

AUTOREFERAT

dr Kinga Skiersz-Szewczyk

Pracownia Histologii i Embriologii Zwierząt
Katedra Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Poznań 2023

1. IMIĘ I NAZWISKO

Kinga Skiersz-Szewczyk

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE

Doktor nauk biologicznych w zakresie biologii - histologii zwierząt, stopień uzyskany 24 maja 2013 r. na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Rozprawa doktorska pt. *Morfogeneza błony śluzowej języka u gęsi i kaczki domowej w okresie zarodkowym*. Rozprawa wyróżniona nagrodą przez Radę Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu.

Promotor: prof. dr hab. Hanna Jackowiak (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu).

Recenzenci: prof. dr hab. Krystyna Żuwała (Uniwersytet Jagielloński w Krakowie), prof. dr hab. Grzegorz Rosiński (Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu).

Magister biologii, tytuł uzyskany 13 czerwca 2008 r. na Wydziale Hodowli i Biologii Zwierząt (obecnie Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach) Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, praca magisterska pt. *Rozwój języka u gęsi domowej (Anser anser f. domestica, Anatidae)*.

Promotor: dr Hanna Jackowiak (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu).

Recenzent: prof. dr hab. Szymon Godynicki (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu).

3. INFORMACJA O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH LUB ARTYSTYCZNYCH.

01.11.2013 - obecnie adiunkt, Pracownia Histologii i Embriologii Zwierząt, Katedra Biochemii, Fizjologii i Biostruktury Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.

01.03.2013 – 31.10.2013 asystent, Zakład Histologii i Embriologii Zwierząt, Instytut Zoologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.

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

**„Analiza procesu kornifikacji nabłonka orto- i pararogowego
błony śluzowej języka ptaków”**

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego ze szczególnym omówieniem indywidualnego wkładu wnioskodawcy

Wartości wskaźnika Impact Factor (IF) podano według Journal Citation Reports (JCR) zgodnie z rokiem opublikowania prac. Punkty MNiSW podano zgodnie z wykazem czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych aktualnym dla roku opublikowania pracy. Punkty MEiN podano według wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych z dnia 9 lutego 2021r. dla prac opublikowanych w latach 2019-2022 oraz z dnia 17 lipca 2023 dla prac opublikowanych w roku 2023. Liczbę cytowań według Web of Science z dnia 02.08.2023r.

Oświadczenia o udziale merytorycznym współautorów zostały zawarte w **zał. 5**.

1. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H., Buchwald T., Szybowicz M. 2017. *Localization of alpha-keratin and beta-keratin (corneous beta protein) in the epithelium on the ventral surface of the lingual apex and its lingual nail in the domestic goose (Anser anser f. domestica) by using immunohistochemistry (IHC) and Raman microspectroscopy analysis*. The Anatomical Record 300: 1361-1368. doi: 10.1002/ar.23591
IF₂₀₁₇: 1,373
IF_{5-letni}: 1,684
Punkty MNiSW₂₀₁₇: 25 pkt; Punkty MEiN: 100 pkt
Liczba cytowań: 17
Liczba cytowań bez autocytowań: 11
Wkład merytoryczny habilitantki: opracowanie tematyki i hipotezy badawczej, przeprowadzenie analiz immunohistochemicznych alfa-keratyny w nabłonku ortorogowym języka, opracowanie wyników, dokumentacji fotograficznej i rycin, przygotowanie manuskryptu artykułu wraz z dyskusją, opracowanie odpowiedzi dla recenzentów.
2. **Skieresz-Szewczyk K.**, Buchwald T., Szybowicz M., Jackowiak H. 2019. *Alpha-keratin and corneous beta protein in the parakeratinized epithelium of the tongue in the domestic goose (Anser anser f. domestica)*. Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution 332: 158-166. doi: 10.1002/jez.b.22892
IF₂₀₁₉: 1,897
IF_{5-letni}: 1,856

Punkty MEiN: 70 pkt

Liczba cytowań: 5

Liczba cytowań bez autocytowań: 1

Wkład merytoryczny habilitantki: opracowanie tematyki i hipotezy badawczej, przeprowadzenie analiz immunohistochemicznych alfa-keratyny w nabłonku pararogowym języka, opracowanie wyników, dokumentacji fotograficznej i rycin, przygotowanie manuskryptu artykułu wraz z dyskusją oraz opracowaniu odpowiedzi dla recenzentów.

3. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H., Skrzypski M. 2022. *Alpha-keratin, keratin-associated proteins and transglutaminase 1 are present in the ortho- and parakeratinized epithelium of the avian tongue*. Cells 11(12), 1899: 1-22. doi.org/10.3390/cells11121899

IF₂₀₂₂: 7,66

IF_{5-letni}: 4,326

Punkty MEiN: 140 pkt

Liczba cytowań: 1

Liczba cytowań bez autocytowań: 1

Wkład merytoryczny habilitantki: opracowanie tematyki i hipotezy badawczej, wykonanie analiz immunohistochemicznych alfa-keratyny, białek KAPs i TGM-1 w nabłonku orto- i pararogowym języka ptaków, wykonanie analiz molekularnych przy użyciu techniki Western Blot, opracowanie wyników, dokumentacji fotograficznej i rycin, przygotowanie manuskryptu artykułu wraz z dyskusją oraz opracowaniu odpowiedzi dla recenzentów.

4. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H. 2023. *Pattern distribution of the connexins in the ortho- and parakeratinized epithelium of the lingual mucosa in birds*. Cells 12 (13), 1776:1-23. doi.org/10.3390/cells12131776

IF₂₀₂₃: 6,0

IF_{5-letni}: 4,326

Punkty MEiN: 140 pkt

Liczba cytowań: 0

Liczba cytowań bez autocytowań: 0

Wkład merytoryczny habilitantki: opracowanie tematyki i hipotezy badawczej, wykonanie analiz immunohistochemicznych alfa-i beta-koneksyn w nabłonku orto- i pararogowym języka ptaków, opracowanie wyników, dokumentacji fotograficznej i rycin, przygotowanie manuskryptu artykułu wraz z dyskusją oraz opracowaniu odpowiedzi dla recenzentów.

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

Proces rogowacenia nabłonka wielowarstwowego to proces polegający na syntezie filamentów cytokeratynowych w dojrzałych keratynocytach, które są sieciowane przez specjalne białka związane z cytokeratynami (*keratin-associated proteins* - KAPs), czego efektem końcowym jest wytworzenie zewnętrznej warstwy rogowej. Warstwa rogowa nabłonka wykazuje wysoką oporność na czynniki mechaniczne oraz chemiczne, co w trakcie ewolucji kręgowców zapewniło ważny postęp przy zasiedlaniu środowiska lądowego.

W zależności od gromadzonych typów cytokeratyn i białek KAPs w nabłonkach wielowarstwowymi ssaków wyróżnia się tzw. miękkie i twarde rogowacenie (*Giroud i Leblond, 1951; Rhodin i Reith, 1962*). Podczas miękkiego rogowacenia filamenty cytokeratynowe są zbudowane z cytokeratyn 1 i 10, a białka KAPs to filagryna i lorykryna, które tworzą w warstwie ziarnistej specyficzne ziarna keratohialiny (*Moll i in., 2008*). Filagryna jest odpowiedzialna za łączenie filamentów cytokeratynowych w grubsze pęczki. Lorykryna wraz pozostałymi białkami KAPs, czyli z inwolukryną, enwoplakiną i periplakiną za pomocą białka transglutaminazy 1 (TGM-1) jest przyłączana do wewnętrznej powierzchni błony komórkowej keratynocytów, gdzie tworzy część białkową tzw. koperty rogowej (*Ishida-Yamamoto i in., 1999; Presland i in., 2001; Eckert i in., 2005*). Ponadto w keratynocytach warstwy ziarnistej naskórka ssaków powstają też ciała blaszkowate gromadzące lipidy takie jak, wolne kwasy tłuszczowe, cholesterol i jego estry, a także różne glukozyloceramidy (*Kalinin i in., 2001*). Ciała blaszkowate przesuwają się pod błonę komórkową, gdzie dochodzi do fuzji ciałek z błoną komórkową, a zgromadzone lipidy są uwalniane na zewnątrz keratynocytów i tworzą część lipidową koperty rogowej. W procesie twardego rogowacenia w keratynocytach filamenty cytokeratynowe są syntetyzowane z cytokeratyn 25-28, 71-75, 31-40, 81-86, a białkiem KAPs jest trychohialina, która nie tworzy ziaren keratohialiny (*Moll i in., 2008*).

U gadów i ptaków w keratynocytach nabłonków rogowych występują inne, unikalne cytokeratyny tj. alfa- i beta-keratyna, a białka KAPs reprezentują filagryna i lorykryna, nie tworząc ziaren keratohialiny (*Kemp i in., 1974; Walker i Rogers, 1976; Alibardi, 2002; Sawyer i Knapp, 2003; Alibardi, 2004; Alibardi i Toni, 2004; Alibardi, 2007*). Alfa-keratyna jest białkiem występującym głównie w keratynocytach niższych warstw naskórka skóry i łusek, natomiast beta-keratynę obserwowano w keratynocytach warstwy tworzącej rogowe łuski. Badania wykazały także w tych komórkach obecność białka TGM-1 (*Alibardi, 2004; Alibardi i Toni, 2004*). Generalnie przyjmuje się, że w procesie rogowacenia u gadów i ptaków filamenty cytokeratynowe zbudowane z alfa-keratyny, stanowią rusztowanie, na którym nabudowywane są filamenty złożone z beta-keratyny.

Badania molekularne i genetyczne wskazują, że geny kodujące białka KAPs u człowieka są zlokalizowane w chromosomie 1, w obszarze zwanym kompleksem różnicowania naskórka (ang. *epidermal differentiation complex* - EDC) (*Mischke i in., 1996*). *Strasser i in. (2014)* wykazali, że u gadów i ptaków geny kodujące beta-keratynę, tak jak geny białek KAPs, występują w tym samym obszarze EDC. Z kolei geny

kodujące alfa-keratynę są w odrębnym rejonie chromosomalnym i nie są filogenetycznie związane z genami beta-keratyny (Holthaus i in., 2019). Wyniki te wskazują, że geny białek KAPs pojawiły się niezależnie w toku ewolucji i wynikają z adaptacji do środowiska lądowego. Stąd coraz częściej wzmiankuje się, że proces różnicowania keratynocytów nabłonków wielowarstwowych u bezowodniowców (ryby, płazy), polegający na gromadzeniu tylko filamentów cytokeratynowych, także można określić mianem ang. *keratinization*. Alibardi (2016, 2022) w swoich pracach stanowiących podsumowanie wieloletnich badań nad rogowaceniem, podkreśla fakt, iż obecność zarówno filamentów cytokeratynowych, jak i białek KAPs w keratynocytach owodniowców (gady, ptaki, ssaki) wskazuje na przebieg procesu, który powinno nazywać się kornifikacją (ang. *cornification*).

Nabłonki wielowarstwowe rogowe pochodzenia ektodermalnego, obok naskórka powłoki ciała, występują również w jamie ustnej, gdzie pełnią funkcję ochronną podczas pobierania i transportu pokarmu do przełyku.

Ultrastruktura keratynocytów i procesy rogowacenia tych nabłonków są rzadko badane. U ssaków dane dotyczą jedynie nabłonka mechanicznych brodawek nitkowatych języka, gdzie na powierzchni przedniej i tylnej występuje odpowiednio miękkie i twarde rogowacenie (Farbman, 1970; Boshell i in., 1982). U ptaków pierwsze doniesienia z lat 80-tych opisują nabłonki rogowe na języku u kury i papugi (Hombberger i Brush, 1986; Iwasaki i Kobayashi, 1986; Hombberger i Meyers, 1989). Wtedy to Iwasaki i Kobayashi (1986) wprowadzili do nomenklatury histologicznej nabłonków wielowarstwowych języka ptaków określenie nabłonek ortorogowy, odnosząc się do opisu silnie zrogowaciałego nabłonka na brodawkach nitkowatych u kury. Późniejsze badania zespołu Iwasaki i in. (1997) donoszą o zachowaniu pyknotycznych jąder komórkowych w keratynocytach warstwy rogowej nabłonka na powierzchni grzbietowej języka gęsi zbożowej, co pozwoliło na wprowadzenie nazwy nabłonek pararogowy.

Badania Iwasaki i in. (1997) oraz później prowadzone, już w macierzystej Pracowni, (Jackowiak i Godynicki, 2005; Jackowiak i in., 2011; Skiersz-Szewczyk i Jackowiak, 2016; Skiersz-Szewczyk i in., 2021) wskazują, że nabłonek orto- i pararogowy, w odróżnieniu od ssaków, jest zbudowany z 3 warstw: warstwy podstawnej, pośredniej i rogowej. Co ważne, w obrębie warstwy pośredniej szczególnie scharakteryzowano ultrastrukturę dwóch stref, w których następują procesy rogowacenia tj. dolna strefa z wielokątnymi komórkami i okrągłymi jądrami komórkowymi oraz górna strefa ze spłaszczonymi komórkami i owalnymi jądrami komórkowymi. W obu strefach warstwy pośredniej stwierdzono brak ziaren keratohialiny, które są typowe dla nabłonków wielowarstwowych rogowaciejących u ssaków. Własne analizy ultrastrukturalne w transmisyjnym mikroskopie elektronowym oraz obserwacje powierzchni nabłonka orto- i pararogowego w skaningowym mikroskopie elektronowym pozwoliły na identyfikację różnic w budowie ich warstwy rogowej (Skiersz-Szewczyk i in., 2014). Różnice te to:

- brak jąder komórkowych i organelli w cytoplazmie keratynocytów warstwy rogowej nabłonka ortorogowego i ich obecność w nabłonku pararogowym,
- horyzontalne ułożenie pęczków włókien cytokeratynowych w warstwie

rogowej nabłonka ortorogowego i krzyżujące się włókna w nabłonku pararogowym,

- złuszczenie komórek powierzchniowych w postaci pojedynczych łusek w nabłonku ortorogowym i w postaci ciągłych blaszek w nabłonku pararogowym.

Badania morfometryczne wskazały, że nabłonki rogowe charakteryzują się odmiennymi cechami. Nabłonek pararogowy jest istotnie wyższy niż nabłonek ortorogowy i posiada cienką warstwę rogowa, stanowiącą średnio 3-8%, podczas gdy nabłonek ortorogowy jest 2-3 krotnie niższy i ma grubą warstwę rogową, której grubość dochodzi do ok. 30-50% całkowitej wysokości nabłonka (*Jackowiak i Godynicki, 2005; Jackowiak i in., 2010, 2011; Skieresz-Szewczyk i Jackowiak, 2016; Skieresz-Szewczyk i in., 2021*).

Własne obserwacje morfofunkcjonalne języka ptaków wykazały również, że nabłonek orto- i pararogowy pokrywają różne obszary błony śluzowej języka (*Jackowiak i in., 2011; Skieresz-Szewczyk i Jackowiak, 2016; Skieresz-Szewczyk i in., 2021*). Nabłonek ortorogowy pokrywa błonę śluzową obszarów uczestniczących w pobieranie pokarmu tj. powierzchnię brzuszną wierzchołka języka, gdzie powstaje unikalna, sztywna struktura rogowa nazywana „paznokciem języka” oraz mechaniczne brodawki stożkowate. Nabłonek pararogowy pokrywa z kolei generalnie grzbietową powierzchnię trzonu i korzenia języka, gdzie odbywa się transport pokarmu do przełyku.

Literatura z zakresu rogowacenia nabłonek języka ptaków dostarcza generalnych informacji o obecności alfa- i beta-keratyny w nabłonku ortorogowym języka kury i papugi oraz w nabłonku grzbietowej powierzchni języka kury, bez zdefiniowana go jako nabłonek pararogowy (*Homberger i Brush, 1986; Carver i Sawyer, 1989; Carver i in., 1990*). Jak dotąd, w literaturze naukowej dotyczącej ptaków, brakuje informacji o obecności pozostałych komponentów procesu kornifikacji tj. białek KAPs (filagryny i lorykryny) oraz białka TGM-1.

Różnicowanie keratynocytów w procesie rogowacenia podobnie jak procesy proliferacji i migracji komórek zachodzą synchronicznie, co według wzmianek wielu badaczy wynika z wytworzenia w błonach komórkowych keratynocytów licznych połączeń komunikacyjnych jonowo-metaboliczne (ang. *gap junction*) (*Risek i in., 1992; Brisette i in., 1994; Dahl i in., 1996; Scott i in., 2012*). Połączenie jonowo-metaboliczne jest złożone z dwóch symetrycznych błonowych półkanałów - koneksonów, będących heksamerami złożonymi z białek koneksyn (Cx) (*Evans i Martin, 2002; Segretain i Falk, 2004*). Jak dotąd koneksyny w nabłonkach wielowarstwowych były szeroko badane jedynie w naskórku i sporadycznie w nabłonku jamy ustnej ssaków (*Risek i in., 1992; Goliger i Paul, 1994; Salomon i in., 1994; Saitoh i in., 1997; Lucke i in., 1999; Di i in., 2001; Kretz i in., 2004; Davis i in., 2013*). Badania te wskazały na obecność alfa-koneksyn (Cx40 i 43) i beta-koneksyn (Cx26, 30 i 31). W literaturze dotyczącej nabłonek wielowarstwowych ptaków istnieją jedynie informacje określające, że podczas wydłużania piór w błonach komórkowych migrujących komórek mezenchymalnych występują połączenia komunikacyjne zbudowane z koneksyny 43 (*Meyer i in., 2014; Li i in., 2018*).

Powyższe dane dotyczące procesów rogowacenia nabłonek jamy ustnej, czy języka ptaków są niewystarczające, aby ocenić, czy nabłonki błony śluzowej języka

ptaków podlegają procesowi kornifikacji oraz jak przebiega synchronizacja tego procesu. Ponadto z dostępnej literatury wiadomo, że zaburzenia procesu kornifikacji mogą prowadzić do powstania zmian patologicznych polegających m.in. na przedwczesnym rogowaceniu keratynocytów poniżej warstwy ziarnistej (*dyskeratosis*), nadmiernym rogowaceniu - rozroście warstwy rogowej (*hypekeratosis*), czy też niepełnym rogowaceniu, cechującym się zachowaniem jąder komórkowych w warstwie rogowej (*parakeratosis*) (Lazar i Wang, 2016). W obrębie nabłonka jamy ustnej dochodzi również do rozwoju nabłonkowych zmian nowotworowych m.in. raka płaskonabłonkowego jamy ustnej (Zehnder i in., 2018). Wymienione zmiany patologiczne wynikają z zaburzeń syntezy cytokeratyn i białek KAPs, a także zmian w ekspresji koneksyn i dezorganizacji połączeń komunikacyjnych *gap junction* (Saitoh i in., 1997; Lucke i in., 1999; Lane i McLean, 2004; Schmuth i in., 2004; Brockmeyer i in., 2014, 2016).

Stąd w podjętych badaniach zamierzono zweryfikować następujące hipotezy badawcze:

- (i) nabłonek orto- i pararogowy błony śluzowej języka ptaków podlega procesowi kornifikacji z udziałem alfa- i beta-keratyny oraz białek KAPs i TGM-1,
- (ii) rozmieszczenie i profil ekspresji alfa- i beta-keratyny oraz białek KAPs i TGM-1 w nabłonku orto- i pararogowym są odmienne,
- (iii) komunikacja keratynocytów, wpływająca na synchronizację procesu kornifikacji nabłonka orto- i pararogowego języka ptaków, zależy od połączeń komunikacyjnych typu *gap junction* zbudowanych z alfa-koneksyn (Cx40 i 43) i beta-koneksyn (Cx26, 30 i 31),
- (iv) rozmieszczenie i profil ekspresji alfa- i beta-koneksyn w obu nabłonkach jest różny.

Celem nadrzędnym jest podjęcie szczegółowych badań mikroskopowych i molekularnych charakteryzujących proces rogowacenia w nabłonku orto- i pararogowym języka ważnych użytkowo ptaków hodowlanych. Uzyskane wyniki niewątpliwie wzbogacą wiedzę podstawową i przedkliniczną z zakresu procesów rogowacenia nabłonków wielowarstwowych ptaków, co będzie wykorzystane w dalszych własnych działaniach związanych z poszerzaniem diagnostyki weterynaryjnej błony śluzowej w przebiegu chorób jamy dzioba ptaków, jak również może być wykorzystane w dermatologii.

W celu weryfikacji powyżej przedstawionych hipotez przeprowadzono kompleksową analizę przestrzennego rozmieszczenia w nabłonku orto- i pararogowym białek alfa- i beta-keratyny (publikacja 1 i 2), białek KAPs tj. filagryny i lorykryny oraz białka TGM-1 (publikacja 3) oraz alfa-koneksyn (Cx40 i 43) i beta-koneksyn (Cx26, 30 i 31) tworzących połączenia typu *gap junction* (publikacja 4).

Iwasaki (2002) scharakteryzował, że rogowacenie nabłonka języka kręgowców żyjących w środowisku lądowym jest silniejsze aniżeli u zwierząt żyjących w środowisku wodnym. Jednocześnie podkreśla się związek funkcjonalny sposobu rogowacenia z rodzajem pobieranego pokarmu (Jackowiak i Godynicki, 2005; Jackowiak i in., 2006, Jackowiak i in., 2010, 2011; Skiersz-Szewczyk i Jackowiak, 2016; Skiersz-Szewczyk i in., 2021). Dotychczasowa literatura odnosząca się do

rogowacenia nabłonek języka ptaków bazuje na gatunkach ptaków żyjących w środowisku lądowym i żywiących się twardym pokarmem (ziarna, orzechy, owoce) tj. kura i papuga (*Homberger i Brush, 1986; Carver i Sawyer, 1989; Carver i in., 1990*). Stąd też w badaniach cytokeratyn (publikacja 1 i 2) modelem badawczym jest gęś domowa, która zajmuje naturalnie środowisko wodno-lądowe i spożywa głównie pokarm roślinny, używając aż trzech mechanizmów pobierania pokarmu. W badaniach białek KAPs, białka TGM-1 oraz alfa- i beta-koneksyn (publikacja 3 i 4), ze względu na brak danych w tym zakresie, badanymi gatunkami były kaczka, gęś i indyk domowy, które żyją w zróżnicowanym środowisku naturalnym (wodne, wodno-lądowe i lądowe) oraz spożywają odmienny pokarm.

Publikacja 1

Skieresz-Szewczyk K., Jackowiak H., Buchwald T., Szybowicz M. 2017. Localization of alpha-keratin and beta-keratin (corneous beta protein) in the epithelium on the ventral surface of the lingual apex and its lingual nail in the domestic goose (Anser anser f. domestica) by using immunohistochemistry (IHC) and Raman microspectroscopy analysis. The Anatomical Record 300: 1361-1368.

Jak wcześniej wspomniano, własne badania morfofunkcjonalne błony śluzowej języka ptaków wskazują, że nabłonek ortorogowy jest obecny na powierzchni brzusznej wierzchołka języka (*Jackowiak i in., 2010; Skieresz-Szewczyk i in., 2016*). Warstwa rogowa tego nabłonka tworzy charakterystyczną, dotąd szczegółowo nie badaną strukturę, nazywaną „paznokciem języka”, który podczas dziobania działa jak łyżeczka do przerzucania ziaren paszy z jamy dzioba na powierzchnię górną języka.

Celem badań w ramach tej publikacji była:

- (i) analiza rozmieszczenia i profilu ekspresji alfa- i beta-keratyny w nabłonku ortorogowym powierzchni brzusznej wierzchołka języka z jego unikalną strukturą, czyli „paznokciem języka”.

Na podstawie uzyskanych wyników określono, czy nabłonek ortorogowy podlega procesowi kornifikacji i w jaki sposób pełni funkcję ochronną wraz z rogową płytką „paznokcia języka” podczas pobierania pokarmu.

Identyfikację występowania alfa-keratyny wykonano przy użyciu techniki immunohistochemicznej (IHC) z wykorzystaniem monoklonalnego mysiego przeciwciała anti-cytokeratin AE1/3, które według dostępnej literatury znakuje alfa-keratynę u gadów i ptaków (*Alibardi, 2004; Alibardi i Toni, 2007*). W toku prac laboratoryjnych został opracowany oryginalny protokół barwienia IHC dla nabłonek rogowych języka ptaków, który zastosowano również podczas dalszych badań immunohistochemicznych w ramach cyklu habilitacyjnego. W związku z brakiem komercyjnie dostępnych ptasich przeciwciał znakujących beta-keratynę, po raz pierwszy w badaniach nabłonek rogowych zaplanowano użycie techniki mikrospektroskopii Ramana. Ta nieinwazyjna metoda pozwala nie tylko na określenie struktury drugorzędowej białek (alfa-helix, beta-sheet lub beta-turn), a także umożliwia

uzyskanie informacji o przestrzennym rozkładzie składników chemicznych i ich procentowym udziale w badanej próbce za pomocą map ramanowskich (*Rizzo i in., 2006; Church i in., 2010; Buchwald i in., 2012*).

Na podstawie przeprowadzonych badań immunohistochemicznych określono, że profil ekspresji alfa-keratyny w poszczególnych warstwach nabłonka ortorogowego jest zróżnicowany. Silną ekspresję badanego białka obserwowano w warstwie podstawnej i górnej strefie warstwy pośredniej, średnią ekspresję w dolnej strefie warstwy pośredniej a słabą ekspresję w warstwie rogowej. Powyższe wyniki w porównaniu do danych o ekspresji alfa-keratyny w nabłonku ortorogowym u kury domowej wskazują, na obecność u gęsi domowej gatunkowo specyficznych cech w rozmieszczeniu alfa-keratyny (*Carver i Sawyer, 1989*).

Analizując widma Ramana najpierw zidentyfikowano pasma odpowiadające białkom o konformacji alfa-helix oraz beta-sheet i beta-turn. Tym samym potwierdzono wyniki analiz IHC wskazując na obecność alfa-keratyny w nabłonku ortorogowym oraz wykazano obecność beta-keratyny. Następnie na podstawie wygenerowanych map widm Ramana określono, po raz pierwszy, procentową zawartość alfa- i beta-keratyny w kolejnych warstwach nabłonka ortorogowego. W tym względzie interesujący jest rozkład keratyn w warstwie rogowej, czyli „paznokciu języka”, gdzie udział beta-keratyny oszacowano na 70%, a alfa-keratyny tylko na 25%. Wynik ten potwierdza i wyjaśnia słabą ekspresję alfa-keratyny w cytoplazmie warstwy rogowej nabłonka ortorogowego. Jednocześnie wykazano, że alfa-keratyna występuje przede wszystkim w niższych warstwach nabłonka ortorogowego, gdzie jej procentowy udział wynosi ok. 43%, co tłumaczy średnią lub silną ekspresję alfa-keratyny w tej części nabłonka.

Badania z zakresu rozmieszczenia alfa- i beta-keratyny w naskórku gadów i ptaków wskazują, że alfa-keratyna tworzy filamenty pośrednie cytoszkieletu keratynocytów oraz odpowiada za ich wytrzymałość mechaniczną, adhezję i zmiany kształtu podczas rozciągania (*Alibardi i in., 2007; Calvaresi i in., 2016*). Beta-keratyna z kolei zapewnia odporność mikrobiologiczną, hydrofobowość i pełni funkcję ochronną. Biorąc pod uwagę rozkład alfa- i beta-keratyny w nabłonku ortorogowym oraz ich funkcję w naskórku określono, że alfa-keratyna zlokalizowana głównie w niższych warstwach nabłonka ortorogowego języka ptaków tworzy cytoszkielet komórek i zapewnia odpowiednie ich połączenie ze sobą oraz z błoną podstawną. Obecność beta-keratyny w warstwie rogowej nabłonka, czyli „paznokciu języka”, zapewnia odpowiednią twardość i sztywność, co jest istotne podczas dziobania.

Podsumowując, osiągnięciem habilitacyjnym wypracowanym w publikacji 1 jest jednoznaczne określenie, że:

- (i) nabłonek ortorogowy na powierzchni brzusznej wierzchołka języka u gęsi domowej podlega procesowi kornifikacji.

Co ważne, wprowadzona technika mikrospektroskopii Ramana potwierdziła zasadność użycia przeciwciała anti-cytokeratin AE1/3 do identyfikacji alfa-keratyny w nabłonkach wielowarstwowych ptaków i stała się alternatywą do badań immunohistochemicznych

rozmieszczenia cytokeratyn. Stosowanie tej metody wydaje się być szczególnie istotne w dalszych badaniach ptaków, ze względu na brak dostępnych specyficznych przeciwciał identyfikujących beta-keratynę.

Publikacja 2

Skieresz-Szewczyk K., Buchwald T., Szybowicz M., Jackowiak H. 2019. Alpha-keratin and corneous beta protein in the parakeratinized epithelium of the tongue in the domestic goose (Anser anser f. domestica). Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution 332: 158-166.

Obserwacje wskazujące na występowanie różnic mikrostrukturalnych pomiędzy nabłonkiem para- i ortorogowym, a także fakt, że pokrywają one funkcjonalnie różne obszary błony śluzowej języka ptaków, skłonił do zadania pytania: czy nabłonek pararogowy, podobnie jak nabłonek ortorogowy, podlega procesowi kornifikacji.

Stąd głównym celem badań w ramach publikacji 2 była:

- (i) analiza rozmieszczenia i profilu ekspresji alfa- i beta-keratyny w nabłonku pararogowym błony śluzowej języka gęsi domowej.

Uzyskane wyniki posłużyły do określenia funkcji ochronnej nabłonka pararogowego podczas transportu pokarmu do przetyku oraz do przeprowadzenia badań porównawczych cytokeratyn w obrębie nabłonka para- i ortorogowego języka ptaków.

Aby zrealizować cel badań, analogicznie jak w publikacji 1, wykonano analizy immunohistochemiczne wykrywające ekspresję alfa-keratyny. Przeprowadzono też badania z wykorzystaniem metody mikrospektroskopii Ramana identyfikujące beta-keratynę oraz ukazujące przestrzenny rozkład cytokeratyn wraz z oszacowaniem procentowego ich udziału w poszczególnych warstwach nabłonka pararogowego.

Nabłonek pararogowy, podobnie jak nabłonek ortorogowy, wykazuje różnice w profilu ekspresji alfa-keratyny w poszczególnych warstwach, przy czym poziom jej ekspresji w nabłonku pararogowym jest różny niż w nabłonku ortorogowym. Wyniki w nabłonku pararogowym wykazały bowiem, silną ekspresję alfa-keratyny w warstwie podstawnej i pośredniej oraz średnią ekspresję w warstwie rogowej.

Należy również zwrócić uwagę na warstwę rogową nabłonka, gdzie keratynocyty powierzchniowe wykazują silniejszą ekspresję z alfa-keratyną niż keratynocyty położone niżej. Wyniki badań w ramach publikacji 1 wskazały, że słaba ekspresja alfa-keratyny wynika z niższej procentowej ilości alfa-keratyny i wyższej procentowej ilości beta-keratyny. W przypadku nabłonka pararogowego można stwierdzić, że pojedyncze keratynocyty warstwy rogowej charakteryzują się niższą procentową ilością alfa-keratyny i wyższą ilością beta-keratyny lub wyższą procentową ilością alfa-keratyny i niższą ilością beta-keratyny.

Zakres widm pasm Ramana wskazał w nabłonku pararogowym na występowanie białek o konformacji alfa-helix, beta-turn i beta-sheet, co świadczy o obecności w badanym nabłonku, podobnie jak w nabłonku ortorogowym, alfa- i beta-

keratyny. Wyniki procentowej zawartości alfa- i beta-keratyny szacowane na podstawie map ramanowskich wskazały, że alfa-keratyna jest gromadzona głównie w warstwie podstawnej i pośredniej nabłonka pararogowego, gdzie jej procentowy udział określono na 38%, a w warstwie rogowej stanowi ona jedynie ok. 20%. Natomiast beta-keratyna jest głównie zlokalizowana w warstwie rogowej i stanowi 61%.

Wyniki te pozwoliły zatem stwierdzić, że alfa-keratyna obecna przede wszystkim w niższych warstwach nabłonka pararogowego, podobnie jak w nabłonku ortorogowym, zapewnia strukturalną integralność keratynocytów, a beta-keratyna zgromadzona w warstwie rogowej warunkuje oporność mechaniczną.

Obecne wyniki badań rozmieszczenia alfa- i beta-keratyny w nabłonku pararogowym u gęsi domowej w odniesieniu do jedynych obserwacji u kury domowej, wskazują na występowanie różnic gatunkowo specyficznych w ich lokalizacji (*Carver i Sawyer, 1989*).

Nowym odkryciem naukowym opisanym w ramach publikacji 2 jest wykazanie po raz pierwszy, że:

- (i) nabłonek pararogowy, podobnie jak nabłonek ortorogowy, podlega procesowi kornifikacji.

Porównując wyniki badań publikacji 1 i 2 można stwierdzić, że alfa-keratyna jest gromadzona przede wszystkim w keratynocytach warstwy podstawnej i pośredniej nabłonka orto- i pararogowego, gdzie jej procentowy udział w obu nabłonkach jest na podobnym poziomie. Beta-keratyna jest syntetyzowana w niższych warstwach nabłonka orto- i pararogowego języka ptaków i kumulowana w różnym stopniu w warstwie rogowej nabłonka orto- i pararogowego.

Analizując budowę mikroskopową nabłonka orto- i pararogowego oraz biorąc pod uwagę lokalizację obu nabłonków (brzuszna powierzchnia - „paznokieć języka” vs grzbietowa powierzchnia języka), ich funkcję (pobieranie pokarmu vs transport pokarmu) oraz wyniki zaprezentowane w publikacji 1 stwierdzono, że oba nabłonki cechują się różną strategią ochronną. Mianowicie, nabłonek ortorogowy pełni funkcję ochronną poprzez wytworzenie grubej warstwy rogowej z procentowo wysoką zawartością beta-keratyny. Z kolei w nabłonku pararogowym, posiadającym cienką warstwę rogową z procentowo mniejszą zawartością beta-keratyny, funkcje ochronne przed działaniem czynników zewnętrznych wynikają ze znaczącej, kilkukrotnie większej, niż w nabłonku ortorogowym, wysokości.

Wyniki przedstawione w publikacji 1 i 2 zrealizowano w ramach kierowanego przez habilitantkę zadania badawczego pt. *Analiza procesu rogowacenia nabłonka błony śluzowej języka u ptaków* (Nr. 507.511.62) finansowanego przez Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w ramach dotacji celowej przeznaczonej na badania dla młodych naukowców.

Publikacja 3

Skieresz-Szewczyk K., Jackowiak H., Skrzypski M. 2022. Alpha-keratin, keratin-associated proteins and transglutaminase 1 are present in the ortho- and parakeratinized epithelium of the avian tongue. Cells 2022, 11(12), 1899: 1-22.

Wyniki uzyskane w ramach publikacji 1 i 2 wskazały na obecność alfa- i beta-keratyny w nabłonku orto- i pararogowym języka ptaków, co pozwoliło na stwierdzenie, że nabłonki te podlegają kornifikacji.

W kolejnej pracy badawczej postanowiono pogłębić wiedzę o kornifikacji nabłonek i określić:

- (i) czy białka KAPs tj. filagryna i lorykryna oraz białko TGM-1, które występują w naskórku ptaków, są obecne w ektodermalnych nabłonekach języka ptaków, oraz
- (ii) jakie jest rozmieszczenie i profil ekspresji tych białek.

Dodatkowo w ramach trzeciej publikacji zaplanowano poszerzyć badania o występowanie alfa-keratyny w nabłonku orto- i pararogowym u dwóch kolejnych gatunków ptaków użytkowych tj. u kaczki i indyka domowego.

W tym celu przeprowadzono analizy immunohistochemiczne rozmieszczenia i profilu ekspresji wymienionych wyżej białek. Do badań wprowadzono po raz pierwszy analizę molekularną z użyciem techniki Western Blot, konieczną do identyfikacji alfa-keratyny, białek KAPs i białka TGM-1 oraz określenia ich mas molekularnych.

Generalnie wykazano, że bez względu na zajmowane środowisko naturalne i spektrum pokarmowe badanych gatunków:

- alfa-keratyna w nabłonku orto- jak i pararogowym, występuje głównie w warstwie podstawnej i pośredniej,
- warstwa rogowa obu typów nabłonek charakteryzuje się słabszą ekspresją z alfa-keratyną niż niższe warstwy nabłonek,
- ekspresja alfa-keratyny w warstwie rogowej jest silniejsza w nabłonku pararogowym niż w nabłonku ortorogowym.

Wykonane analizy IHC ekspresji białek KAPs i TGM-1 w nabłonku orto- i pararogowym języka ptaków są jak dotąd jedyne w dostępnej literaturze. Na ich podstawie określono, że:

- rozmieszczenie lorykryny i TGM-1 jest podobne u badanych gatunków ptaków i odnotowano jedynie niewielkie różnice międzygatunkowe w poziomie ekspresji tych białek,
- lorykryna w nabłonku orto- i pararogowym oraz TGM-1 w nabłonku ortorogowym występują we wszystkich warstwach nabłonek,
- rozmieszczenie filagryny w obu typach nabłonek rogowych języka i TGM-1 w nabłonku pararogowym różni się między badanymi gatunkami, co świadczy o obecności gatunkowo specyficznych różnic.

Do różnic gatunkowo specyficznych w występowaniu filagryny i TGM-1 zaliczono następujące cechy:

- u gęsi domowej - obecność filagryny w obu strefach warstwy pośredniej w nabłonku ortorogowym oraz TGM-1 tylko w 2-3 warstwach komórek powierzchniowych warstwy rogowej nabłonka pararogowego,
- u kaczki i indyka domowego - obecność filagryny tylko w górnej strefie warstwy pośredniej nabłonka ortorogowego,
- u kaczki i gęsi domowej - występowanie filagryny w warstwie podstawnej nabłonka pararogowego.

Ważnym wynikiem tych badań, jest wykazanie, że lorykryna, w odróżnieniu od filagryny, występuje we wszystkich warstwach obu typów nabłonekó rogowych języka ptaków i jej ekspresja jest silniejsza. Stanowi to cechę odróżniającą nabłonki języka od naskórka ptaków, gdzie ekspresja filagryny i lorykryny jest taka sama (*Alibardi i Toni, 2004*).

Analiza ekspresji KAPs i białka TGM-1 w obu typach nabłonekó rogowych języka ptaków wykazała, że jest ona silniejsza w nabłonku ortorogowym. Zważywszy na fakt, iż nabłonek ortorogowy cechuje się też większym procentowym udziałem beta-keratyny w warstwie rogowej, można stwierdzić, że powyższe cechy mogą determinować bardziej zaawansowany proces kornifikacji w nabłonku ortorogowym w porównaniu do nabłonka pararogowego. Zależność ta wynika z lokalizacji tych nabłonekó na błonie śluzowej języka tj. w obszarach uczestniczących w pobieraniu pokarmu vs obszary, po których odbywa się transport pokarmu do przełyku.

Przeprowadzone badania molekularne wykazały, że analizowane epitopy alfa-keratyny, białek KAPs i TGM-1 w nabłonku orto- i pararogowym języka ptaków są typowe dla naskórka ssaków, ptaków i gadów (*Scott i Harding, 1981; Fleckman i in., 1985; Homberger i Brush, 1986; Carver i Sawyer, 1989; Hohl i in., 1991, 1993; Kim i in., 1992, 1995; Alibardi i Toni, 2004a, 2004b, 2005, 2007*). Jednocześnie wykazano obecność unikalnych, dla nabłonekó rogowych języka ptaków, epitopów białka TGM-1 i filagryny. Takie wyniki niewątpliwie posłużą do przeprowadzenia dalszych badań porównawczych różnych epitopów tych białek w obrębie naskórka oraz nabłonekó wielowarstwowych języka kręgowców.

Prace badawcze wykonane w ramach publikacji 3 mają ważne znaczenie aplikacyjne do badań nabłonekó wielowarstwowych jamy dzioba ptaków. Mianowicie zaobserwowano, że keratynocyty warstwy rogowej nabłonka pararogowego, których cytoplazma w wyniku barwienia Masson-Goldner barwi się na kolor różowy, podczas analiz IHC wykazują silniejszą ekspresję z alfa-keratyną i białkami KAPs niż keratynocyty, których cytoplazma barwi się na kolor czerwony. Tym samym barwienie topograficzne Masson-Goldner może być brane pod uwagę jako potencjalnie wstępne narzędzie diagnostyczne przed wykonaniem analiz IHC. W przypadku wysokiego nabłonka pararogowego określono, że obecność w nabłonku długich brodawek łącznotkankowych o skośnym przebiegu, jak obserwowano np. u indyka domowego, determinuje faliste ułożenie keratynocytów i obecność pomiędzy brodawkami łącznotkankowymi komórek warstwy podstawnej i pośredniej nabłonka. Skutkuje to obecnością pozytywnej reakcji IHC w tym obszarze, widocznej jak kolorowe pasma

ułożone między brodawkami tkanki łącznej. Należy pamiętać, że taki wynik barwienia nie jest świadectwem niespecyficznego wiązania antygenów, czy też artefaktem powstałym w wyniku niewłaściwego płukania tkanek po inkubacji z przeciwciałami.

Reasumując, na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że:

- (i) białka KAPs i białko TGM-1 występują w nabłonku orto- i pararogowym języka ptaków, co stanowi kolejny dowód na to, że oba typy nabłonków podlegają procesowi kornifikacji,
- (ii) głównym białkiem KAPs zaangażowanym w proces kornifikacji nabłonków języka ptaków jest lorykryna.

Wyniki przedstawione w powyższej publikacji zrealizowano w ramach kierowanego przez habilitantkę zadania badawczego pt. *Analiza biochemiczna cytokeratyn i innych białek zaangażowanych w procesy rogowacenia nabłonka błony śluzowej jamy ustnej u ptaków* (nr 507.511.2) finansowanego przez Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w ramach dotacji celowej przeznaczonej na badania dla młodych naukowców.

Publikacja 4

Skiersz-Szewczyk K., Jackowiak H. 2023. Pattern distribution of the connexins in the ortho- and parakeratinized epithelium of the lingual mucosa in birds. Cells 12 (13), 1776:1-23.

Na podstawie wyników prac badawczych opublikowanych w publikacji 1, 2 i 3 wskazujących na swoiste rozmieszczenie i profil ekspresji alfa- i beta-keratyny oraz białek KAPs i TGM-1 w nabłonku orto- i pararogowym języka wykazano, że oba typy nabłonków podlegają procesowi kornifikacji.

Aby w pełni scharakteryzować proces kornifikacji nabłonków języka ptaków, należy mieć na względzie, że proces ten w kolejnych warstwach podlega precyzyjnej synchronizacji. Strukturami zaangażowanymi w te procesy są międzykomórkowe połączenia komunikacyjne, nazywane także jonowo-metabolicznymi (ang. *gap junction*), które są zbudowane z transbłonowych kanałów koneksonów, złożonych z różnorodnych w typie białek koneksyn. Połączenia *gap junction* umożliwiają transport jonów np. Ca^{2+} oraz metabolitów o małej masie molekularnej do 1 kDa np. adenozyno-5'-trifosforanu (ATP), cyklicznego adenozyno-3',5'-monofosforanu (cAMP), trisfosforanu inozytolu (IP3) czy diacyloglicerolu (DAG) (*Loewenstein, 1979; Evans i Martin 2002; Goldberg i in., 2004*). Przekąźnictwo tych kanałów zapewnia komunikację między keratynocytami podczas wzrostu i stałej odnowy nabłonka oraz synchronizuje proces różnicowania komórek, prowadzący do wytworzenia ochronnej warstwy rogowej. Uznając, że brakuje analiz o koneksynach w nabłonkach jamy ustnej ptaków, w czwartej rozprawie cyklu habilitacyjnego, postanowiono zbadać rozmieszczenie przestrzenne koneksyn w połączeniach komunikacyjnych.

W tym względzie zamierzono określić:

- (i) czy alfa-koneksyny (Cx40 i 43) i beta-koneksyny (Cx26, 30 i 31), analizowane dotąd w naskórku i nabłonkach jamy ustnej ssaków, występują także w błonach komórkowych keratynocytów ektodermalnego nabłonka orto- i pararogowego błony śluzowej języka ptaków,
- (ii) jakie jest rozmieszczenie i profil ekspresji tych koneksyn w obu typach nabłonków rogowych,
- (iii) czy koneksyny występują w formie koneksonów w błonach keratynocytów i/lub jako wolne białka w cytoplazmie komórek

Realizując postawione cele przeprowadzono analizy immunohistochemiczne rozmieszczenia i profilu ekspresji koneksyn w poszczególnych warstwach nabłonka orto- i pararogowego.

Uzyskane wyniki po raz pierwszy wskazały, że zarówno alfa-koneksyny Cx40 i 43 oraz beta-koneksyny Cx26, 30 i 31 są obecne we wszystkich warstwach nabłonka orto- i pararogowego błony śluzowej języka ptaków. Wyjątek stanowi warstwa rogowa w nabłonku ortorogowym, gdzie brak alfa-koneksyny Cx40 oraz warstwa rogowa w obu typach nabłonków, gdzie brak alfa-koneksyny Cx43.

Analizy w kolejnych warstwach wskazują, że poziom ekspresji alfa- i beta-koneksyn nabłonka orto- i pararogowego języka ptaków jest różny. Wyjątek stanowi beta-koneksyna Cx26, która nie wykazuje różnic w ekspresji w poszczególnych warstwach obu typów nabłonków rogowych. Alfa-koneksyna Cx40 w warstwie podstawnej i dolnej strefie warstwy pośredniej nabłonka ortorogowego cechuje się słabszą ekspresją niż w nabłonku pararogowym, a Cx43 wykazuje podobny poziom ekspresji w warstwie podstawnej obu typów nabłonków rogowych. Jednocześnie poziom ekspresji alfa-koneksyn Cx40 i 43 w górnej strefie warstwy pośredniej wzrasta w nabłonku ortorogowym i maleje w nabłonku pararogowym. W przypadku beta-koneksyny Cx30 wykazano, że jej ekspresja w warstwie pośredniej nabłonka ortorogowego jest silniejsza niż w nabłonku pararogowym. Zaobserwowano również, że ekspresja Cx30 w obrębie dwóch stref warstwy pośredniej nabłonka ortorogowego nie ulega zmianie, a w nabłonku pararogowym w górnej strefie warstwy pośredniej następuje spadek ekspresji beta-koneksyny Cx30. Poziom ekspresji beta-koneksyny Cx31 wzrasta w górnej strefie warstwy pośredniej nabłonka ortorogowego, a w nabłonku pararogowym pozostaje na tym samym poziomie w obu strefach warstwy pośredniej. Obie beta-koneksyny Cx30 i 31 wykazują słabszą ekspresję w warstwie rogowej nabłonka ortorogowego w porównaniu do nabłonka pararogowego.

Badania rozmieszczenia koneksyn nabłonka orto- i pararogowego języka badanych gatunków ptaków wykazały obecność cech gatunkowo specyficznych tj. u kaczki domowej wykazano obecność alfa-koneksyny Cx26 w warstwie podstawowej nabłonka pararogowego, a u gęsi domowej brak alfa-koneksyny Cx31 w warstwie rogowej nabłonka pararogowego. Z kolei u indyka domowego gatunkowy rozkład koneksyn jest inny i określono, że w warstwie podstawnej nabłonka ortorogowego występuje beta-koneksyna Cx26 i brak alfa-koneksyny Cx43 i beta-koneksyny Cx30, natomiast w warstwie podstawnej nabłonka pararogowego brak beta-koneksyny Cx31.

W warstwie rogowej nabłonka ortorogowego zaobserwowano obecność beta-koneksyny Cx26, a w nabłonku pararogowym alfa-koneksyny Cx43.

Zasadniczo rozmieszczenie i profil ekspresji alfa-koneksyn i beta-koneksyn w nabłonku orto- i pararogowym języka ptaków jest podobny do naskórka i nabłonek jamy ustnej ssaków (*Kamibayashi i in.*, 1993; *Goliger i Paul*, 1994; *Salomon i in.*, 1994; *Saitoh i in.*, 1997; *Lucke i in.*, 1999; *Di i in.*, 2001; *Kretz i in.*, 2004). Jedynie beta-koneksyna Cx30 wykazała, różny niż w naskórku, profil ekspresji (*Di i in.*, 2001; *Kretz i in.*, 2004).

Za inicjowanie procesu kornifikacji odpowiadają, transportowane przez połączenia jonowo-metaboliczne jony Ca^{2+} . W warstwie podstawnej oraz kolczystej stężenia jonów Ca^{2+} jest niskie, a w wyższych warstwach naskórka gromadzących keratyny, zdecydowanie wyższe (*Menon i in.*, 1985, 1994; *Vicanova i in.*, 1998). Powstały w ten sposób gradient wapnia jest warunkiem proliferacji keratynocytów.

Obecne wyniki wskazują, że rozkład przestrzenny koneksyn przyczynia się do utrzymania gradientu jonów wapnia, konieczny do proliferacji keratynocytów.

W trakcie procesu rogowacenia nabłonka orto- i pararogowego języka ptaków następuje synteza alfa- i beta-keratyny, białek KAPs oraz TGM-1 (publikacja 1, 2 i 3). Kinaza C aktywowana przez DAG odpowiada za ich powstanie. Dodatkowo przyłączane przez kinazę C jony wapnia wzmacniają jej aktywność katalityczną. Zarówno DAG, jak i jony wapnia, mogą być transportowane przez kanały *gap junction*.

Na podstawie badań stwierdzono, że komunikacja pomiędzy keratynocytami w obrębie niższej strefy warstwy pośredniej nabłonka orto- i pararogowego języka ptaków, gdzie rozpoczyna się proces rogowacenia, jest możliwa dzięki obecności w błonie komórkowej obu typów nabłonek alfa-koneksyn Cx40 i 43 oraz beta-koneksyny Cx30. Ważną obserwacją jest stwierdzenie, że w wyższej strefie warstwy pośredniej ekspresja Cx40 i 43 oraz Cx31 wzrasta w nabłonku ortorogowym, co warunkuje kontynuację procesu rogowacenia, a w nabłonku pararogowym poziom koneksyn się zmniejsza.

W warstwie rogowej nabłonka ortorogowego zidentyfikowane koneksyny występują tylko w cytoplazmie komórek, a brak ich w błonie komórkowej. Te wyniki wskazują na całkowitą degradację połączeń *gap junction* w nabłonku ortorogowym i utratę komunikacji między komórkami przed złuszczeniem górnych pasm warstwy rogowej. Z obserwacji nabłonka pararogowego wynika, że koneksyny występują, zarówno w błonie komórkowej, jak i w cytoplazmie komórek warstwy rogowej, co wskazuje na obecność pojedynczych funkcjonalnych połączeń komunikacyjnych w nabłonku pararogowym.

Osiągnięciem uzyskanym w ostatniej publikacji cyklu habilitacyjnego jest określenie, że:

- (i) alfa-koneksyny (Cx40 i 43) i beta-koneksyny (Cx26, 30 i 31) tworzą połączenia komunikacyjne keratynocytów w nabłonku orto- i pararogowym języka ptaków

- (ii) koneksyny Cx40, 43 i 30 występujące w keratynocytach warstwy pośredniej warunkują komunikację między keratynocytami oraz biorą udział w inicjacji i przebiegu procesu kornifikacji
- (iii) zróżnicowane rozmieszczenia koneksyn lub ich brak w warstwie rogowej w obu typach nabłonków są ważną cechą diagnostyczną w badaniach nabłonków języka ptaków.

Wyniki prac badawczych przedstawione w publikacji 4 zostały zrealizowane w ramach kierowanego przez habilitantkę projektu MINIATURA pt. *Analiza połączeń komunikacyjnych jonowo-metabolicznych w nabłonku ortorogowym i pararogowym błony śluzowej narządów jamy dzioba ptaków* (2019/03/X/NZA/01246).

Wyniki uzyskane w ramach publikacji 1- 4 stanowiących osiągnięcie naukowe wpisują się w badania podstawowe i przedkliniczne z zakresu charakterystyki procesu rogowacenia nabłonków wielowarstwowych jamy ustnej ptaków. Tym samym stanowią punkt wyjścia dla dalszych analiz porównawczych nabłonków prawidłowych i patologicznych. Wskazanie, że epitopy białek alfa-keratyny, filagryny, lorykryny i TGM-1 oraz obecność alfa- i beta-koneksyn w nabłonku orto- i pararogowym są typowe dla naskórka i nabłonków wielowarstwowych jamy ustnej, świadczy o ich ektodermalnym pochodzeniu i stanowi podstawę do analiz przebiegu organogenezy narządów jamy ustnej zwierząt domowych i dziko żyjących.

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

1. Alfa- i beta-keratyny oraz białek KAPs i TGM-1 są obecne w cytoplazmie keratynocytów nabłonka orto- i pararogowego, co świadczy o tym, że oba nabłonki podlegają procesowi kornifikacji.
2. Lorykryna jest głównym białkiem KAPs biorącym udział w procesie kornifikacji nabłonka orto- i pararogowego języka ptaków.
3. Alfa-koneksyny Cx40 i 43 oraz beta-koneksyna Cx30 są kluczowymi koneksynami koniecznymi do synchronizacji procesu kornifikacji nabłonka orto- i pararogowego języka ptaków.
4. Rozmieszczenie białek zaangażowanych w kornifikację tj. alfa- i beta-keratyny, białek KAPs i TGM-1 oraz alfa-koneksyn (Cx40 i 43) i beta-koneksyn (Cx26, 30 i 31) jest gatunkowo specyficzne, a profil ich ekspresji jest różny w nabłonku orto- i pararogowym.
5. Uzyskane wyniki mogą być aplikowane do badań nad diagnostyką różnicującą zmiany patologiczne pochodzenia nabłonkowego jamy ustnej ptaków.

Literatura:

1. Alibardi L. 2002. Keratinization and lipogenesis in epidermal derivatives of the zebra finch, *Taeniopygia guttata castanotis* (Aves, Passeriformes, Ploecida) during embryonic development. *J Morphol* 251:284-293.
2. Alibardi L. 2004. Immunocytochemical and autoradiographic studies on the process of keratinization in avian epidermis suggests absence of keratohyalin. *J Morphol* 259:238-253.

3. Alibardi L. 2007. Keratinization of sheath and calamus cells in developing and regenerating feathers. *Ann Anat* 189:583-595.
4. Alibardi L. 2022. Keratinization and Cornification are not equivalent processes but keratinization in fish and amphibians evolved into cornification in terrestrial vertebrates. *Exp Dermatol* 31(5):794-799.
5. Alibardi L. 2016. Chapter Six - The Process of Cornification Evolved From the Initial Keratinization in the Epidermis and Epidermal Derivatives of Vertebrates: A New Synthesis and the Case of Sauropsids. Editor(s): Kwang W. Jeon, Lorenzo Galluzzi, International Review of Cell and Molecular Biology, Academic Press, 327: 263-319.
6. Alibardi L., Toni M. 2004a. Characterization of keratins and associated proteins involved in the cornification of crocodilian epidermis. *Tissue and Cell* 39, 311-323.
7. Alibardi L., Toni M. 2004b. Localization and Characterization of Specific Cornification Proteins in Avian Epidermis. *Cells Tissues Organs* 178:204-215.
8. Alibardi L., Toni M. 2005. Immunolocalization and characterization of cornification proteins in snake epidermis. *Anat Rec Part A Discov Mol Cell Evol Biol* 282:138-46.
9. Alibardi L., Toni M. 2007. Characterization of keratins and associated proteins involved in the cornification of crocodilian epidermis. *Tissue Cell* 39:311-323.
10. Alibardi L., Toni M., Valle L.D. 2007. Hard cornification in reptilian epidermis in comparison to cornification in mammalian epidermis. *Exp Dermatol* 16: 961-976.
11. Boshell J.L., Wilborn W.H., Singh B.B. 1982. Filiform papillae of cat tongue. *Acta Anat* 114: 97-105.
12. Brissette J.L., Kumar N.M., Gilula N.B., Hall J.E., Dotto G.P. 1994. Switch in gap junction protein expression is associated with selective changes in junctional permeability during keratinocyte differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 6453-6457.
13. Brockmeyer P., Jung K., Perske C., Schliephake H., Hemmerlein B. 2014. Membrane connexin 43 acts as an independent prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 45:273-281.
14. Brockmeyer P., Hemmerlein B., Jung K., Fialka F., Brodmann T., Gruber R.M., Schliephake H., Kramer F.J. 2016. Connexin subtype expression during oral carcinogenesis: A pilot study in patients with oral squamous cell carcinoma. *Mol Clin Oncol* 4:298-302.
15. Buchwald T., Niciejewski K., Kozielski M., Szybowicz M., Siatkowski M., Krauss H. 2012. Identifying compositional and structural changes in spongy and subchondral bone from the hip joints of patients with osteoarthritis using Raman spectroscopy. *J Biomed Opt* 17:017007.
16. Calvaresi M., Eckhart L., Alibardi L. 2016. The molecular organization of the beta-sheet region in corneous beta-proteins (beta-keratins) of sauropsids explains its stability and polymerization into filaments. *J Struct Biol* 194:282-291.
17. Carver W., Sawyer R.H. 1989. Immunocytochemical localization and biochemical analysis of alpha and beta keratins in the avian lingual epithelium. *Am J Anat* 84:66-75.
18. Carver W.E., Knapp L.W., Sawyer R.H. 1990. Beta-keratin expression in avian tongue cell aggregates. *J Exp Zool* 256:333-338.
19. Church J.S., Poole A.J., Woodhead A.L. 2010. The Raman analysis of films cast from dissolved feather keratin. *Vib Spectrosc* 53:107111.
20. Dahl E., Winterhager E., Reuss B., Traub O., Butterweck A., Willecke K. 1996. Expression of the gap junction proteins connexin 31 and connexin 43 correlates with communication compartments in extraembryonic tissues and in the gastrulating mouse embryo, respectively. *J Cell Sci* 109:191-197
21. Davis N.G., Phillips A., Becker D.L. 2013. Connexin dynamics in the privileged wound healing of the buccal mucosa. *Wound Repair Regen* 21:571-578.
22. Di W.L., Rugg E.L., Leigh I.M., Kelsell D.P. 2001. Multiple epidermal connexins are expressed in different keratinocyte subpopulations including connexin 31. *J Investig Dermatol* 117:958-964.
23. Eckert R.L., Sturniolo M.T., Broome A.-M., Ruse M., Rorke E.A. 2005. Transglutaminase Function in Epidermis. *J Investig Dermatol* 124:481-492.
24. Evans W.H., Martin P.E. 2002. Gap junctions: Structure and function (Review). *Mol Membr Biol* 19:121-136.
25. Farbman A.I. 1970. The dual pattern of keratinization in filiform papillae on rat tongue. *J Anat* 106 (2):233-42.
26. Fleckman P., Dale B.A., Holbrook K.A. 1985. Profilaggrin, a High-Molecular-Weight Precursor of Filaggrin in Human Epidermis and Cultured Keratinocytes. *J Investig Dermatol* 85:507-512.
27. Giroud A., Leblond C.P. 1951. The keratinization of epidermis and its derivatives. Especially the

- hair, as shown by X-ray diffraction and histochemical studies. *Ann N Y Acad Sci* 53:613-626.
28. Goldberg G.S., Valiunas V., Brink P.R. 2004. Selective permeability of gap junction channels. *Biochim Biophys Acta* 1662:96-101.
 29. Goliger J.A., Paul D.L. 1994. Expression of gap junction proteins Cx26, Cx31.1, Cx37, and Cx43 in developing and mature rat epidermis. *Dev Dyn* 200:1-13.
 30. Hohl D., Mehrel T., Lichti U., Turner M.L., Roop D.R., Steinert P.M. 1991. Characterization of human loricrin. Structure and function of a new class of epidermal cell envelope proteins. *J Biol Chem* 266:6626-6636.
 31. Hohl D., Ruf Olano B., de Viragh P.A., Huber M., Detrisac C.J., Schnyder U.W., Roop D.R. 1993. Expression patterns of loricrin in various species and tissues. *Differentiation* 54:25-34.
 32. Holtahus K.B., Eckhart L., Dalla Valle L., Alibardi L. 2019. Review: Evolution and Diversification of corneous beta-proteins, the characteristic epidermal proteins of reptiles and birds. *J Exp Zool* 330B:438-453.
 33. Homberger D.G., Brush A.H. 1986. Functional-morphological and biochemical correlations of the keratinized structures in the African Grey Parrot, *Psittacus erithacus* (Aves). *Zoomorphol* 106:103-114.
 34. Homberger D.G., Meyers R. 1989. Morphology of the lingual apparatus of the domestic chicken *Gallus gallus*, with special attention to the structure of the fasciae. *American J Anat* 186:217-257.
 35. Ishida-Yamamoto A., Tanaka H., Nakane H., Takahashi H., Iizuka H. 1999. Antigen retrieval of loricrin epitopes at desmosomal areas of cornified cell envelopes: An immunoelectron microscopic analysis. *Exp Dermatol* 8:402-406.
 36. Iwasaki S., Kobayashi K. 1986. Scanning and transmission electron microscopical studies on the lingual dorsal epithelium of chickens. *Acta Anat Nipponica* 61:83-96.
 37. Iwasaki S., Asami T., Chiba A. 1997. Ultrastructural study of the keratinization of the dorsal epithelium of the tongue of Middendorff's bean goose, *Anser fabalis middendorffii* (Anseres, Anatidae). *Anat Rec* 247:147-163.
 38. Jackowiak H., Godynicki S. 2005. Light and scanning electron microscopic study of the tongue in the white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*, Accipitriadae, Aves). *Ann Anat* 187:251-259.
 39. Jackowiak H., Andrzejewski W., Godynicki S. 2006. Light and scanning electron microscopic study of the tongue in the Cormorant *Phalacrocorax carbo* (Phalacrocoracidae, Aves). *Zool Sci* 23:161-167.
 40. Jackowiak H., Skiersz-Szewczyk K., Kwiecinski Z., Trzcielinska-Lorych J., Godynicki S. 2010. Functional morphology of the tongue in the Nutcracker (*Nucifraga caryocatactes*). *Zool Sci* 27:589-594.
 41. Jackowiak H., Skiersz-Szewczyk K., Godynicki S., Iwasaki S., Meyer W. 2011. Functional morphology of the tongue in the domestic goose (*Anser anser f. domestica*). *Anat Rec* 294:1574-1584.
 42. Kamibayashi Y., Oyamada M., Oyamada Y., Mori M. 1993. Expression of gap junction proteins connexin 26 and 43 is modulated during differentiation of keratinocytes in newborn mouse epidermis. *J Invest Dermatol* 101:773-778.
 43. Kalinin A., Marekov L.N., Steinert P.M. 2001. Assembly of the epidermal cornified cell envelope. *J Cell Sci* 114:3069-3070.
 44. Kemp D.J., Dyer P.Y., Rogers G.E. 1974. Keratin synthesis during development of the embryonic chick feather. *J Cell Biol* 62:114131.
 45. Kim S.Y., Chung S.I., Yoneda K., Steinert P.M. 1995. Expression of transglutaminase 1 in human epidermis. *J Invest Dermatol* 104:211-217.
 46. Kim I., McBride O., Wang M., Kim S., Idler W., Steinert P. 1992. Structure and organization of the human transglutaminase 1 gene. *J Biol Chem* 267:7710-7717.
 47. Kretz M., Maass K., Willecke K. 2004. Expression and function of connexins in the epidermis, analyzed with transgenic mouse mutants. *Eur J Cell Biol* 83:647-654.
 48. Lane E.B., McLean W.H. 2004. Keratins and skin disorders. *J Pathol* 204(4):355-66.
 49. Lazar A.J.F., Wang W-L. 2016. Sin. In Robbins Basic Pathology. Ed. Kumar V., Abbas A.K., Aster J.C. Ninth edition. Elsevier-Saunders.
 50. Li A., Cho J.H., Reid B., Tseng C.C., He L., Tan P., Yeh C.Y., Wu P., Li Y., Widelitz R.B. 2018. Calcium oscillations coordinate feather mesenchymal cell movement by SHH dependent modulation of gap junction networks. *Nat Commun* 9, 537.
 51. Loewenstein W.R. 1979. Junctional intercellular communication and the control of growth. *Biochim Biophys Acta* 560:1-65.
 52. Lucke T., Choudhry R., Thom R., Selmer I.S., Burden A.D., Hodgins M.B. 1999. Upregulation

- of connexin 26 is a feature of keratinocyte differentiation in hyperproliferative epidermis, vaginal epithelium, and buccal epithelium. *J Invest Dermatol* 112:354-361
53. Menon G.K., Grayson S., Elias P.M. 1985. Ionic calcium reservoirs in mammalian epidermis: Ultrastructural localization by ion-capture cytochemistry. *J Invest Dermatol* 84:508-512.
 54. Menon G.K., Elias P.M., Feingold K.R. 1994. Integrity of the permeability barrier is crucial for maintenance of the epidermal calcium gradient. *Br J Dermatol* 130:139-147.
 55. Meyer W., Oberthuer A., Ngezahayo A., Neumann U., Jacob R. 2014. Immunohistochemical demonstration of connexins in the developing feather follicle of the chicken. *Acta Histochem* 116:639-645.
 56. Mischke D., Korge B.P., Marenholz I., Volz A., Ziegler A. 1996. Genes encoding structural proteins of epidermal cornification and S100 calcium-binding proteins from a gene complex ("epidermal differentiation complex") in human chromosome 1q21. *J Invest Dermatol* 106:989-992.
 57. Moll R., Divo M., Langbein L. 2008. The human keratins: Biology and pathology. *Histochem Cell Biol* 129:705-733.
 58. Presland R.B., Kuechle M.K., Lewis S., Fleckman P., Dale B.A. 2001. Regulated Expression of Human Filaggrin in Keratinocytes Results in Cytoskeletal Disruption, Loss of Cell-Cell Adhesion, and Cell Cycle Arrest. *Exp Cell Res* 270:199-213.
 59. Rhodin J.A.G., Reith E.J. 1962. Ultrastructure of keratin in oral mucosa, skin, esophagus, claw and hair. In *Fundamentals of Keratinization*; Butcher, E.O., Signnaes, R.F., Eds.; American Association for the Advancement of Science: Washington, DC, USA; pp. 61-94.
 60. Risek B., Klier F.G., Gilula N.B. 1992. Multiple gap junction genes are utilized during rat skin and hair development. *Development* 116:639-651.
 61. Rizzo N.W., Gardner K.H., Walls D.J., Keiper-Hrynko N.M., Ganzke T.S., Hallahan D.L. 2006. Characterization of the structure and composition of gecko adhesive setae. *J R Soc Interface* 3:441-451.
 62. Saitoh M., Oyamada M., Oyamada Y., Kaku T., Mori M. 1997. Changes in the expression of gap junction proteins (connexins) in hamster tongue epithelium during wound healing and carcinogenesis. *Carcinogenesis* 18:1319-1328.
 63. Salomon D., Masgrau E., Vischer S., Ullrich S., Dupont E., Sappino P., Saurat J.-H., Medat P. 1994. Topography of Mammalian Connexins in Human Skin. *J Invest Dermatol* 103:240-247.
 64. Sawyer R.H., Knapp L. 2003. Avian skin development and the evolutionary origin of feathers. *J Exp Zool* 298 B:57-72.
 65. Segretain D., Falk M.M. 2004. Regulation of connexin biosynthesis, assembly, gap junction formation, and removal. *Biochim Biophys Acta* 1662:3-21.
 66. Schmuth M., Fluhr J.W., Crumrine D.C., Uchida Y., Hachem J.P., Behne M., Moskowitz D.G., Christiano A.M., Feingold K.R., Elias P.M. 2004. Structural and functional consequences of loricrin mutations in human loricrin keratoderma (Vohwinkel syndrome with ichthyosis). *J Invest Dermatol* 122(4):909-22.
 67. Scott C.A., Tattersall D., O'Toole E.A., Kelsell D.P. 2012. Connexins in epidermal homeostasis and skin disease. *Biochim et Biophys Acta* 1818:1952-1961.
 68. Scott I.R., Harding C.R. 1981. Studies on the synthesis and degradation of a high molecular weight, histidine-rich phosphoprotein from mammalian epidermis. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Protein Struct* 669:65-78.
 69. Skieresz-Szewczyk K., Jackowiak H., Ratajczak M. 2014. LM and TEM study of the orthokeratinized and parakeratinized epithelium of the tongue in the domestic duck (*Anas platyrhynchos f. domestica*). *Micron* 67:117-124.
 70. Skieresz-Szewczyk K., Jackowiak H. 2016. Morphofunctional study of the tongue in the domestic duck (*Anas platyrhynchos f. domestica*, Anatidae): LM and SEM study. *Zoomorphol* 135:255-268.
 71. Skieresz-Szewczyk K., Plewa B., Jackowiak H. 2021. Functional morphology of the tongue in the domestic turkey (*Meleagris gallopavo gallopavo var. domesticus*). *Poultry Sci* 100(5): 101038.
 72. Strasser B., Mlitz V., Herman M., Rice R. H., Eigenheer R. A., Alibardi L., Eckhart L. 2014. Evolutionary origin and diversification of epidermal barrier proteins in amniotes. *Mol Biol Evol* 31:3194-3205.
 73. Vicanova J., Boelsma E., Mommaas A.M., Kempenaar J.A., Forslind B., Pallon J., Egelrud T., Koerten H.K., Ponc M. 1998. Normalization of epidermal calcium distribution profile in reconstructed human epidermis is related to improvement of terminal differentiation and stratum corneum barrier formation. *J Invest Dermatol* 111:97-106.

74. Walker I.D., Rogers G.E. 1976. Differentiation in avian keratinocytes. The properties of the proteins of the chick down feather. *Eur J Biochem* 69:329-339.
75. Zehnder A. M., Swift L. A., Sundaram A., Speer B. L., Olsen, G. P., Hawkins M. G., Paul-Murphy J. 2018. Clinical features, treatment, and outcomes of cutaneous and oral squamous cell carcinoma in avian species. *J Am Vet Med Assoc* 252(3):309-315.

5. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ ALBO ARTYSTYCZNĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI, INSTYTUCJI NAUKOWEJ LUB INSTYTUCJI KULTURY, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ.

Współpraca z jednostkami zagranicznymi

- Department of Morphology, Imaging, Orthopedics, Rehabilitation and Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University (Belgia) - 2010 - obecnie.

Współpraca z prof. Pieter Cornille dotyczy obrazowania technikami rekonstrukcji 3D struktur błony śluzowej języka ptaków dorosłych oraz w trakcie rozwoju zarodkowego.

Badania miały na celu zidentyfikować sposób rozwoju gruczołów językowych przednich i tylnych u Anserinae oraz scharakteryzować historóznicowanie litych pasm nabłonkowych w odcinki wydzielnicze i wyprowadzające. Po raz pierwszy w badaniach gruczołów użyto technik rekonstrukcji trójwymiarowej.

Wkład merytoryczny habilitantki: przygotowanie seryjnych skrawków histologicznych języków zarodków z 3 stadiów rozwojowych, wykonanie rekonstrukcji trójwymiarowej języka wraz z chrząstką śródjęzykową i zawiązkami gruczołów, opracowanie dokumentacji fotograficznej, analiza wyników i opracowanie dyskusji.

Wyniki rekonstrukcji 3D wskazały, że gruczoły językowe przednie i tylne rozwijają się poprzez rozgałęzianie pasm nabłonkowych, odpowiednio w kierunku do chrząstki śródjęzykowej i kości gnykowej. Historóznicowanie zawiązków gruczołów językowych przednich i tylnych jest podobne i obejmuje pięć stadiów rozwojowych tj. stadium przedzawiązkowe, stadium zawiązków końcowych, pseudogruczołowe, kanalikowe i stadium końcowe. W badaniach stwierdzono, że pod koniec rozwoju zarodkowego tylko gruczoły językowe tylne mają typową budowę jak u dorosłego osobnika, a gruczoły językowe przednie w związku z elongacją języka podlegają dalszemu cytoróznicowaniu, już po wykluciu.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci rozprawy naukowej:

1. **Skieresz-Szewczyk K.**, Cornillie P., Jackowiak H. 2018. *The development of lingual glands in the domestic duck (Anas platyrhynchos f. domestica): 3D reconstruction, LM and SEM study.* *Journal of Morphology* 279 (3): 319-329.

Wyniki zaprezentowano także jako poster na międzynarodowej konferencji *Young Generation of Veterinary Anatomists (YGVA)* w Lipsku w 2013r.

oraz jako referat podczas krajowej *Konferencji Embriologicznej* w Juracie w 2012r.

Współpraca z jednostkami krajowymi:

- Laboratorium Mikroskopii Elektronowej i Konfokalnej, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu - 2012 - obecnie.

Współpraca z dr Marleną Ratajczak dotyczy analiz ultrastrukturalnych w transmisyjnym mikroskopie elektronowym.

Wkład merytoryczny habilitantki: zebranie i utrwalanie materiału badawczego w formie bloczków eponowych, przygotowanie dokumentacji fotograficznej, analiza wyników i opracowanie dyskusji.

Współpraca objęła następujące zagadnienia badawcze:

1. Budowa histologiczna nabłonków wielowarstwowych błony śluzowej języka ptaków.

Badania miały na celu scharakteryzowanie budowy mikroskopowej i ultrastrukturalnej nabłonka powierzchni brzusznej wierzchołka języka i powierzchni grzbietowej trzonu języka. Przeprowadzone analizy szczegółowo określiły różnice w budowie dwóch stref warstwy pośredniej obu typów nabłonków oraz różnice w budowie warstwy rogowej pomiędzy nabłonkiem orto- i pararogowym błony śluzowej języka ptaków.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci rozprawy naukowej:

1. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H., Ratajczak M. 2014. *LM and TEM study of the orthokeratinized and parakeratinized epithelium of the tongue in the domestic duck (Anas platyrhynchos f. domestica)*. *Micron* 67: 117-124.

Wyniki zaprezentowano również w formie referatu podczas krajowego *Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych „Omnia Autem Animalia Sunt”* w Warszawie w 2021 r.

2. Rozwój nabłonka ortorogowego na powierzchni brzusznej wierzchołka języka i nabłonka pararogowego na trzonie języka.

Badania miały na celu opis przebiegu cytoróżnicowania nabłonka embrionalnego w wielowarstwowy nabłonek orto- i pararogowy języka ptaków w trakcie rozwoju zarodkowego. Na podstawie wyników wyznaczono 3 stadia rozwojowe tj. stadium embrionalne, stadium transformacji i stadium nabłonka wielowarstwowego. Określono, że nabłonek embrionalny przekształca się w nabłonek wielowarstwowy w stadium transformacji, w ostatnim stadium rozwojowym w pierw powstaje pierwotna powierzchniowa warstwa ochronna ze specyficznymi ziarnami perydermy, a później rozwija się właściwa ochronna warstwa rogowa. Wyniki wskazują, że w momencie wyklucia nabłonek orto- i

pararogowy jest całkowicie wykształcony i gotowy do pełnienia funkcji ochronnych podczas pobierania i transportu pokarmu do przełyku.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci następujących rozpraw naukowych:

1. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H., Ratajczak M. 2018. *Ultrastructural study on the embryonic development of the orthokeratinized epithelium and its cornified layer (lingual nail) on the ventral surface of the lingual apex in the domestic duck (Anas platyrhynchos f. domestica)*. Zoology (Jena) 126: 36-45.
2. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H., Ratajczak M. 2019. *Embryonic development of parakeratinized epithelium of the tongue in the domestic duck (Anas platyrhynchos f. domestica): LM, SEM and TEM observations*. Protoplasma 256 (3): 631-642.

Wyniki zaprezentowano także jako referat i poster na międzynarodowych konferencjach *Young Generation of Veterinary Anatomists (YGVA)* w Nottingham w 2011r. i Lipsku w 2013r. oraz jako referat podczas krajowej *Konferencji Embriologicznej* w Wojsławicach w 2016r.

3. Historóżnicowanie nabłonka pararogowego na wyniosłości języka ptaków

Celem badań była charakterystyka rozwoju nabłonka pararogowego na powierzchni wyniosłości języka, która jest typowa dla Anseriformes i jest zbudowana z tkanki tłuszczowej żółtej. Wykazano, że rozwój odbywa się w trakcie trzech stadiów rozwojowych: stadium embrionalne, stadium transformacji i stadium nabłonka wielowarstwowego. W stadium transformacji, cechą charakterystyczną nabłonka były powierzchniowe bruzdy, których powstawanie, jak określono, jest skorelowane ze stopniowym unoszeniem się wyniosłości języka i powstawaniem jej tkanki tłuszczowej. Powierzchniowe bruzdy kolejno zanikają w wyniku apoptozy komórek i ostatecznie wyniosłość języka jest wysłana nabłonkiem wielowarstwowym. W trakcie rozwoju embrionalnego nie obserwowano powstawania ochronnej warstwy rogowej, która rozwija się po wykluciu. Badania te wskazują na unikalny przebieg rozwoju nabłonka pararogowego u ptaków.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci rozprawy naukowej:

1. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H., Ratajczak M. 2021. *Unique pattern of histogenesis of the parakeratinized epithelium on lingual prominence in the domestic goose embryos (Anser anser f. domestica)*. Scientific Reports 23; 11 (1): 22754.
- Zakład Spektroskopii Optycznej, Instytut Badań Materiałowych i Inżynierii Kwantowej, Wydział Inżynierii Materiałowej i Fizyki Technicznej, Politechnika Poznańska – 2014 - obecnie.

Współpraca z prof. dr hab. Mirosławem Szybowiczem i dr inż. Tomaszem Buchwaldem dotyczy analiz struktury drugorzędowej białek procesu rogowacenia w nabłonkach rogowych błony śluzowej jamy dzioba ptaków hodowlanych i dziko żyjących przy użyciu techniki mikrospektroskopii Ramana.

Celem badań była analiza przestrzenna rozmieszczenia alfa- i beta-keratyny w nabłonku orto- i pararogowym języka ptaków wraz z oszacowanie procentowej zawartości keratyn w poszczególnych warstwach nabłonków. Wyniki są częściowo zawarte cyklu habilitacyjnego i zostały zawarte w publikacji 1 i 2.

Wyniki zaprezentowano także jako referat na międzynarodowej konferencji *Young Generation of Veterinary Anatomists (YGVA)* w Brnie w 2017r.

- Katedra Neurobiologii, Akademia Wychowania Fizycznego im. E. Piaseckiego w Poznaniu – 2021 - obecnie.

Współpraca z prof. dr hab. Janem Celichowskim i mgr Magdaleną Piotr dotyczy aplikacji komputerowej techniki rekonstrukcji trójwymiarowej na seryjnych skrawkach histologicznych w badaniach włókienek mięśniowo-nerwowych w mięśniach.

Celem badań było scharakteryzowanie przestrzennego rozmieszczenia i długości włókienek mięśniowo-nerwowych w mięśniu brzuchatym przyśrodkowym łydki samców i samic szczurów.

Wkład merytoryczny habilitantki: opracowanie rekonstrukcji 3D mięśnia brzuchatego przyśrodkowego łydki i włókienek mięśniowo-nerwowych oraz dokumentacji fotograficznej przygotowanych rekonstrukcji.

Wyniki wykazały, że te proprioreceptory są zlokalizowane głównie w proksymalno-przyśrodkowej części mięśnia, przy czym pomimo znacznych różnic w masie i wielkości mięśni rozmieszczenie włókienek, ich długość u samców i samic były podobne. Stwierdzono, że technika rekonstrukcji 3D, którą po raz pierwszy zastosowano w badaniach włókienek mięśniowo-nerwowych, będzie nowoczesnym narzędziem przydatnym do dalszych badań oceniających unerwienie czuciowe mięśni szkieletowych.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci rozprawy naukowej:

1. Piotr M., **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H., Celichowski J. 2023. *Distribution and length of muscle spindles and their 3D visaulisation in the medial gastrocnemius of male and female rats*. Journal of Anatomy; early view.

- Ogród zoologiczny - ZOO Poznań - współpraca obejmuje konsultacje naukowe z zakresu ekologii zwierząt, behawioru oraz preferencji pokarmowych zwierząt dziko żyjących.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci rozdziału w książce naukowej :

1. Jackowiak H., Trzcielińska J., **Skieresz K.**, Godynicki S. 2006. *The morphology of the tongue In the pygmy hippopotamus (Choreopsis liberiensis)*”

[w:] Animals, Zoos and Conservation, Wydawnictwo KONTEKST, 2006: 198-201.

Wyniki zaprezentowano także jako poster podczas międzynarodowej konferencji *Anatomist on the Edge* w Galway w 2017

Udział w programach europejskich, stażach i szkoleniach:

Programy europejskie:

1. 2017r. - SYNTHESYS+ Synthesis of Systematic Resources project (European Commission Grant)

Byłam kierownikiem projektu pt. *The microCT studies of the structure of hyoid apparatus in birds*. Projekt realizowany w 3D Laboratory in Museum für Naturkunde w Berlinie (Niemcy). Badania dotyczyły budowy aparatu gnykowego u różnych gatunków ptaków. Pozyskane dane są obecnie analizowane w kontekście przynależności taksonomicznej i zależności pokarmowych.

Staże badawcze w jednostkach zagranicznych:

1. 2012 r. - Department of Morphology, Imaging, Orthopedics, Rehabilitation and Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University (Belgia) - miesięczny staż badawczy z zakresu rekonstrukcji 3D w histologii u profesora Pieter Cornillie.
2. 2022 r. - Laboratorium Pani profesor Dominique Homberger, Department of Biological Science, College of Science, Louisiana State University (USA) - tygodniowy pobyt studyjny obejmujący konsultacje naukowe z zakresu morfologii struktur jamy dzioba ptaków oraz ich funkcjonalności u różnych grup pokarmowych i taksonomicznych ptaków oraz analiz procesu rogowacenia u ptaków.

6. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ.

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

6.1.1 Prowadzenie zajęć dydaktycznych

Począwszy od ukończenia studiów doktoranckich, poprzez pracę na stanowisku asystenta, a później adiunkta w Pracowni Histologii i Embriologii Zwierząt na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, pełnię funkcję nauczyciela akademickiego i prowadzę zajęcia dydaktyczne dla studentów studiów stacjonarnych i niestacjonarnych, I i II stopnia zarówno w języku polskim jak i języku angielskim oraz dla studentów Szkoły Doktorskiej Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Zajęcia dydaktyczne prowadzone w **języku polskim:**

Kierunek: Weterynaria, jednolite studia magisterskie

- *Histologia i embriologia* (ćwiczenia)
- *Organogeneza* (ćwiczenia)
- *Techniki mikroskopowe* (ćwiczenia)

Kierunek: Biologia stosowana, I stopień (studia licencjackie)

- *Histologia kręgowców* (ćwiczenia)
- *Embriologia kręgowców* (ćwiczenia)
- *Biologia rozwoju kręgowców* (ćwiczenia)

Kierunek: Biologia stosowana, II stopień (studia licencjackie)

- *Techniki mikroskopowe* (ćwiczenia, wykłady)

Kierunek: Zootechnika, I stopień (studia inżynierskie)

- *Zarys embriologii zwierząt z elementami teratologii* (ćwiczenia)
- *Mikroskopia wirtualna tkanek i narządów zwierząt* (ćwiczenia)

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

- *Anatomia i histologia układu pokarmowego* (ćwiczenia)

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

- *Wspomagany rozród koni* (wykłady i ćwiczenia)

Kierunek: Biotechnologia, I stopień (studia inżynierskie)

- *Embriologia zwierząt* (ćwiczenia)

Zajęcia dydaktyczne prowadzone dla studentów **Szkoły Doktorskiej:**

- *Metody badania białek* (wykład i ćwiczenia)

Zajęcia dydaktyczne prowadzone w **języku angielskim:**

Kierunek: Biologia stosowana w zakresie biologii zwierząt oraz w zakresie biologii eksperymentalnej, II stopień (studia magisterskiego)

- *Biology - a review in the English language* (ćwiczenia)

Kierunek: Animal Production Management (APM) - studia anglojęzyczne, II stopień (studia magisterskie)

- *Embryology course* w ramach modułu *Preventive Veterinary Medicine* (wykłady i ćwiczenia)

Kierunek: European Master of Comparative Morphology (Erasmus+) - studia anglojęzyczne, II stopień (studia magisterkie - Master in Sciences), w latach 2014 -

2019.

- *Digestive system of birds* w ramach modułu *Ecomorphology*, Core Course - *Morphology* (ćwiczenia)

W ramach działalności dydaktycznej prowadziłam również zajęcia dydaktyczne na **University of Veterinary Medicine in Vienna (Austria)**, w **Institute of Morphology, 21 - 25.01.2019:**

Kierunek: European Master of Comparative Morphology (Erasmus+) - studia anglojęzyczne, II stopień (studia magisterkie - Master in Sciences)

- *3-dimensional rendering* w ramach modułu Elective courses - *Imaging* (wykłady i ćwiczenia)

W roku 2017r. brałam udział w **prowadzeniu zajęć w ramach projektu Uniwersytetu Młodego Odkrywcy (UMO) pt.: Świat pod mikroskopem – od DNA do tkanki** dla szkół podstawowych i gimnazjalnych miasta Poznania.

6.1.2 Inicjatywy dydaktyczne polegające na opracowaniu i wdrożeniu

1. Udział w przygotowaniu programu międzynarodowych studiów II stopnia pt. *European Master of Comparative Morphology* (EUCOMOR) w kategorii Erasmus Mundus Joint programme. Program przygotowywany w ramach grantu nr 510132-LLP-1-2010-1-BE-ERASMUS-ECDCE przez konsorcjum pięciu uniwersytetów europejskich: Uniwersytet w Antwerpii, (Belgia), Uniwersytet Medycyny Weterynaryjnej w Wiedniu (Austria), Uniwersytet Justusa Liebiga w Giessen (Niemcy), Uniwersytet Neapolitański im. Fryderyka II (Włochy), Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu (Polska). W ramach przygotowań uczestniczyłam w seminariach i konsultacjach:

- Polska, Poznań, 23 - 25 maj 2011r.
- Niemcy, Giessen, 18 - 20 kwiecień 2012r.
- Włochy, Neapol, 20 - 22 maj 2013r.

2. Opracowanie programu przedmiotu *Biologia narządów zmysłów* dla kierunku Biologia stosowana (wykładu i ćwiczeń).

3. Opracowanie zajęć anglojęzycznych *Methods of protein research* dla studentów Szkoły Doktorskiej.

4. Opracowanie protokołów ćwiczeń z przedmiotu:

- *Histologia i embriologia* dla kierunku Weterynaria
- *Histologia kręgowców, Embriologia kręgowców, Biologia rozwoju kręgowców* dla kierunku Biologia stosowana

5. Przygotowanie zajęć praktycznych z analiz morfometrycznych, rekonstrukcji 3D obrazów mikroskopowych oraz druku 3D w ramach przedmiotu *Techniki mikroskopowe* dla kierunku Weterynaria i Biologia.

6. Praca przy wdrożeniu systemu e-learningowego *Wirtualny mikroskop* i systemu testowego *Q4U* w ramach Pracowni Wirtualnej Mikroskopii.

6.1.3 Opiekun Sekcji Histologicznej Koła Naukowego Zootechników i Biologów (2017-obecnie) zrzeszający studentów kierunku Weterynaria, Biologia stosowana, Biotechnologia

Opieka nad pracami laboratoryjnymi studentów Biotechnologii i Weterynarii, których wyniki przedstawiono w postaci referatów w ramach Seminarium Studenckich Kół Naukowych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu

1. Przemysław Gawrysiak, Oliwia Kończak, Maciej Lenort. 2022. *Badania wstępne naskórka słonia afrykańskiego (Loxodonta africana) - obserwacje makro- i mikroskopowe*. Referat. Zajęcie II miejsca.
2. Przemysław Adamski. 2021. *Anatomia trąby słonia afrykańskiego (Loxodonta africana, Blumenbach, 1797) - obserwacje wstępne*. Referat.

6.1.4 Opieka naukowa nad studentami w toku specjalizacji

Opiekun prac magisterskich

1. Luiza Mimier (2015). *Anatomia i histologia języka u samca i samicy indyka domowego (Meleagris gallopavo gallopavo var. Domesticus)*.
2. Joanna Słomińska (2015). *Morfologia i rozwój gruczołów językowych kota domowego (Felis silvestris catus) w okresie prenatalnym*.

Współopiekun pracy magisterskiej

1. Saiful Islam (2018). *Patterns of keratinization of the epithelia in oral cavity in turkey during embryonic development*.

Opiekun prac licencjackich

1. Klaudia Pęcikiewicz (2020). *Charakterystyka bariery ochronnej naskórka ssaków*.
2. Dominika M. Sokołowska (2019). *Makro- i mikroskopowa budowa błony śluzowej podniebienia indyka domowego (Meleagris gallopavo gallopavo f. domesticus) i kaczki domowej (Anas platyrhynchos f. domestica)*.
3. Greta Sawicz (2019). *Analiza histochemiczna gruczołów językowych u indyka domowego (Meleagris gallopavo gallopavo f. domesticus) i kaczki domowej (Anas platyrhynchos f. domestica)*.

Opiekun prac inżynierskich

1. Paulina Kasprzak (2017). „Rozwój żołądka u bażanta łownego (*Phasianus colchicus*) w okresie zarodkowym”.

6.1.5 Opieka naukowa nad doktorantami

1. Promotor pomocniczy w otwartym przewodzie doktorskim mgr Barbary Plewy pt. *Analiza morfofunkcjonalna narządu smaku ssaków*.

6.1.6 Udział w komisjach egzaminacyjnych i zespołach oceniających

1. Członek Komisji egzaminacyjnej na egzaminie dyplomowym - licencjackim dla studentów kierunku Biologia w latach 2016 - 2020.
2. Egzaminator na egzaminie dyplomowym - magisterskim dla studentów kierunku Biologia, specjalność Biologia stosowana w dniu 27.06.2016 r.
3. Członek zespołu wydziałowego ds. hospitacji na kierunku Biologia stosowana w latach 2016 – obecnie.
4. Członek Komisji Konkursowej na obsadę stanowiska adiunkta w Katedrze Rozrodu Zwierząt w dniu 15.03.2019r.
5. Członek Komisji Konkursowej na obsadę stanowiska adiunkta w Katedrze Rybactwa Śródlądowego i Akwakultury Instytutu Zoologii w dniu 15.03.2019r.

6.2 Osiągnięcia organizacyjne

1. Członek Rady Programowej kierunku Zootechnika w latach 2019 - 2020.
2. Członek Rady Programowej kierunku Biologia stosowana w latach 2019 - obecnie.
3. Członek Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach w latach 2014 – 2019.
4. Członek Komisji Kadrowej na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach w latach 2020 - 2021.
5. Opracowanie i wprowadzanie rekordów do Bazy Bibliografii Publikacji Pracowników, Uczestników Studiów Doktoranckich i Emerytowanych Pracowników Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w latach 2015-obecnie.
6. Udział w organizacji Drzwi Otwartych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach w latach 2017-2019
7. Udział w Komitecie organizacyjnym konferencji 8th Meeting of the Young Generation of Veterinary Anatomists organizowanej przez Pracownię Histologii i Embriologii Zwierząt na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, 15-17 lipca 2015.

6.3 Osiągnięcia popularyzujące naukę

6.3.1 Przygotowanie i przeprowadzenie wykładów i warsztatów w ramach cyklicznie organizowanych Poznańskich Festiwalach Nauki i Sztuki oraz Nocy Naukowców w latach 2011 - 2023

1. XXV Festiwal Nauki i Sztuki - warsztaty pt. *Technologia modelowania i druku 3D w embriologii zwierząt*.

2. XXI Festiwal Nauki i Sztuki - warsztaty pt. *Nowa era w histologii - mikroskopia wirtualna*.
3. XXI Festiwal Nauki i Sztuki - warsztaty pt. *Przegląd tkanek zwierzęcych w pracowni wirtualnego mikroskopu*.
4. XX Festiwal Nauki i Sztuki - wykład pt. *Języki ptaków - bogactwo form morfologicznych*.
5. XIX Poznański Festiwal Nauki i Sztuki - warsztaty pt. *Mikroświat brodawek językowych*.
6. XVI Poznański Festiwal Nauki i Sztuki - wystawa pt. *Rozwój embrionalny kręgowców na obrazach skaningowej mikroskopii elektronowej*.
7. XV Poznański Festiwal Nauki i Sztuki - warsztaty pt. *Histologia od podszewki, czyli jak powstaje preparat mikroskopowy*.
8. XIV Poznański Festiwal Nauki i Sztuki - wykład pt. *Filtratory w świecie zwierząt*.
9. X i XI Noc Naukowców - warsztaty pt. *Wirtualny mikroskop - innowacja w nauce*.
10. IX Noc Naukowców - wykład pt. *Rozwój serca i naczyń krwionośnych*.

6.3.3 Przygotowanie i przeprowadzanie wykładów i warsztatów dydaktycznych dla szkół podstawowych i średnich w latach 2014 - 2019

1. *Przegląd tkanek zwierzęcych w wirtualnym mikroskopie* - II LO im. K.K. Baczyńskiego w Koninie, I LO im. Rodu Leszczyńskich w Lesznie, Zespół Szkół im. Józefa Wybickiego w Ratajach.
2. *Rozwój serca i naczyń krwionośnych* - I LO im. Rodu leszczyńskich w Lesznie, Szkoła Podstawowa nr 12 w Lesznie, Zespół Szkół w Nowym Tomysłu.
3. *Mikroświat brodawek językowych* - Zespół Szkół im. Konstytucji 3 Maja w Pobiedziskach Letnisku.
4. *Techniki mikroskopii świetlnej i elektronowej* - Zespół Szkół w Puszczykowie.
5. *Tajemnice histologii, czyli jak powstaje preparat histologiczny* - I LO w Poznaniu, I LO w Krotoszynie.

7. OPRÓCZ KWESTII WYMIENIONYCH W PKT. 1-6, WNIOSKODAWCA MOŻE Podać INNE INFORMACJE, WAŻNE Z JEGO PUNKTU WIDZENIA, DOTYCZĄCE JEGO KARIERY ZAWODOWEJ.

Wykaz całkowitego dorobku naukowego przed i po osiągnięciu stopnia doktora został zawarty w **załączniku 4, poz. II, pkt. 4 oraz 7** i obejmuje **3 rozdziały w monografiach** naukowych i **19 publikacji** w czasopismach z listy Journal Citation Reports (JRC).

Dotychczasowa moja działalność naukowa obejmuje także następujące zagadnienia badawcze:

1. Rozwój błony śluzowej języka ptaków hodowlanych, będące podstawą pracy doktorskiej i dalej kontynuowane.

Badania były finansowane w ramach dotacji celowej przeznaczonej na badania dla młodych naukowców. Tytuł zadania badawczego *Rozwój błony śluzowej języka u kaczkowatych od 9 do 25 dnia inkubacji* (Nr 418/Z/511/W). Zadanie realizowane w latach 2010 - 2011. Kierownikiem projektu była dr hab. Hanna Jackowiak, a wykonawcą była habilitantka.

W ramach tej tematyki badawczej przeprowadzono badania z zakresu:

- Rozwoju języka i brodawek językowych

Celem badań była charakterystyka rozwoju języka u Anseriformes z uwzględnieniem zmian kształtu i wielkość języka oraz sposób i tempo rozwoju mechanicznych brodawek stożkowatych trzonu i wyniosłości języka oraz brodawek nitkowatych, tworzących aparat filtracyjny. Badania wykazały, stopniowy rozwój poszczególnych części języka. Określono, że zawiązki brodawek stożkowatych trzonu języka powstają od tylnej części trzonu w kierunku do wierzchołka i ich rozwój jest skorelowany z wydłużaniem języka, a brodawki stożkowate wyniosłości języka powstają od części pośrodkowej wyniosłości do jej brzegów. W odstępach 24-godzinnych średnio powstają 2-3 brodawki stożkowate trzonu i 1-2 brodawek stożkowatych wyniosłości. W trakcie rozwoju zarodkowego obserwowano jedynie zawiązki dla brodawek nitkowatych. Na podstawie wyników stwierdzono, że język u Anseriformes w momencie wyklucia jest przystosowany do funkcji dziobania i skubania, a filtracja pokarmu z wody jest ograniczona ze względu na brak w pełni wykształconego aparatu filtracyjnego. Zatem dalszy rozwój języka jest kontynuowany po wykluciu.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci następujących rozpraw naukowych:

1. **Skieresz-Szewczyk K.**, Prozorowska E., Jackowiak H. 2012. *The development of the tongue of the domestic goose 9th to 25th day of incubation as seen by scanning electron microscopy*. Microscopy Research and Technique 75: 1564-1570 .
2. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H., Kontecka H. 2014. *Morphogenesis of the tongue mucosa in the domestic duck (Anas platyrhynchos f. domestica) during the late embryonic stages*. Microscopy Research and Technique 77 (9): 667-674.
3. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H. 2017. *Development of mechanical papillae of the tongue in the domestic goose (Anser anser f. domestica) during the embryonic period*. Protoplasma 254 (1): 147-160.

Wyniki zaprezentowano również w formie dwóch referatów podczas *Zjazdów Polskiego Towarzystwa Anatomicznego* w Krakowie w 2011r. i w Słupsku w 2013r. oraz jako poster podczas krajowego *Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych „Omnia Autem Animalia Sunt”* w Warszawie w 2021 r.

2. Morfologia funkcjonalna błony śluzowej języka ptaków hodowlanych i dziko żyjących.

Badania te obejmują:

- Analizę makro- i mikroskopową struktur błony śluzowej języka i jego adaptacji do pobierania i transportu pokarmu w jamie dzioba:

- Badania anatomiczne i histologiczne błony śluzowej języka u orzechówki wykazały, że język jest przystosowany do wyłuskiwania nasion spomiędzy łusek szyszek. W tym względzie istotna jest adaptacja struktury „paznokcia języka”, który przyjmuje formę dwóch sztyletów.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci rozprawy naukowej:

1. Jackowiak H., **Skieresz-Szewczyk K.**, Kwieciński Z., Trzcielińska-Lorych J., Godynicki S. 2010. *Functional morphology of the tongue in the Nutcracker (Nucifraga caryocatactes)*. Zoological Science 27:589-594.

- Analizy makro- mikroskopowe błony śluzowej języka ptaków hodowlanych tj. kaczki i gęsi domowej miały na celu określić zależności morfofunkcjonalne struktur języka do mechanizmów pobierania pokarmu tj. dziobanie, skubanie i filtracji pokarmu z wody oraz dwóch różnych mechanizmów transportu pokarmu (ang. *under-tongue transport*, *over-tongue transport*). Badania wykazały, że język, zarówno u gęsi jak i kaczki domowej, jest przystosowany do dziobania, dzięki obecności „paznokcia języka”. Struktura brodawek stożkowatych trzonu języka i brodawek nitkowatych, które tworzą aparat filtracyjny u obu gatunków ptaków jest różna i określono, że język kaczki adaptował się przede wszystkim do filtracji pokarmu z wody, a język gęsi jest przystosowany głównie do skubania. U obu gatunków ptaków brodawki stożkowate na wyniosłości języka opowiadają za transport pokarmu do przełyku i zapobiegają jemu wypadaniu z jamy dzioba. Obserwacje wykazały również, obecność „grzebienia języka” przed wyniosłością języka u kaczki, który warunkuje mechanizm tzw. *under-tongue transport*.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci rozdziału w monografii i dwóch rozpraw naukowych:

1. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H. 2014. *Scanning electron microscopy investigation of the filter-feeding apparatus in the domestic goose (Anser anser f. domestica) and the domestic duck (Anas platyrhynchos f. domestica)*. Microscopy: advances in scientific research and education. FORMATEX. Microscopy series N°6, Vol. 1, p. 84 - 88 Ed. by A. Méndez-Vilas.
2. Jackowiak H., **Skieresz-Szewczyk K.**, Godynicki S., Iwasaki I., Meyer W. 2011. *Functional morphology of the tongue in the domestic goose (Anser anser f. domestica)*. *The Anatomical Record* 294: 1574-1584.

3. **Skieresz-Szewczyk K.**, Jackowiak H. 2016. *Morphofunctional study of the tongue in the domestic duck (Anas platyrhynchos f. domestica, Anatidae): LM and SEM study*. Zoomorphology 135: 255-268.

Wyniki zaprezentowano także jako referat krajowego *Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych „Omnia Autem Animalia Sunt”* w Warszawie w 2021 r.

- Badania anatomiczne i histologiczne języka indyka domowego prowadzono w kontekście przystosowania do pobierania pokarmu na drodze dziobania i transportu pokarmu wg. mechanizmów ang. *catch and throw* oraz ang. *slide and glue*. Wyniki wykazały, że struktura „paznokcia języka” gwarantuje odpowiednie usztywnienie przedniej części języka podczas dziobania, a bruzda pośrodkowa na powierzchni wierzchołka i trzonu języka wyznacza tor transportu pokarmu do przełyku. Dodatkowo obecność licznych odcinków wydzielniczych gruczołów językowych, po bokach chrząstki śródjęzykowej, w obszarze blaszki właściwej błony śluzowej trzonu oraz na korzeniu języka warunkuje odpowiednie nawilżenie suchego pokarmu i jego rolowanie po powierzchni języka. Badania objęły również analizę histochemiczną gruczołów językowych wskazując, że produkowana wydzielina śluzowa zawiera obojętne mukopolisacharydy oraz sialomucyny i sulfmucyny, które pełnią funkcję ochronną przed patogenami.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci rozprawy naukowej:

1. **Skieresz-Szewczyk K.**, Plewa B., Jackowiak H. 2021. *Functional morphology of the tongue in the domestic turkey (Meleagris gallopavo gallopavo var. domesticus)*. Poultry Science 100 (5): 101038.

Wyniki zaprezentowano także jako poster podczas międzynarodowej konferencji *Young Generation of Veterinary Anatomists (YGVA)* w Brnie w 2017r.

- Analiza makro- i mikroskopowa budowy języka ptaków pobierających pokarm w całości, któremu towarzyszą energiczne posuwisto-zwrotne ruchy głowy przeprowadzono u bociana. Wyniki wykazały silną redukcję strukturalną języka, który jest zbudowany z chrząstki śródjęzykowej aparatu gnykowego, pokrytej cienką błoną śluzową z nabłonkiem ortorogowym.

Wyniki badań zostały opublikowane w postaci rozprawy naukowej:

1. Jackowiak H., **Skieresz-Szewczyk K.**, Kwieciński Z., Godynicki S., Jackowiak K., Leszczyszyn A. 2015. *Light microscopy and scanning electron microscopy studies on the reduction of the tongue microstructures in the white stork (Ciconia ciconia, Aves)*. Acta Zoologica 96 (4): 436-441.

- Analiza budowy aparatu gnykowego u ptaków

Badania obejmują analizę przestrzenną ułożenia elementów aparatu gnykowego w obrębie błony śluzowej języka z wykorzystaniem techniki rekonstrukcji 3D obrazów z tomografii komputerowej i mikrotomografu.

Wstępne wyniki budowy aparatu gnykowego u sępa płowego i kondora zostały zaprezentowane w postaci referatu podczas międzynarodowej konferencji *European Association of Veterinary Anatomists (EAVA)* w Wiedniu w 2016 r. oraz posteru na międzynarodowej konferencji *Anatomist on the Edge* w Galway w 2017 r.

3. Budowa makro- i mikroskopowa struktur błony śluzowej języka ssaków domowych i dziko żyjących.

Badania obejmują:

- Analizy budowy języka i rozmieszczenia brodawek językowych ssaków

Badania były prowadzone w kontekście przynależności taksonomicznej oraz adaptacji do spożywanego pokarmu u:

- lisa polarnego

Wyniki badań zostały opublikowane w rozprawie naukowej:

1. Jackowiak H., Trzcielińska-Lorych J., **Skieresz-Szewczyk K.**, Godynicki S. 2009. *Scanning electron microscopy study of the lingual papillae in the Arctic Fox (Alopex lagopus L., 1758)*. *Anatomia Histologia Embryologia* 38: 377-381.

- rudawki nilowej

Wyniki badań zostały opublikowane w rozprawie naukowej:

1. Trzcielińska-Lorych J., Jackowiak H., Godynicki S., **Skieresz-Szewczyk K.** 2009. *Morphology and morphometry of lingual papillae in adult and newborn Egyptian fruit bats (Rousettus aegyptiacus)*. *Anatomia Histologia Embryologia* 38: 370-376.

- osła domowego

Wyniki badań zostały opublikowane jako rozdział w monografii:

1. Jackowiak H., Jerbi H., **Skieresz-Szewczyk K.**, Prozorowska E. 2017. *LM and SEM studies on tongue and lingual papillae in the donkey (Equus asinus)*. *Microscopy and imaging science: practical approaches to applied research and education. FORMATEX. Microscopy series N°7, Vol. 1, p. 216 - 222* Ed. by A. Méndez-Vilas

Wyniki zaprezentowano również w postaci referatu podczas międzynarodowej konferencji *European Association of Veterinary Anatomists (EAVA)* w Cluj-Napoca w 2014r.

- słonia indyjskiego i afrykańskiego

Wstępne wyniki badań zaprezentowano w postaci dwóch posterów podczas Konferencji *European Association of Veterinary Anatomists (EAVA)* w Hanowerze w 2018r. i w Ghent w 2021r.

- Przestrzenną analizę budowy brodawek smakowych

Badania miały na celu określić rozmieszczenie i ilości kubków smakowych w nabłonku brodawek smakowych krowy, żubra i ich potomka - żubronia w kontekście rodzaju spożywanego pokarmu i transportu do przełyku. Analizy objęły również charakterystykę kształtu brodawek i ich trzonów łącznotkankowych. Wyniki wykazały, że brzuszna powierzchnia wierzchołka języka i tylnoboczne powierzchnie wyniosłości języka to obszary ważne w percepcji smaku, preselekcji pokarmu i analizie pokarmu podczas przeżuwania. Rekonstrukcje 3D wykazały obecność 3 typów strukturalnych trzonów łącznotkankowych brodawek smakowych. Ponadto analiza określiła, że cechy strukturalne języka żubronia wskazują na podobieństwo do krowy.

Wyniki badań zostały opublikowane w rozprawie naukowej:

1. Plewa B., Skieresz-Szewczyk K., Jackowiak H. 2022. *Three-dimensional characteristic of fungiform papillae and its taste buds in European bison (Bison bonasus), cattle (Bos taurus), and Bison bonasus hybrid*. BMC Veterinary Research 18 (1): 21.

Wyniki prezentowano również jako referaty podczas międzynarodowej Konferencji *European Association of Veterinary Anatomists (EAVA)* w Ghent w 2021r. i konferencji *Young Generation of Veterinary Anatomists (YGVA)* w Zurichu w 2022 r. oraz jako poster na Konferencji *European Association of Veterinary Anatomists (EAVA)* w Sundvolden w 2023r, a także podczas krajowego Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych „*Omnia Autem Animalia Sunt*” w Warszawie w 2021 r.

Wyróżnienia zdobyte podczas kongresów i konferencji naukowych:

1. 2017 r. - Warszawa - wyróżnienie za referat pt. *Badania immunohistochemiczne i mikrospektroskopia Ramana w badaniach cytokeratyn w nabłonku języka u ptaków w ramach 51. Sympozjum Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików - Tkanki, Komórki, Geny*.
2. 2012 r. - Kraków - wyróżnienie za najlepszy poster pt. *Morphogenesis of the lingual glands in birds w ramach Konferencji Towarzystwa Societas Humboldtiana Polonorum “Men and environment”*.

Nagroda za działalność naukową:

1. 2019 r. - Nagroda zespołowa II stopnia za oryginalne osiągnięcia naukowe w zakresie badań na zwierzętach przyznana przez Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.