

Autoreferat

dr n. wet. Marta Rybska

Katedra Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych

Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań, 2025

1. Imię i nazwisko.

Marta Rybska (Jackowska), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4563-3798>

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- **Doktor (2013)** – stopień doktora nauk weterynaryjnych, specjalność rozród zwierząt nadany przez Radę Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie w dniu 26 kwietnia 2013 roku. Tytuł rozprawy doktorskiej: *Analiza ekspresji genów kodujących rodzinę transformujących czynników wzrostu (TGF- β) u świń w komórkach jajowych oraz w ścianie pęcherzyków jajnikowych prawidłowych i wykazujących zmiany patologiczne*. Praca doktorska powstała pod opieką prof. dr hab. Jędrzeja M. Jaśkowskiego
- **Magister (2008)** – magister biologii, specjalność biologia molekularna, Wydział Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu w dniu 16 czerwca 2008 roku. Praca magisterska wykonywana w Katedrze i Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej na Uniwersytecie Medycznym im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu pod opieką prof. dr hab. Pawła Jagodzińskiego.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

- Od 1.10.2013 – obecnie – **adiunkt** w Katedrze Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych (dawniej Instytut Weterynarii) na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach (przed 2015 Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt) Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
- 1.10.2008 – 26.04.2013 – **doktorant** w Katedrze Weterynarii Rolniczej na Wydziale Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
- 1.10.2008 – 31.09.2010 – **starszy referent techniczny** (wymiar 0,5 etatu) w Katedrze Weterynarii Rolniczej na Wydziale Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Przerwy związane z urodzeniem i opieką nad dziećmi:

- urlop macierzyński 05.2015-10.2016
- urlop macierzyński 04.2017-01.2019
- urlop macierzyński 09.2020-11.2021

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Molekularne czynniki regulujące funkcje narządów rozrodczych samicy psa domowego (*Canis familiaris*)

4.2. Wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

1) Rybska M, Woźna-Wysocka M, Wąsowska B, Skrzypski M, Kubiak M, Błaszak B, Łukomska A, Nowak T, Jaśkowski JM. Expression of transforming growth factor beta isoforms in canine endometrium with cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex. *Animals* (Basel). 2021 Jun 21;11(6):1844.

<https://doi.org/10.3390/ani11061844>

IF'2021: 3.231; IF'-5 letni: 3.312; punkty MEiN: 100 pkt.

Udział własny i wkład merytoryczny: zaprojektowanie badań, przygotowanie materiału badawczego, przeprowadzenie analiz, opracowanie wyników oraz sformułowanie wniosków, przygotowanie pierwszej wersji manuskryptu i odpowiedzi na recenzje, udział w pozyskiwaniu finansowania. Autor pierwszy i korespondencyjny. Swój udział szacuję na 75 %.

2) Rybska M, Billert M, Skrzypski M, Kubiak M, Woźna-Wysocka M, Łukomska A, Nowak T, Błaszczuk-Cichoszewska J, Pomorska-Mól M, Wąsowska B. Canine cystic endometrial hyperplasia and pyometra may downregulate neuropeptide phoenixin and GPR173 receptor expression. *Animal Reproduction Science*, 2022 Mar;238:106931.

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.106931>

IF'2022: 2.2; IF'-5 letni: 2.3; punkty MEiN: 140 pkt.

Udział własny i wkład merytoryczny: opracowanie koncepcji badań, przygotowanie materiału badawczego, wykonanie analiz, opracowanie wyników oraz sformułowanie wniosków, przygotowanie pierwszej wersji manuskryptu i odpowiedzi na recenzje, udział w pozyskiwaniu finansowania. Autor pierwszy i korespondencyjny. Swój udział szacuję na 70%.

3) Rybska M, Billert M, Skrzypski M, Wojciechowicz T, Kubiak M, Łukomska A, Nowak T, Włodarek J, Wąsowska B. Expression and localization of the neuropeptide phoenixin-14 and its receptor GRP173 in the canine reproductive organs and periovarian adipose tissue. *Animal Reproduction Science*, 2023 Aug;255:107282.

<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.107282>

IF'2023: 2.2 ; IF'-5 letni: 2.1; punkty MEiN: 140 pkt.

Udział własny i wkład merytoryczny: opracowanie koncepcji badań, przygotowanie materiału badawczego, wykonanie analiz, opracowanie wyników oraz sformułowanie wniosków, przygotowanie pierwszej wersji manuskryptu i odpowiedzi na recenzje, udział w pozyskiwaniu finansowania. Autor pierwszy i korespondencyjny. Swój udział szacuję na 75 %.

4) Rybska M, Skrzypski M, Billert M, Wojciechowicz T, Łukomska A, Pawlak P, Nowak T, Pusiak K, Wąsowska B. Nesfatin-1 expression and blood plasma concentration in female dogs suffering from cystic endometrial hyperplasia and pyometra and its possible interaction with phoenixin-14. *BMC Veterinary Research*, 2024 Oct 25;20(1):486.

<https://doi.org/10.1186/s12917-024-04336-w>

IF'2023: 2.3; IF'-5 letni: 2.6; punkty MNiSW: 140 pkt.

Udział własny i wkład merytoryczny: opracowanie koncepcji badań, przygotowanie materiału badawczego, wykonanie analiz, opracowanie wyników oraz sformułowanie wniosków, przygotowanie pierwszej wersji manuskryptu i odpowiedzi na recenzje, udział w pozyskiwaniu finansowania. Autor pierwszy i korespondencyjny. Swój udział szacuję na 70%.

Zestawienie sumaryczne prac przedstawionych w cyklu ilustruje załączona poniżej tabela 1.

Tab.1 Podsumowanie danych naukometrycznych osiągnięcia habilitacyjnego

Pozycja	IF ⁽¹⁾	5-letni IF	Punkty MEiN /MNiSW ⁽²⁾	Liczba cytowań
1	3.231	3.312	100	5
2	2.2	2.3	140	8
3	2.2	2.1	140	2
4	2.3	2.6	140	0
Suma	9.931	10.312	520	15

¹ Wg listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania

² punktacja MEiN/MNiSW, zgodnie z rokiem opublikowania

4.3. Omówienie celu prac stanowiących cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych i osiągniętych wyników

W ciągu ostatnich kilku dekad obserwuje się rosnący trend problemów związanych z rozrodem psów (*łac. Canis familiaris*), co może stanowić istotny problem w hodowli tych zwierząt. Najczęściej diagnozowanymi patologiami macicy, dotyczącymi suki w każdym wieku, są torbielowaty rozrost gruczołów endometrium (*ang. cystic endometrial hyperplasia, CEH*) i ropomacicze [1–4]. Obie jednostki chorobowe cechuje odmienna etiologia, mogą występować oddzielnie lub współistnieć w macicy suki, tworząc złożony kompleks, który prowadzi do niepłodności. Powyższe patologie, najczęściej są zaburzeniami charakterystycznymi dla fazy *dioestrus* (faza lutealnej) cyklu rujowego, ale sporadycznie mogą być także diagnozowane w fazie *anoestrus* (faza ciszy hormonalnej) [5,6]. Są to jednocześnie najczęściej obserwowane zaburzenia rozrodu u starszych suk (powyżej 7 roku życia), chociaż w ostatnich latach CEH jest coraz częściej zgłaszany również u bardzo młodych samic. Ryzyko wystąpienia ropomacicza u niesterylizowanych suk w wieku 6-10 lat waha się pomiędzy 20 a 50% [6,7].

Etiopatogeneza procesów leżących u podstaw obu patologii układu rozrodczego jest wieloaspektowa i nie do końca wyjaśniona. Zaburzenia hormonalne, pojawiające się wraz z wiekiem samicy, odgrywają znaczącą rolę w patogenezie CEH. Ich konsekwencją może być także podatność macicy na wtórne zakażenia bakteryjne, których następstwem jest ropomacicze u psów [2]. Rozwój ropomacicza zależy od wielu czynników, w tym obecności infekcji bakteryjnych, motoryki macicy, poziomu odporności samicy, zmian hormonalnych oraz predyspozycji genetycznych [3,6,8]. Niedawne badania wykazały, że w przypadkach naturalnie rozwijającego się ropomacicza u psów często występuje inny rodzaj hiperplazji endometrium – pseudołożyskowa hiperplazja endometrium (PEH) [3,4].

Ponadto częstość występowania tego typu schorzeń jest istotnie wyższa u suk w porównaniu z samicami innych gatunków zwierząt i jest związana z powtarzającymi się cyklami rujowymi. Wskazuje to na występowanie specyficznych mechanizmów prowadzących do zaburzeń w funkcjonowaniu endometrium charakterystycznych dla samicy psa domowego. Podczas fazy *dioestrus* progesteron zwiększa aktywność wydzielniczą gruczołów endometrium i promuje proliferację komórek endometrium, zmniejsza kurczliwość mięśnia macicy oraz indukuje zamykanie się szyjki macicy. Ponadto utrzymujący się wysoki poziom progesteronu, powoduje nadmierną proliferację gruczołów endometrium, co prowadzi do przerostu warstwy endometrium i formowania różnej wielkości cyst w błonie śluzowej macicy, rozwija się CEH

[9]. Zwiększa się także podatność narządu na wtórne infekcje bakteryjne i rozwój ropomacicza. Czynniki adhezyjne, związane z hamowaniem populacji leukocytów, hamują miejscową odpowiedź immunologiczną i promują wzrost bakterii. Głównym patogenem odpowiedzialnym za rozwój ropomacicza jest *E. coli* (70% przypadków), ale może być ono również wywołane przez *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas spp.* lub *Proteus spp.* Efekty te mogą występować kumulatywnie z każdym cyklem rujowym, stymulując w ten sposób rozwój zaburzeń i prowadząc w konsekwencji do ropomacicza [2,10].

Zgodnie z obecnym stanem wiedzy, aktywność jajników ma istotny wpływ na rozwój procesów zwyrodnieniowych endometrium [11]. Prawidłowe funkcjonowanie układu rozrodczego zależy - oprócz hormonów produkowanych przez jajniki - od szeregu czynników o szerokim spektrum efektów biologicznych [12,13]. U suk przedłużona ekspozycja na progesteron lub estradiol w nabłonku jajników lub macicy prowadzi do powstania rozległych stanów proliferacyjnych w tych narządach. Niektóre badania wykazały współistnienie zaburzeń jajnika z patologiami macicy [11,14–16]. Najczęstszymi mikroskopowymi zmianami obserwowanymi w jajnikach były hiperplazja w obrębie *rete ovarii* i przekrwienie w obrębie kory jajka czy cysty pęcherzykowe oraz inkluzyjne, podczas gdy współistniejące zmiany w macicy obejmowały hiperplazję endometrium i zwłóknienie tkanki gruczołowej [11].

Zapalenie macicy, w formie ropomacicza jest częstym zaburzeniem rozrodczym u suk, prowadzącym do trwałej utraty płodności. Stanowi także zagrożenie dla zdrowia i życia samic. Do śmierci suk dochodzi zwykle na skutek endotoksemii (zatrucia toksynami bakterii Gram ujemnych) i uszkodzenia narządów miękkich oraz wstrząsu septycznego [6,17]. Najczęściej leczeniem z wyboru tego schorzenia jest zabieg owariohisterektomii polegający na usunięciu macicy i jajników w trybie pilnym i zależnym od stanu klinicznego suki. W przypadku cennych suk hodowlanych lub ze względu na zaawansowany wiek suki, można zastosować także terapie zachowawcze, w oparciu o podawanie algepristonu, prostaglandyn lub kabergoliny. Szacuje się, że ryzyko nawrotu choroby waha się w granicach 10-25% w zależności od zastosowanej terapii [2,6]. W przypadku CEH większość samic nie wykazuje objawów klinicznych, które zazwyczaj towarzyszą rozwojowi ropomacicza. Do najczęstszych objawów ogólnych należą: odwodnienie, poliuria, polidypsja, ból brzucha, anoreksja, wymioty, biegunka, osowiałość, gorączka lub hipotermia oraz wzrost tętna i częstości oddechów. W obrazie morfologicznym krwi widoczna jest leukocytoza z neutrofilią oraz trombocytopenia [18,19].

Zrozumienie czynników regulujących stan zapalny macicy i promujących hiperplazję gruczołów endometrium jest kluczowym aspektem dla ochrony zdrowia suki. Według ostatnich

trendów badawczych, ważnym elementem pozwalającym nie tylko na szczegółową diagnostykę, ale także na określenie mechanizmów rozwoju choroby, jest badanie profilu ekspresji genów wybranych czynników w tkance macicy oraz w jajniku. Większość z tych genów aktywowanych w przebiegu ropomacicza jest związana z chemokinami, cytokinami, aktywacją komórek zapalnych, aktywnością przeciwbakteryjną, układem dopełniacza i mechanizmami wrodzonej odpowiedzi immunologicznej [8,20–23]. Zmiany w poziomie ekspresji poszczególnych genów w tkance macicy mogą być przydatnymi wskaźnikami diagnostycznymi i prognostycznymi dla schorzeń tego narządu [20,24,25]. Jednak nadal trwają prace nad możliwością klinicznego zastosowania otrzymanych wyników i wciąż poszukuje się skutecznego markera genetycznego. Wynikać to może z dużego zróżnicowania psów jako organizmu modelowego. Duża różnorodność ras, zróżnicowanie wiekowe badanych suk, jak i różnice w kondycji ciała skutecznie utrudniają wytypowanie charakterystycznego dla większości osobników czynnika genetycznego wskazującego na rozpoczynający się lub już toczący się proces patologiczny w układzie rozrodczym. Wczesne rozpoznanie nieprawidłowości układu rozrodczego, które często przebiegają bezobjawowo, znacznie ograniczyłoby rozwój bardziej zaawansowanych stanów chorobowych macicy [2,17]. Miałoby to również wpływ na odzyskanie lub przywrócenie prawidłowej płodności u samic oraz mogło przyczynić się do istotnego zmniejszenia liczby zabiegów owariohisterektomii u chorych suk.

Ze względu na szerokie spektrum oddziaływania i pełnione funkcje w organizmie, do szczególnej analizy w tkance macicy oraz jajnika suki wybrano rodzinę cytokin transformujących czynników wzrostu beta (ang. *Transforming growth factor β* , TGF- β) oraz neuropeptydy- feniksyna i nesfatyna-1.

Hipoteza i cel badawczy

Hipoteza badawcza zakładała udział wybranych czynników białkowych, jakimi są transformujące czynniki wzrostu beta (TGF- β) oraz neuropeptydy feniksyna i nesfatyna w funkcjonowaniu jajnika i rozwoju schorzeń macicy u suki.

Celem prezentowanego osiągnięcia naukowego było określenie zmian w profilu ekspresji wybranych czynników, jak cytokiny TGF- β , oraz neuropeptydy- feniksyna i nesfatyna-1 w tkance macicy suk dotkniętych przez torbielowaty rozrost gruczołów endometrium (CEH) lub ropomacicze, w porównaniu do samic klinicznie zdrowych. Dodatkowo analizowano tkankę jajnika, jak i gonadalną tkankę tłuszczową (ang. *periovarian adipose tissue*, PAT), uwzględniając w badaniach także stopień kondycji ciała zwierząt (wskaźnik ang. *Body Condition Score*- BCS, w skali 1-9, według *World Small Animal Veterinary Association*). Utrzymanie właściwej kondycji ciała suki (na poziomie BCS =4-5/9), równoważne z zachowaniem prawidłowej, fizjologicznej masy ciała, jest znaczące w zachowaniu dobrostanu i zdrowia oraz ma istotny wpływ na funkcje reprodukcyjne zwierząt. Biorąc pod uwagę szeroki zakres aktywności wybranych cytokin i neuropeptydów w wielu procesach regulacyjnych, udział wytypowanych czynników w patogenezie chorób macicy-CEH oraz ropomacicza, jak i prawidłowej aktywności jajników u suki, wydaje się wysoce prawdopodobny.

Sformułowano następujące cele badawcze:

1. określenie zmian w profilu ekspresji cytokin TGF- β 1, - β 2 i - β 3 w endometrium suk z potwierdzonym torbielowatym rozrostem gruczołów endometrium i ropomaciczem, w porównaniu do zwierząt klinicznie zdrowych,
2. ocena czy neuropeptyd PNx-14 oraz jej potencjalny receptor GPR173 mogą regulować funkcje endometrium suk cierpiących na CEH lub ropomacicze,
3. określenie zmian w ekspresji Smim20 (białka prekursorowego feniksyny), produkcji białka PNx-14 i jej receptora GRP173 w tkance zdrowego jajnika, cystach jajnikowych oraz gonadalnej tkance tłuszczowej (PAT) i w endometrium suki w zależności od fazy cyklu rujowego,
4. określenie zmian w ekspresji nesfatyny-1 w macicy i jej potencjalnej interakcji z feniksyną u psów cierpiących na CEH lub ropomacicze, z uwzględnieniem kondycji ciała zwierząt (BCS 4-5/9 vs. BCS > 5/9).

Uzyskane wyniki istotnie poszerzyły wiedzę na temat potencjalnego wpływu czynników z rodziny TGF- β oraz neuropeptydów (feniksyny i nesfatyny) na aktywność tkanki układu rozrodczego suki. Dostarczyły także cennych informacji co do etiologii zmian proliferacyjnych w macicy (jak CEH) czy zmian zapalnych (jak ropomacicze). Dodatkowo scharakteryzowano zmiany w ekspresji w/w czynników białkowych w tkance jajnika u samic zdrowych oraz samic z cystami na jajnikach.

Publikacja 1

Rybska M, Woźna-Wysocka M, Wąsowska B, Skrzypski M, Kubiak M, Błaszak B, Łukomska A, Nowak T, Jaśkowski JM. Expression of transforming growth factor beta isoforms in canine endometrium with cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex. *Animals (Basel)*. 2021 Jun 21;11(6):1844.

Transformujące czynniki wzrostu beta (TGF- β) należą do większej rodziny białek zwanej nadrodziną transformującego czynnika wzrostu beta, wielofunkcyjnych cytokin odpowiedzialnych za wiele istotnych procesów w organizmie. Białko TGF- β składa się z trzech izoform: TGF- β 1, TGF- β 2 i TGF- β 3. Wszystkie trzy izoformy TGF- β są kodowane przez różne geny. Geny te wykazują 80% podobieństwa sekwencji i znajdują się na różnych chromosomach, zarówno u psów, jak i u ludzi. U ssaków białka te charakteryzują się niemal 70% identyczną sekwencją aminokwasów o podobnej masie cząsteczkowej: TGF- β 1 (15 kDa), TGF- β 2 (12,5 kDa) i TGF- β 3 (12 kDa) [26,27]. Syntetyzowane są przez komórki różnego pochodzenia i zaangażowane w proces wzrostu, proliferacji, różnicowania oraz migracji komórkowej [28]. Ponadto uczestniczą w procesach formowania i degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, angiogenezy, chemotaksji oraz apoptozy [29–32]. Cytokiny TGF- β produkowane są głównie przez komórki jednojądrzaste, do których należą m.in. aktywowane monocyty czy limfocyty, przez co pełnią ważną rolę w regulacji układu immunologicznego. Istotny wzrost stężenia cytokin odnotowano w miejscach reakcji zapalnej, a immunosupresyjne oraz przeciwzapalne działanie TGF- β 1 zostało potwierdzone w wielu badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* [33,34].

Etiologia procesów leżących u podstaw rozwoju chorób macicy u psów nie została jeszcze w pełni wyjaśniona. Istotnym czynnikiem pozwalającym na określenie pojawiających się zmian proliferacyjnych i degeneracyjnych w macicy, może być badanie profilu ekspresji TGF- β w endometrium. Jak dotąd wykazano, że zaburzenia w syntezie cytokin TGF- β oraz mechanizmie transdukcji sygnału dla tej rodziny białek mogą prowadzić do niekontrolowanej apoptozy komórek. Aktywacja szlaku cytokin TGF- β 1, - β 2 i - β 3 następuje poprzez ten sam system sygnalizacji receptorowej. Kolejno ulegając ekspresji w błonie śluzowej macicy, mogą indukować specyficzne mechanizmy zróżnicowania i przekształcania komórek endometrium u suki, świni czy samicy szczura [26,35,36].

Pojawiające się różnice w ekspresji izoform TGF- β 1, - β 2 i - β 3 w endometrium zależne od fazy cyklu płciowego u różnych gatunków zwierząt, wykazano w licznych badaniach

[25,27,32,35,36]. Głównym miejscem występowania TGF- β 2 jest zrąb endometrium, podczas gdy TGF- β 1 i TGF- β 3 zlokalizowano zarówno w komórkach nabłonka, jak i zrębie błony śluzowej macicy. TGF- β 1 stwierdzano przede wszystkim w gruczołach endometrium [37]. Caron i wsp. [26] potwierdzili także apoptotyczne działanie TGF- β 1 na komórki podstawne endometrium. Z kolei u suki najwyższy poziom ekspresji TGF- β 1 i - β 3 odnotowano w fazie *estrus*, a niższe kolejno w fazie *proestrus*, *dioestrus* oraz *anoestrus*. Otrzymane wyniki sugerują, że obserwowane zmiany mogą być powiązane z hormonalną aktywnością jajników [35]. Dodatkowo, wzrost ekspresji TGF- β 1 w tkance endometrium uznawany jest za potwierdzenie rozwoju zmian patologicznych w błonie śluzowej macicy. Przyjmuje się, że TGF- β 1 hamuje naturalną aktywność NK, indukuje angiogenezę oraz proliferację komórek zrębu endometrium [38]. Wzrost stężenia TGF- β 1 w płynie otrzewnowym kobiet cierpiących na endometriozę, predysponuje ten czynnik wzrostu do miana kluczowych czynników uczestniczących w rozwoju bądź utrzymaniu tej patologii. Cytokiny te nie tylko uczestniczą w inicjacji menstruacji u kobiet poprzez skurcz naczyń krwionośnych, ale również w procesach naprawczych tkanek [29,39]. Co więcej, TGF- β 1 syntetyzowane są przez komórki endometrium oraz makrofagi, przenikając do płynu macicznego, mogą oddziaływać na zarodek w okresie okołomplantacyjnym [37]. Dla fibroblastów cytokiny należące do rodziny TGF- β stanowią czynnik chemotaktyczny, dzięki któremu indukują syntezę kolagenu oraz fibronektyny.

Ze względu na istotny udział omawianych izoform TGF- β w procesach komórkowych związanych z proliferacją, różnicowaniem, angiogenezą i immunomodulacją, zostały one zidentyfikowane jako potencjalne modulatory wielu zmian zachodzących w błonie śluzowej macicy ssaków podczas cyklu płciowego oraz ciąży. Dostępne wyniki sugerują, że zmiany w profilu ekspresji czynników z rodziny TGF- β mogą być charakterystyczne zarówno dla procesu remodelowania macicy podczas poszczególnych faz cyklu rujowego suki [35], jak również być wynikiem rozwoju patologicznych procesów w macicy. Jednak wiedza na temat udziału czynników z rodziny TGF- β w regulacji endometrium samic psów, szczególnie w przypadku rozwoju schorzeń macicy nie była kompletna. **Celem podjętych badań było określenie ekspresji TGF- β 1, - β 2 i - β 3 w endometrium suk dotkniętych torbielowatym rozrostem gruczołów endometrium (CEH) i ropomaciczem w porównaniu do zwierząt ze zdrową tkanką.**

Materiał badawczy stanowiły fragmenty macic pozyskane od 60 osobników w wieku 1-10 lat podczas rutynowych zabiegów ovariohisterektomii. Grupę kontrolną stanowiły młode zwierzęta (grupa CG; w wieku do 3 lat) o zdrowych narządach rozrodczych. Grupy badawcze

stanowiły kolejno starsze suki, powyżej 6 lat, z potwierdzonym CEH oraz osobniki ze zdiagnozowanym ropomaciczem, któremu towarzyszyły także cysty w obrębie endometrium (grupa CEH – Pyometra). Wstępną klasyfikację makroskopową pozyskanego materiału poprzedzało badanie cytologiczne oraz ultrasonograficzne osobników. Wszystkie zwierzęta zakwalifikowane do badań były w fazie *dioestrus*. Ostateczna klasyfikacja opierała się o badanie histopatologiczne, które ostatecznie potwierdzało stadia chorobowe macicy [40,41]. Wyniki wykazały zwiększony poziom ekspresji mRNA TGF- β 1 w endometrium osobników z ropomaciczem w porównaniu do grupy CEH i grupy kontrolnej. Ponadto, sygnał potwierdzający produkcję białka TGF- β 1 zidentyfikowano tylko wyłącznie w endometrium suk z ropomaciczem, a u osobników zdrowych oraz w grupie z CEH nie wykazano jego obecności. Ekspresja mRNA TGF- β 2 była istotnie wyższa w grupie zwierząt z CEH i statystycznie niższa w grupie z potwierdzonym ropomaciczem. Najniższy poziom mRNA TGF- β 3 obserwowano w grupie kontrolnej w porównaniu do grup z CEH czy ropomaciczem. Jednakże w przypadku obu izoform, TGF- β 2 i - β 3 wyniki na poziomie białka nie wykazały już istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami zwierząt. W przypadku TGF- β 2 najwyższy poziom białka zidentyfikowano w grupie zwierząt z ropomaciczem a dla TGF- β 3 w endometrium zwierząt z potwierdzonym CEH.

Dostępna literatura wskazuje, że nadmierna supresja TGF- β 1 wpływa na osłabienie układu odpornościowego i zwiększa podatność na infekcje u kobiet [33]. Ponadto w przewlekłych procesach naprawczych intensywna i długotrwała synteza TGF- β 1 prowadzi do postępującego włóknienia tkanek. Dlatego czynnik ten jest uważany za jeden z najważniejszych mediatorów fibrogenyzy [33,42]. Zwiększona produkcja TGF- β 1 w tkance endometrium uważana jest za podstawę patofizjologii chorób endometrium u kobiet [29,38,43].

W omawianym badaniu na modelu samicy psa, analizowane fragmenty tkanek macic z ropomaciczem charakteryzowały się zaawansowanym procesem zapalnym endometrium, co korespondowało ze wzrostem ekspresji białka TGF- β 1. W badaniach histopatologicznych u suk obserwowano także pewien stopień zwłóknienia tkanki macicy, co może potwierdzać udział TGF- β 1 w procesach zarówno zapalnych, jak i nadmiernym gromadzeniu się włóknistej tkanki łącznej. W przypadku pozostałych izoform, TGF- β 2 lub TGF- β 3, kluczowa jest jednak dalsza analiza w celu ustalenia ich udziału w procesach naprawy endometrium czy nadmiernej proliferacji komórek macicy.

Podsumowując, w wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono:

- ekspresję cytokin TGF- β 1, - β 2, - β 3 na poziomie mRNA oraz białka w tkance endometrium suk zdrowych, oraz ze zdiagnozowanym CEH czy ropomaciczem,

- potencjalnym czynnikiem markerowym, który wskazywałby na powstawanie ropomacicza u suk i potwierdzał rozwój zmian zapalnych w macicy jest izoforma TGF- β 1.

Uzyskane wyniki poszerzają wiedzę na temat czynników molekularnych zaangażowanych w rozwój patogenezy CEH czy ropomacicza u suk. Wyniki wykazały zmiany w ekspresji cytokin TGF- β podczas rozwoju procesu zapalnego i powstawania zmian proliferacyjnych w endometrium suk. Spośród badanych cytokin na szczególną uwagę zasługuje TGF- β 1, który może być użytecznym markerem molekularnym pomocnym w identyfikacji zaburzeń macicy u psów.

Wyniki przedstawione w publikacji nr 1 zrealizowano w ramach projektu 005/RID/2018/19 pn. Wielkopolska Regionalna Inicjatywa Doskonałości w obszarze nauk o życiu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu finansowanego w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2019-2022 oraz częściowo ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu NCN 2013/09/N/NZ5/01835; kierownik projektu dr Magdalena Woźna-Wysocka.

Publikacja 2

Rybska M, Billert M, Skrzypski M, Kubiak M, Woźna-Wysocka M, Łukomska A, Nowak T, Błaszczyk-Cichoszewska J, Pomorska-Mól M, Wąsowska B. Canine cystic endometrial hyperplasia and pyometra may downregulate neuropeptide phoenixin and GPR173 receptor expression. *Anim Reproduction Science*, 2022 Mar;238:106931.

Prawidłowe funkcjonowanie żeńskiego układu rozrodczego zależy, oprócz hormonów produkowanych przez jajnik, także od wielu czynników zaangażowanych w szeroki zakres procesów regulacyjnych w macicy [1,21]. Dodatkowo na regulację układu rozrodczego samic z powodzeniem mogą oddziaływać neuropeptydy wydzielane przez ośrodkowy układ nerwowy.

Przykładem takiego peptydu jest odkryta w 2013 roku feniksyna (PNX) [44,45]. Powstaje w organizmie jako produkt proteolitycznego rozszczepienia małego integralnego białka błonowego 20 (ang. *Small integral membrane protein 20*, SMIM20). Dwie najliczniejsze formy PNX wytwarzane w tym procesie to peptydy składające się z 14 (PNX-14) i 20 (PNX-20) aminokwasów [44]. Kolejne badania nad tym peptydem wykazały, że feniksyna może oddziaływać w organizmie poprzez receptor sprzężony z białkiem G 173 (ang. *G-protein-coupled receptor 173*, GPR173) [46,47]. Feniksyna ulega ekspresji w ośrodkowym układzie nerwowym [48–50], ponadto produkcję tego peptydu wykryto w innych tkankach i narządach organizmu: przewodzie pokarmowym, trzustce, sercu i białych adipocytach [48–51]. Peptyd ten został zidentyfikowany u wielu gatunków, w tym u ludzi, szczurów, myszy, czy świń [45]. Istnieje coraz więcej dowodów wskazujących na to, że PNX i jego receptor modulują funkcje układu rozrodczego. Wykazano, że PNX wpływa na cykliczność jajników poprzez zwiększenie ekspresji mRNA receptora GnRH (gonadoliberyna), a także stymulowanej przez GnRH sekrecji hormonu luteinizującego (LH) w komórkach przysadki [44,47]. Badanie *in vitro* na modelu myszy, potwierdziło, że feniksyna wzmacnia proliferację komórek ziarnistych poprzez aktywację receptora GPR173, przez co promuje folikulogenezę w jajniku oraz zwiększa pulę oocytów ulegających owulacji [52].

U samic feniksyna odgrywa także rolę w kontrolowaniu cyklu płciowego. Zarówno feniksyna, jak i GPR173 są niezbędne w centralnej regulacji wydzielania hormonów rozrodczych i cyklicznej funkcji jajników. Hamowanie GPR173 przez siRNA zmniejszyło

efekty reprodukcyjne PNX poprzez wydłużenie zwłaszcza fazy *dioestrus*, czy wpływało na zaburzenia w działaniu LH [46,47].

Dotychczasowe wyniki wykazały, że zmiany w koncentracji i ekspresji feniksyny mogą wpływać na prawidłowe funkcjonowanie układu rozrodczego u samic [53,54]. Pojawiające się zaburzenia w ekspresji PNX i GPR173 w poszczególnych tkankach rozrodczych, identyfikuje się jako potencjalny cel terapeutyczny w przypadku dysfunkcji jajnika czy macicy. W surowicy pacjentek cierpiących na zespół policystycznych jajników (PCOS) wykazano wyższy poziom PNX-14 [54]. Potwierdziły to także badania na modelu szczurzym, gdzie zwiększony poziom feniksyny wykryto również w jajnikach samic z eksperymentalnie wywołanym PCOS [53]. Dodatkowo, u samic szczurów z PCOS wysoki poziom PNX-14 korelował z przyrostem masy ciała i wysokim poziomem testosteronu, LH i oraz niskim stężeniem E2 w surowicy. Modulacyjne działanie PNX-14 na wydzielanie LH i GnRH wskazuje, że peptyd ten jest zaangażowany w regulację osi podwzgórze-przysadka-gonady (oś HPG). Ostatnie badania u kobiet z endometriozą wskazują, że obniżona ekspresja PNX-14 i GPR173 może być odpowiedzialna za deregulację osi HPG [55].

Dostępne wyniki potwierdzają udział feniksyny w kontrolowaniu układu rozrodczego samicy poprzez interakcję z ośrodkowym układem nerwowym i narządami, takimi jak jajniki [44,56,57]. Niemniej jednak, brak jak danych opisujących ekspresję i funkcje systemu PNX/GPR173 w macicy u psowatych. Na podstawie dostępnych doniesień literaturowych nie można wykluczyć udziału tych białek w patogenezie CEH lub ropomacicza u suk. **W związku z tym celem tego badania była ocena ekspresji PNX-14 i jej potencjalnego receptora-GPR173 w endometrium suk cierpiących na CEH lub ropomacicze w porównaniu z klinicznie zdrowymi samicami. Dodatkowo przeanalizowano stężenie PNX w krwi w badanych grupach zwierząt zdrowych i chorych.**

Próbki tkanek (fragmenty macic) i próbki krwi do badań pozyskano od 37 samic w wieku od 1 do 12 lat podczas rutynowych zabiegów owariohisterektomii. Podział na grupy eksperymentalne został oparty na ocenie makroskopowej, a następnie potwierdzony wynikami badań histologicznych, zgodnie z przyjętą klasyfikacją [40,41]. Obserwacja makroskopowa, po podłużnym nacięciu rogów macicy, pozwoliła ocenić zmiany, takie jak stopień zaczerwienienia i obrzęku endometrium, występowanie torbieli na powierzchni endometrium oraz obecność i kolor ropnej wydzieliny. W badaniu grupy te klasyfikowano następująco: *dioestrus* (grupa kontrolna, składająca się ze zdrowych suk); CEH (grupa samic z torbielowatym rozrostem gruczołów endometrium); oraz ostatnia grupa osobniki z potwierdzonym ropomaciczem (grupa Pyometra, P).

Wyniki wykazały istotnie wyższe poziomy ekspresji PNX-14 i GPR173 (na poziomie mRNA i białka) w endometrium u suk ze zdrową macicą w porównaniu z grupami CEH i potwierdzonym ropomaciczem. Badanie immunofluorescencyjne potwierdziło również wyższy poziom sygnału neuropeptidu i receptora GPR173 w macicach pozyskanych od suk zdrowych w porównaniu z samicami o patologicznym obrazie macicy. Zarówno PNX-14 jak i jej receptor lokalizowano głównie w nabłonku powierzchniowym macicy oraz w komórkach nabłonka gruczołowego endometrium. W przypadku suk z potwierdzonym CEH, niższy poziom immureaktywności PNX i GPR173 w tankach macicy, mógł wynikać z rozwoju wieloogniskowej torbielowatej hiperplazji gruczołów endometrium oraz spłaszczenia komórek nabłonka gruczołowego. W przypadku ropomacicza pojawiający się zaawansowany proces degeneracyjny (zwłaszcza towarzyszący mu stopniowy zanik nabłonka powierzchniowego i gruczołowego), a także toczący się stan zapalny endometrium potęguje dalszy spadek poziomu sygnału dla PNX i jej receptora w tkance macicy.

Nasze wyniki wskazały, że stężenie PNX-14 w osoczu krwi u zdrowych suk w fazie *dioestrus* było istotnie wyższe w porównaniu ze zwierzętami cierpiącymi na CEH. W grupie samic z ropomaciczem i potwierdzoną obecnością cyst na jajnikach, zaobserwowano znaczący wzrost stężenia PNX (do 222 pg/ml). Co ciekawe, obecność zarówno pojedynczych, jak i wielu torbieli jajników była skorelowana ze zwiększonym stężeniem PNX we krwi, co potencjalnie czyni feniksynę czynnikiem markerowym potwierdzającym zaburzenia w funkcji jajnika. Ponadto u suk z potwierdzonym ropomaciczem i prawidłowym obrazem jajników poziom PNX-14 był istotnie niższy w porównaniu ze zdrowymi osobnikami i nie przekraczał 100 pg/ml. Niższy poziom badanego neuropeptidu we krwi obwodowej może sugerować zaburzenie osi podwzgórze-przysadka-jajnik, i mieć wpływ na prawidłowy cykl rujowy. Zaburzenie w wydzielaniu PNX może prowadzić do zaburzeń w funkcjonowaniu jajników oraz macicy. Zgodnie z przedstawionymi wynikami można wysunąć hipotezę, że u suk z cystami jajnika, podobnie jak u innych ssaków, wyższe poziomy hormonów steroidowych (P4, testosteronu czy LH) mogą korelować z wyższymi stężeniami PNX we krwi obwodowej.

Otrzymane wyniki umożliwiły sformułowanie wniosków:

- dla suk z potwierdzonym CEH charakterystyczny jest niższy poziom ekspresji feniksyny i jej receptora GPR173 w tkance macicy oraz niższa koncentracja neuropeptydu we krwi,

- podczas rozwoju procesu zapalnego w tkance macicy u sukı dochodzi do obniżenia ekspresji PNX-14 i GPR173,
- obniżony poziom PNX-14 może stanowić potencjalny czynnik markerowy wskazujący na rozwój ropomacicza u suk,
- podwyższony poziom feniksyny we krwi może wskazywać na rozwój cyst jajnikowych u suk, niezależnie od występowania zmian patologicznych w macicy.

Przedstawione wyniki badań korespondują z poprzednimi doniesieniami na temat feniksyny w rozwoju patologii układu rozrodczego. Jako pierwsza wykazałam związek pomiędzy ekspresją PNX-14 /GPR173 w tkance macicy a rozwojem CEH i ropomacicza u suk. Potwierdziły to także zmiany stężeń tego peptydu we krwi suk dotkniętych patologią macicy w porównaniu do samic zdrowych.

Wyniki przedstawione w publikacji nr 2 zrealizowano w ramach projektu nr 005/RID/2018/19 pn. Wielkopolska Regionalna Inicjatywa Doskonałości w obszarze nauk o życiu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu finansowanego w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2019-2022 oraz w ramach zadania badawczego kierowanego przez habilitantkę, nr 506.514.05.00 finansowanego przez Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Publikacja 3

Rybska M, Billert M, Skrzypski M, Wojciechowiec T, Kubiak M, Łukomska A, Nowak T, Włodarek J, Wąsowska B. Expression and localization of the neuropeptide phoenixin-14 and its receptor GRP173 in the canine reproductive organs and periovarian adipose tissue. *Animal Reproduction Science*, 2023 Aug;255:107282.

W poprzednich badaniach wykazaliśmy, że poziom PNX-14 ulega obniżeniu u samic z torbielowatym rozrostem gruczołów endometrium i ropomaciczem [58]. Nie było jednak dotąd szczegółowych danych jak zmienia się profil ekspresji PNX-14 i jej receptora GPR173 u suki w zależności od fazy cyklu rujowego czy etapu aktywności jajnika. Ponadto dane literaturowe sugerują, że na utratę potencjału reprodukcyjnego samic może mieć wpływ zwiększona ilość magazynowanej tkanki tłuszczowej i zawansowany wiek [59]. Może to także sugerować udział PNX w regulacji metabolizmu u samic. Ostatnie badania potwierdziły rolę feniksyny stymulacji adipogenezy u ssaków [60,61]. Ponadto nadmiernie stymulowana proliferacja i luteinizacja pęcherzyków jajnikowych prowadzą do powstawania cyst jajnikowych [16]. Zaburzenia w aktywności jajników jakimi są cysty stanowią 50-80% patologii gonad u psowatych. U suk z klinicznie potwierdzonymi patologiami macicy najczęściej potwierdzano współistnienie następujących rodzajów cyst jajnikowych: cysty pęcherzykowe, lutealne, ciała żółtego czy inkluzyjne [11,15,16]. Dostępne wyniki badań sugerują możliwą zależność pomiędzy wydzielaniem feniksyny, a pojawiającymi się zaburzeniami w organach rozrodczych i pojawiającymi się zmianami metabolizmu u samic [53,62]. **Dlatego też, aby poszerzyć wiedzę na temat roli PNX w rozrodzie psów, niniejsze badania miały na celu scharakteryzowanie ekspresji PNX-14 i GPR173 w zależności od fazy cyklu rujowego (*anoestrus* vs. *dioestrus*) w zdrowej tkance macicy, tkance jajnika (prawidłowej vs. cystach jajnika) oraz w okołojajnikowej tkance tłuszczowej (ang. *periovarian adipose tissue*, PAT).**

Planując badania, chciałam znaleźć odpowiedzi na pytania, czy ekspresja PNX-14 zmienia się w zależności od poziomu P4, kondycji ciała zwierząt – BCS oraz stanu aktywności jajnika. Wyniki wykazały zwiększone poziomy PNX u suk w grupie *anoestrus* w porównaniu do zwierząt w fazie lutealnej. Ekspresja GPR173 wzrosła w PAT w fazie *dioestrus* i tkance endometrium u suk podczas późnej fazy lutealnej. Badania potwierdziły lokalizację PNX-14 i GPR173 w komórkach lutealnych ciała żółtego i komórkach pęcherzykowych. Jednak w przypadku cyst jajnikowych, istotnie wyższy poziom ekspresji PNX-14 i jej receptora identyfikowano w ścianie cyst pęcherzykowych, jak i ciała żółtego czy cyst inkluzyjnych.

Najwyższą immunoreaktywność PNX-14 wykryto w ścianie cyst pęcherzykowych, a w przypadku GPR173 najwyższy poziom sygnału identyfikowano w ścianie cysty ciała żółtego. Ponadto, u suk z cystami na jajnikach (i prawidłowym obrazem histologicznym macicy), wykazano wysoki poziom krążącej PNX we krwi oraz znacznie wyższą ekspresję feniksyny i GPR173 w tkankach gonad w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. Wyniki tej pracy korespondują z naszymi poprzednimi badaniami nad PNX-14 w macicy suki, gdzie wyższą koncentrację tego neuropeptydu stwierdzano u samic z CEH lub ropomaciczem oraz potwierdzonymi cystami na jajnikach.

W prezentowanych badaniach zauważono także dodatnią korelację między PNX i progesteronem we krwi zdrowych suk, która zmienia się na ujemną u samic z cystami jajnikowymi. Wyniki te poszerzają dotychczasową wiedzę dotyczącą ekspresji i lokalizacji PNX-14 i GPR173 w psich narządach rozrodczych w warunkach fizjologicznych i patologicznych. Prezentowane prace (nr 2 i nr 3) stanowią swoiste uzupełnienie, wskazujące na to, iż poziom feniksyny u suk zmienia się w zależności od fazy cyklu rujowego, stanu fizjologicznego macicy czy aktywności gonad. Pojawiające się zaburzenia w funkcji jajnika wpływają na wzrost ekspresji PNX-14, a stany patologiczne macicy (jak CEH czy ropomacicze) generują spadek ekspresji tego neuropeptydu.

Otrzymane wyniki umożliwiły sformułowanie wniosków odpowiadających na postawione cele:

- u suki profil ekspresji PNX-14 i GPR-173 w tkance jajnika i endometrium zmienia się zależnie od fazy cyklu rujowego,
- lokalizacja feniksyny w tkance jajnika, głównie w ścianie pęcherzyków preantralnych i małych pęcherzyków antralnych w fazie *anoestrus*, wskazują na możliwą rolę PNX-14 w procesie folikulogenezy u suki,
- feniksyna może brać udział w formowaniu i zachowaniu ciała żółtego u suk. Przedstawiamy po raz pierwszy wyniki pokazujące ekspresję i lokalizację układu PNX/GPR173 w tkance ciała żółtego u psów, potwierdzoną poprzez pozytywną korelację z poziomem P4 we krwi,
- ekspresja GPR173 w fazie *dioestrus* wzrasta w gonadalnej tkance tłuszczowej, a spada w endometrium,
- w obecności cyst jajnikowych, wykazano znacząco wyższą ekspresję PNX-14 i GPR173 w tkance gonad i osoczu krwi w porównaniu ze zdrowymi zwierzętami.

- w gonadalnej tkance tłuszczowej u suk z cystami na jajnikach, poziomy PNX i GPR173 były istotnie wyższe w porównaniu do suk o optymalnej kondycji ciała BCS=4/9 i zdrowych jajnikach,
- stężenie feniksyny we krwi koreluje ze stężeniem P4 i wskaźnikiem BCS u psów,
- feniksyna-14 może stanowić przykład genu markerowego, wskazującego na rozwój cyst jajnikowych u samic psa domowego.

Łącznie, uzyskane dane podkreślają możliwe znaczenie układu PNX/GPR173 w tworzeniu i modulacji tkanek układu rozrodczego psów oraz funkcjonowaniu gonadalnej tkanki tłuszczowej podczas fazy *anoestrus* i *dioestrus* cyklu rujowego. Ponadto wykazaliśmy korelację między koncentracją PNX-14, a stężeniem progesteronu we krwi i poziomem wskaźnika BCS u zdrowych samic.

Wyniki przedstawione w publikacji nr 3 zrealizowano w ramach projektu nr 005/RID/2018/19 pn. Wielkopolska Regionalna Inicjatywa Doskonałości w obszarze nauk o życiu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu finansowanego w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2019-2022 oraz w ramach zadania badawczego kierowanego przez habilitantkę, nr 506.514.05.00 finansowanego przez Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Publikacja 4

Rybska M, Skrzypski M, Billert M, Wojciechowicz T, Łukomska A, Pawlak P, Nowak T, Pusiak K, Wąsowska B. Nesfatin-1 expression and blood plasma concentration in female dogs suffering from cystic endometrial hyperplasia and pyometra and its possible interaction with phoenixin-14. *BMC Veterinary Research*, 2024 Oct 25;20(1):486.

Nesfatyna-1 to neuropeptyd, który ma kluczowe znaczenie w regulacji metabolizmu i utrzymaniu homeostazy energetycznej. Ostateczne badania potwierdzają także jego wpływ na funkcje osi podwzgórze-przysadka-gonady, przez co może mieć także istotne znaczenie dla funkcjonowania tkanki macicy [63–67]. Nesfatyna-1 składa się z 82 aminokwasów, a wytwarzana jest z 396-aminokwasowego białka prekursorowego o nazwie nukleobindyna-2 (NUCB2) [68,69]. Chociaż receptor nesfatyny-1 nie został w pełni zdefiniowany, pewne dane sugerują jego możliwe szlaki wewnątrzkomórkowe. Nesfatyna-1 może działać jako ligand receptora metabotropowego, który jest sprzężony z białkiem Gi/o i/lub aktywowanym receptorem sprzężonym z białkiem Gs [70,71]. W tkankach OUN ulega ekspresji z innymi peptydami, takimi jak feniksyna, które dalej mogą regulować sekrecję hormonów steroidowych przez męskie i żeńskie gonady [46]. Zarówno feniksyna jak i nesfatyna-1 są podobnie wyrażane w osi podwzgórze-przysadka-gonady (HPG) [72]. Lokalizacje nesfatyny-1 i feniksyny są zbliżone, oba peptydy zostały zidentyfikowane w różnych strukturach podwzgórza, takich jak jądro łukowate (ARC), podwzgórze brzuszno-przyśrodkowe (VMH), jądro przykomorowe (PVN) i podwzgórze boczne (LH), gdzie wykazują wskaźniki koekspresji wynoszące odpowiednio 86%, 76%, 70% i 70% [73]. Ta kolokalizacja sugeruje interakcję między tymi neuropeptydami, co jest dodatkowo potwierdzone ich równoważącymi efektami w kilku procesach fizjologicznych [73,74]. Feniksyna i nesfatyna-1 są podobnie wyrażane także w obszarze podwzgórza, jednak mogą mieć przeciwstawne działanie na procesy fizjologiczne. Nesfatyna-1 ma funkcje anoreksogenne. Pierwotnie wykryto, że NUCB2/nesfatyna-1 hamuje przyjmowanie pokarmu, jednak jej potencjalne szlaki sygnałowe nie są w pełni rozpoznane [64,70]. Z drugiej strony feniksyna ma silne działanie oreksogenne, co oznacza, że stymuluje przyjmowanie pokarmu. Jednocześnie wiąże się to ze wzrostem immunoreaktywności nesfatyny-1 i sugeruje że te dwa peptydy oddziałują na siebie w sposób równoważący [64].

Badania wykazały również, że nesfatyna-1 jest wytwarzana w tkankach obwodowych, w tym tkance tłuszczowej [75], trzustce wewnątrzwydzielniczej [76] lub przewodzie pokarmowym [77]. Wysoki poziom ekspresji *Nucb2* (genu prekursora nesfatyny-1) wykazano w trzustce i żołądku u psów. Badania sugerują, że ten neuropeptyd odgrywa kluczową rolę w

regulacji metabolizmu i utrzymaniu równowagi energetycznej u psów [78,79]. Ponadto nesfatyna-1 wpływa na homeostazę glukozy poprzez stymulację uwalniania insuliny oraz hamuje skurcz mięśni gładkich żołądka [80]. W tkance tłuszczowej myszy ekspresja i wydzielanie nesfatyny-1 koreluje z otyłością oraz wydzielaniem cytokin prozapalnych (IL-6, TNF- α) i insuliny. Z kolei uboga dieta zmniejsza poziom mRNA i białka nesfatyny-1 w organizmie [75]. Zaobserwowano, że zmiany ekspresji nesfatyny-1 w tkankach obwodowych mogą być skorelowane z markerami zapalnymi, takimi jak IL-6 i białkiem C-reaktywnym oraz poziomem kortykosteronu [81]. Powyższe dane sugerują zatem, że również u suki, ekspresja nesfatyny-1 może być powiązana z tworzącym się stanem zapalny podczas ropomacicza, jak i wskazywać na zmiany w metabolizmie u tego gatunku.

Coraz więcej dowodów wskazuje, że oprócz regulacji masy ciała i metabolizmu, nesfatyna-1 może być zaangażowana w regulację układu rozrodczego. Nesfatyna-1 ulega ekspresji w męskich i żeńskich tkankach rozrodczych [82]. Ekspresję genu *Nucb2* wykryto w jądrach szczurów, myszy, psów i ludzi [83–85]. Peptyd ten odgrywa również rolę w rozwoju gonad w okresie dojrzewania; jego poziom wzrasta u młodych dojrzewających osobników [86]. U szczura najwyższy poziom ekspresji nesfatyny-1 i feniksyny odnotowano w tkance macicy w fazie *oestrus* cyklu rujowego z kolejno zmniejszającym się stężeniem w fazie *dioestrus*, a następnie *proestrus*. Immunoreaktywność nesfatyny-1 i PNX-14 wykryto głównie w komórkach nabłonka gruczołowego endometrium [72]. Dodatkowo badania potwierdziły zaangażowanie neuropeptydów w rozwoju chorób macicy [87,88]. Niektóre dane wskazują na wysoką ekspresję nesfatyny-1 w macicy w trakcie rozwoju raka endometrium typu I i typu II [88], podczas gdy inne na ujemną korelację między nesfatyną-1 a endometriozą [89]. Nasze poprzednie badania wskazały na udział PNX-14 w rozwoju cyst jajnikowych czy ropomacicza u psów [58,90].

Jednak potencjalna rola nesfatyny-1 w regulacji narządów rozrodczych suki nadal pozostaje nieznana. Dlatego celem badania jest ocena ekspresji i lokalizacji nesfatyny-1 w tkance macicy psów w okresie *dioestrus*, CEH i ropomacicza, a także jej potencjalnych interakcji z feniksyną-14 w odniesieniu do stanu kondycji ciała zwierzęcia (BCS).

Materiał do badań stanowiły fragmenty macic oraz próbki osocza pobrane od suk w wieku od 2 do 22 lat podczas rutynowych zabiegów owariohisterektomii. Osobniki włączone do badania podzielono na grupy badawcze uwzględniając stan macicy (fizjologia, CEH, vs. ropomacicze). Ponadto badanie uwzględniało samice z optymalną kondycją ciała (BCS) 4–5/9 w porównaniu do zwierząt z nadwagą (BCS > 5/9).

U zdrowych samic oraz suk z CEH lub ropomaciczem, o optymalnej kondycji ciała nie stwierdzono różnic w ekspresji mRNA lub produkcji białka nesfatyny-1. Wyższą ekspresję *Nucb2* i białka nesfatyny-1 wykryto tylko u osobników z nadwagą i rozwijającymi się zaburzeniami patologicznymi macicy. Wyniki te silnie potwierdzają tezę, że nesfatyna-1 jest również kluczowym czynnikiem regulującym zaburzenia adipogenezy i metabolizmu u psa. W prezentowanych badaniach wykazano dodatnią korelację między stężeniem nesfatyny-1 w osoczu a wskaźnikiem BCS u suki.

Jeśli chodzi o feniksynę, nasze poprzednie badanie wykazało zmniejszony poziom tego neuropeptydu w macicy suk cierpiących na CEH i/lub ropomacিকে. Ponadto, u suk z zaburzeniami macicy wykryto niższy poziom ekspresji feniksyny-14 i jej stężenia w osoczu, niezależnie od masy ciała zwierzęcia [58]. Nasze dane dotyczące tego neuropeptydu u psów wskazały, że podczas rozwoju stanów patologicznych macicy ekspresja nesfatyny-1 wzrasta, podczas gdy produkcja PNX-14 ulega zmniejszeniu.

Dodatkowo wyniki prezentowanych badań, po raz pierwszy przedstawiają także kolokalizację nesfatyny-1 i feniksyny w macicy psów z potwierdzonymi chorobami układu rozrodczego, z uwzględnieniem wskaźnika BCS samicy. Wyższą immunoreaktywność nesfatyny-1 stwierdzono u zwierząt z potwierdzoną nadwagą, w tkance macicy zarówno zwierząt zdrowych, jak i cierpiących na CEH lub ropomacিকে. Wysoki poziom sygnału neuropeptydu wykryto głównie w cytoplazmie komórek podścieliska endometrium, prawidłowych komórkach nabłonka gruczołowego i ścianie torbieli endometrium. Co ciekawe, sygnał wykryty w tkance macicy u zwierząt z optymalnym BCS był niski niezależnie od kondycji macicy. Wyniki analizy immunolokalizacji wykazały, że poziom nesfatyny-1 wzrasta w macicy samic z nadwagą, co potwierdza hipotezę że ten neuropeptyd może odgrywać rolę w zarówno w regulacji tkanki tłuszczowej jak i rozwoju zaburzeń macicy. W przypadku PNX-14, wyższy sygnał peptydu wykazano u zdrowych samic w porównaniu do suk z zaburzeniami macicy. Immunoreaktywność feniksyny zmniejsza się u suk dotkniętych CEH czy ropomaciczem, niezależnie od wskaźnika BCS. W przypadku ropomacicza macica może przechodzić zaawansowany proces zwyrodnieniowy i/lub zapalny, który może znacząco zmniejszyć ekspresję PNX w tkance macicy. Obserwacje te były zgodne z naszymi poprzednimi badaniami, w których silniejsze sygnały feniksyny i białka GPR173 wykryto zarówno w komórkach nabłonka powierzchniowego jak i gruczołowego zdrowych zwierząt, a w macicach ze zmianami patologicznymi zmniejszały się [58,90].

Podsumowując wyniki badań pozwoliły na skonstruowanie następujących wniosków:

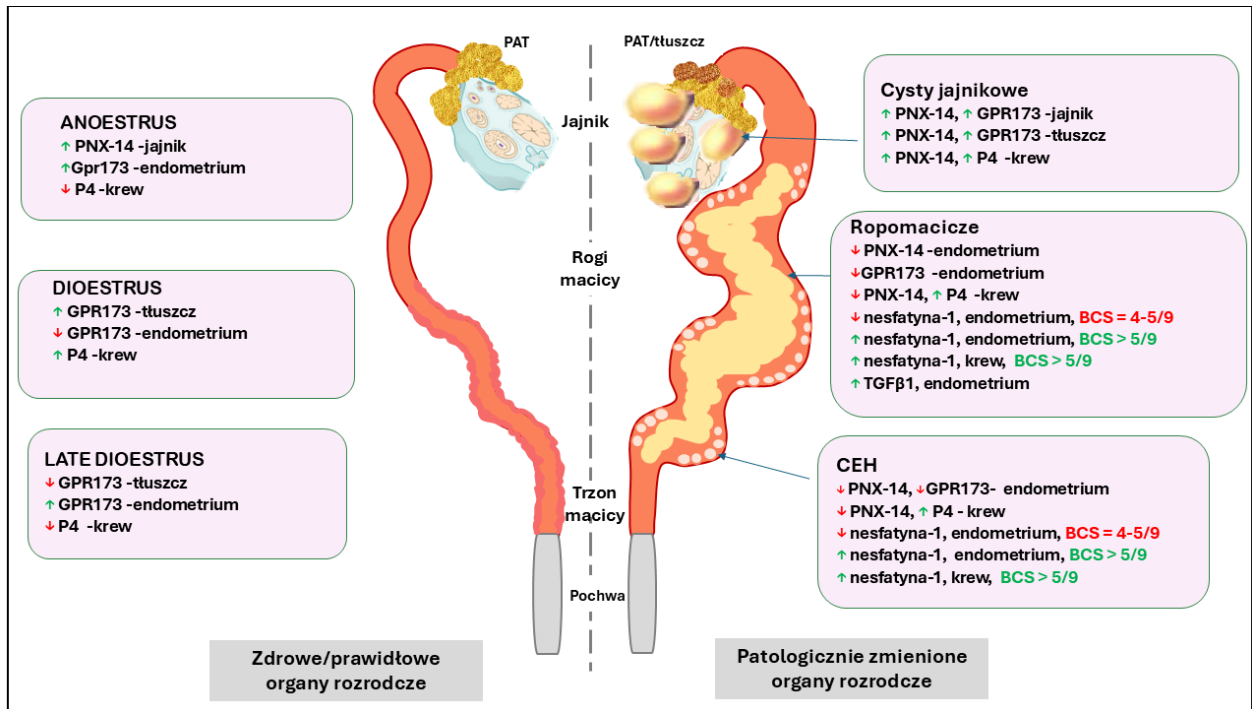
- wraz ze wzrostem masy ciała samic ekspresja nesfatyny-1 w macicy i jej stężenie we krwi obwodowej ulegają zwiększeniu,
- nesfatyna-1 należy do czynników regulujących zaburzenia masy ciała i metabolizmu u psa,
- w przypadku pojawiających się patologicznych zmian proliferacyjnych w macicy (CEH) czy ropomacicza poziom nesfatyny-1 wzrasta, ale tylko u samic z potwierdzoną nadwagą,
- u samicy psa zmiany poziomu nesfatyny-1 we krwi są bardziej wynikiem pojawiających się zaburzeń metabolicznych niż toczącego się procesu zapalnego występującego w macicy. U osobników o optymalnej kondycji ciała (BCS=4-5/9) cierpiących na CEH czy ropomacicze koncentracja nesfatyny-1 była zbliżona do osobników zdrowych,
- u samic dotkniętych CEH czy ropomaciczem charakterystyczny jest obniżony poziom feniksyny-14 (w tkance macicy jak i we krwi), niezależnie od stanu kondycji ciała samicy.

Nesfatyna-1 i feniksyna 14 to dwa neuroprzekazniki, które mogą odgrywać istotną rolę w regulacji układu rozrodczego. Nasze badania po raz pierwszy ujawniły ekspresję i lokalizację obu białek w narządach rozrodczych suki. Wyniki sugerują przeciwne zaangażowanie obu neuropeptydów w rozwoju CEH czy ropomacicza u psów.

Wyniki przedstawione w powyższej publikacji nr 4 zrealizowano w ramach projektu nr 005/RID/2018/19 pn. Wielkopolska Regionalna Inicjatywa Doskonałości w obszarze nauk o życiu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu finansowanego w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w latach 2019-2023 oraz w ramach zadania badawczego kierowanego przez habilitantkę, nr 506.514.05.00 finansowanego przez Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, oraz częściowo ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS, UMO-2021/43/O/ NZ4/00275; kierownik projektu prof. UPP dr hab. Marek Skrzypski.

Podsumowanie i wnioski

Rycina przedstawia zebrane efekty oddziaływania neuropeptydów: feniksyna-14, nesfatyna-1 oraz TGF- β 1 na organy rozrodcze suki wykazane w ramach prezentowanego osiągnięcia:



W odniesieniu do postawionych hipotez badawczych wnioski końcowe osiągnięcia naukowego są następujące:

1. Ekspresja cytokin TGF- β 1, 2, 3 w endometrium suki ulega zmianie w zależności od rozwoju zmian patologicznych w obrębie macicy. Potencjalnym czynnikiem markerowym, który wskazywałby na powstawanie ropomacicza u suk i potwierdzał rozwój zmian zapalnych w macicy jest TGF- β 1.
2. U suk z potwierdzonym CEH czy ropomaciczem charakterystyczny jest obniżony poziom ekspresji feniksyny-14 w tkance macicy oraz niższa koncentracja PNX-14 we krwi, niezależnie od kondycji ciała samicy.
3. Neuropeptyd feniksyna-14 reguluje funkcje jajnika i macicy w podczas cyklu rujowego suki. Poziom PNX-14 we krwi markerowo wzrasta podczas rozwoju cyst jajnikowych.

4. W przypadku pojawiających się patologicznych zmian proliferacyjnych (CEH) lub zapalnych (ropomacicze) w macicy suki poziom nesfatyny-1 wzrasta, ale tylko u samic z potwierdzoną nadwagą (BCS >5/9). Neuropeptyd nesfatyna-1 może odgrywać rolę w zarówno w regulacji tkanki tłuszczowej, zmian metabolizmu u suki, jak i rozwoju zmian rozrostowych i zapalnych w macicy.

Pozyskane dane poszerzają naszą wiedzę na temat etiologii schorzeń macicy samicy psa domowego, przy interpretacji wyników należy jednak uwzględnić kilka ograniczeń. Należą do nich stosunkowo mała wielkość próby, zróżnicowanie w wieku samic i uwzględnienie różnic rasowych, jak również brak danych na temat ekspresji badanych peptydów u chorych samic w pozostałych fazach cyklu rujowego, *proestrus* (faza przedrujowa) oraz *oestrus* (ruja właściwa). Potrzebne są dalsze badania mające na celu analizę zmian w profilu ekspresji wybranych czynników u psów z zaawansowaną otyłością (BCS 8–9/9) lub niedowagą (BCS < 4/9), aby w pełni zrozumieć, w jaki sposób stan fizjologiczny zwierząt wpływa na rozwój zaburzeń rozrodczych.

Oświadczenia współautorów określające ich indywidualny wkład w powstanie prac, stanowiących osiągnięcie habilitacyjne, stanowią załącznik nr 6.

Literatura:

1. Hagman, R. Pyometra in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* **2018**, 48, 639–661, doi:10.1016/j.cvsm.2018.03.001.
2. Rautela, R.; Katiyar, R. Review on Canine Pyometra, Oxidative Stress and Current Trends in Diagnostics. *Asian Pacific Journal of Reproduction* **2019**, 8, 45–55, doi:10.4103/2305-0500.254645.
3. Santana, C.H.; Santos, D.O.; Trindade, L.M.; Moreira, L.G.; Paixão, T.A.; Santos, R.L. Association of Pseudoplacental Endometrial Hyperplasia and Pyometra in Dogs. *J Comp Pathol* **2020**, 180, 79–85, doi:10.1016/j.jcpa.2020.09.002.
4. Xavier, R.G.C.; Santana, C.H.; da Silva, P.H.S.; Paraguassú, A.O.; Nicolino, R.R.; Freitas, P.M.C.; Santos, R. de L.; Silva, R.O.S. Association between Bacterial Pathogenicity, Endometrial Histological Changes and Clinical Prognosis in Canine Pyometra. *Theriogenology* **2024**, 214, 118–123, doi:10.1016/j.theriogenology.2023.10.007.
5. Jitpean, S.; Ambrosen, A.; Emanuelson, U.; Hagman, R. Closed Cervix Is Associated with More Severe Illness in Dogs with Pyometra. *BMC Vet Res* **2017**, 13, 7–13, doi:10.1186/s12917-016-0924-0.

6. Xavier, R.G.C.; Santana, C.H.; de Castro, Y.G.; de Souza, T.G.V.; do Amarante, V.S.; Santos, R.L.; Silva, R.O.S. Canine Pyometra: A Short Review of Current Advances. *Animals* **2023**, *13*.
7. Pailler, S.; Slater, M.R.; Lesnikowski, S.M.; Gayle, J.M.; Duvieusart, C.B.C.A.; Ledesma, E.J.; Lee, M.L.; Stevens, J.D.; DeClementi, C. Findings and Prognostic Indicators of Outcomes for Bitches with Pyometra Treated Surgically in a Nonspecialized Setting. *J Am Vet Med Assoc* **2022**, *260*, S49–S56, doi:10.2460/javma.20.12.0713.
8. Bukowska, D.; Kempisty, B.; Zawierucha, P.; Jopek, K.; Piotrowska, H.; Antosik, P.; Ciesiółka, S.; Woźna, M.; Brüßow, K.P.; Jaśkowski, J.M. Microarray Analysis of Inflammatory Response-Related Gene Expression in the Uteri of Dogs with Pyometra. *J Biol Regul Homeost Agents* **2014**, *28*, 637–648.
9. Fieni, F.; Topie, E.; Gogny, A. Medical Treatment for Pyometra in Dogs. *Reproduction in Domestic Animals* **2014**, *49*, 28–32, doi:https://doi.org/10.1111/rda.12302.
10. Sugiura, K.; Nishikawa, M.; Ishiguro, K.; Tajima, T.; Inaba, M.; Torii, R.; Hatoya, S.; Wijewardana, V.; Kumagai, D.; Tamada, H.; et al. Effect of Ovarian Hormones on Periodical Changes in Immune Resistance Associated with Estrous Cycle in the Beagle Bitch. *Immunobiology* **2004**, *209*, 619–627, doi:10.1016/j.imbio.2004.09.003.
11. Maya-Pulgarin, D.; Gonzalez-Dominguez, M.S.; Aranzazu-Taborda, D.; Mendoza, N.; Maldonado-Estrada, J.G. Histopathologic Findings in Uteri and Ovaries Collected from Clinically Healthy Dogs at Elective Ovariohysterectomy: A Cross-Sectional Study. *J Vet Sci* **2017**, *18*, 407–414, doi:10.4142/jvs.2017.18.3.407.
12. Katkiewicz, M.; Witkowski, M.; Zajac, S. Ovarian Histopathological Changes in Mares with Uterine Endometriosis. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* **2014**, *58*, 433–437, doi:10.2478/bvip-2014-0066.
13. Mize, D.; Saikia, P.J.; Sarma, H.N. Expression of Insulin-like Growth Factor-I in Uterus Is Ovarian Steroid Dependent: An in Situ Immunohistochemical Study in Rat. *Journal of Reproduction and Contraception* **2012**, *23*, 222–236, doi:https://doi.org/10.1016/S1001-7844(12)60031-5.
14. Bigliardi, E.; Parmigiani, E.; Cavirani, S.; Luppi, A.; Bonati, L.; Corradi, A. Ultrasonography and Cystic Hyperplasia-Pyometra Complex in the Bitch. *Reproduction in Domestic Animals* **2004**, *39*, 136–140, doi:10.1111/j.1439-0531.2004.00489.x.
15. Sasidharan, J.K.; Patra, M.K.; Singh, L.K.; Saxena, A.C.; De, U.K.; Singh, V.; Mathesh, K.; Kumar, H.; Krishnaswamy, N. Ovarian Cysts in the Bitch: An Update. *Top Companion Anim Med* **2021**, *43*.
16. Knauf, Y.; Bostedt, H.; Failing, K.; Knauf, S.; Wehrend, A. Gross Pathology and Endocrinology of Ovarian Cysts in Bitches. *Reproduction in Domestic Animals* **2014**, *49*, 463–468, doi:10.1111/rda.12311.
17. Zheng, H.H.; Du, C.T.; Zhang, Y.Z.; Yu, C.; Huang, R.L.; Tang, X.Y.; Xie, G.H. Identification of Canine Pyometra-Associated Metabolites Using Untargeted Metabolomics. *Int J Mol Sci* **2022**, *23*, doi:10.3390/ijms232214161.
18. Schlafer, D.H.; Gifford, A.T. Cystic Endometrial Hyperplasia, Pseudo-Placentational Endometrial Hyperplasia, and Other Cystic Conditions of the Canine and Feline Uterus. *Theriogenology* **2008**, *70*, 349–358, doi:10.1016/j.theriogenology.2008.04.041.

19. Veiga, G.A.L.; Miziara, R.H.; Angrimani, D.S.R.; Papa, P.C.; Cogliati, B.; Vannucchi, C.I. Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra Syndrome in Bitches: Identification of Hemodynamic, Inflammatory, and Cell Proliferation Changes. *Biol Reprod* **2017**, *96*, 58–69, doi:10.1095/biolreprod.116.140780.
20. Hagman, R. Molecular Aspects of Uterine Diseases in Dogs. *Reproduction in Domestic Animals* **2017**, *52*, 37–42, doi:10.1111/rda.13039.
21. Hagman, R. Diagnostic and Prognostic Markers for Uterine Diseases in Dogs. *Reproduction in Domestic Animals* **2014**, *49*, 16–20, doi:10.1111/rda.12331.
22. Kida, K.; Maezono, Y.; Kawate, N.; Inaba, T.; Hatoya, S.; Tamada, H. Epidermal Growth Factor, Transforming Growth Factor- α , and Epidermal Growth Factor Receptor Expression and Localization in the Canine Endometrium during the Estrous Cycle and in Bitches with Pyometra. *Theriogenology* **2010**, *73*, 36–47, doi:10.1016/j.theriogenology.2009.08.002.
23. Pawlak, P.; Warzych, E.; Madeja, Z.E.; Nowak, T.; Lechniak, D. Pyometra Does Not Affect Some Molecular Quality-Related Parameters of Canine Oocytes. *Annals of Animal Science* **2021**, *21*, 193–204, doi:10.2478/aoas-2020-0062.
24. Dabrowski, R.; Szczubiał, M.; Kostro, K.; Wawron, W.; Ceron, J.J.; Tvarijonavičiute, A. Serum Insulin-like Growth Factor-1 and C-Reactive Protein Concentrations before and after Ovariohysterectomy in Bitches with Pyometra. *Theriogenology* **2015**, *83*, 474–477, doi:10.1016/j.theriogenology.2014.09.024.
25. Singh, L.K.; Patra, M.K.; Mishra, G.K.; Singh, V.; Upmanyu, V.; Saxena, A.C.; Singh, S.K.; Das, G.K.; Kumar, H.; Krishnaswamy, N. Endometrial Transcripts of Proinflammatory Cytokine and Enzymes in Prostaglandin Synthesis Are Upregulated in the Bitches with Atrophic Pyometra. *Vet Immunol Immunopathol* **2018**, *205*, 65–71, doi:10.1016/j.vetimm.2018.10.010.
26. Caron, P.L.; Fréchette-Frigon, G.; Shooner, C.; Leblanc, V.; Asselin, E. Transforming Growth Factor Beta Isoforms Regulation of Akt Activity and XIAP Levels in Rat Endometrium during Estrous Cycle, in a Model of Pseudopregnancy and in Cultured Decidual Cells. *Reproductive Biology and Endocrinology* **2009**, *7*, 1–13, doi:10.1186/1477-7827-7-80.
27. Shooner, C.; Caron, P.-L.; Fréchette-Frigon, G.; Leblanc, V.; Déry, M.-C.; Asselin, E. TGF-Beta Expression during Rat Pregnancy and Activity on Decidual Cell Survival. *Reproductive Biology and Endocrinology* **2005**, *3*, 20, doi:10.1186/1477-7827-3-20.
28. Gao, Y.; Li, S.; Li, Q. Uterine Epithelial Cell Proliferation and Endometrial Hyperplasia: Evidence from a Mouse Model. *Mol Hum Reprod* **2014**, *20*, 776–786, doi:10.1093/molehr/gau033.
29. Omwandho, C.O.A.; Konrad, L.; Halis, G.; Oehmke, F.; Tinneberg, H.R. Role of TGF-s in Normal Human Endometrium and Endometriosis. *Human Reproduction* **2010**, *25*, 101–109, doi:10.1093/humrep/dep382.
30. Sanjabi, S.; Oh, S.A.; Li, M.O. Regulation of the Immune Response by TGF- β : From Conception to Autoimmunity and Infection. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2017**, *9*, 1–34, doi:10.1101/cshperspect.a022236.
31. Galvão, A.M.; Skarzynski, D.; Ferreira-Dias, G. Luteolysis and the Auto-, Paracrine Role of Cytokines From Tumor Necrosis Factor α and Transforming Growth Factor β Superfamilies. *Vitam Horm* **2018**, *107*, 287–315, doi:10.1016/bs.vh.2018.01.001.

32. Massagué, J. TGF β Signalling in Context. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2012**, 13, 616–630, doi:10.1038/nrm3434.
33. Kajdaniuk, D.; Marek, B.; Borgiel-Marek, H.; Kos-Kudła, B. Transforming Growth Factor Beta1 (TGF β 1) in Physiology and Pathology. *Endokrynol Pol* **2013**, 64, 384–396, doi:10.5603/EP.2013.0022.
34. Kelly, A.; Houston, S.A.; Sherwood, E.; Casulli, J.; Travis, M.A. Regulation of Innate and Adaptive Immunity by TGF β . *Adv Immunol* **2017**, 134, 137–233, doi:10.1016/bs.ai.2017.01.001.
35. Bukowska, D.; Kempisty, B.; Jackowska, M.; Woźna, M.; Antosik, P.; Piotrowska, H.; Jaśkowski, J.M. Differential Expression of Epidermal Growth Factor and Transforming Growth Factor Beta Isoforms in Dog Endometrium during Different Periods of the Estrus Cycle. *Pol J Vet Sci* **2011**, 14, 259–264, doi:10.2478/v10181-011-0039-2.
36. Antosik, P.; Kempisty, B.; Jackowska, M.; Bukowska, D.; Woźna, M.; Lianeri, M.; Brüssow, K.P.; Jaśkowski, J.M. Differential Expression of Genes Encoding EGF, IGF-I, TGF β 1, TGF B2 and TGF B3 in Porcine Endometrium during Estrus Cycle at Different Ages. *Med Weter* **2010**, 66.
37. Jones, R.L.; Stoikos, C.; Findlay, J.K.; Salamonsen, L.A. TGF- β Superfamily Expression and Actions in the Endometrium and Placenta. *Reproduction* **2006**, 132, 217–232, doi:10.1530/rep.1.01076.
38. Loverro, G.; Maiorano, E.; Napoli, A.; Selvaggi, L.; Marra, E.; Perlino, E. Transforming Growth Factor-Beta 1 and Insulin-like Growth Factor-1 Expression in Ovarian Endometriotic Cysts: A Preliminary Study. *Int J Mol Med* **2001**, 7, 423–429, doi:10.3892/ijmm.7.4.423.
39. Sikora, J.; Smycz-Kubańska, M.; Mielczarek-Palacz, A.; Bednarek, I.; Kondera-Anasz, Z. The Involvement of Multifunctional TGF- β and Related Cytokines in Pathogenesis of Endometriosis. *Immunol Lett* **2018**, 201, 31–37, doi:https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.10.011.
40. Woźna-Wysocka, M.; Rybska, M.; Błaszak, B.; Jaśkowski, B.M.; Kulus, M.; Jaśkowski, J.M. Morphological Changes in Bitches Endometrium Affected by Cystic Endometrial Hyperplasia - Pyometra Complex - the Value of Histopathological Examination. *BMC Vet Res* **2021**, 17, 174, doi:10.1186/s12917-021-02875-0.
41. De Bosschere, H.; Ducatelle, R.; Vermeirsch, H.; Van Den Broeck, W.; Coryn, M. Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra Complex in the Bitch: Should the Two Entities Be Disconnected? *Theriogenology* **2001**, 55, 1509–1519, doi:10.1016/S0093-691X(01)00498-8.
42. Marek, A.; Brodzicki, J.; Liberek, A.; Korzon, M. TGF- β (Transforming Growth Factor- β) in Chronic Inflammatory Conditions - A New Diagnostic and Prognostic Marker? *Medical Science Monitor* **2002**, 8, 145–152.
43. Giudice, L.C. Growth Factors and Growth Modulators in Human Uterine Endometrium: Their Potential Relevance to Reproductive Medicine*†. *Fertil Steril* **1994**, 61, 1–17, doi:https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)56447-4.
44. Yosten, G.L.C.; Lyu, R.-M.; Hsueh, A.J.W.; Avsian-Kretchmer, O.; Chang, J.-K.; Tullock, C.W.; Dun, S.L.; Dun, N.; Samson, W.K. A Novel Reproductive Peptide, Phoenixin. *J Neuroendocrinol* **2013**, 25, 206–215, doi:10.1111/j.1365-2826.2012.02381.x.
45. Billert, M.; Rak, A.; Nowak, K.W.; Skrzypski, M. Phoenixin: More than Reproductive Peptide. *Int J Mol Sci* **2020**, 21, 1–15, doi:10.3390/ijms21218378.

46. Stein, L.M.; Tullock, C.W.; Mathews, S.K.; Garcia-Galiano, D.; Elias, C.F.; Samson, W.K.; Yosten, G.L.C. Hypothalamic Action of Phoenixin to Control Reproductive Hormone Secretion in Females: Importance of the Orphan G Protein-Coupled Receptor Gpr173. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **2016**, *311*, R489–R496, doi:10.1152/ajpregu.00191.2016.
47. Treen, A.K.; Luo, V.; Belsham, D.D. Phoenixin Activates Immortalized GnRH and Kisspeptin Neurons Through the Novel Receptor GPR173. *Mol Endocrinol* **2016**, *30*, 872–888, doi:10.1210/me.2016-1039.
48. Mukherjee, K.; Unniappan, S. Mouse Gastric Mucosal Endocrine Cells Are Sources and Sites of Action of Phoenixin-20. *Peptides (N.Y.)* **2021**, *141*, 170551, doi:10.1016/j.peptides.2021.170551.
49. Prinz, P.; Scharner, S.; Friedrich, T.; Schalla, M.; Goebel-Stengel, M.; Rose, M.; Stengel, A. Central and Peripheral Expression Sites of Phoenixin-14 Immunoreactivity in Rats. *Biochem Biophys Res Commun* **2017**, *493*, 195–201, doi:10.1016/j.bbrc.2017.09.048.
50. Rocca, C.; Scavello, F.; Granieri, M.C.; Pasqua, T.; Amodio, N.; Imbrogno, S.; Gattuso, A.; Mazza, R.; Cerra, M.C.; Angelone, T. Phoenixin-14: Detection and Novel Physiological Implications in Cardiac Modulation and Cardioprotection. *Cellular and Molecular Life Sciences* **2018**, *75*, 743–756, doi:10.1007/s00018-017-2661-3.
51. Billert, M.; Wojciechowicz, T.; Jasaszewili, M.; Szczepankiewicz, D.; Waśko, J.; Kaźmierczak, S.; Strowski, M.Z.; Nowak, K.W.; Skrzypski, M. Phoenixin-14 Stimulates Differentiation of 3T3-L1 Preadipocytes via CAMP/Epac-Dependent Mechanism. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* **2018**, *1863*, 1449–1457, doi:10.1016/j.bbalip.2018.09.006.
52. Nguyen, X.P.; Nakamura, T.; Osuka, S.; Bayasula, B.; Nakanishi, N.; Kasahara, Y.; Muraoka, A.; Hayashi, S.; Nagai, T.; Murase, T.; et al. Effect of the Neuropeptide Phoenixin and Its Receptor GPR173 during Folliculogenesis. *Reproduction* **2019**, *158*, 25–34, doi:10.1530/REP-19-0025.
53. Kalamon, N.; Błaszczyk, K.; Szlaga, A.; Billert, M.; Skrzypski, M.; Pawlicki, P.; Górowska – Wójtowicz, E.; Kotula – Balak, M.; Błasiak, A.; Rak, A. Levels of the Neuropeptide Phoenixin-14 and Its Receptor GRP173 in the Hypothalamus, Ovary and Periovarian Adipose Tissue in Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome. *Biochem Biophys Res Commun* **2020**, *528*, 628–635, doi:10.1016/j.bbrc.2020.05.101.
54. Ullah, K.; ur Rahman, T.; Wu, D.D.; Lin, X.H.; Liu, Y.; Guo, X.Y.; Leung, P.C.K.; Zhang, R.J.; Huang, H.F.; Sheng, J.Z. Phoenixin-14 Concentrations Are Increased in Association with Luteinizing Hormone and Nesfatin-1 Concentrations in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Clinica Chimica Acta* **2017**, *471*, 243–247, doi:10.1016/j.cca.2017.06.013.
55. Kulinska, K.I.; Andrusiewicz, M.; Dera-Szymanowska, A.; Billert, M.; Skrzypski, M.; Szymanowski, K.; Nowak-Markwitz, E.; Kotwicka, M.; Wołuń-Cholewa, M. Phoenixin as a New Target in the Development of Strategies for Endometriosis Diagnosis and Treatment. *Biomedicines* **2021**, *9*, 1–12, doi:10.3390/biomedicines9101427.
56. Nguyen, X.P.; Nakamura, T.; Osuka, S.; Bayasula, B.; Nakanishi, N.; Kasahara, Y.; Muraoka, A.; Hayashi, S.; Nagai, T.; Murase, T.; et al. Effect of the Neuropeptide Phoenixin and Its Receptor GPR173 during Folliculogenesis. *Reproduction* **2019**, *158*, 25–34, doi:10.1530/REP-19-0025.
57. Suszka-Świtek, A.; Pałasz, A.; Filipczyk, Ł.; Menezes, I.C.; Mordecka-Chamera, K.; Angelone, T.; Bogus, K.; Bacopoulou, F.; Worthington, J.J.; Wiaderkiewicz, R. The GnRH Analogues

- Affect Novel Neuropeptide SMIM20/Phoenixin and GPR173 Receptor Expressions in the Female Rat Hypothalamic–Pituitary–Gonadal (HPG) Axis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **2019**, 46, 350–359, doi:10.1111/1440-1681.13061.
58. Rybska, M.; Billert, M.; Skrzypski, M.; Kubiak, M.; Woźna-Wysocka, M.; Łukomska, A.; Nowak, T.; Błaszczuk-Cichoszewska, J.; Pomorska-Mól, M.; Wąsowska, B. Canine Cystic Endometrial Hyperplasia and Pyometra May Downregulate Neuropeptide Phoenixin and GPR173 Receptor Expression. *Anim Reprod Sci* **2022**, 238, 106931, doi:10.1016/j.anireprosci.2022.106931.
 59. Hansen, M.; Flatt, T.; Aguilaniu, H. Reproduction, Fat Metabolism, and Life Span: What Is the Connection? *Cell Metab* 2013, 17, 10–19.
 60. Kołodziejski, P.A.; Pruszyńska-Oszmałek, E.; Wojciechowicz, T.; Sassek, M.; Leciejewska, N.; Jasaszewili, M.; Billert, M.; Małek, E.; Szczepankiewicz, D.; Misiewicz-Mielnik, M.; et al. The Role of Peptide Hormones Discovered in the 21st Century in the Regulation of Adipose Tissue Functions. *Genes (Basel)* **2021**, 12, doi:10.3390/genes12050756.
 61. Billert, M.; Kołodziejski, P.A.; Strowski, M.Z.; Nowak, K.W.; Skrzypski, M. Phoenixin-14 Stimulates Proliferation and Insulin Secretion in Insulin Producing INS-1E Cells. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* **2019**, 1866, doi:10.1016/j.bbamcr.2019.118533.
 62. Cundubey CR; Cam SD Serum Phoenixin-14 Levels of Women with Polycystic Ovary Syndrome Increase Proportionally with BMI. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **2023**, 27, 3519–3525.
 63. Ciccimarra, R.; Bussolati, S.; Grasselli, F.; Grolli, S.; Paolucci, M.; Basini, G. Potential Physiological Involvement of Nesfatin-1 in Regulating Swine Granulosa Cell Functions. *Reprod Fertil Dev* **2019**, 32, 274–283, doi:10.1071/RD19134.
 64. Friedrich, T.; Stengel, A. Role of the Novel Peptide Phoenixin in Stress Response and Possible Interactions with Nesfatin-1. *Int J Mol Sci* **2021**, 22, doi:10.3390/ijms22179156.
 65. Sun, S.; Shin, J.; Jang, J.; Hwang, S.; Kim, J.; Kong, J.; Yang, H. 17Beta-Estradiol Regulates NUCB2/ Nesfatin-1 Expression in Mouse Oviduct. *Dev Reprod* **2020**, 24, 43–52, doi:10.12717/dr.2020.24.1.43.
 66. Deniz, R.; Gurates, B.; Aydin, S.; Celik, H.; Sahin, İ.; Baykus, Y.; Catak, Z.; Aksoy, A.; Citil, C.; Gungor, S. Nesfatin-1 and Other Hormone Alterations in Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrine* **2012**, 42, 694–699, doi:10.1007/s12020-012-9638-7.
 67. Kim, J.; Chung, Y.; Kim, H.; Im, E.; Lee, H.; Yang, H. The Tissue Distribution of Nesfatin-1/NUCB2 in Mouse. *Development & Reproduction* **2014**, 18, 301–309, doi:10.12717/DR.2014.18.4.301.
 68. Oh-I, S.; Shimizu, H.; Satoh, T.; Okada, S.; Adachi, S.; Inoue, K.; Eguchi, H.; Yamamoto, M.; Imaki, T.; Hashimoto, K.; et al. Identification of Nesfatin-1 as a Satiety Molecule in the Hypothalamus. *Nature* **2006**, 443, 709–712, doi:10.1038/nature05162.
 69. SHIMIZU, H.; OH-I, S.; OKADA, S.; MORI, M. Nesfatin-1: An Overview and Future Clinical Application. *Endocr J* **2009**, 56, 537–543, doi:10.1507/endocrj.K09E-117.
 70. Brailoiu, G.C.; Dun, S.L.; Brailoiu, E.; Inan, S.; Yang, J.; Jaw, K.C.; Dun, N.J. Nesfatin-1: Distribution and Interaction with a G Protein-Coupled Receptor in the Rat Brain. *Endocrinology* **2007**, 148, 5088–5094, doi:10.1210/EN.2007-0701.

71. Rupp, S.K.; Wölk, E.; Stengel, A. Nesfatin-1 Receptor: Distribution, Signaling and Increasing Evidence for a G Protein-Coupled Receptor – A Systematic Review. *Front Endocrinol (Lausanne)* **2021**, *12*, 1–14, doi:10.3389/fendo.2021.740174.
72. Parlak Ak, T.; Yaman, M.; Bayrakdar, A.; Bulmus, O. Expression of Phoenixin-14 and Nesfatin-1 in the Hypothalamo–Pituitary–Gonadal Axis in the Phases of the Estrous Cycle. *Neuropeptides* **2023**, *97*, doi:10.1016/j.npep.2022.102299.
73. Pałasz, A.; Rojczyk, E.; Bogus, K.; Worthington, J.J.; Wiaderkiewicz, R. The Novel Neuropeptide Phoenixin Is Highly Co-Expressed with Nesfatin-1 in the Rat Hypothalamus, an Immunohistochemical Study. *Neurosci Lett* **2015**, *592*, 17–21, doi:10.1016/j.neulet.2015.02.060.
74. Parlak Ak, T.; Yaman, M.; Bayrakdar, A.; Bulmus, O. Expression of Phoenixin-14 and Nesfatin-1 in the Hypothalamo–Pituitary–Gonadal Axis in the Phases of the Estrous Cycle. *Neuropeptides* **2023**, *97*, 102299, doi:10.1016/J.NPEP.2022.102299.
75. Ramanjaneya, M.; Chen, J.; Brown, J.E.; Tripathi, G.; Hallschmid, M.; Patel, S.; Kern, W.; Hillhouse, E.W.; Lehnert, H.; Tan, B.K.; et al. Identification of Nesfatin-1 in Human and Murine Adipose Tissue: A Novel Depot-Specific Adipokine with Increased Levels in Obesity. *Endocrinology* **2010**, *151*, 3169–3180, doi:10.1210/en.2009-1358.
76. Riva, M.; Nitert, M.D.; Voss, U.; Sathanoori, R.; Lindqvist, A.; Ling, C.; Wierup, N. Nesfatin-1 Stimulates Glucagon and Insulin Secretion and Beta Cell NUCB2 Is Reduced in Human Type 2 Diabetic Subjects. *Cell Tissue Res* **2011**, *346*, 393–405, doi:10.1007/s00441-011-1268-5.
77. Li, Z.; Xu, G.; Li, Y.; Zhao, J.; Mulholland, M.W.; Zhang, W. MTOR-Dependent Modulation of Gastric Nesfatin-1/NUCB2. *Cellular Physiology and Biochemistry* **2012**, *29*, 493–500, doi:10.1159/000338503.
78. Jiang, S.; Zhou, W.; Zhang, X.; Wang, D.; Zhu, H.; Hong, M.; Gong, Y.; Ye, J.; Fang, F. Developmental Expression and Distribution of Nesfatin-1/NUCB2 in the Canine Digestive System. *Acta Histochem* **2016**, *118*, 90–96, doi:10.1016/j.acthis.2015.11.010.
79. Nowaza, S.; Kimura, T.; Kurishima, M.; Mimura, K.; Saeki, K.; Miki, Y.; Oda, H.; MORI, A.; MOMOTA, Y.; AZAKAMI, D.; et al. Analyses of a Satiety Factor NUCB2/Nesfatin-1; Gene Expressions and Modulation by Different Dietary Components in Dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* **2016**, *78*, 411–417, doi:10.1292/jvms.15-0255.
80. Stengel, A.; Hofmann, T.; Goebel-Stengel, M.; Lembke, V.; Ahnis, A.; Elbelt, U.; Lambrecht, N.W.G.; Ordemann, J.; Klapp, B.F.; Kobelt, P. Ghrelin and NUCB2/Nesfatin-1 Are Expressed in the Same Gastric Cell and Differentially Correlated with Body Mass Index in Obese Subjects. *Histochem Cell Biol* **2013**, *139*, 909–918, doi:10.1007/s00418-013-1087-8.
81. Xia, Q.-R.; Liang, J.; Cao, Y.; Shan, F.; Liu, Y.; Xu, Y.-Y. Increased Plasma Nesfatin-1 Levels May Be Associated with Corticosterone, IL-6, and CRP Levels in Patients with Major Depressive Disorder. *Clinica Chimica Acta* **2018**, *480*, 107–111, doi:10.1016/j.cca.2018.02.004.
82. Kim, J.; Sun, S.; Lee, D.; Youk, H.; Yang, H. Gonadotropin Regulates NUCB2/Nesfatin-1 Expression in the Mouse Ovary and Uterus. *Biochem Biophys Res Commun* **2019**, *513*, 602–607, doi:10.1016/j.bbrc.2019.04.008.
83. Gao, X.; Zhang, K.; Song, M.; Li, X.; Luo, L.; Tian, Y.; Zhang, Y.; Li, Y.; Zhang, X.; Ling, Y.; et al. Role of Nesfatin-1 in the Reproductive Axis of Male Rat. *Sci Rep* **2016**, *6*, 32877, doi:10.1038/srep32877.

84. Seon, S.; Jeon, D.; Kim, H.; Chung, Y.; Choi, N.; Yang, H. Testosterone Regulates NUCB2 mRNA Expression in Male Mouse Hypothalamus and Pituitary Gland. *Dev Reprod* **2017**, *21*, 71–78, doi:10.12717/DR.2017.21.1.071.
85. Gao, X.; Zhang, K.; Song, M.; Li, X.; Luo, L.; Tian, Y.; Zhang, Y.; Li, Y.; Zhang, X.; Ling, Y.; et al. Role of Nesfatin-1 in the Reproductive Axis of Male Rat. *Sci Rep* **2016**, *6*, 1–10, doi:10.1038/srep32877.
86. Çathı, G.; Anık, A.; Küme, T.; Çalan, Ö.G.; Dündar, B.N.; Böber, E.; Abacı, A. Serum Nesfatin-1 and Leptin Levels in Non-Obese Girls with Premature Thelarche. *J Endocrinol Invest* **2015**, *38*, 909–913, doi:10.1007/s40618-015-0277-8.
87. Takagi, K.; Miki, Y.; Tanaka, S.; Hashimoto, C.; Watanabe, M.; Sasano, H.; Ito, K.; Suzuki, T. Nucleobindin 2 (NUCB2) in Human Endometrial Carcinoma: A Potent Prognostic Factor Associated with Cell Proliferation and Migration. *Endocr J* **2016**, *63*, 287–299, doi:10.1507/endocrj.EJ15-0490.
88. Markowska, A.; Szarszewska, M.; Knapp, P.; Grybos, A.; Grybos, M.; Marszałek, A.; Filas, V.; Wojcik-Krowiranda, K.; Swornik, M.; Markowska, J. The Role of Nesfatin and Selected Molecular Factors in Various Types of Endometrial Cancer. *Ginek Pol* **2019**, *90*, 571–576, doi:10.5603/GP.2019.0099.
89. Şengül, Ö.; Dilbaz, B.; Halıcı, Z.; Ferah, I.; Çadırcı, E.; Yılmaz, F. Decreased Serum Nesfatin-1 Levels in Endometriosis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* **2014**, *177*, 34–37, doi:10.1016/j.ejogrb.2014.03.012.
90. Rybska, M.; Billert, M.; Skrzypski, M.; Wojciechowicz, T.; Kubiak, M.; Łukomska, A.; Nowak, T.; Włodarek, J.; Wąsowska, B. Expression and Localization of the Neuropeptide Phoenixin-14 and Its Receptor GRP173 in the Canine Reproductive Organs and Periovarian Adipose Tissue. *Anim Reprod Sci* **2023**, *255*, 107282, doi:10.1016/j.anireprosci.2023.107282.
91. Kim, S.-H.; Ahn, M.B.; Cho, W.K.; Cho, K.S.; Jung, M.H.; Suh, B.-K. The Relation of Serum Nesfatin-1 Level with Anthropometric and Metabolic Parameters in Children and Adolescents. *Medicine* **2019**, *98*, e15460, doi:10.1097/MD.00000000000015460.
92. Zhao, Y.; Ma, X.; Wang, Q.; Zhou, Y.; Zhang, Y.; Wu, L.; Ji, H.; Qin, G.; Lu, J.; Bi, Y.; et al. Nesfatin-1 Correlates with Hypertension in Overweight or Obese Han Chinese Population. *Clin Exp Hypertens* **2015**, *37*, 51–56, doi:10.3109/10641963.2014.897722.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej oraz główne nurty i osiągnięcia badawcze poza osiągnięciem habilitacyjnym.

5.1. Główne nurty badawcze poza osiągnięciem habilitacyjnym

Zagadnienia poruszane w mojej dotychczasowej pracy badawczej, wykraczającej poza osiągnięcie habilitacyjne, związane są głównie z tematyką rozrodu zwierząt hodowlanych i towarzyszących. Moje badania miały na celu ocenę potencjału rozwojowego komórek rozrodczych zwierząt hodowlanych i zwierząt towarzyszących oraz zmian zachodzących podczas ich dojrzewania w pęcherzyku jajnikowym, za pomocą metod biologii komórki, metod molekularnych i dostępnych rozwiązań mikrosystemowych. Całościowy dorobek naukowy poza osiągnięciem habilitacyjnym jest przedstawiony w formie wykazu dorobku publikacyjnego w załączniku 4. Poniżej przedstawiam, podzielone na tematyczne obszary, główne nurty badawcze.

5.1.1. Badanie mechanizmów odpowiadających za regulację folikulogenezy i oogenezy u trzody chlewnej

W latach 2007-2010 byłam wykonawcą projektu NCN (NN308168233), pt. „Zastosowanie badań molekularnych w ocenie zdolności oocytów do zapłodnienia oraz klasyfikacji zarodków wykorzystanych w embriotransferze u świń”. W ramach tego projektu realizowanego we współpracy z zespołem prof. dr hab. Bartosza Kempistego (z Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu), powstało wiele znaczących dla mojego dorobku naukowego prac odnoszących się do morfologii oocytów, kompetencji rozwojowej komórek rozrodczych oraz zarodków na różnym etapie ich rozwoju. Pełna dojrzałość oocytu przedkłada się na jego zdolność do skutecznego zapłodnienia. Badania wykazały ścisły związek pomiędzy ekspresją genów kodujących białka osłonki przejrzystej (łac. *zona pellucida*), a morfologią dojrzałych oocytów świń. Przytoczone wyniki wskazywały, że mechanizm skutecznego zapłodnienia jest regulowany ekspresją genów ZP1-4 (*ang. Zona Glicorptains 1-4*) oraz integryny $\beta 1$ i $\beta 2$ (*ang. Intergrins*, ITGB1, ITGB2) oraz jest ściśle związany z morfologią gamet u świni. Badania wykazały także, że kolejnym czynnikiem, który w znaczący sposób wpływa na zdolność oocytów do dojrzewania, w warunkach *in vitro* oraz skutecznego zapłodnienia i osiągnięcia stadium blastocysty jest wielkość pęcherzyków jajnikowych, z jakich były one izolowane. W

oocytach pozyskanych z małych pęcherzyków jajnikowych (<3 mm średnicy) wykazano obniżoną ekspresję w/w genów w porównaniu do pęcherzyków o średnicy przekraczającej 5 mm. Takie komórki charakteryzowały się niepełną dojrzałością jądrową i cytoplazmatyczną, co bezpośrednio przedkładało się na niskie wyniki hodowli *in vitro* (IVM, ang. *In Vitro Maturation*) czy procedury zapłodnienia *in vitro* (IVF, ang. *In Vitro Fertilisation*). Wnioski z przeprowadzonych badań posłużyły do opracowania wstępnej klasyfikacji pęcherzyków jajnikowych i oocytów poprzedzającej procedury IVM u świni.

Zagadnieniem badawczym realizowanym przeze mnie w latach 2011-2015, była rola cytokin z rodziny transformujących czynników wzrostu beta (TGF- β) w regulacji folikulo- i oogenezy u świń. Przy pomocy metod mikroskopii konfokalnej, czy biologii molekularnej zajmowałam się analizą białek należących do tej rodziny cytokin, a odpowiadających za różnicowanie pęcherzyków jajnikowych, proliferację oraz adhezję komórek ziarnistych i osłonowych oraz dojrzewanie oocytów. Dodatkowo badania skupiały się na potencjalnej roli cytokin z rodziny TGF- β 1 w patogenezie cyst jajnikowych u świni domowej. Jako najbardziej istotne dla tych procesów folikulogenezy oraz dojrzewania oocytów określono 3 izoformy TGF- β 1, - β 2, β 3, różnicujący czynnik wzrostu 9 (GDF-9, ang. *Growth Differential Factor Nine*), inhibiny A i B. Badania te przeprowadzałam w ramach projektów grantowych NCN (NN 2011/03/N/NZ4/00305) i MNiSW NN 30858804. Wymiernym efektem prezentowanej aktywności naukowej była w 2013 roku moja rozprawa doktorska traktująca o roli TGF- β w dojrzewaniu oocytów i powstawaniu cysta jajnikowych u świni domowej.

Aby poszerzyć swój warsztat naukowy dotyczący rozrodu zwierząt gospodarskich brałam udział w szkoleniach w zagranicznych ośrodkach badawczych (w Niemczech). Szkolenie dotyczące technik *in vitro* (IVM, IVF) u zwierząt hodowlanych odbywałam w Institute for Farm Animal Genetics, Mariensee, Niemcy (styczeń 2009). Kolejno odbyłam kurs zakresu nowych technik stosowanych przy ocenie kompetencji rozwojowych oocytów trzody chlewnej w Leibniz Institute for Farm Animal Biology - FBN Dummerstorf, Niemcy (czerwiec 2009). Brałam także udział w badaniach nad oceną jakości zarodków świni za pomocą metod spektrofotometrycznych, w Leibniz Institute for Farm Animal Biology - FBN Dummerstorf, Niemcy (październik 2010).

5.1.2. Zastosowanie analizy transkryptomu w ocenie kompetencji rozwojowych oocytów świni domowej

Kolejnym tematem eksperymentalnym realizowanym we współpracy z zespołem badawczym z Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu była analiza całego transkryptomu

oocytów świni przed hodowlą i poddanych hodowli *in vitro*. Celem badania realizowanego w latach 2015-2017, przy pomocy mikromacierzy ekspresyjnych była analiza czynników molekularnych i morfologicznych, wpływających na prawidłowy przebieg dojrzewania jądrowego i cytoplazmatycznego oocytów trzody chlewnej. Do moich zadań należało przygotowanie materiału badawczego, klasyfikacja jakościowa komórek, prowadzenie hodowli *in vitro* i izolacja materiału genetycznego.

Wyniki badań wykazały, że profil transkryptomiczny oocytów przed i po dojrzewaniu *in vitro* znacząco się od siebie różni. Wskazano na istotne zmiany w profilu ekspresji genów w obrębie ponad 50 grup ontologicznych. Co ciekawe, były wśród nich geny już wcześniej powiązane z biologią komórki jajowej ale także nowe grupy genów, których funkcji wcześniej nie wiązano z procesem dojrzewania i zapłodnienia oocytów u ssaków. Wyniki badań wskazywały potencjalne grupy genów markerowych determinujących poprawne dojrzewanie oocytów podczas procedury IVM. Uwodniono, że zastosowanie metod transkryptomiki czy proteomiki może w znaczący sposób wpłynąć na rozwój technik wspomaganego rozrodu.

5.1.3. Mikrocytometr weterynaryjny „Lab-on-chip” - nowe urządzenie do oceny jakości komórek rozrodczych

Stosowane dotychczas metody molekularne doprowadziły do powstania nowej obiektywnej oceny jakości oocytów oraz zarodków, dzięki której możliwe jest określenie ich potencjału rozwojowego. Jednakże problemem wynikającym ze stosowania tych metod jest ich inwazyjność. Idealna metoda do badań jakości komórek rozrodczych powinna być nieinwazyjna i dostarczać wynik analizy w krótkim czasie, a urządzenie do takiej metody powinno być łatwe w transporcie i w użyciu. Łącząc informacje dotyczące wiedzy biologicznej z innowacyjnymi osiągnięciami mikroelektroniki skonstruowany został przenośny mikrocytometr „Lab-on-chip” w oparciu o współpracę naukowców z Politechniki Wrocławskiej i Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Przeprowadzaliśmy pomiary zarodków trzody chlewnej i bydła podczas transferów w terenie oraz liczne pomiary oocytów zwierząt hodowlanych pozyskiwanych w warunkach laboratoryjnych. Komórki rozrodcze po pomiarze wykonanym w mikrocytometrze były dalej z sukcesem poddawane procedurom IVM, IVF czy transferu do biorczyń. Analizy w spektrofotometrze weterynaryjnym typu Lab-on-chip pozwoliły na określenie widm absorbancji charakterystycznych dla grupy komórek najbardziej przydatnych do zapłodnień *in vitro* czy embriotransferu. Badania te wykonywałam w ramach projektu na lata 2009-2012, pt.: „Instrument do parametrycznej oceny jakości i kwalifikacji

zarodków bydła hodowanego z wykorzystaniem mikrochipu fluidycznego lab-on-chip" (Akronim projektu: VET-OPTOCHIP).

5.1.4. Badania nad układem rozrodczym samicy psa domowego (łac. *Canis familiaris*)

Zastosowanie technik wspomaganego rozrodu u psowatych

W ciągu ostatnich lat obserwuje się wzrost zainteresowania biotechnikami rozrodu także w przypadku psowatych. Duże zróżnicowanie gatunkowe i coraz częstsze problemy z rozrodem, wynikające z niepłodności lub wad rozwojowych układu rozrodczego wymusza poszukiwanie nowych rozwiązań niwelujących problem płodności u psów. Analizy dotyczące jakości oocytów, hodowli gamet *in vitro* czy patologii układu rozrodczego suk wykonywałam w ramach projektu NN 308292337 realizowanego w latach 2009-2012: „Zastosowanie badań molekularnych, cytogenetycznych oraz mikro-chipów fluidycznych w ocenie potencjału rozrodczego psa domowego (*Canis familiaris*)”. Do moich zadań w projekcie należały pozyskiwanie oocytów, ocena jakościowa gamet, przygotowanie komórek do oceny w systemie mikro-chipów oraz analizy molekularne.

Czynniki regulujące fizjologiczne funkcje macicy i rozwój zaburzeń w obrębie endometrium u suki

Równolegle z realizowaną tematyką określenia potencjału rozrodczego gamet suki analizowano w tkance macicy czynniki wzrostowe, które mogą odgrywać istotną rolę w powstawaniu i rozwoju patologii układu rozrodczego u tego gatunku. Zalicza się do nich m.in. transformujące, nabłonkowe, insulinopodobne oraz naczyniowo-śródbłonkowe czynniki wzrostu. Przeprowadzane badanie opierały się o analizę transkryptów wybranych czynników w endometrium suki metodą qPCR. Początkowo (w latach 2009-2012) skupiono się na czynnikach regulujących funkcje endometrium podczas poszczególnych faz cyklu rujowego czy aktywności macicy w okresie przedimplantacyjnym, jak m.in. cytokiny TGF- β , nabłonkowy czynnik wzrostu (ang. *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) i intergryny. Na kolejnym etapie, w latach 2013-2016, uczestniczyłam w badaniach dotyczących analizy profilu ekspresji mRNA wybranych czynników w tkance macicy prawidłowej vs. patologicznej, o różnym stopniu zaawansowania procesu chorobowego (realizowane w ramach projektu NCN 2013/09/N/NZ5/01835). Dodatkowo ze względu na częsty brak klinicznych objawów najczęstszych ureopatii u suk, opierając się o wyniki badań histologicznych,

podjęliśmy się opracowania charakterystyki pojawiających się różnic morfologicznych w obrazie komórkowym macic dotkniętych CEH czy ropomaciczem. Tematykę poszukiwania wybranych czynników markerowych potencjalnie zaangażowanych w patogenezę schorzeń macicy u psowatych kontynuowałam po 2019 r., a zebrane przeze mnie wyniki badań stanowią prezentowane osiągnięcie habilitacyjne.

Dorobek naukowy udokumentowany publikacjami, który jest efektem współpracy z innymi jednostkami naukowymi poza macierzystą Katedrą Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych przedstawia poniższe zestawienie.

5.2. Współpraca naukowa z jednostką zagraniczną

Współpraca naukowa: Department of Reproductive Biology, Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Dummerstorf, Germany, współpraca z zespołem prof. dr hab. Klause Petera Brüssowa

Forma współpracy: współpraca naukowa miała na celu badania z zakresu technik stosowanych przy ocenie kompetencji rozwojowych oocytów zwierząt hodowlanych i towarzyszących (jak optymalizacja warunków hodowli *in vitro*, zastosowanie testu BCB czy walidacja systemu oceny komórek rozrodczych za pomocą mikrocycetrometru „Lab-on-chip”). Dotyczyły także możliwego stosowania technik embrotransferu u świń metodami krwawymi i bezkrwawymi. Uzyskane wyniki w znaczący sposób poszerzyły wiedzę na temat mechanizmów odpowiadających za regulację folikulo- i oogenezy. Wytypowano czynniki molekularne, które wpływają na proces nabywania przez gamety żeńskie kompetencji rozwojowej, czy regulują prawidłowy wzrost i rozwoju zarodka.

Mój udział w badaniach polegał na przygotowaniu materiału badawczego, pozyskaniu oocytów/zarodków, przeprowadzeniu testu BCB (określającego dojrzałość cytoplazmatyczną komórek), klasyfikacji jakościowej komórek rozrodczych i hodowli *in vitro*. Odpowiadałam także za przygotowanie analizy ekspresji wybranych genów (metodą RT-qPCR i western blot) oraz analizę lokalizacji badanych grup białek w oocytach metodą immunofluorescencji. W ramach współpracy z Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN) odbyłam 2 staże naukowe w latach 2009/2010.

Efekty współpracy:

1. Kempisty B, Piotrowska H, **Rybska M**, Woźna M, Antosik P, Bukowska D, Zawierucha P, Ciesiołka S, Jaśkowski JM, Nowicki M, Brüssow KP, Zabel M. Expression of INH β A and INH β B proteins in porcine oocytes cultured in vitro is dependent on the follicle size. *Zygote*. 2015 Apr;23(2):205-11. doi:10.1017/S0967199413000439.
2. **Jackowska M**, Kempisty B, Woźna M, Piotrowska H, Antosik P, Zawierucha P, Bukowska D, Nowicki M, Jaśkowski JM, Brüssow KP. Differential expression of GDF9, TGFB1, TGFB2

and TGFB3 in porcine oocytes isolated from follicles of different size before and after culture in vitro. *Acta Vet Hung.* 2013 Mar;61(1):99-115. doi: 10.1556/AVet.2012.061.

3. Kempisty B, **Jackowska M**, Woźna M, Antosik P, Piotrowska H, Zawierucha P, Bukowska D, Jaśkowski JM, Nowicki M, Brüssow KP. Expression and cellular distribution of INHA and INHB before and after in vitro cultivation of porcine oocytes isolated from follicles of different size. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:742829. doi: 10.1155/2012/742829.
4. Kempisty B, Woźna M, Piotrowska H, Bukowska D, **Jackowska M**, Antosik P, Jaśkowski JM, Brüssow KP. The expression of genes encoding zona pellucida glycoproteins in canine cumulus-oocyte complexes cultured in vitro in media supplemented with progesterone and estradiol. *Theriogenology.* 2012 Feb;77(3):684-93. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.09.008.
5. Kempisty B, **Jackowska M**, Piotrowska H, Antosik P, Woźna M, Bukowska D, Brüssow KP, Jaśkowski JM. Zona pellucida glycoprotein 3 (pZP3) and integrin $\beta 2$ (ITGB2) mRNA and protein expression in porcine oocytes after single and double exposure to brilliant cresyl blue test. *Theriogenology.* 2011 May;75(8):1525-35. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.12.016.
6. Antosik P, Kempisty B, Bukowska D, **Jackowska M**, Włodarczyk R, Budna J, Brüssow KP, Lianeri M, Jagodziński PP, Jaśkowski JM. Follicular size is associated with the levels of transcripts and proteins of selected molecules responsible for the fertilization ability of oocytes of puberal gilts. *J Reprod Dev.* 2009 Dec;55(6):588-93. doi: 10.1262/jrd.20252.

5.3. Współpraca z jednostką krajową

Współpraca naukowa: Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Wydział Lekarski II, Katedra Anatomii, prof. dr hab. Bartosz Kempisty oraz Katedra Histologii i Embriologii, dr hab. Joanna Budna-Tukan

Forma współpracy: Badania miały na celu wytypowanie czynników wpływających na kompetencje rozwojowe oocytów świni domowej (łac. *Sus scrofa f. domestica*) oraz zdolność oocytów do dojrzewania jądrowego i zapłodnienia w warunkach *in vitro*. Dokładniejszą charakterystykę potencjału rozwojowego gamet żeńskich świni domowej umożliwiło zastosowanie analizy transkryptomu oocytów za pomocą mikromacierzy ekspresyjnych. Dodatkowym nurtem badań była ocena jakości i określenie kompetencji rozwojowych oocytów samicy psa domowego. Wspólne badania realizowano w ramach projektów NCN: 2011/03/N/NZ/4/00305, MNiSW: NN 308292337, NN 30858804 .

Mój udział polegał na przygotowaniu materiału badawczego, pozyskaniu oocytów, przeprowadzeniu testu BCB- określającego dojrzałość komórek i hodowli *in vitro*; następnie izolacji materiału genetycznego, wykonaniu analiz molekularnych (RT-qPCR i western blot), oraz przygotowaniu analizy lokalizacji badanych grup białek w oocytach metodą immunofluorescencji. Uczestniczyłam także w przygotowaniu artykułów przeglądowych i oryginalnych prezentujących wyniki współpracy.

Efekty współpracy:

Prace przeglądowe:

1. **Rybska M.**, Knap S., Jankowski M., Jeseta M., Bukowska D., Antosik P., Nowicki M., Zabel M., Kempisty B., Jaśkowski J.M. Cytoplasmic and nuclear maturation of oocytes in mammals – Living in the shadow of cells developmental capability. *Medical Journal of Cell Biology*, 2018, 6 (1), pp. 13 - 17. doi:10.2478/acb-2018-0003
2. **Rybska M.**, Knap S., Jankowski M., Borowiec B., Jeseta M., Bukowska D., Antosik P., Nowicki M., Zabel M., Kempisty B., Jaśkowski J.M. Pathogenesis and pathophysiology of ovarian

- follicular cysts in mammals. *Medical Journal of Cell Biology*, 2018, 6 (3), pp. 120 - 124 doi: 10.2478/acb-2018-0019
3. **Rybska M.**, Knap S., Stefańska K., Jankowski M., Chamier-Gliszczyńska A., Popis M., Jeseta M., Bukowska D., Antosik P., Kempisty B., Jaśkowski J.M. Transforming growth factor (TGF) – Is it a key protein in mammalian reproductive biology? *Medical Journal of Cell Biology*, 2018, 6 (3), pp. 127 – 130. doi: 10.2478/acb-2018-0020
 4. **Rybska M.**, Knap S., Jankowski M., Jeseta M., Bukowska D., Antosik P., Nowicki M., Zabel M., Kempisty B., Jaśkowski J.M. Characteristic of factors influencing the proper course of folliculogenesis in mammals. *Medical Journal of Cell Biology*, 2018, 6 (1), pp. 33 - 38 DOI: 10.2478/acb-2018-0006
 5. Bukowska D., Kempisty B., Antosik P., **Jackowska M.**, Woźna M., Lianeri M., Jaśkowski J.M. Association between the number and quality of bitch COCs and selected donor factors. *Medycyna Weterynaryjna*, 2010, 66 (7), pp. 480 - 483

Prace oryginalne:

1. Budna J, Chachuła A, Kaźmierczak D, **Rybska M**, Ciesiołka S, Bryja A, Kranc W, Borys S, Żok A, Bukowska D, Antosik P, Bruska M, Brüssow KP, Nowicki M, Zabel M, Kempisty B. Morphogenesis-related gene-expression profile in porcine oocytes before and after in vitro maturation. *Zygote*. 2017 Jun;25(3):331-340. doi: 10.1017/S096719941700020X.
2. Budna J, Bryja A, Celichowski P, Kranc W, Ciesiołka S, Borys S, **Rybska M**, Kolecka-Bednarczyk A, Jeseta M, Bukowska D, Antosik P, Brüssow KP, Bruska M, Nowicki M, Zabel M, Kempisty B. "Bone Development" Is an Ontology Group Upregulated in Porcine Oocytes Before In Vitro Maturation: A Microarray Approach. *DNA Cell Biol*. 2017 Aug;36(8):638-646. doi: 10.1089/dna.2017.3677.
3. Budna J, **Rybska M**, Ciesiołka S, Bryja A, Borys S, Kranc W, Wojtanowicz-Markiewicz K, Jeseta M, Sumelka E, Bukowska D, Antosik P, Brüssow KP, Bruska M, Nowicki M, Zabel M, Kempisty B. Expression of genes associated with BMP signaling pathway in porcine oocytes before and after IVM - a microarray approach. *Reprod Biol Endocrinol*. 2017 Jun 2;15(1):43. doi: 10.1186/s12958-017-0261-6.
4. Kranc W, Budna J, Chachuła A, Borys S, Bryja A, **Rybska M**, Ciesiołka S, Sumelka E, Jeseta M, Brüssow KP, Bukowska D, Antosik P, Bruska M, Nowicki M, Zabel M, Kempisty B. "Cell Migration" Is the Ontology Group Differentially Expressed in Porcine Oocytes Before and After In Vitro Maturation: A Microarray Approach. *DNA Cell Biol*. 2017 Apr;36(4):273-282. doi: 10.1089/dna.2016.3425.
5. Kempisty B, Piotrowska H, **Rybska M**, Woźna M, Antosik P, Bukowska D, Zawierucha P, Ciesiołka S, Jaśkowski JM, Nowicki M, Brüssow KP, Zabel M. Expression of INH β A and INH β B proteins in porcine oocytes cultured in vitro is dependent on the follicle size. *Zygote*. 2015 Apr;23(2):205-11. doi: 10.1017/S0967199413000439.
6. **Jackowska M**, Kempisty B, Woźna M, Piotrowska H, Antosik P, Zawierucha P, Bukowska D, Nowicki M, Jaśkowski JM, Brüssow KP. Differential expression of GDF9, TGFB1, TGFB2 and TGFB3 in porcine oocytes isolated from follicles of different size before and after culture in vitro. *Acta Vet Hung*. 2013 Mar;61(1):99-115. doi: 10.1556/AVet.2012.061.
7. Kempisty B, **Jackowska M**, Woźna M, Antosik P, Piotrowska H, Zawierucha P, Bukowska D, Jaśkowski JM, Nowicki M, Brüssow KP. Expression and cellular distribution of INHA and INHB before and after in vitro cultivation of porcine oocytes isolated from follicles of different size. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:742829. doi: 10.1155/2012/742829.
8. Kempisty B, Woźna M, Piotrowska H, Bukowska D, **Jackowska M**, Antosik P, Jaśkowski JM, Brüssow KP. The expression of genes encoding zona pellucida glycoproteins in canine cumulus-oocyte complexes cultured in vitro in media supplemented with progesterone and estradiol. *Theriogenology*. 2012 Feb;77(3):684-93. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.09.008.
9. Kempisty B, **Jackowska M**, Piotrowska H, Antosik P, Woźna M, Bukowska D, Brüssow KP, Jaśkowski JM. Zona pellucida glycoprotein 3 (pZP3) and integrin β 2 (ITGB2) mRNA and protein expression in porcine oocytes after single and double exposure to brilliant cresyl blue test. *Theriogenology*. 2011 May;75(8):1525-35. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.12.016.
10. Antosik P, Kempisty B, Bukowska D, **Jackowska M**, Włodarczyk R, Budna J, Brüssow KP, Lianeri M, Jagodziński PP, Jaśkowski JM. Follicular size is associated with the levels of

transcripts and proteins of selected molecules responsible for the fertilization ability of oocytes of puberal gilts. *J Reprod Dev.* 2009 Dec;55(6):588-93. doi: 10.1262/jrd.20252.

11. **Jackowska M**, Kempisty B, Antosik P, Bukowska D, Budna J, Lianeri M, Rosińska E, Woźna M, Jagodziński PP, Jaśkowski JM. The morphology of porcine oocytes is associated with zona pellucida glycoprotein transcript contents. *Reprod Biol.* 2009 Mar;9(1):79-85. doi: 10.1016/s1642-431x(12)60097-7.
12. Kempisty B, Antosik P, Bukowska D, **Jackowska M**, Lianeri M, Jaśkowski JM, Jagodziński PP. Assessment of zona pellucida glycoprotein and integrin transcript contents in porcine oocytes. *Reprod Biol.* 2009 Mar;9(1):71-8. doi: 10.1016/s1642-431x(12)60096-5.
13. Kempisty B, Antosik P, Bukowska D, **Jackowska M**, Lianeri M, Jaśkowski JM, Jagodziński PP. Analysis of selected transcript levels in porcine spermatozoa, oocytes, zygotes and two-cell stage embryos. *Reprod Fertil Dev.* 2008;20(4):513-8. doi: 10.1071/rd07211.

Współpraca naukowa: Wydział Elektroniki Mikrosystemów i Fotoniki Politechniki Wrocławskiej, Katedra Mikrosystemów, (dawniej Zakład Mikroinżynierii i Fotowoltaiki), współpraca z zespołem prof. dr hab. Jana Dziubana

Forma współpracy: W ramach współpracy naukowej opracowano prototyp mikrocytometru typu „Lab-on-a-chip” (LOC) służącym do oceny jakości żywych komórek, a szczególnie gamet (oocytów) zwierząt hodowlanych i towarzyszących oraz zarodków bydła i trzody chlewnej. Prowadzone badania potwierdziły możliwość wykorzystania mikro-urządzeń analitycznych, jako nowej metody przyżyciowej oceny jakości komórek rozrodczych. System „Lab-on-chip” stanowi alternatywną metodę do dotychczasowo stosowanej analizy morfologii komórek za pomocą standardowej mikroskopii świetlnej. Badania realizowano w ramach projektu: Innowacyjna Gospodarka na lata 2009-2012 VET-OPTOCHIP nr POIG.01.03.01-00-014/08-01.

Mój udział polegał na pozyskaniu oocytów (bydło, trzoda chlewna), oceny ich morfologii i jakości za pomocą mikroskopii świetlnej oraz przygotowaniu hodowli *in vitro* komórek. Kolejno w przypadku zarodków, moja rola polegała na ocenie jakości pozyskanych zarodków podczas procedury embiotransferu i ich klasyfikacji oraz przygotowanie komórek do pomiaru w systemie „Lab-on-chip”.

Efekty współpracy:

Prace oryginalne:

1. P. Szczepanska, R. Walczak, J. Dziuban, **M. Jackowska**, B. Kempisty, J. Jaskowski, S. Bargiel. Lab-on-chip quality classification of porcine/bovine oocytes. *Procedia Chemistry*, 2009, 1, 1, 341-344. doi.org/10.1016/j.proche.2009.07.085
2. Śniadek P., Walczak R., Dziuban J., **Jackowska M.**, Antosik P., Jaśkowski J., Kempisty B. Lab-on-a-chip for quality classification of pig oocytes *Optica Applicata*, 2011, 41 (2), pp. 417 – 422
3. Walczak R., Śniadek P., Dziuban J.A., Kempisty B., **Jackowska M.**, Antosik P., Jaśkowski J.M. Lab-on-a-chip spectrophotometric characterization of porcine oocytes. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 2012, 165 (1), pp. 38 - 43. DOI: 10.1016/j.snb.2012.02.001

Prace przeglądowe:

1. Walczak R., Dziuban J. , Śniadek P., **Rybska M.**, Jaśkowski JM.. Laboratoria chipowe do spektrofotometrycznego badania jakości oocytów i zarodków. *Biotechniki stosowane w rozrodzie zwierząt gospodarskich i koni*. Pod. red. Jędrzeja M. Jaśkowskiego, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, 2017, s. 127-145
2. Kempisty B., Walczak R., Śniadek P., Dziuban J., Bukowska D., Antosik P., **Jackowska M.**, Woźna M., Piotrowska H., Świerczewska M., Jaśkowski J.M.. Morfologiczne i molekularne

aspekty formowania zygoty oraz wczesnych stadiów rozwoju zarodkowego u świń w świetle badań genetycznych i mikrofluidycznych. Med. Weter. 2011, vol. 67 (nr 6), s. 380-384

3. Kempisty B., Piotrowska H., Walczak R., Śniadek P., Dziuban J., Bukowska D., Antosik P., **Jackowska M.**, Woźna M., Jaśkowski J.M. Factors with an influence on mammalian oocytes developmental potential in light of molecular and microfluidic research [Czynniki warunkujące potencjał rozwojowy oocytów ssaków - Wśietle badań molekularnych i mikrofluidycznych]. Medycyna Weterynaryjna, 2011, 67 (7), pp. 435 - 439
4. Kempisty B., Walczak R., Śniadek P., Piotrowska H., Woźna M., **Jackowska M.**, Bukowska D., Antosik P., Dziuban J., Jaśkowski J.M. Microfluidic chip system model (Lab-on-chip) in research on quality of mammalian oocytes and embryos. Medycyna Weterynaryjna, 2011, 67 (8), pp. 522 – 526
5. Jaśkowski J.M., Kempisty B., Woźna M., Walczak R., Szczepanska P., Dziuban J., **Jackowska M.**, Antosik P. Selected methods of assessing the developmental competence of bovine oocytes and embryos [Wybrane metody oceny kompetencji rozwojowej oraz selekcji oocytów i zarodków bydłowych]. (2010) Medycyna Weterynaryjna, 66 (11), pp. 740 – 744

Doniesienia konferencyjne:

1. Walczak R., Szczepanska P., Dziuban J., Kempisty B., **Jackowska M.**, Antosik P., Jaśkowski J., Chełmońska-Soyta A. Lab-on-a-chip for developmental competence assessment of bovine oocytes. Proceedings of the 17th International Conference - Mixed Design of Integrated Circuits and Systems, MIXDES 2010, art. no. 5551276, pp. 633 - 636
2. Śniadek P., Walczak R., Dziuban J., Woźna M., **Rybska M.**, Bukowska D., Jaśkowski J. Lab-On-a-Chip spectrophotometric "Field of Quality" assessment of dog oocytes (2013) 17th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS 2013, 3, pp. 1677 – 1679

Współpraca naukowa: Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN Olsztyn, Zespół Fizjologii i Toksykologii; dr hab. Barbara Wąsowska, prof. Instytutu (*IRZiBŻ PAN*)

Forma współpracy:

Celem współpracy była analiza wybranych czynników białkowych oraz hormonów we krwi i w tkankach układu rozrodczego oraz w gonadalnej tkance tłuszczowej u suk. Badania miały na celu wytypowanie potencjalnych markerów molekularnych wskazujących na toczący się stan zapalny macicy (cytokinina TGF-β1, neuropeptyd PNx-14, nesfatyna-1), czy pojawiają się zaburzenia w aktywności jajników (białko PNx-14) u suk. Efektem współpracy są 4 publikacje oryginalne, które wchodzą w skład osiągnięcia habilitacyjnego i doniesienie konferencyjne prezentowane podczas XVII Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w Olsztynie.

Mój udział w badaniach polegał na opracowaniu koncepcji badań, przygotowanie materiału badawczego, wykonanie analiz, opracowanie wyników oraz sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptów i odpowiedzi na recenzje, udział w pozyskiwaniu finansowania, przygotowanie treści doniesienia konferencyjnego.

Efekty współpracy:

1. **Rybska M.**, Skrzypski M, Billert M, Wojciechowicz T, Łukomska A, Pawlak P, Nowak T, Pusiak K, Wąsowska B. Nesfatin-1 expression and blood plasma concentration in female dogs suffering from cystic endometrial hyperplasia and pyometra and its possible interaction with phoenixin-14. BMC Vet Res. 2024 Oct 25;20(1):486. doi: 10.1186/s12917-024-04336-w.

2. **Rybska M**, Billert M, Skrzypski M, Wojciechowicz T, Kubiak M, Łukomska A, Nowak T, Włodarek J, Wąsowska B. Expression and localization of the neuropeptide phoenixin-14 and its receptor GRP173 in the canine reproductive organs and periovarian adipose tissue. Anim Reprod Sci. 2023 Aug;255:107282. doi: 10.1016/j.anireprosci.2023.107282.
3. **Rybska M**, Billert M, Skrzypski M, Kubiak M, Woźna-Wysocka M, Łukomska A, Nowak T, Błaszczak-Cichoszewska J, Pomorska-Mól M, Wąsowska B. Canine cystic endometrial hyperplasia and pyometra may downregulate neuropeptide phoenixin and GPR173 receptor expression. Anim Reprod Sci. 2022 Mar;238:106931. doi: 10.1016/j.anireprosci.2022.106931.
4. **Rybska M**, Woźna-Wysocka M, Wąsowska B, Skrzypski M, Kubiak M, Błaszczak B, Łukomska A, Nowak T, Jaśkowski JM. Expression of Transforming Growth Factor Beta Isoforms in Canine Endometrium with Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra Complex. Animals (Basel). 2021 Jun 21;11(6):1844. doi: 10.3390/ani11061844.

Doniesienie konferencyjne:

1. **Rybska M**, Czyżewska-Dors E, Skrzypski M, Wojciechowicz T, Sowińska N, Augustyniak A, Pusiak K, Wąsowska B. Adropina, potencjalny biomarker rozwoju schorzeń macicy u psów. XVII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Olsztyn, 19-21.09.2024 r.

Współpraca naukowa: Instytut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, Zakład Biotechnologii Medycznej, dr Magdalena Woźna-Wysocka

Forma współpracy: Celem badań było określenie zmiennych morfologicznych towarzyszących chorobom macicy u suk w ocenie mikroskopowej (histologicznej). Uzyskane wyniki wykorzystano do stworzenia bardziej szczegółowej klasyfikacji patologicznych zmian macicy u suki (jak CEH, ropomaciczem, czy pojawiające się przekrwienie endometrium). Przeprowadzone analizy szczegółowo określiły różnice w ocenie makroskopowej i analizie histologicznej endometrium u suki.

Mój wkład merytoryczny polegał na przygotowaniu materiału badawczego, wstępnej ocenie makroskopowej fragmentów macic i ich klasyfikacji, przygotowaniu finalnej wersji manuskryptu i udziale w procesie recenzji artykułu. (BMC Vet Res. 2021. doi: 10.1186/s12917-021-02875-0.)

Kolejnym celem badawczym była analiza profilu ekspresji cytokin z rodziny TGF- β w endometrium suk dotkniętych torbielowatym rozrostem gruczołów endometrium i ropomaciczem. Artykuł stanowi część osiągnięcia habilitacyjnego (praca nr 1), udział własny i wkład merytoryczny habilitantki zostały opisane w pkt. 4.2

Efekty współpracy:

1. **Rybska M**, Woźna-Wysocka M, Wąsowska B, Skrzypski M, Kubiak M, Błaszczak B, Łukomska A, Nowak T, Jaśkowski JM. Expression of Transforming Growth Factor Beta Isoforms in Canine Endometrium with Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra Complex. Animals (Basel). 2021 Jun 21;11(6):1844. doi: 10.3390/ani11061844
2. Woźna-Wysocka M, **Rybska M**, Błaszczak B, Jaśkowski BM, Kulus M, Jaśkowski JM. Morphological changes in bitches endometrium affected by cystic endometrial hyperplasia - pyometra complex - the value of histopathological examination. BMC Vet Res. 2021 Apr 26;17(1):174. doi: 10.1186/s12917-021-02875-0.

Współpraca naukowa: Katedra Anatomii i Fizjologii Zwierząt, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, prof. dr hab. Tadeusz

Kamiński i prof. dr hab. Nina Smolińska oraz Laboratorium Fizjologii i Toksykologii Rozrodu, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, prof. dr hab. Agnieszka Rak

Forma współpracy: Współpraca dotyczyła opracowania artykułu przeglądowego na temat roli białka oreksyny w utrzymaniu homeostazy, funkcji endokrynnych i regulacji funkcji rozrodczych u świni. Rolą habilitantki było przygotowanie rozdziałów artykułu, które dotyczyły tematu regulacji męskiego i żeńskiego układu rozrodczego przez oreksynę oraz weryfikacja manuskryptu w toku recenzji.

Efekty współpracy:

1. Wojciechowicz T, **Rybska M**, Smolinska N, Kaminski T, Rak A, Wlodarek J, Nowak KW, Skrzypski M. The role of the orexin (hypocretin) system in controlling energy homeostasis, endocrine system, and reproduction in pigs and other living organisms. J Physiol Pharmacol. 2023 Dec;74(6). doi: 10.26402/jpp.2023.6.01

5.4. Współpraca naukowa w obrębie Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Współpraca naukowa: Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu; zespół badawczy dr hab. Marka Skrzypskiego, prof. UPP.

Forma współpracy: Celem współpracy było określenie potencjalnej roli wybranych czynników białkowych na funkcje endometrium, tkanki jajnika jak i gonadalnej tkanki tłuszczowej u suk. Nasze badania po raz pierwszy ujawniły ekspresję i lokalizację neuropeptydów: nesfatyna, feniksyna i adropina w narządach rozrodczych suki. Efektem współpracy są 4 publikacje oryginalne, które wchodzą w skład prezentowanego osiągnięcia habilitacyjnego, artykuł przeglądowy, dotyczący roli oreksynę w organizmie świni jak i doniesienia konferencyjne prezentowane podczas XVII Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych w Olsztynie.

Mój udział w badaniach polegał na opracowaniu koncepcji badań, przygotowanie materiału badawczego, wykonanie analiz, opracowanie wyników oraz sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptów i odpowiedzi na recenzje, udział w pozyskiwaniu finansowania, przygotowanie treści doniesień konferencyjnych

Efekt współpracy:

1. **Rybska M**, Skrzypski M, Billert M, Wojciechowicz T, Łukomska A, Pawlak P, Nowak T, Pusiak K, Wąsowska B. Nesfatin-1 expression and blood plasma concentration in female dogs suffering from cystic endometrial hyperplasia and pyometra and its possible interaction with phoenixin-14. BMC Vet Res. 2024 Oct 25;20(1):486. doi: 10.1186/s12917-024-04336-w.
2. **Rybska M**, Billert M, Skrzypski M, Wojciechowicz T, Kubiak M, Łukomska A, Nowak T, Włodarek J, Wąsowska B. Expression and localization of the neuropeptide phoenixin-14 and its receptor GRP173 in the canine reproductive organs and periovarian adipose tissue. Anim Reprod Sci. 2023 Aug;255:107282. doi: 10.1016/j.anireprosci.2023.107282.

3. **Rybska M**, Billert M, Skrzypski M, Kubiak M, Woźna-Wysocka M, Łukomska A, Nowak T, Błaszczak-Cichoszewska J, Pomorska-Mól M, Wąsowska B. Canine cystic endometrial hyperplasia and pyometra may downregulate neuropeptide phoenixin and GPR173 receptor expression. *Anim Reprod Sci.* 2022 Mar;238:106931. doi: 10.1016/j.anireprosci.2022.106931.
4. **Rybska M**, Woźna-Wysocka M, Wąsowska B, Skrzypski M, Kubiak M, Błaszczak B, Łukomska A, Nowak T, Jaśkowski JM. Expression of Transforming Growth Factor Beta Isoforms in Canine Endometrium with Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra Complex. *Animals (Basel).* 2021 Jun 21;11(6):1844. doi: 10.3390/ani11061844.
5. Wojciechowicz T, **Rybska M**, Smolinska N, Kaminski T, Rak A, Włodarek J, Nowak KW, Skrzypski M. The role of the orexin (hypocretin) system in controlling energy homeostasis, endocrine system, and reproduction in pigs and other living organisms. *J Physiol Pharmacol.* 2023 Dec;74(6). doi: 10.26402/jpp.2023.6.01

Doniesienia konferencyjne:

2. **Rybska M**, Czyżewska-Dors E, Skrzypski M, Wojciechowicz T, Sowińska N, Augustyniak A, Pusiak K, Wąsowska B. Adropina, potencjalny biomarker rozwoju schorzeń macicy u psów. XVII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Olsztyn, 19-21.09.2024 r.
3. **Rybska M**, Skrzypski M, Pusiak K, Nowak T. Ekspresja i lokalizacja nesfatyny-1 w układzie rozrodczym samicy psa XVII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Olsztyn, 19-21.09.2024 r.

Współpraca naukowa: Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt, dr hab. Piotr Pawlak i dr Tomasz Nowak

Forma współpracy: Współpraca dotyczy analizy immunolokalizacji wybranych neuropeptydów (feniksyna i nesfatyna) w układzie rozrodczym suki w stanie fizjologicznym vs. pojawiających się zmian patologicznych. Analiza opierała się o badanie lokalizacji przeciwciał za pomocą mikroskopii konfokalnej oraz poziomu zmian immureaktywności sygnału poszczególnych neuropeptydów w narządach rozrodczych suki. Wyniki są częścią cyklu habilitacyjnego i zostały zawarte w publikacji nr 4. Mój udział polegał na opracowaniu koncepcji badań, przygotowaniu materiału badawczego, wykonaniu analiz, opracowaniu wyników i przygotowaniu manuskryptu i treści doniesienia konferencyjnego. Dodatkowo wraz z dr T. Nowakiem opracowałam system gromadzenia danych i deponowania prób tkanek narządów rozrodczych samicy psa domowego.

Efekty współpracy:

Rybska M, Skrzypski M, Billert M, Wojciechowicz T, Łukomska A, Pawlak P, Nowak T, Pusiak K, Wąsowska B. Nesfatin-1 expression and blood plasma concentration in female dogs suffering from cystic endometrial hyperplasia and pyometra and its possible interaction with phoenixin-14. *BMC Vet Res.* 2024 Oct 25;20(1):486. doi: 10.1186/s12917-024-04336-w.

Doniesienie konferencyjne:

Rybska M, Skrzypski M, Pusiak P, Nowak T. Ekspresja i lokalizacja nesfatyny-1 w układzie rozrodczym samicy psa XVII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Olsztyn, 19-21.09.2024 r., s. 226

5.5. Staże badawcze w jednostkach zagranicznych:

1. **26-30.09.2022-** Short-term scientific missions (STSMs) COST action; FoodHub Workshop: Microbial whole-genome Sequencing and phenotypic AMR-Testing in

National Study Centre for Sequencing in Risk Assessment of German Federal Institute for Risk Assessment (BfR), koordynator: dr hab. Burghard Malorny

2. **28.10-06.11.2010-** Badania nad jakością zarodków stosowanych w embiotransferze trzody chlewnej, Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Dummerstorf, Germany, koordynator: prof. dr hab. Klaus P. Brüssow
3. **07-16.06.2009-** Badania z zakresu nowych technik stosowanych przy ocenie kompetencji rozwojowych oocytów, Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Dummerstorf, Germany, koordynator: prof. dr hab. Klaus P. Brüssow
4. **15-25. 02. 2009-** Szkolenie dotyczące technik *in vitro* u zwierząt hodowlanych, Institute for Animal Breeding, Mariensee (FAL), Germany, koordynator: prof. dr hab. Detlef Rath

5.6. Otoczenie gospodarcze

- 5.6.1. Współpraca naukowa:** Współpraca z firmą Crazy Coral, firmą zajmującą się importem, sprzedażą i hodowlą zwierząt do akwarystyki morskiej.

Forma współpracy: Projekt NCBiR, **POIR.01.01.01-00-1119/18** pt. „Opracowanie optymalnych warunków dla zmniejszenia strat, utrzymania w dobrej kondycji oraz rozchodowania koralowców morskich w akwariach morskich w firmie CrazyCoral”. Projekt realizowany w latach 2019-2021. Celem projektu było opracowanie optymalnych warunków do hodowli koralowców w sztucznych wielkoformatowych zbiornikach morskich. Do parametrów, które badano jako kluczowe dla hodowli koralowców należało: zasolenie, twardość wody, typ cyrkulacji wody w zbiorniku, sposób żywienia oraz rodzaj oświetlenia zbiornika. rozmnażanie koralowców w sztucznych zbiornikach pozwoli na rozwój akwarystyki morskiej bez szkody dla natury oraz zmniejszy odłów zwierząt z naturalnych raf.

W projekcie pełniłam funkcję konsultanta naukowego, do moich obowiązków należał nadzór merytoryczny nad poszczególnymi etapami projektu oraz analiza statystyczna uzyskanych wyników pomiarowych. Przygotowywanie raportów z poszczególnych etapów projektu oraz przygotowanie doniesień konferencyjnych prezentujących wyniki projektu.

Efekt współpracy:

Doniesienia konferencyjne

1. Protasewicz D, **Rybska M**, Skrzypski M, Zakrzewski P. Cyrkulacja wody, jako kluczowy element dla rozwoju koralowców w warunkach sztucznej hodowli akwarystycznej. XIV Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa TYGIEL 2022. “Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju” w dniach 24-27 marca 2022 r.
2. Protasewicz D, **Rybska M**, Skrzypski M. Optymalizacja parametrów rozwoju koralowców w warunkach sztucznej hodowli akwarystycznej. XIII Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa TYGIEL 2021 „Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju” w dniach 25-28 marca 2021 r.
3. **Rybska M**, Kubiak M, Protasewicz D, Zakrzewski P, Skrzypski M. Wpływ oświetlenia na rozwój koralowców w warunkach sztucznej hodowli akwarystycznej. III Ogólnopolska Przyrodnicza Konferencja Naukowa „Mater naturae” – osiągnięcia, wyzwania i problemy nauk przyrodniczych, 10 grudnia 2021 r

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

6.1.1. Prowadzone zajęcia

Począwszy od ukończenia studiów doktoranckich, poprzez pracę na stanowisku adiunkta, na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, pełnię funkcję nauczyciela akademickiego i prowadzę zajęcia dydaktyczne dla studentów studiów stacjonarnych kierunków weterynaria i zootechnika w języku polskim.

Zajęcia dydaktyczne prowadzone w języku polskim:

Kierunek: Weterynaria, jednolite studia magisterskie

- Mikrobiologia (ćwiczenia)
- Andrologia (ćwiczenia)
- Diagnostyka kliniczna i laboratoryjna (ćwiczenia)
- Prewencja weterynaryjna (ćwiczenia)
- Praktyczne zastosowanie biotechnik w rozrodzie (wykłady/ćwiczenia)
- Choroby ryb ozdobnych (wykłady/ćwiczenia)
- Choroby mięczaków (wykłady/ćwiczenia)
- Immunologia kliniczna (wykłady/ćwiczenia)

Kierunek: Zootechnika, II stopień (studia magisterskie), specjalizacja Hodowla i genetyka zwierząt

- Andrologia dla zootechników (wykłady/ćwiczenia)
- Zaburzenia płodności (wykłady i ćwiczenia)
- Biotechniki rozrodu (ćwiczenia)

Kierunek: Zootechnika, II stopień (studia magisterskie), specjalizacja Żywienie zwierząt

- Andrologia dla zootechników (wykłady/ćwiczenia)

Kierunek: Zootechnika, II stopień (studia magisterskie), specjalizacja Hipologia

- Andrologia dla zootechników (wykłady i ćwiczenia)

Kierunek: Weterynaria, jednolite studia magisterskie

- koordynator praktyki hodowlanej dla II roku weterynarii

6.1.2. Inicjatywy dydaktyczne polegające na opracowaniu i wdrożeniu

1. współautorstwo w opracowaniu programu przedmiotu Mikrobiologia, Diagnostyka kliniczna i laboratoryjna, dla kierunku Weterynaria (ćwiczenia).
2. współautorstwo w opracowaniu programu (wykłady/ ćwiczenia) na kierunku Weterynaria dla przedmiotów: Praktyczne zastosowanie biotechnik w rozrodzie, Choroby ryb ozdobnych, Choroby mięczaków, Immunologia kliniczna
3. współautorstwo w opracowaniu programu (wykłady/ ćwiczenia) na kierunku Zootechnika dla przedmiotów: Andrologia dla zootechników i Zaburzenia płodności
4. opracowanie modułu zajęć anglojęzycznych, pt. "Diagnostic methods in veterinary medicine and scientific research" dla studentów Szkoły Doktorskiej UPP.

5. opracowanie protokołów ćwiczeń z przedmiotów:
 - Andrologia, Mikrobiologia, Diagnostyka kliniczna i laboratoryjna, Praktyczne zastosowanie biotechnik w rozrodzie dla kierunku Weterynaria
 - Andrologia dla zootechników dla kierunku Zootechnika

6.1.3. Promotorstwo/recenzje prac dyplomowych

Promotor pracy licencjackiej:

-Karolina Pusiak (2022, Biotechnologia)

Promotor 2 prac magisterskich:

- Karolina Pusiak (2024, Biotechnologia)

- Julia Augustyniak (2025, Zootechnika)

6.1.4. Współopiekun Koła Naukowego Medyków Weterynaryjnych,

Sekcji Mikrobiologów Weterynaryjnych skupiającej Studentów kierunku weterynaria

6.2. Osiągnięcia organizacyjne

1. Członek Rady Programowej kierunku Weterynaria w latach 2019 - 2020.
2. Członek Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach z ramienia ZNP w latach 2017 – 2019.
3. Członek Wydziałowego Zespołu ds. Opracowania Dokumentacji na Potrzeby Ewaluacji (2019-2020).
4. Członek Komisji Konkursowej na obsadę stanowiska adiunkta w Katedrze Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych (funkcja protokolant) w dniu 13.12.2024.
5. Członek komitetu organizacyjnego konferencji międzynarodowej- 25th Scientific Meeting A.E.T.E. Poznań, 11 – 12 wrzesień 2009.
6. Członek komitetu organizacyjnego - VI Poznańskie Forum Zootechniczno-Weterynaryjne nt. „Sztuczne unasienianie i techniki towarzyszące rozrodowi zwierząt – stan miniony, obecny i perspektywy” Będlewo 22-23 kwietnia 2010.
7. Członek komitetu organizacyjnego - VII Poznańskie Forum Zootechniczno-Weterynaryjne nt. „Jakość gamet zwierzęcych ocena, uwarunkowania gatunkowe i środowiskowe oraz implikacje praktyczne „ Będlewo, 14-15 kwiecień 2011

6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę

1. Udział w organizacji Drzwi Otwartych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach w latach 2017-2018.
2. Warsztaty mikroskopowe pt. „Mikroorganizmy wokół nas” dla uczniów szkół średnich, Zespół Szkół w Nowym Tomyślu, 03.11.2014.
3. Zajęcia mikroskopowe dla przedszkolaków pt. ”Świat, którego nie widać”, przedszkole Leonardo, Poznań, 26.09.2024
4. Publikacje popularnonaukowe:
 - Woźna M, Jaśkowski JM, **Jackowska M**, Ludwiczak A, Szczepańska P. Wpływ dodatku leptyny na dojrzewanie oocytów bydła in vitro w warunkach stresu cieplnego. Życie Weterynaryjne, 2010, 85 (nr 2),153-157.

- Jaśkowski J M., Antosik P, **Jackowska M**, Śniadek P. Transfer zarodków u bydła w Polsce w ostatnim dziesięcioleciu. Życie Weterynaryjne, 2011, 86 (nr 8), 620-624
- Jaśkowski JM., Włodarek J, **Jackowska M**, Żuraw A. Choroba Schmallerberg - wiele niewiadomych. Lecznica Dużych Zwierząt, 2012 (nr 3), 56-59

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

7.1. Kierownik i wykonawca projektów badawczych

1. Grant Preludium2 NCN na lata 2011-2014: Analiza ekspresji genów kodujących rodzinę transformujących czynników wzrostu (TGF-B) u trzody chlewnej w oocytach oraz jajnikach w stanach fizjologicznych i patologicznych Nr projektu NN 2011/03/N/NZ4/00305 - **Kierownik**

Projekty finansowane w ramach działalności statutowej:

1. Zadanie badawcze w ramach programu wsparcie dla Młodych Naukowców 2019 na WMWiNZ, UP w Poznaniu, pt: Molekularne podłoże zmian patologicznych w obrębie endometrium suk z potwierdzonym zespołem endometritis – pyometra complex (EPC). Nr 506.514.05.00. **Kierownik** zadania
2. Wielkopolska Regionalna Inicjatywa Doskonałości w obszarze nauk o życiu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Projekt finansowany w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa w latach 2019-2023, pt: „Analiza wykładników morfologicznych oraz wybranych czynników białkowych odpowiedzialnych za rozwój stanów patologicznych w endometrium suk dotkniętych zespołem cystic endometrial hyperplasia – pyometra (CEH-P) complex.” Nr projektu 005/RID/2018/19, okres realizacji 01-12.2019, **Kierownik** zadania
3. Zadanie badawcze w ramach programu wsparcie Młodych Naukowców na rok 2011: Analiza ekspresji genów kodujących rodzinę transformujących czynników wzrostu (TGFβ) u świń w komórkach jajowych Nr projektu 507.557- **Kierownik** zadania

Wykonawca i udział w realizacji projektów:

1. Wielkopolska Regionalna Inicjatywa Doskonałości w obszarze nauk o życiu Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Projekt finansowany w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa w latach 2019-2023, pt. Nesfatyna-1, neuropeptyd regulujący funkcje macicy oraz tkanki jajnikowej u psów- pełniona funkcja- – Wykonawca zadania badawczego
2. Projekt NCBiR, realizowany w latach 2019-2021; POIR.01.01.01-00-1119/18 pt. „Opracowanie optymalnych warunków dla zmniejszenia strat, utrzymania w dobrej kondycji oraz rozchodowania koralowców morskich w akwariach morskich w firmie CrazyCoral", pełniona funkcja- – Wykonawca
3. Grant MNiSW na lata 2010-2013. Udział ścieżki sygnalizacyjnej TGFbeta jako czynnika regulującego folikulogenezę i oogenezę u świń w warunkach fizjologicznych oraz wybranych patologii jajników. Numer projektu NN 30858804 , pełniona funkcja- – Wykonawca

4. Grant MNiSW na lata 2009-2012: Zastosowanie badań molekularnych, cytogenetycznych oraz mikro-chipów fluidycznych w ocenie potencjału rozrodczego psa domowego (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758). Numer projektu NN 308292337., pełniona funkcja- Wykonawca
5. Projekt MNiSW na lata 2007-2010, nr 1682/B/P01/2007/33. Zastosowanie badań molekularnych w ocenie zdolności oocytów do zapłodnienia oraz klasyfikacji zarodków wykorzystanych w embrio-transferze u świń. pełniona funkcja- – Wykonawca
6. Projekt Innowacyjna Gospodarka na lata 2009-2012 VET-OPTOCHIP nr POIG.01.03.01-00-014/08-01. Instrument do parametrycznej oceny jakości i kwalifikacji zarodków bydła hodowlanego z wykorzystaniem mikrochipu fluidycznego lab-on-chip” - Wykonawca.

7.2. Nagrody za pracę naukową

- 2022- nagroda PTNW w kategorii za wyróżniającą się pracę przeglądową Małgorzata Pomorska-Mól, Jan Włodarek, Maciej Gogulski, Marta Rybska za pracę: *Review: SARS-CoV-2 infection in farmed minks - an overview of current knowledge on occurrence, disease and epidemiology* ogłoszoną w czasopiśmie *Animal* 2021, 15(7):100272
- 2012- stypendium Naukowe Miasta Poznania dla młodych badaczy z poznańskiego środowiska naukowego za osiągnięcia w badaniach dotyczących problemów biologii rozrodu zwierząt hodowlanych.
- 2011- wyróżnienie Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu dla najlepszych doktorantów

7.3. Członkostwo w organizacjach naukowych

Członek Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych. Sekretarz Oddziału Wielkopolskiego PTNW na lata 2024-2028

7.4. Parametry naukowe kandydatki z dnia 07.01.2024

- Liczba cytowań według bazy Web of Science Core Collection – **522**
- Liczba cytowań według bazy Web of Science Core Collection – **414** (bez autocytowań),
- Indeks Hirsha (Web of Science Core Collection) – **13**
- Liczba cytowań według bazy SCOPUS – **696**
- Liczba cytowań według bazy SCOPUS – **562** (bez autocytowań)
- Indeks Hirsha (SCOPUS) – **17**

.....Marta Rybska.....
(podpis wnioskodawcy)