

## Autoreferat

1. Imię i nazwisko: **Piotr Duchnowicz**
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

**Doktor nauk biologicznych**

*Dyscyplina: biofizyka*

Wydział Biologii i Nauk o Ziemi (obecnie Wydział Biologii i Ochrony Środowiska), Uniwersytet Łódzki, Łódź 2002

Tytuł rozprawy doktorskiej: „*Wpływ herbicydów na erytrocyty człowieka*”

Promotor: prof. dr hab. Maria Koter-Michalak

**Magister biologii**

*Dyscyplina: biologia*

*Specjalność: biologia molekularna*

Wydział Biologii i Nauk o Ziemi (obecnie Wydział Biologii i Ochrony Środowiska), Uniwersytet Łódzki, Łódź 1990

Tytuł pracy magisterskiej: „*Badanie wpływu produktów degradacji parakwatu na hemoglobinę człowieka i karpia*”

Promotor: prof. dr hab. Wirgiliusz Duda

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

**Adiunkt (1.10.2002 – obecnie)**

Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska,  
Instytut Biofizyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,  
Uniwersytet Łódzki

**Pracownik inżynierjno-  
techniczny  
21.12.1988 – 30.09.2002**

Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska,  
Instytut Biofizyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,  
Uniwersytet Łódzki

4. Wskazanie osiągnięcia naukowego\* 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.).

\*W przypadku, gdy osiągnięciem tym jest praca/prace wspólne, należy przedstawić oświadczenia wszystkich jej współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w jej powstanie.

### Tytuł osiągnięcia naukowego:

**„Oddziaływanie wybranych polifenoli z erytrocytami ludzi zdrowych i z dyslipidemią”**

Cykl monotematycznych prac stanowi podstawę osiągnięcia naukowego (rozprawy habilitacyjnej). W załączniku 3 zawarto oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Powyższe prace zostały przedstawione w Tabeli 1.

Tabela 1.

| L.p. | Dane biograficzne  | IF z roku publikacji (IF 5-letni) | Punkty MNiSW (2013) |
|------|--|-----------------------------------|---------------------|
| 1.   | Broncel M., Wojsznis W., Bała A., <b>Duchnowicz P.</b> , Koter-Michalak M. (2006). Aktywność ATP-azy w błonach erytrocytarnych u pacjentów z hiperlipidemią typu II (Activity of ATP-ase in the erythrocyte membranes of patients with hyperlipidemia type II). <i>Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej</i> , 116, 1017-1022. | 0<br>(1,522)*                     | 30                  |
| 2.   | Broncel M., Balcerak M., Bała A., Koter-Michalak M., <b>Duchnowicz P.</b> , Chojnowska-Jeziarska J. (2007e). Struktura błon erytrocytów u pacjentów z mieszaną hiperlipidemią (The erythrocyte membrane structure in patients with mixed hyperlipidemia). <i>Wiadomości Lekarskie</i> , 60(1-2), 4-9.                          | 0<br>(0)                          | 6                   |
| 3.   | Franiak-Pietryga I., Koter-Michalak M., Broncel M., <b>Duchnowicz P.</b> , Chojnowska-Jeziarska J. (2009). Anti-inflammatory and hypolipidemic effects in vitro of simvastatin comparing to epicatechin in patients with type-2 hypercholesterolemia. <i>Food and Chemical Toxicology</i> , 47, 393-397.                       | 2,114<br>(3,125)                  | 35                  |
| 4.   | Broncel M., Koziróg M., <b>Duchnowicz P.</b> , Koter-Michalak M., Sikora J., Chojnowska-Jeziarska J. (2010). <i>Aronia melanocarpa</i> extract reduces blood pressure, serum endothelin, lipid, and oxidative stress marker levels in patients with metabolic syndrome. <i>Medical Science Monitor</i> , 16, 28-34.            | 1,699<br>(1,360)                  | 20                  |
| 5.   | <b>Duchnowicz P.</b> , Broncel M., Podśudek M., Koter-Michalak M. (2012a). Hypolipidemic and antioxidant effects of hydroxycinnamic acids, quercetin, and cyanidin 3-glucoside in hypercholesterolemic erythrocytes ( <i>in vitro</i> study). <i>European Journal of Nutrition</i> , 51, 435-443.                              | 2,750<br>(3,151)                  | 30                  |
| 6.   | <b>Duchnowicz P.</b> , Nowicka A., Koter-Michalak M., Broncel M. (2012b). In vivo influence of extract from <i>Aronia melanocarpa</i> on the erythrocyte membranes in patients with hypercholesterolemia. <i>Medical Science Monitor</i> 18, 569–574.  | 1,699<br>(1,360)                  | 20                  |
| 7.   | <b>Duchnowicz P.</b> , Bors M., Podśudek A., Koter-Michalak M., Broncel M. (2012c). Effect of polyphenols extracts from Brassica vegetables on erythrocyte membranes ( <i>in vitro</i> study). <i>Environmental Toxicology and Pharmacology</i> , 34, 783–790.   | 1,469<br>(1,975)                  | 20                  |

\* – IF 3-letni

Sumaryczny IF z roku wydania: 9,731

Sumaryczny 5-letni IF: 12,493

Sumaryczne punkty MNiSW: 161

## Omówienie osiągnięcia naukowego przedłożonego do oceny

Celem prowadzonych przeze mnie badań składających się na monotematyczny cykl publikacji było określenie wpływu polifenoli roślinnych na błonę erytrocytarną w warunkach *in vivo* i *in vitro* ludzi zdrowych i chorych na dyslipidemię.

Dyslipidemia to zaburzenia metabolizmu lipidów, które charakteryzują się nieprawidłowym stężeniem w surowicy jednej lub więcej frakcji lipoprotein lub ich składem. W zależności od składu lipidowego dyslipidemię można podzielić na: (1) hipercholesterolemię – stężenie cholesterolu całkowitego (TC) powyżej 190 mg/dl (5 mmol/l) i stężenie frakcji LDL cholesterolu (LDL-C) powyżej 115 mg/dl (3 mmol/l); (2) hipertriglicerydemię – stężenie trójglicerydów (TG) powyżej 150 mg/dl (1,7 mmol/l); (3) hiperlipidemię mieszaną. Zwykle frakcja HDL cholesterolu (HDL-C) jest obniżona, u mężczyzn < 40 mg/dl (1 mmol/l) a u kobiet < 45 mg/dl (1,2 mmol/l).

Wyróżnia się dyslipidemię pierwotną będącą wynikiem oddziaływania środowiska (dieta wysoko kaloryczna i wysoko tłuszczowa, ograniczona aktywność fizyczna, palenie tytoniu) lub uwarunkowań genetycznych (hipercholesterolemia typu 2) oraz dyslipidemię wtórną, która może występować w wyniku innych chorób lub stosowania leków.

W pierwszym etapie pracy badania dotyczyły uszkodzeń błony plazmatycznej erytrocytów w dyslipidemii. Prawidłowa struktura błony plazmatycznej erytrocytów warunkuje najważniejsze funkcje: stabilność osmotyczną, odkształcalność, transport transbłonowy różnych substancji, aktywność enzymów błonowych, dyfuzję tlenu oraz działanie receptorów błonowych. Erytrocyty są pozbawione struktur wewnątrzkomórkowych w tym również jądra i nie mają zdolności syntezy białek i lipidów. Lipidy błonowe są w dynamicznej równowadze z lipidami osocza. W latach 80. XX wieku w badaniach *in vitro* wykazano, że w środowisku bogatym w cholesterol wzrasta stężenie cholesterolu w błonach, co prowadzi do usztywnienia błon, zmniejszenia plastyczności i zwiększonej agregacji komórek.

W naszych badaniach (Broncel et al., 2007e) (2) obserwowano zwiększone stężenie cholesterolu całkowitego (TC) o 58%, frakcji LDL cholesterolu (LDL-C) o 80% oraz trójglicerydów (TG) o 75% w osoczu osób z hiperlipidemią mieszaną. Nie stwierdzono różnic w stężeniu cholesterolu frakcji HDL (HDL-C) w grupie badanej w porównaniu do grupy kontrolnej. W erytrocytach badano płynność błony metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) z zastosowaniem znaczników spinowych, zawartość cholesterolu w błonach, peroksydację lipidów błonowych. W błonach erytrocytów osób z hiperlipidemią stwierdzono wzrost zawartości cholesterolu o 76% oraz 2-krotny wzrost poziomu peroksydacji lipidów w porównaniu do grupy kontrolnej. Płynność błony zależy m.in. od zawartości cholesterolu, fosfolipidów, stopnia nasycenia kwasów tłuszczowych. Wzrost zawartości cholesterolu w błonie komórkowej jak również produkty peroksydacji lipidów powodują wzrost sztywności błony komórkowej. W erytrocytach osób z hiperlipidemią obserwowano spadek płynności błony w warstwie hydrofilowej (wzrost parametru uporządkowania S). W głębszych rejonach dwuwarstwy lipidowej nie obserwowano zmian płynności błony. Zarówno w grupie kontrolnej jak i w grupie badanej stwierdzono, że zawartość cholesterolu

w błonach, poziom peroksydacji lipidów oraz płynność błony zależą wprost proporcjonalnie od stężenia TC i LDL-C w osoczu.

Zmiany w strukturze błony mają również wpływ na strukturę i funkcję białek integralnych błony. Jednym z ważniejszych białek jest ATPaza sodowo-potasowa ( $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPaza), enzymem odgrywający kluczową rolę w homeostazie komórkowej. Enzym ten uczestniczy w aktywnym transporcie jonów sodowych i potasowych, m.in. utrzymuje wysokie stężenie jonów  $\text{Na}^+$  na zewnątrz komórki i  $\text{K}^+$  wewnątrz.  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPaza jest heterotetramerem, zbudowanym z dwóch podjednostek  $\alpha$  i dwóch  $\beta$ . Fosforylacja ATPazy (donorem grupy fosforowej jest ATP) jak i defosforylacja powodują zmiany konformacyjne białka, w czasie jednego cyklu enzym dwukrotnie zmienia konformację. Wydaje się, że każda zmiana płynności lipidów błonowych w otoczeniu tego enzymu powinna wpływać na jego funkcję.

W pracy Broncel et al. (2006) (1) oceniana była całkowita aktywność ATPazowa i aktywność  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPazy oraz stężenie cholesterolu w błonach erytrocytarnych pacjentów z hiperlipidemią typu II i ludzi zdrowych metodami spektrofotometrycznymi. Wyniki badań wskazują na statystycznie istotną mniejszą zawartość cholesterolu w błonie erytrocytów ludzi zdrowych i wyższą aktywność ATPazową. Stwierdzono również dodatnią korelację między stężeniem cholesterolu całkowitego i frakcji LDL w osoczu z zawartością cholesterolu w błonie erytrocytarnej w obu grupach badanych. Ujemną korelację obserwowano między stężeniem cholesterolu całkowitego i frakcji LDL a całkowitą aktywnością ATPazową i aktywnością  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPazy zarówno w erytrocytach pochodzących od ludzi chorych jak i zdrowych. Trójglicerydy nie wykazały wpływu na zawartość cholesterolu w błonie erytrocytarnej jak i na aktywność ATPaz. W literaturze istniały sprzeczne doniesienia na temat aktywności ATPaz błonowych w hiperlipidemii, jednak większość autorów obserwowała obniżenie aktywności  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPazy wraz ze wzrostem zawartości cholesterolu zarówno w osoczu jak i w błonie erytrocytarnej. Wyniki naszych badań pozwalają na stwierdzenie, że wzrost zawartości cholesterolu w błonie komórkowej może wpływać na obniżenie aktywności ATPaz błonowych. Modulacja aktywności enzymów błonowych może zachodzić na drodze bezpośredniej interakcji cholesterol-białko jak i pośrednio poprzez zmianę płynności błony. Również peroksydacja lipidów powoduje zmiany płynności błony i może pośrednio wpływać na aktywność enzymów błonowych.

Uszkodzenia struktury i funkcji błon erytrocytów osób z dyslipidemią były obserwowane w kolejnych etapach badań. Wzrost stężenia cholesterolu w błonach, wzrost poziomu peroksydacji lipidów oraz spadek płynności błony plazmatycznej erytrocytów osób z dyslipidemią obserwowano w pracach Franiak-Pietryga et al., (2009), Duchnowicz et al. (2012a, b, c) (3, 5, 6, 7). W pracy Duchnowicz et al. (2012a) (5) wzrost peroksydacji lipidów w błonach erytrocytów osób z dyslipidemią potwierdzono oznaczając stężenie dienów sprzężonych. Obniżenie aktywności ATPaz błonowych w erytrocytach osób z dyslipidemią odnotowano w pracach Duchnowicz et al. (2012b, c) (6, 7).

Celem leczenia dyslipidemii jest głównie zmniejszenie stężenia cholesterolu frakcji LDL. Można je podzielić na dwa etapy: leczenie nefarmakologiczne, czyli zmiana diety, zwiększe-

nie aktywności fizycznej, zaprzestanie palenia papierosów zalecane jest wszystkim chorym oraz leczenie farmakologiczne w zależności od stopnia rozwoju choroby.

Najczęściej stosowanym lekiem są statyny, inhibitory reduktazy 3-hydroksy-3-metylo-glutarylo-koenzymu A (HMG CoA). Poprzez hamowanie konwersji HMG-CoA do mewalonianu, który jest prekursorem steroli, zmniejszają syntezę cholesterolu w hepatocytach. Jednocześnie zwiększona zostaje ekspresja genu receptorów LDL, co skutkuje zwiększonym wychwytem frakcji LDL. Dodatkowo statyny korzystnie wpływają na krzepnięcie krwi, aktywność trombocytów oraz poprawiają funkcje śródbłonna. Statyny są dobrze tolerowane przez organizm człowieka, ale raz zastosowane w leczeniu muszą być już brane stale i wraz z czasem leczenia dawki statyn ulegają podwyższeniu. Przeciwwskazaniem do stosowania statyn w leczeniu dyslipidemii jest ciąża oraz przewlekła choroba wątroby. Statyny wykazują również działania niepożądane jak miopatia, zaburzenia żołądkowo-jelitowe, bóle głowy a nawet uszkodzenia wątroby.

Poszukuje się wciąż nowych leków, które mogłyby zastąpić obecnie stosowane lub zostać włączone do leczenia jako leki pomocnicze w leczeniu skojarzeniowym, np. w celu obniżenia dawki leku głównego. Słynny „paradoks francuski”, czyli stwierdzone na podstawie badań epidemiologicznych w populacji francuskiej zmniejszone ryzyko incydentów wieńcowo-naczyniowych wraz z chorobą niedokrwienną serca przy diecie stosunkowo bogatej w nasycone kwasy tłuszczowe, związany jest m.in. z występowaniem w diecie i w czerwonym winie polifenoli roślinnych. Odkrycie to zapoczątkowało badania nad prozdrowotnymi właściwościami różnych grup polifenoli roślinnych. Większość autorów badań prozdrowotne właściwości polifenoli roślinnych łączy przede wszystkim z ich aktywnością antyoksydacyjną. Ponadto polifenole wykazują właściwości przeciwzapalne, antyalergiczne, antywirusowe i antynowotworowe.

Polifenole roślinne pod względem budowy chemicznej szkieletu węglowego zostały podzielone na osiem grup: kwasy hydroksybenzoesowe (C6-C2), kwasy hydroksycynamonowe (C6-C3), kumaryny (C6-C3), ksantony (C6-C1-C6), stilbeny (C6-C2-C6), antrachinony (C6-C2-C6), flawonoidy (C6-C3-C6) i ligniny (C6-C3)<sub>n</sub>. Flawonoidy, oparte na szkielecie 2-fenylochromianu, ze względu na różne podstawniki oraz ich umiejscowienie można podzielić na: antocyjanidyny, flawanole, flawanony, flawony, flawonole, izoflawony i proantocyjanidyny. W roślinach występują w postaci aglikonów oraz przede wszystkim jako glikozydy w połączeniu z glukozą, galaktozą lub fruktozą. Często glikozydy są dodatkowo estryfikowane kwasami hydroksybenzoesowymi lub hydroksycynamonowymi.

W kolejnym etapie badań porównano *in vitro* wpływ simwastatyny i epikatechiny na strukturę i funkcję błony erythrocytarnej osób z hipercholesterolemią typu II i osób zdrowych (Franiak-Pietryga et al., 2009) (3). Simwastatyna jest półsyntetycznym inhibitorem reduktazy HMG-CoA. Epikatechina jest polifenolem z grupy flawanoli, występuje m.in. w zielonej herbacie, kakao i czekoladzie, czerwonym winie. W pracy badano zawartość cholesterolu w błonach erythrocytarnych, poziom peroksydacji lipidów (związki reagujące z kwasem tiobarbiturowym) oraz płynność błony metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) z użyciem znacznika spinowego kwasu 5-doksylostearynowego (5-DSA). W naszych

badaniach *in vitro* stwierdzono, że aktywna forma simwastatyny obniżała zawartość cholesterolu w błonach i zwiększała płynność błony erythrocytarnej u ludzi z hipercholesterolemią. Po inkubacji simwastatyny z erythrocytami ludzi zdrowych obserwowano obniżenie zawartości cholesterolu w błonach, jednak wyniki te nie były jednak istotne statystycznie. Simwastatyna nie miała wpływu na płynność błon erythrocytów ludzi zdrowych jak również nie wpływała na peroksydację lipidów błonowych w obu grupach doświadczalnych. Epikatechina podobnie jak simwastatyna obniżała zawartość cholesterolu w błonach i zwiększała płynność błony erythrocytarnej tylko w erythrocytach osób z hipercholesterolemią. Dodatkowo epikatechina obniżała peroksydację lipidów zarówno w grupie osób chorych na hipercholesterolemię jak i zdrowych. Na podkreślenie zasługuje wykazanie, że zarówno simwastatyna jak i epikatechina bezpośrednio obniżają cholesterol w błonie erythrocytów ludzi chorych na hipercholesterolemię.

W następnym etapie badań porównywano wpływ *in vitro* polifenoli na błony erythrocytarne. Wybrano kwas ferulowy i kwas *p*-kumarowy (kwasy hydroksycynamonowe), kwercetynę (flawonol) i 3-glukozyd cyjanidyny (antocyjanidyna). W pracy Duchnowicz et al. (2012a) (5) wpływ wybranych polifenoli po inkubacji z erythrocytami osób z hipercholesterolemią i osób zdrowych oceniano na podstawie zawartości cholesterolu w błonach, poziomu peroksydacji lipidów oraz płynności błon. Kwercetyna i 3-glukozyd cyjanidyny w stężeniu 10  $\mu\text{mol/l}$  obniżały zawartość cholesterolu w błonach erythrocytów osób z hipercholesterolemią zarówno po inkubacji z pełną krwią jak i z wyizolowanymi erythrocytami. W erythrocytach o prawidłowym poziomie cholesterolu obserwowano spadek zawartości cholesterolu w błonach wyizolowanych erythrocytów przy stężeniu 100  $\mu\text{mol/l}$ . Nie obserwowano tego efektu po inkubacji kwercetyny i 3-glukozydu cyjanidyny z pełną krwią osób zdrowych. Oba kwasy hydroksycynamonowe nie wpływały na zawartość cholesterolu w błonach erythrocytarnych zarówno osób zdrowych jak i z hipercholesterolemią nawet w stężeniu 100  $\mu\text{mol/l}$ . Poziom peroksydacji lipidów błonowych był oceniany na podstawie stężenia związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) oraz stężenia dienów sprzężonych. Wszystkie badane związki wykazywały właściwości antyoksydacyjne w obu układach. Kwercetyna i 3-glukozyd cyjanidyny już w stężeniu 1  $\mu\text{mol/l}$  chroniły lipidy błonowe przed utlenianiem, podczas gdy kwasy hydroksycynamonowe dopiero w stężeniu 10  $\mu\text{mol/l}$ . Tylko w przypadku inkubacji erythrocytów, od osób z podwyższonym poziomem cholesterolu w błonach, z kwercetyną i 3-glukozydem cyjanidyny obserwowano wzrost płynności w powierzchniowej warstwie błony (spadek parametru uporządkowania *S*), który może być rezultatem obniżenia zawartości cholesterolu w błonie. Nie obserwowano zmian płynności błony erythrocytów osób zdrowych po inkubacji ze wszystkimi badanymi związkami. Uzyskane wyniki wskazują, że kwercetyna i 3-glukozyd cyjanidyny w stosowanych w pracy stężeniach bezpośrednio obniżają zawartość cholesterolu w erythrocytach ludzi z hipercholesterolemią a co za tym idzie powodują wzrost płynności błony plazmatycznej. W erythrocytach osób zdrowych nie obserwuje się podobnych zmian.

Kolejna praca dotyczy wpływu *in vitro* ekstraktów polifenolowych z roślin kapustnych na strukturę i funkcję błon erythrocytarnych (Duchnowicz et al., 2012c) (7). Ponad 40

związków polifenolowych zidentyfikowano w warzywach z rodziny kapustowatych (*Brassicaceae*), głównie są to flawanole (kwercetyna, kemferol i ich glikozydy) oraz pochodne kwasów hydroksybenzoesowych i hydroksycynamonowych (kwasy kawowy, ferulowy, *p*-kumarowy, synapowy). W odmianach barwnych warzyw kapustnych dodatkowo występują antocyjaniny (glikozylowane pochodne cyjanidyny). W badaniach używano ekstraktów z kapusty czerwonej i brukselki. Oba ekstrakty obniżały zawartość cholesterolu w błonach erytrocytów osób z hipercholesterolemią, przy czym silniejsze działanie wykazywał ekstrakt z kapusty czerwonej, spadek o 18% przy 5% spadku dla ekstraktu z brukselki przy stężeniu polifenoli 20  $\mu\text{mol/l}$ . Badane ekstrakty nie powodowały zmian poziomu cholesterolu w erytrocytach grupy kontrolnej. Oba ekstrakty podobnie obniżały peroksydację lipidów w erytrocytach z podwyższonym poziomem cholesterolu, natomiast nie wpływały na poziom peroksydacji lipidów w erytrocytach grupy kontrolnej. Pomimo obniżenia zawartości cholesterolu błonowego i obniżenia peroksydacji lipidów nie obserwowano zmian w płynności błony plazmatycznej. Prawdopodobnie spowodowane jest to wbudowywaniem się polifenoli w błonę komórkową, co skutkuje zmniejszeniem płynności błony. Aktywność ATPaz błonowych obniżona w erytrocytach osób z hipercholesterolemią ulegała po inkubacji z ekstraktami dalszemu obniżeniu, przy czym silniejsze właściwości inhibicyjne obserwowano dla ekstraktu z kapusty czerwonej. Flawonoidy są niespecyficznymi inhibitorami ATPaz, miejsce wiązania z  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPazą jest różne od miejsca wiązania oubainy, specyficznego inhibitora tego enzymu. Ekstrakt z kapusty czerwonej powodował także obniżenie aktywności ATPaz błonowych w erytrocytach kontrolnych. Na podstawie uzyskanych wyników, można wnioskować, że przede wszystkim antocyjaniny obecne w ekstrakcie z kapusty czerwonej są odpowiedzialne za obserwowane zmiany. Pochodne kwercetyny i kemferolu występujące w ekstrakcie z brukselki w stosunkowo niskich stężeniach wykazują ograniczony wpływ na błony erytrocytarne.

Następny etap badań obejmował badania kliniczne z zastosowaniem suplementu diety z owoców aronii czarnoowocowej o nazwie Aronox. Aronia czarnoowocowa (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) jest krzewem z rodziny różowatych o ciemnograminowych, jadalnych owocach. Owoce aronii są bogatym źródłem flawonoidów, głównie antocyjanidyn i proantocyjanidyn. Cztery główne antocyjaniny to 3-galaktozyd, 3-arabinozyd, 3-ksylozyd i 3-glukozyd cyjanidyny. Kapsułka 100 mg Aronoxu zawiera około 50 mg polifenoli w tym nie mniej niż 20 mg antocyjanin (dane według producenta).

W pracy Duchnowicz et al., 2012b) (6) badano wpływ *in vivo* ekstraktu z aronii na strukturę i funkcję błony erytrocytów osób z hipercholesterolemią. Pacjenci z hipercholesterolemią, zakwalifikowani do badań przez zespół lekarzy pod kierunkiem dr hab. Marleny Broncel, prof. nadzw. UM z Kliniki Farmakologii i Terapii Monitorowanej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, poddani zostali suplementacji Aronoxem w dawce 3 $\times$  100 mg dziennie przez 2 miesiące. Po 1 miesiącu suplementacji obserwowano spadek cholesterolu w błonach erytrocytów (o 18%) oraz obniżenie poziomu peroksydacji lipidów (o 22%) w grupie osób z hipercholesterolemią. Po 2 miesiącach obserwowano dalszą poprawę tych parametrów, odpowiednio spadek o 24% i 39%. Jednak zarówno zawartość cholesterolu w błonach jak

i poziom peroksydacji lipidów nadal były wyższe w erytrocytach ludzi z dyslipidemią w porównaniu do grupy kontrolnej. Po 2 miesiącach suplementacji Aronoxem obserwowano wzrost płynności błony plazmatycznej erytrocytów w warstwie powierzchniowej (obniżenie parametru uporządkowania S). Wartość parametru uporządkowania S była nadal wyższa w grupie pacjentów z dyslipidemią w porównaniu do grupy kontrolnej. Wzrost płynności błony plazmatycznej może być wynikiem obniżenia zawartości cholesterolu w błonach jak również obniżenia poziomu peroksydacji lipidów błonowych. Wyniki tych badań potwierdzają opisane wcześniej wyniki badań *in vitro* inkubacji 3-glukozydu cyjanidyny z erytrocytami, gdzie również obserwowano wzrost płynności błony plazmatycznej (Duchnowicz et al., 2012a) (5). Poziom grup tiolowych może być markerem uszkodzeń białek błonowych. W grupie pacjentów z hipercholesterolemią obserwowano niższe stężenie grup tiolowych białek (o 32%) w porównaniu do grupy kontrolnej. Spadek stężenia grup –SH dostępnych dla reakcji chemicznych może być wynikiem zarówno uszkodzeń oksydacyjnych białek błonowych jak i zmian konformacyjnych tych białek. Po 2 miesiącach stosowania ekstraktu z aronii obserwowano 5% wzrost stężenia grup tiolowych białek błonowych, wynik jednak nie był istotny statystycznie. W opisanych wcześniej badaniach stwierdzono spadek aktywności ATPaz błonowych. Również w tych badaniach aktywność ATPaz była niższa w błonach erytrocytów z podwyższonym poziomem cholesterolu w porównaniu do erytrocytów kontrolnych. W czasie 2 miesięcznej suplementacji Aronoxem stwierdzono tendencję wzrostu całkowitej aktywności ATPazowej jak i aktywności Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPazy (wyniki były nieistotne statystycznie). Na podstawie wyników można wnioskować, że ekstrakt z aronii korzystnie wpływa na strukturę i funkcję erytrocytów oraz że potrzebny jest dłuższy okres stosowania ekstraktu do osiągnięcia wartości kontrolnych.

Dyslipidemia, jako zaburzenie metabolizmu lipidów, może również występować wraz z innymi jednostkami chorobowymi. Zespół metaboliczny (ZM) to powiązany zbiór czynników zwiększający ryzyko wystąpienia i rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Dyslipidemia, obok otyłości brzusznej, nadciśnienia i cukrzycy, jest jednym z kryteriów ZM. Diagnozowanie ZM opiera się na jednym z dwóch kryteriów: kryterium International Diabetes Federation (IDF) z 2005 roku lub National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III (NCEP-ATPIII) z 2001 roku.

W pracy Broncel et al. (2010) (4) badano wpływ ekstraktu z aronii na różne parametry osocza i erytrocytów u osób z ZM. Pacjenci do badań klasyfikowani byli zgodnie z kryteriami IDF przez zespół lekarzy pod kierunkiem dr hab. Marleny Broncel, prof. nadzw. UM z Kliniki Farmakologii i Terapii Monitorowanej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Pacjenci z ZM poddani zostali suplementacji Aronoxem w dawce 3× 100 mg dziennie przez 2 tygodnie. Przed leczeniem w osoczu osób z ZM oznaczono zwiększony poziom cholesterolu całkowitego i frakcji LDL, trójglicerydów oraz obniżony poziom cholesterolu frakcji HDL w porównaniu do grupy kontrolnej. Osoby z ZM miały również wyższe ciśnienie krwi zarówno skurczowe jak i rozkurczowe. W erytrocytach osób z ZM stwierdzono wzrost poziomu peroksydacji lipidów oraz spadek aktywności dwóch enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i peroksydazy glutationowej (GPx). Po 1 miesiącu terapii



zaobserwowano poprawę badanych parametrów. W erytrocytach osób z ZM stwierdzono spadek peroksydacji lipidów (o 26%), spadek aktywności katalazy (CAT) (o 21%) przy jednoczesnym wzroście aktywności SOD (o 20%) i GPx (o 41%) w porównaniu do wartości wyjściowych. Obniżeniu uległo ciśnienie skurczowe krwi, w osoczu obserwowano spadek poziomu cholesterolu całkowitego i frakcji LDL oraz trójglicerydów. Po 2 miesiącach suplementacji obserwowano dalszą poprawę badanych parametrów. W erytrocytach stwierdzono dalszy spadek poziomu peroksydacji lipidów (o 50%) oraz wzrost aktywności SOD (o 28%) i GPx (o 52%) w porównaniu do wartości wyjściowych. Dłuższe stosowanie ekstraktu z owoców aronii nie miało wpływu na poziom cholesterolu całkowitego i frakcji LDL oraz trójglicerydów w osoczu. Suplementacja Aronoxem nie wpływała na poziom cholesterolu frakcji HDL. Parametry osocza i erytrocytów po 2 miesiącach suplementacji ekstraktem z owoców aronii nie osiągnęły jednak wartości stwierdzonych w grupie kontrolnej. Nadal obserwowane były wyższe wartości ciśnienia krwi, poziomu cholesterolu całkowitego i frakcji LDL, trójglicerydów w osoczu oraz zwiększony poziom peroksydacji lipidów i niższą aktywność SOD i CAT w erytrocytach. Aktywność GPx już po 1 miesiącu stosowania ekstraktu była zbliżona do wartości kontrolnej. Na podstawie wyników badań można stwierdzić, że 2 miesięczne stosowanie suplementu poprawia badane parametry osocza i erytrocytów osób z zespołem metabolicznym.

Wyniki badań składających się na osiągnięcie naukowe dotyczące oddziaływania wybranych polifenoli z erytrocytami ludzi zdrowych i z dyslipidemią można podsumować następująco:

1. Błony erytrocytów osób z dyslipidemią charakteryzowały się podwyższoną zawartością cholesterolu, zwiększonym poziomem peroksydacji lipidów, obniżoną płynnością błony plazmatycznej, obniżoną całkowitą aktywnością ATPazową, obniżoną aktywnością  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPazy oraz obniżonym poziomem grup tiolowych w porównaniu do grupy kontrolnej.
2. Flawonoidy w badaniach *in vitro* bezpośrednio obniżały poziom cholesterolu w błonach erytrocytów osób z dyslipidemią.
3. Flawonoidy nie wpływały na zawartości cholesterolu błonowego w błonach erytrocytów osób zdrowych.
4. Wszystkie badane polifenole wykazywały właściwości antyoksydacyjne – obniżały peroksydację lipidów błonowych.
5. Suplementy diety na bazie ekstraktu z owoców aronii poprawiają profil lipidowy osocza osób z dyslipidemią oraz korzystnie wpływają na strukturę i funkcję erytrocytów z podwyższoną zawartością cholesterolu błonowego.

Wyniki badań stanowiące główne osiągnięcie naukowe przedstawiłem na posiedzeniu Komisji Biochemiczno-Biofizycznej Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego w dniu 21 maja 2013 roku. Tezy rozprawy habilitacyjnej zostały przyjęte jednogłośnie.

## Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

### Tematyka badań przed uzyskaniem stopnia doktora

Jestem absolwentem Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi (obecnie Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska) Uniwersytetu Łódzkiego. Studia ukończyłem w 1990 roku uzyskując tytuł magistra biologii, specjalność biologia molekularna. Pracę magisterską wykonałem w Katedrze Biofizyki pod kierunkiem Prof. dr hab. Wirgiliusza Dudy nt. „*Badanie wpływu produktów degradacji parakwatu na hemoglobinę człowieka i karpia*”.

W czasie studiów, w grudniu 1988 roku zostałem zatrudniony na stanowisku inżynierjno-technicznym w Katedrze Biofizyki w zespole Prof. dr hab. Wirgiliusza Dudy (po reorganizacji Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, Instytut Biofizyki). W początkowym okresie pracy moje zainteresowania naukowe koncentrowały się wokół tematów badawczych realizowanych w Katedrze. Były one związane z oddziaływaniem różnych rozpuszczalników oraz ksenobiotyków z hemoglobiną wybranych gatunków bezkręgowców i kręgowców.

Hemoglobina jest białkiem globularnym, powszechnie występującym u bezkręgowców i kręgowców, ponadto stwierdzono obecność podobnych form białkowych w roślinach i bakteriach. U bezkręgowców hemoglobina występuje w formie monomerów, dimerów i oligomerów zbudowanych z takich samych podjednostek. Hemoglobina dorosłych kręgowców jest tetramerem złożonym z dwóch  $\alpha$  i dwóch  $\beta$  łańcuchów globiny. Analizując geny globiny jak i sekwencje aminokwasowe można zauważyć regiony konserwatywne, w których układ aminokwasów jest niezmienny u wielu gatunków kręgowców. Zagadnienia dotyczące ewolucji hemoglobin omówione zostały w pracy przeglądowej (Duchnowicz i Duda, 1994) (1)\*.

Właściwości biologiczne białek zależą m.in. od oddziaływań z cząsteczkami otaczającego rozpuszczalnika. Zmiana hydrofobowości środowiska zaburza otoczkę hydratacyjną białka, co może prowadzić do rozerwania natywnych wiązań wodorowych i ekspozycji hydrofobowego wnętrza maskowanego w stanie natywnym. Alkohole wielowodorotlenowe, do których należy glikol etylenowy (EG), stabilizują natywną konformację białka wzmagając wiązania hydrofobowe. Dodanie EG do roztworu białka prowadzi do zmniejszenia powierzchni kontaktu białko-rozpuszczalnik. Badając stabilność hemoglobiny w układzie woda-EG wykonano jakościową analizę wpływu EG na struktury mono- i dimerycznych methemoglobin izolowanych z larw *Chironomus thumi thumi* (*Chironomidae*) za pomocą pomiarów termodynamicznych denaturacji metodą równowagową. Wyniki badań

---

\* Numeracja publikacji w tej części według spisu umieszczonego na końcu autoreferatu.

denaturacji mono- i dimerycznych form hemoglobiny wskazywały, że dodanie do roztworu białka globularnego rozpuszczalnika organicznego posiadającego równocześnie właściwości hydrofilowe i hydrofobowe zaburza natywną strukturę białka poprzez zmianę struktury otoczki hydratacyjnej. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracy Osmulski et al. (1996) (2).

Postępująca chemizacja środowiska jest nieodwracalnym i nieuniknionym procesem towarzyszącym działalności człowieka. Do użycia często wprowadzane były środki chemiczne bez ustalenia czy i w jakim stopniu są one toksyczne dla człowieka i zwierząt. Jednym z takich preparatów był Gramoxon, herbicyd o działaniu nieselektywnym, powszechnie stosowany od 1961 roku. Związkiem czynnym Gramoxonu jest dichlorek 1,1'-dimetylo-4,4'-bipyridyniowy (parakwat). Gramoxon i parakwat był przyczyną przypadkowych jak i celowych śmiertelnych zatruc ludzi. Stosowanie jego zostało zabronione w krajach Unii Europejskiej w 2007 roku. Badania nad wpływem parakwatu i Gramoxonu na hemoglobinę człowieka i karpia były kontynuacją badań prowadzonych w ramach pracy magisterskiej. Analiza widm hemoglobiny po inkubacji z Gramoxonem wskazuje na utlenianie oksyhemoglobiny ( $\text{Fe}^{2+}$ ) do methemoglobiny ( $\text{Fe}^{3+}$ ), z pojawieniem się przejściowej formy ferryhemoglobiny ( $\text{Fe}^{+4}$ ). Hemoglobina karpia była bardziej podatna na degradację w porównaniu do hemoglobiny A człowieka. Wyniki badań opisano w pracy Duchnowicz i Duda (1998) (3).

Głównym źródłem pochodnych fenolowych w środowisku jest działalność człowieka – powszechne stosowanie środków ochronny roślin oraz różnego rodzaju dodatków do pasz. Jednym ze źródeł są związki czynne herbicydów fenoksyoctowych: kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D), kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA), kwas 2,4,5-trichlorofenoksyoctowy (2,4,5-T). Od 1944 roku stosowane są jako środki chwastobójcze niszczące rośliny dwuliścienne w uprawach zbożowych, pastwiskach, trawnikach itp. Herbicydy fenoksyowe (fenoksyoctowe) zostały umieszczone w III i IV klasie toksyczności, tzn. powinny wykazywać umiarkowaną toksyczność ostrą dla ssaków. Od stycznia 1962 r. do stycznia 1999 r. opisano 66 przypadków zatrucia herbicydami chlorofenoksyłowymi. Pierwszymi objawami są wymioty, bóle brzucha, i czasami krwotok w jelicie. Neurotoksyczność objawia się śpiączką, ataksją, halucynacjami, konwulsjami i paraliżem. Z opisanych przypadków w 22 zatrucie doprowadziło do śmierci pacjenta. 2,4-D wbudowuje się do wewnętrznej warstwy błony komórkowej, co powoduje zmianę dyskowatego kształtu erytrocytów na kolczasty (echinocyty).

W pierwszym etapie badano wpływ 2,4-D i MCPA oraz ich metabolitów 2,4-dichlorofenolu, 2,4,5-trichlorofenolu i 2,4-dimetylofenolu na aktywność katalazy. Wyniki naszych badań wskazują, że po 1 godzinie inkubacji 2,4-D, MCPA i 2,4-dimetylofenol nie miały wpływu na aktywność katalazy w erytrocytach ludzkich, po 3 godzinach inkubacji obserwowano wzrost aktywności katalazy, a następnie spadek po 24 godzinach inkubacji. Po inkubacji erytrocytów z 2,4-dichlorofenolem i 2,4,5-trichlorofenolem obserwowano spadek aktywności katalazy po wszystkich czasach inkubacji. Największy spadek aktywności katalazy zanotowano dla 2,4,5-trichlorofenolu po 24 godzinach inkubacji. Wyniki zostały opublikowane w pracy doświadczalnej (Bukowska et al., 2000) (4).

Badane herbicydy i ich pochodne powodowały hemolizę erytrocytów wprost proporcjonalną do stężenia. Hemoliza erytrocytów była również zależna od rodzaju podstawnika. Dla związków z podstawnikiem metylowym obserwowano wyższą hemolizę w porównaniu do związków z podstawnikiem chlorowym. Ilość methemoglobiny (metHb) pojawiającej się w puli całkowitej hemoglobiny była zależna od stężenia badanych związków i rodzaju podstawników w pierścieniu fenolowym. Największy przyrost metHb na zewnątrz erytrocytów obserwowano dla herbicydów i metabolitów z podstawnikiem metylowym, natomiast wewnątrz erytrocytów dla 2,4-D i 2,4,5-T oraz ich metabolitów. Może to sugerować, że związki z jednym lub dwoma podstawnikami metyloowymi w mniejszym stopniu mogą przenikać przez błonę erytrocytarną w porównaniu ze związkami z podstawnikami tylko chlorowymi. Związki z podstawnikiem chlorowym (2,4-D, 2,4,5-T i ich metabolity) powodowały wyższą peroksydację lipidów błonowych w porównaniu do związków z podstawnikiem metylowym (MCPA i jego metabolity). Może to wynikać z różnej wydajności generowania rodnika  $\cdot\text{OH}$  przez badane związki. Han i współpracownicy w 1998 badali generowanie rodnika  $\cdot\text{OH}$  przez związki fenolowe w wodzie ozonowanej. 2,4-dichlorofenol i 2-chlorofenol generowały rodnik  $\cdot\text{OH}$  z największą wydajnością. Najmniejszą wydajność tworzenia rodnika  $\cdot\text{OH}$  obserwowali oni dla fenoli z podstawnikami metyloowymi.

W dalszym etapie badano wpływ herbicydów fenoksyoctowych i ich metabolitów na błonę erytrocytarną. Pomiarów płynności błony i stopienia uszkodzenia białek błonowych dokonano techniką elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) z zastosowaniem znaczników spinowych. Obserwowano zwiększenie płynności błony w głębszych rejonach dwuwarstwy lipidowej. Podobnie jak w przypadku peroksydacji, większe zmiany obserwowano dla związków z podstawnikiem chlorowym w porównaniu do podstawnika metylowego. Również stopień uszkodzenia białek błonowych, mierzony ilością wolnych grup tiolowych wykazywał podobną zależność. Metabolity powodowały wzrost ilości wolnych grup tiolowych, związki podstawowe nie wpływały na ten parametr. Badane związki modyfikowały również aktywność ATPaz błonowych. Związki podstawowe powodowały lekki wzrost aktywności ATPaz, natomiast ich metabolity spadek aktywności tego enzymu.

Na podstawie badań hemolizy erytrocytów, peroksydacji lipidów, aktywności ATPaz błonowych, ilości grup  $-\text{SH}$  i płynności dwuwarstwy lipidowej można wysunąć wniosek, że wyższą toksycznością charakteryzują się metabolity w porównaniu do związków podstawowych. Na toksyczność herbicydów i ich metabolitów mają wpływ podstawniki w pierścieniu fenolowym. Związki mające tylko podstawniki chlorowe w pierścieniu fenolowym odznaczają się większą toksycznością i powodują większe uszkodzenia błony erytrocytu w porównaniu do związków z podstawnikami mieszanymi chlorowym i metylowym lub tylko z metylowym.

Otrzymane wyniki badań były podstawą pracy doktorskiej pt.: „*Wpływ herbicydów na erytrocyty człowieka*”, której promotorem była prof. dr hab. Maria Koter-Michalak. Pracę doktorską recenzowali: prof. dr hab. Wanda Leyko z Uniwersytetu Łódzkiego i prof. dr hab. Lech Torliński z Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Publiczna obrona doktoratu odbyła się 22 stycznia 2002 r., stopień naukowy doktora nauk

biologicznych w specjalności biofizyka uzyskałem decyzją Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego 29 stycznia 2002 r.

Do uzyskania stopnia naukowego doktora mój dorobek składał się z 3 prac oryginalnych, z czego jedna opublikowana w czasopiśmie z listy filadelfijskiej oraz 1 pracy przeglądowej. Wyniki badań prowadzonych przed doktoratem prezentowałem w postaci 13 komunikatów, w tym 3 na zjazdach międzynarodowych.

Część wyników uzyskanych w ramach przygotowania doktoratu została opublikowana po uzyskaniu stopnia naukowego doktora w 3 pracach doświadczalnych w czasopismach z listy filadelfijskiej (Duchnowicz et al., 2002, 2005; Duchnowicz i Koter, 2003) (5, 6, 8).

### **Tematyka badań po uzyskaniu stopnia doktora**

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, od października 2002 r., zostałem zatrudniony na stanowisku adiunkta i kontynuowałem badania prowadzone przez Katedrę Biofizyki Środowiska UŁ.

W latach 2003–2006 we współpracy z Uniwersytetem Medycznym im. L. Rydygiera w Bydgoszczy prowadzono badania dotyczące stresu oksydacyjnego w krwinkach czerwonych osób w wieku podeszłym oraz wpływu suplementacji koenzymem Q na parametry strukturalne i funkcjonalne erytrocytów. Proces starzenia się organizmu jest naturalnym procesem fizjologicznym, który warunkowany jest zarówno czynnikami genetycznymi jak i środowiskowymi. Jedną z teorii dotyczących starzenia jest teoria wolnorodnikowa, sformułowana po raz pierwszy przez Harmana w 1956. Według tej teorii największy wpływ na starzenie się organizmów wielokomórkowych mają wolne rodniki tlenowe i nadtlenki, które stanowią pośredni lub końcowy produkt wielu reakcji enzymatycznych i nieenzymatycznych. Jednocześnie osłabieniu ulegają mechanizmy obronne organizmu. Zachwianie równowagi pro- i antyoksydacyjnej prowadzi do nagromadzenia w komórkach produktów degradacji, co w konsekwencji może prowadzić do śmierci komórki.

Badaniami objęto osoby zdrowe (średnia wieku 55 lat) i z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym w wieku podeszłym (średnia wieku powyżej 70 lat). Krew pobierano przed rozpoczęciem suplementacji oraz po zakwalifikowaniu do dalszego etapu po 3 i 6 tygodniach suplementacji koenzymem Q w dawce dobowej 60 mg. Wykonano oznaczenia peroksydacji lipidów, aktywności ATPaz błonowych, stężenia grup tiolowych metodami spektrofotometrycznymi oraz pomiary mikrolepkość wnętrza erytrocytów i stopnia uszkodzenia białek błonowych metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) z użyciem znaczników spinowych. Wyniki naszych badań wskazują, że u osób w podeszłym wieku dochodzi do nasilenia stresu oksydacyjnego oraz na korzystny wpływ suplementacji koenzymem Q na parametry strukturalne i czynnościowe erytrocytów. Wyniki badań zostały opublikowane w 4 pracach doświadczalnych w polskich czasopismach medycznych (Kujawski et al., 2003, 2005; Kędziora-Kornatowska et al., 2006a, b) (7,9,10,12) oraz zaprezentowane w postaci 2 komunikatów na zjazdach krajowych.

Od 2001 r. Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska prowadzi badania w ramach stałej współpracy z Katedrą Farmakologii i Terapii Monitorowanej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (kierownik: dr hab. Marlena Broncel, prof. nadzw. UM) w zakresie badań wpływu statyn, fenofibratów i flawonoidów na strukturę i funkcję erytrocytów ludzi chorych na hiperlipidemię oraz z zespołem metabolicznym.

Pierwsze badania dotyczyły uszkodzenia struktury i funkcji błon erytrocytarnych pacjentów z zaburzeniami metabolizmu lipidów. Wyniki tych badań zostały omówione w części dotyczącej osiągnięcia naukowego.

W dalszym etapie prowadzono badania *in vivo* wpływu różnych leków hypolipemizujących z grupy statyn i fibratów na parametry stresu oksydacyjnego i parametry strukturalne błon erytrocytów u chorych obojga płci z otyłością brzuszną, dyslipidemią i zespołem metabolicznym.

Statyny są inhibitorami reduktazy 3-hydroksy-3-metylo-glutarylo-koenzymu A, zmniejszają syntezę cholesterolu w hepatocytach. Jednocześnie zwiększona zostaje ekspresja genu receptorów LDL, co skutkuje zwiększonym wychwytem frakcji LDL. Fibraty aktywują receptory PPAR $\alpha$  biorące udział w regulacji ekspresji genów związanych z metabolizmem lipidów, głównie w wątrobie i tkance tłuszczowej. Fibraty redukują poziom trójglicerydów i cholesterolu frakcji LDL oraz wzrost frakcji HDL.

U chorych z otyłością i dyslipidemią w stosunku do grupy kontrolnej stwierdzono istotnie wyższe stężenie białka C-reaktywnego (CRP), fibrynogenu, podwyższony poziom peroksydacji lipidów oraz obniżoną aktywność enzymów antyoksydacyjnych: katalazy (CAT), peroksydazy glutationowej (GSH-Px), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w krwinkach czerwonych oraz obniżoną aktywność ATPaz błonowych.

Po 4 tygodniach terapii fenofibratem (w dawce 267 mg/dobę) wykazano obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego, triglicerydów, CRP, fibrynogenu i obniżenie poziomu peroksydacji lipidów oraz istotne zwiększenie aktywności CAT, GSH-Px i SOD w stosunku do wartości przed leczeniem. Średnie wartości stężenia frakcji LDL cholesterolu, CRP, fibrynogenu, poziomu peroksydacji lipidów oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych w grupie chorych były zbliżone do wartości kontrolnych. Wyniki badań wskazują, że fenofibrat oprócz działania hypolipidemicznego wykazuje właściwości przeciwzapalne i antyoksydacyjne (Broncel et al., 2006) (11).

Po 4 tygodniach terapii fluwastatyną XL (w dawce 80 mg/dobę) wykazano obniżenie stężenie cholesterolu całkowitego i frakcji LDL cholesterolu, trójglicerydów, CRP, cholesterolu błonowego i obniżenie poziomu peroksydacji lipidów w porównaniu do wartości przed leczeniem. Nie zaobserwowano istotnych zmian w aktywności Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPazy. Średnie wartości stężenia CRP, cholesterolu błonowego oraz poziomu peroksydacji lipidów w grupie badanej po leczeniu fluwastatyną były nadal istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Czterotygodniowy czas terapii fluwastatyną o powolnym uwalnianiu okazał się niewystarczający do pełnej kompensacji zaburzeń w strukturze błon erytrocytów pacjentów z hiperlipidemią (Broncel et al., 2007b) (14).

Przeprowadzono badania wpływu atorwastatyny i mikronizowanego fenofibratu na lipidy osocza, fibrynogen, kwas moczowy, glukozę, CRP oraz na strukturę błony erytrocytów u kobiet w okresie menopauzalnym z otyłością brzusznią, dyslipidemią aterogenną i zespołem metabolicznym. Częstość występowania zaburzeń metabolizmu lipidów u kobiet wzrasta wyraźnie po 45. roku życia, co wiąże się z okresem menopauzy.

W grupie kobiet z zespołem metabolicznym (ZM) w okresie menopauzy w porównaniu z grupą porównawczą stwierdzono istotnie większe stężenie cholesterolu całkowitego, frakcji LDL cholesterolu, triglicerydów, fibrynogenu, CRP w osoczu oraz cholesterolu w błonach erytrocytarnych. Po 4 tygodniach terapii atorwastatyna (w dawce 10 mg/dobę) jak i fenofibratem (w dawce 267 mg/dobę) wykazano istotne zmniejszenie stężenia cholesterolu całkowitego, frakcji LDL cholesterolu, triglicerydów, fibrynogenu oraz cholesterolu błonowego w porównaniu z wartościami oznaczonymi przed leczeniem. Aktywność  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPazy znacząco wzrosła po 12 tygodniach terapii atorwastatyną. Średnie wartości cholesterolu całkowitego, fibrynogenu i kwasu moczowego po 12 tygodniach terapii atorwastatyną osiągnęły wartości kontrolne. Trzymiesięczna terapia atorwastatyną w przeciwieństwie do terapii mikronizowanym fenofibratem okazała się wystarczająca do skompensowania zaburzeń w strukturze błon erytrocytów u kobiet w okresie menopauzy ze stwierdzonym ZM (Franiak-Pietryga et al., 2009a, b) (25,26).

Przeprowadzono także badania porównawcze wpływu atorwastatyny i simwastatyny na właściwości błon erytrocytów. Po 8 tygodniach terapii statynami obserwowano spadek stężenia cholesterolu całkowitego, frakcji LDL i trójglicerydów. Odnotowano także spadek stężenia cholesterolu w błonach erytrocytarnych oraz wzrost aktywności  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPazy i płynności błony. Simwastatyna (w dawce 40 mg/dobę) silniej wpływała na stężenie cholesterolu w błonach erytrocytarnych i płynność błony w porównaniu do atorwastatyny (w dawce 10 mg/dobę) (Broncel et al., 2007f) (17).

Uzyskane wyniki wskazują, że stosowanie leków hypolipidemizujących, statyn i fibratów, poprawia strukturę i funkcję erytrocytów u osób z dyslipidemią. Wyniki badań *in vivo* opublikowano w 5 pracach doświadczalnych w polskich czasopismach medycznych oraz zaprezentowano w postaci 7 komunikatów na zjazdach krajowych i międzynarodowych.

W badaniach *in vitro* skoncentrowano się na bezpośrednim wpływie aktywnych form statyn oraz flawonoidów na błonę erytrocytów ludzi z hipercholesterolemią. Polifenole roślinne to naturalne substancje występujące w niemal wszystkich owocach i warzywach, które są istotnym składnikiem diety człowieka. Prozdrowotne działanie polifenoli roślinnych związane jest głównie z ich działaniem antyoksydacyjnym, ale wykazują także właściwości przeciwalergiczne, przeciwzapalne i antynowotworowe. W badaniach używano epikatechiny, która występuje w dużym stężeniu w herbacie białej i zielonej oraz w nasionach kakaowca i jego przetworach – kakao i czekoladzie oraz kwercytiny, która szeroko występuje w liściach, owocach, warzywach, nasionach, miodzie oraz ich przetworach.

Wyniki uzyskane po inkubacji erytrocytów osób z hipercholesterolemią wskazują, że zarówno prawastatyna jak i polifenole roślinne redukują poziom cholesterolu w błonie erytrocytarnej, powodując wzrost płynności błony. Polifenole obniżały peroksydację lipidów

w erytrocytach ludzi zdrowych i z dyslipidemia. Działania antyoksydacyjnego nie obserwowano w przypadku prawastatyny. Badania wykazały, że kwercytyna obniżała poziom cholesterolu tylko w erytrocytach osób chorych a nie miała wpływu na poziom cholesterolu w błonach erytrocytów ludzi zdrowych. Wyniki badań *in vitro* opublikowano w 2 pracach doświadczalnych w polskich czasopismach medycznych (Broncel et al., 2007c; Franiak-Pietryga et al., 2009c) (15,28).

Od 2004 roku w Katedrze Biofizyki Skażeń Środowiska UŁ realizowano badania we współpracy z Instytutem Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej, Zespołem Biochemii Żywności, w ramach realizacji tematu „Zmiany aktywności biologicznej składników prozdrowotnych warzyw kapustnych w czasie przetwarzania i składowania” nr PBZ-KBN-094/P06/2003/03. Temat był realizowany w latach 2004–2007, kierownikiem projektu była dr Anna Podsędek z Politechniki Łódzkiej. W ramach projektu prowadzono badania wpływu polifenoli z kapusty czerwonej i brukselki na błonę erytrocytów osób zdrowych i z dyslipidemią. Część wyników tych badań wchodzi w skład osiągnięcia naukowego będącego przedmiotem rozprawy habilitacyjnej i została omówiona wcześniej. Część wyników została także przedstawiona w formie 6 komunikatów na zjazdach krajowych i międzynarodowych.

Od roku 2004 głównym tematem moich zainteresowań naukowych są polifenole, jako naturalne antyoksydanty i związki o potencjalnym działaniu hypolipidemicznym.

Tarczycza bajkalska (*Scutellaria baicalensis Georgi*) jest popularnym ziołem stosowanym w tradycyjnej medycynie chińskiej. Wysokie stężenie flawonoidów, jednej z klas polifenoli, występuje w korzeniu tej rośliny. Najważniejsze z nich to flawonoidy z grupy flawonów: bajkaleina i wogonina oraz ich glikozydy: bajkalina i wogonozyd. Związki te mają szerokie spektrum działania: antyoksydacyjne, przeciwzapalne, antynowotworowe, hepatoprotekcyjne, przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe. Nasze badania *in vitro* dotyczyły wpływu bajkaliny na strukturę i funkcję erytrocytów osób z mieszaną hiperlipidemią. Po 24 godzinnej inkubacji stwierdzono w błonach erytrocytarnych osób z dyslipidemią obniżenie stężenia cholesterolu oraz obniżenie poziomu peroksydacji lipidów błonowych. Nie obserwowano wpływu bajkaliny na erytrocyty ludzi zdrowych. Otrzymane wyniki dla bajkaliny potwierdziły wcześniejsze dane, że polifenole nie oddziałują z błoną erytrocytów ludzi zdrowych. Spadek aktywności  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPazy odnotowano w obu grupach. Wyniki badań opublikowano w pracy doświadczalnej opublikowanej w czasopiśmie z IF (Broncel et al., 2007a) (13), w pracy doświadczalnej w monografii (Duchnowicz et al., 2008) (19) oraz zaprezentowano w postaci 3 komunikatów na zjazdach krajowych i międzynarodowych. Badania nad bajkaliną przerwano, mimo obiecujących wyników, z uwagi na brak możliwości stosowania jej w badaniach *in vivo* na ludziach.

Bogatym źródłem polifenoli są owoce uprawianej także w Polsce aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott). Na bazie owoców produkowany jest suplement diety o handlowej nazwie Aronox. U osób z zespołem metabolicznym po 2 miesięcznej suplementacji stwierdzono obniżenie ciśnienia tętniczego, poprawę profilu lipidowego osocza oraz obniżenie stężenia endoteliny-1, czynnika wpływającego m.in. na ciśnienie tętnicze. Obserwowano także spadek stężenia cholesterolu w błonach erytrocytarnych.



Wyniki badań opublikowano w 1 pracy doświadczalnej w polskim czasopiśmie medycznym (Broncel et al., 2007d) (16).

Kolejnym tematem były badania uszkodzenia struktury i funkcji erytrocytów w zespole metabolicznym (ZM) oraz wpływu suplementacji melatoniną i flawonoidami na strukturę błon erytrocytów u osób z ZM. Pacjenci do badań byli kwalifikowani zgodnie z kryteriami International Diabetes Federation (IDF) z 2005 roku przez zespół lekarzy pod kierunkiem dr hab. Marleny Broncel, prof. nadzw. z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. U pacjentów z ZM stwierdzono podwyższenie ciśnienia tętniczego, wzrost stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i trójglicerydów oraz spadek stężenie cholesterolu frakcji HDL w porównaniu do osób zdrowych. Obserwowano także wzrost stężenia cholesterolu w błonach erytrocytów, wzmożoną peroksydację lipidów błonowych, spadek płynności błony, obniżenie stężenia grup tiolowych białek błonowych oraz obniżenie aktywności ATPaz błonowych. Stwierdzono również spadek aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Melatonina, która jest naturalnym hormonem, wykazuje działanie antyoksydacyjne, obniża ciśnienie tętnicze oraz hamuje procesy zapalne. Po 2 miesiącach suplementacji stwierdzono spadek ciśnienia tętniczego, obniżenie poziomu peroksydacji lipidów oraz wzrost aktywności katalazy u chorych z ZM. Wyniki opublikowano w 2 pracach doświadczalnych w czasopismach z IF (Koziróg et al., 2010; Ziobro et al., 2013) (28,31), w 2 pracach doświadczalnych w monografii (Ziobro et al., 2008a, b) (23,24) oraz zaprezentowano w postaci 6 komunikatów na zjazdach krajowych i międzynarodowych.

Poza głównymi zainteresowaniami naukowymi uczestniczyłem w innych badaniach prowadzonych w Katedrze Biofizyki Skażeń Środowiska.

W badaniach dotyczących powstawania termotolerancji erytrocytów stwierdzono, że zjawisko to związane jest ze zmianami w błonie plazmatycznej i aktywnością  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPazy oraz poziomem ATP w erytrocytach. Termotolerancja jest zjawiskiem odwracalnym, które maksimum osiąga po 3 h. Wyniki badań opublikowano w 2 pracach doświadczalnych i jednej pracy przeglądowej w monografii (Koter-Michalak et al., 2008; Szewczyk et al., 2008a, b) (18,21,22) oraz przedstawiono w postaci 10 komunikatów na zjazdach krajowych i międzynarodowych.

Kolejny temat badań dotyczył peroksydacji lipidów błon erytrocytarnych u osób poddanych krioterapii ogólnoustrojowej. W badaniach stwierdzono wzrost peroksydacji lipidów w chorobach o podłożu immunologicznym. Wyniki tych badań opublikowano w jednym pracy doświadczalnej w monografii (Staroń et al., 2008) (20) oraz przedstawiono w postaci 4 komunikatów na zjazdach krajowych i międzynarodowych.

Kolejnym zagadnieniem były uszkodzenia erytrocytów spowodowane sejfnerami. Sejfnery to substancje chemiczne dodawane do herbicydów, których zadaniem jest ochrona rośliny uprawnej przed uszkodzeniami stosowanym herbicydem. Wyniki związane z tym tematem badań opublikowano w jednej pracy doświadczalnej w czasopiśmie z IF i w jednym artykule przeglądowym w monografii (Bernasińska et al., 2011, 2013) (29,32) oraz przedstawiono w postaci 2 komunikatów na konferencji krajowej.

W ramach współpracy z zespołem dr hab. Marleny Broncel, prof. nadzw. UM w Łodzi prowadzono także wstępne badania dotyczące uszkodzeń struktury i funkcji erytrocytów pacjentów z nadciśnieniem. Stwierdzono wzrost peroksydacji lipidów i stężenia grup tiolowych białek oraz spadek aktywności katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej. Uzyskane wyniki, wskazujące na wzmożony stres oksydacyjny, opublikowano w jednej pracy doświadczalnej w czasopiśmie z IF (Pytel et al., 2012) (30).

Ostatnio zakończono również trzyletnie badania dotyczące oceny parametrów równowagi oksydacyjno-redukcyjnej w erytrocytach kobiet chorych na twardzinę układową. Wyniki badań opublikowano w jednej pracy doświadczalnej w polskim czasopiśmie medycznym (Dworniak et al., 2013) (33) oraz przedstawiono w postaci komunikatu na konferencji międzynarodowej.

Obecnie w ramach współpracy z Instytutem Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej Politechniki Wrocławskiej (dr hab. Małgorzata Komorowska, prof. nadzw. PW) prowadzone są badania nad wpływem promieniowania bliskiej podczerwieni (NIR) na termotolerancję erytrocytów człowieka. Wyniki badań nad indukowaniem termotolerancji promieniowaniem NIR przedstawiono w postaci komunikatu na konferencji krajowej.

Mój dorobek naukowy po obronie pracy doktorskiej obejmuje 34 recenzowane prace oryginalne (7 prac wchodzi w skład cyklu monotematycznego), z czego 16 prac opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej oraz 2 prace przeglądowe. Wyniki badań zostały również zaprezentowane w formie 56 komunikatów na zjazdach krajowych i międzynarodowych.

## Podsumowanie

Mój całkowity dorobek naukowy obejmuje 40 publikacji, z czego 17 recenzowanych prac doświadczalnych opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej, 12 recenzowanych prac doświadczalnych w czasopismach z listy B MNiSW, 6 prac doświadczalnych i 2 prace przeglądowe w monografiach, 2 prace doświadczalne i 1 praca przeglądowa w czasopiśmie z poza list MNiSW oraz 69 komunikatów prezentowanych na zjazdach krajowych (46) i międzynarodowych (23).



**Publikacje przed uzyskaniem stopnia doktora:**

1. **Duchnowicz P.**, Duda W. (1994). Podstawowe zagadnienia ewolucji hemoglobiny (Fundamental questions on the evolution of haemoglobin). *Acta Universitatis Lodzianensis, Folia Biochimica et Biophysica*, 10, 3-19.
2. Osmulski P. A., Duda W., **Duchnowicz P.** (1996). Stabilność hemoglobiny *Chironomus thumi thumi* w układzie rozpuszczalników woda-glikol etylenowy (Stability of hemoglobin *Chironomus thumi thumi* in the system of solvents water-ethylene glycol). *Acta Universitatis Lodzianensis, Folia Biochimica et Biophysica*, 11, 61-71.
3. **Duchnowicz P.**, Duda W. (1998). Badanie oddziaływania produktów degradacji paraquatu i Gramoxonu z hemoglobiną człowieka i ryby (Studies on degradation products of paraquat and Gramoxone interactions with human and carp hemoglobins). *Acta Universitatis Lodzianensis, Folia Biochimica et Biophysica*, 13, 39-60.
4. Bukowska B., Chajdys A., Duda W., **Duchnowicz P.** (2000). Catalase activity in human erythrocytes: Effect of phenoxyherbicides and their metabolites. *Cell Biology International*, vol. 24, 10, 705-711.

**Publikacje po uzyskaniu stopnia doktora:**

5. **Duchnowicz P.**, Koter M., Duda W. (2002). Damage of erythrocyte by phenoxyacetic herbicides and their metabolites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74/1, 1-7.
6. **Duchnowicz P.**, Koter M. (2003). Damage to the erythrocyte membrane caused by chlorophenoxyacetic herbicides. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 8, 25-30.
7. Kujawski K., Koter M., **Duchnowicz P.**, Kędziora-Kornatowska K., Kornatowski T., Szadujkis-Szadurski L., Kędziora J., Markuszewski L., Błaszczak R. (2003). The impact of Q10 on selected structural and functional parameters of red blood cells in old-age patients with primary hypertension. *New Medicine*, 6(4), 112-116.
8. **Duchnowicz P.**, Szczepaniak P., Koter M. (2005). Erythrocyte membrane protein damage by phenoxyacetic herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 82, 59-65.
9. Kujawski K., Kędziora-Kornatowska K., Koter M., **Duchnowicz P.**, Rysz J., Markuszewski L., Błaszczak R., Kornatowski T., Grzešek G., Kędziora J., Olszewski R. (2005). Ocena wybranych parametrów strukturalnych i czynnościowych krwinek czerwonych jako markerów stresu oksydacyjnego u osób w wieku podeszłym (Evaluation of some selected structural and functional parameters of red blood cell as oxidative stress markers in elderly people). *Polski Merkuriusz Lekarski* 19(114): 774-778.
10. Kędziora-Kornatowska K., Kujawski K., Błaszczak R., Rysz J., Markuszewski L., Koter M., **Duchnowicz P.**, Kornatowski T., Olszewski R., Kędziora J. (2006a). Wpływ suplementacji koenzymu Q10 na wybrane parametry strukturalne i czynnościowe krwinki czerwonej u osób w podeszłym wieku (The influence of Q10 coenzyme on structural and functional parameters of red blood cell in elderly people). *Polski Merkuriusz Lekarski* 20(115):57-61.
11. Broncel M., Cieślak D., Koter-Michalak M., **Duchnowicz P.**, Mackiewicz K., Chojnowska-Jeziarska J. (2006). Działanie przeciwzapalne i antyoksydacyjne zmikronizowanego fenofibratu u chorych z otyłością brzuszną i dyslipidemią (The anti-inflammatory and antioxidants effect of micronized fenofibrate in patients with visceral obesity and dyslipidemia). *Polski Merkuriusz Lekarski*, 20(119), 547-550.
12. Kędziora-Kornatowska K., Kujawski K., Błaszczak R., Rysz J., Markuszewski L., Koter M., **Duchnowicz P.**, Kornatowski T., Olszewski R., Kędziora J. (2006b). Ocena wybranych parametrów

- strukturalnych i czynnościowych krwinek czerwonych jako markerów stresu oksydacyjnego u osób w z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym w podeszłym wieku (Evaluation of some selected structural and functional parameters of red blood cell as oxidative stress markers in elderly people with primary hypertension). *Polski Merkurusz Lekarski*, 20(120), 646-650.
13. Broncel M., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M., Lamer-Zarawska E., Chojnowska-Jeziarska J. (2007a). In vitro influence of baicalin on the erythrocyte membrane in the patients with mixed hyperlipidemia. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 16, 21-27.
  14. Broncel M., Balcerak M., Cieślak D., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M., Sikora J., Chojnowska-Jeziarska J. (2007b). Wpływ fluwastatyny o powolnym uwalnianiu na strukturę białkowo-lipidową błon erytrocytów i białko C-reaktywne u pacjentów z hiperlipidemią (Effect of fluvastatin extended release on the protein-lipid structure of erythrocyte membrane and C-reactive protein in patients with hyperlipidemia). *Polski Merkurusz Lekarski*, 22(128), 107-111.
  15. Broncel M., Franiak I., Koter-Michalak M., **Duchnowicz P.**, Chojnowska-Jeziarska J. (2007c). Porównanie in vitro wpływu prawastatyny i kwercetyny na wybrane parametry strukturalne błon krwinek czerwonych u pacjentów z hipercholesterolemią typu II (The comparison in vitro the effect of pravastatin and quercetin on the selected structural parameters of membrane erythrocytes from patients with hypercholesterolemia). *Polski Merkurusz Lekarski*, 22(128), 112-116.
  16. Broncel M., Koziróg-Kołacińska M., Andryskowski G., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M., Owczarczyk A., Chojnowska-Jeziarska J. (2007d). Wpływ antocyjanin z aronii czarnoowocowej na ciśnienie tętnicze oraz stężenie endoteliny-1 i lipidów u pacjentów z zespołem metabolicznym (Effect on anthocyanins from *Aronia melanocarpa* on blood pressure, concentration of endothelin-1 and lipids in patients with metabolic syndrome). *Polski Merkurusz Lekarski*, 23(134), 116-119.
  17. Broncel M., Bała A., Koter-Michalak M., **Duchnowicz P.**, Wojsznis W., Chojnowska-Jeziarska J. (2007f). Physicochemical modifications induced by statins therapy on human erythrocytes membranes. *Wiadomości Lekarskie*, 60(7-8), 321-328.
  18. Koter-Michalak M., **Duchnowicz P.**, Szewczyk M. (2008). Rola błony plazmatycznej w termotolerancji komórek (The role of plasmatic membrane in cell thermotolerance). *Błony biologiczne*, monografia, Gabrielska Janina, Misiak Paweł (red.), Wrocław, 81-87.
  19. **Duchnowicz P.**, Bors M., Podśędek A., Broncel M., Koter-Michalak M. (2008) Wpływ *in vitro* wybranych flawonoidów na własności błony erytrocytarnej ludzi chorych na hiperlipidemię (Effect *in vitro* selected flavonoids on the structural parameters of membrane erythrocytes from patients with hyperlipidemia). *Błony biologiczne*, monografia, Gabrielska Janina, Misiak Paweł (red.), Wrocław, 161-164.
  20. Staroń A., **Duchnowicz P.**, Mąkosa G., Koter-Michalak M. (2008). Peroksydacja lipidów błon erytrocytarnych ludzi poddanych krioterapii ogólnoustrojowej (Lipid peroxidation in erythrocyte membranes from people after systemic cryotherapy). *Błony biologiczne*, monografia, Gabrielska Janina, Misiak Paweł (red.), Wrocław, 295-298.
  21. Szewczyk M., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M. (2008a). Wpływ hipertermii na potencjał błonowy erytrocytów ludzkich (Effect of hyperthermia on membrane potential of human erythrocytes). *Błony biologiczne*, monografia, Gabrielska Janina, Misiak Paweł (red.), Wrocław, 303-305.
  22. Szewczyk M., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M. (2008b). Termotolerancja a zaburzenia aktywności ATPaz błonowych erytrocytów ludzkich (Thermotolerant and ATPase activity of human erythrocyte membrane disorders). *Błony biologiczne*, monografia, Gabrielska Janina, Misiak Paweł (red.), Wrocław, 306-309.

23. Ziobro A., Broncel M., Chojnowska-Jezierska J., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M. (2008a). Wpływ suplementacji melatoniną na strukturę błon erytrocytarnych osób z zespołem metabolicznym (The influence of melatonin supplementation on structure of erythrocytes from people with metabolic syndrome). *Błony biologiczne*, monografia, Gabrielska Janina, Misiak Paweł (red.), Wrocław, 341-345.
24. Ziobro A., Staroń A., Broncel M., Chojnowska-Jezierska J., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M. (2008b). Uszkodzenia błon erytrocytarnych u osób z zespołem metabolicznym (Damage of erythrocyte membranes in people with metabolic syndrome). *Błony biologiczne*, monografia, Gabrielska Janina, Misiak Paweł (red.), Wrocław, 346-350.
25. Franiak-Pietryga I., Balcerak M., Sikora J., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M., Stetkiewicz T., Broncel M. (2009a). Wpływ terapii atorwastatyną na strukturę błony erytrocytarnej i stężenie białka C-reaktywnego u kobiet z zespołem metabolicznym w okresie menopauzy (The effect of atorvastatin on the erythrocyte plasma membrane and C-reactive protein in menopausal women with metabolic syndrome). *Przegląd Menopauzalny*, 4, 233-238.
26. Franiak-Pietryga I., Balcerak M., Sikora J., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M., Broncel M. (2009b). Wielokierunkowe działania mikronizowanego fenofibratu u otyłych kobiet z aterogenną dyslipidemią w okresie menopauzy (The pleiotropic effects of micronized fenofibrate in obese menopausal women with atherogenic dyslipidemia). *Przegląd Menopauzalny*, 5, 273-277.
27. Franiak-Pietryga I., Koter-Michalak M., Duchnowicz P., Sikora J., Tylińska M., Broncel M. (2009c). Redukcja poziomu cholesterolu i normalizacja płynności błony erytrocytarnej pod wpływem prawastatyny i epikatechiny u pacjentów z hipercholesterolemia typu II – badania in vitro (The reduction of cholesterol concentration in plasma membranes of erythrocytes and erythrocyte plasma membrane fluidity normalization under the influence of pravastatin and epicatechin in vitro in patients with type-2 hypercholesterolemia). *Problemy Terapii Monitorowanej*, 2, 105-115.
28. Koziróg M., Poliwczak A. R., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M., Sikora J., Broncel M. (2011). Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *Journal of Pineal Research*, 50, 261-266.
29. Bernasińska J., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M. (2011). Chloroacetamidy – źródła i rodzaje zagrożeń (Chloroacetamides – sources and types of risk). *Bory Tucholskie i inne obszary leśne II – ochrona monitoring edukacja*, Gwoździński Krzysztof (red.), Łódź, 203-218.
30. Pytel E., **Duchnowicz P.**, Jackowska P., Wojdan K., Koter-Michalak M., Broncel M. (2012). Disorders of erythrocyte structure and function in hypertensive patients. *Medical Science Monitor* 18, 331-336.
31. Ziobro A., **Duchnowicz P.**, Mulik A., Koter-Michalak M., Broncel M. (2013). Oxidative damages in erythrocytes of patients with metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 378, 267-273.
32. Bernasinska J., **Duchnowicz P.**, Koter-Michalak M., Koceva-Chyła A. (2013). Effect of safeners on damage of human erythrocytes treated with chloroacetamide herbicides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36, 368-377.
33. Dworniak K., Duchnowicz P., Koter-Michalak M., Dziańska-Bartkowiak B., Gerlicz Z., Waszczykowska E., Broncel M. 2013. Zwiększone stężenie produktów peroksydacji lipidów oraz zaburzenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych w erytrocytach u chorych na twardzinę układową, przewlekłe leczonych witaminą E (Increased level of lipid peroxidation products and disturbances in oxidative-reduction balance in erythrocytes from patients suffering from systemic sclerosis, who are chronically treated with vitamin E). *Polski Merkuriusz Lekarski*, 35(206), 85-88.

| <b>Dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora</b> |        |
|---|--------|
| Liczba publikacji, w tym:   | 4      |
| prace doświadczalne   | 3      |
| prace przeglądowe   | 1      |
| Liczba monografii<br>i rozdziałów w monografiach                  | –<br>– |
| Liczba komunikatów na konferencjach<br>naukowych                  | 13     |
| Liczba publikacji z Impact Factor                                 | 1      |
| <b>Dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia naukowego doktora</b>     |        |
| Liczba publikacji, w tym:   | 36     |
| prace doświadczalne   | 34     |
| prace przeglądowe   | 2      |
| Liczba monografii<br>i rozdziałów w monografiach                  | –<br>8 |
| Liczba komunikatów na konferencjach<br>naukowych                  | 56     |
| Liczba publikacji z Impact Factor                                 | 16     |

|   |        |
|---|--------|
| Sumaryczny Impact Factor<br>wg roku wydania                   | 24,952 |
| średni 5-letni  | 31,810 |
| łącna liczba punktów MNiSW                                    | 497    |
| Indeks Hirscha  | 6      |
| Liczba cytowań wg bazy <i>Web of Science</i>                  | 181    |
| Liczba cytowani bez autocytowań wg bazy <i>Web of Science</i> | 176    |

Dane na dzień 12 maja 2014.