



WYDZIAŁ
MEDYCYN
WETERYNARYJNEJ

AUTOREFERAT

Rola hormonów żołądkowo-jelitowych (greliny, obestatyny, apeliny)
w regulacji zewnątrzwydzielniczej funkcji trzustki u szczurów

dr Małgorzata Kapica

KATEDRA FIZJOLOGII ZWIERZĄT
WYDZIAŁ MEDYCYN WETERYNARYJNEJ
UNIwersytet PRZYRODNICZY w LUBLINIE

Lublin, 2018

Autoreferat został przygotowany zgodnie ze wzorem zamieszczonym na stronie internetowej Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów

1. Imię i Nazwisko.**Małgorzata Kapica (do 1998r. Popielarz)****2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania.**

- stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych, nadany uchwałą Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie w dniu 29 czerwca 1999 roku; tytuł rozprawy doktorskiej: *„Wpływ diety suplementowanej surowa i ekstradowaną mączką sojową na wydzielanie i skład enzymatyczny soku trzustkowego u cieląt w okresie postnatalnym”*. (promotor prof. dr hab. Tadeusz Studziński)
- tytuł: lekarz weterynarii (dyplom lekarza weterynarii nr 20327/W/88. z dnia 3.06.1988 roku wydany przez Akademię Rolniczą w Lublinie)

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.

Od roku 1989 do dnia dzisiejszego – Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie (poprzednia nazwa: Akademia Rolnicza w Lublinie), na stanowiskach:

1. od 01. 10. 1999 r. do dnia dzisiejszego – Katedra Fizjologii Zwierząt (w latach 2006 – 2014: Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt), UP w Lublinie, adiunkt
2. od 10. 01. 1989 r. do 30. 09. 1999 r. Katedra Fizjologii Zwierząt, Akademia Rolnicza w Lublinie, asystent

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

4.1. Jednotematyczny cykl publikacji:**Rola hormonów żołądkowo-jelitowych (greliny, obestatyny, apeliny) w regulacji zewnątrzwydzielniczej funkcji trzustki u szczurów**

W skład osiągnięcia wchodzi następujące publikacje:

1. **Kapica M.**, Laubitz D., Puzio I., Jankowska A., Zabielski R. The ghrelin pentapeptide inhibits the secretion of pancreatic juice in rats *Journal of Physiology and Pharmacology* 2006, 54, 3, 691-700 (Punkty MNiSW₂₀₀₆= **20**, IF₂₀₀₆=**2,974**)*

Mój wkład w autorstwo: 70% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie i zorganizowanie przebiegu badań, zebranie materiału biologicznego, współudział w wykonaniu analiz

laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja wyników badań, opracowanie tekstu maszynopisu.

2. Jankowska A., Laubitz D., Guillaume D., Kotunia A., **Kapica M.**, Zabielski R. The effect of pentaghrelin on amylase release from the rat and porcine dispersed pancreatic acinar cells in vitro *Livestock Science* 2007, 108, 65-67 (Punkty MNiSW₂₀₀₇=**24**, IF₂₀₀₇=**0,61**)*

Mój wkład w autorstwo: 25% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie i zorganizowanie przebiegu badań, krytycznym zrecenzowaniu manuskryptu pod kątem istotnej zawartości intelektualnej a także ostatecznej akceptacji wersji do druku

3. **Kapica M.**, Zabielska M., Puzio I., Jankowska A., Kato I., Kuwahara A., Zabielski R. Obestatin stimulates the secretion of pancreatic juice enzymes through a vagal pathway in anaesthetized rats – preliminary results *Journal of Physiology and Pharmacology* 2007, vol. 58, Suppl 3, 123-130 (Punkty MNiSW₂₀₀₇= **20**, IF₂₀₀₇=**4,466**)**

Mój wkład w autorstwo: 70% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie i zorganizowanie przebiegu badań, zebranie materiału biologicznego, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja wyników badań, opracowanie tekstu maszynopisu.

4. **Kapica M.**, Puzio I., Kato I., Kuwahara A., Zabielski R. Role of feed-regulating peptides on pancreatic exocrine secretion. *Journal of Physiology and Pharmacology* vol. 59, suppl. 2, 145-159, 2008 (Punkty MNiSW₂₀₀₈= **20**, IF₂₀₀₈=**2,631**)**

Mój wkład w autorstwo: 70% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie i zorganizowanie przebiegu badań, zebranie materiału biologicznego, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja wyników badań, opracowanie tekstu maszynopisu.

5. **Kapica M.**, Jankowska A., Antushevich H., Pietrzak P., Bierła J. B., Dembiński A., Zabielski R. The effect of exogenous apelin on the secretion of pancreatic juice in anaesthetized rats *Journal of Physiology and Pharmacology* 2012, 63, 1, 53-60 (Punkty MNiSW₂₀₁₂= **25**, IF₂₀₁₂=**2,476**) **

Mój wkład w autorstwo: 70% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie i zorganizowanie przebiegu badań, zebranie materiału biologicznego, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja wyników badań, opracowanie tekstu maszynopisu.

6. **Kapica M.**, Puzio I. Effect of fundectomy, antrectomy and gastrectomy on pancreatic and brush border enzyme activity in rats *Medycyna Weterynaryjna* 2018, DOI: dx.doi.org/10.21521/mw.6031 (Punkty MNiSW₂₀₁₇= **15**, IF₂₀₁₇=**0,161**) ***

Mój wkład w autorstwo: 70% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie i zorganizowanie przebiegu badań, zebranie materiału biologicznego, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja wyników badań, opracowanie tekstu maszynopisu.

7. **Kapica M.**, Puzio I., Kato I., Kuwahara A., Zabielski R., Antushevich H. Exogenous obestatin affects pancreatic enzyme secretion in rat through two opposite mechanisms, direct inhibition and vagally-mediated stimulation. *Journal of Animal and Feed Science* 2018, DOI: <https://doi.org/10.22358/jafs/89734/2018> (Punkty MNiSW₂₀₁₇= **20**, IF₂₀₁₇=**1,024**) **

Mój wkład w autorstwo: 70% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie i zorganizowanie przebiegu badań, zebranie materiału biologicznego, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja wyników badań, opracowanie tekstu maszynopisu.

* – niniejsze badania zostały sfinansowane z grantu badawczego KBN nr KBN PBZ-3P06D01924 pt: Rola greliny w regulacji wydzielania soku trzustkowego u szczurów i prosiąt

** – niniejsze badania zostały sfinansowane z grantu badawczego KBN nr KBN N303 043 32/1447 pt: Rola apeliny i obestatyny w regulacji wydzielania soku trzustkowego u szczurów

*** – niniejsze badania zostały sfinansowane ze środków dotacji statutowej celowej dla Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie, DS/1pt: Wpływ biologicznie aktywnych składników diety oraz metabolitów trawienia na regulacje czynników trawiennych przewodu pokarmowego oraz procesy narządowego i układowego rozwoju w okresie postnatalnym

Łączna punktacja **7** prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji, zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi:

- wg listy czasopism punktowanych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Punkty MNiSW): **144 pkt**

- sumaryczny Impact Factor wg listy Journal Citation Reports (IF): **14,342**

Liczba cytowań cyklu prac (wg bazy Scopus) **86**

Kopie publikacji (załącznik III) oraz oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstaniu pracy znajdują się w załączeniu (załącznik IIIb)

4.2. Omówienie celu naukowego prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

W ostatnich kilkunastu latach odkryto wiele nowych hormonów (grelina, obestatyna, apelina, nesfatyna) syntetyzowanych na terenie przewodu pokarmowego, głównie przez komórki endokryne błony śluzowej żołądka i jelit. Wysoką ekspresję tych hormonów (peptydów regulacyjnych) stwierdzono w żołądku oraz innych tkankach przewodu pokarmowego. Hormony te biorą udział w regulacji apetytu oraz funkcji przewodu pokarmowego zmieniając sekrecję enzymów, motorykę oraz oddziałując troficznie. Stężenie leptyny, apeliny, greliny i obestatyny w osoczu krwi koreluje z BMI (Heinonen i wsp. 2005; Callahan i wsp. 2004). Hormony żołądkowo-jelitowe są także zaangażowane w kontrolę funkcji zewnątrzwydzielniczych trzustki.

Grelina jest istotnym regulatorem przyjmowania pokarmu, który integruje regulację apetytu (Ariyasu i wsp. 2001, Cummings i wsp. 2001, Tschöp i wsp. 2001) z funkcją trawienną i cytoprotekcyjną układu pokarmowego (Brzozowski i wsp. 2004). Przypuszcza się, że jednym z istotnych mechanizmów działania greliny, powiązanych z regulacją przyjmowania pokarmu może być także jej udział w kontroli implantacji zarodka i rozwoju płodu (Kawamura i wsp. 2003, Tanaka i wsp. 2003). Grelina bierze także udział w postnatalnej regulacji rozwoju układu pokarmowego (Dembiński i wsp. 2005, Warzecha i wsp. 2006, Kotunia i Zabielski 2006). Rozpatrując funkcje trawienne, dostępne są informacje dotyczące roli greliny w neurohormonalnej regulacji motoryki przewodu pokarmowego (Peeters 2003), czynności wydzielniczej żołądka (Masuda i wsp. 2000, Date i wsp. 2001) i wewnątrzwydzielniczej części trzustki (Dezaki i wsp. 2006; Prado i wsp. 2004). Badano także rolę greliny w zapaleniu trzustki u szczurów (Dembiński i wsp. 2003 i 2006). Niewiele jest jednak informacji o jej roli w regulacji fizjologicznej funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki (poz. 1 w 4.1; poz. 2 w 4.1).

Grelina produkowana jest głównie w żołądku, a w niewielkich ilościach także w innych narządach takich jak przysadka mózgowa (Korbonits i wsp. 2001), komórki układu immunologicznego (Hattori i wsp. 2001), płuca (Volante i wsp. 2002b), łożysko (Gualillo i wsp. 2001), jajniki (Caminos i wsp. 2003, Gaytan i wsp. 2003), jądra i nerki (Barreiro i wsp. 2002, Tena-Sempere i wsp. 2002). Głównym miejscem syntezy greliny jest błona śluzowa żołądka, szczególnie komórki okładzinowe gruczołów żołądkowych oraz komórki endokryne, które wytwarzają około 80% krążącej greliny (Cummings i wsp. 2001; Date i wsp. 2000). Mniejsze ilości greliny są syntetyzowane w błonie śluzowej dwunastnicy, jelicie czczym, jelicie krętym i okrężnicy. W jelitach zawartość greliny stopniowo zmniejsza się od dwunastnicy do okrężnicy (Dornonville i wsp. 2001, Hosoda i wsp. 2000). Po chirurgicznym usunięciu części wpustowej żołądka obserwowano spadek ilości greliny o 80-90% (Puzio i wsp. 2005, Zhou i wsp. 2016).

Wielu badaczy zlokalizowało grelinę i receptor dla greliny (GHS-R) w komórkach wysp trzustkowych (Date i wsp. 2002; Gnanapavan i wsp. 2002; Volante i wsp. 2002a; Wierup i wsp. 2002;

Dezaki i wsp. 2008; Prado i wsp. 2004; Wierup i Sundler 2005, Heller i wsp. 2005; Wang i in 2007). Komórki grelinowe obserwowane są głównie na obwodzie wysp trzustkowych (Dezaki wsp. 2008).

W badaniach u dorosłych szczurów i ludzi wykazano, że grelina jest obecna w komórkach typu A i B wysp trzustki (Date i wsp. 2002; Volante i wsp. 2002b). Z tego powodu sugeruje się, że może ona być istotnym hormonem w regulacji sekrecji insuliny i metabolizmie glukozy. Aczkolwiek, w wyspach trzustkowych u dorosłych osobników komórki immunoreaktywne dla greliny są nieliczne. Stwierdza się zazwyczaj od 3 do 5 komórek immunoreaktywnych dla greliny na wyspę, a nierzadko ich brak. W żołądku u dorosłych osobników komórki immunoreaktywne dla greliny są o wiele liczniejsze niż w trzustce (Date i wsp. 2000). Dokładne pomiary ilościowe ujawniły, że u osobników dorosłych komórki immunoreaktywne dla greliny stanowią zaledwie około 1% komórek wysp trzustki. Komórki immunoreaktywne dla greliny są równomiernie rozmieszczone w trzustce – nie obserwuje się różnic w ich liczbie pomiędzy głową a ogonem trzustki. Pojedyncze komórki immunoreaktywne dla greliny są także obecne w nabłonku przewodów trzustkowych i w komórkach zewnątrzwydzielniczych, a sporadycznie zlokalizowane wewnątrz zwojów trzustkowych i identyfikowane jako komórki nerwowe. Badania w mikroskopie konfokalnym wysp trzustkowych dorosłych ludzi i szczurów ujawniły, że immunoreaktywność dla greliny często kolokalizuje z immunoreaktywnością dla glukagonu (Date in. 2000) lub somatostatyny, a sporadycznie z immunoreaktywnością dla insuliny lub dla polipeptydu trzustkowego (Volante i wsp. 2002). Zauważono kolokalizację glukagonu i greliny w komórkach typu A z tym, że niektóre komórki immunoreaktywne dla glukagonu nie są immunoreaktywne dla greliny (Date i wsp. 2002; Kageyama i wsp. 2005). W kilku pracach wykazano obecność immunoreaktywnej greliny w komórkach B (Volante i wsp. 2002a; Granata i wsp. 2007; Wang i wsp. 2007). Niektórzy badacze zidentyfikowali ekspresję greliny u płodów, w okresie neonatalnym i u dorosłych ludzi w osobnej nieidentyfikowanej dotąd populacji komórek wysp trzustkowych. W komórkach tych nie stwierdzano ekspresji innych znanych hormonów, a komórki grelinowe mogą stanowić nowy typ komórek wysp określanych jako komórki ϵ (Wierup i wsp. 2002; Prado i wsp. 2004; Wierup i Sundler, 2005, Heller i wsp. 2005).

Grelina może regulować funkcję komórek B w trzustce w różny sposób. Po pierwsze, grelina pochodząca z żołądka i innych tkanek może być transportowana przez krew i wiązana z GHS-R na komórkach B (klasyczna droga endokrynną). Po drugie, grelina pochodząca z komórek A trzustki może oddziaływać z komórkami B i modulować niezależnie przepływ krwi w mikrokrążeniu. Komórki wysp mogą kontaktować się poprzez rodzaj specyficznych połączeń między komórkami wewnątrz wyspy dzięki temu, że komórki A są często zlokalizowane w bezpośrednim sąsiedztwie komórek B.

Prekursor greliny, prepro-grelina, jest zbudowany u ludzi i szczurów ze 117-aminokwasów (Kojima i wsp. 1999; Del Rincón i wsp. 2001). Prepro-grelina zawiera 23 aminokwasowy peptyd sygnałowy i 94-aminokwasową pro-grelinę, która z kolei zawiera 28-aminokwasową dojrzałą (w pełni rozwiniętą) grelinę i 66 aminokwasów końcowych. Pierwsze 4 lub 5 aminokwasów greliny (Gly-Ser-

Ser (n-octanoyl)-Phe-Leu są wystarczające do mobilizacji wapnia *in vitro* (Bednarek i wsp. 2000). Siedmio-aminokwasowa sekwencja od końca N łącznie z n-oktaacetylowaną seryną jest stała dla wielu gatunków, co sugeruje jej ważne znaczenie dla działania greliny u kręgowców. W osoczu i w żołądku zidentyfikowano zarówno pełną sekwencję greliny, jak i jej krótsze fragmenty (Date i wsp. 2000; Hosoda i wsp. 2000, Hosoda i wsp. 2003).

Regulacja wydzielania greliny jest złożonym procesem, który jest ściśle kontrolowany zarówno przez układ nerwowy ośrodkowy, jak i jelitowy oraz szereg bodźców hormonalnych. Grelina może działać zarówno jako klasyczny hormon, jak również jako neuropeptyd (uwalniana z zakończeń neuronów) zarówno w centralnym układzie nerwowym, jak i przywspółczulnej i jelitowej części autonomicznego układu nerwowego.

Wykazano, że grelina hamuje czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki stymulowaną przez farmakologiczne dawki CCK u szczurów oraz w rozproszonych komórkach pęcherzykowych trzustki (Zhang i wsp. 2001). Ponadto stwierdzono, że centralne podanie greliny pobudza wydzielanie soku trzustkowego (Sato i wsp. 2003) przez eferentne włókna nerwu błędnego u szczurów. W doświadczeniach Nawrot-Porąbki i wsp. (2007) stwierdzono, że dodwunastnicze podawanie greliny powoduje wzrost wydzielania podstawowego soku trzustkowego oraz wyrzutu amylazy. Obustronna wagotomia, podanie kapsaicyny oraz blokada receptorów CCK1 powoduje całkowite zniesienie pobudzającego wpływu podania greliny na czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki (poz. 1 w 4.1).

Skąpa liczba badań nad rolą greliny w mechanizmach regulacji wydzielania soku trzustkowego skłoniła do podjęcia takich badań z użyciem modelu *in vivo*. (poz. 2 w 4.1.)

Na przeprowadzenie badań z użyciem zwierząt laboratoryjnych uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej. Badania przeprowadzono na szczurach rasy Wistar o wyjściowej masie ciała 200 ± 20 g. Szczury utrzymywano w klatkach po 3-4 sztuki w każdej, w kontrolowanych warunkach 12-godz. okresu dnia świetlnego, w temperaturze 22°C i 40-60 % wilgotności. Przed zabiegami operacyjnymi szczury poddawano 12-godz. głodówce z zapewnieniem ciągłego dostępu do wody. Wykonywano doświadczenia zarówno o charakterze ostrym, jak również chronicznym. Doświadczenia przeprowadzono w znieczuleniu ogólnym uzyskiwanym przez zastosowanie domięśniowych iniekcji mieszaniny ksylazyny (Rometa 2%, Sopfa, Praga, Czechy) i ketaminy (Ketamina 10%, Biowet Puławy, Polska) w ilościach odpowiednio 12 i 35 mg/kg masy ciała. Podczas trwania doświadczenia dawki środków znieczulających dodawano co około 2 godziny w celu utrzymania znieczulenia ogólnego na wymaganym poziomie. Model doświadczenia stosowany do kolekcji soku trzustkowo-żółciowego u szczurów polegał na zaimplantowaniu silikonowego kateteru do żyły szyjnej zewnętrznej oraz na wykonaniu laparotomii i kateteryzacji (polietylenowe katetery) przewodu trzustkowo-żółciowego wspólnego i dwunastnicy (Matyjek i wsp. 2003). Poprzez kateter w żyłę szyjną podawano roztwór soli fizjologicznej w celu utrzymania homeostazy płynów ustrojowych. Kateter ten służył także do infuzji peptydów regulacyjnych (greliny, CCK-8, a kolejnych doświadczeniach obestatyny i apeliny) i pobierania krwi. Kaniula wprowadzona do bańki dwunastnicy

służyła do zablokowania napływu treści żółdkowej do dwunastnicy, zwracania soku oraz podawania testowanych czynników do światła dwunastnicy. Badane substancje podawano dożylnie za pomocą pompy infuzyjnej (Kwapisz, mono 20/50, Polska), a do dwunastnicy za pomocą 4-kanałowej pompy perystaltycznej Ismatec (Ismatec SA, Labortechnik-Analytik, Glattbrugg-Zürich, Szwajcaria). Sok żółciowo-trzustkowy zbierano do probówek Eppendorffa umieszczonych w łaźni lodowej. Co 15 minut próbki zmieniano, sok natychmiast ważono, porcjowano i zamrażano do późniejszych oznaczeń. Do blokowania receptorów CCK1 użyto farmakologicznego antagonisty receptora CCK1 (Tarazepide, Solvay Pharmaceuticals GmbH, Hanower, Niemcy), który podawano w dawce 2,5 mg/kg m.c. sondą do żołądka na 2 godz. przed planowaną operacją (Zabielski i wsp. 1998; Matyjek i wsp. 2003). Obustronną, niską (poniżej przepony) wagotomię wykonywano tuż przed rozpoczęciem kolekcji soku. Farmakologiczną deafferentację wykonywano z użyciem kapsaicyny (dawka całkowita 100 mg/kg podzielona na 10 dni; Sigma-Aldrich, USA) wg rutynowo stosowanej metody (Jaworek i wsp. 2001; poz. 1 w 4.1).

W pierwszym doświadczeniu podawano pentapeptyd greliny w dawce 1,2; 12 i 50 nmol/kg m.c. Analizując wydzielanie soku trzustkowego u szczurów w warunkach wydzielania podstawowego stwierdzono, że pentagrelina powoduje zmniejszenie objętości wydzielanego soku żółciowo-trzustkowego (PBJ). Podanie greliny zmniejszało objętość wydzielanego PBJ w pierwszym 15-min okresie po dożylnym podaniu tego peptydu. Obserwowano dawkozależne obniżenie objętości PBJ ze statystycznie istotnym spadkiem w warunkach zastosowania najwyższej dawki greliny (50 nmol/kg m.c.). Objętość soku trzustkowego wynosiła odpowiednio $0,21 \pm 0,011$; $0,18 \pm 0,016$; $0,18 \pm 0,017$ oraz $0,17 \pm 0,016$ ml/100g m.c./15 min.

Grelina powodowała spadek wydzielania soku żółciowo-trzustkowego także w warunkach wydzielania stymulowanego infuzją CCK-8 w farmakologicznej dawce 400 pmol/kg m.c. Zmiany te były istotne statystycznie zarówno w dawce 12, jak również i 50 nmol/kg m.c. Objętość soku trzustkowego wynosiła odpowiednio $0,21 \pm 0,011$; $0,18 \pm 0,08$; $0,18 \pm 0,08$ oraz $0,17 \pm 0,002$ ml/100g m.c./15 min.

Podawanie greliny w dawce zarówno 12 jak i 50 nmol/kg m.c. powodowało spadek wyrzutu białka całkowitego w soku trzustkowym w warunkach wydzielania podstawowego. Wydzielanie stymulowane infuzją CCK-8 zarówno w dawkach fizjologicznych, jak i farmakologicznych charakteryzowało się gwałtownym, utrzymującym się w całym obserwowanym okresie doświadczalnym spadkiem wyrzutu białka w soku trzustkowym.

W warunkach wydzielania podstawowego podawanie greliny powodowało istotne statystycznie spadek wyrzutu trypsyny w soku trzustkowym w najwyższej zastosowanej dawce 50 nmol/kg m.c. Wydzielanie stymulowane infuzją CCK-8 zarówno w fizjologicznych, jak również farmakologicznych dawkach charakteryzowało się wysoce istotnym statystycznie spadkiem wyrzutu

trypsyny w soku trzustkowym. Uzyskane wyniki sugerują, że grelina może hamować niestymulowane jak również stymulowane wydzielanie soku trzustkowego w sposób dawkozależny.

Sekrecja trzustki jest kontrolowana przez kilka mechanizmów wzajemnie współpracujących, w których główną rolę pełni autonomiczny układ nerwowy. Liczne odruchy żołądkowo-trzustkowe i jelitowo-trzustkowe są możliwe dzięki wieloneuronalnym połączeniom między trzustką a żołądkiem i dwunastnicą. Postanowiono zatem sprawdzić efekt działania greliny w warunkach wyłączono przewodnictwa nerwowego w nerwie błędnym poprzez zablokowanie włókien czuciowych kapsaicyną. U szczurów, którym przez 10 dni podawano kapsaicynę badano w doświadczeniu ostrym wpływ greliny na wydzielanie soku trzustkowego. Stwierdzano spadek objętości wydzielanego PBJ o 20,37%, wyrzutu białka o 21,12% a wyrzutu trypsyny o 24,82%. Obserwowano przy tym brak odpowiedzi trzustki na infuzję greliny. Uzyskane wyniki świadczą o istotnej roli włókien czuciowych w obserwowanych efektach działania greliny na wydzielanie soku trzustkowego.

Przed kolekcją soku trzustkowego u szczurów przeprowadzono zabieg niskiej (przyprzeponowej) wagotomii. Przecięcie nerwów błędnych powodowało zmniejszenie objętości wydzielanego soku trzustkowego w warunkach wydzielania podstawowego o 21,76%. Wyrzut białka w soku trzustkowym wykazywał spadek o 19,03%, a wyrzut trypsyny o 48,55%. Zabieg wagotomii blokował wpływ greliny na sekrecję soku trzustkowego, co świadczy o pośredniczeniu długich odruchów wago-wagalnych w działaniu greliny.

U zwierząt przed kolekcją soku trzustkowego blokowano receptor CCK_1 podając sondą do żołądka tarazepid (2,5 mg/kg m.c., Solvay Pharmaceuticals, Niemcy), farmakologicznego antagonistę receptora CCK_1 z rodziny benzodiazepin. We wcześniejszych badaniach wykazano, że tarazepid jest wysoce specyficznym antagonistą, długo wiążącym się do receptora typu CCK_1 , który niezmiernie słabo wchłania się z przewodu pokarmowego. Zatem po jego podaniu do żołądka dochodzi do długotrwałego, trwającego kilkanaście godzin, wyłączenia receptorów CCK_1 zlokalizowanych w błonie śluzowej żołądka i jelita cienkiego. Blokada śluzówkowego receptora CCK_1 powodowała wyłączenie inhibicyjnego wpływu greliny na sekrecję soku trzustkowego u szczurów (poz. 1 w 4.1).

Uzyskane wyniki pozwalają wnioskować, że grelina kontroluje sekrecję soku trzustkowego poprzez hamowanie neurohormonalnego mechanizmu zależnego od CCK i nerwu błędnego.

Badania *in vitro* wykonano na rozproszonych komórkach pęcherzykowych trzustki według metody opisanej przez Jaworek i wsp. (2000) zaadoptowanej do badań w laboratorium Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN. Badania wykonano na komórkach pozyskanych od 18 szczurów rasy Wistar (150–220 g m.c.) oraz 11 prosiąt w wieku 7 dni (2,1–3,2 kg m.c.), które uśmiercono przez przedawkowanie CO_2 . Po enzymatycznym (Collagenase CLSPA, Worthington, Lakewood, NJ, USA) wyizolowaniu komórek pęcherzykowych trzustki, komórki zawieszono w buforze Ringer-Krebs-HEPES i traktowano pentagreliną (Human, Rat, 1–5, H-Gly-Ser-Ser(n-Octanoyl)-Phe-Leu-NH₂, Peptides International, Louisville, KY, USA) w szerokim zakresie stężeń (od 10^{-10} do 10^{-7} M). Wpływ pentagreliny na wydzielanie komórek pęcherzykowych określano badając aktywność

wydzielanej amylazy do medium oraz w poddanych lizie komórkach pęcherzykowych. Kontrolą pozytywną był standardowo do tego celu używany sulfonowany oktapeptyd cholecystokininy (CCK-8s, Sigma-Aldrich, USA), który stymuluje wydzielanie amylazy z komórek pęcherzykowych. Stwierdzono, że pentapeptyd greliny w dawkach 10^{-10} , 10^{-9} oraz 10^{-8} hamuje w sposób dawkozależny uwalnianie amylazy z zarówno z komórek niestymulowanych, jak również stymulowanych CCK-8.

Obestatyna została po raz pierwszy wyizolowana z żołądków szczurów w 2005 roku przez Zhanga i współpracowników (Zhang i wsp., 2005). Jest to 23-aminokwasowy peptyd, który pochodzi z tego samego prekursora co grelina. Peptyd ten jest obecny w wielu tkankach w organizmie: w jelicie cienkim, okrężnicy, śledzionie, korze mózgowej, mięśniach szkieletowych, tkance tłuszczowej, płucach, wątrobie i wielu innych tkankach, jednakże głównym miejscem wytwarzania obestatyny u szczurów jest w błona śluzowa żołądka (Zhang i wsp., 2005; Zhao i wsp., 2008, Grönberg i wsp., 2008; Moretti i wsp., 2014). W trzustce immunoreaktywne komórki obestatyny występują głównie w obwodowym regionie wysp i w przewodach trzustkowych. Komórki te nie wykazują wspólnej lokalizacji z glukagonem, polipeptydem trzustkowym lub insuliną (Zhao i wsp., 2008; Grönberg i wsp., 2008). W dwunastnicy, jelicie czczym i biodrowym obecność obestatyny wykazano w kryptach Lieberkühna i gruczołach Brunnera (Grönberg i wsp., 2008). Stwierdzono, że zabiegi operacyjnego usunięcia części (fundektomia) lub całego żołądka (gastrektomia) drastycznie zmniejszyły poziom obestatyny w osoczu krwi (Matyjek i wsp., 2004, Furnes i wsp., 2007).

Receptor obestatyny jest wciąż najslabiej poznanym ogniwem działania tego peptydu, niemniej jednak seria eksperymentów przeprowadzonych na szczurach i myszach dostarczyła dowodów naukowych na działanie obestatyny w organizmie. Obestatyna zmniejsza ilość pobieranego pokarmu oraz przyrosty masy ciała (Zhang i wsp. 2005). U osób otyłych obserwowano zmniejszenie liczby komórek immunoreaktywnych dla obestatyny (Gao i wsp. 2014). Pierwszym sugerowanym receptorem dla greliny był GPR39 (McKee i wsp. 1997; Moechars i wsp. 2006), po pewnym czasie pojawiły się badania negujące związki zależne obestatyny z receptorem GPR39 (Lauwers i wsp. 2006; Holst i wsp. 2007). Ostatnie badania zdają się jednak potwierdzać możliwość oddziaływania obestatyny na komórkę poprzez to białko błonowe (Kołodziejcki i wsp. 2017). Co więcej wskazuje się także na możliwość oddziaływania greliny na komórki poprzez receptor grelinowy (Pradhan i wsp. 2017).

Kilka badań wykazało, że obestatyna wykazuje pewne działanie ochronne i terapeutyczne w jelitach (Ceranowicz i wsp., 2015, Bukowczan i wsp., 2015), na przykład zapobiegawcze podawanie obestatyny hamowało rozwój ostrego zapalenia trzustki indukowanego przez ceruleinę i niedokrwienie/reperfuzję (Ceranowicz i wsp., 2015).

Celem kolejnego doświadczeniu było wyjaśnienie mechanizmów neurohormonalnych, za pomocą których egzogenna obestatyna może kontrolować sekrecję enzymów trzustkowych. Badania wykonano w doświadczeniach *in vivo* i *in vitro* (poz. 3 i poz. 7 w 4.1). W doświadczeniu *in vivo* badano wpływ podawania egzogennej obestatyny w dawce (30, 100 and 300 nmol/kg m.c.) na

wydzielanie soku żółciowo-trzustkowego u szczurów. Wydzielanie soku trzustkowego badano w warunkach wydzielania podstawowego oraz w warunkach wyłączonego przewodnictwa nerwowego w nerwie błędnym poprzez zablokowanie włókien czuciowych kapsaicyną, niskopiennej wagotomii oraz blokady receptorów CCK1 przez podanie tarazepidu.

Analizując wydzielanie soku trzustkowego u szczurów w warunkach wydzielania podstawowego stwierdzono, że podawanie obestatyiny niezależnie od drogi podania (dożylnie jak również dodwunastniczo) nie powoduje zmian objętości wydzielanego soku żółciowo-trzustkowego (PBJ). Zaobserwowano natomiast dawkozależny wzrost wyrzutu białka w soku trzustkowym po dożylnym (iv) podawaniu obestatyiny. Stwierdzono, że wyrzut białka w soku trzustkowym wynosił $1,7 \pm 0,011$ przed podaniem obestatyiny oraz odpowiednio: $2,94 \pm 0,08$ po podaniu 30 nmol/kg m. c. obestatyiny; $3,15 \pm 0,08$ (100 nmol/kg m.c. obestatyiny) oraz $3,51 \pm 0,002 \text{ mg/100g m.c./15min}$ (300 nmol/kg m.c. obestatyiny). Obserwowano ponadto statystycznie istotny wzrost wyrzutu trypsyny w soku trzustkowym wynoszący odpowiednio: $0,52 \pm 0,05$, $0,59 \pm 0,04$, $0,72 \pm 0,03 \text{ U/100g m.c./15 min.}$ Podawanie obestatyiny dodwunastniczo powodowało wzrost wyrzutu białka w soku trzustkowym odpowiednio o 90,6, 83,1 oraz 58% dla dawek 30, 100 i 300 nmol/kg m.c. obestatyiny. Nie obserwowano zmian objętości wydzielanego soku trzustkowego po podawaniu obestatyiny. Sugeruje to, że obestatyina pobudza do wydzielania komórki pęcherzyków trzustkowych, ale nie przewodów trzustkowych wydzielających elektrolity i wodę. Wagotomia powoduje zmniejszenie objętości wydzielanego soku trzustkowego i znosi pobudzający wpływ obestatyiny na wydzielanie białka całkowitego jak również aktywności trypsyny w soku trzustkowym niezależnie od drogi podawania (dożylnie lub dodwunastniczo). Znoszenie pobudzającego wpływu obestatyiny obserwowano także w warunkach wyłączonego przewodnictwa nerwowego poprzez zablokowanie włókien czuciowych kapsaicyną oraz blokady receptorów CCK1 przez podanie tarazepidu.

W doświadczeniu *in vitro* na rozproszonych komórkach trzustki stwierdzono, że obestatyina w dawce 10^{-6} M zwiększa uwalnianie amylazy, podczas gdy podawanie obestatyiny wspólnie z CCK-8 powoduje zmniejszenie uwalniania amylazy z komórek trzustki (poz. 7 w 4.1).

Powyższe badania wykazują, że regulacja wydzielania soku trzustkowego przez obestatyinę jest złożona i obejmuje zarówno mechanizm zależny od włókien czuciowych nerwu błędnego i receptora cholecystokininowego zlokalizowany w błonie śluzowej dwunastnicy – ten sam mechanizm który został wskazany przez nasz zespół jako odpowiedzialny za przenoszenie informacji leptynowej, grelinowej i apelinowej jak i mechanizm bezpośredni zależny od funkcjonalnych receptorów dla obestatyiny na pęcherzykach trzustkowych. Rozważanie, czy miałyby to być GPR39 czy receptor grelinowy wychodzi poza zakres niniejszej pracy. Tym niemniej powyższe badania wskazują, że rola tego pierwszego mechanizmu jest dominująca w regulacji soku trzustkowego.

Apelina jest hormonem odkrytym po raz pierwszy przez Tatemoto i wsp. (1998) jako endogenny ligand dla receptora APJ sprzężonego z białkiem G. Wykazano istnienie wielu form

apelinę zawierającej 36, 17, 13 lub 12 aminokwasów (O'Carroll i wsp., 2013). Wszystkie te formy są wynikiem zmian potranslacyjnych prohormonu dla apelinę o długości 77 aminokwasów. Metodami real time RT-PCR wykazano lokalizację apelinę i specyficznego dla niej receptora APJ w przewodzie pokarmowym, sercu, ośrodkowym układzie nerwowym, mięśniach szkieletowych, płucach, gruczołach mlecznych oraz adipocytach (Habata i wsp. 1999; O'Carroll i wsp. 2013, Wang i wsp. 2004). Apelina uczestniczy w kontroli uwalniania hormonów przysadki, obniża ciśnienie krwi, pobudza pobieranie wody u szczurów oraz hamuje produkcję cytokin prozapalnych (Habata, 1999; Taheri, 2002).

Apelina jest peptydem, który może działać jako neuromediator, klasyczny hormon i czynnik auto/parakryny (Beltowski, 2006; Higuchi i wsp., 2007; Lee i wsp., 2006; Chen i wsp., 2016, Folino i wsp., 2015). Zwiększa ona kurczliwość mięśnia sercowego (Berry i wsp., 2004) w sposób zależny od obciążenia (Szokodi i wsp., 2002), bez wywoływania przerostu mięśnia sercowego i przy niskich kosztach metabolicznych (Ashley i wsp., 2005).

Apelina podawana i.c.v. reguluje ciśnienie krwi (Reaux i wsp., 2001). Wiele badań *in vitro* i *in vivo* wskazuje, że centralnie podawana apelina pełni rolę neuroprotekcijną (Cheng i wsp., 2012, Yang i wsp., 2015). W OUN obserwowano ponadto działanie przeciwbólowe (Lv i wsp., 2012) i przeciwłękowe (Telegdy i Jászberényi, 2014) oraz modulację uczenia się i pamięci (Han i wsp., 2014, Telegdy i wsp., 2013).

Apelina jest peptydem zdolnym do zwiększania wrażliwości na insulinę u myszy otyłych i opornych na insulinę (Bertrand i wsp. 2015). Długotrwałe podawanie apelinę (23 tygodnie) zmniejsza ilość tkanki tłuszczowej oraz zwiększa zdolność oksydacyjną mięśni (Attané i wsp., 2002). Apelina uczestniczy w metabolizmie glukozy, powodując obniżenie poziomu glukozy na czczo (Sörhede Winzell i wsp., 2005) przez zwiększenie wychwytu glukozy w tkankach docelowych, takich jak mięśnie szkieletowe i tkanka tłuszczowa (Dray i wsp., 2008). Poziom apelinę w surowicy jest związany ze stanem odżywienia i zmienia się analogicznie do stężenia insuliny u myszy i ludzi (Boucher i wsp., 2005, Castan-Laurell i wsp., 2008). Stężenie apelinę w osoczu wzrasta u osób otyłych (Heinonen i wsp., 2005) oraz u osób z cukrzycą typu 2 (Li i wsp., 2006), jak również u myszy otyłych z hiperinsulinemią (Boucher i wsp., 2005). Wykazano, że apelina działa jako negatywny sygnał zwrotny hamując wydzielanie insuliny w sytuacjach wysokiego poziomu tego hormonu (Boucher i wsp., 2005).

Brak jest danych o wpływie apelinę na zewnątrzwydzielniczą funkcję trzustki, dlatego też w kolejnym doświadczeniu badano wpływ egzogennej apelinę na zmiany objętości soku żółciowo-trzustkowego oraz zawartość białka ogólnego i aktywność trypsyny (poz. 5 w 4.1). Apelinę podawano w dawce 10, 20 i 50 nmol/kgm.c. Stwierdzono, że podawanie apelinę-13 dożylnie w dawce 20 i 50 nmol/kg powodowało statystycznie istotne zmniejszenie objętości soku żółciowo-trzustkowego i wyrzutu białka. Efekt ten był dawkozależny. Podawanie dożylnie apelinę-13 w dawce 10 nmol/kg m.c. nie zmieniło objętości wydzielanego soku oraz wyrzutu białka. Wykazano, że w warunkach

wagotomii, deafferentacji czuciowej poprzez podawanie zwierzętom kapsaicyny oraz blokady receptorów CCK1 poprzez zastosowanie tarazepidu następowało znoszenie hamującego działania apeliny. Odmienne efekty działania obserwowano u szczurów, którym podawano apelinę dodwunastniczo. Stwierdzono, że apelina w dawkach 20 i 50 nmoli/kg m.c. powoduje wzrost objętości soku żółciowo-trzustkowego oraz wyrzutu białka i trypsyny. Efekt ten jest znoszony przez zastosowanie wagotomii oraz farmakologicznej blokady receptorów CCK1.

Obserwowano zmniejszenie przepływu krwi w naczyniach krezkowych już od pierwszych sekund od podania dożylnego apeliny-13, utrzymujący się przez 5 minut doświadczenia.

Stwierdzono ponadto, że dożołądkowe podawanie apeliny-13 przez 2 tygodnie powoduje statystycznie istotny wzrost poziomu CCK w osoczu w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi (348 ± 31 pg/ml) i doświadczałymi (436 ± 23 pg/ml).

Obserwowano, że apelina-13 w wysokich dawkach (10^{-6} M) stymuluje znacząco uwalnianie amylazy z rozproszonych komórek pęcherzykowych trzustki szczurów zarówno niestymulowanych, jak również stymulowanych CCK-8 w dawce 10^{-10} M.

W badaniach immunofluorescencyjnych przy użyciu mikroskopu konfokalnego wykazano, że apelina jest obecna w pęcherzykach trzustkowych, nie wykazano natomiast jej obecności na terenie wysp trzustkowych. Ekspresja receptora APJ była obserwowana w komórkach pęcherzyków trzustki, przewodach trzustkowych oraz wyspach trzustkowych. W badaniach immunofluorescencyjnych wykazano obecność apeliny w wielu komórkach błony śluzowej żołądka. Ekspresję apeliny i receptora APJ stwierdzono w części dennej żołądka jednocześnie nie wykazując ich obecności w części wpustowej żołądka. W części odźwiernikowej żołądka stwierdzono lokalizację apeliny przy braku ekspresji receptora APJ. Stwierdzona lokalizacja apeliny w komórkach zewnątrzwydzielniczych żołądka sugeruje, że apelina może być wydzielana do światła żołądka w odpowiedzi na czynniki pobudzające. W dwunastnicy ekspresję apeliny wykazano na kosmkach jelitowych szczególnie na ich szczycie, nie stwierdzając ich obecności na terenie krypt jelitowych. Ekspresję receptora APJ wykryto w błonie śluzowej jelita cienkiego, w szczególności w nabłonku dwunastniczym. Stwierdzono kolokalizację apeliny i receptora APJ z neurofilamentami w jelicie cienkim.

Badano także wpływ eliminacji endogennych hormonów żołądka (greliny, obestatyny, nesfatyny, leptyny) poprzez chirurgiczne zabiegi fundektomii (usunięcia części dennej żołądka), antrektomii (usunięcia części odźwiernikowej żołądka) oraz gastrektomii (usunięcia części dennej i odźwiernikowej żołądka) na zmiany funkcji enzymów trzustki i nabłonka jelit (poz. 6 w 4.1). We wcześniejszych badaniach stwierdzono zmniejszenie poziomu greliny u szczurów po gastrektomii, fundektomii oraz antrektomii do poziomu wynoszącego odpowiednio 24%, 28,5% oraz 41,5% poziomu tego hormonu u zwierząt kontrolnych (Puzio i wsp. 2005). U wszystkich operowanych zwierząt obserwowano statystycznie istotny wzrost poziomu gastryny. W homogenatach trzustki stwierdzono wzrost poziomu białka. Wzrost ten był statystycznie istotny u zwierząt po zabiegu fundektomii i antrektomii. Stwierdzono ponadto wzrost aktywności amylazy, który był najsilniejszy u

szczurów po gastrektomii, a następnie po antrektomii i fundektomii. U szczurów poddanych gastrektomii i fundektomii obserwowano statystycznie istotny wzrost aktywności maltazy w homogenatach błony śluzowej dwunastnicy (odpowiednio o 31% i 47%). Wzrost aktywności maltazy obserwowano także w proksymalnej, środkowej i dystalnej części jelita cienkiego u szczurów po fundektomii, antrektomii i gastrektomii w porównaniu ze szczurami kontrolnymi. Wykazano statystycznie istotne zmniejszenie aktywności sacharazy w błonie śluzowej dwunastnicy i jelita czczego.

Wykazano, że chirurgiczne usunięcie części żołądka powoduje drastycznie zmiany w poziomie hormonów żołądkowo-jelitowych, które decydują o wielu funkcjach organizmu. Zmiany hormonalne mogą mieć wpływ na aktywność enzymów trzustki i rąbka szczotkowego dwunastnicy.

Wykazano, że egzogenna grelina, obestatylna i apelina zmieniają wydzielanie soku trzustkowego poprzez mechanizm neurohormonalny. Grelina podawana dożylnie powoduje zmniejszenie objętości wydzielanego soku trzustkowego oraz zawartości w nim białka ogólnego i aktywności trypsyny w warunkach wydzielania podstawowego oraz stymulowanego infuzją CCK-8. Obestatylna podawana zarówno dożylnie, jak również dodwunastniczo pobudza wydzielanie białka ogólnego oraz aktywność trypsyny w soku trzustkowym u szczurów. Efekt ten zależny jest od nerwu błędnego podczas gdy bezpośrednie działanie obestatylny na komórki pęcherzykowe trzustki *in vitro* prowadzi do odwrotnego efektu. Dożylne podawanie apeliny zmniejsza objętość soku trzustkowego, wyrzut białka ogólnego i trypsyny w sposób zależny od dawki. Podawanie apeliny do światła dwunastnicy powoduje z kolei znaczne zwiększenie objętości wydzielanego soku trzustkowego oraz wyrzut białka i trypsyny poprzez mechanizm zależny od nerwu błędnego. Pobudzenie uwalniania amylazy przez apelinę obserwowano także w doświadczeniach *in vitro*.

Uzyskane wyniki badań objętych jednotematycznym cyklem badań pt. ***Rola hormonów żołądkowo-jelitowych (greliny, obestatylny, apeliny) w regulacji zewnątrzwydzielniczej funkcji trzustki u szczurów*** wskazują, że wszystkie trzy wymienione peptydy żołądkowo-jelitowe uczestniczą w regulacji wydzielania soku trzustkowego poprzez skomplikowaną sieć mechanizmów neurohormonalnych.

Piśmiennictwo

- Ariyasu H., Takaya K., Tagami T., Ogawa Y., Hosoda K., Akamizu T., Suda M., Koh T., Natsui K., Toyooka S., Shirakami G., Usui T., Shimatsu A., Doi K., Hosoda H., Kojima M., Kangawa K., Nakao K. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin like immunoreactivity levels in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 86, 4753–4758
- Ashley E.A., Powers J., Chen M., Kundu R., Finsterbach T., Caffarelli A., Deng A., Eichhorn J., Mahajan R., Agrawal R., Greve J., Robbins R., Patterson A.J., Bernstein D., Quertermous T. The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc. Res.* 2005, 65, 73-82
- Attané C., Foussal C., Le Gonidec S., Benani A., Daviaud D., Wanecq E., Guzmán-Ruiz R., Dray C., Bezaire V., Rancoule C., Kuba K., Ruiz-Gayo M., Levade T., Penninger J., Burcelin R., Pénicaud L., Valet P., Castan-Laurell I. Apelin treatment increases complete fatty acid oxidation, mitochondrial oxidative capacity, and biogenesis in muscle of insulin-resistant mice. *Diabetes* 2012, 61, 310–320

- Barreiro M.L., Gaytan F., Caminos J.E., Pinilla L., Casanueva F.F., Aguilar E., Dieguez C., Tena-Sempere M. Cellular location and hormonal regulation of ghrelin expression in rat testis, *Biol. Reprod.* 2002, 67, 1768–1776
- Bednarek M.A., Feighner S.D., Pong S.S., McKee K.K., Silva M., Warren V.A., Howard A.D., Van der Ploeg L.H.T., Heck J.V. Structure and function studies on the new growth hormone releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a, *J. Med. Chem.* 2000, 43 4370–4376
- Beltowski J. Apelin and visfatin: unique “beneficial” adipokines upregulated in obesity? *Med. Sci. Monit.* 2006,12, RA112-R119
- Bertrand C., Valet P., Castan-Laurell I. Apelin and energy metabolism. *Front. Physiol.* 2015, 6, 115
- Berry M.F., Pirulli T.J., Jayasankar V., Burdick J., Morine K.J., Gardner T.J., Woo Y.J. Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts. *Circulation* 2004, 110, II187-II93.
- Boucher J., Masri B., Daviaud D., Gesta S., Guigné C., Mazzucotelli A., Castan-Laurell I., Tack I., Knibiehler B., Carpené C., Audigier Y., Saulnier-Blache J.S., Valet P. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology* 2005, 146, 1764-1771
- Brzozowski T., Konturek P.C., Konturek S.J., Kwiecień S., Drozdowicz D., Bielanski W., Pajdo R., Ptak A., Nikiforuk A., Pawlik W.W., Hahn E.G. Exogenous and endogenous ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. *Regul Pept* 2004, 120, 39-51
- Bukowczan J., Warzecha Z., Ceranowicz P., Kuśnierz-Cabala B., Tomaszewska R., Dembinski A., Pretreatment with obestatin reduces the severity of ischemia/reperfusion- induced acute pancreatitis in rats, *Eur. J. Pharmacol.* 2015, 760, 113–121
- Callahan H.S., Cummings D.E., Pepe M.S., Breen P.A., Matthys C.C., Weigle D.S. Postprandial suppression of plasma ghrelin level is proportional to ingested caloric load but does not predict intermeal interval in humans, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, 89, 1319–1324
- Caminos J.E., Tena-Sempere M., Gaytan F., Sanchez-Criado J.E., Barreiro M.L., Nogueiras R., Casanueva F.F., Aguilar E., Dieguez C. Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary, *Endocrinology* 2003, 144, 1594–1602
- Castan-Laurell I., Vitkova M., Daviaud D., Dray D., Kovacicova M., Kovacova Z., Hejnova J., Stich V., Valet P. Effect of hypocaloric induced weight loss in obese women on plasma apelin and adipose tissue expression of apelin and APJ. *Eur. J. Endocrinol.* 2008, 158, 905–910
- Ceranowicz P., Warzecha Z., Dembinski A. Peptidyl hormones of endocrine cells origin in the gut—their discovery and physiological relevance *J Physiol Pharmacol.* 2015, 66, 11–27
- Chen Z., Wu D., Li L., Chen L. Apelin/APJ system: a novel therapeutic target for myocardial ischemia/reperfusion injury. *DNA Cell Biol.* 2016, 35, 766-775
- Cheng B., Chen J., Bai B., Xin Q. Neuroprotection of apelin and its signaling pathway. *Peptides* 2012, 37,171–173
- Cummings D.E., Pumell J.Q., Frayo R.S., Schmidova K., Wisse B.E., Weigle D.S. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001, 50, 1714–1719
- Date Y., Kojima M., Hosoda H., Sawaguchi A., Mondal M.S., Suganuma T., Matsukura S., Kangawa K., Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000, 141, 4255–4261
- Date Y., Nakazato M., Murakami N., Kojima M., Kangawa K., Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 280, 904-907
- Date Y., Nakazato M., Hashiguchi S., Dezaki K., Mondal M.S., Hosoda H., et al. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002, 51, 124–29
- Del Rincón J.P., Thorner M.O., Gaylenn B.G. Motilin-related peptide and ghrelin: lessons from molecular techniques, peptide chemistry, and receptor biology. *Gastroenterology* 2001, 120, 587–588
- Dembiński A., Warzecha Z., Ceranowicz P., Tomaszewska R., Stachura J., Konturek S.J., Konturek P.C. Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rats *J. Physiol. Pharmacol.* 2003, 54, 561-573
- Dembiński A., Warzecha Z., Ceranowicz P., Bielański W., Cieszkowski J., Dembiński M., Pawlik W.W., Kuwahara A., Kato I., Konturek P.C. Variable effect of ghrelin administration on pancreatic development in young rats. Role of insulin-like growth factor-1. *J. Physiol. Pharmacol.* 2005, 56, 555-570
- Dembiński A., Warzecha Z., Ceranowicz P., Cieszkowski J., Pawlik W.W., Tomaszewska R., Kuśnierz-Cabala B., Naskalski J.W., Kuwahara A., Kato I. Role of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in the protective effect of ghrelin in ischemia/reperfusion-induced acute pancreatitis *Growth Hormone and IGF Research* 2006, 16, 5-6, 348-356

- Dezaki K., Sone H., Koizumi M., et al Blockade of pancreatic islet-derived ghrelin enhances insulin secretion to prevent high-fat diet-induced glucose intolerance. *Diabetes* 2006, 55, 3486–3493
- Dezaki K., Sone H., Yada T. Ghrelin is a physiological regu-lator of insulin release in pancreatic islets and glucose homeostasis. *Pharmacol Ther* 2008,118, 239–249
- Dornonville de la Cour C., Bjorkqvist M., Sandvik A.K., Bakke I., Zhao C.M., Chen D., Hakanson R. A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul Pept* 2001, 99, 141–150
- Dray C., Knauf C., Daviaud D., Waget A., Boucher J., Buleon M., et al. Apelin stimulates glucose utilization in normal and obese insulin-resistant mice. *Cell Metab.* 2008, 8, 437–445
- Folino A., Montarolo P.G., Samaja M., Rastaldo R. Effects of apelin on the cardiovascular system. *Heart Fail. Rev.* 2015, 20, 505-518
- Furnes W.M., Stenström B., Tømmerås K., Skoglund T., Dickson S.L., Kulseng B., Zhao C.M., Chen D. Feeding behavior in rats subjected to gastrectomy or gastric bypass surgery. *Eur Surg Res.* 2008, 40, 279–288
- Gao X.Y., Kuang H.Y., Liu X.M., Ma Z.B. Decreased gastric body mucosa obestatin expression in abdominal obesity patients with normal body mass index, *Biomed. Environ. Sci.* 2014, 27, 385–387
- Gaytan F., Barreiro M.L., Chopin L.K., Herington A.C., Morales C., Pinilla L., Casanueva F.F., Aguilar E., Dieguez C., Tena-Sempere M. Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor in the cyclic human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003, 88, 879–887.
- Gnanapavan S., Kola B., Bustin S.A., Morris D.G., McGee P., Fairclough P., Bhattacharya S., Carpenter R., Grossman A.B., Korbonits M. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87, 2988–91
- Granata R., Settanni F., Biancone L. et al. Acylated and unacylated ghrelin promote proliferation and inhibit apoptosis of pancreatic β -cells and human islets: Involvement of pancreatic β -cells and human islets: Involvement of 3',5' - cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A, extracellular signal-regulated kinase 1/2, and phosphatidyl inositol 3- kinase/Akt signaling. *Endocrinology*, 2007, 148, 2, 512–529
- Grönberg M., Tsolakis A.V., Magnusson L., Janson E.T., Saras J. Distribution of obestatin and ghrelin in human tissues: immunoreactive cells in the gastrointestinal tract pancreas, and mammary glands, *J. Histochem. Cytochem.* 2008, 56, 793–801
- Gualillo O., Caminos J., Blanco M., Garcia-Caballero T., Kojima M., Kangawa K., et al. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 2001,142, 788– 94
- Habata Y., Fujii R., Hosoya M., Fukusumi S., Kawamata Y., Hinuma S., Kitada C., Nishizawa N., Murosaki S., Kurokawa T., Onda H., Tatemoto K., Fujino M. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochim Biophys Acta* 1999, 1452, 1, 25–35
- Han, R.W., Xu, H.J., Zhang, R.S., Wang, R. The role of apelin-13 in novel object recognition memory. *Peptides* 2014, 62, 155–158
- Hattori N., Saito T., Yagyu T., Jiang B.H., Kitagawa K., Inagaki C. GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 86 4284–4291
- Heinonen MV, Purhonen AK, Miettinen P, Pääkkönen M, Pirinen E, Alhava E, Akerman K, Herzig KH. Apelin, orexin-A and leptin plasma levels in morbid obesity and effect of gastric banding. *Regul Pept* 2005; 130: 7–13
- Heller R.S., Jenny M., Collombat P., Mansouri A., Tomasetto C., Madsen O.D., Mellitzer G., Gradwohl G., Serup P. Genetic determinants of pancreatic epsilon-cell development. *Developmental Biology* 2005, 286, 217–224
- Higuchi K., Masaki T., Gotoh K., Chiba S., Katsuragi I., Tanaka K., Kakuma T., Yoshimatsu H. Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology* 2007, 148, 2690-2697
- Holst B., Egerod K.L., Schild E., et al. GPR39 signaling is stimulated by zinc ions but not by obestatin. *Endocrinology* 2007, 148, 13–20
- Hosoda H., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, 279, 909–913
- Hosoda H., Kojima M., Mizushima T., Shimizu S., Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by posttranslational processing. *J Biol Chem* 2003, 278, 64–70
- Jaworek J., Bilski J., Jachimczak B., Cieszkowski M., Kot M., Bielanski W., Konturek S.J. The effects of ammonia on pancreatic enzyme secretion in vivo and in vitro. *J. Physiol. Pharmacol.* 2000, 51 (2), 315–332

- Kageyama H., Funahashi H., Hirayama M., Takenoya F., Kita T., Kato S., Sakurai J., Lee E.Y., Inoue S., Date Y., Nakazato M., Kangawa K., Shioda S. Morphological analysis of ghrelin and its receptor distribution in the rat pancreas. *Regul Pept* 2005, 126, 67–71
- Kawamura K., Sato N., Fakuda J. et al. Ghrelin inhibits the development of mouse preimplantation embryos in vitro. *Endocrinology* 2003, 143, 2623-2633
- Kojima M., Hosoda H., Date Y., Nakazato M., Matsuo H., Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999, 402, 656–660
- Kolodziejcki P.A., Pruszyńska-Oszmerek E., Sassek M., Kaczmarek P., Szczepankiewicz D., Billert M., Mackowiak P., Strowski M.Z., Nowak K.W. Changes in obestatin gene and GPR39 receptor expression in peripheral tissues of rat models of obesity, type 1 and type 2 diabetes. *J. Diabetes* 2017, Apr; 9 (4), 353-361
- Korbonits M., Bustin S.A., Kojima M., Jordan S., Adams E.F., Lowe D.G., Kangawa K., Grossman A.B. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 86, 881–887
- Kotunia A., Zabielski R. Ghrelin in the postnatal development of the gastrointestinal tract. *J. Physiol. Pharmacol* 2006, 57, 97-112
- Lauwers E., Landuyt B., Arckens L., Schoofs L., Luyten W. Obestatin does not activate orphan G protein-coupled receptor GPR39. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006, 351, 21–25
- Lee D.K., George S.R., O'Dowd B.F. Unravelling the roles of the apelin system: prospective therapeutic applications in heart failure and obesity. *Trends Pharmacol. Sci.* 2006, 27, 190-194
- Li L., Yang G., Li Q., Tang Y., Yang M., Yang H., Li K. Changes and relations of circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 2006, 114, 544–548
- Lv S.Y., Qin Y.J., Wang N.B., Yang, Y.J., Chen Q. Supraspinal antinociceptive effect of apelin-13 in a mouse visceral pain model. *Peptides* 2012, 37, 165–170
- Masuda Y., Tanaka T., Inomata N., Ohnuma N., Tanaka S., Itoh Z., Hosoda H, Kojima M., Kangawa K. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000, 276, 905-908
- Matyjek R., Kapica M., Puzio I., Bąbewska M., Zabielski R. The effect of fundectomy on pancreatic secretion in anaesthetized rats *J Physiol Pharmacol.* 2004, 55, 69–75
- McKee K.K., Tan C.P., Palyha O.C., et al. Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 1997, 46, 426–434
- Moechars D., Depoortere I., Moreaux B., de Smet B., Goris I., Hoskens L., Daneels G., Kass S., Ver Donck L., Peeters T., Coulie B. Altered gastrointestinal and metabolic function in the GPR39-obestatin receptor-knockout mouse. *Gastroenterology.* 2006, Oct;131(4), 1131-41
- Nawrot-Porańska K., Jaworek J., Leja-Szpak A., Szklarczyk J., Macko M., Kot M., Mitis-Musiół M., Konturek S.J., Pawlik W.W. The effect of luminal ghrelin on pancreatic enzyme secretion in the rat. *Regul. Pept.* 2007, 143, 56–63
- O'Carroll A.M., Lolait S.J., Harris L.E., Pope G.R. The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *J. Endocrinol.* 2013, 219, R13–R35
- Peeters TL. Central and peripheral mechanisms by which ghrelin regulates gut motility. *J Physiol Pharmacol.* 2003, 54, Suppl 4, 95-103
- Pradhan G., Wu Ch-S., Lee J.H., Kanikarla P., Guo S., Yechoor V.K., Samson S.I., Sun Y. Obestatin stimulates glucose-induced insulin secretion through ghrelin receptor GHS-R. *Scientific Reports* 2017, 7 (1), 979
- Prado C.L., Pugh-Bernard A.E., Elghazi L., Sosa-Pineda B., Sussel L. Ghrelin cells replace insulin-producing beta cells in two mouse models of pancreas development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:2924–2929
- Puzio I., Kapica M., Filip R., Bieńko M., Radzki P.R. Fundectomy evokes elevated gastrin and lowered serum ghrelin levels accompanied by decrease in geometrical and mechanical properties of femora in the rats *Bulletin of The Veterinary Institute In Pulawy* 2005, 49,1, 69-74
- Reaux A., DeMota N., Skultetyova I., Lenkei Z., El Messari S., Gallatz K., Corvol P., Palkovits M., Llorens-Cortès C. Physiological role of a novel neuropeptide ,apelin, and its receptor in the rat brain. *J. Neurochem.* 2001, 77, 1085–1096
- Sato N , Kanai S , Takano S , Kurosawa M., Funakoshi A., Miyasaka K. Central administration of ghrelin stimulates pancreatic exocrine secretion via the vagus in conscious rats. *Jpn J. Physiol.* 2003, 53, 443-449

- Sörhede Winzell M., Magnusson C., Ahren B. The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regul. Pept.* 2005, 131, 12–17
- Szokodi I., Tavi P., Foldes G., et al. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res* 2002, 91, 434–40
- Taheri S., Murphy K., Cohen M., Sujkovic E., Kennedy A., Dhillo W., Dakin C., Sajedi A., Ghatei M., Bloom S. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, 291, 1208–1212
- Tanaka K., Minoura H., Isobe T., Yonaha H., Kawato H., Wang D.F., Yoshida T., Kojima M., Kangawa K., Toyoda N. Ghrelin is involved in the decidualization of human endometrial stromal cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003, 88, 2335–2340
- Tatemoto K., Hosoya M., Habata Y., et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1998, 251, 471–6
- Telegdy G., Jászberényi M. Transmitter mediation of the anxiolytic action of apelin-13 in male mice. *Behav. Brain Res.* 2014, 263, 198–202
- Telegdy G., Adamik A., Jaszberenyi M. Involvement of neurotransmitters in the action of apelin-13 on passive avoidance learning in mice. *Peptides* 2013, 39, 171–174
- Tena-Sempere M., Barreiro M.L., Gonzalez L.C., Gaytan F., Zhang F.P., Caminos J.E., Pinilla L., Casanueva F.F., Dieguez C., Aguilar E. Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology* 2002, 143, 717–725
- Tschöp M., Weyer C., Tataranni P.A., Devanarayan V., Ravussin E., Heiman M.L. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001, 50, 707–709
- Volante M., Allia E., Gugliotta P., Funaro A., Broglio F., Deghenghi R., Muccioli G., Ghigo E., Papotti M. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87, 1300–1308
- Volante M., Fulcheri E., Allia E., Cerrato M., Pucci A., Papotti M. Ghrelin expression in fetal, infant, and adult human lung. *J. Histochem. Cytochem.* 2002, 50, 1013–1021
- Wang X., Liang L., Du L. The effects of intrauterine undernutrition on pancreas ghrelin and insulin expression in neonate rats. *Journal of Endocrinology* 2007, 194, 121–129
- Wang G., Anini Y., Wei W., Qi X., O'Carroll A.M., Mochizuki T., Wang H.Q., Hellmich M.R., Englander E.W., Greeley G.H. Jr. Apelin, a new enteric peptide: localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, and stimulation of gastric cell proliferation and of cholecystokinin secretion. *Endocrinology* 2004, 145, 1342–1348
- Warzecha Z., Dembiński A., Ceranowicz P., Dembiński M., Cieszkowski J., Bielański W., Pawlik W.W., Kuwahara A., Kato I. Dual age-dependent effect of ghrelin administration on serum level of insulin-like growth factor-1 and gastric growth in young rats. *Eur J Pharmacol* 2006, 529, 145–150
- Wierup N., Svensson H., Mulder H., Sundler F. The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul Pept* 2002, 107, 63–69
- Wierup N., Sundler F. Ultrastructure of islet ghrelin cells in the human fetus. *Cell and Tissue Research* 2005, 319, 423–428
- Yang Y., Lv S.Y., Lyu S.K., Wu D., Chen Q. The protective effect of apelin on ischemia/reperfusion injury. *Peptides* 2015, 63, 43–46
- Zhang W., Chen M., Chen X., Segura B.J., Mulholland M.W. Inhibition of pancreatic protein secretion by ghrelin in the rat. *J. Physiol. (Lond.)* 2001, 537, 231–236
- Zhang J.V., Ren P.G., Kretchmer O.A., Luo C.W., Rauch R., Klein C., Hsueh A.J.W. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 2005, 310, 996–999
- Zhao C.M., Furnes M.W., Stenström B., Kulseng B., Chen D. Characterization of obestatin- and ghrelin-producing cells in the gastrointestinal tract and pancreas of rats: an immunohistochemical and electron-microscopic study. *Cell Tissue Res.* 2008, 331, 575–587
- Zhou D., Jiang X., Jian W., Zheng L., Lu L., Zheng Ch. Comparing the Effectiveness of Total Gastrectomy and Gastric Bypass on Glucose Metabolism in Diabetic Rats *Obes Surg* 2016, 26, 119–125

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1 Rola hormonów (apeliny, greliny, obestatyny, leptyny) w regulacji funkcji przewodu pokarmowego

W ramach prowadzonych badań w 2002 r. nawiązałam współpracę z Instytutem Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN w Jabłonie oraz Katedrą Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW. Współpraca ta zaowocowała zrealizowaniem 4 wspólnych projektów badawczych finansowanych przez Komitet Badań Naukowych.

Głównym nurtem moich zainteresowań naukowych jest wpływ różnych czynników hormonalnych na wydzielanie soku trzustkowego oraz ich wpływ na regulację procesów komórkowych zachodzących w enterocytach błony śluzowej jelita u szczurów. Badałam zarówno wpływ peptydów żołądkowo-jelitowych (grelina, obestatyny, apelina, nesfatyna), jak również efekty eliminacji tych endogennych hormonów poprzez przeprowadzone zabiegi chirurgiczne (fundektomia, antrektomia, gastrektomia).

W latach 2011-2013 byłam głównym wykonawcą projektu grantowego (N N311 082737) pt: „Rola apeliny w regulacji procesów komórkowych enterocytów błony śluzowej jelita czczego u szczurów”. W ramach projektu przeprowadzono badania *in vitro* na liniach komórkowych Caco-2 (modelu enterocyta niezróżnicowanego) oraz IEC-6 (modelu enterocyta zróżnicowanego). W badaniach stwierdzono obecność swoistego dla apeliny receptora APJ na powierzchni błony komórkowej komórek linii Caco-2 i IEC-6. Stwierdzono ponadto, że apelina hamuje apoptozę, mitozę oraz zmniejsza liczbę uszkodzeń DNA w linii komórek IEC-6. Odwrotne zjawisko zaobserwowano w linii komórek Caco-2. Odmiennosc działania apeliny na różne linie komórkowe może być związana z aktywacją odmiennych szlaków sygnalizacyjnych regulujących przebieg cyklu komórkowego. Kolejnym etapem badań *in vivo* było określenie roli apeliny w procesach dojrzewania przewodu pokarmowego u młodych szczurów oraz wpływu apeliny na procesy regeneracji nabłonka jelitowego u szczurów dorosłych. Podawanie apeliny zarówno dożołądkowo, jak również dootrzewnowo powoduje spowolnienie proliferacji, indeksu apoptotycznego oraz liczby uszkodzeń DNA w badanych odcinkach przewodu pokarmowego. Badaniom poddano również szczury po fundektomii (chirurgicznym usunięciu części dennej żołądka) mającej na celu usunięcie głównego miejsca syntezy endogennej apeliny.

U szczurów po fundektomii obserwowano zmniejszenie indeksu mitotycznego we wszystkich tkankach przewodu pokarmowego. Stwierdzono zmniejszenie indeksu apoptotycznego w trzustce i w jelicie biodrowym u szczurów po fundektomii. W żołądku i jelicie czczym obserwowano wzrost głębokości krypt. Ekspresja enzymu OGG1,2 (glikozylazy 8-oksoguaniny)-enzymu uczestniczącego w naprawie DNA) u fundektomizowanych szczurów była znacząco zmniejszona we wszystkich odcinkach jelit przy jednoczesnym wzroście ekspresji w błonie śluzowej żołądka. Dootrzewnowe podawanie apeliny-13 powodowało znaczne zmniejszenie indeksów apoptotycznych i mitotycznych w

tkankach przewodu pokarmowego oraz zmniejszenie ekspresji enzymu OGG1,2 w żołądku, jelicie cienkim i okrężnicy. Natomiast dożołądkowe podawanie apelin-13 powodowało znaczące zmniejszenie indeksu apoptotycznego i mitotycznego we wszystkich tkankach oprócz jelita biodrowego. Wyniki badań sugerują, że obserwowane zmiany nie są wywołane wyłącznie przez apelinę żołądkową, ale zależą od zmian poziomu wielu hormonów. Fundektomia powoduje zmniejszenie poziomu greliny, obestatyny przy wzroście poziomu gastryny (Puzio i wsp. 2014).

U młodych zwierząt apelina podawana zarówno drogą dożołądkową, jak również dootrzewnową powoduje wzrost indeksu apoptotycznego, wzrost ekspresji OGG1,2 oraz hamuje mitozę w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego. Otrzymane wyniki świadczą o hamującym wpływie apeliny na dojrzewanie przewodu pokarmowego. Fizjologicznie proces taki obserwujemy u szczurów, gdy obecna w wysokim stężeniu apelina w sianie i mleku matki hamuje zamykanie bariery enterocytarnej w jelitach by umożliwić wnikanie przeciwciał i innych biologicznie aktywnych peptydów (Habata i wsp. 1999).

Badano ponadto wpływ podawania apeliny w dawce 100 nmol/kg m.c. 2x dziennie przez 10 dni na aktywność enzymów trawiennych żołądka i trzustki. Stwierdzono, że dożołądkowe podawanie apeliny powodowało wzrost zawartości białka ogólnego oraz wzrost aktywności enzymów trzustki (trypsyny, amylazy i lipazy). U młodych szczurów, otrzymujących apelinę obserwowano wzrost aktywności podpuszczki oraz lipazy trzustkowej. Dane te sugerują, że apelina bierze udział w regulacji wstępnego trawienia białek mleka oraz uczestniczy w regulacji trawienia i metabolizmu lipidów. Procesy te mają za zadanie uzyskanie jak największej ilości energii niezbędnej dla intensywnie rozwijającego się młodego organizmu.

Stwierdzono, że niezależnie od drogi podania (dożołądkowo czy dootrzewnowo) apelina powoduje statystycznie istotny wzrost poziomu cholecystokininy w surowicy krwi. Efekt ten był obserwowany zarówno u zwierząt młodych, jak również zwierząt dorosłych.

Wyniki tych badań opublikowano w:

1. Antushevich H., Pawlina B., **Kapica M.**, Krawczyńska A., Herman A.P., Kuwahara A., Kato I., Zabielski R. Influence of fundectomy and intraperitoneal or intragastric administration of apelin on apoptosis, mitosis, and DNA repair enzyme OGG 1,2 expression in adult rats gastrointestinal tract and pancreas *Journal of Physiology and Pharmacology* 2013, 64, 4, 423-428
2. Antushevich H., Krawczyńska A., **Kapica M.**, Herman A. P., Zabielski R. Effect of apelin on mitosis, apoptosis and DNA repair enzyme OGG 1/2 expression in intestinal cell lines IEC-6 and Caco-2 *Folia Histochemica et Cytobiologica* 2014, 52, 1, 51-59
3. Antushevich H., Bierła J., Pawlina B., **Kapica M.**, Krawczyńska A., Herman A.P., Kato I., Kuwahara A., Zabielski R. Apelin's effects on young rat gastrointestinal tract maturation *Peptides* 2015, 65, 1-5
4. Antushevich H., **Kapica M.**, Kuwahara A., Kato I., Krawczyńska A., Herman A.P., Pawlina B., Zabielski R. The apelin-13 influences the activity of pancreatic enzymes in young rats *Journal of Animal and Feed Sciences* 2016, 25, 160-166
5. Antushevich H., **Kapica M.**, Krawczyńska A., Herman A., Kato I., Kuwahara A., Zabielski R. The role of apelin in the modulation of gastric and pancreatic enzymes activity in adult rats *Journal of Physiology and Pharmacology* 2016, 67, 3, 403-409

W swoich badaniach byłam zainteresowana wpływem eliminacji endogennych hormonów żołądka (greliny, obestatyliny, nesfatyny, leptyny) na regulację funkcji trzustki i jelit oraz układ kostno-szkieletowy. Byłam kierownikiem tematu badawczego 8 Modulowanie rozwoju jelita przez hormony i enzymy trzustki w grantie zamawianym PBZ-KBN-093/P06/2003, pt. „Sterowanie rozwojem przewodu pokarmowego u noworodków zwierząt w celu zwiększenia ich przeżywalności i poprawy stanu zdrowotnego”, SGGW Warszawa, realizowanym w latach 2003-2006. W ramach grantu wykonywane były zabiegi fundektomii (usunięcia części dennej żołądka), a następnie w ramach kolejnych projektów badawczych wykonywane były także zabiegi antrektomii (usunięcia części odźwiernikowej żołądka) oraz gastrektomii (usunięcia części dennej i odźwiernikowej żołądka). Badania dotyczyły ponadto wpływu operacji bariatrycznych na poziom hormonów zawartych w błonie śluzowej jelit oraz w osoczu krwi. Zmienione w wyniku operacji chirurgicznych warunki anatomiczne w przewodzie pokarmowym spowodowały szereg zmian. Wykazano statystycznie istotne zmniejszenie poziomu greliny u szczurów po gastrektomii, fundektomii, jak również antrektomii.

Badany był ponadto wpływ dożołądkowego podawania inhibitora greliny na strukturę jelit u szczurów. Doświadczenie przeprowadzono na szczurach podzielonych na 2 grupy. Szczury grupy kontrolnej otrzymywały sondą dożołądkową płyn fizjologiczny, natomiast zwierzęta grupy doświadczalnej otrzymywały 100 nmol/kg m.c. antagonistę receptorów GHS-R1a (Peptides International Inc., USA), raz dziennie przez 4 tygodnie. Statystycznie istotny wzrost wysokości kosmków jelitowych oraz głębokości krypt stwierdzono w początkowej części jelita u zwierząt, którym podawano antagonistę receptorów GHS-R1a. W dwunastnicy obserwowano jedynie tendencję wzrostową tych parametrów. Zaobserwowano także statystycznie istotny wzrost pola powierzchni pęcherzyków trzustki i pola powierzchni komórek trzustki. Obserwowano ponadto zmniejszenie zawartości białka ogólnego i aktywności trypsyny w homogenatach trzustki zwierząt grupy doświadczalnej. Natomiast w homogenatach błony śluzowej żołądka szczurów otrzymujących inhibitor greliny wykazano wzrost zawartości białka ogólnego i aktywności proteolitycznej. Blokada receptora GHS-R1 przez podawanie antagonisty greliny nie znosi pro-proliferacyjnego wpływu endogennej greliny na błonę śluzową jelit sugerując, że działanie greliny odbywa się również za pośrednictwem innych receptorów.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Journal of Physiology and*

Pharmacology, a także w *pracy zbiorowej – Sterowanie rozwojem układu pokarmowego u nowo narodzonych ssaków.*

1. Dib N., Kiciak A., Pietrzak P., Ferenc K., Jaworski P., **Kapica M.**, Tarnowski W., Zabielski R. Early-effect of bariatric surgery (Scopinaro method) on intestinal hormones and adipokines in insulin resistant. *Wistar rat Journal of Physiology and Pharmacology* 2013, 64, 5, 571-577
2. ValverdePiedra J. L., Szymańczyk S. E., Puzio I., **Kapica M.** Influence of the intragastric administration of [D-Lys3]-GHRP-6 on the pro-proliferative effects of endogenous ghrelin in the small intestine of the rat. *Medycyna Weterynaryjna* 2014, 70, 541-545. IF -0,196.
3. Puzio I., **Kapica M.**, Filip R., Bieńko M., Radzki P.R. Fundectomy evokes elevated gastrin and lowered serum ghrelin levels accompanied by decrease in geometrical and mechanical properties of femora in the rats *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2005, 49, 1, 69-74.
4. **Puzio I.**, Kapica M., Bieńko M., Radzki P.R., Pawłowska M., Tymcki G. Fundectomy, antrectomy and gastrectomy influence densitometric, tomographic and mechanical bone properties as well as serum ghrelin and nesfatin-1 levels in rats. *Medycyna Weterynaryjna* 2014, 70, 604-609.
5. Dembiński A., **Kapica M.**, Warzecha Z., Ceranowicz P. Rola leptyny i greliny w rozwoju żołądka, jelit i trzustki. *Sterowanie rozwojem układu pokarmowego u nowo narodzonych ssaków. praca zbiorowa / pod red. Romualda Zabielskiego*, 2007, s. 100-125,

oraz w ramach doniesień zjazdowych

1. Pawłowska M., **Kapica M.**, Puzio I., Matyjek R., Zabielski R. Określanie poziomu greliny po fundektomii *Annales Universitatis Medicae Lodziensis* 2005, supl. 37, 30
2. Szymańczyk S.E., Valverde Piedra J.L., **Kapica M.**, Puzio I., Pawłowska M., Godlewski M.M., Zabielski R. The effect of endogenous ghrelin elimination on small intestine mucosa remodeling in rats *Journal of Physiology and Pharmacology* 2008, p. 231, vol. 59 suppl. 1
3. Tymicki G., **Kapica M.**, Tomaszewska E., Dobrowolski P., Puzio I. Antrectomy and gastrectomy alter small intestine morphology in rats. *Zeszyt streszczeń. 2nd Lublin International Medical Congress for Students and Young Doctors* 2015, str. 14
4. Antushevich H., **Kapica M.**, Krawczyńska A., Herman A. P., Kato I., Kuwahara A., Zabielski R. The effect of fundectomy and intraperitoneal administration of apelin on pancreatic and gastric enzymes activities in adult rats. *Physiology and biochemistry in animal nutrition : XII Conference of Young Researchers / The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Science, The Group on Animal Nutrition of The Committee on Animal Sciences of Polish Academy of Science, Łowicz-Nieborów, 23-24 September, 2015* 24. Jabłonna, Polska Akademia Nauk

Brałam udział w badaniach nad określeniem wpływu treningu na zmiany poziomu hormonów (greliny, leptyny) u koni klaczy czystej krwi arabskiej i kuców Felińskich. Wykazano, że wysiłek powodował istotny wzrost stężenia leptyny w osoczu krwi, utrzymujący się jeszcze 30 minut po powrocie z toru. Obserwowano 30% wzrost poziomu leptyny w grupie koni najmłodszych, podczas gdy w grupach koni starszych zjawisko powysiłkowego wzrostu stężenia leptyny w osoczu krwi zanikało. Stwierdzono wyższe wartości leptyny i większe jej powysiłkowe wzrosty u klaczy, niż u ogierów. W badaniach zauważono zmiany poziomu leptyny związane z porami roku, obserwując wyższe wartości leptyny zimą a niższe latem. Analizie poddano także wahania stężenia triacylogliceroli (TG) w osoczu krwi. Powysiłkowy wzrost stężenia TG w osoczu krwi koni jest charakterystyczny dla tego gatunku, nie występuje np. ani u ludzi, ani u gryzoni. Zmiany stężenia leptyny w osoczu krwi korelowały ze zmianami stężenia TG. Podsumowując, dzięki

przeprowadzonym badaniom wykazano po raz pierwszy, że stężenie leptyny w osoczu krwi może wzrastać w krótkim czasie, pod wpływem wysiłku trwającego ok. 45 min. Ponadto wykazano, że wielkość tego wzrostu związana jest z wiekiem i płcią badanych koni, przy czym wraz z wiekiem i/lub zaawansowaniem treningowym zjawisko zwiększonego wydzielania leptyny pod wpływem wysiłku zanikało.

1. Kędziński W., **Kapica M.**, Kolstrung R., Pluta M. Stężenie leptyny, greliny i wskaźników metabolizmu lipidów w osoczu krwi klaczy czystej krwi arabskiej i kuców felińskich w okresie okołoporodowym *Medycyna Weterynaryjna* 2008, 64, 4A, 427-430
2. Kędziński W., **Kapica M.** Plasma Concentrations of Leptin and Ghrelin in Standardbred Foals as Related to the Age, Sex, Exercise and Training of Standardbred Foals. *Animal and International Journal of Animal Bioscience (Cambridge)* 2008, 2 (4), pp. 582-587

5.2 Aktywność proteolityczna i zmiany rozwojowe pepsynogenu i prochymozyny u owiec i cieląt w okresie prenatalnym

Na początku mojej pracy naukowej skupiłam się na badaniach aktywności proteolitycznej i zmianach rozwojowych w trawieńcu płodów bydłowych. W wyciągach trawieńca płodów do 12 tygodnia życia obserwowano małą aktywność proteolityczną, która zwiększała się do 20 tygodnia, po czym malała w 20-24 tygodniu i następnie systematycznie zwiększała się do końca życia płodowego. Zmiany rozwojowe proteaz żołądkowych u płodów bydłowych polegały na syntezie kolejno proteaz od wolno do najszybciej migrujących w elektroforezie. Pierwsza była powoli migrująca frakcja, odpowiednik SMP u człowieka i prochymozyna, następnie progastryksyna i izoenzymy pepsynogenu A, z których Pg5 był pierwszy i w miarę rozwoju płodu syntetyzowane kolejne Pg4, Pg3 i Pg2. Pg1 był syntetyzowany jako ostatni w końcowym okresie życia płodowego. W trawieńcach płodów stwierdzono trzy różniące się elektroforetycznie prochymozyny (A, B, C), które występowały pojedynczo i parami w sześciu fenotypach zdeterminowanych przez kodominantne allele. Badano ponadto związek między rodzajami prochymozyny występującymi w trawieńcu cieląt i genetycznymi wariantami głównych białek w mleku ich matek. U badanych cieląt stwierdzono 4 warianty prochymozyny Pch: A, D, B, C nazwane zgodnie z malejącą migracją elektroforetyczną. Częstotliwość genów dla prochymozyny A, D, B, C wynosiła 0,35, 0,11, 0,52 i 0,02 u cieląt rasy czarno-białej.

Badania obejmowały także analizę rozwoju aktywności proteolitycznej izoenzymów pepsynogenu A, ich rozmieszczenie w trawieńcu i dwunastnicy płodów **owcy**. Część dennej żołądka 70 - dniowych płodów wykazywała aktywność proteolityczną, która zwiększała się, uzyskując najwyższą aktywność u jagniąt po urodzeniu. W części odźwiernikowej mała aktywność pojawiła się w 85 dniu, a w dwunastnicy 120 dniu, zwiększając się wraz z wiekiem płodu. W badaniach elektroforetycznych stwierdzono trzy do czterech izoenzymów PGA nazwanych zgodnie z malejącą migracją od Pg1 do Pg4 oraz trzy frakcje wolnomigrujące, wśród których główna była prochymozyna.

Efektom tych badań były pierwsze publikacje:

1. Wiśliński M., **Popielarz M.** Development of proteolytic activity of pepsinogen A isozymes , their distribution in abomasum and duodenum of sheep foetuses. **Annales UMCS, DD**, 1994, 49, 51- 58
2. Wiśliński M., **Popielarz M.** Occurrence of prochymosin variants in the abomasum of bovine foetus and calves. **Journal of Veterinary Medicine, series A**, 1994, 41, 171 -179
3. Wiśliński M., **Popielarz M.** Distribution of Proteolytic Activities and Developmental Changes of Proteases in Abomasum of Cattle Foetuses. **Annales UMCS, sectio DD**, 1995, 71-86
4. Wiśliński M., **Popielarz M.**, Bobowiec R . Prochymosin polymorphism in calves of Black-and-White cattle and their cross with simental Bulls. **Journal of Veterinary Medicine A**. 1995, 42, 389-396
5. Wiśliński M., Bobowiec R., Seibert B., **Popielarz M.** Prochymosin Variants in the Abomasa of Calves and Milk Protein Variants of Their Mothers. **Annales UMCS, sectio DD**, 1995, 93-99
6. **Kapica M.**, Valverde Pietra J.V.: „Zmiany aktywności enzymów trawiennych soku trzustkowego u cieląt w okresie postnatalnym, II Konferencja Naukowa nt. Fizjologia okresu okołoporodowego i postnatalnego zwierząt gospodarskich. Szczecin - Barzkowice str.2 9-33, 5-6 grudnia 1997

oraz doniesienia zjazdowe:

1. Wiśliński M., **Popielarz M.** Rozmieszczenie aktywności proteolitycznej i zmiany rozwojowe izoenzymów pepsynogenu A w trawieńcu płodów bydłych. Materiały IX Kongresu PTNW, Olsztyn, 1992
2. Wiśliński M., **Popielarz M.** Zmiany rozwojowe izoenzymów pepsynogenu A oraz ich rozmieszczenie w trawieńcu płodów owcy. Materiały IX Kongresu PTNW, Olsztyn, 1992.
3. Wiśliński M., **Popielarz M.** Prochymosin polymorphism in cow's foetuses and calves. XIX Congress Polish Physiological Society, Toruń, 1993

5.3 Wpływ biologicznie aktywnych dodatków do żywności na aktywność enzymów żołądka i trzustki

Od wielu lat w Katedrze Fizjologii zwierząt prowadzone są badania mające na celu wykazanie wpływu biologicznie aktywnych dodatków do żywności na aktywność enzymów żołądka i trzustki.

Nieustannie prowadzi się poszukiwania związków mogących złagodzić negatywne skutki nagłej zmiany rodzaju pokarmu. Wydaje się, że takimi substancjami mogą być lektyny, zawarte w nasionach roślin strączkowych, powszechnie uznawane za substancje antyżywnościowe. U szczurów, którym podano preparat Suilektin[®] stwierdzono wzrost masy ciała oraz wzrost masy narządów, takich jak żołądek, trzustka i wątroba. Zaobserwowano również istotne zwiększenie długości jelita czczego szczurów otrzymujących lektynę. Zaobserwowano tendencję do zwiększania długości kosmków w dwunastnicy przy jednoczesnej tendencji do zmniejszania ich długości w jelicie czczym i biodrowym. Głębokość krypt jelitowych zwiększała się istotnie we wszystkich odcinkach jelita cienkiego. Podobny wzrost stwierdzono w odniesieniu do grubości błony mięśniowej jelita cienkiego szczurów. Zaobserwowano, że stężenie IGF-1 w surowicy krwi rośnie wraz z wiekiem zwierząt, zaś podawanie preparatów lektynowych nie powoduje istotnych zmian w stężeniu tego hormonu. Stwierdzono, że preparat Suilektin[®], otrzymany na drodze kwaśnej ekstrakcji lektyn, podany w odpowiednim czasie i w odpowiedniej dawce korzystnie wpływa na przewod pokarmowy i może być stosowany u osesków w celu zmniejszenia niekorzystnego wpływu procesu odsadzenia.

Badany był wpływ podawania maślanu sodu i wyciągu z *Yucca Schidigera* do paszy świń. Stwierdzono polepszenie współczynnika konwersji paszy (Feed conversion ratio - FRC) u zwierząt grup doświadczalnych. Efekt ten był wynikiem zwiększenia grubości błony śluzowej, poszerzenia kosmków jelitowych i zwiększenia głębokości krypt. Obserwowano ponadto wzrost masy żołądka i trzustki. Stwierdzono, że podawania maślanu sodu i wyciągu z *Yucca Schidigera* do paszy chroni przed nadmierną utratą masy ciała po odsadzeniu prosiąt.

Badano wpływ wybranych ziół (lipa, mięta, melisa, pokrzywa, chmiel, bratek) na aktywność enzymów żołądka i trzustki. Wykazany wzrost zawartości białka ogólnego połączony ze spadkiem aktywności proteolitycznej, występujący przy żywieniu kurcząt paszą z dodatkiem lipy, melisy, bratka i mięty, jest miarą zmian syntezy proteaz w błonie śluzowej żołądka i świadczy o pozytywnym oddziaływaniu zastosowanych ziół na procesy trawienne. Zaobserwowano zmiany poziomu cholesterolu i trójglicerydów u kurcząt karmionych paszą z dodatkiem chmielu, lipy, melisy i bratka. Stwierdzono ponadto korzystny wpływ wprowadzonych do paszy ziół na osiąganą masę ciała, porównywalną z grupą kontrolną otrzymującą antybiotyk jako stymulator wzrostu co świadczy o możliwości ich stosowania w żywieniu kurcząt brojlerów.

Kolejnym etapem badań było określenie wpływu diety zawierającej surowa i ekstrudowaną mączkę sojową lub z nasion lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus*) na aktywność enzymów trawiennych żołądka i trzustki u cieląt, świń i szczurów. Wykazano, że dieta suplementowana mączką sojową lub z nasion lędźwianu siewnego hamuje aktywność proteolityczną i aktywność trypsyny w trzustce. Ponadto stwierdzono większy wyrzut białka i trypsyny oraz większą aktywność proteolityczną w soku trzustkowym cieląt otrzymujących paszę z surową mączką sojową lub z nasion lędźwianu siewnego. Brak nadmiernego wydzielania soku trzustkowego u cieląt żywionych dietą zawierającą ekstrudowaną mączkę świadczy o znacznym zmniejszeniu zawartości antyżywniowych związków w procesie ekstruzji, co poprawia wartość odżywczą surowca i umożliwia jego stosowanie jako alternatywnego źródła białka w żywieniu cieląt.

Uczestniczyłam w badaniach prowadzonych wspólnie z Zakładem Histologii i Embriologii Katedry Anatomii i Histologii Zwierząt, Zakładem Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków oraz Katedrą Epizootiologii i Kliniką Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie mających na celu określenie wpływu dodatku zeolitu (klinopyolitu) na wzrost i rozwój kurcząt brojlerów. Wykazano, że zastosowanie naturalnych zeolitów wspomaga wykorzystanie składników odżywczych, powoduje większe przyrosty masy ciała przy niższym zużyciu paszy. Obserwowano wzrost długości kosmków jelitowych, ich obwodu i pola powierzchni, zwiększenie ich liczby na cm² oraz znaczne pogłębienie krypt jelitowych. Stwierdzono ponadto wzrost aktywności enzymów w homogenatach trzustki. Najsilniejszy wzrost aktywności obserwowano dla trypsyny, następnie dla lipazy, a najslabszy dla amylazy. Stwierdzono ponadto wzrost aktywności maltazy w rąbku szczoteczkowym w dwunastnicy oraz środkowym i końcowym odcinku jelita cienkiego.

Zaobserwowano, że zeolit, jako suplement paszy, zwiększa prezentację antygenów u kurcząt brojlerów i powoduje zmiany w populacji komórek T, prowadząc do zwiększonej ekspresji limfocytów T regulatorowych i polaryzacji w kierunku TH1 i TH2. Zwiększone stężenie cytokin u kurcząt otrzymujących zeolit w paszy wskazuje, że wpływa on na komórki immunokompetentne, regulując natężenie odpowiedzi immunologicznej organizmu. Podaż zeolitu w dawce 3% powodowała miejscową reakcję zapalną, co może prowadzić do uszkodzenia bariery jelitowej i wtórnych infekcji. Wyniki badań wskazują, że najbardziej korzystny wpływ na wzrost i rozwój organizmu oraz jego odporność wywiera dodawanie zeolitu w ilości 2%.

Efektami tych badań były następujące publikacje:

1. **Kapica M.**, Puzio I. The influence of dietary phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation on activity of digestive enzymes of chickens in age of 3 weeks. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 2004, 48, 519-522
2. **Kapica M.**, Kwiecień M., Puzio I., Bieńko M., Radzki P., Pawłowska M. Wpływ dodatku wybranych ziół na aktywność enzymów trawiennych u kurcząt rzeźnych. Medycyna Weterynaryjna, 2006, 62 (9), 1048-50
3. **Kapica M.**, Puzio I., Valverde Piedra J.L., Szymańczyk-Kwapik S.E., Pawłowska M. Zawartość insulinopodobnego czynnika wzrostu-1 (IGF-1) w osoczu krwi szczurów w okresie postnatalnym w warunkach doustnego podawania lektyny Folia Univ. Agric. Stein. Zootechnica 2006, 250,(48), 97-102
4. Valverde Piedra J.L., **Kapica M.**, Szymańczyk-Kwapik S.E., Pawłowska M., Puzio I. Wpływ doustnego podawania lektyny na strukturę błony śluzowej przewodu pokarmowego u nowonarodzonych szczurów Folia Univ. Agric. Stein. Zootechnica 2006, 250,(48), 81-86
5. Kwiecień M., Winiarska-Mieczan A., **Kapica M.** The influence of some herbs on chemical composition, lipid metabolism indices, ALAT and ASPAT activity in broiler chickens liver Polish Journal of Natural Science 2006, suppl 3, 439-444
6. Valverde Piedra J.L., Szymańczyk S.E., **Kapica M.**, Puzio I., Pawłowska M., Michałowski P. Combined effect of butyrate and *YUCCA SCHIDIGERA* extract on the gastrointestinal tract of pigs around weaning Krimva 2009, 51, 1, 11-18
7. Jarosz Ł., Stępień-Pyśniak D., Gradzki Z., **Kapica M.**, Gacek A. The effect of feed supplementation with Zakarpacki zeolite (clinoptilolite) on percentages of T and B lymphocytes and cytokine concentrations in poultry. Article in Poultry Science March 2017, 96 (7), 1-7
8. Wawrzyniak A., **Kapica M.**, Stępień-Pyśniak D., Szewerniak R., Olejarska A., Jarosz Ł. Effect of Feeding Transcarpathian Zeolite on Gastrointestinal Morphology and Function in Broiler Chickens. Revista Brasileira de Ciência Avícola / Brazilian Journal of Poultry Science 2017, 19 (4), 737-746
9. Wawrzyniak A., **Kapica M.**, Stępień-Pyśniak D., Łuszczewska-Sierakowska I., Szewerniak R., Jarosz Ł. The effect of dietary supplementation of transcarpathian zeolite on intestinal morphology in female broiler chickens. The Journal of Applied Poultry Research 2017, 26 (3), 421-430

oraz doniesienia zjazdowe:

1. **Kapica M.**, Puzio I. The effects of phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation diet on activity of gastric enzymes in broiler chickens. The International Symposium on "New Trends in Animal Nutrition" Jachranka, Poland, 28-29 June 2001
2. **Kapica M.**, Puzio I. The effects dietary supplementation of phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol on activity of digestive enzymes in broiler chickens - French-Polish Symposium on nutrition and animal physiology. Animal and human growth and development: regulatory mechanisms. INRA, Paris France 25-26 September 2001

3. **Kapica M.**, Puzio I., Studziński T. The effects of 1,25 (OH)₂D₃ supplementation diet on activity of proventriculus enzymes in broiler chickens XXII th Congress of the Polish Physiological Society, Bydgoszcz 4-7 IX 2002. Publication Journal of Physiology and Pharmacology 53,40, 2002.
4. **Kapica M.**, Kwiecień M., Puzio I., Bieńko M., Radzki P., Pawłowska M. Wpływ substancji biologicznie czynnych zawartych w ziołach na aktywność enzymów trawiennych u drobiu. Medycyna Weterynaryjna 2005, vol. 61 (suplement) str. 39.
5. **Kapica M.**, Valverde Piedra J.L., Puzio I., Gajewski Z., Kulasek G., Wilczak J., Laubitz D., Zabielski R. Wpływ wybranych bioaktywnych składników diety na rozwój nowo narodzonych prosiąt. XXV Sesja Naukowa pt. Żywieniowe metody stymulowania produktywności i zdrowotności zwierząt Olsztyn Mierki, 27-28 czerwca 2006
6. Bielak M., Bielak K., Szymańczyk-Kwapik S.E., **Kapica M.**, Puzio I., Pawłowska M., Chruściel T., Stec J., Valverde Piedra J.L. The effects of two red kidney bean lectin preparations on the gastrointestinal tract in rat – preliminary studies Journal of Physiology and Pharmacology 58 supplement 2, S. 16. Vth Physiology conference of young scientists on digestive system, Lublin, Poland, 11-12 May, 2007
7. Chmielewska M.A., Puzio I., **Kapica M.**, Szymańczyk S.E., Pawłowska M., Chruściel T., Stec J., Valverde Piedra J.L. The effect of butyrate and yucca schidigeri extract on the gastrointestinal tract in weaned pigs – preliminary data Journal of Physiology and Pharmacology 58 supplement 2, S. 16. Vth Physiology conference of young scientists on digestive system Lublin, Poland, 11-12 May, 2007
8. Pawłowska M., Pankowski P., Bala T., Donaldson J., Łuszczewska –Sierakowska I., Szymańczyk-Kwapik S.E., Valverde Piedra J.L., **Kapica M.**, Puzio I., Weström B. R., Pierzynowski S.G. Effect of α -ketoglutarate on intestinal mucosa and bone properties in adult rats Journal of Physiology and Pharmacology 58 supplement 2, S. 16. Vth Physiology conference of young scientists on digestive system Lublin, Poland, 11-12 May, 2007
9. Valverde Piedra J.L., Szymańczyk S.E., **Kapica M.**, Puzio I., Pawłowska M., Michałowski P. Combined effect of butyrate and Yucca Schidigeri extract on the gastrointestinal tract of pigs around weaning. 15th International Conference Krmiva 2008, Opatija, Croatia, 2-5 June 2008
10. Valverde Piedra J.L., Szymanczyk S.E., Puzio I., Chmielewska M., **Kapica M.**, Pawłowska M., Michałowski P. Microencapsulated sodium butyrate and *Yucca Schidigera* extract improve gastrointestinal tract development in growing pigs XI International Symposium on Digestive Physiology of Pigs -Spain-2009 Hotel Termes de Montbrió Montbrió del Camp, Costa Daurada, Spain 20th – 22nd May 2009
11. **Kapica M.**, Korol W, Puzio I, Bielecka G, Rubaj I. The effect of dietary electrolyte balance on digestive enzymes activity in hens. XVI International Conference KRMIVA 2009 Opatija, Croatia, 1-3 VI 2009
12. Stępień-Pyśniak D., Wawrzyniak A., **Kapica M.** „Wpływ Zakarpackiego Zeolitu (klinoptylolitu) na wybrane parametry morfologiczne jelita cienkiego i aktywność enzymów przewodu pokarmowego u kurcząt brojlerów” Konferencja Naukowa „Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem aspektów zootechniczno-weterynaryjnych w chowie kur mięsnych i indyków. Wrocław 25-26.06.2015, s.141-150
13. Wawrzyniak A., **Kapica M.**, Stępień-Pyśniak D., Łuszczewska-Sierakowska I., Szewerniak R.: The effect of dietary supplementation of Transcarpathian zeolite on intestinal morphology in female broiler chickens. XLIX Sympozjum Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików, Międzyzdroje 09-12.09.2015r. s.68
14. Wawrzyniak A., **Kapica M.**, Stępień-Pyśniak D., Łuszczewska-Sierakowska I., Szewerniak R. Gastrointestinal Development and Function of Broiler Chickens on Diets Supplemented with Transcarpathian zeolite. XLIX Sympozjum Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików, Międzyzdroje, 09-12.09.2015r. s.68

II. 4 Wpływ żywieniowych, metabolicznych i hormonalnych uwarunkowań wzrostu oraz rozwoju organizmu zwierząt ze szczególnym uwzględnieniem fizjologicznych mechanizmów rozwoju tkanki kostnej

Uczestniczyłam w doświadczeniach dotyczących żywieniowych, metabolicznych i hormonalnych uwarunkowań wzrostu oraz rozwoju organizmu zwierząt ze szczególnym uwzględnieniem fizjologicznych mechanizmów rozwoju tkanki kostnej. Badania układu kostnego prowadzone w Katedrze Fizjologii Zwierząt były w ramach badań statutowych oraz kilku projektów grantowych finansowanych przez KBN. Badania dotyczyły wpływu zróżnicowanej diety (dodatki maślanu sodu, wyciągu z *Yucca schidigera*, L-alanylo-L-glutaminy dwupeptydu, ziół i innych biologicznie aktywnych substancji) na parametry wytrzymałościowe, architektoniczne oraz gęstość mineralną kości u kurcząt, świń i szczurów. Wykazano, że dodatek fitazy i kalcytriolu do paszy pozbawionej witaminy D₃ warunkował znacznie większą wytrzymałość kości udowych kurcząt niż żywienie mieszanką o adekwatnej zawartości witaminy D₃. W kolejnym doświadczeniu badano wpływ glutaminy i jej pochodnych (L-alanylo-L-glutaminy) u prosiąt w okresie neonatalnym. Stwierdzono zwiększenie masy ciała prosiąt poprzez lepsze wykorzystanie składników odżywczych. Obserwowano wzrost wartości parametrów wytrzymałościowych (wartości siły krańcowej maksymalnej, siły odkształcającej) i geometrycznych kości (pole przekroju i moment bezwładności). Wykazano niekorzystny wpływ siarczanu glinu, stosowanego jako dodatek do wody pitnej na masę ciała i masę kurcząt. Obserwowano zaburzenia mineralizacji tkanki kostnej objawiające się zmniejszeniem gęstości mineralnej (BMD-bone mineral density) w części przynasadowej kości udowej oraz obniżeniem poziomu osteokacyny-markera aktywności osteoblastów. W kolejnych badaniach wykazano, że podawanie beta-hydroksy-beta-metylomaślanu (HMB), naturalnie produkowanego metabolitu leucyny i kwasu 2-ketoizokapronowego, w wodzie do picia spowodowało zahamowanie obniżania wartości BMD i parametrów wytrzymałościowych (siła maksymalna, granica sprężystości) u szczurów w warunkach osteopenii wynikłej po owarietomii. Wzrost wytrzymałości mechanicznej oraz zwiększenie zawartości minerału i gęstości mineralnej kości piszczelowej u samic szczurów z ustaloną osteopenią obserwowano w kolejnym doświadczeniu, w którym zwierzętom podawano agonistę receptorów β_2 -adrenergicznych klenbuterol. W ramach realizacji grantu zamawianego pt. „Sterowanie rozwojem przewodu pokarmowego u noworodków zwierząt w celu zwiększenia ich przeżywalności i poprawy stanu zdrowotnego” badany był wpływ tauryny, L-karnityny, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), flawonoidów i antyoksydantów oraz żelaza. Zaobserwowano statystycznie istotny wpływ suplementacji bioaktywnymi składnikami diety macior na masę ciała potomstwa. U prosiąt doświadczalnych była ona większa o 13% od masy ciała zwierząt kontrolnych. Zmianom masy ciała towarzyszył istotny wzrost masy i długości poddanych badaniom kości. Stwierdzone w doświadczeniu różnice w cechach architektonicznych i histologicznych kości 4-dniowych prosiąt świadczą o oddziaływaniu substancji bioaktywnych na rozwój cech strukturalnych tkanki kostnej prosiąt w okresie neonatalnym. Powyższe zmiany są

najprawdopodobniej rezultatem wpływu WNKT i karnityny na aktywność osteoblastów, syntezę kolagenu i innych składników macierzy kostnej. Stwierdzono ponadto, że suplementacja żelazem nowo narodzonych prosiąt powoduje poprawę mineralizacji i struktury architektonicznej kości oraz ich wytrzymałości.

Efektom tych badań były następujące publikacje:

1. Radzki. R.P., Bieńko M., Puzio I., Filip R., **Kapica M.**, Studziński T.: Wpływ flutaminianu i testosteronu na cechy wytrzymałościowe, architektoniczne oraz gęstość mineralną kości udowej i ramiennej kurcząt brojlerów. *Medycyna Weterynaryjna* 2004, vol. 60, 1222-1226 (11)
2. Puzio I., Bieńko M., Radzki. R.P., **Kapica M.**, Filip R.: Wpływ fitazy i kalcitriolu na cechy wytrzymałościowe kości udowych kurcząt brojlerów -Influence of phytase and calcitriol on mechanical parameters of femora in broiler chickens *Medycyna Weterynaryjna* 2004, vol. 60 (10), 1103-1105
3. Bieńko M., Radzki R.P., Puzio I., **Kapica M.**, Studziński T. Gęstość mineralna tkanki kostnej oraz poziom osteokalcyny u kurcząt brojlerów w następstwie intoksykacji siarczanem glinu. *Medycyna Weterynaryjna* 2005, 61 (5), 562-566
4. Bieńko M., Radzki R. P., Puzio I., **Kapica M.**, Studziński T. Wpływ siarczanu glinu na wytrzymałość tkanki kostnej kurcząt brojlerów. *Medycyna Weterynaryjna* 2005, 61 (8), 950-4
5. Radzki R.P., Bieńko M., **Kapica M.**, Puzio I., Dobrowolski P., Filip R. Effect of β -2-adrenergic receptor agonist clenbuterol on the mineralization of tibiae in rats with established osteopenia *Medycyna Weterynaryjna* 2006, 62 (7), 824-26
6. Bieńko M., Radzki R.P., **Kapica M.**, Puzio I., Filip R., Pawłowska M. Beta-hydroksymetylomaślan (HMB) czynnik wpływający na właściwości wytrzymałościowe tkanki kostnej u szczurów. *Medycyna Weterynaryjna*, 2006, 62 (8), 963-5
7. Puzio I., **Kapica M.**, Pawłowska M., Valverde Piedra J.L., Kulasek G., Gajewski Z., Wilczak J., Zabielski R.: Charakterystyka cech strukturalnych kości kończyn nowo narodzonych prosiąt *Folia Univ. Agric. Stein. Zootechnica* 2006, 250,(48), 109-118
8. Pawłowska M., Valverde Piedra J.L., Szymańczyk-Kwapik S.E., **Kapica M.**, Piersiak T., Puzio I. Wpływ L-alanylo-L-glutaminy na rozwój i mineralizację kości udowej prosiąt w okresie neonatalnym. *Folia Univ. Agric. Stein. Zootechnica* 2006, 250,(48), 119-126
9. Puzio I., **Kapica M.**, Lipiński P., Valverde Piedra J.L., Starzyński R.R., Bieńko M., Zabielski R. Effects of iron supplementation on bone development in neonatal piglets *Polish Journal of Natural Science* 2006, suppl 3, 353-359
10. Puzio I., **Kapica M.**, Bieńko M., Valverde Piedra J.L., Gajewski Z., Wilczak J., Kulasek G., Zabielski R. Dietary bioactive substances influenced perinatal bone development in piglets. *Livestock Science*, 108, 72-75, 2007
11. Pawłowska M., Valverde Piedra J.L., Rafał F., Szymańczyk S.E., **Kapica M.**, Puzio I., Skrzypek H., Gawron A., Pierzynowski S.G., Studziński T. Effects of L-alanyl-L-glutamine dipeptide administration during 35 days of postnatal life on intestinal mucosa, bone properties, and performance of piglets in their early post-weaning period *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2007, Vol. 51, No. 1, 125-129
12. Puzio I., Valverde Piedra J.L., **Kapica M.**, Bieńko M., Pawłowska M., Kusińska E., Szymańczyk S.E. The effect of Na-butyrate and *YUCCA SCHIDIGERA* extract on bone quality in developing pigs *Krmiva* 2008, 50, 329-324
13. Puzio I., Valverde Piedra J.L., **Kapica M.**, Bieńko M. Influence of intragastric administration of ghrelin receptor antagonist [D-LYS3]-GHRP-6 on bone tissue in rats *Bull Vet Inst Pulawy* 2011, 55, 501-505
14. Puzio I., Valverde-Piedra J.V., **Kapica M.**, Bieńko M., Radzki R., Pawłowska M., Szymańczyk S.E. Effect of sodium butyrate and *Yucca schidigera* extract on bone characteristics in growing pigs *J Vet Res* 2016, 60, 105-111

15. Puzio I., Radzki R.P., Bieńko M., **Kapica M.** Rozwój i fizjologia mięśni szkieletowych. W: Fizjologia noworodka : z elementami patofizjologii / pod red. W. Skrzypczaka, T. Stefaniaka, R. Zabielskiego Warszawa, Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 2011, s. 227-243
16. Puzio I., Radzki R.P., Bieńko M., **Kapica M.** Rozwój i fizjologia układu kostnego. W: Fizjologia noworodka : z elementami patofizjologii / pod red. W. Skrzypczaka, T. Stefaniaka, R. Zabielskiego Warszawa, Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 2011, s. 198-226

oraz doniesienia zjazdowe:

1. Bieńko M., Radzki R.P., **Kapica M.**, Puzio I., Filip R., Pawłowska M.: Beta-hydroksymetylomaślan (HMB) czynnik wpływający na właściwości wytrzymałościowe tkanki kostnej u szczurów. *Medycyna Weterynaryjna* 2005, 61 (suplement) str.40
2. Radzki R.P., Bieńko M., **Kapica M.**, Puzio I., Dobrowolski P., Filip R. Effect of β -2-adrenergic receptor agonist clenbuterol on the mineralization of tibiae in rats with established osteopenia *Medycyna Weterynaryjna* 2005, 61 (suplement) str.40
3. Puzio I., **Kapica M.**, Bieńko M., Valverde Piedra J.L., Gajewski Z., Kulasek G., Zabielski R. Dietary bioactive substances influence perinatal bone development in piglets 10th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs 25th- 27 th May 2007, Hotel Munkebjerg, Vejle, Denmark p. 87
4. Puzio I., **Kapica M.**, Lipiński P., Valverde Piedra J.L., Starzyński R.R., Bieńko M., Zabielski R. Wpływ suplementacji żelaza na rozwój kości u nowo narodzonych prosiąt. XXV Sesja Naukowa pt. Żywieniowe metody stymulowania produktywności i zdrowotności zwierząt Olsztyn Mierki, 27-28 czerwca 2006
5. Pawłowska M., Pankowski P., Bala T., Donaldson J., Łuszczewska –Sierakowska I., Szymańczyk-Kwapik S.E., Valverde Piedra J.L., **Kapica M.**, Puzio I., Weström B. R., Pierzynowski S.G. Effect of α -ketoglutarate on intestinal mucosa and bone properties in adult rats *Journal of Physiology and Pharmacology* 58 supplement 2, s. 16. V Physiology conference of young scientists on digestive system, Lublin, Poland, 11-12 May, 2007
6. Puzio I., Valverde Piedra J.L., Kapica M., Bieńko M., Pawłowska M., Kusińska E., Szymańczyk S.E. The effect of butyrate and Yucca Schidigeri extract on bone quality in developing piglets 15th International Conference Krmiva 2008, Opatija, Croatia, 2-5 June 2008
7. Puzio I., Valverde Piedra J.L., **Kapica M.**, Bieńko M., Pawłowska M., Kusińska E., Szymańczyk S. Sodium butyrate and yucca extract supplementation influence the development of humerus in pigs. XVI International Conference KRIMVA 2009 Opatija, Croatia, 1-3 VI 2009
8. Puzio I., **Kapica M.**, P. J. L. Valverde, M. Bieńko i Dorota Grabos The influence of intragastric administration of ghrelin receptor antagonist on bone tissue in rats KRIMVA 2011 18-th International Conference Opatija, Croatia, 8-9 czerwca 2011
9. Puzio I., Graboś D., **Kapica M.**, Bieńko M., Radzki R.P. The effect of flax oil on densitometric and tomographic parameters of bones in female rats after elimination of hormonal function of gonads. Kongres PTNW, Wrocław, str. 630, 13-15 IX 2012

Zrealizowane projekty badawcze:

1. Grant KBN PBZ-3P06D01924 pt. „Rola greliny w regulacji wydzielania soku trzustkowego u szczurów i prosiąt” **kierownik projektu badawczego** 2003-2005
2. Projekt badawczy zamawiany PBZ-KBN-093/P06/2003, pt. „Sterowanie rozwojem przewodu pokarmowego u noworodków zwierząt w celu zwiększenia ich przeżywalności i poprawy stanu zdrowotnego”, SGGW Warszawa, **kierownik tematu**
8 Modulowanie rozwoju jelita przez hormony i enzymy trzustki. 2003-2006

3. Grant KBN N303 043 32/1447 pt. „Rola apeliny i obestatyny w regulacji wydzielania soku trzustkowego u szczurów”, **kierownik projektu badawczego**, 2007-2009
4. Grant N N311 082737 pt. „Rola apeliny w regulacji procesów komórkowych enterocytów błony śluzowej jelita czczego u szczurów”, **główny wykonawca**, 2011-2013

Uczestniczyłam aktywnie w wielu międzynarodowych konferencjach naukowych prezentując wyniki swoich badań

1. Animal and human growth and development: regulatory mechanisms. INRA , Paris **France** 25-26 September 2001
2. 36th European Pancreatic Club Meeting 23-26.VI.2004 Padova, **Italy**
3. 15th International Symposium on Regulatory Peptides, Regpep 2004, September 19-22, 2004, Toulouse, **France**
4. 5th Polish-French Symposium “Animal Growth and development: regulatory Mechanism” 22-23 September str.17 2004 Paris, **France**
5. Join Meeting of the European Pancreatic Club (EPC) and the International Association of Pancreatology (IAP) 25-28 June, 2008 Lodz, Poland
6. 17th International Symposium on Regulatory Peptides Regpep’09 Santa Barbara, CA, **USA** 25-28. 01. 2009
7. XVI International Conference KRMIVA 2009 Opatija, **Croatia**, 1-3 VI 2009
8. KRIMVA 2011 18-th International Conference 8-9 czerwca 2011 Opatija, **Croatia**
9. 19th International Symposium on regulatory peptides Regpep 2012, Copenhagen, **Denmark**, 20-23 August 2012

Uzyskując dwukrotnie wyróżnienie i stypendium za pracę prezentowaną na konferencji European Pancreatic Club, Padwa, Włochy, 2004 r. za pracę „Pentaghrelin inhibits pancreatic secretion through a vagal-dependent mechanism in anaesthetized rats”

wyróżnienie i stypendium za pracę prezentowaną na konferencji European Pancreatic Club & International Association of Pancreatology, Łódź, 2008 r. za pracę „Obestatin – double agent commanding over the exocrine pancreas”

Uczestniczyłam w wyjazdach w ramach programu Erasmus prowadząc wykłady w j. angielskim:

- Udział w programie Erasmus Teaching Staff Mobility w ramach programu LLP Erasmus Kirikkale University, Faculty of Veterinary Medicine, Kirikkale, Turcja, 26/05/2008-1/06/2008
- Udział w programie Erasmus Teaching Staff Mobility w ramach programu LLP Erasmus Mustafa Kemal University, Hatay, Turcja, 27/04/2009-3/05/2009
- Udział w programie Erasmus Teaching Staff Mobility w ramach programu LLP Erasmus Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, Turcja, 18/05/2015-22/05/2015
- Udział w programie Erasmus Teaching Staff Mobility w ramach programu LLP Erasmus Ondokuz Mayis University, Samsun, Turcja, 21/09/2015-25/09/2015
- Udział w programie Erasmus Teaching Staff Mobility w ramach programu LLP Erasmus Instituto Politécnico De Portalegre, Portugalia 4/04/2016-8/04/2016

oraz uczestnicząc w szkoleniach i wspólnych doświadczeniach

- University of Pisa, Anatomia degli Animali Domestici, Włochy. 19/05/2014-23/05/2014
- Department of Animal Physiology Uludag University, Bursa/Turcja 22/08/2016-26/08/2016
- Universidad de Santiago de Compostela, Center for Research in Molecular Medicine and Chronic Diseases (CiMUS)/ Santiago De Compostela, Hiszpania 18/09/2017-22/09/2017

6. Podsumowanie dorobku naukowego

Łączna liczba publikacji wynosi 54 (7 prac stanowiących jednotematyczny cykl publikacji składających się na omawiane osiągnięcie naukowe i 47 pozostałych publikacji), w tej liczbie w 12 pracach jestem pierwszym autorem, w 20 pracach jestem drugim autorem.

Łączny sumaryczny Impact factor publikacji ¹	36,367
Łączna sumaryczna punktacja MNiSW publikacji ²	680,0 pkt
Liczba cytowań publikacji ³	182 (Scopus)
Index Hirsha według bazy Scopus	8
Index Hirsha według bazy Web of Science	8
Liczba cytowań publikacji	151 (Web of Science)
Liczba cytowań publikacji bez autocytowań ³	121 (Web of Science)



¹ zgodnie z wartością IF w roku publikacji, według listy Journal Citation Reports (JCR)

² zgodnie z wykazem czasopism MNiSW w roku publikacji. Dla artykułów opublikowanych przed rokiem 2010 zgodnie z ujednoliconym wykazem czasopism MNiSW z dnia 11.06.2010

³ zgodnie z Web of Science CoreTM Collection