

Autoreferat

1. Imię i nazwisko: Joanna Bonior

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

1998 – dyplom magistra pielęgniarstwa; ukończono z wyróżnieniem – Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Ochrony Zdrowia (studia rozpoczęte na Wydziale Pielęgniarstwa UJ CM, zmiana w trakcie kształcenia nazwy wydziału podany), Kraków.

2002 – dyplom doktora nauk medycznych; ukończono z wyróżnieniem – Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Lekarski, Kraków.
Tytuł rozprawy doktorskiej: „*Wpływ leptyny na czynność zewnątrzwydzielniczą i przebieg ostrego zapalenia trzustki*”.

2008 – dyplom ukończenia studiów podyplomowych; ukończono z wyróżnieniem: Zarządzanie Sferą Usług Medycznych – Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie; Krakowska Szkoła Biznesu MBA, Kraków.

2009 – dyplom ukończenia studiów podyplomowych: Biologia Molekularna – Uniwersytet Jagielloński Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Kraków.

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

1998/10 – 2003/07 – na stanowisku asystenta – Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Ochrony Zdrowia Instytut Pielęgniarstwa Zakład Fizjologii Medycznej.

2003/08 – 2013/09 – na stanowisku adiunkta – Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Ochrony Zdrowia Instytut Pielęgniarstwa Zakład Fizjologii Medycznej.

– W 2006 roku nastąpiła zmiana w strukturze organizacyjnej Zakładu: Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Ochrony Zdrowia Instytut Fizjoterapii Zakład Fizjologii Medycznej.

– W 2007 roku nastąpiła zmiana nazwy Wydziału: Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Nauk o Zdrowiu Instytut Fizjoterapii Zakład Fizjologii Medycznej.

2013/10 – do nadal – na stanowisku starszego wykładowcy – Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Wydział Nauk o Zdrowiu Instytut Fizjoterapii Zakład Fizjologii Medycznej.

2004/10 – 2006/10 – na stanowisku wykładowcy – Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Tarnowie Instytut Ochrony Zdrowia Zakład Pielęgniarstwa.

2006/11 – 2012/06 – na stanowisku starszego wykładowcy – Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa w Tarnowie Instytut Ochrony Zdrowia Zakład Pielęgniarstwa.

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

- a) Autor, tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego, rok wydania, nazwa wydawnictwa:

Joanna Bonior „Rola greliny w przebiegu ostrego zapalenia trzustki. Udział nerwów czuciowych”, 2015, Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego. ISBN 978-83-233-3887-1

- b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego: nieznaczną część wyników badań, wykorzystanych do napisania rozprawy habilitacyjnej została opublikowana w formie następujących prac:

- Joanna Bonior, Jolanta Jaworek, Anna Leja-Szpak, Michalina Kot, Magdalena Macko, Romana Tomaszewska, Jerzy Stachura, Stanisław J. Konturek, Wiesław W. Pawlik: *Protective effect of ghrelin in experimental acute pancreatitis*. Clin. Exp. Med. Lett. 2005; 46(3): 39–46.
- Jolanta Jaworek: *Ghrelin and melatonin in the regulation of pancreatic exocrine secretion and maintaining of integrity*. J. Physiol. Pharmacol. 2006; 57 (Suppl. 5): 83–96. Review.

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

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

Wstęp: Grelina (ang. *Ghrelin* – GHRL), 28-aminokwasowy polipeptyd, pierwotnie wyizolowany był z żołądka (komórki błony śluzowej X/A-podobne), zidentyfikowany został także w przysadce mózgowej oraz podwzgórzu [1–3]. Ostatnio wykazano, że GHRL jest produkowana także w trzustce – w komórkach wysp trzustkowych, egzokrynnej linii komórkowej AR42J i pęcherzykach trzustkowych. GHRL jest także syntetyzowana w innych narządach obwodowych [4–12]. Peptyd ten jest endogennym ligandem dla GHS-R i wykazano, że ma zdolność uwalniania GH, zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* [1].

Obecność sygnału mRNA dla GHS-R1a została stwierdzona w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) i w wielu narządach obwodowych, a także w komórkach układu immunologicznego [4]. Zgodnie z dotychczasowymi wynikami badań GHRL moduluje czynność wydzielniczą i motorykę żołądka oraz chroni jego śluzówkę przed ostrymi uszkodzeniami [12–20]. GHS-R1a został także wykryty w trzustce (komórki wysp trzustkowych, pęcherzyki trzustkowe i komórki AR42J) [4, 6, 7, 9–11]. Taka dystrybucja wskazuje, że GHRL i jej receptor mogą pełnić ważną rolę w trzustce, modulując jej egzo- i endokrynną funkcję poprzez mechanizm para-, auto- i endokrynną. Dotychczas wykazano, że podanie GHRL reguluje zarówno wydzielanie enzymów trzustkowych, jak i uwalnianie insuliny [9, 10, 21–25]. Wyniki badań eksperymentalnych opublikowane przez nas, jak również badania innych naukowców, wyraźnie wskazują, że obwodowe podanie GHRL skutecznie chroni trzustkę przed ostrym zapaleniem wywoływanym przez ceruleinę, taurocholan sodu lub ischemię/reperfuzję (I/R), mechanizm tego ochronnego działania nadal jednak pozostaje niejasny [25–27].

Ceruleinowe zapalenie trzustki (CZT) jest użytecznym modelem badań mechanizmów zapalnych w trzustce [28–31]. W modelu tym hiperstymulacja gruczołu przy użyciu analogu cholecystokininy (ang. *Cholecystokinin* – CCK) – ceruleiny powoduje wewnątrzkomórkową aktywację trzustkowych enzymów trawiennych i prowadzi do uszkodzenia pęcherzyków trzustkowych. Model ten odpowiada formie obrzękowej ostrego zapalenia trzustki (OZT) u ludzi. Uszkodzenie tkanki trzustkowej w przebiegu OZT zależy z jednej strony od czynników szkodliwych, które są odpowiedzialne za nasilenie się stanu zapalnego, a z drugiej od aktywacji mechanizmów obronnych organizmu.

Cele pracy:

1. Zbadanie wpływu GHRL podawanej centralnie lub obwodowo na przebieg CZT u szczurów z zachowanymi oraz deaktywowanymi kapsaicyną nerwami czuciowymi (ang. *Capsicin Denervation Sensory Nerves* – CD SN).
2. Zbadanie wpływu GHRL podawanej centralnie lub obwodowo na osoczowe stężenie cytokin: przeciwzapalnej – interleukiny (ang. *Interleukin* – IL) -4 oraz prozapalnej – czynnika martwicy nowotworów typu alfa (ang. *Tumor Necrosis Factor-Alpha* – TNF- α) w przebiegu CZT u szczurów z zachowanymi SN oraz CD SN.
3. Zbadanie wpływu egzogennej GHRL podawanej centralnie lub obwodowo na stężenie GHRL w surowicy krwi w przebiegu CZT u szczurów z zachowanymi SN oraz CD SN.

4. Zbadanie wpływu GHRL podawanej centralnie lub obwodowo na stężenie hormonu wzrostu (ang. *Growth Hormone* – GH) w surowicy krwi w przebiegu CZT u szczurów z zachowanymi SN oraz CD SN.
5. Zbadanie wpływu GHRL podawanej centralnie lub obwodowo na aktywność enzymu antyoksydacyjnego – dysmutazy ponadtlenkowej (ang. *SuperOxide Dismutase* – SOD) w tkance trzustkowej w przebiegu CZT u szczurów z zachowanymi SN oraz CD SN.
6. Zbadanie ekspresji genu i produkcji białka receptora dla związków pobudzających wydzielanie hormonu wzrostu (ang. *Growth Hormone Secretagogues Receptor* – GHS-R) typ 1a oraz zmian jego poziomu w pęcherzykach trzustkowych pod wpływem ceruleiny zastosowanej w modelu *in vitro* i/lub GHRL podawanej obwodowo w warunkach *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN oraz CD SN.
7. Zbadanie ekspresji genu i produkcji białka GHRL oraz zmian jej poziomu w pęcherzykach trzustkowych pod wpływem ceruleiny zastosowanej w modelu *in vitro* i/lub egzogennej GHRL podawanej obwodowo w warunkach *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN oraz CD SN.
8. Zbadanie ekspresji genu i produkcji białka cytokiny prozapalnej TNF- α oraz zmian jej poziomu w pęcherzykach trzustkowych pod wpływem ceruleiny zastosowanej w modelu *in vitro* i/lub GHRL podawanej obwodowo w warunkach *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN oraz CD SN.
9. Zbadanie ekspresji genu i produkcji białka enzymu antyoksydacyjnego – SOD-3 oraz zmian jego poziomu w pęcherzykach trzustkowych pod wpływem ceruleiny zastosowanej w modelu *in vitro* i/lub GHRL podawanej obwodowo w warunkach *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN oraz CD SN.
10. Zbadanie ekspresji genu i produkcji białka szoku cieplnego (ang. *Heat Shock Protein* – HSP) 70 oraz zmian jego poziomu w pęcherzykach trzustkowych pod wpływem ceruleiny zastosowanej w modelu *in vitro* i/lub GHRL podawanej obwodowo w warunkach *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN oraz CD SN.

Materiał i metodyka: Badania zostały przeprowadzone na szczurach rasy Wistar płci męskiej o masie ciała 170,0–200,0 gramów [25, 26]. Zwierzęta przebywały w klatkach, w warunkach standardowych, w temperaturze pokojowej z zachowaniem prawidłowego rytmu dobowego 12-godzinny cykl dzień/noc. Szczury na 24 godziny przed badaniem pozbawiano pokarmu, dostęp do wody nie był ograniczany. CD SN została wykonana przy użyciu kapsaicyny podawanej przez 3 kolejne dni w dawce całkowitej 100,0 mg/kg s.c. na 10 dni

przed zasadniczym eksperymentem. CZT wywoływano przez podskórną (ang. *Subcutaneous* – s.c.) infuzję ceruleiny w dawce całkowitej 25 µg/kg. GHRL została podana centralnie – do komory mózgu (ang. *Intracerebroventricular* – i.c.v.) prawej bocznej (100,0, 200,0, 500,0 lub 1000,0 ng/szczura) lub obwodowo – dootrzewnowo (ang. *Intraperitoneal* – i.p.) (12,5, 25,0 lub 50,0 µg/kg) na 30 minut przed rozpoczęciem CZT u zwierząt z zachowanymi SN lub CD SN [32]. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń u zwierząt z zachowanymi SN wyselekcjonowano najbardziej efektywną dawkę GHRL w wielkości 1000,0 ng/szczura i.c.v. oraz 50,0 µg/kg i.p. do badań z CD SN. Również do badań w modelu *in vivo* wyselekcjonowano GHRL w dawce 50,0 µg/kg i.p. podawaną na 48 godzin przed izolacją pęcherzyków trzustkowych, a do badań w modelu *in vitro* – ceruleinę w stężeniu 10^{-8} M i czas inkubacji 5 godzin [33, 34]. Osoczną aktywność IL-4 i TNF-α określono przez zastosowanie metody immunoenzymatycznej (test immunoenzymosorbcyjny) (ang. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA), podczas gdy stężenie GHRL i GH mierzono metodą radioimmunologiczną (radioimmunoesej) (ang. *Radioimmunoassay* – RIA) [35]. Pomiar aktywności SOD w tkance trzustkowej wykonano metodą kolorymetryczną [36]. Do badań technikami biologii molekularnej w celu oznaczenia ekspresji genowej i produkcji białek: GHS-R1a, GHRL, TNF-α, SOD-3 i HSP70 użyto polimerazowej reakcji łańcuchowej odwrotnej transkryptazy (ang. *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* – RT-PCR oraz immunoblotting i immunoprecypitację [37, 38].

Badania zostały przeprowadzone w trzech etapach i obejmowały:

1. Wpływ GHRL podawanej centralnie na przebieg CZT u szczurów przy zachowanych SN i/lub CD SN, z uwzględnieniem pomiaru następujących parametrów: masa trzustki i morfologiczna ocena ciężkości jej ostrego zapalenia, aktywność amylazy i lipazy w osoczu krwi, TPK, osoczowe stężenie TNF-α i IL-4, stężenie GHRL i GH w surowicy krwi, aktywność SOD w tkance trzustkowej.
2. Wpływ GHRL podawanej obwodowo na przebieg CZT u szczurów przy zachowanych SN i/lub CD SN, z uwzględnieniem takich parametrów, jak w etapie pierwszym.
3. Wpływ GHRL podawanej obwodowo w warunkach *in vivo* na poziom ekspresji genów i produkcji białek: GHS-R1a, GHRL, TNF-α, SOD-3 i HSP70 w pęcherzykach trzustkowych przy zachowanych SN i/lub CD SN u szczurów w warunkach podstawowych oraz po hiperstymulacji ceruleiną w modelu *in vitro*.

Wyniki badań: Rozwój CZT wykazano u wszystkich zwierząt doświadczalnych, które otrzymały ceruleinę. Zapalenie charakteryzowało się istotnymi statystycznie: wzrostem masy trzustki, będącym wskaźnikiem jej obrzęku oraz zwiększeniem osoczowej aktywności lipazy i amylazy, a także zmniejszeniem trzustkowego przepływu krwi (TPK). Histologicznie wykazano obrzęk między- i wewnątrzrzazikowy, nacieczenie tkanki trzustkowej komórkami wielojądrzastymi i wakuolizację komórek pęcherzykowych. Infuzja ceruleiny spowodowała także wyraźny wzrost osoczowego stężenia cytokin: przeciwzapalnej; IL-4 i prozapalnej; TNF- α . CD SN nasiliła dodatkowo odpowiedź zapalną.

Zarówno centralne, jak i obwodowe podanie GHRL grupie kontrolnej zwierząt z zachowanymi SN nie wpłynęło na badane parametry. Podanie GHRL przed rozpoczęciem CZT, zarówno centralnie, jak i obwodowo, wywołało istotne statystycznie, zależne od dawki, zmniejszenie masy trzustki i osoczowej aktywności enzymów trzustkowych oraz niewielki, nieistotny statystycznie wzrost TPK. Towarzyszył temu również istotny statystycznie i dawkozależny: spadek osoczowego stężenia TNF- α i wzrost IL-4. CD SN znosiła dobroczynne działanie GHRL, podanej zarówno centralnie, jak i obwodowo.

Podanie egzogennej GHRL zarówno centralnie, jak i obwodowo spowodowało istotny statystycznie, zależny od dawki, wzrost stężenia tego hormonu w surowicy krwi u szczurów z zachowanymi SN. CZT nie wpłynęło na endogenne stężenie GHRL, a podanie w przebiegu zapalenia egzogennej hormonu prowadziło do znamiennego statystycznie, zależnego od zastosowanej dawki, wzrostu stężenia GHRL w surowicy krwi. CD SN utrzymywało stężenie endogennej peptydu na poziomie odpowiadającym wartości odpowiedzi zapalnej i nie zmieniło go w przebiegu CZT.

GHRL podawana zarówno centralnie, jak i obwodowo doprowadziła u szczurów z zachowanymi SN do istotnego statystycznie, zależnego od dawki, wzrostu stężenia GH w surowicy krwi. CZT spowodowała znamienne statystycznie spadek stężenia badanego hormonu, a rezultat ten był zniesiony przez podanie GHRL. CD SN utrzymywała niski poziom GH indukowany zapaleniem i całkowicie odwróciła korzystne działanie GHRL podawanej centralnie, zachodzące za jego pośrednictwem; nie znosiła natomiast działania obwodowego GHRL w przebiegu CZT.

Zarówno centralne, jak i obwodowe podanie GHRL grupie kontrolnej spowodowało istotny statystycznie, dawkozależny wzrost aktywności enzymu antyoksydacyjnego SOD w tkance trzustkowej u szczurów z zachowanymi SN. CZT znamienne statystycznie zredukowała tę aktywność, a skutek ten został odwrócony zarówno poprzez centralne,

jak i obwodowe podanie GHRL. CD SN nasiliła odpowiedź zapalną oraz całkowicie znosiła dobroczynne działanie GHRL przy udziale SOD w przebiegu CZT.

Pęcherzyki trzustkowe uzyskane od grupy kontrolnej zwierząt wykazują zdolność ekspresji genów i produkcji białek: GHS-R1a, GHRL, TNF- α , SOD-3 i HSP70. Obwodowe podanie GHRL w modelu *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN, wywołało znamiennej statystycznie wzrost wszystkich badanych sygnałów z wyjątkiem cytokiny prozapalnej. Ceruleina zastosowana w wysokim stężeniu w warunkach *in vitro* regulowała ekspresję genową i produkcję białek, wywołując znamiennej statystycznie wpływ: hamujący sygnały GHS-R1a i SOD oraz stymulujący sygnały TNF- α i HSP70. Nie wpłynęła natomiast w sposób istotny statystycznie na sygnały GHRL. CD SN utrzymywała niekorzystne działanie hiperstymulacji ceruleinowej na GHS-R1a, powodując jego znamiennej statystycznie redukcję w komórkach oraz zwiększyła nieznamiennie sygnał dla TNF- α . Obwodowe podanie GHRL w modelu *in vivo* odwróciło ten niekorzystny skutek oddziaływania na receptor i zmniejszyło w niewielkim stopniu sygnały dla cytokiny prozapalnej. CD SN spowodowała również znamiennej statystycznie spadek sygnałów SOD i HSP70 w pęcherzykach trzustkowych pobudzanych ceruleiną, a obwodowe zastosowanie w tej grupie GHRL w modelu *in vivo* nieznacznie zwiększyło sygnały dla SOD, natomiast znamiennej statystycznie zwiększyło sygnały dla białka opiekuńczego – HSP70. CD SN nie wpłynęła na sygnały dla GHRL w pęcherzykach trzustkowych hiperstymulowanych sekretagogiem trzustkowym, a obwodowe zastosowanie egzogennej GHRL w warunkach *in vivo* przed podaniem ceruleiny w warunkach *in vitro* spowodowało znamiennej statystycznie wzrost badanych sygnałów.

Wnioski:

1. GHRL podawana zarówno centralnie, jak i obwodowo wykazywała działanie ochronne w przebiegu CZT u szczurów z zachowanymi SN. CD SN nasiliło odpowiedź zapalną i całkowicie znosiła ochronne działanie GHRL w jej przebiegu.
2. W warunkach podstawowych GHRL podawana zarówno centralnie, jak i obwodowo nie wpływała na osoczowe stężenia cytokin; przeciwzapalnej IL-4 i prozapalnej TNF- α u szczurów z zachowanymi SN. CZT wywoływało wzrost stężenia tych cytokin w osoczu krwi, a podanie w tych warunkach GHRL zwiększało stężenie IL-4 i obniżało TNF- α . CD SN nasilało odpowiedź zapalną i całkowicie odwracało działanie GHRL w odniesieniu do obu interleukin.
3. Podanie zarówno centralnie, jak i obwodowo egzogennej GHRL powodowało wzrost stężenia tego hormonu w surowicy krwi u szczurów z zachowanymi SN w warunkach

podstawowych oraz w przebiegu CZT. CD SN nie wpływało na stężenie endogennej GHRL we krwi, nie zmieniało również jej wysokiego poziomu wynikającego z podawania egzogennej GHRL, tak w warunkach podstawowych, jak również w przebiegu CZT.

4. GHRL podawana zarówno centralnie, jak i obwodowo wywoływała wzrost stężenia GH w surowicy krwi u szczurów z zachowanymi SN w warunkach podstawowych. CZT powodowało spadek stężenia tego hormonu, a wpływ ten był odwracany po podaniu GHRL. CD SN utrzymywała niski poziom GH indukowany zapaleniem i całkowicie znosiła pobudzające działanie GHRL podawanej centralnie na stężenie GH w surowicy krwi. Nie wpływała natomiast na indukowany podawaną obwodowo GHRL wzrost GH w przebiegu odpowiedzi zapalnej.
5. GHRL podawana zarówno centralnie, jak i obwodowo powodowała wzrost aktywności enzymu antyoksydacyjnego – SOD w tkance trzustkowej u szczurów z zachowanymi SN w warunkach podstawowych. CZT redukowało aktywność SOD, a rezultat ten był odwracany poprzez zastosowanie GHRL. CD SN nasilała dodatkowo odpowiedź zapalną oraz całkowicie znosiła pobudzający wpływ GHRL na aktywność SOD w tkance trzustkowej.
6. Pęcherzyki trzustkowe wykazywały obecność sygnału mRNA oraz zdolność produkcji białka GHS-R1a w warunkach podstawowych, a wartości tych sygnałów wzrastały po obwodowym podaniu GHRL w modelu *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN. Hiperstymulacja ceruleiną zastosowana w warunkach *in vitro* hamowała sygnały GHS-R1a, a wpływ ten był przywracany przez GHRL. CD SN utrzymywała redukujące działanie tego sekretagogu trzustkowego na receptor, które było odwracane po podaniu GHRL.
7. Pęcherzyki trzustkowe wykazywały ekspresję genu i zdolność produkcji białka GHRL w warunkach podstawowych, a ich wartości zwiększały się pod wpływem egzogennej GHRL podawanej obwodowo w modelu *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN. Ceruleina zastosowana w warunkach *in vitro* nie wpływała na wielkość tych sygnałów w komórkach pęcherzykowych, natomiast wzrastały po GHRL. CD SN utrzymywała hamujące działanie ceruleiny na sygnały GHRL, które było odwracane po podaniu GHRL.
8. Pęcherzyki trzustkowe wykazywały obecność sygnału mRNA i zdolność produkcji białka cytokiny prozapalnej TNF- α w warunkach podstawowych, a GHRL podawana obwodowo w modelu *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN nie zmieniała poziomu

jej sygnałów. Hiperstymulacja ceruleiną zastosowana w warunkach *in vitro* wywoływała ich wzrost, który był hamowany przez GHRL. CD SN utrzymywała pobudzający wpływ tego sekretagogu trzustkowego na sygnały TNF- α , który nie był odwracany po podaniu GHRL.

9. Pęcherzyki trzustkowe wykazywały ekspresję genu i zdolność produkcji białka enzymu antyoksydacyjnego SOD-3 w warunkach podstawowych, a podanie GHRL obwodowo w modelu *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN podnosiło poziom tych sygnałów. Hiperstymulacja ceruleiną zastosowana w warunkach *in vitro* wywoływała ich spadek, a rezultat ten był odwracany przez GHRL. CD SN potęgowała hamujący wpływ tego sekretagogu trzustkowego na sygnały SOD-3, który nie był odwracany po podaniu GHRL.
10. Pęcherzyki trzustkowe wykazywały sygnał mRNA i zdolność produkcji białka HSP70 w warunkach podstawowych, a poziom tych sygnałów wyraźnie wzrastał po obwodowym zastosowaniu GHRL w modelu *in vivo* u szczurów z zachowanymi SN. Hiperstymulacja ceruleiną w warunkach *in vitro* wywoływała wzrost sygnałów HSP70, a wpływ ten był istotnie nasilony po GHRL. CD SN silnie hamowała sygnały HSP70 w komórkach pęcherzykowych uszkodzonych działaniem tego sekretagogu trzustkowego, a rezultat ten był odwracany po podaniu GHRL.

Wniosek końcowy: Ochronne działanie GHRL, zarówno centralne, jak i obwodowe w przebiegu CZT, zachodziło w znacznym stopniu przy udziale SN i obejmowało regulacje ze strony układów immunologicznego i endokrynnego oraz systemu antyoksydacyjnego ze zmianami na poziomie molekularnym dotyczącymi: GHS-R1a, GHRL, TNF- α , SOD-3 oraz HSP70.

Potencjalne wykorzystanie osiągniętych wyników (cyt. za Recenzentem Wydawniczym pracy Panią Prof. dr hab. n. med. Grażyną Rydzewską):

1. Znaczenie poznawcze z punktu widzenia patofizjologii ostrego zapalenia trzustki.
2. Potencjalnie możliwa wartość kliniczna w monitorowaniu ciężkości choroby, a nawet w leczeniu ostrego zapalenia trzustki.

Piśmiennictwo:

- [1] Kojima M., Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005;85:495–522.
- [2] Lu S., Guan J.L., Wang Q.P., Uehara K., Yamada S., Goto N., Date Y., Nakazato M., Kojima M., Kangawa K., Shioda S. Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci Lett*. 2002;321(3):157–160.
- [3] Cowley M.A., Smith R.G., Diano S., Tschöp M., Pronchuk N., Grove K.L., Strasburger C.J., Bidlingmaier M., Esterman M., Heiman M.L., Garcia-Segura L.M., Nillni E.A., Mendez P., Low M.J., Sotonyi P., Friedman J.M., Liu H., Pinto S., Colmers W.F., Cone R.D., Horvath T.L. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*. 2003;37(4):649–661.
- [4] 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(6):2988–2991.
- [5] Date Y., Nakazato M., Hashiguchi S., Dezaki K., Mondal M.S., Hosoda H., Kojima M., Kangawa K., Arima T., Matsuo H., Yada T., Matsukura S. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes*. 2002;51:124–129.
- [6] 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(3):1300–1308.
- [7] 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(1–3):63–69.
- [8] Prado C.L., Pugh-Bernard A.E., Elghazi L., Sosa-Pineda B., Sussel L. Ghrelin cells replace insulin-producing β cells in two mouse models of pancreas development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:2924–2929.
- [9] Lai J.K., Cheng C.H., Ko W.H., Leung P.S. Ghrelin system in pancreatic AR42J cells: its ligand stimulation evokes calcium signalling through ghrelin receptors. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37(4):887–900.
- [10] Lai K.C., Cheng C.H., Leung P.S. The ghrelin system in acinar cells: localization, expression, and regulation in the exocrine pancreas. *Pancreas*. 2007;35(3):e1–e8.
- [11] Bonior J., Jaworek J., Kot M., Pierzchalski P. Molecular identification and regulation of ghrelin system in the AR42J cells. (In) *Interdisciplinary Research in Nursing*. (Eds.) Jaworek J, Zalewska-Puchała J, Bonior J. Publisher FALL, Krakow 2012;7–16.
- [12] Kudoh K., Shibata C., Funayama Y., Fukushima K., Ueno T., Hayashi K., Inui A., Bowers C.Y., Sasaki I. The effect of growth hormone releasing peptide-2 on upper gastrointestinal contractile activity and food intake in conscious dogs. *J Gastroenterol*. 2009;44(4):297–304.
- [13] Qiu W.C., Wang Z.G., Wang W.G., Yan J., Zheng Q. Gastric motor effects of ghrelin and growth hormone releasing peptide 6 in diabetic mice with gastroparesis. *World J Gastroenterol*. 2008;14(9):1419–1424.
- [14] Trudel L., Tomasetto C., Rio M.C., Bouin M., Plourde V., Eberling P., Poitras P. Ghrelin/motilin-related peptide is a potent prokinetic to reverse gastric postoperative ileus in rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002;282(6):G948–G952.
- [15] Levin F., Edholm T., Schmidt P.T., Grybäck P., Jacobsson H., Degerblad M., Höybye C. Holst J.J., Rehfeld J.F., Hellström P.M., Näslund E. Ghrelin stimulates gastric emptying and hunger in normal-weight humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(9):3296–32302.
- [16] Ariga H., Tsukamoto K., Chen C., Mantyh C., Pappas T.N., Takahashi T. Endogenous acyl ghrelin is involved in mediating spontaneous phase III-like contractions of the rat stomach. *Neurogastroenterol Motil*. 2007;19(8):675–680.
- [17] Ang D., Nicolai H., Vos R., Mimidis K., Akyuz F., Kindt S., Vanden Berghe P., Sifrim D., Depoortere I., Peeters T., Tack J. Influence of ghrelin on the gastric accommodation reflex and on meal-induced satiety in man. *Neurogastroenterol Motil*. 2009;21(5):528–533.
- [18] Sibilia V, Rindi G, Pagani F, Rapetti D, Locatelli V, Torsello A, Campanini N, Deghenghi R, Netti C. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology*. 2003;144(1):353–359.
- [19] Brzozowski T, Konturek PC, Drozdowicz D, Konturek SJ, Pawlik M, Śliwowski Z, Pawlik WW, Hahn EG. Role of central and peripheral ghrelin in the mechanism of gastric mucosal defence. *Inflammopharmacology*. 2005;13(1-3):45–62.

- [20] Brzozowski T, Konturek PC, Śliwowski Z, Drozdowicz D, Kwiecien S, Pawlik M, Pajdo R, Konturek SJ, Pawlik WW, Hahn EG. Neural aspects of ghrelin-induced gastroprotection against mucosal injury induced by noxious agents. *J Physiol Pharmacol.* 2006;57(6):63–76.
- [21] Qader SS, Håkanson R, Rehfeld JF, Lundquist I, Salehi A. Proghrelin-derived peptides influence the secretion of insulin, glucagon, pancreatic polypeptide and somatostatin: a study on isolated islets from mouse and rat pancreas. *Regul Pept.* 2008;146(1–3):230–237.
- [22] Cui C, Ohnuma H, Daimon M, Susa S, Yamaguchi H, Kameda W, Jimbu Y, Oizumi T, Kato T. Ghrelin infused into the portal vein inhibits glucose-stimulated insulin secretion in Wistar rats. *Peptides.* 2008;29(7):1241–1246.
- [23] Zhang W, Chen M, Chen X, Segura BJ, Mulholland MW. Inhibition of pancreatic protein secretion by ghrelin in the rat. *J Physiol.* 2001;537(1):231–236.
- [24] 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(6):443–449.
- [25] Jaworek J. Ghrelin and melatonin in the regulation of pancreatic exocrine secretion and maintaining of integrity. *J Physiol Pharmacol.* 2006;57(5):83–96.
- [26] Bonior J, Jaworek J, Leja-Szpak A, Kot M, Macko M, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek SJ, Pawlik WW. Protective effect of ghrelin in experimental acute pancreatitis. *Clin. Exp. Med. Lett.* 2005;46(3):39–46.
- [27] Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Bielański W, Cieszkowski J, Dembinski M, Pawlik WW, Kuwahara A, Kato I, Konturek PC. Variable effect of ghrelin administration on pancreatic development in young rats. Role of insulin-like growth factor-1. *J Physiol Pharmacol.* 2005;56(4):555–570.
- [28] Steer ML. Search for the trigger mechanism of pancreatitis. *Gastroenterology.* 1984;86(4):764–766.
- [29] Steer ML, Meldolesi J, Figarella C. Pancreatitis. The role of lysosomes. *Dig Dis Sci.* 1984;29(10):934–938.
- [30] Steer ML. Workshop on experimental pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 1985;30(6):575–581.
- [31] Wood J, Garcia R, Solomon TE. A simple model for acute pancreatitis: high dose caerulein injection in rat. *Gastroenterology* 1982;82:112–118.
- [32] Jaworek J, Bonior J, Leja-Szpak A, Nawrot K, Tomaszewska MR, Stachura J, Pawlik WW, Konturek SJ. Sensory nerves in central and peripheral control of pancreatic integrity by leptin and melatonin. *J Physiol Pharmacol.* 2002;53(1):51–74.
- [33] Amsterdam A, Solomon TE, Jamieson JD. Sequential dissociation of the exocrine pancreas into lobules, acini and individual cells. *Methods Cel Biol.* 1978;20:361–378.
- [34] Zaninovic V, Gukovskaya AS, Gukovsky I, Mouria M, Pandol SJ. Cerulein upregulates ICAM-1 in pancreatic acinar cells, which mediates neutrophil adhesion to these cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000;279(4):G666–G676.
- [35] Jaworek J, Jachimczak B, Bonior J, Kot M, Tomaszewska R, Karczewska E, Stachura J, Pawlik W, Konturek SJ. Protective role of endogenous nitric oxide (NO) in lipopolysaccharide-induced pancreatic damage (a new experimental model of acute pancreatitis). *Physiol Pharmacol.* 2000;51(1):85–102.
- [36] Leja-Szpak A, Jaworek J, Tomaszewska R, Nawrot K, Bonior J, Kot M, Palonek M, Stachura J, Czupryna A, Konturek SJ, Pawlik WW. Melatonin precursor; L-tryptophan protects the pancreas from development of acute pancreatitis through the central site of action. *J Physiol Pharmacol.* 2004;55(1 Pt 2):239–254
- [37] Chomczyński P, Sacchi N. Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* 1987;162:156–159.
- [38] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T, Nolan C, ed. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual.* New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych (artystycznych):

Moje zainteresowania naukowe koncentrują się wokół tematyki fizjologii i patofizjologii przewodu pokarmowego. Praca naukowo-badawcza obejmuje szeroko pojęte aspekty ostrego zapalenia trzustki (OZT) zarówno u ludzi, jak i u zwierząt, a także czynności zewnątrzwydzielniczej trzustki. Badania prowadzone są zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* z wykorzystaniem różnorodnych modeli eksperymentalnych OZT, izolowanych komórek pęcherzykowych trzustki szczurzej, linii komórkowych (AR42J cells) oraz materiału

ludzkiego (tkanka, krew), a także izolowanych monocytów szczurzych. Badania koncentrują się głównie na mechanizmach regulacyjnych oraz ochronnych w przebiegu odpowiedzi zapalnej trzustki i obejmują m. in.: neuropeptydy, hormony, endotoksyny, SN, nerwy błędne, tlenek azotu (ang. *Nitric Oxide* – NO), czy inne. Zainteresowania moje w dużej mierze koncentrują się także na mechanizmach zmian wewnątrzkomórkowych zachodzących w przebiegu OZT, i dotyczą szczególnie czynników uszkodzających i protekcyjnych. Prowadzone badania z użyciem technik biologii molekularnej obejmują m. in.: receptory, śmierć komórki (apoptoza, nekroza); HSPs, cytokiny, system antyoksydacyjny i inne.

Ochronna rola endogenego NO w uszkodzeniu trzustki indukowanym lipopolisacharydem

Lipopolisacharydy (ang. *Lipopolysaccharide* – LPS), stanowią część składową błony zewnętrznej ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych, koniecznej dla ich przeżywalności [1]. Wykazują one silne właściwości immunogenne i odgrywają bardzo istotną rolę w patogenezie wstrząsu septycznego [2]. Masywną endotoksemię zaobserwowano w ciężkiej postaci ostrego zapalenia trzustki (ang. *Acute Pancreatitis* – AP), obciążonego wysoką śmiertelnością, wykazano także iż LPS, w większych dawkach wywołują uszkodzenia gruczołu [3–5]. Jednak mechanizm ich szkodliwego wpływu na trzustkę nie jest w pełni zbadany. Powszechnie wiadomo, że LPS aktywują makrofagi do uwalniania mediatorów zapalnych, takich jak: reaktywne formy tlenu (ang. *Reactive Oxygen Species* – ROS) i różnych cytokin; w tym TNF- α , IL-1 β , -6, -8 oraz czynnika aktywacji płytek (ang. *Platelet Activating Factor* – PAF), kwaśnych hydrolaz, czy NO. To działanie LPS ukierunkowane jest na zniszczenie bakterii [4, 6–8].

Piśmiennictwo:

- [1] Moran AP. Structure – bioactivity relationship of bacterial endotoxins. *J Toxicol Rev* 1994;14:47–83.
- [2] Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner JD, et al. Septic shock: pathogenesis. *Lancet*. 1991;338:732–736.
- [3] Exley AR, Leese T, Holliday MP, Swann RA, Cohen J. Endotoxaemia and serum tumour necrosis factor as prognostic markers in severe acute pancreatitis. *Gut*. 1992;33(8):1126–1128.
- [4] Vaccaro MI, Dargosa MA, Mora MI, Tiscornia OM, Sordelli DO. The effect of chronic intraperitoneal infusion of bacterial endotoxin on exocrine pancreas function in rats. *Int J Pancreatol*. 1996;19(1):49–54.
- [5] Emanuelli G, Montrucchio G, Dughera L, Gaia E, Lupia E, Battaglia E, De Martino A, De Giuli P, Gubetta L, Camussi G. Role of platelet activating factor in acute pancreatitis induced by lipopolysaccharides in rabbits. *Eur J Pharmacol*. 1994;261(3):265–272.
- [6] Jersmann HP, Rathjen DA, Ferrante A. Enhancement of lipopolysaccharide-induced neutrophil oxygen radical production by tumor necrosis factor alpha. *Infect Immun*. 1998;66(4):1744–1747.
- [7] Carter AB, Monick MM, Hunninghake GW. Lipopolysaccharide-induced NF-kappaB activation and cytokine release in human alveolar macrophages is PKC-independent and TK- and PC-PLC-dependent. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1998;18(3):384–391.

- [8] Raabe T, Bukrinsky M, Currie RA. Relative contribution of transcription and translation to the induction of tumor necrosis factor-alpha by lipopolysaccharide. *J Biol Chem.* 1998;273(2):974-980.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Zbadanie wpływu wielokrotnego obwodowego (i. p.), podawania wysokich dawek bakteryjnego LPS (łac. *Escherichia coli*) u szczurów na integralność trzustki, zdolność izolowanych pęcherzyków trzustkowych do wydzielania amylazy oraz na osoczowy poziom TNF- α ; rola NO w odporności trzustki na uszkodzenie.

Osiągnięcia poznawcze:

1. Wielokrotne obwodowe (i. p.) podanie wysokich dawek bakteryjnego LPS u szczurów wywołało łagodne zapalenie trzustki, najsilniej wyrażone w 5 dniu ich zastosowania, które manifestowało się obrzękiem, infiltracją neutrofilii i zmianami krwotocznymi w trzustce.
2. Wskaźnik przeżywalności zwierząt po 5 dniach leczenia LPS wyniósł 87,5%.
3. Waga trzustki, osoczowy poziom TNF- α i amylazy, a także TPK oraz generacja NO przez komórki pęcherzykowe trzustki istotnie wzrosły u zwierząt poddanych wielokrotnemu zastosowaniu LPS, podczas gdy wyrzut amylazy z tych komórek w stosunku do czynności zewnątrzwydzielniczej trzustki, był znacznie osłabiony.
4. Tłumienie syntazy NO (ang. *NO Synthase* – NOS), przez zastosowanie jej inhibitora, N(G)-nitro-L-Argininy (ang. *N^G-nitro-L-Arginine* – L-NNA) doprowadziło do dramatycznego wzrostu śmiertelności zwierząt (osiągającej poziom 50%) i znamiennego statystycznie wzrostu zmian zapalnych w tkance trzustkowej oraz spadku TPK, a także zniesienia zdolności komórek pęcherzykowych trzustki do uwalniania NO i wydzielania amylazy. Waga trzustki oraz osoczowy poziom amylazy i TNF- α wzrosły w sposób znamieny statystycznie w grupie szczurów otrzymujących LPS w kombinacji z L-NNA, w porównaniu do grupy otrzymującej same LPS.
5. Dodanie L-Argininy (ang. *L-Arginine* – L-Arg.), substratu dla NOS, w grupach zwierząt otrzymujących L-NNA + LPS odwróciło szkodliwe skutki działania L-NNA na trzustkę.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Journal of Physiology and Pharmacology* oraz opublikowane jako rozdział w podręczniku międzynarodowym – *The Book – Neurogastroenterology from Basics to the*

Clinics/ed. by H.J. Krammer & M.V. Singer, Proceedings of the Falk Symposium 112 held in Freiburg, Germany – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Udział prostaglandyn E2, pochodnych cyklooksygenazy, a także NO w ochronie trzustki wywołanej przez niskie dawki LPS

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Zbadanie roli cyklooksygenazy (ang. *Cyclooxygenase* – COX) -1 i -2 indukowanej niskimi dawkami bakteryjnego LPS w ochronie gruczołu przed uszkodzeniem oraz zaangażowania NOS w aktywacji układu COX – prostaglandyny (ang. *Prostaglandins* – PGs) w przebiegu CIP u szczurów.

Osiągnięcia poznawcze:

1. CIP, potwierdzone w obrazie histologicznym, manifestowało się wzrostem masy trzustki i osoczonego poziomu: amylazy, lipazy, leptyny i przeciwzapalnej interleukiny IL-10. Zapalenie powodowało nieznaczny wzrost generacji trzustkowych PGE2 i redukcję TPK.
2. Niskie dawki bakteryjnego LPS, podane przed rozpoczęciem CIP, zwiększyły wytwarzanie PGE2 w trzustce, odwróciły zmiany histologiczne OZT oraz zmniejszyły osoczowy poziom amylazy i poprawiły TPK.
3. Zastosowanie nieselektywnego inhibitora COX; indometacyny (indo) przed podaniem LPS, zniosło ich ochronne działanie w przebiegu CIP i zredukowało trzustkowe wytwarzanie PGE2.
4. Selektywny inhibitor COX-1; resweratrol – zastosowany przed podaniem LPS, odwrócił ich ochronne działanie w przebiegu CIP. Upřednie podanie selektywnych inhibitorów COX-2; rofekoksybu lub N[2-(cykloheksyloksy)-4 nitrofenylo] sulfonamid metanu (NS-398) – osłabiło pankreatoprotekcyjny efekt wywołany przez LPS w przebiegu CIP u szczurów.
5. Ekspresję genową COX-1 oznaczono w zdrowej trzustce i nie uległa ona istotnej statystycznie zmianie w przebiegu CIP, czy pod wpływem: LPS, indo, NS-398 oraz w ich połączeniu; podczas gdy sygnał mRNA dla COX-2, obecny w trzustce zwierząt poddanych CIP, wzrósł w sposób istotny statystycznie po podaniu LPS.
6. Dodanie selektywnego inhibitora COX-2; NS-389 lub nieselektywnego inhibitora COX; indo – wzmocniło ekspresję sygnału mRNA dla COX-2, w grupie zwierząt z CIP wcześniej otrzymujących LPS.

7. Uprzednie zastosowanie u szczurów inhibitora NOS; L-NNA, podanego łącznie z LPS, przed rozpoczęciem CIP, doprowadziło do całkowitego odwrócenia ochronnego wpływu endotoksyny na trzustkę oraz zmniejszyło pobudzone przez nie wytwarzanie PGE2. Dodanie do L-NNA substratu dla NOS; L-Arg. – przywróciło pankreatoprotekcyjny wpływ niskich dawek LPS i spowodowało wzrost poziomu PGE2 wytwarzanych w trzustce u szczurów w przebiegu CIP.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Journal of Physiology and Pharmacology* oraz opublikowane jako rozdział w podręczniku międzynarodowym – *The Book – Neurogastroenterology from Basics to the Clinics/ed. by H.J. Krammer & M.V. Singer, Proceedings of the Falk Symposium 112 held in Freiburg, Germany – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.*

Centralne podanie bakteryjnego LPS zapobiega rozwojowi ostrego zapalenia trzustki

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Ocena wpływu centralnego (i.c.v.) podawania LPS na przebieg CIP oraz osoczowy poziom leptyny przy udziale SN.

Osiągnięcia poznawcze:

1. CIP, potwierdzone w obrazie histologicznym, manifestowało się wzrostem osoczowego poziomu amylazy, lipazy, leptyny i przeciwzapalnej IL-10 wraz z towarzyszącym zmniejszeniem TPK.
2. Uprzednie i.c.v. podanie LPS szczurom, istotnie statystycznie zmniejszyło przebieg CIP, a efektowi temu towarzyszył dawkozależny wzrost osoczowego poziomu leptyny i IL-10.
3. CD SN, która nie ma istotnego wpływu na przebieg CIP, całkowicie odwróciła korzystny wpływ podania i.c.v. LPS na CIP i zredukowała osoczowe stężenie leptyny oraz IL-10.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Medical Science Monitor.*

Rola SN i endogennych PGs w ochronie trzustki w przebiegu jej ostrego zapalenia

PG, produkt metabolizmu arachidonianu *via* szlak COX, wykazuje działanie ochronne na trzustkę przed jej ostrym uszkodzeniem [1, 2]. Zapalenie zwiększa zawartość PG i aktywuje cienkie, niezmielinizowane SN w tkankach przewodu pokarmowego [3]. Nerwy te wykazują powinowactwo do neurotoksyny – kapsaicyny, której niskie dawki mogą aktywować SN i uwalnianie neuromediatorów, takich jak peptyd pochodny genu kalcytoniny (ang. *Calcytonin Gene – Related Peptide – CGRP*), podczas gdy wysokie jej stężenia powodują ich deaktywację [4]. Wykazano, że pobudzenie SN zmniejsza ciężkość AP [4].

Piśmiennictwo:

- [1] Robert A, Lum JT, Lancaster C, Olafsson AS, Kolbasa KP, Nezamis JE. Prevention by prostaglandins of caerulein-induced pancreatitis in rats. *Lab Invest.* 1989;60(5):677–691.
- [2] Pozsar J, Berger Z, Simon K, Kovacsai A, Marosi E, Pap A. Biphasic effect of prostaglandin E1 on the severity of acute pancreatitis induced by a closed duodenal loop in rats. *Pancreas.* 1996;12(2):159–164.
- [3] Friese N, Diop L, Chevalier E, Angel F, Rivière PJ, Dahl SG. Involvement of prostaglandins and CGRP-dependent sensory afferents in peritoneal irritation-induced visceral pain. *Regul Pept.* 1997;70(1):1–7.
- [4] Dembiński A, Warzecha Z, Konturek PJ, Ceranowicz P, Konturek SJ. Influence of capsaicin-sensitive afferent neurons and nitric oxide (NO) on caerulein-induced pancreatitis in rats. *Int J Pancreatol.* 1996;19(3):179–189.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Określenie wpływu pobudzenia lub CD SN na integralność trzustki i biosyntezę trzustkowych PG u szczurów w warunkach podstawowych i u zwierząt poddanych CIP.

Osiągnięcia poznawcze:

1. W grupie kontrolnej szczurów wytwarzanie trzustkowych PGE2 nie uległo zmianie w sposób istotny statystycznie, w wyniku wcześniejszego pobudzenia SN przy użyciu niskich dawek kapsaicyny lub podania CGRP.
2. Zastosowanie wysokich stężeń kapsaicyny skutkuje ablacją SN i nieco zmniejszyło zawartość PGE2 w trzustce. Te efekty CD SN zostały zupełnie odwrócone przez uprzednie podanie szczurom CGRP.
3. Infuzja ceruleiny wywołała OZT, które manifestowało się przez znamienne statystycznie wzrost wagi trzustki i osoczowego poziomu amylazy. TPK i synteza trzustkowego DNA uległy znamiennej spadkowi. Biosynteza trzustkowych PGE2 uległa istotnemu statystycznie zmniejszeniu u szczurów z CIP w porównaniu do grupy kontrolnej zwierząt.

4. Podanie CGRP lub pobudzenie SN przy użyciu niskich dawek kapsaicyny, istotnie statystycznie podniosło biosyntezę trzustkowych PGE2 u szczurów z CIP i spowodowało częściowe odwrócenie spadku syntezy DNA, a także poprawę TPK.
5. CD SN przy użyciu wysokich dawek kapsaicyny nasiliła zmiany wywołane przez CIP i w sposób znamieny statystycznie zmniejszyła wytwarzanie PGE2 w trzustce. Ten uszkodzający wpływ ablacji SN na integralność gruczołu i zawartość trzustkowych PGE2 zostały odwrócone przez uprzednie podanie CGRP.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane jako rozdział w podręczniku międzynarodowym, takim jak: *Neurogastroenterology from Basics to the Clinics/ed. by H.J. Krammer & M.V. Singer, Proceedings of the Falk Symposium 112 held in Freiburg, Germany – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.*

Wpływ leptyny na przebieg ostrego zapalenia trzustki

Leptyna, produkt genu *ob* jest uwalniana przez różne komórki, zwłaszcza adipocyty i bierze udział w regulacji przyjmowania pokarmu, wydatkowania energii i utrzymania masy ciała [1–3]. Ostatnio wykazano także, że żołądek jest ważnym źródłem tego peptydu [4]. Leptyna działa *via* specyficzny receptor (OB-R) kodowany przez pojedynczy gen [5]. Jego domena zewnątrzkomórkowa zawiera dwie domeny cytokin i receptor leptynowy wykazuje podobieństwo do IL-6 i receptorów rodziny cytokin klasy I [5]. Obecność receptora leptynowego stwierdzono w mózgu człowieka i gryzoni i w wielu tkankach obwodowych, w tym w łożysku, śledzionie, błonie śluzowej żołądka, jelicie i trzustce [6]. Wykazanie ekspresji genu OB-R w komórkach trzustkowych β i w komórkach pęcherzykowych trzustki linii AR42J wskazuje, że peptyd ten może brać udział w kontroli fizjologicznej czynności endo- i egzokrynnej trzustki [7, 8]. Badania naukowe wykazały, że leptyna chroni różne tkanki przed uszkodzeniem, takie jak np. błona śluzowa żołądka [9, 10].

Piśmiennictwo:

- [1] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372(6505):425–432.
- [2] Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in *ob/ob* mice. *Science*. 1995;269(5223):540–543.
- [3] Scarpace PJ, Matheny M, Pollock BH, Tümer N. Leptin increases uncoupling protein expression and energy expenditure. *Am J Physiol*. 1997;273(1 Pt 1):E226–230.

- [4] Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerremillo M, Le Marchand-Brustel Y, Lewin MJ. The stomach is a source of leptin. *Nature*. 1998;394(6695):790–793.
- [5] Baumann H, Morella KK, White DW, Dembski M, Bailon PS, Kim H, Lai CF, Tartaglia LA. The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(16):8374–8378.
- [6] Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*. 1995;83(7):1263–1271.
- [7] Morton MN, Emilsson V, de Groot P, Pallet AL, Cawthorne MA. Leptin signaling in the pancreatic islets and clonal insulin-secreting cells. *J Mol Endocrinol* 1999;22:173–184.
- [8] Harris DM, Flannigan KL, Go VL, Wu SV. Regulation of cholecystokinin-mediated amylase secretion by leptin in rat pancreatic acinar tumor cell line AR42J. *Pancreas*. 1999;19(3):224–230.
- [9] Konturek SJ, Brzozowski T, Hahn EG. Gastroprotection and control of food intake by leptin. Comparison with cholecystokinin and prostaglandins. *J Physiol Pharmacol*. 1999;50(1):39–48.
- [10] Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Pajdo R, Duda A, Pierzchalski P, Bielański W, Hahn EG. Leptin in gastroprotection induced by cholecystokinin or by a meal. Role of vagal and sensory nerves and nitric oxide. *Eur J Pharmacol*. 1999;374(2):263–76.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Zbadanie wpływu podawania obwodowego lub centralnego leptyny u szczurów na przebieg CIP, ekspresję genową leptyny i produkcję cytokin zapalnych.

Osiągnięcia poznawcze:

1. CIP zazwyczaj charakteryzowało się obrzękiem trzustki, redukcją TPK i wzrostem poziomu leptyny, amylazy, TNF- α i IL-4 w surowicy krwi.
2. Uprzednie i.p. lub i.c.v. podanie leptyny przed indukcją CIP częściowo odwracało jego uszkodzający wpływ na trzustkę i zmniejszało zapalenie gruczołu oraz spadek TPK. Towarzyszyła temu dawkozależna redukcja poziomu amylazy i TNF- α w surowicy krwi, podczas gdy u szczurów zapalnych otrzymujących leptynę poziom IL-4 w surowicy krwi wzrastał dawkozależnie w porównaniu do grupy kontrolnej szczurów z CIP. Uprzednie podanie leptyny spowodowało dawkozależny wzrost osocznego poziomu leptyny powyżej zaobserwowanego w grupie kontrolnej.
3. Ekspresja mRNA leptyny w trzustce szczurzej wzrosła w sposób zależny od dawki po infuzji ceruleiny. Zawartość leptyny w izolowanych pęcherzykach trzustkowych także wzrosła dawkozależnie po zastosowaniu ceruleiny w warunkach *in vitro*.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopismach o zasięgu światowym, takich jak: *Pancreatology*, *Journal of Physiology and Pharmacology*.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- B. Porównanie wpływu dokomorowego (i.c.v.) lub dootrzewnowego (i.p.) podania leptyny na przebieg CIP u szczura.

- C. Zbadanie udziału SN i CGRP w ochronie trzustki zapewnianej przez leptynę.
- D. Zbadanie wpływu leptyny na uwalnianie NO z izolowanych komórek pęcherzykowych oraz
- E. Określenie wpływu ceruleiny i leptyny na ekspresję genową receptora leptynowego w tych pęcherzykach przy użyciu techniki RT-PCR.

Osiągnięcia poznawcze:

- 4. Upřednie i.p. podanie leptyny istotnie statystycznie zmniejszyło nasilenie CIP. Podobne protekcyjne efekty zaobserwowano po i.c.v. zastosowaniu leptyny u szczurów z CIP.
- 5. CD SN lub podanie CGRP8-37 znosiło ten korzystny wpływ leptyny na CIP.
- 6. Leptyna istotnie statystycznie pobudzała uwalnianie NO z izolowanych pęcherzyków trzustkowych.
- 7. Ekspresja genowa receptora leptynowego w tych pęcherzykach wzrosła w sposób znamieny statystycznie pod wpływem ceruleiny i leptyny.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopismach o zasięgu światowym, takich jak: *Pancreatology, Digestion, Journal of Physiology and Pharmacology*.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- F. Ocena poziomu leptyny u szczurów z CIP i u ludzi z OZT.
- G. Określenie wpływu egzogennej leptyny na przebieg ostrego CIP u szczurów.

Osiągnięcia poznawcze:

- 8. Osoczowy poziom leptyny był znamieny wyższy w przebiegu CIP w porównaniu do grupy kontrolnej.
- 9. CIP wiązało się ze wzrostem sygnału mRNA i białka dla leptyny w trzustce. Podanie endogennej leptyny istotnie statystycznie zredukowało masę trzustki; zmiany w obrazie histologicznym zapalenia, osoczowe stężenie TNF- α oraz ekspresję mRNA iNOS w tkance trzustkowej.
- 10. Ocena osoczowego poziomu leptyny u ludzi wykazała znamieny statystycznie wyższe wartości mediany u pacjentów z OZT aniżeli u zdrowych osób.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Digestion*.

Poziom leptyny i GHRL w surowicy krwi pacjentów we wczesnej fazie ostrego żółciopochodnego zapalenia trzustki; różne stopnie nasilenia

OZT od dawna uznawane jest za chorobę potencjalnie śmiertelną [1]. Patofizjologia OZT nie jest w pełni nadal poznana. Badania doświadczalne na zwierzętach wykazały, że leptyna i GHRL modulują przebieg OZT [2, 3]. Odkrycie leptyny i GHRL zwiększyło zainteresowanie poszukiwaniem ról obu hormonów w modulacji odpowiedzi immunologicznej w przebiegu zapalenia [2–5].

Piśmiennictwo:

- [1] Al Mofleh IA. Severe acute pancreatitis: pathogenetic aspects and prognostic factors. *World J Gastroenterol.* 2008;14(5):675–684.
- [2] Bonior J, Jaworek J, Leja-Szpak A, Kot M, Macko M, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek SJ, Pawlik WW. Protective effect of ghrelin In experimental acute pancreatitis. *Clin. Exp. Med. Lett.* 2005; 46(3): 39–46.
- [3] Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek SJ, Konturek PC. Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rat. *J Physiol Pharmacol.* 2003;54(4):561–573.
- [4] Jaworek J, Bonior J, Leja-Szpak A, Nawrot K, Kot M, Tomaszewska R, Stachura J, Pawlik WW, Konturek SJ. Sensory nerves in central and peripheral control of pancreatic integrity by leptin and melatonin. *J. Physiol. Pharmacol.* 2002; 53(1): 51–74.
- [5] Konturek PC, Jaworek J, Maniatoglou A, Bonior J, Meixner H, Konturek SJ, Hahn EG. Leptin modulates the inflammatory response in acute pancreatitis. *Digestion* 2002; 65(3): 149–160.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Oszacowanie zależności pomiędzy ciężkością ostrego żółciopochodnego zapalenia trzustki (ang. *Acute Biliary Pancreatitis* – ABP) i poziomem leptyny i GHRL w surowicy krwi pacjentów nieotyłych w pierwszych siedmiu dniach hospitalizacji.

Osiągnięcia poznawcze:

1. Przy przyjęciu, jak i w trakcie całego badania średnie stężenie leptyny w surowicy krwi u pacjentów w ciężkiej postaci ABP (ang. *Severe Acute Biliary Pancreatitis* – SABP) było wyższe aniżeli w grupie kontrolnej, jednak nie wykazano w tym zakresie istotności statystycznej.
2. Stężenie GHRL w surowicy krwi przy przyjęciu było znamienne statystycznie niższe u pacjentów z ABP, aniżeli w grupie kontrolnej.

3. Zaobserwowano stały wzrost poziomu GHRL w surowicy krwi u pacjentów w obydwu grupach (ang. *Mild ABP* – MABP; łagodne ABP i SABP) w przebiegu ABP.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Polish Journal of Surgery*.

Rola leptyny w kontroli wydzielania enzymów trzustkowych

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Zbadanie wpływu egzogennej leptyny na wydzielanie enzymów trzustkowych w warunkach *in vitro* z użyciem izolowanych pęcherzyków trzustkowych lub *in vivo* u szczurów przytomnych z przewlekłymi przetokami trzustkowymi.

Osiągnięcia poznawcze:

1. Dootrzewnowe podanie leptyny nie wpłynęło znamienne na wydzielanie podstawowe białka enzymatycznego z trzustki ale znacząco zredukowało to pobudzone karmieniem. W warunkach podstawowych osoczowy poziom leptyny był niski i wzrastał po podaniu pokarmu. Podanie leptyny w sposób dawkozależny zwiększało osoczowy poziom leptyny. Leptyna całkowicie znosiła wzrost wyrzutu białka enzymatycznego z trzustki wywołanego przez podanie pokarmu, karmienie rzekome lub odprowadzenie soku trzustkowego na zewnątrz.
2. Leptyna także w sposób zależny od dawki ograniczała uwalnianie amylazy z izolowanych pęcherzyków trzustkowych indukowane ceruleiną, podczas gdy wydzielanie podstawowe było niezmienione.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takich jak: *Journal of Physiology and Pharmacology, Medical Science Review – Gastroenterologia*.

Znaczenie leptyny w modulowaniu ekspresji genowej HSP60 w komórkach pęcherzykowych trzustki linii AR42J

HSPs, chronią komórki przed różnymi środowiskowymi i endogennymi czynnikami stresowymi. Ich produkcja zwiększa się w odpowiedzi na wysoką temperaturę, stres oksydacyjny, czy w przebiegu odpowiedzi zapalnej [1, 2].

Piśmiennictwo:

- [1] Joly A.L., Wettstein G., Mignot G., Ghiringhelli F., Garrido C. Dual role of heat shock proteins as regulators of apoptosis and innate immunity. *J Innate Immun.* 2010;2(3):238–247.
- [2] Jattela M. Heat shock protein as a cellular lifeguards. *Ann Med* 1999;31:261–271.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Zbadanie zmian sygnału mRNA HSP60 w komórkach pęcherzykowych trzustki linii AR42J poddanych działaniu ceruleiny i leptyny.

Osiągnięcia poznawcze:

1. Ekspresja genowa HSP60 została wykryta w komórkach pęcherzykowych trzustki linii AR42J w warunkach podstawowych.
2. Ekspresja genowa HSP60 wzrosła w sposób istotny statystycznie w komórkach pęcherzykowych trzustki linii AR42J poddanych działaniu leptyny, podczas gdy ceruleina spowodowała redukcję tego sygnału.
3. Najsilniejsza ekspresja genowa dla HSP60 została wykryta w komórkach inkubowanych w kombinacji: ceruleina i leptyna.

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

Wpływ leptyny oraz peptydu CGRP na ekspresję genową receptora leptynowego *ob* oraz cytokiny prozapalnej – TNF- α w komórkach pęcherzykowych trzustki linii AR42J, poddanych stymulacji ceruleinowej

CGRP, jest szeroko rozpowszechniony w niezmielinizowanych włóknach C wzdłuż przewodu pokarmowego [1]. Pobudzenie trzustkowych nerwów czuciowych przez kapsaicynę, wywołuje efekt wydzielniczy i uwalnianie CGRP [1, 2].

Piśmiennictwo:

- [1] Jaworek J., Konturek S.J., Szlachcic A. The role of CGRP and afferent nerves in the modulation of pancreatic enzyme secretion in the rat. *Int J Pancreatol.* 1997;22(2):137–146.
- [2] Jaworek J., Bonior J., Leja-Szpak A., Nawrot K., Tomaszewska M.R., Stachura J., Pawlik W.W., Konturek S.J. Sensory nerves in central and peripheral control of pancreatic integrity by leptin and melatonin. *J Physiol Pharmacol.* 2002;53(1):51–74.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Określenie zmian sygnału mRNA dla receptora leptynowego *db* i ocena wpływu leptyny, CGRP i stymulacji ceruleinowej na ten sygnał w komórkach trzustkowych AR42J.
- B. Zbadanie ekspresji genowej TNF- α w komórkach trzustkowych AR42J poddanych stymulacji ceruleiną i leptyną.

Osiągnięcia poznawcze:

1. Sygnały mRNA dla receptora leptynowego; podtypy *db-1*, *db-2*, *db-3* oraz dla TNF- α wykazano w komórkach trzustkowych AR42J w warunkach podstawowych.
2. Inkubacja tych komórek w obecności ceruleiny, leptyny lub w ich połączeniu skutkowała znamionym statystycznie wzrostem ekspresji genowej dla wszystkich podtypów receptora *db*.
3. Sygnał mRNA dla receptora leptynowego zmniejszył się w sposób znamionny statystycznie w następstwie pobudzenia tych komórek przez CGRP lub w kombinacji ceruleiny i CGRP.
4. Sygnał mRNA dla TNF- α wyraźnie wzrósł w komórkach AR42J poddanych stymulacji ceruleinowej, podczas gdy dodanie leptyny lub CGRP spowodowało znamionym statystycznie spadek jego ekspresji genowej.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych.

Molekularna identyfikacja i regulacja systemu grelinowego w komórkach pęcherzykowych trzustki linii AR42J**Poszczególne etapy badań obejmowały:**

- A. Określenie wpływu GHRL i stymulacji ceruleinowej komórek AR42J na poziom białka GHS-R podtyp1a i acylowaną GHRL (AG).

Osiągnięcia poznawcze:

1. GHS-R podtyp 1a i AG wykryto w komórkach trzustkowych AR42J w warunkach podstawowych. Inkubacja tych komórek w obecności samej GHRL spowodowała znamionny statystycznie wzrost produkcji obu zidentyfikowanych białek.
2. Przeciwnie, zastosowanie ceruleiny do hodowli komórkowej znamionnie statystycznie obniżyło produkcję GHS-R1a lecz nie wpłynęło na sygnał dla GHRL. Dodanie GHRL odwróciło wywołane ceruleiną tłumienie tego białka.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w monografii, takiej jak: *Monograph – Interdisciplinary Research Nursing Past and Present*.

Rola melatoniny w przebiegu ostrego zapalenia trzustki

Melatonina, produkt szyszynki, jest uwalniana także z błony śluzowej jelit w odpowiedzi na spożycie pokarmu. Melatonina jest indoloaminą (5-metoksy-N-acetylotryptamina) syntetyzowaną z aminokwasowego prekursora; L-tryptofanu, a jej produkcja i uwalnianie z szyszynki podlegają rytmicznym dobowo/nocnym wahaniom, ze szczytem w nocy i najniższym poziomem w fazie światła [1, 2]. Głównymi enzymami kontrolującymi syntezę melatoniny są: N-acetylo-serotonin-transferaza (NAT) i hydroksyindolo-O-metyl-transferaza (HIOMT) [3, 4]. Specyficzne receptory melatoninowe zostały wykryte w wielu tkankach układu pokarmowego, w tym w trzustce [5–7]. Indoloamina ta posiada wyjątkowe właściwości antyoksydacyjne i immunomodulacyjne, a także reguluje apoptozę [8–12]. Melatonina, a także jej prekursor, L-tryptofan, ograniczają ciężkość ostrego zapalenia trzustki i chronią tkankę gruczołu przed uszkodzeniem powodowanym ostrym zapaleniem [5, 6, 10–12]. Chroni ona również śluzówkę żołądka, wątrobę, a także jelita przed powstawaniem ostrych uszkodzeń [13–15].

Piśmiennictwo:

- [1] Berra B, Rizzo AM. Melatonin: circadian rhythm regulator, chronobiotic, antioxidant and beyond. *Clin Dermatol*. 2009;27(2):202-209.
- [2] Zawilska JB, Skene DJ, Arendt J. Physiology and pharmacology of melatonin in relation to biological rhythms. *Pharmacol Rep*. 2009;61(3):383-410.
- [3] Stefulj J, Hörtnner M, Ghosh M, Schauenstein K, Rinner I, Wölfler A, Semmler J, Liebmann PM. Gene expression of the key enzymes of melatonin synthesis in extrapineal tissues of the rat. *J Pineal Res*. 2001 May;30(4):243-247.
- [4] Shimozuma M, Tokuyama R, Tatehara S, Umeki H, Ide S, Mishima K, Saito I, Satomura K. Expression and cellular localization of melatonin-synthesizing enzymes in rat and human salivary glands. *Histochem Cell Biol*. 2011;135(4):389-396.
- [5] Jaworek J, Leja-Szpak A, Bonior J, Nawrot K, Tomaszewska R, Stachura J, Sendur R, Pawlik W, Brzozowski T, Konturek SJ. Protective effect of melatonin and its precursor L-tryptophan on acute pancreatitis induced by caerulein overstimulation or ischemia/reperfusion. *J Pineal Res*. 2003;34(1):40-52.
- [6] Jaworek J, Nawrot-Porabka K, Leja-Szpak A, Bonior J, Szklarczyk J, Kot M, Konturek SJ, Pawlik WW. Melatonin as modulator of pancreatic enzyme secretion and pancreatoprotector. *J Physiol Pharmacol*. 2007;58(6):65-80.
- [7] Stebelová K, Anttila K, Mänttari S, Saarela S, Zeman M. Immunohistochemical definition of MT(2) receptors and melatonin in the gastrointestinal tissues of rat. *Acta Histochem*. 2010;112(1):26-33.
- [8] Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolín I, Herrera F, Martín V, Reiter RJ. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res*. 2004;36(1):1-9.
- [9] Suzen S. Recent developments of melatonin related antioxidant compounds. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2006;9(6):409-419.

- [10] Jung KH, Hong SW, Zheng HM, Lee HS, Lee H, Lee DH, Lee SY, Hong SS. Melatonin ameliorates cerulein-induced pancreatitis by the modulation of nuclear erythroid 2-related factor 2 and nuclear factor-kappaB in rats. *J Pineal Res.* 2010;48(3):239-250.
- [11] Chen HM, Chen JC, Ng CJ, Chiu DF, Chen MF. Melatonin reduces pancreatic prostaglandins production and protects against caerulein-induced pancreatitis in rats. *J Pineal Res.* 2006;40(1):34-39.
- [12] Muñoz-Casares FC, Padillo FJ, Briceño J, Collado JA, Muñoz-Castañeda JR, Ortega R, Cruz A, Túnez I, Montilla P, Pera C, Muntané J. Melatonin reduces apoptosis and necrosis induced by ischemia/reperfusion injury of the pancreas. *J Pineal Res.* 2006;40(3):195-203.
- [13] Konturek PC, Konturek SJ, Majka J, Zembala M, Hahn EG. Melatonin affords protection against gastric lesions induced by ischemia-reperfusion possibly due to its antioxidant and mucosal microcirculatory effects. *Eur J Pharmacol.* 1997;322(1):73-77.
- [14] Melchiorri D, Sewerynek E, Reiter RJ, Ortiz GG, Poeggeler B, Nisticò G. Suppressive effect of melatonin administration on ethanol-induced gastroduodenal injury in rats in vivo. *Br J Pharmacol.* 1997;121(2):264-270.
- [15] Tan D, Manchester LC, Reiter RJ, Qi W, Hanes MA, Farley NJ. High physiological levels of melatonin in the bile of mammals. *Life Sci.* 1999;65(23):2523-2529.

Rola melatoniny w przebiegu CIP; udział SN

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Porównanie wpływu dokomorowego (i.c.v.) lub dootrzewnowego (i.p.) podania melatoniny na przebieg CIP u szczura.
- B. Zbadanie udziału SN i CGRP w ochronie trzustki zapewnianej przez melatoninę.
- C. Określenie wpływu badanego peptydu na produkty peroksydacji lipidów (MDA+4-HNE) w trzustce szczurzej w przebiegu CIP.
- D. Zbadanie wpływu melatoniny na uwalnianie NO z izolowanych komórek pęcherzykowych.

Osiągnięcia poznawcze:

- 1. Uprzednie i.p. podanie melatoniny istotnie statystycznie zmniejszyło nasilenie CIP, nie wykazano takiego efektu po centralnym podaniu tego peptydu.
- 2. CD SN lub podanie CGRP8-37 nie zniosło korzystnego wpływu melatoniny na CIP.
- 3. Uprzednie i. p. podanie melatoniny znamienne statystycznie zredukowało generację MDA+4-HNE w trzustce szczurów z CIP.
- 4. Melatonina nie pobudza uwalnianie NO z izolowanych pęcherzyków trzustkowych.

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

Rola endogennej melatoniny i jej receptora MT2 w modulacji CIP

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- E. Zbadanie udziału endogennej melatoniny w zapobieganiu uszkodzeniu trzustki wywołanego przez CIP, przez zastosowanie luznidolu; antagonisty receptorów melatoninowych MT2.

Osiągnięcia poznawcze:

5. CIP zostało potwierdzone w badaniu histologicznym i manifestowało się istotnym statystycznie wzrostem osoczowej aktywności amylazy, lipazy, TNF- α w porównaniu z wartościami kontrolnymi. Towarzyszyło temu ograniczenie TPK i wzrost trzustkowych MDA+4-HNE.
6. Podanie luzindolu szczurom z CIP zredukowało TPK, nasiliło zmiany histologiczne zapalenia, znamienne statystycznie zwiększyło zawartość trzustkowych MDA+4-HNE i wywołało istotny wzrost osoczowego poziomu lipazy, amylazy i TNF- α , w porównaniu do wartości obserwowanych u szczurów z samym CIP.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopismach o zasięgu światowym, takich jak: *Journal of Physiology and Pharmacology*, *International Journal of Inflammation*, *Current Pharmaceutical Design*, a także w *Monograph – Medical Biology and Human Life*.

Ochronny wpływ melatoniny i jej prekursora L-tryptofanu na ostre zapalenie trzustki indukowane nadmierną stymulacją ceruleinową lub ischemią/reperfuzją

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- F. Zbadanie obwodowego wpływu melatoniny i jej prekursora, L-tryptofanu na CIP i na OZT wywołane I/R u szczurów.

Osiągnięcia poznawcze:

7. CIP i I/R zostały potwierdzone przez badanie histologiczne i manifestowały się typowym obrzękiem trzustki, wzrostem osoczowych poziomów amylazy i prozapalnego TNF- α . Produkty peroksydacji lipidów, takie jak MDA+4-HNE, wzrosły kilkakrotnie w trzustce z CIP i I/R, podczas gdy TPK uległ znamiennej redukcji u tych zwierząt.
8. Podanie przed indukcją CIP lub I/R melatoniny lub L-tryptofanu (i. p.) znamienne zredukowało obrzęk trzustki, osoczowe poziomy amylazy oraz TNF- α i zmniejszyło zawartość MDA+4-HNE w trzustce, poprawiając TPK, integralność gruczołu

i osoczowy poziom przeciwzapalnej IL-10. Towarzyszył temu znamienny dawkozależny wzrost osoczowego poziomu melatoniny. Ekspresja genowa NAT, enzymu zaangażowanego w biosyntezę melatoniny, została oznaczona w zdrowej trzustce szczurzej i była znamienne silniejsza w przebiegu CIP. Wykazano także obecność sygnału mRNA dla HIOMT w trzustce ludzkiej.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopismach o zasięgu światowym, takich jak: *Journal of Pineal Research*, *International Journal of Inflammation*, *Current Pharmaceutical Design*, a także w *Monograph – Medical Biology and Human Life*.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

G. Porównanie efektów działania prekursora melatoniny; L-tryptofanu podawanego dokomorowo (i.c.v.) lub doodtrzewnowo na przebieg CIP.

Osiągnięcia poznawcze:

9. CIP zostało potwierdzone w badaniu histologicznym i manifestowało się obrzękiem i wzrostem osoczowych poziomów amylazy, lipazy i TNF- α . MDA+4-HNE w trzustce wzrosły, podczas gdy aktywność SOD u szczurów z CIP uległa zmniejszeniu.
10. Wszystkie objawy CIP uległy znamiennej redukcji u szczurów po uprzednim centralnym lub obwodowym podaniu L-tryptofanu. W grupie kontrolnej szczurów osoczowy poziom melatoniny wyniósł średnio około 40 \pm 2 pg/ml i nie zmienił się znacząco w przebiegu CIP, po centralnym podaniu L-tryptofanu, czy obwodowym zastosowaniu tego prekursora melatoniny. Natomiast osoczowy poziom melatoniny wzrósł znamienne statystycznie po podaniu szczurom L-tryptofanu i. p. w wysokiej dawce.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopismach o zasięgu światowym, takich jak: *Journal of Physiology and Pharmacology*, *International Journal of Inflammation*, *Current Pharmaceutical Design*, a także w *Monograph – Medical Biology and Human Life*.

Okołodobowy rytm uwalniania melatoniny moduluje ciężkość CIP

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- H. Porównanie ciężkości CIP wywołanego u szczura w ciągu dnia i w ciągu nocy.
- I. Ocena zmian osoczkowego poziomu melatoniny i aktywności enzymu antyoksydacyjnego; SOD w trzustce poddanej CIP w ciągu dnia i w nocy bez lub po podaniu egzogennej melatoniny lub jej prekursora; L-tryptofanu.

Osiągnięcia poznawcze:

11. CIP indukowane w ciągu dnia zostało potwierdzone w badaniu histologicznym i manifestowało się obrzękiem trzustki, wzrostem osoczkowej aktywności amylazy i lipazy, podczas gdy trzustkowy SOD, TPK i zużycie tlenu przez tkankę trzustkową i (VO(2)) uległy obniżeniu, w porównaniu do kontroli.
12. Wszystkie cechy morfologiczne i parametry biochemiczne CIP indukowanego w nocy były znamienne mniej zaostrome, w porównaniu z tymi odnotowanymi w fazie jasnej. Osoczkowy poziom melatoniny był znamienne statystycznie wyższy w ciągu nocy, aniżeli w ciągu dnia, szczególnie po podaniu melatoniny lub jej prekursora; które odwracały wszystkie objawy CIP.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Journal of Pineal Research*.

Wpływ melatoniny i jej prekursora; L-tryptofanu na czynność zewnątrzwydzielniczą trzustki

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Zbadanie wpływu egzogennej melatoniny i jej prekursora; L-tryptofanu na wydzielanie enzymów trzustkowych.

Osiągnięcia poznawcze:

1. Egzogenna melatonina podawana dootrzewnowo lub do światła jelita, jak również ta wytwarzana endogennie z jej prekursora L-tryptofanu, silnie stymulowała wydzielanie amylazy trzustkowej. Towarzyszył temu znamienny wzrost osoczkowego poziomu CCK.
2. Ten efekt pobudzenia wydzielania trzustkowego po dojelitowym podaniu melatoniny, został całkowicie odwrócony po zastosowaniu obustronnej wagoTomii (ang. *Bilateral*

Vagotomy – BV), CD SN lub po podaniu antagonisty receptora CCK1; terazepidu, jak również antagonisty serotoniny; ketanseryny.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Journal of Physiology and Pharmacology*, a także w *Monograph – Medical Biology and Human Life*.

Wpływ melatoniny na ekspresję genową HSP60 w komórkach pęcherzykowych trzustki linii AR42J

W warunkach prawidłowych HSP60 jest zaangażowane w zwijanie białek, montaż, demontaż i ich degradację. Białko to, podobnie do innych HSPs, rośnie podczas stresu komórkowego, jako adaptacyjna strategia ochronna [1]. W ciągu ostatniej dekady badacze dowiedli, że HSP60 i enzymy trzustkowe mają wspólną lokalizację wewnątrz komórek pęcherzykowych trzustki, wykazując ściśle interakcje [2, 3]. W zapaleniu trzustki, jako działanie ochronne sugeruje się wzrost transkrypcji i produkcji HSP60 [4–6].

Piśmiennictwo:

- [1] Gruden G, Bruno G, Chaturvedi N, Burt D, Pinach S, Schalkwijk C, Stehouwer CD, Witte DR, Fuller JH, Cavallo-Perin P; EURODIAB Prospective Complications Study Group. ANTI-HSP60 and ANTI-HSP70 antibody levels and micro/macrovascular complications in type 1 diabetes: the EURODIAB Study. *J Intern Med.* 2009;266(6):527-536.
- [2] Le Gall IM, Bendayan M. Possible association of chaperonin 60 with secretory proteins in pancreatic acinar cells. *J Histochem Cytochem.* 1996;44(7):743-749.
- [3] Li Y, Gingras D, Londoño I, Bendayan M. Expression differences in mitochondrial and secretory chaperonin 60 (Cpn60) in pancreatic acinar cells. *Cell Stress Chaperones.* 2003;8(3):287-294.
- [4] Otaka M, Okuyama A, Otani S, Jin M, Itoh S, Itoh H, Iwabuchi A, Sasahara H, Odashima M, Tashima Y, Masamune O. Differential induction of HSP60 and HSP72 by different stress situations in rats. Correlation with cerulein-induced pancreatitis. *Dig Dis Sci.* 1997;42(7):1473-1479.
- [5] Rakonczay Z Jr, Takács T, Iványi B, Mándi Y, Pápai G, Boros I, Varga IS, Jost K, Lonovics J. The effects of hypo- and hyperthermic pretreatment on sodium taurocholate-induced acute pancreatitis in rats. *Pancreas.* 2002;24(1):83-89.
- [6] Rakonczay Z Jr, Takács T, Boros I, Lonovics J. Heat shock proteins and the pancreas. *J Cell Physiol.* 2003;195(3):383-391.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Zbadanie wpływu uprzedniego hartowania hipertermią na sygnał mRNA HSP60 w komórkach AR42J.
- B. Określenie zmian sygnału mRNA dla HSP60 w komórkach AR42J w następstwie pobudzenia tych komórek przez ceruleinę lub melatoninę lub

C. Ocena ekspresji genowej HSP60 w komórkach AR42J poddanych działaniu melatoniny i ceruleiny w połączeniu z uprzednim hartowaniem hipertermią.

Osiągnięcia poznawcze:

1. Ekspresja genowa HSP60 została oznaczona w komórkach trzustkowych AR42J w warunkach podstawowych.
2. Uprzednie hartowanie hipertermią doprowadziło do znamiennego statystycznie i zależnego od czasu, wzrostu sygnału HSP60 w komórkach trzustkowych AR42J.
3. Ekspresja genowa HSP60 wzrosła w sposób istotny statystycznie w komórkach trzustkowych AR42J pobudzonych melatoniną, podczas gdy ceruleina spowodowała znaczną redukcję tego sygnału.
4. Najsilniejsza ekspresja genowa HSP60 została oznaczona w komórkach poddanych uprzedniemu hartowaniu hipertermią w połączeniu ceruleiną i melatoniną.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopismach o zasięgu światowym, takich jak: *Journal of Physiology and Pharmacology*, *International Journal of Inflammation*, a także w *Monograph – Medical Biology and Human Life*.

Długoterminowy wpływ endotoksemii wczesnego okresu życia na HSP60 w komórkach pęcherzykowych trzustki: zaangażowanie receptora Toll-podobnego 4

Lipopolisacharyd (LPS, endotoksyna), który jest składnikiem błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych, odgrywa bardzo ważną rolę w patogenezie wstrząsu septycznego [1]. LPS jest kluczowym „triggerem” spustowym kaskady zapalnej makrofagów *via* receptor Toll-podobny 4 (ang. *Toll-Like Receptor 4* – TLR4). LPS został także zidentyfikowany jako ligand receptora TLR4 i bierze udział w patofizjologii sepsy [2–4].

Piśmiennictwo:

- [1] Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner JD, Cohen J. Septic shock: pathogenesis. *Lancet*. 1991;338(8769):732–736.
- [2] Reis J, Guan XQ, Kisselev AF, Papasian CJ, Qureshi AA, Morrison DC, Van Way CW 3rd, Vogel SN, Qureshi N. LPS-induced formation of immunoproteasomes: TNF- α and nitric oxide production are regulated by altered composition of proteasome-active sites. *Cell Biochem Biophys*. 2011;60(1-2):77–88.
- [3] Soares JB, Pimentel-Nunes P, Roncon-Albuquerque R, Leite-Moreira A. The role of lipopolysaccharide/toll-like receptor 4 signaling in chronic liver diseases. *Hepatol Int*. 2010;4(4):659–672.
- [4] Raetz CR. Bacterial endotoxins: extraordinary lipids that activate eucaryotic signal transduction. *J Bacteriol*. 1993;175(18):5745–5753.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Zbadanie wpływu endotoksemii wczesnego okresu życia na produkcję TLR4, HSP60 i proapoptotycznych Bax, kaspazy-9 i -3 lub antyapoptotycznego Bcl-2 w komórkach pęcherzykowych trzustki u dorosłych zwierząt.

Osiągnięcia poznawcze:

1. „Preconditioning” nowo narodzonych szczurów przy użyciu LPS zwiększył poziom produkcji TLR4, kaspazy-9 i -3 ale nie wpłynął na produkcję HSP60, Bax i Bcl-2 w warunkach podstawowych u dorosłych zwierząt.
2. Stymulacja ceruleinowa wywołała wzrost produkcji TLR4, Bcl-2 oraz kaspaz ale zmniejszyła poziom HSP60 i Bax w komórkach pęcherzykowych trzustki.
3. Endotoksemia u nowo narodzonych szczurów w sposób dawko zależny zwiększyła sygnał produkcji TLR4, Bax, HSP60 i obydwu kaspaz ponadto hamowała antyapoptotyczny Bcl-2 w komórkach pęcherzykowych trzustki stymulowanych ceruleiną w wieku dorosłym.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopismach o zasięgu światowym, takich jak: *Journal of Physiology and Pharmacology*, *International Journal of Inflammation*, a także w *Monograph – Interdisciplinary Research Nursing Past and Present*.

Endotoksemia wczesnego okresu życia łagodzi ostre zapalenie trzustki w wieku dorosłym**Poszczególne etapy badań obejmowały:**

- A. Zbadanie wpływu ekspozycji LPS we wczesnym okresie życia na przebieg CIP w wieku dorosłym.

Osiągnięcia poznawcze:

1. Infuzja ceruleiny wywołała CIP u wszystkich badanych zwierząt, co zostało potwierdzone przez badanie histologiczne.
2. U szczurów, które zostały poddane w okresie noworodkowym działaniu LPS, wszystkie objawy CIP zostały zredukowane. U tych zwierząt ostry naciek zapalny tkanki trzustkowej i wakuolizacja komórek trzustkowych zostały znamienne statystycznie zmniejszone. Także masa trzustki, osoczowa aktywność lipazy i α -amylazy, podobnie jak osoczowe stężenie IL-1 β i IL-6 zostały znacznie zmniejszone, natomiast osoczowe stężenie przeciwzapalnej IL-10 istotnie

statystycznie wzrosło u tych zwierząt w porównaniu do grupy kontrolnej, otrzymującej sól fizjologiczną we wczesnym okresie życia. Spadek stężenia trzustkowego SOD wywołany przez ceruleinę został odwrócony, towarzyszyła temu znamienna statystycznie redukcja MDA+4-HNE w tkance trzustkowej. Te efekty LPS pochodzenia *E. coli* lub *S. typhi* były podobne.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych 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*.

Wpływ endotoksemii wczesnego okresu życia na wydzielanie enzymów trzustkowych w wieku dorosłym

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Ocean funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki u zwierząt dorosłych poddanych we wczesnym okresie życia uprzedniemu chronicznemu wpływowi LPS.

Osiągnięcia poznawcze:

1. Wydzielanie amylazy trzustkowej pobudzane przez ceruleinę lub odprowadzenie soku trzustkowego na zewnątrz w porównaniu do grupy kontrolnej uległo znamiennej i dawkozależnej redukcji u dorosłych zwierząt poddanych we wczesnym okresie życia uprzedniemu chronicznemu wpływowi LPS. U tych szczurów wydzielanie podstawowe nie uległo zmianie.
2. U szczurów poddanych we wczesnym okresie życia uprzedniemu działaniu LPS, uwalnianie amylazy z izolowanych pęcherzyków trzustkowych znamienne statystycznie spadło, w porównaniu do grupy kontrolnej bez LPS. Towarzyszyła temu dawkozależna redukcja sygnału mRNA receptora CCK1 na pęcherzykach trzustkowych. Endotoksemia wieku noworodkowego nie wpłynęła znamienne na morfologię trzustki, podobnie jak na osoczowy poziom amylazy u dorosłych szczurów.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych 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*.

Rola GH w przebiegu ostrego zapalenia trzustki; udział SN

GH (Somatotropina), jest syntetyzowany i wydzielany z przedniego płata przysadki mózgowej, bierze udział w kontroli procesów metabolicznych organizmu i pobudza proliferację komórek i regeneracją tkanek w wielu narządach, w tym w przewodzie pokarmowym i trzustce [1, 2]. Wydzielanie GH jest pobudzane przez GHRL i stymuluje produkcję insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (ang. *Insulin – Like Growth Factor 1* – IGF-1, *Somatomedin C*), który hamuje rozwój OZT [2, 3]. SN biorą udział w ochronie tkanki trzustkowej przed ostrym zapaleniem [4].

Piśmiennictwo:

- [1] Forhman L.A., Kineman R.D. Growth hormone-releasing hormone: discovery, regulation and actions, in: Kostyo J.L., Goodman H.M. (Eds.), *Handbook of Physiology, section 7, The Endocrine System, Vol. V: Hormonal Control of Growth*, Oxford University Press, American Physiological Society, New York, 1999, pp. 187–219.
- [2] Blum W.F., Albertsson-Wikland K., Rosberg S., Ranke M.B. Serum levels of insulin –like growth factor I (IGF-I) and IGF binding protein 3 reflect spontaneous growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76(6):1610–1616.
- [3] Warzecha Z., Dembinski A., Ceranowicz P., Konturek S.J., Tomaszewska R., Stachura J., Konturek P.C. IGF-1 stimulates production of interleukin-10 and inhibits development of caerulein-induced pancreatitis. *J Physiol Pharmacol.* 2003;54(4):575–90.
- [4] Jaworek J., Bonior J., Leja-Szpak A., Nawrot K., Tomaszewska R., Stachura J., Pawlik W.W., Konturek S.J. Sensory nerves in central and peripheral control of pancreatic integrity by leptin and melatonin. *J Physiol Pharmacol.* 2002;53(1):51–74.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Porównanie efektów centralnego i obwodowego podania GH na przebieg CIP oraz
- B. Zbadanie udziału SN i enzymu antyoksydacyjnego; SOD w tych efektach.

Osiągnięcia poznawcze:

1. CIP manifestowało się wzrostem masy trzustki, potwierdzonym w ocenie histologicznej oraz zwiększeniem osoczowej aktywności amylazy i lipazy, a także redukcją aktywności SOD w trzustce.
2. Podanie GH, zarówno obwodowe, jak i centralne, przed infuzją ceruleiny w sposób istotny statystycznie osłabiło uszkodzający wpływ CIP i zmniejszyło zmiany histologiczne. Towarzyszyły temu znaczna, istotna statystycznie redukcja osoczowej aktywności amylazy i lipazy oraz wzrost aktywności SOD w tkance trzustkowej, w porównaniu do wartości otrzymanych u szczurów z CIP.
3. CD SN całkowicie odwróciła dobroczynny efekt centralnego i obwodowego podania GH w przebiegu CIP.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- C. Zbadanie efektu dootrzewnowego podania egzogenego GH szczurom na przebieg CIP oraz
- D. Ocena udziału SN i IGF-1 w efekcie GH w przebiegu CIP.

Osiągnięcia poznawcze:

- 4. CIP zostało potwierdzone w badaniu histologicznym i manifestowało się istotnym statystycznie wzrostem wagi trzustki i osoczowej aktywności lipazy, TNF- α i IL-10, podczas gdy stężenie IGF-1 we krwi zostało wyraźnie zredukowane.
- 5. Zastosowanie GH przed podaniem ceruleiny, spowodowało znamienne statystycznie wzrost poziomu GH, IGF-1 i IL-10 we krwi, osłabiając uszkadzające skutki CIP i redukując zmiany histologiczne u szczurów z zachowanymi SN. Towarzyszyło temu zmniejszenie osoczowej aktywności lipazy i TNF- α .
- 6. U szczurów z CIP ochronny wpływ GH na trzustkę został zniesiony w wyniku i CD SN, a stężenie IGF-1 we krwi było niskie.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Growth Hormone & IGF Research*.

Obustronna wagotomia zmniejsza ciężkość ostrego zapalenia trzustki

Trzustka jest bogato unerwiona przez włókna cholinergiczne *vagal complex*. Aktywność cholinergiczna włókien unerwiających trzustkę pochodzi z grzbietowego jądra ruchowego nerwu błędnego (ang. *Dorsal Vagal Complex* – DVC) pnia mózgu [1, 2]. Powszechnie wiadomo, że nerwy błędne biorą udział w pobudzeniu czynności zewnątrzwydzielniczej trzustki [2–4].

Piśmiennictwo:

- [1] Mussa BM, Verberne AJ. Activation of the dorsal vagal nucleus increases pancreatic exocrine secretion in the rat. *Neurosci Lett*. 2008;433(1):71–76.
- [2] Singer MV, Niebergall-Roth E. Secretion from acinar cells of the exocrine pancreas: role of enteropancreatic reflexes and cholecystokinin. *Cell Biol Int*. 2009;33(1):1–9.
- [3] Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature*. 2002;420(6917):853–859.
- [4] Owyang C, Logsdon CD. New insights into neurohormonal regulation of pancreatic secretion. *Gastroenterology*. 2004;127(3):957–969.

Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Ocena wpływu obustronnej wagoTomii (ang. *Bilateral Vagotomy* – BV) w przebiegu CIP u szczura.

Osiągnięcia poznawcze:

1. CIP manifestowało się obrzękiem i nacieczeniem neutrofilii tkanki trzustkowej, któremu towarzyszył istotny statystycznie wzrost aktywności lipazy i stężenia IL-10 w surowicy krwi oraz trzustkowego stężenia MDA+4-HNE. Aktywność trzustkowej peroksydazy glutationowej (ang. *Glutathione Peroxidase* – GPX) i TPK uległy redukcji.
2. U zwierząt wagoTomizowanych z CIP aktywność lipazy w surowicy krwi oraz trzustkowe stężenie MDA+4-HNE były niższe, podczas gdy stężenie IL-10 i trzustkowa aktywność GPx, jak również TPK były znamienne statystycznie wyższe w porównaniu do szczurów z CIP i z zachowanymi nerwami błędnymi. U zwierząt z CIP i BV wykazano istotną statystycznie redukcję zmian w obrazie histologicznym.

Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione na wielu międzynarodowych konferencjach naukowych oraz opublikowane w czasopiśmie o zasięgu światowym, takim jak: *Advances in Medical Sciences* a także w *Monograph – Interdisciplinary Research Nursing Past and Present*.

Dynamika aktywacji systemu szoku cieplnego w komórkach Monomac 6 w odpowiedzi na zakażenie *Helicobacter pylori*

Układ immunologiczny jest uważany za kluczowy element biorący udział w rozwoju zapalenia żołądka w odpowiedzi na kolonizację jego błony śluzowej przez *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Zakażenie prowadzi do aktywacji monocytów, neutrofilii lub limfocytów i infiltracji śluzówki [1]. To bardzo często może być naturalną konsekwencją pojawienia się bakteryjnych immunomodulatorów wydzielanych przez *H. pylori*, takich jak enzymy bakteryjne lub białko aktywujące neutrofile (ang. *Neutrophil Activating Protein* – NAP) [2–4]. Komórki nabłonkowe, w odpowiedzi na toksyny bakteryjne VacA i CagA aktywnie wprowadzone przez bakterie do wnętrza komórek, także podejmują produkcję cytokin prozapalnych i chemokin, prowadząc do rekrutacji odpornościowych komórek efektorowych i wzmocnienia odpowiedzi zapalnej [5–9]

Piśmiennictwo:

- [1] Betten A, Bylund J, Christophe T, Boulay F, Romero A, Hellstrand K, Dahlgren C. A proinflammatory peptide from *Helicobacter pylori* activates monocytes to induce lymphocyte dysfunction and apoptosis. *J Clin Invest* 2001;108:1221–1228.
- [2] Wiese M, Eljaszewicz A, Andryszczyk M, Gronek S, Gackowska L, Kubiszewska I, Kaszewski W, Helmin-Basa A, Januszewska M, Motyl I, Wieczynska J, Michalkiewicz J. Immunomodulatory effects of *Lactobacillus plantarum* and *Helicobacter pylori* CagA+ on the expression of selected superficial molecules on monocyte and lymphocyte and the synthesis of cytokines in whole blood culture. *J Physiol Pharmacol* 2012;63:217–224.
- [3] Cappon A, Babolin C, Segat D, Cancian L, Amedei A, Calzetti F, Cassatella MA, D'Elios MM, de Bernard M. *Helicobacter pylori* derived neutrophil-activating protein increases the lifespan of monocytes and neutrophils. *Cell Microbiol* 2010;12:754–764.
- [4] Polenghi A, Bossi F, Fischetti F, Durigutto P, Cabrelle A, Tamassia N, Cassatella MA, Montecucco C, Tedesco F, de Bernard M. The neutrophilactivating protein of *Helicobacter pylori* crosses endothelia to promote neutrophil adhesion in vivo. *J Immunol* 2007;178:1312–1320.
- [5] Cover TL, Blanke SR. *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nat Rev Microbiol* 2005;3:320–332.
- [6] Ferrand J, Lehours P, Schmid-Alliana A, Megraud F, Varon C. *Helicobacter pylori* infection of gastrointestinal epithelial cells in vitro induces mesenchymal stem cell migration through an NF-κB dependent pathway. *PLoS One* 2011;6:e29007.
- [7] Ding H, Zeng H, Huang L, Dong Y, Duan Y, Mao X, Guo G, Zou Q. *Helicobacter pylori* chaperone-like protein Cag T plays an essential role in the translocation of Cag A into host cells. *J Microbiol Biotechnol* 2012;22:1343–1349.
- [8] Sekiguchi F, Matsumoto Y, Maeda Y, Tsubota-Matsunami M, Nishikawa H, Kawabata A. Biological activity of *Helicobacter pylori* components in mammalian cells: is it independent of proteinase-activated receptors? *J Physiol Pharmacol* 2012;63:571–576.
- [9] Tsai HF, Hsu PN. Interplay between *Helicobacter pylori* and immune cells in immune pathogenesis of gastric inflammation and mucosal pathology. *Cell Mol Immunol* 2010;7:255–259.

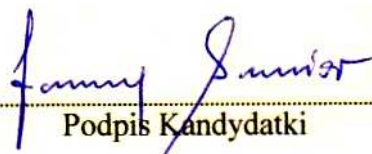
Poszczególne etapy badań obejmowały:

- A. Zbadanie wpływu aktywacji HSP70 w odpowiedzi na zakażenie *H. pylori* w komórkach Monomac 6; udział czynnika szoku cieplnego 1 (ang. *Heat Shock Factor 1* – HSF-1).

Osiągnięcia poznawcze:

1. Zakażenie komórek Monomac 6 *H. pylori* spowodowało translokację całej zawartości komórkowej HSP70 do cytoplazmy, gdzie ich obecność może chronić komórki przed toksycznymi produktami wchłoniętych bakterii i przedwczesną apoptozą.
2. W tym samym czasie zauważono translokację jądrową HSF-1 i aktywację transkrypcji genu HSP70. Działanie HSP70 może odraczać apoptozę monocytów poprzez ochronę białek cytoplazmatycznych i jądrowych przed szkodliwym wpływem produktów bakteryjnych, co może być mechanizmem chroniącym przed stresem toksycznym powodowanym wchłonięciem bakterii i zapewnić komórkom odpornościowym wystarczającą ilość czasu wymaganą do neutralizacji bakterii z fagosomów, nawet kosztem chwilowego braku ochrony białek jądrowych.

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



Podpis Kandydatki