



UNIwersytet Jagielloński

COLLEGIUM MEDICUM

Mirosław Krośniak

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

Zakład Bromatologii
Wydział Farmaceutyczny
Collegium Medicum
Uniwersytet Jagielloński

Kraków 2015

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

Spis Treści

1.	Informacje ogólne	2
1.1	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe	2
1.2	Informacje o zatrudnieniu w jednostkach naukowych	2
1.3	Wyróżnienia i nagrody	2
2.	Prezentacja osiągnięć stanowiących podstawę habilitacji	3
2.1	Wykaz publikacji wchodzących w cykl prac związanych z habilitacją	3
2.2	Patenty	4
2.3	Wstęp	5
2.4	Cel badań	6
2.5	Omówienie wyników badań własnych	6
2.6	Podsumowanie	15
2.7	Perspektywy na przyszłość	16
2.8	Inna działalność naukowa związana z pracą habilitacyjną	16
2.9	Analiza bibliometryczna	17
3.	Działalność dydaktyczno wychowawcza	18
4.	Działalność organizacyjna	19
5.	Inna działalność naukowo – badawcza	19
6.	Piśmiennictwo	20

Informacje ogólne

1.1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

- Czerwiec 1992: dyplom magistra analityki medycznej uzyskany na podstawie pracy „Optymalizacja procesu przygotowania próbek do analizy składników mineralnych metodą AAS (porównanie mineralizacji mikrofalowej ze spopieleniem w piecu muflowym)”, Wydział Farmacji z Oddziałem Analityki Medycznej, Akademia Medyczna w Krakowie (obecnie Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego)
- Marzec 2003: podwójny stopień doktora (Co-tutelle de these) nauk farmaceutycznych uzyskany na podstawie rozprawy „Rola wanadu w cukrzycy indukowanej u szczurów”, Wydział Farmacji Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego i Faculte de Pharmacie Universite Montpellier 1. Francja

1.2. Informacje o zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- Styczeń – czerwiec 1992 jeszcze jako student zatrudniony na ½ etatu jako technik w Zakładzie Bromatologii Akademii Medycznej w Krakowie (obecnie Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego)
- 15 wrzesień 1992 – 31 sierpień 2003 – asystent
- 1 wrzesień 2003 - 28 luty 2013 – adiunkt
- 1 marzec 2013 do chwili obecnej - starszy wykładowca

1.3. Wyróżnienia i nagrody

- Obrona pracy doktorskiej z wyróżnieniem – 31.03.2003.
- Srebrny Medal za Długoletnią Służbę – 14.10.2013
- Nagroda Dziekana za dorobek naukowy w 2013 roku.

Prezentacja osiągnięć stanowiących podstawę habilitacji

2.1. Wykaz publikacji wchodzących w cykl prac związanych z habilitacją:

- **H1. M. Krośniak**, R. Francik, K. Kołodziejczyk, A. Wojtanowska-Krośniak, C. Tedeschi, V. Petrone, R. Gryboś. Investigation of the influence of vanadium compounds treatment in NZO mice model - preliminary study. Acta Pol. Pharm. 2014 : Vol. 71, nr 2, s. 271-278
IF - 0,693
Punktacja MNiSW – 15
Cyt 0
- **H2. M. Krośniak**, R. Francik, A. Wojtanowska-Krośniak, C. Tedeschi, M. Krasoń-Nowak, J. Chłopicka, R. Gryboś. Vanadium Methyl-Bipyridine Organoligand and its Influence on Energy Balance and Organs Mass. Biol. Trace Elem. Res. 2014 : Vol. 160, 2014 Jul 12. [Epub ahead of print], s. 123-131
IF - 1,608
Punktacja MNiSW – 15
Cyt 0
- **H3. M. Krośniak**, M. A. Papież, J. Kaczmarczyk, R. Francik, M. G. Panza, V. Covelli, R. Gryboś. Influence of Fructose and Fatty-Rich Diet Combined with Vanadium on Bone Marrow Cells. Biol. Trace Elem. Res. 013 : Vol. 155, nr 2, s. 276-282, il.
IF - 1,608
Punktacja MNiSW – 15
Cyt 0
- **H4. M. Krosniak**, J. Azay-Milhau, R. Grybos, G. Cros, F. Gatacceca, J. Brés. Vanadium pharmacokinetics and bioavailability of two vanadium bipyridine complexes, with reference to vanadyl sulfate, after oral administration to streptozotocin-induced diabetic rats. Metal ions in biology and medicine Vol. 10 / Ed. Philippe Collery, Ivan Maynard, Theophile Theophanides, Lylia Khassanova, Thomas Collery. Paris : John Libbey Eurotext, 2008 769-775
Cyt 3
- **H5. R. Francik, M. Krośniak**, M. Barlik, A. Kudła, R. Gryboś, T. Librowski. Impact of vanadium complexes treatment on the oxidative stress factors in wistar rats plasma. Bioinorg. Chem. Appl. 2011 : Vol. 2011, art. no. 206316, 8 s., il.
 - **IF - 0,716**
 - **Punktacja MNiSW – 15**
 - **Cyt 2**
- **H6. M. Krośniak**, M. Gawlik, R. Gryboś. Effect of vanadium complexes and insulin administered simultaneously for oxidative stress in STZ diabetic rats. Bull. Vet. Inst. Pulawy 2009 : Vol. 53, nr 3, s. 535-540, il.
IF - 0,218

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

Punktacja MNiSW – 15

Cyt 2

- **H7. M. Krośniak, W. Krzyściak, A. Kareta, R. Gryboś.** Activities of glutathione peroxidase and catalase in organs from vanadium-treated rats. *Acta Biol. Crac., Ser. Zool.* 2009 : Vol. 51, s. 39-48,

IF - brak

Punktacja MNiSW – 4

Cyt 0

- **H8. M.Krośniak, J. Kowalska, R.Francik, R.Gryboś, W.M. Kwiatek.** Effects of vanadium complexes supplementation on V, Cu, Mn, K, Fe, Zn, and Ca concentration in STZ diabetic rats pancreas. *Acta Pol. Pharm.* 2014 : Vol. 71, nr 4, s. 583-592

IF - 0,693

Punktacja MNiSW – 15

Cyt 0

- **H9. M. Krośniak, R. Francik, J. Kowalska, R. Gryboś, M. Blusz, W. M. Kwiatek.** Effects of vanadium complexes supplementation on V, Fe, Cu, Zn, Mn, Ca and K concentration in STZ diabetic rat's spleen. *Acta Pol. Pharm.* 2013 : Vol. 70, nr 1, s. 71-77

IF - 0,693

Punktacja MNiSW – 15

Cyt 1

- **H10. M. Krośniak, J. Kowalska, R. Francik, R. Gryboś, M. Blusz, W. M. Kwiatek.** Influence of Vanadium-organic Ligands Treatment on Selected Metal Levels in Kidneys of STZ Rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 2013 : Vol. 153, nr 1-3, s. 319-328, il.

IF - 1,608

Punktacja MNiSW – 15

Cyt 1

2.2. Patenty

1. R. Gryboś, J. Szklarzewicz, D. Matoga, G. Kazek, M. Stępniewski, **M. Krośniak**, G. Nowak, P. Paciorek, P. Zabierowski. Kompleksy wanadu z hydrazydohydrazonami, sposób ich otrzymywania, preparaty farmaceutyczne oraz zastosowanie. *BIULETYN URZĘDU PATENTOWEGO*, Nr 10 (1053) 2014, s 14, 401493, 2012 11 07, *C07F 9/00* (2006.01), *A61K 31/28* (2006.01), *A61P 3/04* (2006.01), *A61P 3/08* (2006.01), *A61P 3/10* (2006.01)

Łącznie po doktoracie prace związane z habilitacją IF = 7,837, pkt MNiSW.= 129

2.3. Wstęp

Wanad jako pierwiastek został odkryty w 1831 roku przez Nilsa Sefströma. Ze względu na bogactwo kolorów jego soli otrzymał nazwę wanad na cześć nordyckiej bogini piękna. Pierwiastek ten jest powszechnie używany w wielu dziedzinach gospodarki przemysłowej, m.in. jako dodatek do wielu stopów, poprawiający parametry wytrzymałościowe i odporność na ścieranie, katalizator (w postaci tlenków wanadu) w wielu reakcjach chemicznych, materiał konstrukcyjny reaktorów jądrowych, składnik cermetali czy też innych materiałów. Ze względu na swoje właściwości chemiczne (stopień utlenienia od -1 do +5) może tworzyć szereg związków metaloorganicznych. Związki takie często mają biologiczną aktywność, co przedstawiają prace doświadczalne wielu autorów [1-5]. Gwałtowny wzrost liczby prac jest notowany od początku lat 80-tych XX wieku. W pracach tych wykazano między innymi, że pierwiastek ten u zuchw (strunowce morskie zaliczane do podtypu osłonicy) występuje w komórkach krwi tych zwierząt w stężeniu 10^7 wyższym niż w otaczającej wodzie morskiej [6,7]. W innych pracach stwierdzono, że posiada aktywność przeciwcukrzycową [8-11]. Wykazano niezbędność tego pierwiastka u kóz. Dieta niedoborowa w wanad powodowała szereg dysfunkcji u tych zwierząt, takich jak: deformacje szkieletu, zmiany w stawach przednich kończyn, spadek produkcji mleka, skrócenie żywotności, spontaniczne aborcje, utrudnioną reprodukcję [12,13]. Także w badaniach na szczurach i kurczętach wykazano niezbędność wanadu w prawidłowym funkcjonowaniu organizmów tych zwierząt. Niedobory tego pierwiastka w diecie manifestowały się w postaci upośledzonego wzrostu, osłabionej reprodukcji, rozregulowania metabolizmu lipidów oraz inhibicji Na^+/K^+ ATPazy [14]. Trwają również prace nad hamowaniem przez związki wanadu wzrostu komórek nowotworowych różnych linii: nowotworu prostaty [15], ludzkiego nowotworu sutka [16], nowotworu gruczołowego płuc [16,17], czerniaka [17], kostniakomięsaka [18]. Powyżej zostały przedstawione tylko przykładowe prace badawcze z szeregu ponad 7000 publikacji dotyczących wanadu. Należy także pamiętać, że podawanie lub narażenie zawodowe na wysokie dawki związków wanadu niesie za sobą niebezpieczeństwo negatywnych, a nawet toksycznych efektów na organizmy żywe. Do typowych objawów wysokiego narażenia wśród pracowników na związki wanadu (głównie V_2O_5) należą: zielony język i problemy ze strony układu oddechowego (stany zapalne gardła, oskrzeli i płuc oraz silny kaszel) [19,20]. Inne toksyczne efekty obserwowano głównie podczas badań na zwierzętach. Stwierdzono dysfunkcje [21] w postaci biegunek, wymiotów, odwodnienia, utraty masy ciała, redukcji liczby czerwonych krwinek, inhibicji Na^+/K^+ ATPazy, hepatotoksyczności, nefrotoksyczności, genotoksyczności, indukcji stresu oksydacyjnego i szereg innych. Należy jednak zaznaczyć, że podawane dawki badanych związków wanadu w szeregu tych eksperymentów były wysokie lub bardzo wysokie.

Pierwsze informacje dotyczące zastosowania związków wanadu w celach leczniczych pochodzą z końca XIX wieku. Wtedy to na stronach czasopisma *La Presse Medicale* [22] ukazała się informacja o zmniejszeniu stężenia glukozy po podaniu nieorganicznej soli wanadu. Jednak niedługo potem zastosowano w leczeniu cukrzycy insulinę, co spowodowało zaniechanie prac nad badaniem aktywności biologicznej związków wanadu [23]. W następnych latach gwałtowny rozwój przemysłu, kontakt pracowników z - w przeważającej części - nieorganicznymi związkami wanadu oraz niekontrolowana emisja związków wanadu do otoczenia spowodowały zainteresowanie negatywnym wpływem wanadu na organizmy żywe [21]. Z tego powodu przez wiele lat wanad i jego związki były postrzegane jako czynnik niebezpieczny. Jednakże, z początkiem lat 80-tych XX wieku na nowo pojawiły się prace badawcze dotyczące pozytywnego wpływu podaży wanadu na

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

poziom glukozy we krwi szczurów, u których wywołano cukrzycę typu 1 przy pomocy streptozotocyny [24,25]. To był impuls do badań nad wanadem i jego związkami, który spowodował gwałtowny wzrost liczby prac analizujących wpływ podaży różnych związków tego pierwiastka na szlaki metaboliczne organizmów żywych [26,27]. Kolejnym krokiem w badaniach związków wanadu było zastosowanie organicznego kompleksu bis(maltolato)oksowanadu (BMOV) w obniżaniu poziomu glukozy u zwierząt laboratoryjnych [28]. Obecnie są prowadzone badania kliniczne II fazy z pochodną tego związku [29]. Równolegle, wiele ośrodków na świecie syntezuje nowe organiczne kompleksy wanadu i bada je w różnych modelach doświadczalnych, celem sprawdzenia ich aktywności biologicznej [30-34]. Jednym z takich miejsc jest Wydział Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz Wydział Farmaceutyczny Uniwersytetu Jagiellońskiego.

2.4. Cel badań

Celem badań było poznanie wielokierunkowej aktywności biologicznej organicznego związku wanadu z ligandem pirydynowym – $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2\text{bpy}]\cdot 8\text{H}_2\text{O}$ i porównanie go z innymi organicznymi związkami wanadu ($\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(1,10'\text{-phen})] \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(4,4'\text{-Me}_2\text{-}2,2'\text{-bpy})] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$, $[\text{VO}(\text{SO}_4)(1,10'\text{-phen})] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ i $[\text{VO}(\text{SO}_4)(2,2'\text{-bpy})] \cdot \text{H}_2\text{O}$). Związek ten we wcześniejszych badaniach własnych wykazał najsilniejsze działanie normoglikemizujące, spośród testowanych związków [35]. W celu uniknięcia obserwowanych przez innych autorów efektów toksycznych, skoncentrowano się na długotrwałej podaży niższych niż w większości prac badawczych dawek testowanego związku. W przeprowadzonych eksperymentach przebadano:

- a) możliwość zastosowania modelu myszy NZO (New Zealand Obese) w weryfikacji aktywności przeciwcukrzycowej organicznego związku wanadu,
- b) wpływ podaży testowanego związku na tempo wzrostu i zapotrzebowanie energetyczne u szczurów,
- c) wpływ podaży organicznych związków wanadu na obraz morfotyczny szpiku kostnego szczurów żywionych różnymi dietami,
- d) biodostępność organicznych związków wanadu u szczurów z cukrzycą wywołaną streptozotocyną,
- e) wpływ podaży związków wanadu na parametry stresu oksydacyjnego w wybranych narządach,
- f) wpływ podaży testowanych związków na poziom pierwiastków w wybranych tkankach.

2.5. Omówienie wyników badań własnych

Ad a) Zastosowanie modelu myszy NZO w weryfikacji aktywności przeciwcukrzycowej organicznego związku wanadu [H1]

Myszy NZO są coraz częściej używane w badaniach nad cukrzycą. U tych myszy wzrost insulinooporności i komplikacji charakterystycznych dla ludzkiego zespołu metabolicznego (nadciśnienie, otyłość, wysoki poziom triglicerydów, wysoki poziom cholesterolu) wywoływany jest dietą bogatą w nasycone kwasy tłuszczowe, przez okres kilku tygodni. Model ten sprawdził się w wielu badaniach nad cukrzycą, lecz dotychczas nie był testowany w badaniach aktywności przeciwcukrzycowej związków wanadu.

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

Celem zaplanowanego eksperymentu było sprawdzenie powyższego modelu z zastosowaniem organicznych kompleksów wanadu [H1].

Samcom myszy NZO, przez cały okres trwania eksperymentu (13 tygodni), podawano dietę bogatą w kwasy tłuszczowe nasycone. Począwszy od 9 tygodnia, przez kolejne 5 tygodni, w grupach zwierząt z badanymi związkami wanadu (nieorganiczny VOSO_4 , organiczne: związek odniesienia BMOV oraz badany bipirydynowy związek wanadu), podawano codziennie doustnie testowane związki w dawce 0,06 mmol/kg masy ciała. Pod koniec eksperymentu, od zwierząt pobrano krew do badań biochemicznych. Zaobserwowano, że podawane związki wanadu powodują statystycznie znamienne obniżenie poziomu glukozy w stosunku do grupy diabetycznej kontrolnej, której nie podano żadnych związków. Uzyskana mediana była najniższa dla badanego związku z ligandem bipirydynowym, ale nie odbiegała znacząco od pozostałych dwóch związków wanadu. Przy testowanej dawce nie obserwowano wpływu na stężenie cholesterolu oraz triglicerydów we krwi zwierząt w stosunku do grupy diabetycznej kontrolnej. Nie obserwowano podniesienia aktywności aminotransferazy alaninowej i aminotransferazy asparaginianowej, po podaży testowanych związków w badanych dawkach, co może świadczyć o braku lub nikłym wpływie tych związków na funkcję wątroby [H1].

Użyty model doświadczalny w pełni potwierdził możliwość wykorzystania go w badaniach nad aktywnością przeciwcukrzycową związków wanadu. Potwierdził również, że wytypowany we wcześniejszym doświadczeniu, organiczny związek wanadu z ligandem bipirydynowym wykazuje działanie normoglikemizujące [35]. Nie wykazał natomiast obserwowalnego, negatywnego wpływu na rozwój badanych zwierząt oraz parametry biochemiczne we krwi [H1]. Doświadczenie uzyskane podczas realizacji tego eksperymentu zostało wykorzystane w trakcie realizacji projektu badawczego „Kompleksy wanadu - innowacyjne metalofarmaceutyki w leczeniu cukrzycy”, w którym byłem kierownikiem zadania „Ocena działania przeciwcukrzycowego związków wanadu w modelu *in vivo*” związanego z weryfikacją aktywności przeciwcukrzycowej nowo zsyntezowanych związków wanadu w modelu *in vivo*. Ponownie, potwierdzono w nim zasadność wybranego modelu eksperymentalnego [H1].

Ad b) Wpływ podaży testowanego związku na tempo wzrostu i zapotrzebowanie energetyczne u szczurów [H2]

W wielu eksperymentach ze zwierzętami, którym podawano związki wanadu, zaobserwowano mniejszy przyrost masy ciała i mniejsze spożycie paszy. Często również u tych zwierząt obserwowano biegunki i inne zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego. Wiązano to najczęściej z toksycznym efektem wysokich dawek podawanych związków wanadu, a nie z ich wpływem na tempo metabolizmu. W przeprowadzonym eksperymencie, podawano testowane związki wanadu w małych dawkach, aby uniknąć efektów toksycznych, oraz obserwowano ich wpływ na przyrost masy ciała, spożycie paszy i wody w trzech różnych dietach: standardowej, wysokotłuszczowej i wysokofruktozowej. Dodatkowo przeprowadzono obliczenia wykazujące, w jaki sposób dostarczona wraz z pokarmem energia została wykorzystana przez badane zwierzęta do tempa wzrostu masy ciała dla każdej z tych diet [H2].

W trakcie przeprowadzania eksperymentu potwierdzono fakt, że zwierzęta, które otrzymują organiczny związek wanadu z ligandem metylo-bipirydynowym, przyrastają na wadze statystycznie znamienne wolniej niż zwierzęta z grupy kontrolnej. Zaobserwowano również mniejsze spożycie paszy niż w grupie kontrolnej, ale było ono nieistotne

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

statystycznie. To nasunęło wniosek, że spadek spożycia paszy nie jest wprost proporcjonalny do spadku przyrostu masy ciała. Obserwowane zmiany zależały również od zastosowanej diety. Po obliczeniu współczynnika: ilość spożytych kalorii/gram przyrostu masy ciała – zaobserwowano ciekawe zależności [H2]:

- dieta bogata w węglowodany lub bogata w tłuszcze nasycone w stosunku do grupy z dietą standardową, spowodowała statystycznie znamienne obniżenie obliczonego współczynnika, co jest wynikiem lepszego wykorzystania energii dostarczonej wraz z pokarmem do przyrostu masy ciała.

- podanie testowanego związku wanadu, statystycznie istotnie podnosi obliczony współczynnik, dla każdej z tych trzech diet. W przypadku diety standardowej, współczynnik zapotrzebowania energetycznego niezbędnego do przyrostu masy ciała o 1 gram, po zastosowaniu związku wanadu wzrastał o 29,5%. Nieco mniejszy wzrost tego współczynnika obserwowano dla diety wysokotłuszczowej: wynosił on 26,9%. Najniższy wzrost: 9,8% zaobserwowano dla diety bogatej we fruktozę. W każdym z omawianych przypadków były to różnice statystycznie istotne w stosunku do grup, które nie otrzymywały badanego związku [H2].

Otrzymane rezultaty pokazują, że obserwowany wpływ testowanego związku wanadu na metabolizm u szczurów, jest również powiązany z zastosowaną dietą. W przeprowadzonym eksperymencie nie wykazano, w jaki sposób te „nadwyżki” energetyczne są wykorzystywane przez badane zwierzęta. Aby móc to określić, niezbędne są dodatkowe, planowane badania, w których obserwować się będzie aktywność zwierząt oraz temperaturę ich ciała. Są to dwie, potencjalne drogi wykorzystania zwiększonych ilości przyjmowanej energii. Dodatkowo, rezultaty tych obserwacji mogą zostać wykorzystane do opracowania nowych preparatów wspomagających walkę z otyłością, plagą czasów współczesnych.

Ad c) Wpływ podaży organicznych związków wanadu na obraz morfotyczny szpiku kostnego w różnych dietach [H3]

Szpiek kostny jest miejscem tworzenia się nowych komórek krwi. Proces ten jest zależny od ogólnej kondycji organizmu (wiek, dostępność niezbędnych składników pokarmowych) jak i czynników zewnętrznych (promieniowanie, czynniki toksyczne). Jest to więc układ bardzo wrażliwy na niekorzystne zmiany, ze względu na wytwarzanie nowych komórek. Wszelkie niekorzystne zmiany mogą mieć istotny wpływ na jakość i proporcje ilościowe poszczególnych linii komórkowych. W warunkach fizjologicznych, dzienna podaż wanadu jest niewielka, natomiast ulega ona gwałtownemu wzrostowi w trakcie długotrwałego podawania związków wanadu. Taki czynnik może wpływać również na funkcjonowanie układu krwiotwórczego, co jest przedmiotem przedstawianych badań [H3].

Po analizie uzyskanych wyników wykazano statystycznie istotnie, że długotrwałe podawanie testowanego związku wanadu wpływa na procentowy udział poszczególnych linii komórkowych w szpiku kostnym. Dodatkowo, zaobserwowano efekt diety w tych badaniach [H3]. Największe różnice dotyczyły liczby komórek linii erytrocytarnej oraz komórek linii limfoidalnej. W przypadku linii erytrocytarnej, zaobserwowano statystycznie znamienny wzrost odsetka komórek tej linii po podaniu testowanego związku, w stosunku do grupy, która go nie otrzymywała. Podobne obserwacje poczyniono dla każdej z testowanych diet. Z kolei, w przypadku komórek linii limfoidalnej, nastąpił statystycznie istotny spadek procentowego udziału tych komórek w szpiku zwierząt, którym podawano testowany związek, w stosunku do zwierząt bez badanego związku. Również i w tym przypadku zaobserwowano pogłębienie tego efektu po zastosowaniu diety wysokotłuszczowej czy też wysokofruktozowej [H3].

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

Wyniki tego eksperymentu mogą świadczyć o wpływie testowanego związku na:

- a) czas życia erytrocytów we krwi; skrócenie tego czasu będzie skutkowało kompensacyjnym wzrostem ilości prekursorów erytrocytów w szpiku kostnym.
- b) zmniejszeniem się liczby prekursorów limfocytów, co w konsekwencji może skutkować zmianami w funkcjonowaniu układu odpornościowego.

Aby potwierdzić jedną z tych hipotez, należy wykonać również badania (planowane) krwi obwodowej wraz z określeniem morfologii krwi. Dodatkowo, zaobserwowano wpływ diety na oznaczane parametry, co świadczy, że czynnik ten gra istotną rolę podczas podaży testowanego związku wanadu badanym zwierzętom. Prawdopodobnie, podawanie suplementów diety zawierających inne pierwiastki (Zn, Cr, Mn, Se, Cu i inne) może również powodować zmiany w obrazie morfotycznym krwi. Kwestia ta jest słabo poznana ze względu na bardzo małą liczbę badań zajmujących się tą problematyką. Dlatego też poczynione obserwacje stwarzają możliwość eksploracji tego zagadnienia.

Ad d.) Oznaczanie biodostępności organicznych związków wanadu u szczurów z cukrzycą wywołaną streptozotocyną [H4].

Wyniki wielu autorów wskazują, że wchłanianie wanadu z nieorganicznych związków tego pierwiastka (np. VOSO_4), ze światła przewodu pokarmowego, oscyluje poniżej wartości 10% [36-38]. Jednakże, jest bardzo mało danych literaturowych mówiących o wchłanianiu poszczególnych, organicznych związków wanadu i różnic między nimi.

Badania przeprowadzono na szczurach rasy Wistar, u których zniszczono przez iniekcję dożylną roztworu streptozotocyny (STZ) komórki beta odpowiedzialne za produkcję insuliny. Ze względu na wysoką diurezę spowodowaną cukrzycą, szczury te spożywają więcej paszy oraz wody. W tym modelu doświadczalnym można łatwiej zaobserwować kinetykę wchłaniania badanych związków wanadu z przewodu pokarmowego oraz eliminacji wanadu z krwi. Zastosowanym związkiem odniesienia był VOSO_4 oraz dwa testowane związki wanadu $[\text{VO}(\text{bpy})_2]\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ oraz $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{bpy})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Po pobraniu krwi od zwierząt w odpowiednich odcinkach czasowych, oznaczono w niej stężenie wanadu, a następnie, korzystając ze specjalistycznego oprogramowania, obliczono parametry kinetyczne dla tych związków [H4].

Otrzymane wyniki:

- potwierdzają wyższą biodostępność testowanych, organicznych związków wanadu w stosunku do związku nieorganicznego, jakim był VOSO_4 [H4],
- nie stwierdzono istotnych różnic związanych z czasem wchłaniania dla badanych związków [H4],
- cukrzyca istotnie wpływa na biodostępność wanadu, zwłaszcza dla związku $[\text{VO}(\text{bpy})_2]\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [H4].

Wyniki otrzymane w tych badaniach wskazują na wpływ budowy chemicznej testowanych związków posiadających w swej budowie chemicznej jedną lub dwie cząsteczki bipyridyny oraz stanu chorobowego (cukrzyca) na biodostępność wanadu z badanych związków.

Również podczas realizacji projektu badawczego „Kompleksy wanadu – innowacyjne metalofarmaceutyki w leczeniu cukrzycy” (gdzie wykonywałem pomiary wanadu wchłoniętego przez komórki) wykazano dużą różnicę we wchłanianiu przez komórki 4 linii (hepatocyty, miocyty, adipocyty oraz komórki beta trzustki) wanadu z medium w zależności od badanego związku. Różnice te (najmniejsze wchłanianie vs. największe wchłanianie) w niektórych przypadkach były ponad 20-krotne. Aktywność badanych związków była silnie

Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo*

skorelowana z wchłanianiem wanadu przez komórki w zależności od budowy chemicznej testowanego związku. Wyniki tych badań w chwili obecnej są zastrzeżone.

Ad e) Badanie wpływu podaży związków wanadu na parametry stresu oksydacyjnego w wybranych narządach [H5, H6, H7]

Wanad jest pierwiastkiem mogącym występować na różnych stopniach utlenienia. Z tego też powodu w organizmie żywym może on znacząco wpływać zarówno na procesy redukcji, jak i utleniania w przestrzeni zewnątrz- i wewnątrzkomórkowej (reakcja Fentona). Niestety, ze względu na złożoność procesów biochemicznych zachodzących w organizmie żywym, trudno jest przewidzieć, w którym kierunku będą podążały zmiany w ogólnym statusie antyoksydacyjnym w krwi, jak i w poszczególnych tkankach i narządach. Wanad w połączeniu z ligandami organicznymi, najczęściej występuje na ⁺⁴ lub ⁺⁵ stopniu utlenienia, rzadziej na ⁺³ stopniu utlenienia. Przechodząc ze światła przewodu pokarmowego do krwi, a następnie z naczyń krwionośnych do wnętrza komórek może w zależności od wielu czynników zmieniać swój stopień utlenienia, co z kolei może wpływać na ogólny status antyoksydacyjny organizmu [26].

Jak wskazują uzyskane wyniki, wpływ badanych związków wanadu na parametry antyoksydacyjne we krwi i narządach był wielokierunkowy. Zaobserwowano, że związek $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{bpy})] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ powodował statystycznie znamienne podwyższenie poziomu mocznika (w stosunku do grupy kontrolnej), natomiast podanie tego samego związku w grupie zwierząt z dietą bogatofruktozową spowodowało obniżenie poziomu kwasu moczowego do wartości podobnej do grupy kontrolnej [H5]. Aktywność antyoksydacyjna wyrażona jako FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), w grupie zwierząt na diecie wysokofruktozowej, którym podawano związek wanadu $[\text{VO}(\text{bpy})_2]\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ była podwyższona w stosunku do grupy zwierząt, którym nie podawano tego związku [H5]. Aktywność peroksydazy glutationowej (GPx) ulegała znamiennej obniżeniu po zastosowaniu związku $[\text{VO}(\text{Me}_2\text{bpy})_2]\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, zarówno w grupie zwierząt z dietą standardową, jak i z dietą wysokofruktozową, w stosunku do zwierząt bez tego związku [H5]. Aktywność katalazy dla dwóch związków $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{bpy})] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ i $[\text{VO}(\text{bpy})_2]\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ulegała statystycznemu podwyższeniu; w grupie zwierząt z standardową dietą, w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej. W przypadku związku $[\text{VO}(\text{Me}_2\text{bpy})_2]\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ oraz $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{bpy})] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, aktywność katalazy ulegała obniżeniu w grupie zwierząt na diecie bogatofruktozowej w stosunku do tej, która nie otrzymywała tego związku [H5]. Najbardziej charakterystyczne zmiany były widoczne po wyliczeniu współczynnika GPx/katalaza. Trzy testowane związki spowodowały spadek tego współczynnika w grupie zwierząt na diecie standardowej, w stosunku do zwierząt, które nie otrzymywały testowanych związków. Największy spadek obserwowano dla związku $[\text{VO}(\text{bpy})_2]\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [H5].

Drugim analizowanym przypadkiem były zmiany stężenia glutationu zredukowanego, alfa-tokoferolu oraz aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w surowicy szczurów cukrzycowych (iniekcja streptozotocyną) po podaniu pięciu kompleksów wanadu [H6]. Testowane związki nie spowodowały istotnych statystycznie zmian w badanych grupach zwierząt. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej po podaniu związków wanadu szczurom cukrzycowym była w przypadku 3 związków ($\text{Na}[(\text{O}_2)_2(2,2'\text{-bpy})] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(1,10'\text{-phen})] \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ oraz $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(4,4'\text{-Me}_2\text{-}2,2'\text{-bpy})] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$) wyższa niż dla kolejnych dwóch badanych ($[\text{VO}(\text{SO}_4)(1,10'\text{-phen})] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ i $[\text{VO}(\text{SO}_4)(2,2'\text{-bpy})] \cdot \text{H}_2\text{O}$) [H6]. Uzyskany wynik wskazuje, że decydujący wpływ na aktywność dysmutazy

Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo*

ponadtlenkowej ma stopień utlenienia wanadu w badanym związku, a nie jego ligand [H6]. Zmiany stężenia glutationu były najbardziej widoczne w tym modelu eksperymentalnym. Cztery badane związki ($\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(1,10'\text{-phen})] \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(4,4'\text{-Me}_2\text{-}2,2'\text{-bpy})] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$, $[\text{VO}(\text{SO}_4)(1,10'\text{-phen})] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ oraz $[\text{VO}(\text{SO}_4)(2,2'\text{-bpy})] \cdot \text{H}_2\text{O}$) spowodowały obniżenie stężenia glutationu zredukowanego w stosunku do zwierząt diabetycznych. Obserwowane zmiany były zbliżone do wartości zmierzonej dla grupy zwierząt zdrowych [H6].

W trzecim eksperymencie [H7] badano aktywność katalazy i peroksydazy glutationowej w organach zdrowych szczurów, którym podano 2 związki wanadu ($\text{Na}[(\text{O}_2)_2(2,2'\text{-bpy})] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ i $[\text{VO}(\text{SO}_4)(2,2'\text{-bpy})] \cdot \text{H}_2\text{O}$). Zmiany w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej, dotyczące aktywności peroksydazy glutationowej, w homogenatach tkankowych nie zależały od budowy chemicznej badanego związku, a jedynie od badanego organu. Statystycznie istotny wzrost aktywności tego enzymu notowano dla jąder, śledziony i serca, a spadek dla nerki i trzustki. Aktywność katalazy uległa najsilniejszemu spadkowi dla obu badanych związków w wątrobie (prawie 10 razy). Statystycznie istotne obniżenie aktywności katalazy obserwowano również dla homogenatów serca i płuc. W mięśniach jedynie związek $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(2,2'\text{-bpy})] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ spowodował obniżenie aktywności katalazy. Odwrotną sytuację zaobserwowano dla homogenatów jąder, gdzie oba testowane związki podnosiły statystycznie istotnie aktywność katalazy. Obliczony współczynnik GPx/katalaza wykazał statystycznie istotny wzrost dla obu badanych związków w homogenatach mięśni, wątroby, śledziony, płuc i serca. Statystycznie istotny spadek tego współczynnika notowano w homogenatach nerek i trzustki [H7].

Jak wykazują powyższe rezultaty badań [H5-H7], wpływ testowanych, organicznych związków wanadu na oznaczane parametry stresu oksydacyjnego jest wielokierunkowy. Stosunkowo najmniejsze zmiany obserwowano w surowicy krwi [H5, H6]. Bardziej wyraźne zmiany rejestrowano w homogenatach tkankowych [H7]. Może to świadczyć o kontroli przez mechanizmy homeostazy ustrojowej procesów utleniania i redukcji oraz braku ich deregulacji przez testowane związki wanadu. Z drugiej zaś strony należy pamiętać, że istotną rolę może mieć czas prowadzenia eksperymentu. Po kilku tygodniach może dojść do adaptacji na podwyższone stężenie wanadu w organizmie albo też zostaną wyczerpane możliwości utrzymania prawidłowych poziomów badanych parametrów biochemicznych. Innym wyjaśnieniem poczynionych obserwacji może być zróżnicowany wpływ związków wanadu na poszczególne organy, co w konsekwencji prowadzi do niedużych zmian w wartościach parametrów antyoksydacyjnych w surowicy krwi, co z kolei jest wynikiem wypadkowej przeciwstawnych zmian w całym organizmie. By usystematyzować wiedzę w obrębie tego zagadnienia i móc potwierdzić którąś z powyższych hipotez, należy przeprowadzić jeszcze szereg eksperymentów z różnymi czasami ekspozycji na badane związki wanadu i z rozszerzonym panelem badań enzymatycznych.

Ad f) Badanie wpływu podaży testowanych związków na poziom pierwiastków w wybranych tkankach [H8-H10]

Niezbędność wanadu u zwierząt doświadczalnych została udowodniona w wielu eksperymentach naukowych [12-14]. Najczęściej obserwowano efekty diety niedoborowej w ten pierwiastek lub wpływ stosunkowo wysokich dawek wanadu na różne funkcje życiowe. Pierwiastek ten, po spożyciu w większych dawkach może się kumulować w wybranych tkankach i narządach, co było przedmiotem wielu prac badawczych [39-41]. Jednakże, obserwowane efekty biologiczne po podaniu badanych związków wanadu, należy rozpatrywać również jako efekt wzajemnej interakcji tego pierwiastka z innymi

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

pierwiastkami, ważnymi dla funkcjonowania organizmu. Także narządy, w zależności od funkcji jaką pełnią w organizmie, wpływają na poziomy fizjologicznie ważnych pierwiastków w odpowiedzi na aktualny stan ustroju (choroba, niedożywienie, zatrucie itp.). Do badań wybrano trzy narządy:

- trzustka
- nerka
- śledziona.

Wybór dwóch pierwszych organów był podyktowany ich znaczeniem w cukrzycy typu 1. Badaniem objęto też śledzionę, ze względu na wcześniejsze wyniki mówiące o zmianach w obrazie morfotycznym szpiku kostnego [H3].

Trzustka jest organem, w którym znajdują się komórki beta produkujące insulinę. Dożylne podanie streptozotocyny wybiórczo niszczy te komórki, doprowadzając do prawie całkowitego zaniku produkcji insuliny. Po takim zabiegu, narząd ten zachowuje wszystkie pozostałe funkcje z wyjątkiem wydzielania insuliny. Niestety, brak jest prac mówiących o poziomach ważnych z punktu widzenia fizjologii pierwiastków (Zn, Ca, Mn, K, Cu, Fe i V) lub też ewentualnych ich zmianach podczas podawania związków wanadu. W przeprowadzonym eksperymencie analizowano 5 uprzednio nie badanych w tym aspekcie organicznych związków wanadu, w tym (badany również w innych doświadczeniach) związek z bipyrydyną $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{bpy})] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$.

Podawanie testowanych związków wanadu badanym zwierzętom, spowodowało oczekiwany wzrost zawartości tego pierwiastka w trzustce. Zbadane stężenia były średnio 7-8 razy wyższe w stosunku do zwierząt, które nie otrzymały związków wanadu. Nie obserwowano różnic statystycznie istotnych pomiędzy testowanymi związkami [H8]. Zanotowano natomiast wpływ podaży związków wanadu na inne pierwiastki, co zostało omówione poniżej [H8].

Spośród przebadanych pierwiastków w trzustce zwierząt z cukrzycą typu 1 po streptozotocynie najbardziej ewidentne zmiany były obserwowane dla cynku [H8]. Cukrzyca powoduje statystycznie istotne obniżenie stężenia tego pierwiastka w trzustce zwierząt z cukrzycą, w porównaniu do grupy zwierząt kontrolnych zdrowych. Podanie badanych związków wanadu zwierzętom z cukrzycą powoduje statystycznie znamienne podniesienie stężenia tego pierwiastka w stosunku do zwierząt cukrzycowych nie leczonych. Tak więc, testowane związki wanadu mogą zapobiegać utracie tego pierwiastka z trzustki podczas cukrzycy typu 1 wywołanej dożylnym podaniem streptozotocyny. Jest to ważna obserwacja, ponieważ cynk odgrywa kluczową rolę podczas biosyntezy i sekrecji insuliny w organizmie w warunkach fizjologicznych [42].

Stężenie żelaza w trzustce zwierząt z cukrzycą typu 1 było znacznie wyższe niż w grupie kontrolnej zdrowej. Podanie testowanych związków wanadu spowodowało obniżenie poziomu żelaza do wartości pomiędzy grupą diabetyczną bez związków wanadu a grupą kontrolną zdrową [H8]. Także w tym przypadku, można powiedzieć, że podanie związków wanadu powoduje przesunięcie poziomu żelaza w kierunku wartości stężeń fizjologicznych. Jednym z najsilniej działających związków był związek $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{bpy})] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ [H8].

W przypadku manganu, jeden z testowanych związków spowodował statystycznie istotne obniżenie poziomu tego pierwiastka w stosunku do pozostałych grup zwierząt. Tym związkiem był ponownie $\text{Na}[\text{VO}(\text{O}_2)_2(\text{bpy})] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ [H8].

Stężenia pozostałych, oznaczanych pierwiastków, tj. miedzi, potasu oraz wapnia nie ulegały zasadniczym zmianom, ani pod wpływem cukrzycy, ani pod wpływem podawanych związków wanadu. Na podstawie tych obserwacji można wnioskować, że te pierwiastki nie

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

odgrywają znaczącej roli w rozwoju cukrzycy typu 1 wywołanej streptozotocyną, ani nie interferują z podanymi związkami wanadu [H8].

Zwierzęcy model cukrzycy typu 1 wywołuje się najczęściej przez dożylnie podanie streptozotocyny. Już po trzech dniach poziom glukozy we krwi wzrasta do wartości niekiedy przekraczającej 600 mg% (ponad 33 mmol/l) [43]. Wówczas wysoki poziom glukozy destabilizuje prawidłową funkcję wielu narządów, a zwłaszcza, w początkowym etapie, nerek. Objawia się to znacznym wzrostem produkcji moczu i spożywaniem płynów w ilości niekiedy równej masie ciała. Obserwuje się również wzrost spożycia paszy. Nerka jako niezbędny narząd do życia ma za zadanie nie tylko usunąć produkty przemiany białek, ale również chronić przed utratą ważnych dla życia związków i składników mineralnych.

W przeprowadzonym eksperymencie [H9] nie zaobserwowano różnic zawartości wanadu w nerkach, pomiędzy grupą zwierząt zdrowych a chorych na cukrzycę. Również nie obserwowano różnic w stężeniu wanadu w tym organie w zależności od podanego związku. Zarejestrowano jednak znacznie wyższy poziom wanadu (ponad 20 razy) w grupach zwierząt, którym podano badane związki wanadu w stosunku do tych, które nie otrzymały tego pierwiastka [H9].

Cukrzyca typu 1 powoduje statystycznie istotny wzrost stężenia miedzi, ponad 6-krotny, porównując do nerek zwierząt kontrolnych. Podanie badanych związków wanadu zwierzętom z cukrzycą spowodowało istotne statystycznie obniżenie poziomu tego pierwiastka

w nerce, do poziomu zbliżonego dla zwierząt z grupy kontrolnej [H9]. Obserwacja ta może mieć znaczenie w rozpatrywaniu mechanizmów związanych z dystrybucją pierwiastków podczas różnych schorzeń, w tym i cukrzycy [44].

Cukrzyca typu 1 podnosi, na granicy istotności statystycznej, poziom cynku w nerkach zwierząt z cukrzycą w stosunku do grupy zwierząt zdrowych. Natomiast podanie badanych związków wanadu szczurom z wywołaną cukrzycą, statystycznie istotnie obniżyło poziom tego pierwiastka zarówno w stosunku do grupy zwierząt zdrowych, jak i z cukrzycą, ale bez testowanych związków [H9]. Także i w tym przypadku, poczyniona obserwacja posłuży do rozpatrywania mechanizmów związanych z dystrybucją pierwiastków podczas cukrzycy [44]. Mając na uwadze wzrost poziomu cynku w trzustce [H8] a spadek w nerce [H9], u zwierząt chorych na cukrzycę prawdopodobnie dochodzi do hamowania wydalania cynku z moczem pod wpływem związków wanadu.

Cukrzyca typu 1 nie powoduje zmian zawartości manganu w nerce zwierząt chorych, w porównaniu z grupą zwierząt zdrowych, jednakże podanie testowanych związków wanadu statystycznie znamiennie podnosi stężenie tego pierwiastka [H9]. Mangan wchodzi w skład mitochondrialnej dysmutazy nadtlenkowej. Wzrost poziomu tego pierwiastka w nerce, po podaniu związków wanadu, może być związany ze zmianą aktywności dysmutazy nadtlenkowej w tym organie. By potwierdzić tę hipotezę, należy dokonać pomiarów (planowane) aktywności tego enzymu w nerce po podaniu związków wanadu.

Cukrzyca typu 1 podnosi poziom wapnia w nerkach zwierząt chorych w stosunku do poziomu tego pierwiastka w nerkach zwierząt zdrowych. Podanie badanych związków wanadu zwierzętom z cukrzycą nie spowodowało zmian stężenia wapnia w nerce [H9]. Poczynione obserwacje dotyczące wzrostu stężenia wapnia w nerkach zwierząt, u których wywołano cukrzycę przez podanie streptozotocyny, są zgodne z pracą innych autorów [45].

W przypadku poziomu potasu i żelaza w nerce nie obserwowano zmian związanych z samą cukrzycą typu 1 wywołaną streptozotocyną, ani z podażą badanych związków wanadu. Może to świadczyć o braku powiązania pomiędzy tymi czynnikami.

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

Podczas analizy obrazu szpiku kostnego [H3] zaobserwowano zmiany w procentowym udziale komórek linii erytrocytarnej. Z tego też powodu postanowiono dokonać pomiarów stężeń pierwiastków w śledzionie. Śledziona jest narządem, który ma istotny wpływ na procesy odporności organizmu oraz przetwarzanie „starych” i uszkodzonych krwinek.

Nie obserwowano różnic w stężeniu wanadu w śledzionie pomiędzy grupą zdrową a diabetyczną. Nie zanotowano również statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami, którym podano organiczne związki wanadu [H10]. Zwierzęta, którym podawano badane związki wanadu, miały w swych śledzionach znacznie wyższe stężenia tego pierwiastka w porównaniu do zwierząt, które go nie otrzymywały. Wzrost ten był rzędu 40-60 razy i był najwyższy spośród badanych organów [H8-H10]. Świadczy to o dużej akumulacji wanadu przez śledzionę.

Pomiędzy grupami kontrolną zdrową a diabetyczną nie obserwowano różnic w poziomie żelaza w śledzionie badanych zwierząt [H10]. Zanotowano natomiast statystycznie istotny wzrost poziomu tego pierwiastka w czterech z pięciu grup zwierząt diabetycznych, którym podawano testowane związki wanadu [H10]. Wzrost poziomu żelaza w tym organie jest powiązany ze wzrostem odsetka komórek linii erytrocytarnej w szpiku kostnym [H3] co może sugerować skrócenie czasu życia obwodowych krwinek czerwonych po podaniu związków wanadu.

Jak we wcześniejszym przypadkach (nerki) [H9] obserwowano obniżenie stężenia tego pierwiastka u zwierząt z cukrzycą typu 1 w stosunku do grupy kontrolnej zdrowej. Podanie testowanych, organicznych związków wanadu szczurom z cukrzycą, statystycznie istotnie podnosiło poziom cynku w stosunku do grupy zwierząt cukrzycowych, którym nie podano badanych związków [H10].

W przypadku pozostałych pierwiastków (wapnia, potasu, miedzi, manganu) nie obserwowano statystycznie istotnych zmian związanych z podażą testowanych związków wanadu, ani z cukrzycą [H10]. Prawdopodobnie stężenia tych pierwiastków nie są związane z rozwojem cukrzycy typu 1 spowodowanej streptozotocyną, ani z wanadem w podanej dawce [H10].

Jak wykazały powyższe dane, dla trzech narządów: trzustki, nerki i śledziony, podanie badanych, organicznych związków wanadu, znacząco wpływało na poziomy innych pierwiastków w badanych organach. Najwyższy wzrost poziomu wanadu w stosunku do grupy kontrolnej obserwowano w śledzionie (40-60 x), następnie w nerce (ok. 20 x), a najniższy, ale wciąż statystycznie istotny w trzustce (7 – 8 x). W przypadku cynku statystycznie istotne zmiany są obserwowane w każdym z analizowanych organów. Testowane związki wanadu, zwłaszcza w przypadku cynku, statystycznie istotnie podnosiły poziom tego pierwiastka w trzustce [H8], a obniżały w nerce [H9] i śledzionie [H10]. Cynk jest jednym z mikroelementów, który wpływa na proces biosyntezy i sekrecji insuliny w komórkach beta trzustki. Być może jednym z mechanizmów, który jest związany z aktywnością przeciwcukrzycową związków wanadu, jest jego wpływ na zawartość cynku w trzustce [H8]. Duże zmiany związane z poziomem pierwiastków odnotowano w nerce. Dotyczyły one takich pierwiastków, jak miedź, cynk i mangan [H9]. Enzym dysmutaza ponadtlenkowa [46], w zależności od izoforny SOD-1 i SOD-3 lub SOD-2, zawiera odpowiednio miedź i cynk lub mangan. Zmiany stężeń tych trzech pierwiastków mogą wpływać na zmiany aktywności tego enzymu. W chwili przeprowadzania eksperymentu [H8-H10] nie wiadomo, jakie będą wyniki, i nie przewidywano pomiarów aktywności tego enzymu. Jednakże zaobserwowane zmiany aktywności innych enzymów w tkankach,

Organiczne kompleksy wanadu - aktywność w wybranych modelach *in vivo*

obserwowane po podaniu testowanych związków wanadu, również mogą mieć źródło w obserwowanych zmianach poziomu tych trzech pierwiastków [H5-H7]. W każdym z badanych organów obserwowane zmiany stężeń oznaczanych pierwiastków różniły się pomiędzy sobą. Przedstawienie pełnego obrazu tych zmian i ustalenie wzajemnych zależności, będzie możliwe po przeprowadzeniu kolejnych, rozleglejszych badań na większej liczbie narządów wraz z oznaczeniem aktywności kluczowych enzymów związanych ze stresem oksydacyjnym: SOD, GPx i katalazy.

2.6. Podsumowanie

Jak wskazują powyższe rezultaty przeprowadzonych badań, aktywność biologiczna związków wanadu z ligandami organicznymi jest wielokierunkowa. Manifestuje się ona nie tylko aktywnością przeciwcukrzycową, co było przedmiotem części mojego przewodu doktorskiego, ale szeregiem innych mało znanych oddziaływań. Model myszy NZO sprawdził się w badaniu aktywności przeciwcukrzycowej organicznych związków wanadu i potwierdził możliwość jego zastosowania w badaniu aktywności przeciwcukrzycowej także innych organicznych związków wanadu [H1]. Takie prace zostały wykonane dla kilkunastu organicznych związków wanadu podczas realizacji projektu „Kompleksy wanadu - innowacyjne metalofarmaceutyki w leczeniu cukrzycy”. Wykazano w nich wpływ podaży wanadu z ligandem bipyrydynowym na wzrost zapotrzebowania na energię niezbędną do przyrostu masy ciała [H2]. Obserwacja ta może być pomocna w opracowaniu w przyszłości nowych preparatów do walki z otyłością. Jednak nie wszystkie zmiany, które obserwowano podczas podaży testowanego związku wanadu, są korzystne. Niepokojący jest wzrost odsetka komórek linii erytrocytarnej po podaniu związku wanadu z bipyrydyną [H3]. Może to świadczyć o negatywnym wpływie tego związku na długość życia czerwonych krwinek we krwi obwodowej. Potwierdzeniem pośrednim tej obserwacji jest zwiększone stężenie żelaza w śledzionie [H10]. Śledziona jest tym narządem, w którym są niszczone przez organizm zużyte lub nieprawidłowe czerwone krwinki. Badania biodostępności wanadu z ligandami bipyrydynowymi [H4] potwierdziły wyznaczoną przez innych badaczy [47] wyższą biodostępność związków organicznych w stosunku do związku nieorganicznego, jakim był $VOSO_4$. Badane, organiczne związki wanadu wykazały również wpływ na wybrane parametry stresu oksydacyjnego w organach zwierząt po 5 tygodniach ich doustnego podawania [H5-H7]. Jest wielce prawdopodobne, że obserwowane zmiany w aktywności enzymów, zwłaszcza w organach [H9], są spowodowane przez zmiany stężeń badanych pierwiastków wywołane podażą badanych związków wanadu. W przeprowadzonych pomiarach wykazano statystycznie istotne zmiany w poziomach cynku, miedzi i manganu w nerce [H9]. Są to pierwiastki decydujące o aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, co w konsekwencji może decydować o parametrach stresu oksydacyjnego w innych organach. Również zaobserwowano bardzo istotny wpływ podaży testowanych związków wanadu na poziom cynku w badanych organach, co może mieć ścisły związek z aktywnością przeciwcukrzycową wanadu. W trzustce poziom cynku ulegał podwyższeniu po podaniu związków wanadu [H8], a w nerce i śledzionie ulegał obniżeniu [H9, H10].

Spośród badanych związków wanadu, związek z ligandem bipyrydynowym, został najszerszej przebadany w różnych modelach doświadczalnych [H1-H10], wykazując szerokie spektrum aktywności biologicznej. Niezbędne są dalsze badania nad tym związkiem ze względu na potencjalne możliwości wykorzystania go w terapii i profilaktyce kilku chorób,

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

między innymi otyłości, cukrzycy czy też czerwienicy. Jednakże konieczne są dalsze badania naukowe na bazie już poczynionych obserwacji.

2.7. Perspektywy na przyszłość

Uzyskane podczas wykonywania badań rezultaty wskazują na wielokierunkowe działanie organicznych związków wanadu. Jednak wiele z tych obserwacji wymaga dalszych badań, celem wyjaśnienia mechanizmów leżących u ich podstaw. Część takich prac jest już wykonana, ale głównie w odniesieniu do wybranych narządów lub określonych linii komórkowych. Obserwacje dotyczące wzajemnych interakcji zachodzących w obrębie poszczególnych narządów oraz homeostazy ustrojowej po podaniu związków wanadu w dawkach terapeutycznych, nie są jeszcze pełne. Aby uzupełnić braki wiedzy w tym obszarze, należałoby zaplanować i wykonać szereg eksperymentów. W pierwszej kolejności wskazane jest przeprowadzenie wielopierwiastkowej analizy stężeń we wszystkich narządach wraz z oznaczaniem aktywności kluczowych enzymów tkankowych oraz z pełną analizą biochemiczną w surowicy. Uzyskane wyniki należałoby poddać analizie komputerowej uzupełnionej o dane z modelowania metabolizmu tych związków w badaniach *in silico*. Należy również pamiętać, że nie tylko sam związek wanadu, ale również jego organiczny ligand może mieć wpływ na metabolizm tkankowy. Dlatego też wraz z podawaniem związków wanadu, powinno się jako dodatkową grupę kontrolną dołożyć grupę zwierząt, którym podawano by jedynie organiczną komponentę badanych związków. Za słuszością tego pomysłu przemawiają nieopublikowane jeszcze wyniki prac własnych, w których stwierdzono wazodylatoryjne działanie organicznego związku wanadu, w przeciwieństwie do wazokonstrykcyjnego działania substratów użytych do jego syntezy.

Bardzo ważnym krokiem jest oznaczenie biodostępności nowych związków wanadu ze światła przewodu pokarmowego. Obserwowane różnice wchłaniania wanadu przez komórki różnych linii (we wspomnianych wcześniej badaniach, w których uczestniczyłem) pośrednio wskazują na możliwą dużą dysproporcję pomiędzy związkami w ich biodostępności.

Kolejnym interesującym kierunkiem badań jest analiza wpływu podaży organicznych związków wanadu na długość życia krwinek czerwonych we krwi obwodowej. Taki eksperyment pozwoli wyjaśnić, które związki i w jakim stopniu wpływają na obraz krwi obwodowej. Potwierdzają to obserwacje z realizowanego przeze mnie projektu badawczego „Kompleksy wanadu - innowacyjne metalofarmaceutyki w leczeniu cukrzycy”, w którym obserwowano znaczne różnice pomiędzy badanymi związkami a ich wpływem na morfologię krwi.

Są to przykłady możliwych kierunków badań, które usystematyzują uzyskaną wiedzę o aktywności biologicznej organicznych związków wanadu i pozwolą odpowiedzieć, czy mogą one być w przyszłości stosowane w profilaktyce i wspomaganiu leczenia niektórych chorób, bez obaw związanych z ich toksycznością.

2.8. Inna działalność naukowa związana z pracą habilitacyjną

Brałem czynny udział w pracach badawczych podczas realizacji projektu POIG „Kompleksy wanadu - innowacyjne metalofarmaceutyki w leczeniu cukrzycy”,

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

w którym byłem kierownikiem zadania „Ocena działania przeciwcukrzycowego związków wanadu w modelu *in vivo*”. W zadaniu tym testowano na zwierzętach (myszy NZO) aktywność przeciwcukrzycową 15 nowych organicznych związków wanadu, które były najbardziej aktywne w badaniach przesiewowych *in vitro*. W kolejnym zadaniu realizowanego projektu, opracowałem metodykę pomiarów wchłaniania wanadu przez komórki czterech linii (miocyty, hepatocyty, adipocyty i komórki beta trzustki). Wykonałem łącznie pomiary dla ponad 80 nowych organicznych związków wanadu. W chwili obecnej wszystkie wyniki tych badań są zastrzeżone.

2.9. Analiza bibliometryczna

Liczba cytowań	350
Współczynnik Hirscha	10
Łączna punktacja IF	27,941
KBN/MNiSW	353
IC	35,18

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

3. Działalność dydaktyczno - wychowawcza.

1. Od roku 2004 do chwili obecnej byłem opiekunem ukończonych 24 prac magisterskich. Jedną z tych prac „Składniki bioaktywne w różnych częściach morfotycznych derenia jadalnego” w roku 2009 uzyskała III miejsce w konkursie prac magisterskich, a kolejna „Wpływ różnych dodatków do paszy szczurów na obraz morfotyczny szpiku kostnego” w roku 2011 została wyróżniona.
2. Prowadzę zajęcia praktyczne oraz seminaria ze studentami 4 roku farmacji z przedmiotu „Bromatologia”. Czynnie uczestniczę w prowadzeniu zajęć fakultatywnych ze studentami różnych lat Wydziału Farmaceutycznego kierunków farmacja, analityka medyczna i kosmetologia oraz Wydziału Lekarskiego kierunku dietetyka z następujących tematów:
 - a) Dietetyka - żywienie człowieka zdrowego i chorego - IV r. Farmacja, sem. VIII,
 - b) Dietetyka – zasady żywieniowe w wybranych jednostkach chorobowych - IV r. Farmacja, sem. VII,
 - c) Kontrola jakości żywności – II r. Analityka Medyczna, sem. IV,
 - d) Otyłość jako problem medyczny i estetyczny - II r. Kosmetologia stacj. i niestacj. sem. III,
 - e) Otyłość jako problem społeczny oraz czynnik ryzyka wielu schorzeń - III r. Farmacja sem VI,
 - f) Promocja zdrowia – I r. Kosmetologia stacj. i niestacj; sem. II,
 - g) Analiza i ocena jakości żywności – II r. Dietetyka, sem. IV,
 - h) Żywność modyfikowana genetycznie – II r . Analityka Medyczna, sem. IV.
3. Uczestniczę również czynnie w programie ERASMUS, przyjmując i opiekując się studentami z różnych krajów. Na chwilę obecną byłem opiekunem 4 studentów z Włoch, 2 z Francji oraz 7 z Turcji.
4. W ramach programu ERASMUS dla pracowników miałem wykłady i seminaria z tematów dotyczących cukrzycy i zastosowania modeli zwierzęcych w badaniach nad cukrzycą
 - a) dwukrotnie we Francji (20-26.09.2009 oraz 26.05-1.06.2013),
 - b) jeden raz we Włoszech (28.04-02.05.2014).
5. Jestem współautorem materiałów szkoleniowych z zakresu „Farmacja kliniczna - europejski program studiów podyplomowych (wykaz zagadnień)” wydanych w języku polskim i angielskim.
6. Aktywnie uczestniczę w doborze tematyki prac magisterskich prowadzonych w Zakładzie Bromatologii, nie tylko pod moją opieką.
7. Pomagam w pracach badawczych 3 doktorantom z innych jednostek Wydziału Farmaceutycznego i Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie:
 - Katedra Toksykologii UJ CM – oznaczanie parametrów biochemicznych w surowicy zwierząt, prace eksperymentalne przy zwierzętach
 - Zakład Radioligandów UJ CM – oznaczanie cynku, miedzi, wapnia i magnezu w surowicy zwierząt

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

- Pracownia Neurobiologii Pierwiastków Śladowych, Instytut Farmakologii PAN w Krakowie –oznaczanie wapnia i magnezu w strukturach mózgowych

4. Działalność organizacyjna

1. Brałem trzykrotnie czynny udział w przygotowaniach i organizacji Festiwalu Nauki w Krakowie (2006-2008).
2. Organizowałem i przeprowadzałem warsztaty pokazowe z zakresu chemii i nauk żywieniowych dla dzieci ze szkół podstawowych.
3. Byłem członkiem Komitetu Organizacyjnego XXIII Ogólnopolskiego Sympozjum Bromatologicznego organizowanego w 2014 roku w Krakowie.
4. Uczestniczyłem w nowocześniejszym programie nauczania z zakresu bromatologii poprzez modyfikację programu zajęć, adekwatną do obecnego stanu wiedzy i stosowanych metod badawczych.
5. Jestem członkiem Komisji ds. Przedsiębiorczości i Innowacji Sejmiku Województwa Małopolskiego.
6. Przygotowanie i adaptacja do warunków na Wydziale Farmaceutycznym UJ CM metodyki sekrecji insuliny przez izolowaną trzustkę – za zgodą profesora Gerarda Crosa z Université Montpellier1 (mojego promotora francuskiego doktoratu)
7. Wykonuję prace badawcze (pomiar pierwiastków, parametrów biochemicznych) dla doktorantów Wydziału Farmaceutycznego UJ CM
8. W chwili obecnej projektuję urządzenie do prób wysiłkowych dla zwierząt laboratoryjnych.
9. Kierowanie i prowadzenie prac badawczych na zwierzętach dla całego Zakładu Bromatologii na podstawie indywidualnej licencji do prac ze zwierzętami.

5. Inna działalność naukowo –badawcza

1. Jestem stypendystą umowy rządowej pomiędzy Polską a Francją, której rezultatem było otrzymanie tytułu doktora Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz Université Montpellier1 we Francji.
2. Na chwilę obecną jestem autorem recenzji do następujących czasopism naukowych
 - a) Acta Biochim Pol Lista A (IF = 1,595) – dwie recenzje
 - b) International Journal of Medicine and Medical Sciences (IF = 0,1667) 4 recenzje
 - c) International Journal of Nutrition and Metabolism - jedna recenzja
 - d) Journal of Physiology and Pharmacology (IF = 1,892) - jedna recenzja
 - e) Alkoholizm i Narkomania (6 pkt ministerialnych) – 2 recenzje
 - f) Bull Vet Inst Pulawy (IF = 0,463) – 4 recenzje
 - g) Bioinorganic Chemistry and Applications (IF = 1,301) - 1 recenzja
 - h) Journal of Medicinal Food (IF=1,872) – 1 recenzja
 - i) Journal of Environmental and Public Health – 1 recenzja
 - j) Recenzent 1 projektu programu POIG
 - k) Recenzent projektów w ramach II Osi Priorytetowej MRPO 2007-2013 (Fundusze Europejskie w Małopolsce) – 12 recenzji

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

- 1) Recenzent Małopolskiego programu stypendialnego DOCTUS – 18 recenzji.
3. Czynny udział od roku 2003 do chwili obecnej w 33 międzynarodowych konferencjach naukowych.
4. Czynny udział od roku 2003 do chwili obecnej w 30 krajowych konferencjach naukowych.
5. Udział w projektach badawczych pozauczelnianych:
 - a) 1992-1994 Analiza poziomu składników mineralnych w żywności oraz we włosach ludzkich – wskaźnikiem stopnia skażenia środowiska, projekt nr 4 1496 91 01 – wykonawca projektu
 - b) 1994 –1996 Próba określenia korelacji pomiędzy zawartością ołowiu we włosach i krwi dzieci, projekt nr 4 S404 054 06 – wykonawca projektu
 - c) 2004-2006 Weryfikacja zasad wytwarzania i wykorzystania żywności bogatej w naturalne antyoksydanty pod względem jej działania prozdrowotnego, projekt nr PBZ-KBN-093/P06/200 – wykonawca projektu
 - d) 2009 Właściwości prozdrowotne produktów i przetworów uzyskanych metodami konwencjonalnymi i ekologicznymi - analiza porównawcza, projekt nr RR-re-401-25-173/09 – główny wykonawca
 - e) 2009 – 2013 Kompleksy wanadu - innowacyjne metalofarmaceutyki w leczeniu cukrzycy, projekt nr POIG.01.03.01-12-174/09 – kierownik badań *in vivo*
 - f) 2010-2013 Wybrane aspekty odżywiania mineralnego winorośli (*Vitis sp. L.*) oraz ich wpływ na wzrost, plon, wartość biologiczną owoców oraz odporność na mróz, projekt nr N N310 163338 – główny wykonawca
 - g) 2013-2014 Wytwarzanie odmian i klonów hodowlanych roślin jagodowych oraz ocena ich wartości produkcyjnych – kierownik i główny wykonawca

6. Piśmiennictwo

1. Datta S, Banerjee P, Banerjee RD, Sarkar GM, Saha SK, Dey K, Maiti RK, Sen SK, Bhar JK. Antimicrobial, insect sterilizing and ovicidal activity of some oxovanadium(IV) and oxo-vanadium(V) complexes. *Agents Actions*. 1982 Oct;12(4):543-51.
2. Jandhyala BS, Hom GJ. Minireview: physiological and pharmacological properties of vanadium. *Life Sci*. 1983 Oct 3;33(14):1325-40.
3. Jaspers I, Samet JM, Erzurum S, Reed W. Vanadium-induced kappaB-dependent transcription depends upon peroxide-induced activation of the p38 mitogen-activated protein kinase. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000 Jul;23(1):95-102.
4. Ghosh P, Ghosh S, Navara C, Narla RK, Benyumov A, Uckun FM. X-ray structure, solution properties, and biological activity profile of vanadocene(IV) acetylacetonate complex,. *J Inorg Biochem*. 2001 Apr;84(3-4):241-53.
5. Williams PA, Etcheverry SB, Barrio DA, Baran EJ. Synthesis, characterization, and biological activity of oxovanadium(IV) complexes with polyalcohols. *Carbohydr Res*. 2006 May 1;341(6):717-24.

Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo*

6. Uyama T, Yamamoto K, Kanamori K, Michibata H. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in the Pentose Phosphate Pathway Is Localized in Vanadocytes of the Vanadium-Rich Ascidian, *Ascidia sydneiensis samea*. *Zoolog Sci.* 1998 Aug 1;15(4):441-6. doi: 10.2108/0289-0003(1998)15[441:GDITPP]2.0.CO;2.
7. Yamaguchi N, Amakawa Y, Yamada H, Ueki T, Michibata H. Localization of vanabins, vanadium-binding proteins, in the blood cells of the vanadium-rich ascidian, *Ascidia sydneiensis samea*. *Zoolog Sci.* 2006 Oct;23(10):909-15.
8. Sánchez-González C, López-Chaves C, Trenzado CE, Aranda P, López-Jurado M, Gómez-Aracena J, Montes-Bayón M, Sanz-Medel A, Llopis J. Changes in iron metabolism and oxidative status in STZ-induced diabetic rats treated with bis(maltolato) oxovanadium (IV) as an antidiabetic agent. *ScientificWorldJournal.* 2014 Jan 5;2014:706074. doi: 10.1155/2014/706074. eCollection 2014.
9. Passadouro M, Metelo AM, Melão AS, Pedro JR, Faneca H, Carvalho E, Castro MM. Study of the antidiabetic capacity of the VO(dmpp)₂ complex. *J Inorg Biochem.* 2010 Sep;104(9):987-92. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2010.05.004. Epub 2010 May 15.
10. Meyerovitch J, Farfel Z, Sack J, Shechter Y. Oral administration of vanadate normalizes blood glucose levels in streptozotocin-treated rats. Characterization and mode of action. *J Biol Chem.* 1987 May 15;262(14):6658-62.
11. Hu R, He C, Liu J, Wu Y, Li J, Feng Z, Huang J, Xi XG, Wu Z. Effects of insulin-mimetic vanadyl-poly(γ -glutamic acid) complex on diabetic rat model. *J Pharm Sci.* 2010 Jul;99(7):3041-7. doi: 10.1002/jps.22071.
12. Nielsen FH. How should dietary guidance be given for mineral elements with beneficial actions or suspected of being essential? *J Nutr.* 1996 Sep;126(9 Suppl):2377S-2385S.
13. Anke M, Illing-Günther H, Schäfer U. Recent progress of essentiality of the ultrace element vanadium in the nutrition of animal and man. *Biomed Res Trace Elements* 2005 16(3):208-214
14. Nriagu JP. Vanadium in the environment. Part 2: Health effects. John Wiley and sons, New York Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto 1998
15. Liu TT, Liu YJ, Wang Q, Yang XG, Wang K. Reactive-oxygen-species-mediated Cdc25C degradation results in differential antiproliferative activities of vanadate, tungstate, and molybdate in the PC-3 human prostate cancer cell line. *J Biol Inorg Chem.* 2012 Feb;17(2):311-20. doi: 10.1007/s00775-011-0852-1.
16. Petanidis S, Kioseoglou E, Hadzopoulou-Cladaras M, Salifoglou A. Novel ternary vanadium-betaine-peroxido species suppresses H-ras and matrix metalloproteinase-2 expression by increasing reactive oxygen species-mediated apoptosis in cancer cells. *Cancer Lett.* 2013 Jul 28;335(2):387-96. doi: 10.1016/j.canlet.2013.02.052.
17. Strianese M, Basile A, Mazzone A, Morello S, Turco MC, Pellicchia C. Therapeutic potential of a pyridoxal-based vanadium(IV) complex showing selective cytotoxicity for cancer versus healthy cells. *J Cell Physiol.* 2013 Nov;228(11):2202-9. doi: 10.1002/jcp.24385.
18. Leon IE, Di Virgilio AL, Porro V, Muglia CI, Naso LG, Williams PA, Bollati-Fogolin M, Etcheverry SB. Antitumor properties of a vanadyl(IV) complex with the flavonoid chrysin [VO(chrysin)₂EtOH]₂ in a human osteosarcoma model: the role of oxidative stress and apoptosis. *Dalton Trans.* 2013 Sep 7;42(33):11868-80. doi: 10.1039/c3dt50524c.

Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo*

19. Musk AW, Tees JG. Asthma caused by occupational exposure to vanadium compounds. *Med J Aust.* 1982 Feb 20;1(4):183-4.
20. Todaro A, Bronzato R, Buratti M, Colombi A. Acute exposure to vanadium-containing dusts: the health effects and biological monitoring in a group of workers employed in boiler maintenance. *Med Lav.* 1991 Mar-Apr;82(2):142-7.
21. Gruzewska K, Michno A, Pawelczyk T, Bielarczyk H. Essentiality and toxicity of vanadium supplements in health and pathology. *J Physiol Pharmacol.* 2014 Oct;65(5):603-11.
22. Lyonnet, B.; Martz, M.; and Martin, E. *La Presse Médicale* 1899, 32, 191
23. Joshi SR, Parikh RM, Das AK. Insulin – history, biochemistry, physiology and pharmacology. *J Assoc Physicians India.* 2007 Jul;55 Suppl:19-25. (<http://japi.org/july2007/suppliment/19.pdf>)
24. Heyliger CE, Tahiliani AG, McNeill JH. Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. *Science.* 1985 Mar 22;227(4693):1474-7.
25. Meyerovitch J, Farfel Z, Sack J, Shechter Y. Oral administration of vanadate normalizes blood glucose levels in streptozotocin-treated rats. Characterization and mode of action. Oral administration of vanadate normalizes blood glucose levels in streptozotocin-treated rats. Characterization and mode of action.
26. Rehder D. Vanadium. Its role for humans. *Met Ions Life Sci.* 2013;13:139-69. doi: 10.1007/978-94-007-7500-8_5.
27. Rehder D. The potentiality of vanadium in medicinal applications. *Future Med Chem.* 2012 Sep;4(14):1823-37. doi: 10.4155/fmc.12.103.
28. Yuen VG, Orvig C, McNeill JH. Glucose-lowering effects of a new organic vanadium complex, bis(maltolato)oxovanadium(IV). *Can J Physiol Pharmacol.* 1993 Mar-Apr;71(3-4):263-9.
29. Thompson KH, Lichter J, LeBel C, Scaife MC, McNeill JH, Orvig C. Vanadium treatment of type 2 diabetes: a view to the future. *J Inorg Biochem.* 2009 Apr;103(4):554-8. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2008.12.003.
30. Liu Y, Chen DD, Xing YH, Ge N, Zhang Y, Liu J, Zou W. A new oxovanadium complex enhances renal function by improving insulin signaling pathway in diabetic mice. *J Diabetes Complications.* 2014 May-Jun;28(3):265-72. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2014.02.001.
31. Pillai SI, Subramanian SP, Kandaswamy M. A novel insulin mimetic vanadium-flavonol complex: synthesis, characterization and *in vivo* evaluation in STZ-induced rats. *Eur J Med Chem.* 2013 May;63:109-17. doi: 10.1016/j.ejmech.2013.02.002.
32. Willsky GR, Chi LH, Godzala M 3rd, Kostyniak PJ, Smee JJ, Trujillo AM, Alfano JA, Ding W, Hu Z, Crans DC. Anti-diabetic effects of a series of vanadium dipicolinate complexes in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Coord Chem Rev.* 2011 Oct;255(19-20):2258-2269.
33. Wei YB, Yang XD. Synthesis, characterization and anti-diabetic therapeutic potential of a new benzyl acid-derivatized kojic acid vanadyl complex. *Biometals.* 2012 Dec;25(6):1261-8. doi: 10.1007/s10534-012-9587-x.
34. Wei Y, Zhang C, Zhao P, Yang X, Wang K. A new salicylic acid-derivatized kojic acid vanadyl complex: synthesis, characterization and anti-diabetic therapeutic potential. *J Inorg Biochem.* 2011 Aug;105(8):1081-5. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2011.05.008.

**Organiczne kompleksy wanadu
- aktywność w wybranych modelach *in vivo***

35. Krosniak M, Zachwieja Z, Filipek B, Zygmunt M, Grybos R. Effect of oxovanadium(IV) complexes on nondiabetic and streptozotocin-diabetic rats. Arch Pharm (Weinheim). 2001 Dec;334(12):388-92.
36. French RJ, Jones PJ. Role of vanadium in nutrition: metabolism, essentiality and dietary considerations. Life Sci. 1993;52(4):339-46.
37. Al-Bayati MA, Raabe OG, Giri SN, Knaan JB. Distribution of vanadate in the rat following subcutaneous and oral routes of administration. J Am Coll Toxicol. 1991 10:233-41.
38. Conklin AW, Skinner SC, Felten TL, Sanders CL. Clearance and distribution of intratracheally instilled vanadium compounds in the rat. Toxicol Lett. 1982 Apr;11(1-2):199-203.
39. Parker RD, Sharma RP. Accumulation and depletion of vanadium in selected tissues of rats treated with vanadyl sulfate and sodium orthovanadate. J Environ Pathol Toxicol. 1978 Nov-Dec;2(2):235-45.
40. Merritt K, Brown SA. Distribution of titanium and vanadium following repeated injection of high-dose salts. J Biomed Mater Res. 1995 Oct;29(10):1175-8.
41. Facchini DM, Yuen VG, Battell ML, McNeill JH, Grynblas MD. The effects of vanadium treatment on bone in diabetic and non-diabetic rats. Bone. 2006 Mar;38(3):368-77.
42. Chausmer AB. Zinc, insulin and diabetes. J Am Coll Nutr. 1998 Apr;17(2):109-15.
43. Wilson GL, Leiter EH. Streptozotocin interactions with pancreatic beta cells and the induction of insulin-dependent diabetes. Curr Top Microbiol Immunol. 1990;156:27-54.
44. Orhan N, Berkkan A, Deliorman Orhan D, Aslan M, Ergun F. Effects of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* on tissue lipid peroxidation, trace elements (Cu, Zn, Fe) and blood glucose levels in experimental diabetes. J Ethnopharmacol. 2011 Jan 27;133(2):759-64. doi: 10.1016/j.jep.2010.11.002.
45. Dogru Pekiner B, Daş Evcimen N, Ulusu NN, Bali M, Karasu C. Effects of vitamin E on microsomal Ca(2+) -ATPase activity and calcium levels in streptozotocin-induced diabetic rat kidney. Cell Biochem Funct. 2003 Jun;21(2):177-82.
46. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. Free Radic Biol Med. 2002 Aug 1;33(3):337-49.
47. Fugono J, Yasui H, Sakurai H. Pharmacokinetic study on gastrointestinal absorption of insulinomimetic vanadyl complexes in rats by ESR spectroscopy. J Pharm Pharmacol. 2001 Sep;53(9):1247-55.

