 0.001$) i upośledzenie funkcji skurczowej ($r = -0.78$, $p < 0.001$) LV. ω -3 WNKT, tak jak poprzednio, nie wpływały na aktywność kinaz AMPK i Akt, co sugeruje, że działanie adiponektyny w naszym modelu związane jest z innym mechanizmem. Postawiliśmy hipotezę, że korzystny efekt adiponektyny może wynikać z jej działania przeciwzapalnego. Wiadomo, że odczyn zapalny jest nieodłącznym elementem patomechanizmu odpowiedzialnego za rozwój niewydolności serca [22]. W hodowli ludzkich komórek śródbłonna pokazano, że adiponektyna hamuje odpowiedź zapalną wywołaną przez czynnik martwicy nowotworów (TNF α) [23]. Dodatkowo, u pacjentów wysoki poziom adiponektyny związany jest ze spadkiem poziomu markerów zapalenia [24]. W naszych badaniach przeciążeniu ciśnieniowemu towarzyszył wzrost stężenia TNF α w surowicy zwierząt karmionych dietą kontrolną, a EPA+DHA drastycznie go obniżały. W tym kontekście pokazano, że myszy pozbawione genu dla TNF α miały mniejszą odpowiedź zapalną, zwłóknienie, apoptozę oraz przebudowę LV w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe niż myszy kontrolne [25]. A zatem obserwowany przez nas spadek poziomu TNF α w surowicy może odpowiadać za mniejszą przebudowę LV na poziomie strukturalnym, jak i molekularnym w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe u szczurów karmionych dietą z EPA+DHA.

U zwierząt ze zwężoną aortą zauważyliśmy także wzrost poziomu tromboksanu B₂ i 6-keto prostaglandyny F₁, co może być konsekwencją zwiększonej produkcji odpowiednio tromboksanu A₂ przez płytki krwi i prostacykliny przez komórki śródbłonna w odpowiedzi na zwiększony *shear stress*. Podobne zmiany kompozycji kwasów tłuszczowych w fosfolipidach błon plazmatycznych, które obserwowaliśmy w komórkach miokardium opisano również w płytkach krwi, erytrocytach i komórkach zapalnych [26, 27]. Pokazano także, że w odpowiedzi na mediatory zapalenia takie jak TNF α może wzrastać produkcja eikozanoidów w hodowlach kardiomiocytów [28]. W naszych doświadczeniach

suplementacja diety EPA+DHA prowadziła do spadku stężenia poziomu tromboksanu B₂ i 6-keto prostaglandyny F₁ w moczu. Efekt ten można łączyć z obserwowanym spadkiem poziomu TNF α jak również z mniejszą ilością kwasu arachidonowego w fosfolipidach błonowych. Kwas arachidonowy jest substratem dla cyklooksygenazy-2 (COX-2), a spadek jego dostępności skutkuje mniejszą produkcją tromboksanu A₂ i prostacykliny. Alternatywnym substratem dla COX-2 może stać się EPA, którego ilość wzrasta w błonach, co prowadzi do syntezy mniej aktywnych biologicznie prostaglandyn i tromboksanu serii 3 i 5 [29]. EPA i DHA są również substratem dla COX do produkcji resolwin, które są naturalnymi substancjami wygaszającymi proces zapalny [30, 31].

Podsumowując, kardioprotekcyjny efekt suplementacji rybim olejem w naszym modelu związany był z przeciwzapalnym działaniem EPA+DHA, o czym świadczyły wzrost stężenia adiponektyny i spadek TNF α w krążeniu oraz spadek poziomu tromboksanu B₂ i 6-keto prostaglandyny F₁ w moczu. Nasilenie obserwowanych korzyści było zależne od dawki EPA+DHA.

Celem, jaki postawiliśmy sobie w tej części badań była również ocena aktywności biologicznej mniej poznanego ω -3 WNKT – ALA, którego bogatym źródłem są oleje roślinne. Do podjęcia tego tematu skłoniły nas przesłanki ekonomiczne, oleje roślinne są tańszym i łatwiej dostępnym źródłem ω -3 WNKT niż olej rybi. Dodatkowo pokazano, że wśród 36 tys. mieszkanek Szwecji w wieku 48 – 83 lat stwierdzono o 20% mniejsze ryzyko rozwoju niewydolności serca u uczestniczek badania jedzących ryby raz w tygodniu, o 30% mniejsze u spożywających 2 razy i tylko 9% mniejsze u jedzących ryby 3 i więcej razy, w porównaniu z uczestniczkami, w których diecie brakowało rybiego tłuszczu [32]. Obserwowany brak korzyści wynikających z większego spożywania ryb i EPA+DHA może wynikać z jednoczesnego wzrostu spożycia rtęci, dioksyn i polichlorowanych bifenyli [33, 34]. Związki te gromadzą się w tkance tłuszczowej ryb obok ω -3 WNKT i jak pokazują badania zwiększają ryzyko chorób sercowo-naczyniowych [33, 34]. Tak więc, przy coraz większym zanieczyszczeniu wód oleje roślinne mogłyby się stać alternatywnym źródłem ω -3 WNKT. W przeprowadzonej serii eksperymentów szczury karmiliśmy dietami wzbogaconymi olejem lnianym zawierającym ALA w trzech dawkach ekwiwalentnych do ilości EPA+DHA. Uzyskane wyniki pokazują, że suplementacja diety ALA nie ma istotnego wpływu na przebudowę i upośledzenie funkcji skurczowej LV u zwierząt z przeciążeniem ciśnieniowym. Nie obserwowaliśmy efektu suplementacji ALA na poziom adiponektyny i TNF α w krążeniu oraz tromboksanu B₂ i 6 keto prostaglandyny F₁ w moczu, co wskazuje, że ALA pozostaje również bez wpływu na odczyn zapalny. Suplementacja diety olejem lnianym prowadziła natomiast do istotnych zmian w składzie lipidowym błon komórkowych – obserwowaliśmy proporcjonalnie do wielkości suplementacji wzrost ilości ALA. Towarzyszył temu wzrost zawartości EPA i DHA oraz spadek ilości kwasów arachidonowego i oleinowego, jednak zmiany te były zdecydowanie mniej zaznaczone niż w przypadku suplementacji diety olejem rybim. Kwas ALA jest prekursorem rodziny kwasów ω -3 i może być przekształcany do aktywniejszych biologicznie EPA i DHA. Jednak analiza kompozycji kwasów tłuszczowych w fosfolipidach błon komórkowych LV z obserwowanym niewielkim wzrostem EPA i DHA wskazuje, że w sercu szczura jest to proces mało efektywny. Podobnie mało efektywne procesy elongacji i desaturacji obserwowane są u ludzi, gdzie pokazano, że nie więcej niż 5% ulega konwersji do EPA i mniej niż 1% do DHA, a metabolizm ulega dużym wahaniom osobniczym [35, 36].

Podsumowując, nasze badania pokazują, że ALA nie zapobiegał patologiom LV indukowanym przeciążeniem ciśnieniowym i oleje roślinne nie mogą zastąpić oleju rybiego bogatego w korzystnie działające EPA+DHA.

Prace nad poznaniem mechanizmu kardioprotekcyjnego działania EPA+DHA kontynuowaliśmy w kolejnych doświadczeniach, a ich wyniki zostały przedstawione w publikacji „*The cardioprotective effects of fish oil during pressure overload are blocked by high fat intake: role of cardiac phospholipid*”

remodeling” Hypertension. 2009; 54(3): 605-11. Typowymi objawami towarzyszącymi rozwijającej się niewydolności serca są zaburzenia w produkcji ATP [37], które mogą być związane z ubytkiem i przebudową kardiolipin (CL) w błonach mitochondrialnych kardiomiocytów [38]. Kardiolipiny są fosfolipidami posiadającymi cztery łańcuchy acylowe, a w sercu człowieka i gryzoni dominującą formą (około 80% wszystkich kardiolipin) jest cząsteczka zawierająca cztery reszty kwasu linolowego (18:2 ω -6) – L₄CL [39]. Obecność L₄CL w błonach mitochondrialnych warunkuje powstawanie grzebieni, stabilizuje kompleksy enzymatyczne łańcucha oddechowego i warunkuje ich optymalną aktywność, zapewnia prawidłowy przebieg fosforylacji oksydacyjnej oraz efektywny transport wysokoenergetycznych fosforanów z mitochondriów do cytoplazmy [38, 40]. L₄CL przeciwdziałały także uwalnianiu cytochromu c, co zapobiega apoptozie [38]. Zmniejszoną ilość kardiolipin i/lub L₄CL obserwowano u pacjentów w zaawansowanym stadium kardiomiopatii rozstrzeniowej i niedokrwiennej [41, 42] oraz eksperymentalnych modelach niewydolności serca [39, 43], czemu towarzyszyło upośledzenie produkcji ATP oraz nasiloną apoptozą kardiomiocytów. W przeprowadzonych przez nas doświadczeniach przeciążenie ciśnieniowe u zwierząt karmionych dietą kontrolną prowadziło do spadku ilości kwasu linolowego i w konsekwencji zawartości L₄CL w fosfolipidach błonowych miokardium, a tym niekorzystnym zmianom zapobiegały EPA+DHA w dawce odpowiadającej suplementacji u ludzi 5.1 g/dobę. Niezależnie od obciążenia serca, ω -3 WNKT prowadziły do spadku ilości kwasu arachidonowego i kardiolipin zawierających jedną resztę kwasu arachidonowego i 3 reszty kwasu linolowego – AA₁L₃CL w fosfolipidach błonowych LV. Pokazano, że spadek ilości kwasu linolowego w kardiolipinach i zastępowanie go przez inne kwasy tłuszczowe takie jak kwasy arachidonowy, oleinowy (18:1 ω -9) lub palmitoleinowy (16:1 ω -7) osłabia aktywność enzymów mitochondrialnych [44, 45]. A zatem, zachowanie optymalnej kompozycji kardiolipin w miokardium zwierząt karmionych dietą z EPA+DHA, może zapewnić sprawne funkcjonowanie mitochondriów oraz efektywniejszą produkcję i transport ATP. W tym kontekście pokazano, że w izolowanym sercu szczura karmionego dietą wzbogaconą olejem rybim, obserwowano spadek konsumpcji tlenu bez upośledzenia funkcji hemodynamicznej przy wzrastającym obciążeniu serca oraz w niedokrwieniu i reperfuzji, co wskazuje na wzrost efektywności pracy serca [46, 47]. Nasze wcześniejsze prace pokazują, że EPA+DHA zmniejszają apoptozę u zwierząt z przeciążeniem ciśnieniowym, co również może być wynikiem zmian w składzie kardiolipin błonowych.

Podsumowując, kardioprotekcyjnemu efektowi suplementacji diety EPA+DHA w naszym modelu doświadczalnym towarzyszyła zmiana kompozycji kardiolipin w błonach plazmatycznych miokardium, przede wszystkim wzrost poziomu L₄CL.

W kolejnej serii doświadczeń postanowiliśmy sprawdzić czy korzystne działanie ω -3 WNKT uzależnione jest od kompozycji diety. Zgodnie z aktualnymi zaleceniami prawidłowa dieta dorosłego człowieka powinna dostarczać 45 – 65% dziennego zapotrzebowania na energię w postaci węglowodanów, 25 – 35% w postaci tłuszczów i 10 – 15% w postaci białek [48]. Niestety w diecie Europejczyków, jak i mieszkańców innych krajów rozwiniętych, wzrasta drastycznie ilość tłuszczów w diecie, szczególnie tłuszczów nasyconych. Dlatego też zbadaliśmy czy kardioprotekcyjny efekt ω -3 WNKT będzie obserwowany także przy diecie wysokotłuszczowej, bogatej w tłuszcze nasycone. W tym celu zwierzęta karmione były pokarmem, który dostarczał 60% dziennego zapotrzebowania na energię w postaci tłuszczów (w tym tłuszcze nasycone stanowiły około 90%), 20% w postaci węglowodanów i 20% w postaci białek. Natomiast we wcześniejszych doświadczeniach pokarm zawierał 70% węglowodanów (w tym 90% węglowodanów złożonych i 10% cukrów prostych), 10% tłuszczów i 20% białek. Wyniki naszych badań pokazują, że suplementacja diety wysokotłuszczowej EPA+DHA nie zapobiegała przerostowi LV w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe. Brak korzystnego wpływu obserwowaliśmy również w przebudowie na poziomie molekularnym – ω -3 WNKT nie zapobiegały wzrostowi ekspresji mRNA dla ANP i przesunięciu ekspresji mRNA MHC z izoforny α na izofornę β . U zwierząt karmionych

dieta wysokotłuszczową, niezależnie od obciążenia serca, zauważyliśmy spadek poziomu kwasu linolowego i kardiolipiny L₄CL, czemu nie zapobiegała suplementacja diety EPA+DHA. Dieta wysokotłuszczowa prowadziła również do wzrostu kwasu arachidonowego i AA₁L₃CL, czemu zapobiegały ω-3 WNKT. Pomimo braku efektu EPA+DHA na przerost i przebudowę LV przy diecie wysokotłuszczowej obserwowaliśmy wzrost poziomu adiponektyny w osoczu. Wyniki te sugerują, że adiponektyna jest tylko jednym z wielu mediatorów kardioprotekcyjnego efektu działania EPA+DHA i w diecie wysokotłuszczowej nie odrywa istotnej roli.

Podsumowując, EPA+DHA nie zapobiegały patologicznej przebudowie LV indukowanej przeciążeniem ciśnieniowym u zwierząt karmionych dietą wysokotłuszczową bogata w tłuszcze nasycone. Wyniki naszych badań sugerują, że pacjenci o dużym ryzyku rozwoju niewydolności serca, w celu uzyskania kardioprotekcyjnego efektu suplementacji EPA+DHA, powinni ograniczyć ilość nasyconych tłuszczów w diecie.

Nasze dotychczasowe prace, jak również większość badań klinicznych i eksperymentalnych, koncentrowały się na badaniu aktywności mieszaniny EPA i DHA, dlatego celem ostatniej części doświadczeń było zbadanie efektu działania każdego z kwasów z osobna. Wyniki doświadczeń okazały się na tyle nowatorskie, że zostały objęte ochroną patentową – wynalazek **„Zastosowanie oleju zawierającego kwas dokozaheksaenowy DHA do wytwarzania leku przeznaczonego do leczenia patologii mięśnia sercowego wtórnych do przeciążenia ciśnieniowego i/lub objętościowego”**. Przeprowadzone przeze mnie badania pokazały, że spośród dwóch badanych kwasów, jedynie suplementacja diety DHA (w dawce odpowiadającej u ludzi 5.1 g/dobę) zapobiegała przerostowi oraz przebudowie i upośledzeniu funkcji skurczowej LV w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe. Korzystne efekty obserwowaliśmy również na poziomie molekularnym – DHA zapobiegał wzrostowi ekspresji mRNA dla ANF i przesunięciu ekspresji mRNA MHC z izoformy α na izoformę β. Temu kardioprotekcyjnemu efektowi towarzyszyła korzystna zmiana profilu lipidowego w osoczu – spadek stężenia wolnych kwasów tłuszczowych o 51%, trójglicerydów o 46% oraz cholesterolu całkowitego o 28% w porównaniu do diety kontrolnej. Dodatkowo, u zwierząt karmionych dietą wzbogaconą DHA obserwovałam wzrost stężenia adiponektyny oraz spadek poziomu TNFα w osoczu. Profil zmian był podobny do tych obserwowanych we wcześniejszych doświadczeniach u zwierząt z suplementacją diety mieszaniną DHA i EPA. Natomiast suplementacja diety wyłącznie EPA miała niewielki wpływ na badane parametry.

W hodowli ludzkich komórek śródbłonna pokazano, że adiponektyna hamuje czynnik transkrypcyjny NF-κB [49], którego aktywność wzrasta w niewydolności serca [50]. NF-κB kontroluje ekspresję wielu protein, do których należą min. prozapalne cytokiny, czynniki stymulujące apoptozę oraz regulujące metabolizm kolagenu [50]. Aktywacja tych mechanizmów, w odpowiedzi na przeciążenie ciśnieniowe, zapoczątkowuje przerost, zapalenie, apoptozę i zwłóknienie miokardium, co w konsekwencji prowadzi do upośledzenia funkcji skurczowej LV i rozwoju niewydolności serca. U zwierząt z przeciążeniem ciśnieniowym karmionych dietą kontrolną obserwovałam wzrost aktywności transkrypcyjnej NF-κB w miokardium oraz wzrost ekspresji mRNA dla prozapalnych cytokin TNFα i IL-1β, dla pro-apoptycznej kaspazy 3 oraz dla czynnika wzrostowego TGF-β1 regulującego aktywność metaloproteinaz i syntezę kolagenu. Tym niekorzystnym efektem zapobiegała suplementacja diety DHA. Obserwowany przeze mnie spadek aktywności NF-κB mógł być wtórny do wzrostu stężenia adiponektyny lub wzrostu aktywności PPAR, dla których ligandem jest DHA. W hodowli kardiomiocytów szczura pokazano, że aktywacja PPARα i γ osłabiała aktywność NF-κB i produkcję prozapalnych cytokin w odpowiedzi na lipopolisacharyd [51].

Podsumowując, przebudowie i dysfunkcji LV wywołanej przeciążeniem ciśnieniowym zapobiegała jedynie suplementacja diety DHA. Ten korzystny efekt był związany z korzystną modyfikacją profilu lipidowego krwi, działaniem przeciwzapalnym oraz zahamowaniem aktywności NF- κ B i NF- κ B zależnych ścieżek sygnalizacyjnych regulujących zapalenie, apoptozę oraz zwłóknienie miokardium.

Podsumowanie

Prace włączone w niniejsze osiągnięcie naukowe były pierwszymi doniesieniami opisującymi skuteczność stosowania ω -3 WNTK w zapobieganiu rozwojowi niewydolności serca. Za najważniejsze wyniki w nich przedstawione uważam:

- I. Wykazanie, że suplementacja diety EPA+DHA zapobiega przerostowi, przebudowie i dysfunkcji skurczowej LV wywołanej przeciążeniem ciśnieniowym. Korzystny wpływ obserwowany jest również na poziomie molekularnym, EPA+DHA zmniejszały apoptozę oraz ekspresję genów – ANP i MHC- β . Ten kardioprotekcyjny efekt zależny jest od wielkości suplementacji.
- II. Pokazanie, że protekcyjne działanie EPA+DHA związane jest z ich aktywnością przeciwzapalną. ω -3 WNTK podwyższają poziom adiponektyny w krążeniu oraz obniżają stężenie prozapalnych markerów – TNF α w krążeniu oraz tromboksanu B₂ i 6-keto prostaglandyny F₁ w moczu.
- III. Pokazanie, że w fosfolipidach błonowych suplementacja EPA+DHA prowadzi do wzrostu ilości DHA, EPA, kwasu linolenowego i kardiolipiny L₄CL oraz spadku poziom kwasu arachidonowego, co również może odpowiadać za korzystny efekt działania EPA+DHA.
- IV. Pokazanie, że EPA+DHA nie wywierają korzystnego efektu w diecie wysokotłuszczowej, bogatej w tłuszcze nasycone.
- V. Wykazanie, że ω -3 WNTK są grupą związków o różnej aktywności biologicznej. Suplementacja diety ALA lub EPA nie zapobiega patologiom LV wywołanym przeciążeniem ciśnieniowym.
- VI. Odkrycie, że najaktywniejszym ω -3 WNTK jest DHA i suplementacja diety jedynie DHA wywiera efekt kardioprotekcyjny w przeciążeniu ciśnieniowym serca.
- VII. Pokazanie, że DHA korzystnie modyfikuje profil lipidowy krwi, działa przeciwzapalnie oraz osłabia aktywność NF- κ B i NF- κ B zależnych ścieżek sygnalizacyjnych regulujących zapalenie, apoptozę oraz zwłóknienie miokardium. Efekty te mogą odpowiadać za kardioprotekcyjne działanie DHA.

Wyniki naszych prac sugerują, że ω -3 WNTK, a w szczególności DHA, mogą stać się skutecznym uzupełnieniem klasycznej terapii stosowanej w niewydolności serca. Kardioprotekcyjny efekt może zapewnić odpowiednio dobrana dawka ω -3 WNTK oraz optymalna dieta towarzysząca suplementacji – niskotłuszczowa, uboga w tłuszcze nasycone.

Bibliografia:

1. McMurray J, Adamopoulos S, Anker S et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2012; 33:1787-1847.
2. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart*. 2007; 93(9): 1137-46.
3. Cowie MR, Wood DA, Coats AJ, et al. Incidence and etiology of heart failure; a population-based study. *Eur Heart J*. 1999; 20(6): 421-8.
4. Mozaffarian D. Fish and n-3 fatty acids for the prevention of fatal coronary heart disease and sudden cardiac death. *Am J Clin Nutr* 2008;87(6):1991S-6S.
5. GISSI-Prevezione Investigators. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. *Lancet* 1999 August 7;354(9177):447-55.
6. Jacobson TA. Role of n-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2008;87(6):1981S-90S.
7. Mozaffarian D, Bryson CL, Lemaitre RN, et al. Fish intake and risk of incident heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2005;45(12):2015-21.
8. Djoussé L, Akinkuolie AO, Wu JH, et al. Fish consumption, omega-3 fatty acids and risk of heart failure: a meta-analysis. *Clin Nutr*. 2012;31(6):846-53.
9. Nakao K, Minobe W, Roden R, et al. Myosin heavy chain gene expression in human heart failure. *J Clin Invest* 1997;100:2362-2370.

10. Okere IC, Young ME, McElfresh TA, et al. Low carbohydrate/high-fat diet attenuates cardiac hypertrophy, remodeling, and altered gene expression in hypertension. *Hypertension* 2006;48:1116-1123.
11. Xu HE, Lambert MH, Montana VG, et al. Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Mol Cell* 1999;3:397-403.
12. Neschen S, Morino K, Rossbacher JC, et al. Fish oil regulates adiponectin secretion by a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-dependent mechanism in mice. *Diabetes* 2006;55:924-8.
13. Hopkins TA, Ouchi N, Shibata R, Walsh K. Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 2007 April 1;74(1):11-8.
14. Shibata R, Ouchi N, Ito M, et al. Adiponectin-mediated modulation of hypertrophic signals in the heart. *Nat Med* 2004;10:1384-9.
15. Wang Y, Lam JB, Lam KS, et al. Adiponectin modulates the glycogen synthase kinase-3beta/beta-catenin signaling pathway and attenuates mammary tumorigenesis of MDA-MB-231 cells in nude mice. *Cancer Res* 2006 December 1;66(23):11462-70.
16. Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiol Rev* 2005 July;85(3):1093-129.
17. Huss JM, Kelly DP. Nuclear receptor signaling and cardiac energetics. *Circ Res* 2004 September 17;95(6):568-78.
18. GISSI-HF Investigators, Tavazzi L, Maggioni AP et al. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 372: 1223-30.
19. Moertl D, Hammer A, Steiner S, et al. Dose-dependent effects of omega-3-polyunsaturated fatty acids on systolic left ventricular function, endothelial function, and markers of inflammation in chronic heart failure of nonischemic origin: a double-blind, placebo-controlled, 3-arm study. *Am Heart J*. 2011; 161(5): 915.e1-9.
20. Shaikh SR, Rockett BD, Salameh M, Carraway K (2009) Docosahexaenoic acid modifies the clustering and size of lipid rafts and the lateral organization and surface expression of MHC class I of EL4 cells. *J Nutr*. 139(9): 1632-9.
21. Stillwell W, Shaikh SR, Zerouga M, et al. (2005) Docosahexaenoic acid affects cell signaling by altering lipid rafts. *Reprod Nutr Dev*. 45(5): 559-79.
22. Mann DL. Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation. *Annu Rev Physiol* 2003;65:81-101.
23. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation* 2000;102:1296-1301.
24. Engeli S, Feldpausch M, Gorzelnik K, et al. Association between adiponectin and mediators of inflammation in obese women. *Diabetes* 2003;52:942-947.
25. Sun M, Chen M, Dawood F, et al. Tumor necrosis factor-alpha mediates cardiac remodeling and ventricular dysfunction after pressure overload state. *Circulation* 2007;115:1398-1407.
26. Harris WS, Sands SA, Windsor SL, et al. Omega-3 fatty acids in cardiac biopsies from heart transplantation patients: correlation with erythrocytes and response to supplementation. *Circulation* 2004;110:1645-9.
27. Healy DA, Wallace FA, Miles EA, et al. Effect of low-to-moderate amounts of dietary fish oil on neutrophil lipid composition and function. *Lipids* 2000;35:763-8.
28. Titheradge MA. Nitric oxide in septic shock. *Biochim Biophys Acta* 1999;1411:437-455.
29. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr* 2002;21:495-505.
30. Serhan CN, Hong S, Gronert K, et al. Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. *J Exp Med* 2002 October 21;196(8):1025-37.
31. Serhan CN. Systems approach with inflammatory exudates uncovers novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008;79:157-63.
32. Levitan EB, Wolk A, Mittleman MA. Fatty fish, marine omega-3 fatty acids and incidence of heart failure. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64: 587-94.
33. Mozaffarian D, Rimm EB. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *JAMA* 2006; 296: 1885-99.
34. Bushkin-Bedient S, Carpenter DO. Benefits versus risks associated with consumption of fish and other seafood. *Rev Environ Health*. 2010;25(3):161-91.
35. Burdge GC, Jones AE, Wootton SA. Eicosapentaenoic and docosapentaenoic acids are the principal products of alpha-linolenic acid metabolism in young men. *Br J Nutr* 2002;88:355-63.
36. Burdge GC, Wootton SA. Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women. *Br J Nutr* 2002;88:411-20.
37. Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiol Rev* 2005 July;85(3):1093-129.
38. Chicco AJ, Sparagna GC. Role of cardiolipin alterations in mitochondrial dysfunction and disease. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007;292(1):C33-44.
39. Schlame M, Ren M, Xu Y, et al. Molecular symmetry in mitochondrial cardiolipins. *Chem Phys Lipids*. 2005;138(1-2):38-49.
40. Sparagna GC, Lesnefsky EJ. Cardiolipin remodeling in the heart. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2009;53(4):290-301.
41. Hauff KD, Hatch GM. Cardiolipin metabolism and Barth Syndrome. *Prog Lipid Res*. 2006;45(2):91-101
42. Heerd PM, Schlame M, Jehle R, et al. Disease-specific remodeling of cardiac mitochondria after a left ventricular assist device. *Ann Thorac Surg*. 2002;73(4):1216-1221.
43. Sparagna GC, Chicco AJ, Murphy RC, et al. Loss of cardiac tetralinoleoyl cardiolipin in human and experimental heart failure. *J Lipid Res*. 2007;48(7):1559-70.
44. Schlame M, Kelley RI, Feigenbaum A, et al. Phospholipid abnormalities in children with Barth syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2003;42(11):1994-9.
45. Schlame M, Rua D, Greenberg ML. The biosynthesis and functional role of cardiolipin. *Prog Lipid Res* 2000 May;39(3):257-88.
46. Pepe S, McLennan PL. Cardiac membrane fatty acid composition modulates myocardial oxygen consumption and postischemic recovery of contractile function. *Circulation* 2002 May 14;105(19):2303-8.
47. Pepe S, McLennan PL. (n-3) Long chain PUFA dose-dependently increase oxygen utilization efficiency and inhibit arrhythmias after saturated fat feeding in rats. *J Nutr* 2007 November;137(11):2377-83.
48. EFSA sets European dietary reference values for nutrient intakes. 26 march 2010.
49. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation*. 2000 Sep 12;102(11):1296-301.
50. Valen G, Yan ZQ, Hansson GK. Nuclear factor kappa-B and the heart. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:307-14.
51. Takano H, Nagai T, Asakawa M et al. Peroxisome proliferator-activated receptor activators inhibit lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha expression in neonatal rat cardiac myocytes. *Circ Res* 2000;87(7):596-602.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych

a) Analiza bibliometryczna:

Sumaryczny Impact Factor (JRC):	87.16
Liczba cytowań publikacji (Web of Science):	541 (bez autocytowań 521)
Indeks Hirscha (Web of Science):	12

b) Tematyka pozostałych badań:

Poza powyższym cyklem prac będących podstawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego, mój dorobek naukowy obejmuje publikacje, których tematyka skupia się na:

- (i) Ocenie wpływu cukrów prostych oraz różnych tłuszczów zawartych w diecie na serce w stanach patologicznych (nadciśnienie tętnicze i niedokrwienie/reperfuzja):
- **Duda MK**, Dobrzyń P, Mackiewicz U, Dobrzyń A, Mączewski M. Ω -3 PUFA supplementation decreases nuclear factor κ B activity and attenuates pressure overload-induced cardiac dysfunction. *Postępy Nauk Medycznych* 2015; 28(6); 426-32.
 - Maczewski M, Maczewska J, **Duda M**. Hypercholesterolaemia exacerbates ventricular remodelling after myocardial infarction in the rat: role of angiotensin II type 1 receptors. *Br J Pharmacol.* 2008; 154(8): 1640-8.
 - Sharma N, Okere IC, Barrows BR, Lei B, **Duda MK**, Yuan CL, Previs SF, Sharov VG, Azimzadeh AM, Ernsberger P, Hoit BD, Sabbah H, Stanley WC. High-sugar diets increase cardiac dysfunction and mortality in hypertension compared to low-carbohydrate or high-starch diets. *J Hypertens.* 2008; 26(7): 1402-10.
 - **Duda MK**, O'Shea KM, Lei B, Barrows BR, Azimzadeh AM, McElfresh TE, Hoit BD, Kop WJ, Stanley WC. Low-carbohydrate/high-fat diet attenuates pressure overload-induced ventricular remodeling and dysfunction. *J Card Fail.* 2008; 14(4): 327-35.
 - Sharma N, Okere IC, **Duda MK**, Johnson J, Yuan CL, Chandler MP, Ernsberger P, Hoit BD, Stanley WC. High fructose diet increases mortality in hypertensive rats compared to a complex carbohydrate or high fat diet. *Am J Hypertens.* 2007; 20(4): 403-9.
- (ii) Badaniu zmian zachodzących w metabolizmie energetycznym serca w odpowiedzi na bodźce patologiczne:
- Dobrzyń P, Pyrkowska A, **Duda MK**, Bednarski T, Maczewski M, Langfort J, Dobrzyń A. Expression of lipogenic genes is upregulated in the heart with exercise training-induced but not pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013; 304(12): E1348-58.
 - Zhou L, Cabrera ME, Huang H, Yuan CL, **Monika DK**, Sharma N, Bian F, Stanley WC. Parallel activation of mitochondrial oxidative metabolism with increased cardiac energy expenditure is not dependent on fatty acid oxidation in pigs. *J Physiol.* 2007; 579(Pt3): 811-21.
 - Kurzelewski M, **Duda M**, Stanley WC, Boemke W, Beresewicz A. Nitric oxide synthase inhibition and elevated endothelin increase oxygen consumption but do not affect glucose and palmitate oxidation in the isolated rat heart. *J Physiol Pharmacol.* 2004; 55(1 Pt 1): 27-38.

- (iii) Badaniu elektrofizjologii serca oraz poszukiwaniu nowych anty-arytmicznych interwencji farmakologicznych:
- Mączewski M, **Duda M**, Marciszek M, Kołodziejczyk J, Dobrzyń P, Dobrzyń A, Mackiewicz U. *Omega-3 fatty acids do not protect against arrhythmias in acute nonreperfused myocardial infarction despite some antiarrhythmic effects*. J Cell Biochem. *In Press*.
 - Mączewski M, **Duda M**, Marciszek M, Kołodziejczyk J, Mackiewicz U. *The effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids enriched diet on the contractile function, structure, Ca²⁺ handling and electrophysiology in the rat heart*. Postępy Nauk Medycznych 2015; 28(6): 426-32.
 - Mackiewicz U, Gerges JY, Chu S, **Duda M**, Dobrzynski H, Lewartowski B, Mączewski M. *Ivabradine protects against ventricular arrhythmias in acute myocardial infarction in the rat*. J Cell Physiol. 2014; 229(6): 813-23.
 - Mackiewicz U, Czarnowska E, Brudek M, Pająk B, **Duda M**, Emanuel K, Csanyi G, Fedorowicz A, Grochal E, Tyrankiewicz U, Skórka T, Mende U, Lewartowski B, Chłopicki S. *Preserved cardiomyocyte function and altered desmin pattern in transgenic mouse model of dilated cardiomyopathy*. J Mol Cell Cardiol. 2012; 52(5): 978-87.
- (iv) Poznaniu mechanizmu odpowiedzialnego za ochronne działanie hartowania niedokrwieniem na śródbłonek naczyniowy w niedokrwionym i reperfundowanym sercu:
- **Duda M**, Konior A, Klemenska E, Beresewicz A. *Preconditioning protects endothelium by preventing ET-1-induced activation of NADPH oxidase and xanthine oxidase in post-ischemic heart*. J Mol Cell Cardiol. 2007; 42(2): 400-10.
 - **Duda M**, Czarnowska E, Kurzelewski M, Konior A, Beresewicz A. *Ischemic preconditioning prevents endothelial dysfunction, P-selectin expression, and neutrophil adhesion by preventing endothelin and O₂⁻ generation in the post-ischemic guinea-pig heart*. J Physiol Pharmacol. 2006; 57(4): 553-69.
 - Mączewski M, **Duda M**, Pawlak W, Beresewicz A. *Endothelial protection from reperfusion injury by ischemic preconditioning and diazoxide involves a SOD-like anti-O₂⁻ mechanism*. J Physiol Pharmacol. 2004; 55(3): 537-50.
 - Beresewicz A, Mączewski M, **Duda M**. *Effect of classic preconditioning and diazoxide on endothelial function and O₂⁻ and NO generation in the post-ischemic guinea-pig heart*. Cardiovasc Res. 2004; 63(1): 118-29.
- (v) Ocenie skuteczności nowych interwencji farmakologicznych w zapobieganiu stresowi oksydacyjnemu u pacjentów z chorobą wieńcową:
- Bilinska M, Wolszakiewicz J, **Duda M**, Beresewicz A, Piotrowicz R: *Antioxidative activity of glycosaminoglycan, sulodexide, in patients with stable coronary artery disease: a pilot study*. Med Sci Monit. 2009; 15(12): CR618-23.
 - Kiliszek M, Mączewski M, Styczyński G, **Duda M**, Opolski G, Beresewicz A. *Low-density lipoprotein reduction by simvastatin is accompanied by angiotensin II type 1 receptor downregulation, reduced oxidative stress, and improved endothelial function in patients with stable coronary artery disease*. Coron Artery Dis. 2007; 18(3): 201-9.

c) Konferencje naukowe:

Jestem autorem lub współautorem 56 doniesień, które były prezentowane na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych, min.:

- 40th Congress of the Federation of European Biochemical Societies 2015, Berlin, Germany
- 48th Meeting of the European Society for Clinical Investigation 2014, Utrecht, the Netherlands
- 38th Congress of the Federation of European Biochemical Societies 2013, St. Petersburg, Russia
- Experimental Biology 2013, Boston, US
- European Society of Cardiology 2012, Munchen, Germany
- American Heart Association Scientific Sessions 2010, Chicago, US
- Congress of the European Society of Cardiology 2010, Stockholm, Sweden
- American Heart Association Scientific Sessions 2009, Orlando, US
- 58th Scientific Session of the American College of Cardiology 2009, Orlando, US
- American Heart Association Scientific Sessions 2008, New Orleans, US
- Congress of the European Society of Cardiology 2008, Munich, Germany
- 5th International Conference of the Society for Heart and Vascular Metabolism 2007, Maastricht, Netherlands
- 19th World Congress of the International Society for Heart Research 2007, Bologna, Italy
- Experimental Biology 2007 Washington, DC, US
- The Society for Heart and Vascular Metabolism Meeting 2006, Semiahmoo, US
- American Heart Association Scientific Sessions 2006, Chicago, US
- Congress of the European Society of Cardiology 2006, Barcelona, Spain
- 28th International Society for Heart Research North American Section Meeting 2006, Toronto, Canada
- 26th Meeting of the European Section of the International Society for Heart Research 2006, Manchester, UK
- Experimental Biology 2006, San Francisco, US
- 25th Meeting of the European Section of the International Society for Heart Research 2005, Tromsø, Norway
- 24th Meeting of the European Section of the International Society for Heart Research 2004, Dresden, Germany
- 53th Scientific Session of the American College of Cardiology 2004, New Orleans, US
- Congress of the European Society of Cardiology 2003, Berlin, Germany
- 22nd Meeting of the European Section of the International Society for Heart Research 2002, Szeged, Hungary
- 17th World Congress of the International Society for Heart Research 2001, Winnipeg, Canada

d) Nagrody i stypendia:

- Zespołowa Nagroda II^o Dyrektora Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego za osiągnięcia naukowe w 2014 roku;
- Laureatka Programu HOMING Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej 2008 rok;
- Stypendium Konferencyjne Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej 2008 rok (IV edycja);
- Zespołowa Nagroda Ministra Zdrowia za osiągnięcia w dziedzinie patofizjologii niedokrwionego mięśnia sercowego 2005 rok.

Monika Dude