

1. Imię i nazwisko

Anna Winiarska-Mieczan

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

2001r. – doktor nauk rolniczych; Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt Akademii Rolniczej w Lublinie; tytuł pracy „Skład chemiczny i użyteczność paszowa nasion lędźwianu siewnego w żywieniu tuczników”; promotor: Prof. dr hab. Eugeniusz R. Grela; praca oraz obrona zostały wyróżnione nagrodą Rektora AR w Lublinie

1996r. – magister inżynier zootechniki; Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt Akademii Rolniczej w Lublinie; tytuł pracy „Efektywność śrut zbożowych w żywieniu ślimaków”; promotor: Prof. dr hab. Eugeniusz R. Grela

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2010 – obecnie: adiunkt w Zakładzie Bromatologii i Fizjologii Żywienia Instytutu Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

2001 - adiunkt w Instytucie Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

1996 - 2001: asystent w Instytucie Żywienia Zwierząt, Akademia Rolnicza w Lublinie

4. Wskazanie osiągnięcia naukowego wynikającego z art. 16 ust. 2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 505 ze zm.):

- a) **Tytuł osiągnięcia naukowego:** Podstawą do ubiegania się o tytuł doktora habilitowanego jest cykl siedmiu publikacji (**IF = 12.002; MNiSW = 145**) opatrzony tytułem:

Ochronny wpływ kwasu taninowego na organizm ekspozowany na Cd i Pb – badania modelowe na szczurach

b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

[1] **Winiarska-Mieczan A.**, 2014. Cumulative rate and distribution of Cd and Pb in the organs of adult male Wistar rats during oral exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(3), 751-760. doi: 10.1016/j.etap.2014.08.016

[**IF** 2014 = **2.084; MNiSW = 20**]

[2] **Winiarska-Mieczan A.**, Kwiecień M., 2015. The effect of exposure to Cd and Pb in the form of a drinking water or feed on the accumulation and distribution of these metals in

the organs of growing Wistar rats. Biological Trace Element Research. doi: 10.1007/s12011-015-0414-4

[IF₂₀₁₄ = 1.748; MNiSW = 15]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczenia, doborze metod analitycznych, współudziale w przeprowadzeniu analiz chemicznych, analizie wyników, interpretacji wyników, napisaniu publikacji. Opracowałam także odpowiedzi na uwagi recenzentów. Mój udział szacuję na 80%.

[3] Winiarska-Mieczan A., 2013. Protective effect of tannic acid on the brain of adult rats exposed to cadmium and lead. Environmental Toxicology and Pharmacology, 36(1), 9-18. doi: 10.1016/j.etap.2013.02.018

[IF₂₀₁₃ = 1.862; MNiSW = 20]

[4] Winiarska-Mieczan A., Krusiński R., Kwiecień M., 2013. Tannic acid influence on lead and cadmium accumulation in the hearts and lungs of rats. Advances in Clinical and Experimental Medicine, 22(5), 615-620.

[IF₂₀₁₃ = 0.333; MNiSW = 15]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczenia, doborze metod analitycznych, współudziale w przeprowadzeniu analiz chemicznych, analizie wyników, interpretacji wyników, napisaniu publikacji. Opracowałam także odpowiedzi na uwagi recenzentów. Mój udział szacuję na 80%.

[5] Winiarska-Mieczan A., 2015. The potential protective effect of green, black, red and white tea infusions against adverse effect of cadmium and lead during chronic exposure - A rat model study. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 73(2), 521-529. doi: 10.1016/j.yrtph.2015.10.007

[IF₂₀₁₄ = 2.031; MNiSW = 30]

[6] Tomaszewska E., Winiarska-Mieczan A., Dobrowolski P., 2015. Hematological and serum biochemical parameters of blood in adolescent rats and histomorphological changes in the jejunal epithelium and liver after chronic exposure to cadmium and lead in the case of supplementation with green tea vs black, red or white tea. Experimental and Toxicologic Pathology, 67, 331-339. doi:10.1016/j.etp.2015.02.005

[IF₂₀₁₄ = 1.860; MNiSW = 25]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczenia, współudziale w analizie i interpretacji wyników, współudziale w

opracowaniu części graficznej, znaczącym udziale w napisaniu rozdziałów Wstęp, Materiał i metody oraz Omówienie wyników. Miałam znaczący udział w opracowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Mój udział szacuję na 45%.

[7] Tomaszewska E., **Winiarska-Mieczan A.**, Dobrowolski P., 2015. The lack of protective effects of tea supplementation on liver and jejunal epithelium in adult rats exposed to cadmium and lead. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(3), 708-714. doi:10.1016/j.etap.2015.09.002.

[IF₂₀₁₄ = 2.084; MNiSW = 20]

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczenia, współudziale w analizie i interpretacji wyników, współudziale w opracowaniu części graficznej, znaczącym udziale w napisaniu rozdziałów Wstęp, Materiał i metody oraz Omówienie wyników. Ponadto jestem autorem korespondencyjnym i miałam znaczący udział w opracowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów. Mój udział szacuję na 45%.

Ogółem mój dorobek publikacyjny obejmuje 67 prac opublikowanych, w tym

- 21 publikacji w czasopismach z listy JCR (łącznie **IF = 23.845, MNiSW = 387**)*
- 43 publikacje w czasopismach punktowanych bez IF (**MNiSW = 226**)*
- 1 rozdział w monografii
- 2 instrukcje wdrożeniowe

Ogólna liczba punktów wynosi **613, IF = 23.845**

* wg roku publikacji

c) Omówienie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Wprowadzenie

Obecność metali toksycznych w żywności jest problemem globalnym. Najważniejszym źródłem metali toksycznych dla człowieka jest żywność pochodzenia roślinnego, szczególnie produkty zbożowe [EFSA, 2012a; EFSA, 2012b], głównie z uwagi na to, że stanowią podstawę wyżywienia na całym świecie i są spożywane w największych ilościach. Wprawdzie według dostępnej literatury oraz badań własnych zawartość Cd i Pb w żywności zwykle nie przekracza norm, jednak z uwagi na to, że metale te mają zdolność do kumulowania się w tkankach i mają długi okres półtrwania [Tong i wsp., 2000; Higazy i wsp., 2010], stałe dostarczanie ich nawet w niewielkich ilościach jest niebezpieczne. W 2012 roku EFSA obniżyła dopuszczalny poziom pobrania Cd i Pb. Dla Cd wyznaczono

wartość TWI (Tolerable Weekly Intake) na poziomie 2.5 µg/kg masy ciała/tydzień (0.36 µg/kg masy ciała/dzień) [EFSA, 2012a], natomiast dla Pb - BMDL (Benchmark Dose Lower Confidence Limit) na poziomie: BMDL₀₁ 0.5 µg/kg masy ciała/dzień u dzieci oraz BMDL₀₁ – 1.5 µg/kg masy ciała/dzień i BMDL₁₀ 0.63µg/kg masy ciała/dzień u dorosłych [EFSA, 2012b].

Nie istnieją skuteczne sposoby obniżania koncentracji Cd i Pb w żywności, człowiek jest więc narażony na stałe pobieranie tych metali. Podejmowane są jednak badania, które mają na celu opracowanie sposobów ograniczenia toksycznego wpływu Cd i Pb na organizm poprzez chelatowanie tych metali przez składniki pożywienia (co ogranicza ich wchłanianie do tkanek) lub zwiększanie pojemności oksydacyjnej organizmu (co zmniejsza prawdopodobieństwo indukowania uszkodzeń oksydacyjnych w narządach). Dotychczas stwierdzono pozytywny wpływ m.in. witaminy E, witaminy C, rutyny oraz kurkuminy [Al-Attar 2011; Mirani i wsp., 2012; Tarasub i wsp., 2012]. Niewiele jest natomiast dostępnych wyników dotyczących polifenoli, które bardzo często występują w sposób naturalny w żywności pochodzenia roślinnego, szczególnie w napojach, a więc są łatwo dostępne i mogą być powszechnie stosowane. Polifenole, w tym kwas taninowy, posiadają silne właściwości przeciwutleniające, co przejawia się m.in. tym, że chelatują metale prooksydacyjne, katalizujące reakcje utlenienia [El-Sayed i wsp., 2006]. Według Sánchez-Moreno i wsp. [2000], taniny są lepszymi przeciwutleniaczami niż inne powszechnie stosowane antyoksydanty, np. witamina C i E.

Z praktycznego żywieniowego punktu widzenia ważne jest zbadanie produktów spożywczych zawierających znaczne ilości składników antyoksydacyjnych, aby można było stosować je w codziennej diecie w celu przeciwdziałania szkodliwemu wpływowi metali toksycznych na organizm człowieka. W dostępnej literaturze pozytywne wyniki stwierdzono m.in. w przypadku czosnku, miodu, rozmarynu oraz herbaty zielonej [Abdel-Moneim i Ghafeer, 2007; Abd El Kader i wsp., 2012; Hamed i wsp., 2010; Padalko i wsp., 2012]. Herbata zasługuje na szczególną uwagę, ponieważ jest napojem najbardziej popularnym na świecie, oprócz wody [Hicks, 2009]. W dostępnej literaturze występuje bardzo duża liczba publikacji opisujących ochronny wpływ herbaty zielonej u zwierząt laboratoryjnych eksponowanych na Cd i Pb, nie są dostępne jednak wyniki badań dotyczących innych rodzajów herbat, np. najpopularniejszej w Polsce i na świecie herbaty czarnej. Herbata zawiera szereg substancji o działaniu przeciwutleniającym i mających zdolność do chelatowania metali, m.in. kwas taninowy [Savolainen, 1992], katechiny [Zaveri, 2006] oraz kwercetynę [Chen i wsp., 2009].

Celem badań było sprawdzenie, czy możliwe jest ograniczenie kumulowania Cd i Pb w tkankach oraz zmniejszenie niekorzystnego wpływu tych metali toksycznych na organizm za pomocą metod żywieniowych. W związku z tym postawiono następujące **hipotezy badawcze:**

(H1) Kwas taninowy, jako bardzo silny przeciwutleniacz, ograniczy kumulowanie Cd i Pb w tkankach oraz toksyczny wpływ tych metali na organizm

(H2) Regularne spożywanie herbaty spowoduje osłabienie toksycznego wpływu Cd i Pb na organizm

Weryfikacja poszczególnych hipotez obejmowała:

Ad. (H1)

(a) zbadanie stopnia kumulowania Cd i Pb w poszczególnych organach i tkankach szczurów dorosłych i młodych (rosnących) podczas doustnej ekspozycji pojedynczej i złożonej;

(b) wpływ roztworów kwasu taninowego o różnych stężeniach na stopień kumulowania Cd i Pb w tkankach szczurów podczas ekspozycji pojedynczej i złożonej;

(c) wpływ roztworów kwasu taninowego na aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i katalazy (CAT) podczas ekspozycji pojedynczej i złożonej na Cd i Pb.

Ad. (H2)

(a) zbadanie stopnia kumulowania Cd i Pb (ekspozycja złożona) w tkankach szczurów otrzymujących do picia herbatę czarną, zieloną, czerwoną i białą;

b) zbadanie wpływu herbaty na aktywność antyoksydantów egzogennych SOD, CAT i GPx (peroksydaza glutationowa) oraz poziom GSH (glutation) u szczurów eksponowanych na Cd i Pb w postaci paszy;

(c) zbadanie wpływu herbaty na histomorfologię jelit i wątroby, aktywność enzymatyczną wątroby oraz wskaźniki morfologiczne i biochemiczne krwi u szczurów eksponowanych na Cd i Pb w postaci paszy.

Opis i założenia badań

Badania wykonano z użyciem modelu zwierzęcego (szczury) (pozwolenie nr 1/2011 wydane przez II Lokalną Komisję Etyczną przy Uniwersytecie Przyrodniczym w

Lublinie). Dorosłe (wiek 12 tyg., m.c. ok. 330 g) oraz rosnące (wiek 6 tyg., m.c. ok. 210 g) szczury zakupiono w Centrum Medycyny Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (Nr 6/2003). Szczury były przetrzymywane pojedynczo w propylenowych klatkach o wymiarach 380 x 200 x 590 mm, w pomieszczeniu o temp. $21 \pm 3^{\circ}\text{C}$, wilgotności powietrza $55 \pm 5\%$, z 12-godzinnym cyklem dziennym. Pierwszy tydzień przeznaczony był na aklimatyzację szczurów, doświadczenia trwały 6 lub 12 tygodni. Zwierzęta miały nieograniczony dostęp do paszy oraz wody i/lub roztworów doświadczalnych. Pomimo, że szczury nie są doskonałym modelem dla człowieka w przypadku badania czynników toksycznych lub potencjalnie niebezpiecznych dla człowieka są używane najczęściej, dotyczy to również toksyczności metali [Benito et al. 2011; Brzóska, 2012] oraz możliwego działania prewencyjnego i terapeutycznego [Al-Rejaie i wsp., 2013].

Przyjęto, że źródłem Cd i Pb powinno być pożywienie, ponieważ z nim właśnie człowiek przyjmuje najwięcej metali toksycznych. Dawki Cd i Pb, na które eksponowano szczury w prezentowanych doświadczeniach (7 mg Cd oraz/lub 50 mg Pb podawane z wodą lub paszą), nie przekraczały wartości wskazywanych jako odpowiadające ekspozycji człowieka w warunkach narażenia, ponieważ w naturalnych warunkach rzadko występuje toksyczne stężenie Cd i Pb. Według Brzóska i wsp. [2003] podawanie szczurom wodnych roztworów Cd zawierających 50 mg/L odpowiada narażeniu człowieka palącego papierosy. Martynowicz i wsp. [2004] stwierdzili, że w krwi szczurów eksponowanych doustnie na roztwór wodny zawierający 50 mg Cd/L znajduje się podobna ilość Cd jak we krwi ludzi eksponowanych na ten metal w warunkach zwiększonego narażenia. Według Moniuszko-Jakoniuk i wsp. [2003] oraz Jurczuk i wsp. [2003] podawanie szczurom do picia wodnych roztworów Pb zawierających 500 mg Pb/L odpowiada wielkością narażeniu zawodowemu człowieka, o czym świadczy fakt, że osoby narażone zawodowo na kontakt z ołowiem miały zbliżoną koncentrację Pb w krwi do szczurów doświadczalnych.

Narzędem krytycznym dla toksycznego działania Cd i Pb jest mózg, dlatego w prezentowanych badaniach szczególną uwagę zwrócono na ten organ. Chroniczna ekspozycja na Cd i Pb powoduje uszkodzenie mózgu wskutek stresu oksydacyjnego [Adonaylo i Oteiza, 1999; Flora i wsp., 2008]. Powodem jest duże zużycie tlenu, duża zawartość lipidów, a także stosunkowo mała zawartość enzymów antyoksydacyjnych w tym organie. Szczególnie istotne zmiany aktywności enzymów antyoksydacyjnych obserwuje się w mitochondriach mózgu, które są głównym źródłem anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenu wodoru [Tian i wsp., 1998]. Wątroba jest z kolei jednym z

głównych organów odpowiedzialnych za detoksykację w organizmie. Długotrwała ekspozycja na Cd i Pb prowadzi do nadmiernej kumulacji tych metali w wątrobie i jej uszkodzenia, które może prowadzić do martwicy [Salińska i wsp., 2012].

Jako czynniki chroniące organizm przed toksycznym wpływem Cd i Pb zastosowano kwas taninowy (jeden z najsilniejszych przeciwutleniaczy, jakie naturalnie występują w żywności i napojach) oraz herbatę, która jest najpopularniejszym wśród ludzi napojem bogatym w przeciwutleniacze, w tym kwas taninowy. Aby sprawdzić, czy dorosłe szczury będą chętnie spożywały napary herbat przeprowadzono doświadczenie, w którym szczurom podawano napary (1 saszetka herbaty : 200 ml wody destylowanej, zaparzone w 90 °C przez 5 min.) jako jedyne źródło napoju przez 7 dni. Doświadczenie wykazało, że szczury bardzo niechętnie spożywały serwowane napary herbat (ok. 12 mL/dobę vs ok. 25 mL/ dobę w grupie otrzymującej wodę pitną), spożycie paszy nie przekraczało 10 g / dzień, a w konsekwencji ich masa ciała obniżyła się o około 15 % w porównaniu do masy początkowej. Przyczyną niskiego spożycia naparów mógł być zbyt cierpki smak, niezbyt chętnie akceptowany przez szczury. W związku z uzyskanymi wynikami doświadczenia nie kontynuowano. Badania niektórych autorów wykazały, że za cierpki smak napojów najsilniej odpowiedzialny jest kwas taninowy [Hagerman i wsp., 1998; Valentova i wsp., 2002], w związku z czym przeprowadzono doświadczenie, mające na celu sprawdzenie, jakie stężenie wodnego roztworu kwasu taninowego będzie najchętniej spożywane przez dorosłe szczury. Wykazano, że szczury najchętniej spożywały roztwory zawierające 2% kwasu taninowego. W związku z tymi obserwacjami postanowiono, że doświadczone roztwory herbat będą rozcieńczone w ten sposób, że będą zawierały kwas taninowy stężeniu w 2%.

Wyniki

Hipoteza H1 - Kwas taninowy ogranicza wchłanianie Cd i Pb w tkankach oraz toksyczny wpływ tych metali na organizm

- (a) Zbadanie stopnia kumulowania Cd i Pb w poszczególnych organach i tkankach szczurów dorosłych i młodych (rosnących) podczas doustnej ekspozycji pojedynczej i złożonej.

Weryfikację hipotezy H1(a) przedstawiono w pracach:

[1] Winiarska-Mieczan A., 2014. *Cumulative rate and distribution of Cd and Pb in the organs of adult male Wistar rats during oral exposure. Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(3), 751-760.

[2] Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., 2015. *The effect of exposure to Cd and Pb in the form of a drinking water or feed on the accumulation and distribution of these metals in the organs of growing Wistar rats. Biological Trace Element Research*, doi: 10.1007/s12011-015-0414-4

Celem badań było porównanie stopnia kumulowania Cd i Pb w mózgu, śledzionie, płucach, sercu, wątrobie i nerkach młodych (rosnących) i dorosłych szczurów Wistar podczas doustnej ekspozycji pojedynczej (Cd lub Pb) oraz złożonej (Cd + Pb). Metale podawano w postaci wody do picia lub paszy *ad libitum*. Zbadano trzy czynniki: (1) rodzaj ekspozycji - pojedyncza (Cd lub Pb) lub złożona (Cd + Pb), (2) źródło metali – napoje lub pasza oraz (3) długość okresu ekspozycji - 6 lub 12 tygodni.

Wyniki: W organach szczurów dorosłych gromadziło się w sumie 0,35 - 0,48 % Cd i 0,43 - 0,6 % Pb pobranego w napojach, natomiast podczas ekspozycji w postaci paszy 0,43 - 0,5 % Cd i 0,52 - 0,64 % Pb pobranego w paszy. Podczas ekspozycji pojedynczej całkowity stopień kumulowania Cd i Pb w badanych tkankach był istotnie wyższy niż podczas ekspozycji złożonej. Podczas złożonej ekspozycji na Cd i Pb w postaci napojów stopień kumulowania metali w narządach był na ogół niższy niż podczas ekspozycji pojedynczej, natomiast w przypadku podawania metali w postaci paszy stwierdzono wyższy ogólny stopień kumulowania Cd i Pb niż podczas ekspozycji pojedynczej. Najwięcej Cd i Pb gromadziło się w organach podczas pierwszych tygodni ekspozycji, następnie tempo akumulacji zmniejszało się. Stopień dystrybucji Cd w organach można przedstawić schematycznie jako: wątroba > nerki > mózg > płuca, następnie serce > śledziona (ekspozycja pojedyncza) lub śledziona > serce (ekspozycja złożona). Zależność pomiędzy stopniem kumulowania w narządach Pb, niezależnie od sposobu ekspozycji, można przedstawić jako: wątroba > nerki > mózg > płuca > serce > śledziona. Stwierdzono, że jednoczesna ekspozycja na niskie dawki Cd i Pb dostarczane z żywnością jest znacznie bardziej niebezpieczna (stopień kumulowania) niż na te metale dostarczane z wodą.

W organach szczurów młodych (mózg, śledziona, płuca, serce, wątroba, nerki) gromadziło się w sumie około 0,5 % Cd i około 0,71 % Pb spożytego przez szczury wraz z wodą oraz około 0,46 % Cd i około 0,63 % Pb pobranego z paszą. Ponad 60 %

wchłoniętego do badanych organów Cd i ponad 70 % Pb kumulowało się w wątrobie, powyżej 30 % Cd i 26 – 29 % Pb w nerkach, natomiast w pozostałych organach wartości te nie przekraczały 1 %. Zależność pomiędzy procentową dystrybucją Cd w badanych organach można przedstawić jako: wątroba > nerki > mózg > płuca > serce > śledziona. W przypadku Pb zależność tą można przedstawić następująco: wątroba > nerki > mózg > śledziona > serce > płuca. Więcej ($P < 0.05$) Cd i Pb gromadziło się w sumie w organach szczurów otrzymujących ten metal w postaci wody. Dodatkowo w prezentowanych badaniach zanotowano różnice pomiędzy dystrybucją Cd i Pb w niektórych organach podczas ich podawania pojedynczo (Cd lub Pb) oraz łącznie (Cd + Pb - ekspozycja złożona).

Znaczenie badań: W prezentowanych pracach **po raz pierwszy** przedstawiono wyniki dotyczące **stopnia kumulowania i dystrybucji Cd i Pb w organach** szczurów młodych i dorosłych podczas ekspozycji na dawki niższe niż wartości wskazywane jako odpowiadające ekspozycji człowieka w warunkach narażenia, co może być przydatne podczas szacowania stopnia kumulowania tych metali toksycznych w organach ludzi. **Po raz pierwszy również** wykazano, że u szczurów dorosłych **przyjmowanie nietoksycznych ilości Cd i Pb w postaci pożywienia jest bardziej niebezpieczne dla organizmu (wyższy stopień kumulowania) niż podczas przyjmowania ich z napojami**, podczas gdy u szczurów młodych **bardziej niebezpieczna jest ekspozycja na Cd i Pb w postaci wody**. Według mnie **poznanie tego zagadnienia jest ważne**, ponieważ **toksyczny wpływ Cd i Pb na organizm zwierząt i człowieka jest bezpośrednio zależny od ich stężenia w organizmie**, co wynika z faktu, że oba metale wykazują podobne działanie, którego efekty mogą się kumulować.

(b) Wpływ roztworów kwasu taninowego o różnych stężeniach na stopień kumulowania Cd i Pb w tkankach szczurów podczas ekspozycji pojedynczej i złożonej oraz (c) Wpływ roztworów kwasu taninowego na aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i katalazy (CAT) podczas ekspozycji pojedynczej i złożonej na Cd i Pb.

Weryfikację hipotezy H1(b, c) przedstawiono w pracach:

[1] Winiarska-Mieczan A., 2013. *Protective effect of tannic acid on the brain of adult rats exposed to cadmium and lead. Environmental Toxicology and Pharmacology, 36, 9-18.*

[2] Winiarska-Mieczan A., Krusiński R., Kwiecień M., 2013. *Tannic acid influence on lead and cadmium accumulation in the hearts and lungs of rats. Advances in Clinical and Experimental Medicine, 22(5), 615-620.*

Celem badań było: (1) określenie poziomu kwasu taninowego, który najbardziej efektywnie ogranicza niekorzystny wpływ Cd i Pb na mózg dorosłych samców szczurów podczas ekspozycji złożonej (*doświadczenie 1*) oraz (2) sprawdzenie, czy dany poziom kwasu taninowego działa bardziej efektywnie w stosunku do kadmu czy ołowiu w sytuacji, gdy metale te podawane będą oddzielnie w wodnych roztworach do picia (*doświadczenie 2*) – badanie mózgu, serca i płuc.

Wyniki: Wykazano, że podawanie do picia roztworu kwasu taninowego we wszystkich badanych stężeniach spowodowało istotne ($P < 0.05$) obniżenie stopnia kumulowania Cd w mózgu dorosłych szczurów poddanych ekspozycji na Cd oraz Pb w ilościach nie przekraczających narażenia środowiskowego człowieka. Jednocześnie stwierdzono, że zastosowanie 2% roztworu kwasu taninowego było najbardziej efektywnym sposobem ograniczenia kumulowania tych metali w mózgu, choć w przypadku Pb wpływ kwasu taninowego nie został potwierdzony statystycznie. Efektywność działania kwasu taninowego zwiększała się wraz z wydłużaniem się czasu trwania doświadczenia. Redukcja koncentracji Cd w mózgu była wyższa w przypadku jednoczesnej ekspozycji na Cd i kwas taninowy (*doświadczenie 1*) niż przy naprzemiennym stosowaniu tych czynników (*doświadczenie 2*). Nie bez znaczenia może być również fakt, że w *doświadczeniu 1* Cd był podawany wraz z paszą a kwas taninowy w postaci napoju (ekspozycja równoczesna), natomiast w *doświadczeniu 2* zarówno Cd jak i kwas taninowy były podawane w formie napojów (naprzemiennie co 7 dni, ekspozycja nie równoczesna). Zastosowanie 2% roztworu kwasu taninowego naprzemiennie z Pb lub Cd okazało się skutecznym sposobem redukcji koncentracji tych metali także w sercach i płucach szczurów młodych oraz dorosłych. Korzystniejsze wyniki uzyskano po 12 tygodniach doświadczenia w porównaniu do 6 tygodni ekspozycji. Wykazano wpływ kwasu taninowego na wzrost aktywności SOD i CAT w mózgu szczurów. U szczurów otrzymujących do picia roztwór zawierający 2,5% kwasu taninowego stwierdzono niższą aktywność SOD i CAT w porównaniu do szczurów otrzymujących roztwór 2%.

Znaczenie badań: Uzyskane wyniki wskazują, że **spożywanie kwasu taninowego w postaci napojów może być skutecznym sposobem ograniczania niekorzystnego wpływu Cd i Pb na organizm**. Przejawia się to zarówno w zmniejszeniu stopnia kumulowania tych metali, jak i zmianami aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Uzyskane wyniki sugerują, że **najbardziej skuteczne jest regularne długotrwałe spożywanie** kwasu taninowego. Ponadto analizując uzyskane wyniki można przypuszczać, że **napoje zawierające kwas taninowy mogą być skuteczniejsze w ograniczaniu toksycznego wpływu Cd** wtedy, **gdy są spożywane razem z posiłkiem zanieczyszczonym Cd**, natomiast **pite pomiędzy posiłkami mogą nie być aż tak skuteczne**. W cytowanych pracach wykazano jednakże, że **zarówno zbyt niski jak i zbyt wysoki poziom kwasu taninowego był mniej efektywny** w przeciwdziałaniu niekorzystnemu wpływowi Cd i Pb na organizm. Według mnie **jest to ważne**, ponieważ może pomóc w **określeniu optymalnej ilości przeciwutleniaczy**, jaką człowiek powinien spożyć codziennie, aby **zmniejszyć ryzyko toksycznego działania Cd i Pb**.

Hipoteza H2 - Regularne spożywanie herbaty spowoduje osłabienie toksycznego wpływu tych Cd i Pb na organizm

- (a) Zbadanie stopnia kumulowania Cd i Pb (ekspozycja złożona) w tkankach szczurów otrzymujących do picia herbatę czarną, zieloną, czerwoną i białą oraz
- (b) Zbadanie wpływu herbaty na aktywność antyoksydantów egzogennych: dysmutazy nadadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy glutationowej (GPx) oraz poziom glutationu (GSH) u szczurów eksponowanych na Cd i Pb w postaci paszy

Weryfikację hipotezy H2(a, b) przedstawiono w pracy:

[1] Winiarska-Mieczan A., 2015. The potential protective effect of green, black, red and white tea infusions against adverse effect of cadmium and lead during chronic exposure – A rat model study. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 73(2), 521-529.

Celem badań było sprawdzenie, czy podawanie dorosłym szczurom do picia roztworów herbat czarnej, zielonej, czerwonej i białej spowoduje zmniejszenie wchłaniania Cd i Pb w organach (mózgu, płucach, sercu, wątrobie i nerkach) w porównaniu do szczurów otrzymujących do picia wodę destylowaną. Sprawdzone również wpływ tych herbat na aktywność CAT, SOD i GPx oraz poziom GSH.

Wyniki: Stwierdzono, że herbaty skutecznie obniżały stopień kumulowania Cd w badanych organach, mniej podatny na chelatujące działanie składników herbat był Pb. U szczurów otrzymujących herbaty zieloną, czerwoną i białą w badanych organach stwierdzono zwiększenie aktywności SOD, CAT i GPx oraz poziomu GSH w porównaniu do grupy kontrolnej. Efektywność działania herbat zwiększała się wraz z wydłużaniem się czasu trwania doświadczenia (6 vs 12 tyg.), co może wskazywać, że najbardziej skuteczne jest ciągłe, długotrwałe spożywanie tych napojów. Nie można jednoznacznie stwierdzić, która z herbat najbardziej efektywnie przeciwdziałała kumulowaniu Cd i Pb, chociaż najbardziej korzystne wyniki uzyskano w przypadku stosowania herbaty białej i zielonej.

(c) Zbadanie wpływu herbaty na histomorfologię jelit i wątroby, aktywność enzymatyczną wątroby oraz wskaźniki morfologiczne i biochemiczne krwi u szczurów eksponowanych na Cd i Pb w postaci paszy

Weryfikację hipotezy H2(c) przedstawiono w pracach:

[1] Tomaszewska E., Winiarska-Mieczan A., Dobrowolski P., 2015. *Hematological and serum biochemical parameters of blood in adolescent rats and histomorphological changes in the jejunal epithelium and liver after chronic exposure to cadmium and lead in the case of supplementation with green tea vs black, red or white tea. Experimental and Toxicologic Pathology, 67, 331-339.*

[2] Tomaszewska E., Winiarska-Mieczan A., Dobrowolski P., 2015. *The lack of protective effects of tea supplementation on liver and jejunal epithelium in adult rats exposed to cadmium and lead. Environmental Toxicology and Pharmacology, 40, 708-714.*

Celem badań było sprawdzenie, czy regularne spożywanie herbaty zielonej, czarnej, czerwonej i białej wywiera korzystny ochronny wpływ na wątrobę i jelita młodych i dorosłych szczurów eksponowanych na Cd i Pb w postaci paszy zawierającej 7 mg Cd i 50 mg Pb / kg przez 12 tygodni.

Wyniki: U osobników młodych najniższą zawartość Cd i Pb w wątrobie stwierdzono u szczurów otrzymujących herbatę białą, a także zieloną. Nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości Cd i Pb w surowicy krwi szczurów otrzymujących różne rodzaje herbat. Badanie mikroskopowe nie wykazało większych uszkodzeń w jelitach szczurów młodych otrzymujących herbaty, co świadczy o ochronnym wpływie herbat na te organy. U

szczurów dorosłych najniższy poziom Cd i Pb w wątrobie i surowicy krwi stwierdzono u szczurów otrzymujących herbatę białą i zieloną. Pomimo, że ochronny wpływ herbat na jelita oraz wątroby szczurów eksponowanych na Cd i Pb był niejednoznaczny, zauważyć należy brak negatywnych zmian w powierzchni chłonnej jelita oraz zwłóknień w strukturze wątroby, nie stwierdzono również podniesionego poziomu LDH i ALT w surowicy krwi, podwyższony poziom tych parametrów może świadczyć o uszkodzeniu komórek lub występowaniu stanów zapalnych. Na podstawie uzyskanych wyników nie można stwierdzić, która z badanych herbat w największym stopniu chroniła organizm szczura przed toksycznym wpływem Cd i Pb.

Znaczenie badań H2: W dostępnej literaturze występuje bardzo duża liczba publikacji opisujących ochronny wpływ herbaty zielonej u zwierząt laboratoryjnych eksponowanych na Cd i Pb, nie są dostępne jednak wyniki badań dotyczących innych rodzajów herbat. W związku z tym w prezentowanych badaniach **po raz pierwszy** wykazano, że również **regularne spożywanie herbaty czarnej** (najpopularniejszej na świecie i spożywanej w największych ilościach), **czerwonej** (o udokumentowanym działaniu antyaterogennym) i **białej** (najbardziej bogatej w przeciwutleniacze) **może przeciwdziałać niekorzystnemu wpływowi Cd i Pb na organizm człowieka** podczas przewlekłej ekspozycji w ilościach nie przekraczających narażenia środowiskowego. Na podstawie uzyskanych wyników nie można jednoznacznie stwierdzić, która z herbat wykazywała najbardziej efektywne działanie.

PODSUMOWANIE

Uzyskane w prezentowanych badaniach wyniki wykazały, że regularne **spożywanie kwasu taninowego w postaci napojów może być skutecznym sposobem ograniczania niekorzystnego wpływu Cd i Pb na organizm** podczas przewlekłej ekspozycji w ilościach nie przekraczających narażenia środowiskowego człowieka. Przejawia się to zarówno w zmniejszeniu stopnia kumulowania tych metali w narządach będących docelowymi dla tych metali, jak i zmianami aktywności enzymów antyoksydacyjnych. Według mnie prezentowane **badania mogą wskazać ludziom prosty i tani sposób na ograniczenie niekorzystnego wpływu na organizm Cd i Pb przyjmowanych z żywnością (herbata jest powszechnie dostępna)**, mając na uwadze fakt, że skażenie żywności Cd i Pb jest problemem globalnym, nie istnieją również sposoby skutecznie obniżające zawartość tych metali w produktach spożywczych. **Prowadzone przeze mnie**

badania okazały się interesujące również dla osób pracujących w innych jednostkach naukowych: Zakładzie Żywienia Zwierząt UP w Lublinie, Zakładzie Fizjologii Zwierząt Katedry Biochemii i Fizjologii Zwierząt UP w Lublinie oraz Zakładzie Anatomii Porównawczej i Antropologii UMCS w Lublinie. Współpraca zaowocowała publikacjami, które zostały włączone do głównego OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO, prowadzone są również dalsze wspólne badania dotyczące tego zagadnienia. Nasz zespół badawczy obecnie opracowuje metodykę doświadczeń mających na celu sprawdzenie, czy inne przeciwutleniacze obecne w herbacie podawane w formie wyizolowanej szczurom eksponowanym na dawki Cd i Pb nie przekraczające narażenia środowiskowego człowieka, będą równie skuteczne jak kwas taninowy, oraz czy kwas taninowy podawany w formie pokarmu będzie równie skuteczny jak w postaci napojów. Uzyskane wyniki zainspirowały nas również do zbadania, czy herbata oraz jej składniki aktywne będą skuteczne przy odtruwaniu organizmu, w którym Cd i Pb uległy już kumulacji.

Wykaz cytowanej literatury:

5. Abd El Kader M.A., El-Sammad N.M., Hamdy T., 2012. The protective role of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in lead acetate induced toxicity in rats. *Journal of Applied Sciences Research*, 8, 3071-3082.
6. Abdel-Moneim W.M., Ghafeer H.H., 2007. Potential protective effect of natural honey against cadmium-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 2, 75-98.
7. Adonaylo V.N., Oteiza P.I., 1999. Lead intoxication: antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain. *Toxicology* 135, 77-85.
8. Al-Attar M.A., 2011. Vitamin E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18(4), 395-401.
9. Al-Rejaie S.S., Aleisa A.M., Sayed-Ahmed M.M., Al-Shabanah O.A., Abuohashish H.M., Ahmed M.M., Al-Hosaini K.A., Hafez M.M., 2013. Protective effect of rutin on the antioxidant genes expression in hypercholesterolemic male Westar rat. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 136-144.
10. Benito B., Gay-Jordi G., Serrano-Mollar A., Guasch E., Shi Y., Tardif J.C., Brugada J., Nattel S., Mont L., 2011. Cardiac arrhythmogenic remodeling in a rat model of long-term intensive exercise training. *Circulation*, 123, 13-22.
11. Brzóska M.M., 2012. Low-level chronic exposure to cadmium enhances the risk of long bone fractures: A study on a female rat model of human lifetime exposure. *Journal of Applied Toxicology*, 32, 34-44.
12. Brzóska M.M., Moniuszko-Jakoniuk J., Pilat-Marcinkiewicz B., Sawicki B., 2003. Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol. *Alcohol and Alcoholism*, 38, 2-10.
13. Chen W., Sun S., Wei cao, Liang Y., Song J., 2009. Antioxidant property of quercetin-Cr(III) complex: The role of Cr(III) ion. *Journal of Molecular Structure*, 918, 194-197.
14. EFSA, 2012a. Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal*, 10, 2551-2588.
15. EFSA, 2012b. Lead dietary exposure in the European population. *EFSA Journal*, 10, 2831-2890.
16. El-Sayed I.H., Loffy M., El-Khawaga O.A.Y., Nasif W.A., El-Shahat M., 2006. Prominent free radicals scavenging activity of tannic acid in lead-induced oxidative stress in experimental mice. *Toxicology and Industrial Health*. 4, 157-163.
17. Flora S.J.S., Mittal M., Mehta A., 2008. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal of Medical Research*, 128, 501-523.

18. Hagerman A.E., Rice M.E., Ritchard N.T., 1998. Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin 6 (4→8) catechin (procyanidin). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2590-2595.
19. Hamed E.A., Meki A.R.M.A., El-Mottaleb N.A.A., 2010. Protective effect of green tea on lead-induced oxidative damage in rat's blood and brain tissue homogenates. *The Journal of Physiology and Biochemistry*, 66, 143-151.
20. Hicks A., 2009. Current status and future development of global tea production and tea products. *AU Journal of Technology*, 12, 251-264.
21. Higazy A., Hashem M., ElShafei A., Shaker N., Hady M.A., 2010. Development of anti-microbial jute fabrics via in situ formation of cellulose-tannic acid-metal ion complex. *Carbohydrate Polymers*, 79:890-897.
22. Jurczuk M., Moniuszko-Jakoniuk J., Brzóska M.M., Rogalska J., Roszczenko A., Kulikowska-Karpinska E., 2003. Evaluation of chosen parameters of oxidative stress in rats exposed to lead and ethanol. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12, 187-193.
23. Martynowicz H., Skoczyńska A., Wojakowska A., Turczyn B., 2004. Serum vasoactive agents in rats poisoned with cadmium. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 17, 479-485.
24. Mirani N., Nagma, Ashraf J., Siddique J., Rub A., 2012. Protective effect of rutin against cadmium induced hepatotoxicity in Swiss albino mice. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 7(3), 150-157.
25. Moniuszko-Jakoniuk J., Jurczuk M., Gałążyn-Sidorczuk M., Brzóska M.M., 2003. Lead turnover and changes in the body status of chosen micro- and macroelements in rats exposed to lead and ethanol. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12, 335-344.
26. Padalko V.I., Kozlova E., Leonova I., 2012. Protective efficacy of garlic on cadmium induced oxidative stress in young and adult rats. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, 1, 101-109.
27. Salińska, A., Włostowski, T., Zambrzycka, E., 2012. Effect of dietary cadmium and/or lead on histopathological changes in the kidneys and liver of bank voles *Myodes glareolus* kept in different group densities. *Ecotoxicology*, 21(8), 2235-4223.
28. Sánchez-Moreno C., Jiménez-Escrig A., Saura-Calixto F., 2000. Study of low-density lipoprotein oxidizability indices to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. *Nutrition Research*, 20, 941-953.
29. Savolainen H., 1992. Tannin content of tea and coffee. *Journal of Applied Toxicology*, 12, 191-192.
30. Tarasub N., Junseecha T., Tarasub Ch., Ayutthaya W.D.N., 2012. Protective effects of curcumin, vitamin C, or their combination on cadmium-induced hepatotoxicity. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 3, 273-281.
31. Tian L., Cai Q., Wei H., 1998. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 24, 1477-1484.
32. Tong S.E., von Schirnding Y.E., Prapamontol T., 2000. Environmental lead exposure a public health problem of global dimensions. *Bulletin of*, 78(9):1068-1077.
33. Valentova H., Skrovankova S., Panovska Z., Pokorny J., 2002. Time-intensity studies of astringent taste. *Food Chemistry*, 78, 29-37.
34. Zaveri N.T., 2006. Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sciences*, 78, 2073-2080.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

a) Obszary badawcze

Studia na Wydziale Zootechnicznym Akademii Rolniczej w Lublinie (obecnie Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie) rozpoczęłam

w 1991 roku. W trakcie studiów zainteresowałam się w sposób szczególny tematyką związaną z żywieniem zwierząt. W 1996 roku obroniłam pracę magisterską zrealizowaną pod kierunkiem Prof. dr hab. Eugeniusza R. Greli, dotyczyła ona opracowania receptury paszy dla ślimaków konsumpcyjnych *Helix aspersa maxima*, wyniki pracy zostały opublikowane w branżowym czasopiśmie dla producentów mięsa:

[1] Winiarska A., Grela E.R., 1997. Żywienie ślimaków w chowie zamkniętym. *Przegl. Hod.*, 3, 24-25.

Po ukończeniu studiów rozpoczęłam pracę w Instytucie Żywienia Zwierząt AR w Lublinie. W tym czasie moje zainteresowania naukowe sprecyzowały się i zajęłam się **badaniem wpływu żywienia zwierząt rzeźnych na jakość ich mięsa oraz jakość tusz**. Najważniejsze w tym etapie mojej działalności naukowej było zainteresowanie się nasionami lędźwianu siewnego (*Lathyrus sativus* L.). Lędźwian siewny jest rośliną motylkowatą, jej nasiona zawierające 20 – 36 % białka są używane w celach konsumpcyjnych oraz paszowych w krajach Afryki i Azji. Ograniczeniem w stosowaniu nasion lędźwianu jest obecność w nich substancji antyodżywczych, przede wszystkim neurotoksyny β -ODAP, w związku z czym nasiona poddaje się obróbce termicznej, np. ekstruzji. W tym czasie brałam udział jako wykonawca w realizacji grantu MNiSW nr 5 P06E 062 08 pt. „Skład chemiczny i użyteczność paszowa nasion lędźwianu siewnego w żywieniu świń”. Wyniki opublikowano w wielu pracach, m.in.:

[2] Winiarska-Mieczan A., 2003. Effect of grass pea seeds in mixtures for growing-finishing pigs on fatty acids composition of backfat. *Ann. Anim. Sci., Suppl.*, 2, 159-162.

[3] Winiarska-Mieczan A., 2010. Influence of grass pea seeds in pig diets on the fatty acid composition and sensory attributes of pork. *Medycyna Wet.*, 66(2), 113-117.

[4] Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., 2010. The effectiveness of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) seeds in pig feeding. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 34(2), 155-162.

Wyniki badań dotyczące lędźwianu siewnego prezentowałam również ustnie na kilku konferencjach naukowych. Byłam również współautorem pracy przeglądowej dotyczącej objawów i skutków latyryzmu u ludzi i zwierząt - choroby będącej efektem spożywania nadmiernej ilości termolabilnej neurotoksyny β -ODAP obecnej w nasionach lędźwianu, a także autorem pracy przeglądowej dotyczącej inhibitorów trypsyny, innego czynnika antyodżywczego obecnego w nasionach roślin strączkowych, w tym w nasionach lędźwianu siewnego.

[5] Grela E.R., Studziński T., Winiarska A., 2000. Latyryzm u ludzi i zwierząt. *Medycyna Wet.*, 56(9), 558-562.

[6] **Winiarska-Mieczan A.**, 2007. *Inhibitory trypsyny z rodziny Bowmana-Birka – budowa oraz znaczenie w żywieniu ludzi i zwierząt. Medycyna Wet.*, 63 (3), 276-281.

Badania nad lędzwianem siewnym kontynuowałam w **Laboratorium Chemii Fizjologicznej Uniwersytetu w Gent (Belgia)**, pod kierunkiem cenionego w świecie specjalisty w tym temacie **prof. Fernanda Lambeina**, gdzie w 1998 roku przebywałam na **stypendium naukowym finansowanym przez rząd belgijski**. Istotnym efektem badań lędzwianu siewnego była realizacja pracy doktorskiej pt. „Skład chemiczny i użyteczność paszowa nasion lędzwianu siewnego w żywieniu tuczników”, którą realizowałam w Instytucie Żywienia Zwierząt AR w Lublinie pod naukową opieką Prof. dr hab. Eugeniusza R. Greli. Dysertację obroniłam w 2001 roku. Praca oraz obrona zostały wyróżnione nagrodą Rektora AR w Lublinie. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdziłam, że podawanie tucznikom surowych lub ekstrudowanych nasion lędzwianu nie wpływa ujemnie na cechy organoleptyczne mięsa i skład chemiczny tkanki tłuszczowej.

W trakcie pracy naukowej brałam również udział w badaniach wpływu innych czynników żywieniowych na jakość tusz drobiowych i wieprzowych, m.in. dodatku ziół, owsa nagiego, drożdży chromowanych (projekt finansowany przez KBN nr 5 P06E 012 12 pt. „Efektywność dodatku Cr organicznego w żywieniu świń”) oraz różnych poziomów energetycznych dawek pokarmowych. Badane substancje nie obniżały jakości tusz, wykazały również, że dodatek czosnku do mieszanek paszowych dla kurcząt brojlerów przyczyniał się do obniżenia w mięsie ilości cholesterolu, co nie jest bez znaczenia dla współczesnych konsumentów.

[7] Grela E. R., Studziński T., Rabos A., **Winiarska A.**, Dżiduch J., 1997. *Effect of a chromium yeast supplement in growing-finishing pig diets on performance, carcass traits and fatty acid composition of adipose tissue. J. Anim. Feed Sci.*, 6, 87-100.

[8] Kwiecień M., **Winiarska-Mieczan A.**, Kapica M., 2006. *The influence of some herbs on chemical composition, lipid metabolism indices, ALAT and ASAT activity in broiler chicken liver. Pol. J. Nat. Sci.*, 3(Suppl.), 439-444.

[9] Kwiecień M., **Winiarska-Mieczan A.**, 2009. *Effect of a grower mixture of reduced energetic value on the chemical composition of broiler hearts and livers. Med. Wet.*, 65(4), 255-257.

[10] Kwiecień M., **Winiarska-Mieczan A.**, 2010. *Effect of hullless barley on body weight and chemical composition of hearts and livers in broiler chickens. Med. Wet.*, 66(1), 41-44.

W latach 2011 - 2013 roku uczestniczyłam jako wykonawca w realizacji projektu naukowego finansowanego przez MNiSW nr N N311 543540 pt. „Wpływ podawania Cu, Fe i Zn w postaci chelatów o wysokim stężeniu składnika mineralnego na procesy strukturotwórcze kości kurcząt brojlerów oraz ograniczenie ich emisji do środowiska”, w

którym badałam wpływ stosowania różnych form (organiczna i nieorganiczna) składników mineralnych na jakość mięsa drobiowego. Wykazałam, że stosowanie związków organicznych miedzi i żelaza (chelaty) w żywieniu kurcząt brojlerów nie wpływa na obniżenie jakości tuszek drobiowych w porównaniu do brojlerów żywionych tradycyjnie (formy nieorganiczne tych składników mineralnych), jednocześnie w mięśniach piersiowych i udowych kurcząt otrzymujących chelaty znajdowało się istotnie mniej cholesterolu.

[11] Kwiecień M., **Winiarska-Mieczan A.**, Kwiatkowska K., Krusiński R., 2014. Ocena sensoryczna mięśni piersiowych kurcząt brojlerów otrzymujących chelat Fe z glicyną. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 95(1), 134-137.

[12] **Winiarska-Mieczan A.**, Kwiecień M., 2015. The effects of copper-glycine complexes on chemical composition and sensory attributes of raw, cooked and grilled chicken meat. *J. Food Sci. Technol.*, 52(7), 4226-4235.

W związku z tym, że **parametry fizjologiczne organizmu zwierzęcia przekładają się bezpośrednio na jego stan zdrowia oraz jakość produktów zwierzęcych** zajmowałam się również badaniem tych czynników. Wykazałam, że podawanie tucznikom surowych nasion łądzwianu siewnego w ilości 50% pasz białkowych powoduje obniżenie niektórych parametrów biochemicznych i hematologicznych krwi (wzrost aktywności ALT i AST), nie przyczynia się jednak do hipertrofii wątroby i nerek. Z kolei zastępowanie tradycyjnych mineralnych form miedzi formami organicznymi (chelatami) nie tylko nie powoduje obniżenia parametrów krwi, ale także pozwala na obniżenie poziomu stosowanego dodatku mineralnego do 25% dawki rekomendowanej.

[13] **Winiarska-Mieczan A.**, Kwiecień M., 2010. The influence of raw grass pea (*Lathyrus sativus* L.) seeds on biochemical and haematological parameters in the blood of grower-finisher pigs and on the weight of their kidney and liver. *Agric. Food Sci.*, 19(3), 223-232.

[14] Kwiecień M., **Winiarska-Mieczan A.**, Valvedre Piedra J., Bujanowicz-Haraś B., Chalabis-Mazurek A., 2015. Effects of copper glycine chelate on liver and faecal mineral concentrations, and blood parameters in broilers. *Agric. Food Sci.*, 24, 92-103.

Od kilku lat moje szczególne zainteresowania naukowe dotyczą **bezpieczeństwa różnego rodzaju żywności pod względem zawartości Cd i Pb**. Obecność metali toksycznych w produktach spożywczych jest problemem globalnym. Wprawdzie według dostępnej literatury zawartość Cd i Pb w żywności zwykle nie przekracza norm, jednak z uwagi na to, że metale te mają zdolność do kumulowania się w tkankach i mają długi okres półtrwania, stałe dostarczanie ich nawet w niewielkich ilościach jest niebezpieczne. Cd i Pb ulegają szybkiej absorpcji z przewodu pokarmowego i łatwo przenikają przez biologiczne bariery. Na toksyczne działanie Cd i Pb szczególnie narażone są dzieci ze względu na wolniejszy proces wydalania i mniejszą masę ciała a także niższą odporność

organizmu. Z tego właśnie powodu w sposób szczególny interesuje mnie **bezpieczeństwo żywności dla niemowląt, zarówno pod względem zawartości Cd i Pb, jak i składników mineralnych niezbędnych**. Badając bezpieczeństwo żywności dla niemowląt analizowałam zarówno zawartość Cd i Pb w mleku kobiecym i mleku w proszku, jak i poziom tych metali w żywności specjalnego przeznaczenia żywieniowego przeznaczonej dla niemowląt. **Brałam również udział w opracowaniu międzynarodowego projektu badawczego dotyczącego zawartości arsenu w żywności dla niemowląt, który został zgłoszony do finansowania przez UE**. Projekt został opracowany przez naukowców z Hiszpanii, Wielkiej Brytanii, Szwecji, Chorwacji, Węgier, Włoch, Polski, Turcji i Czech, koordynatorem projektu został prof. Ángel Antonio Carbonell Barrachina z Uniwersytetu Miguela Hernández w Elche (Hiszpania).

Mleko matki jest najbardziej wartościowym pokarmem, jednak znajdują się w nim zanieczyszczenia i metale w ilościach odzwierciedlających stopień zanieczyszczenia środowiska i diety matki. Okres półtrwania Cd w organizmie człowieka wynosi ok. 30 lat, u niemowląt na toksyczne działanie tego metalu najbardziej narażony jest dynamicznie rozwijający się układ nerwowy, pierwiastek ten zaburza również procesy kościotwórcze i jest ważnym kancerogenem. Ołów u dzieci może hamować rozwój intelektualny, powodować anemię i krzywicę. Miedź i żelazo z kolei to metale ciężkie, które w określonych ilościach są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu, natomiast w nadmiarze stają się szkodliwe. W badaniu wykazałam, że pobranie Cd i Pb z badanym mlekiem przez niemowlęta nie przekraczała dopuszczalnych norm, ale poziom tych metali był wysoki, np. dla niemowląt 6-miesięcznych wynosił ponad 85 % TWI dla Cd i ponad 70 % BMDL₀₁ dla Pb. Na zawartość Cd i Pb w mleku wpływał wiek kobiet, etap laktacji oraz palenie papierosów. Stwierdziłam również, że wraz z mlekiem matki niemowlęta otrzymują zbyt mało Cu i Zn w porównaniu do polskich norm oraz norm WHO. Wyniki tych badań zamieściłam w pracy:

[15] *Winiarska-Mieczan A., 2014. Cadmium, lead, copper and zinc in breast milk in Poland. Biol. Trace Elem. Res., 157, 36–44.*

Sposób odżywiania kobiety w okresie laktacji wpływa bezpośrednio na zawartość Cd i Pb w jej mleku, w związku z tym przeprowadziłam badania mające na celu **sprawdzenie preferencji w spożywaniu podstawowych produktów spożywczych przez kobiety ciężarne i laktujące oraz ocenę ich bezpieczeństwa pod względem zawartości Cd i Pb**. Zbadałam wielkość i częstotliwość spożywania owoców, ryb, pieczywa oraz produktów

nabiałowych. Zwróciłam uwagę na spożywanie produktów nabiałowych typu *light*, ponieważ spożywanie nabiału o zredukowanej zawartości tłuszczu jest zalecane, również w okresie ciąży i laktacji. Wśród badanych kobiet niemal 100 % spożywało nabiał, z czego ponad 90 % spożywało produkty mleczne o obniżonej zawartości tłuszczu. Stwierdziłam, że badane produkty *light* nie zawierały więcej Cd i Pb niż odpowiednie produkty standardowe. Biorąc pod uwagę deklarowane przez respondentki spożycie mleka oraz produktów mlecznych *light* należy uznać je za bezpieczne pod względem zawartości Cd i Pb. Maksymalna podaż Cd dla obu grup kobiet nie przekraczała 9 % TWI, natomiast dla Pb – 3 % BMDL. Uzyskane wyniki opublikowałam w pracy:

[16] *Winiarska-Mieczan A., 2014. Assessment of the risk of exposure to cadmium and lead as a result of the consumption of low-fat dairy products by expectant and lactating women. Acta Sci. Pol. Technol., 13(2), 213-223.*

Przeprowadzone przeze mnie badania wykazały, że w dla niemowląt bezpieczniejsze jest karmienie piersią, ponieważ w mleku kobiecym znajdowało się zdecydowanie mniej **Cd i Pb** niż w **mleku w proszku**, w którym zawartość Pb była zbyt wysoka w stosunku do obowiązującej w Polsce normy.

[17] *Winiarska-Mieczan A., 2009. Assessment of infant exposure to lead and cadmium content in infant formulas. J. Elementol., 14(2), 573-581.*

W ramach badania bezpieczeństwa żywności gotowej dla niemowląt dostępnej w Polsce przebadalam również **desery, soki i obiady**, zarówno wegetariańskie, jak i zawierające mięso oraz nabiał. Wykazałam, że produkty te spożywane w zalecanych ilościach nie zawierają ilości Cd i Pb niebezpiecznych dla zdrowia oraz życia niemowląt i małych dzieci.

[18] *Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., 2007. Assessment of infant and preschool children exposure to lead and cadmium content in fruit-vegetable baby juices. Pol. J. Environ. Stud., 16(3A), 313-316.*

[19] *Winiarska-Mieczan A., Kiczorowska B., 2012. Determining the content of lead and cadmium in infant food from the Polish market. Int. J. Food Sci. Nutr., 63(6), 708-712.*

W ostatnim czasie zainteresowałam się **zawartością Cd i Pb w produktach spożywczych nie przeznaczonych dla niemowląt**. Szczególnie ważny jest dla mnie poziom zanieczyszczeń tymi metalami żywności zarówno dostępnej w Polsce jak i w innych krajach Europy. Wyniki, które opublikowałam dotychczas, dotyczą dostępnych na polskim rynku ryb i herbat, a także ziół pozyskiwanych z różnych miejsc. Wykazały one, że Cd i Pb są obecne w żywności, ale w ilościach nie zagrażających zdrowiu

konsumentów. Wyniki dotyczące zawartości Cd i Pb w produktach zakupionych w różnych krajach Europy (owoce, nabiał, pieczywo) zostały opracowane, lecz nie zostały jeszcze opublikowane.

[20] Grela E.R., Winiarska A., Czech A., 1998. Wpływ okresu wegetacji i miejsca pozyskiwania wybranych ziół na zawartość ołowiu kadmu. *Zeszyty Prob. Post. Nauk Rol.*, 462, 207-212.

[21] Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., Kwiatkowska K., 2011. Zawartość kadmu i ołowiu w herbatach ziołowych. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 93(3), 667-670.

[22] Winiarska-Mieczan A., Kwiecień M., Krusiński R., 2015. The content of cadmium and lead in canned fish available in the Polish market. *J. Consum. Protec. Food Safety*, 10, 165-169.

Wyniki badań dotyczące zawartości Cd i Pb w różnych rodzajach żywności oraz analiza dostępnej literatury zainspirowały mnie do poszukiwania sposobów ograniczania wchłaniania tych metali do tkanek oraz ograniczenia ich toksycznego wpływu na organizm. Konsekwencją było przeprowadzenie kilku doświadczeń na szczurach, których wyniki zostały przedstawione w formie głównego OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO (pkt. 4b).

Ogółem mój dorobek naukowy obejmuje łącznie 67 prac opublikowanych. Wśród wymienionych 60 to oryginalne prace twórcze, z których 7 stanowi jednotematyczny cykl publikacji (zgodnie z art.16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595 ze zm. Dz. U. z 2005 r. nr 164, poz. 1365 oraz Dz. U. z 2011 r. nr 84, poz. 455). Szczegółowy wykaz opublikowanych prac naukowych znajduje się w Załączniku 3.

Informacje bibliometryczne:

Indeks Hirscha wg bazy Web of Science	4 *
Sumaryczny IF (wg wskaźnika dla roku publikacji)	23,845
Osiągnięcie naukowe	12,002
Pozostałe prace	11,843
Liczba punktów (zgodnie z rokiem opublikowania) *	613
Osiągnięcie naukowe	145
Pozostałe prace	468
Liczba publikacji naukowych	67
w tym:	
Osiągnięcie naukowe	7
Pozostałe oryginalne prace twórcze	53

przed doktoratem	7
po doktoracie	46
Prace przeglądowe	4
przed doktoratem	0
po doktoracie	4
Rozdziały w monografiach	1
Instrukcje wdrożeniowe	2
Konferencje naukowe	
Doniesienia na konferencjach i sympozjach naukowych	9
Komunikaty naukowe	19
Liczba cytowań wg bazy Web of Science	38 *

* wg danych z dnia 13.11.2015

b) Udział w konferencjach naukowych i sympozjach

- XII Naukowa Lubelska Konferencja Magnezologiczna „Biologiczna rola pierwiastków” w Lublinie (30 maja 2009 roku);
- I Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Higiena żywności i żywienia podstawą zdrowia” w Szklarskiej Porębie (22-24 września 1999 roku);
- II Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Higiena żywności i żywienia podstawą zdrowia” w Solinie (12-14 września 2001 roku);
- VII Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Higiena żywności i żywienia podstawą zdrowia. Żywnienie wczoraj-dziś-jutro” w Szczytnie (6 – 9 września 2011 roku);
- VIII Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Higiena żywności i żywienia podstawą zdrowia. Informatyka w naukach o żywności i żywieniu” w Białej Podlaskiej (3–6 września 2013 roku);
- IX Krajowa Konferencja Naukowo – Szkoleniowa „Higiena żywności i żywienia podstawą zdrowia. Bezpieczeństwo żywności i żywienia” w Mąchocicach Kapitulnych (8 – 11 września 2015 roku);
- IV Konferencja Naukowa ”Fizjologiczne uwarunkowania postępowania dietetycznego” w Rogowie (3-5 listopada 2010 roku);
- Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Strączkowe rośliny białkowe. II. Soja” w Lublinie (28 listopada 1996 roku);
- Sesja Żywienia Zwierząt "Potrzeby pokarmowe wysokowydajnych zwierząt fermowych" w Krynicy (8-10 września 1999 roku);
- Międzynarodowe Sympozjum Naukowe „Lędźwian siewny - agrotechnika i wykorzystanie w żywieniu zwierząt i ludzi” w Radomiu (9-10 czerwca 1997 roku);
- Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Strączkowe rośliny białkowe. II Soczewica i lędźwian” w Lublinie (4 grudnia 1998 roku);
- Jubileuszowa Sesja Żywieniowa "Wpływ żywienia na jakość produktów zwierzęcych" w Warszawie (3-4 grudnia 1998 roku);

- XXXV Sesja Naukowe ”Żywnościowe metody stymulowania produktywności i zdrowotności zwierząt” w Olsztynie-Mierkach (27-28 czerwca 2006 roku);
- XXXVI Sesja Żywności Zwierząt KNZ PAN „Żywność zwierząt w aspekcie aktualnych problemów środowiskowych, ekonomicznych i prozdrowotnych” w Poznaniu (25-27 czerwca 2007 roku);
- XXXVII Sesja Naukowa Komisji Żywności Zwierząt KNZ PAN „Postęp badań fizjologicznych i biochemicznych oraz ich wykorzystanie w praktycznym żywieniu zwierząt” w Szczecinie (28-30 maja 2008 roku);
- XXXVIII Sesja Naukowa Komisji Żywności Zwierząt KNZ PAN „Pasze zmodyfikowane genetycznie (GMO) i pasze tradycyjne w żywieniu zwierząt” w Balicach (28-29 maja 2009 roku);
- XL Sesja Naukowa Komisji Żywności Zwierząt Komitetu Nauk Zootechnicznych PAN „Sterowanie metabolizmem u zwierząt poprzez żywienie” w Piechowicach (15-17 czerwca 2011 roku);

Na konferencjach tych wygłosiłam 9 referatów lub doniesień. Wykaz opublikowanych materiałów konferencyjnych znajduje się w Załączniku 3.

c) Udział w międzynarodowych i krajowych projektach badawczych

1. grant MNiSW nr 5 P06E 062 08 pt. „Skład chemiczny i użyteczność paszowa nasion lędźwianu siewnego w żywieniu świń”; charakter udziału: wykonawca
2. grant KBN nr 5 P06E 012 12 pt. „Efektywność dodatku Cr organicznego w żywieniu świń”; charakter: wykonawca
3. grant MNiSW nr N N311 543540 pt. „Wpływ podawania Cu, Fe i Zn w postaci chelatów o wysokim stężeniu składnika mineralnego na procesy strukturotwórcze kości kurcząt brojlerów oraz ograniczenie ich emisji do środowiska”; charakter udziału: wykonawca
4. opracowanie międzynarodowego projektu badawczego dotyczącego zawartości arsenu w żywności dla niemowląt pt. „Reduction of food contaminants in rice-based children foods by improving rice processing”, projekt został zgłoszony do finansowania przez UE; charakter udziału: wykonawca

d) Kierowanie projektami realizowanymi ze środków MNiSW przeznaczonych na działalność statutową

1. Ocena zawartości składników mineralnych w preparatach mlekozastępczych dla niemowląt (2009); charakter udziału: kierownik i wykonawca
2. Ocena zawartości składników mineralnych w żywności dla niemowląt (2010); charakter udziału: kierownik i wykonawca
3. Wpływ kwasu taninowego na kumulowanie kadmu i ołowiu u szczurów (2012, 2013); charakter udziału: kierownik i wykonawca
4. Zawartość Cd i Pb w mleku i produktach nabiałowych (2014, 2015); charakter udziału: kierownik i wykonawca

e) Współpraca z ośrodkami krajowymi i zagranicznymi

1. Staż naukowy w Laboratorium Chemii Fizjologicznej Uniwersytetu w Gent (Belgia) pod kierunkiem prof. Fernanda Lambeina - 06.01 - 20.02.1999r.
2. Udział w opracowaniu międzynarodowego projektu badawczego dotyczącego zawartości arsenu w żywności dla niemowląt pt. „Reduction of food contaminants in rice-based children foods by improving rice processing”, projekt został zgłoszony do finansowania przez UE
3. Współpraca naukowa z Zakładem Żywienia Zwierząt UP w Lublinie, Zakładem Fizjologii Zwierząt Katedry Biochemii i Fizjologii Zwierząt UP w Lublinie oraz Zakładem Anatomii Porównawczej i Antropologii UMCS w Lublinie

6. Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki**a) Działalność dydaktyczna**

1. Opracowanie programu wykładów i ćwiczeń z przedmiotu „Diety alternatywne” dla studentów kierunku Dietetyka, studia stacjonarne I stopnia
2. Opracowanie programu wykładów z przedmiotu „Podstawy żywienia człowieka” dla studentów kierunku Technologia Żywności i Żywienia Człowieka, studia stacjonarne I stopnia
3. Opracowanie programu wykładów i ćwiczeń z przedmiotu „Podstawy żywienia człowieka” dla studentów kierunku Bezpieczeństwo Żywności, studia niestacjonarne I stopnia
4. Opracowanie programu wykładów i ćwiczeń z przedmiotu „Higiena żywności i żywienia” dla studentów kierunku Ochrona Środowiska, studia stacjonarne I stopnia
5. Opracowanie programu wykładów z przedmiotu „Higiena pasz i żywienia” dla studentów kierunku Zootechnika, studia stacjonarne I stopnia
6. Opracowanie programu wykładów i ćwiczeń z przedmiotu „Nutrigenomika” dla studentów kierunku Biologia Sądowa, studia stacjonarne II stopnia
7. Opracowanie programu wykładów z przedmiotu „Nutrigenomika” dla studentów studiów doktoranckich na wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt
8. Opracowanie programu wykładów i ćwiczeń z przedmiotu „Bezpieczeństwo i higiena żywienia ludzi i zwierząt” dla studentów kierunku Bezpieczeństwo i Higiena Pracy, studia stacjonarne I stopnia i niestacjonarne I stopnia
9. Opracowanie programu wykładów i ćwiczeń z przedmiotu „Bezpieczeństwo środków żywienia ludzi i zwierząt” dla studentów kierunku Bezpieczeństwo i Higiena Pracy, studia stacjonarne I stopnia i niestacjonarne I stopnia
10. Opracowanie programu ćwiczeń z przedmiotu „Bromatologia” dla studentów kierunku Biologia, studia stacjonarne I stopnia

b) Opieka naukowa nad studentami

1. Promotor 33 prac inżynierskich oraz 7 prac licencjackich z zakresu żywienia człowieka na kierunkach Technologia Żywności i Żywienie Człowieka, Dietetyka, Biologia, Ochrona Środowiska w latach 2010-2015
2. Promotor 65 prac magisterskich z zakresu żywienia człowieka na kierunkach Technologia Żywności i Żywienie Człowieka, Dietetyka, Biologia, Ochrona Środowiska w latach 2003-2015

c) Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego, z podaniem tytułów rozpraw doktorskich

1. Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim realizowanym w Instytucie Żywienia Zwierząt i Bromatologii UP w Lublinie. Promotorem głównym jest dr hab. Małgorzata Kwiecień, tytuł roboczy pracy „Wpływ dodatków paszowych na parametry fizyko-chemiczne, morfometryczne i wytrzymałościowe kości drobiu”, przewód doktorski został otwarty w dn. 21.10.2015.

7) Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych

1. Human and Experimental Toxicology (2 artykuły) - 2013
2. Life Sciences (1 artykuł) – 2013
3. Food and Chemical Toxicology (1 artykuł) – 2014
4. Journal of Clinical Neonatology (1 artykuł) – 2014
5. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences (1 artykuł) – 2014
6. SciTechnol (1 artykuł) – 2014
7. Toxicology and Industrial Health (2 artykuły) – 2014
8. Applied Spectroscopy (1 artykuł) – 2015
9. Biological Trace Element Research (1 artykuł) – 2015
10. Food Research International (1 artykuł) – 2015
11. Indian Journal of Traditional Knowledge (1 artykuł) – 2015
12. Monografia. Olszówka M., Maciąg K. (Red.). Przemysł spożywczy w interdyscyplinarnym ujęciu. ISBN 978-83-65272-09-6 (2 rozdziały) – 2015
13. Meat Science (2 artykuły) – 2015
14. International Journal of Aquaculture (1 artykuł) – 2015
15. International Journal for Vitamin and Nutrition Research (1 artykuł) – 2015

8) Odznaczenia i nagrody

1. Nagroda Rektora AR w Lublinie – wyróżnienie rozprawy doktorskiej pt. „Skład chemiczny i użyteczność paszowa nasion lędźwianu siewnego w żywieniu tuczników” – 1996 rok
2. Brązowy medal nadawany przez Prezydenta Rzeczypospolitej Polskiej za długoletnią służbę w szkolnictwie - 2010 rok.

Lublin, 25.11.2015

Anna Winiarska-Mieczan