



PODPIS ZAUFANY
MICHAŁ
SZLIS
03.09.2025, 10:21:20 (GMT+2)
Dokument podpisany elektronicznie
podległemu zwalidacji

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt
im. Jana Kielanowskiego
Polskiej Akademii Nauk
ul. Instytucka 3
05-110 Jabłonna

za pośrednictwem:

Rady Doskonałości Naukowej
pl. Defilad 1
00-901 Warszawa
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

Dr Michał Szlis
Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt
im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk
ul. Instytucka 3
05-110 Jabłonna

Wniosek

z dnia 29 sierpnia 2025 r.

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie: **nauk rolniczych** w dyscyplinie¹ **zooteknika i rybactwo**.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego:

„Udział QRFP43 w modulacji aktywności wybranych osi i układów hormonalnych u samicy owcy na poziomie podwzgórze-przysadka”

Wnioskuje – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu **tajnym/jawnym***²

Zostałem poinformowany, że:

Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).

Kontakt za pośrednictwem e-mail: kanclaria@rdn.gov.pl, tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c) Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.

Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html

.....
(podpis wnioskodawcy)

¹ Klasyfikacja dziedzin i dyscyplin wg. rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 września 2018 r. w sprawie dziedzin nauki i dyscyplin naukowych oraz dyscyplin w zakresie sztuki (Dz. U. z 2018 r. poz. 1818).

² * Niepotrzebne skreślić.

Załączniki:

1. Dane wnioskodawcy.
2. Autoreferat.
3. Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych.
4. Kopie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.
5. Oświadczenia współautorów prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.
6. Kopia dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora.
7. Kopia potwierdzenia odbycia stażu naukowego.

Osiągnięcie naukowe pod tytułem:

„Udział QRFP43 w modulacji aktywności wybranych osi i układów hormonalnych u samicy owcy na poziomie podwzgórze-przysadka”

Autoreferat



Dr Michał Szlis

Zakład Fizjologii Zwierząt

Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt

im. Jana Kielanowskiego

Polskiej Akademii Nauk

Jabłonna, 2025 r.

Spis treści

1. Imię i nazwisko.....	6
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne.....	6
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.....	7
4. Omówienie osiągnięć naukowych.....	8
4.1. Osiągnięcie habilitacyjne.....	8
4.1.1. Wstęp do tematyki osiągnięcia.....	10
4.1.2. Opis wspólnej metodyki badań osiągnięcia.....	12
4.1.3. Wpływ QRFP43 na aktywność podwzgórzowego układu regulującego apetyt u owcy.....	18
4.1.4. Wpływ QRFP43 na aktywność osi gonadotropowej u owcy.....	20
4.1.5. Wpływ QRFP43 na aktywność osi podwzgórze-przysadka-tarczyca u owcy.....	22
4.1.6. Wpływ QRFP43 na aktywność osi somatotropowej u owcy.....	25
4.1.7. Podsumowanie.....	27
4.1.8. Bibliografia.....	28
4.2. Pierwsze dodatkowe osiągnięcie naukowe.....	32
4.3.1. Opis uzyskanych wyników osiągnięcia.....	32
4.3. Drugie dodatkowe osiągnięcie naukowe.....	35
4.2.1. Opis doświadczenia i uzyskanych wyników osiągnięcia.....	35
4.4. Trzecie dodatkowe osiągnięcie naukowe.....	37
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.....	39
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.....	41
6.1. Osiągnięcia dydaktyczne.....	41
6.2. Osiągnięcia organizacyjne.....	41
6.3. Osiągnięcia w ramach popularyzacji nauki.....	42
7. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze oraz informacje dodatkowe.....	43
7.1. Pełnienie roli recenzenta w czasopismach naukowych.....	43
7.2. Udział w projektach badawczych.....	44
7.3. Współpraca z jednostkami naukowymi.....	46
7.4. Nagrody, wyróżnienia, stypendia.....	47
7.5. Udział w konferencjach naukowych.....	48
7.6. Dane bibliometryczne.....	52
7.7. Lista publikacji przed uzyskaniem stopnia doktora.....	53

7.7.1. Publikacje recenzowane.	53
7.7.2. Publikacje popularnonaukowe	53
7.8. Lista publikacji po uzyskaniu stopnia doktora	54
7.8.1. Publikacje recenzowane.	54
7.8.2. Recenzowane monografie naukowe.....	55

Wykaz skrótów:

- IIIv – trzecia komora mózgu
- α -MSH – alfa-melanokortyna
- AgRP – białko Aguti
- AHA – przednie podwzgórze
- ARC – jądro łukowate
- BDNF – neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego
- CART – transkrypt regulowany przez kokainę i amfetaminę
- Dio – dejodynaza jodotyroninowa
- DMN – jądro grzbietowo-przyśrodkowe
- Dyn – dynorfina
- EM – wyniosłość pośrodkowa
- FSH – hormon folikulotropowy
- FT3 – wolne T3
- FT4 – wolne T4
- GH – hormon wzrostu
- GHRH – hormon uwalniający hormon wzrostu
- GnIH – gonadoinhibina
- GnRH – gonadoliberyna
- HPG – oś podwzgórze-przysadka-gonady
- HPT – oś podwzgórze-przysadka-tarczyca
- icv – podanie dokomorowe
- Kiss – kisspeptyna
- KNDy – neurony wykazujące koekspresję kisspeptyny/neurokininy B/dynorfiny
- LH – hormon luteotropowy
- LHA – boczny obszar podwzgórza
- MBH – brzuszno-przyśrodkowe podwzgórze
- NKB – neurokinina B
- NPY – neuropeptyd Y
- OUN – ośrodkowy układ nerwowy
- POA – obszar przedwzrokowy
- PAM – monoooksygenaza alfa-amidująca peptydyloglicynę
- pDyn – preprodynorfina

- POMC – proopiomelanokortyna
- PVN – jądro przykomorowe
- RFa – RF-amid/peptydy RF-amidowe
- SRIF – somatostatyna
- SSTR – receptory somatostatyny
- T4 – tyroksyna
- T3 – trójiodotyronina
- TRH – hormon uwalniający tyreotropinę
- TSH – tyreotropina
- VMN – jądro brzuszno-przyśrodkowe

1. Imię i nazwisko.

- Michał Szlis

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne.

- **czerwiec 2023 r.** – dyplom ukończenia studiów podyplomowych z „Metodologii Badań Klinicznych”. Centrum Kształcenia Podyplomowego, Warszawski Uniwersytet Medyczny.
- **czerwiec 2016 r.** – stopień doktora nauk rolniczych w zakresie zootechniki, nadany przez Radę Naukową Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk. Tytuł rozprawy doktorskiej: „Neuromodulacyjne oddziaływanie obestatyny na aktywność osi somatotropowej i gonadotropowej u owiec”. Rozprawa doktorska wyróżniona przez Radę Naukową Instytutu.
- **czerwiec 2012 r.** – dyplom ukończenia studiów magisterskich na kierunku Biotechnologia w specjalności biotechnologia zwierząt. Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie. Tytuł pracy magisterskiej: „Udział receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksyosomów (PPAR) w syntezie prostaglandyn w układzie rozrodczym świni”.
- **wrzesień 2011 r.** – dyplom ukończenia studiów podyplomowych z zakresu przygotowania pedagogicznego. Wydział Nauk Społecznych, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.
- **czerwiec 2010 r.** – dyplom ukończenia studiów licencjackich na kierunku Biotechnologia. Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie. Tytuł pracy licencjackiej: „Aflatoksyny w łańcuchu pokarmowym”.

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

- **od 03.2017 r.** – Adiunkt w Zakładzie Fizjologii Zwierząt, Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk;
- **od 08.2016 r. do 03.2017 r.** – Asystent w Zakładzie Fizjologii Zwierząt, Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk;
- **od 10.2015 r. do 07.2016 r.** – Technik laboratoryjny w Zakładzie Fizjologii Zwierząt, Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk;
- **od 07.2010 r. do 10.2010 r.** – Technik-laborant, Powiatowa Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Łomży;
- **od 07.2009 r. do 09.2009 r.** – Stażysta, Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Białymstoku, Delegatura w Łomży.

4. Omówienie osiągnięć naukowych.

4.1. Osiągnięcie habilitacyjne.

Osiągnięcie habilitacyjne pod tytułem „*Udział QRFP43 w modulacji aktywności wybranych osi i układów hormonalnych u samicy owcy na poziomie podwzgórze-przysadka*” składa się z cyklu czterech oryginalnych, powiązanych tematycznie publikacji naukowych (Tabela 1.). W dwóch publikacjach (P2 i P3) jestem autorem korespondencyjnym, w pozostałych dwóch (P1 i P4) pierwszym autorem. Łączny współczynnik oddziaływania (*Impact Factor; IF*) prac wynosi 11.060; natomiast suma punktów ministerialnych jest równa 480. Wkład własny w powstanie każdej publikacji został opisany w tabeli 1, a szczegółowe oświadczenia współautorów dotyczące ich wkładu znajdują się w Załączniku numer 5 Wniosku Przewodniego jak również w kopiach poszczególnych publikacji.

Tabela 1. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie habilitacyjne.

P1	<p>Szlis M, Przybył BJ*, Palatyńska K, Wójcik-Gładysz A. QRFP43 modulates the activity of the hypothalamic appetite regulatory centre in sheep. 2024. Journal of Animal and Feed Sciences, 33, 381-386. DOI:10.22358/jafs/186262/2024.</p>		
	Impact Factor#	5-cio letni Impact Factor	Punkty MNiSW
	1.400	1.300	100
<p>Wkład w powstanie publikacji: Zaplanowanie badań, metodologia, wykonanie obliczeń, nadzór nad prowadzonymi badaniami, analiza formalna otrzymanych wyników, interpretacja wyników, a także pisanie i edytowanie manuskryptu oraz korekta po recenzji.</p>			
P2	<p>Przybył BJ, Szlis M*, Wysoczański B, Wójcik-Gładysz A. The role of QRFP43 in the secretory activity of the gonadotrophic axis in female sheep. 2024. Scientific Reports. 14, 8989. DOI: 10.1038/s41598-024-59801-1</p>		
	Impact Factor#	5-cio letni Impact Factor	Punkty MNiSW
	4.080	4.300	140
<p>Wkład w powstanie publikacji: Zaplanowanie badań, metodologia, wykonanie obliczeń, nadzór nad prowadzonymi badaniami, analiza formalna otrzymanych wyników, interpretacja wyników, a także pisanie i edytowanie manuskryptu oraz korekta po recenzji.</p>			
P3	<p>Przybył BJ., Szlis M*, Misztal A, Wójcik-Gładysz A. QRFP43 modulates the activity of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in female sheep. 2025. Scientific Reports. 15:1085 DOI: 10.1038/s41598-025-85693-w</p>		
	Impact Factor#	5-cio letni Impact Factor	Punkty MNiSW
	4.080	4.300	140
<p>Wkład w powstanie publikacji: Zaplanowanie badań, metodologia, wykonanie obliczeń, nadzór nad prowadzonymi badaniami, analiza formalna otrzymanych wyników, interpretacja wyników, a także pisanie i edytowanie manuskryptu oraz korekta po recenzji.</p>			
P4	<p>Szlis M, Przybył BJ*, Wójcik-Gładysz A. QRFP43 modulates somatotrophic axis activity in female sheep. 2025. Journal of Animal and Feed Sciences, 34, 4 DOI: 10.22358/jafs/204469/2025</p>		
	Impact Factor#	5-cio letni Impact Factor	Punkty MNiSW
	1.500	1.500	100
<p>Wkład w powstanie publikacji: Zaplanowanie badań, metodologia, wykonanie obliczeń, nadzór nad prowadzonymi badaniami, analiza formalna otrzymanych wyników, interpretacja wyników, a także pisanie i edytowanie manuskryptu oraz korekta po recenzji.</p>			

Impact Factor na rok opublikowania pracy

* autor korespondencyjny

4.1.1. Wstęp do tematyki osiągnięcia.

Każdy żywy organizm dla prawidłowego funkcjonowania wymaga stanu względnej równowagi, koniecznej dla prawidłowego przebiegu procesów fizjologicznych. Integracja i przetwarzanie docierających do organizmu bodźców odbywa się w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), skąd informacje przekazywane są do innych układów i narządów organizmu. Działanie układów, tkanek i komórek musi być skoordynowane, a odpowiednia koordynacja procesów przebiegających na różnych poziomach organizacji organizmu wymaga sprawnego systemu łączności, który współtworzą układy: krwionośny, nerwowy oraz endokryny. Ten ostatni odpowiedzialny jest za wytwarzanie i wydzielanie hormonów, wpływających na regulację takich procesów jak wzrost, rozród czy metabolizm komórkowy.

Integracja sygnałów docierających z obwodu organizmu i środowiska zewnętrznego w OUN odbywa się głównie na obszarze podwzgórza. W neuroanatomicznej strukturze podwzgórza można wyróżnić tak zwane jądra podwzgórza, które są skupiskami gęsto upakowanych perykarionów, a ich wypustki nerwowe współtworzą sieci neuralne regulujące kluczowe procesy fizjologiczne organizmu. Neurony będące elementem tych sieci i syntetyzowane przez nie neuropeptydy odpowiedzialne są za integrację takich procesów jak homeostaza energetyczna organizmu, rozród oraz wzrost. Początkowo uważano, że poszczególne jądra podwzgórza biorą udział w regulacji odmiennych procesów fizjologicznych. Obecnie przyjmuje się, że wchodzi one w skład "szerszego tworzywa" neuralnego – konektomu, stanowiącego swojego rodzaju mapę sieci wszystkich połączeń neuronalnych. Ponadto, dotychczasowe badania wykazały, że obszary mózgu, które związane są z regulacją pobierania pokarmu, anatomicznie pokrywają się z obszarami odpowiedzialnymi za regulację procesów związanych ze wzrostem i rozrodem organizmu. Udowodniono również, że podwzgórzowe jądra: łukowate (ARC), przykomorowe (PVN), brzuszno-przyśrodkowe (VMN) oraz grzbietowo-przyśrodkowe (DMN), które współtworzą neuronalną sieć odpowiedzialną za odczuwanie stanu głodu i sytości, są jednocześnie miejscem syntezy kluczowych neurohormonów modulujących wzrost i rozród (Kötter, 2001; Sporns i wsp., 2005).

4.1.1.1. Peptydy RF-amidowe.

Peptydy RF-amidowe (RFa) są rodziną peptydów regulatorowych posiadających sekwencję argininy i amidowanej fenyloalaniny (Arg-Phe-NH₂) na C-końcu łańcucha białkowego. U ssaków scharakteryzowano pięć grup peptydów należących do rodziny RFa:

1. grupa peptydów hamujących uwalnianie gonadotropin (GnIH);
2. grupa peptydów kisspeptynowych (Kiss);
3. grupa neuropeptydów FF;
4. grupa peptydów uwalniających prolaktynę;
5. grupa piroglutamyloowanych peptydów RFa (QRFP).

Ostatnio zidentyfikowanym członkiem tej rodziny peptydów jest QRFP43. Przeprowadzone badania wykazały, że u kręgowców sekwencja kodująca prekursor QRFP43 (26RFa) jest obecna w obszarze całego mózgu (Leprince i wsp., 2017). Stwierdzono również, że u ssaków, z prekursorowej formy peptyd, powstają dwie aktywne formy białka: 26RFa i QRFP43 – która jest wydłużoną formą 26RFa na N-końcu (Bruzzone i wsp., 2006, Jiang i wsp., 2003). Analizy bioinformatyczne wykazały, że sekwencja aminokwasowa QRFP43 wykazuje wysoką homologię międzygatunkową, zwłaszcza w części domeny receptora (Chartrel i wsp., 2011). Cecha ta jest charakterystyczna dla kluczowych neuropeptydów kontrolujących istotne funkcje neuroendokrynne u zwierząt. Wyniki badań przeprowadzonych na różnych gatunkach zwierząt wykazały, że najwyższy poziom ekspresji mRNA QRFP43 jest wykrywany w obszarach podwzgórza takich jak: ARC, PVN, VMN i bocznym obszarze podwzgórza (LHA). Jednocześnie badania te wykazały, że QRFP43 wywiera swój efekt za pomocą receptora 103 sprzężonego z białkiem G (GPR103). Wysoką ekspresję mRNA GPR103 zaobserwowano w szczególności w jądrach pnia mózgu i jądrach podwzgórza: VMH, DMN, PVN, ARC oraz LHA (Bruzzone i wsp., 2006, Bruzzone i wsp., 2007, Chartrel i wsp., 2006, Chartrel et al., 2011, Fukusumi i wsp., 2003, Jiang i wsp., 2003, Kampe i wsp., 2006, Takayasu et al., 2006).

Istnieją przesłanki, że QRFP43 może być zaangażowany w funkcjonowanie złożonej sieci neurohormonalnej odpowiedzialnej za utrzymanie homeostazy energetycznej organizmu, (Chartrel i wsp., 2011, Lectez i wsp., 2009, Leprince i wsp., 2017, Navarro i wsp., 2006). W dostępnej literaturze brakuje jednak informacji o wpływie QRFP43 na aktywność neurohormonalnych osi regulujących rozród, wzrost czy metabolizm. Biorąc pod uwagę fakt, że wcześniej peptydy RF-amidowe (kisspeptyna – Kiss, hormon hamujący wydzielanie gonadotropin – GnIH), modulują wspomniane procesy fizjologiczne, można przypuszczać że

ORFP43 również wykazuje podobne właściwości. Celem przeprowadzonych badań było wykazanie modulującego wpływu QRFP43 podawanego do III komory mózgu (IIIv) na aktywności osi gonadotropowej, osi podwzgórze-przysadka-tarczyca (oś HPT) oraz osi somatotropowej oraz ośrodków regulujących homeostazę energetyczną organizmu u samicy owcy.

4.1.2. Opis wspólnej metodyki badań osiągnięcia.

Wszystkie procedury związane z wykonywaniem doświadczeń na zwierzętach były prowadzone zgodnie z wymaganiami Ustawy o Ochronie Zwierząt Wykorzystywanych do Celów Naukowych lub Edukacyjnych z dnia 15 stycznia 2015 r., Ustawy o Ochronie Zwierząt z dnia 16 września 2011 r., oraz zatwierdzone zostały przez II Lokalną Komisję Etyczną w Warszawie.

Doświadczenie wykonano na 42-tygodniowych, dojrzałych płciowo owcach rasy Merynos Polski ($n = 48$) o średniej masie ciała $38,6 \pm 3,5$ kg. Przez cały okres doświadczalny zwierzęta przebywały w pomieszczeniach o naturalnych warunkach oświetleniowych (52°N , 21°E) oraz temperaturze pomieszczenia wahającej się od 18 do 25°C . Zwierzęta trzymane były w indywidualnych kojcach, mając zapewniony kontakt wzrokowy, węchowy i słuchowy z sąsiednimi osobnikami. Owce karmiono dwa razy dziennie standardową paszą treściwą oraz objętościową zgodnie z Polskimi Zaleceniami Żywniowymi dla Przeżuwaczy (wg. Strzetelski i wsp., 2014). Woda oraz lizawki mineralne dostępne były *ad libitum*.

Miesiąc przed eksperymentem zwierzęta poddano zabiegowi chirurgicznemu, polegającemu na implantacji kaniuli do IIIv. Podczas zabiegu głowa zwierzęcia była unieruchomiona i zabezpieczona w aparacie stereotaktycznym zgodnie z metodą Traczyka i Przekopa (1963). Stalową kaniulę „prowadzącą” implantowano do IIIv zgodnie z koordynatami atlasu podwzgórza owcy (Welento i wsp., 1969). Do czasu wykonania infuzji kaniule zamknięte były za pomocą stalowej zatyczki z mandrynem. Po zabiegu owcom przez trzy dni podawano iniekcje roztworu antybiotyków (Pen-Strep, ScanVet, Polska) oraz środków przeciwbólowych (Tolfine, Biowet, Polska). Następnie zwierzęta przechodziły pięciodniowy okres rekonwalescencji, podczas którego były pod stałą opieką weterynaryjną.

U wszystkich zwierząt doświadczalnych, 21 dni przed dokomorowymi infuzjami, przeprowadzono synchronizację rui przy użyciu gąbek Chronogest CR (MSD Animal Health,

UK) zawierających syntetyczny progesteron. Gąbki implantowano zwierzętom dopochwowo na okres 14 dni. Po tym czasie gąbki usuwano i wykonywano domięśniową iniekcję gonadotropiny surowicy źrebnych klaczy (PMSG; Folligon, Intervet, Netherlands) w celu wywołania owulacji. Objawy rui obserwowano u zwierząt w ciągu 48 – 72 godzin po podaniu PMSG, a jej wystąpienie weryfikowano za pomocą wazektomizowanego tryka.

Zwierzęta, w sposób losowy przydzielono do trzech grup eksperymentalnych, w których owce otrzymywały następujące rodzaje infuzji do trzeciej komory mózgu:

1. Roztwór Ringera-Locke'a 480 μ l/dzień (grupa kontrolna; n = 16),
2. QRFP43 w dawce 10 μ g/480 μ l/dzień (grupa RFa10; n = 16),
3. QRFP43 w dawce 50 μ g/480 μ l/dzień (grupa RFa50; n = 16).

Przez trzy kolejne dni, owcom codziennie wykonano serię czterech, 50-minutowych infuzji z 30-minutowymi przerwami. Infuzję do IIIv przeprowadzono z wykorzystaniem pompy mikroiniekccyjnej (tempo infuzji 2 μ l/min). W czasie trwania infuzji owce przebywały pojedynczo w drewnianych klatkach z zapewnioną możliwością kontaktu wzrokowego z sąsiadującymi osobnikami.

W dniu poprzedzającym rozpoczęcie infuzji wszystkim owcom założono kateter do żyły szyjnej przedniej. Krew pobierano od zwierząt w dniu poprzedzającym (dzień 0) oraz w dniu trzecim infuzji (dzień 3). Kolekcję próbek krwi prowadzono od godziny 08.00 do godziny 13.50 w 10-minutowych odstępach. Pobraną krew wirowano (8000 rpm, 10 min.), zbierano supernatant, który następnie zamrażano w temperaturze -20°C do czasu wykonania oznaczeń radioimmunologicznych (Figura 1).

Bezpośrednio po zakończeniu ostatniej infuzji zwierzętom podawano środki uspokajające, a następnie poddawano je eutanazji, poprzez dekapitację i skrwawienie w celu pobrania tkanki mózgowej, przysadki oraz tarczycy. Mózg dzielono wzdłuż płaszczyzny strzałkowej na dwie połowy, a z każdej otrzymanej półkuli zgodnie z atlasem stereotaktycznym mózgu owiec pobierano następujące struktury: obszar przedwzrokowy (POA), przednie podwzgórze (AHA) oraz brzuszno-przyśrodkowe podwzgórze (MBH). Przysadkę i tarczycę oczyszczano z naczyń krwionośnych oraz błon. Dodatkowo przysadkę dzielono na część przednią (gruczołową) i tylną (nerwową). Następnie, pozyskane tkanki zamrażano w ciekłym azocie i przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania analiz metodami biologii molekularnej.

Estonia) z wykorzystaniem aparatu Rotor Gene 6000 thermocycler (Corbett Research, Mortlake, Australia).

Podwzgorza z 15% roztworu sacharozy w buforze Sørensen'a przenoszono i zatapiano w żelu do obróbki histologicznej (OCT EMBEDDING MATRIX, CellPath, Wielka Brytania), po czym zamrażano w temperaturze -20°C . Zamrożone tkanki krojono na kriostacie (Leica, Jung CM 1500) w płaszczyźnie czołowej na skrawki grubości $30\ \mu\text{m}$. Skrawki inkubowano z pierwszorzędowymi przeciwciałami przez 12 dób w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$ (przeciwciała rozcieńczano roztworem płynnej, świeżej surowicy owczej w 0,3% roztworze tritonu). Po tym czasie skrawki ponownie płukano, po czym przenoszono je do komór inkubacyjnych zawierających $15\ \mu\text{l}$ przeciwciała drugorzędowego (owcze poliklonalne przeciwciała anty-królicze IgG, skoniungowane z peroksydazą chrzanową; ABcam, Wielka Brytania) rozcieńczonego 1:400. Inkubacja z przeciwciałami drugorzędowymi trwała 24 godziny w temperaturze pokojowej. Reakcję barwną wywoływano poprzez inkubację skrawków w 1 ml roztworu 3'3-diaminobenzydyny (Sigma, USA) $\text{pH}=6,5$. Inkubację prowadzono w szalkach Petriego umieszczonych na lodzie i w ciemności przez godzinę, a następnie skrawki płukano 5×5 minut w szeregu buforu Tris, po czym pozostawiano je w buforze na okres 12 godzin.

Odwodnione przysadki przesycały w parapałacie o wzrastającej temperaturze topnienia i zatapiano w bloczkach histoplastu (Serva, Niemcy), o temperaturze topnienia $55-57^{\circ}\text{C}$. Tak przygotowane przysadki krojono na mikrotomie w płaszczyźnie strzałkowej na skrawki grubości $5\ \mu\text{m}$. W czasie ostatniego płukania przygotowanych skrawków tkanki w PBS przygotowano odpowiednie rozcieńczenia pierwszorzędowych przeciwciał. Przeciwciała rozcieńczano 2% roztworem surowicy bydlęcej w PBS. Następnie przeciwciała pierwszorzędowe ($15\ \mu\text{l}$) nanoszono na skrawki przysadki. Inkubację prowadzono w komorze inkubacyjnej przez 5 dni w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$. Po inkubacji preparaty płukano 3×15 minut w PBS, po czym na każdy skrawek preparatu nakładano $15\ \mu\text{l}$ przeciwciał drugorzędowych (owcze poliklonalne przeciwciała anty-królicze IgG, skoniugowane z peroksydazą chrzanową; ABcam, Wielka Brytania) rozcieńczone 1:800. Inkubacja preparatów z przeciwciałami drugorzędowymi prowadzona była w zamkniętej komorze histologicznej w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Następnie wywoływano reakcję za pomocą roztworu 3'3-diaminobenzydyny (Sigma, USA) w buforze Tris (inkubacja 5 minut; temperatura pokojowa).

Opisową i metryczną analizę obrazu uzyskanego na drodze oznaczeń immunohistochemicznych wykonano za pomocą mikroskopu świetlnego Nikon Labophot-2, kamery cyfrowej Panasonic KR222 oraz oprogramowania komputerowego LUCIA 3,5. W

podwzgórzach analizowano: co piąty skrawek tkanki z obszaru POA (z uwzględnieniem narządu naczyniowego blaszki krańcowej – OVLT); co dziesiąty skrawek z obszaru AHA (badano obszar po obu stronach III komory mózgu); co piąty skrawek z obszaru MBH wraz z EM. Ilościowe pomiary wykonywano pod powiększeniem obiektywów 10x dla podwzgórz i 40x dla przysadek w warunkach optymalnego kontrastu, takiej samej jakości i nasycenia obrazu histologicznego. Pomiarów w przysadce każdej owcy dokonywano w 25 polach roboczych (o powierzchni $0,1308 \text{ mm}^2$). Dla wszystkich badanych obrazów ustalono równe warunki oświetlenia, których kontrolą była wartość parametru „średniej szarości” obliczanego przez komputer. Dokonano analizy dwóch parametrów dla wszystkich badanych peptydów. Pierwszym był procent powierzchni wybarwionej (*area fraction*, AF), będący stosunkiem powierzchni wybarwionej do powierzchni mierzonej. Parametr ten pozwala ustalić procentową zawartość substancji badanej, a w oznaczeniach wykonywanych na preparatach przysadki określa procentową ilość wybarwionych komórek. Drugi parametr – gęstość optyczna (*integral density*, ID) będący sumą indywidualnych optycznych gęstości każdego piksela w mierzonym polu, która określa w jednostkach umownych ilość badanej substancji. Oba parametry mierzono poprzez obrysowanie interesującego obszaru (tzw. „nałożenie maski”), a następnie użyciu funkcji „*threshold*” określającej stopień szarości uzyskanej w reakcji barwienia preparatu.

Stężenie hormonów luteinizującego (LH) oraz folikulotropowego (FSH) w osoczu krwi wykonano przy użyciu radioimmunologicznej metody podwójnych przeciwciał opisanej odpowiednio przez Stupnicki i Madej (1976) oraz Słaba i wsp. (1994). Koncentrację tyreotropiny (TSH), wolnej tójjodotyroniny (FT3) i wolnej tyroksyny (FT4) w osoczu krwi oznaczano za pomocą kitu firmy Beckman Coulter (IMMUNOTECH, Republika Czeska). Czułość stosowanej metody dla poszczególnych hormonów wynosiła:

1. dla oznaczeń LH – 0,06 ng/ml; z wartością błędu wewnątrzseryjnego 8,7% i międzyseryjnego 12,4%;
2. dla oznaczeń FSH – 1,56 ng/ml; z wartością błędu wewnątrzseryjnego 3,3% i międzyseryjnego 11,3%;
3. dla oznaczeń GH – 0,68 ng/ml; z wartością błędu wewnątrzseryjnego 5,9% i międzyseryjnego 10,2%;
4. dla oznaczeń TSH – 0,68 ng/ml; z wartością błędu wewnątrzseryjnego 3,7% i międzyseryjnego 8,6%;
5. dla oznaczeń FT3 – 0,68 ng/ml; z wartością błędu wewnątrzseryjnego 7,66% i międzyseryjnego 9,61%;

6. dla oznaczeń FT4 – 0,68 ng/ml; z wartością błędu wewnątrzseryjnego 10,29% i międzyseryjnego 7,58%.

Relatywną ekspresję mRNA obliczano przy użyciu funkcji „Comparative quantification” programu Rotor Gene 6000, wersja programu 1.7. (Qiagen, Niemcy). Obliczeń statystycznych dokonano na nieprzekształconych wynikach otrzymanych dla każdej owcy z danej grupy, z użyciem testu Kruskal-Wallis’a oraz testów *post-hoc* (Dunn’s Multiple Comparison Test). Istotne statystycznie różnice przyjęto dla $P < 0,05$. Dane z analiz histologicznych wyrażono jako średnie wyników danej grupy otrzymane z każdej owcy doświadczalnej \pm błąd standardowy średniej (SEM.). Wyniki analizowano za pomocą testu Kruskal-Wallis’a oraz testów *post-hoc*. Istotne statystycznie różnice przyjęto dla $P < 0,05$. Średnie stężenie hormonów LH, FSH, GH, TSH, FT3 i FT4 we krwi obwodowej obliczano na podstawie pomiarów radioimmunologicznych i przedstawiono jako średnią grup \pm SEM. Obliczeń statystycznych dokonywano testem Kruskal-Wallis’a oraz testem *post-hoc* (Dunn’s Multiple Comparison Test). Istotne statystycznie różnice przyjęto dla $P \leq 0.05$.

4.1.3. Wpływ QRFP43 na aktywność podwzgórzowego układu regulującego apetyt u owcy.

Neurony zlokalizowane w ARC, zaangażowane są między innymi w regulację procesów metabolicznych i utrzymanie homeostazy energetycznej organizmu współtworząc jeden z najważniejszych ośrodków modulujący apetyt w OUN. Obecnie uważa się, że ośrodek ten współtworzony jest przez dwie subpopulacje neuronów. Pierwsza z nich składa się z neuronów wykazujących koekspresję neuropeptydu Y (NPY) i peptydu aguti (AgRP; neurony NPY/AgRP). Neurony te związane są z generowaniem sygnałów oreksygenicznych – stymulujących apetyt. Drugą subpopulację tworzą neurony wykazujące koekspresję transkryptu regulowanego kokainą i amfetaminą (CART) oraz α -melanokortyną (α -MSH; neurony CART/ α -MSH). Ta subpopulacja neuronów odpowiedzialna jest za generowanie sygnałów anoreksygenicznych – hamujących apetyt.

Wyniki wcześniejszych badań wykazały ekspresję genu 26RFa/QRFP43 i jego receptora – GPR103 w VMN, LHA i ARC (Chartrel i wsp., 2011). Ze względu na fakt, że lokalizacja neuronów QRFP43, a także neuronów wykazujących ekspresję GPR103 pokrywa się z lokalizacją podwzgórzowego ośrodka regulacji apetytu, badania nad możliwym wpływem tego neuropeptydu na apetyt wydają się bardzo istotne. Badania przeprowadzone na modelu gryzoni wykazały, że podawanie 26RFa/QRFP43 może w pewnych warunkach stymulować apetyt lub ekspresję głównych neuropeptydów oreksygenicznych. Jednak efekt ten może zależeć od różnych czynników, takich jak rodzaj diety, status hormonalny zwierząt, płeć lub faza dnia (Primeaux, 2011; Primeaux i wsp., 2013).

Przeprowadzone badanie (opisane w publikacji P1) miało na celu zweryfikowanie hipotezy zakładającej, że QRFP43 może modulować neurohormonalną aktywność ośrodka regulującego apetyt w podwzgórzu u owiec. Dlatego też zbadano wpływ QRFP43 podawanego do IIIv mózgu owiec na ekspresję mRNA NPY, AgRP, CART, proopiomelanokortyny (POMC), monoooksygenazy alfa-amidującej peptydyloglicynę (PAM; enzym, który przekształca POMC w α -MSH) i receptora GPR103, a także na ekspresję białka NPY w podwzgórzu.

Uzyskane wyniki wykazały, że ekspresja mRNA GPR103 była znacząco zmniejszona w grupie RFa50 w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt. Ponadto zauważono, że ekspresja mRNA NPY była istotnie i zależnie od dawki zmniejszona w obu grupach zwierząt otrzymujących QRFP43 (RFa10 i RFa50) w porównaniu z grupą kontrolną. Nie zaobserwowano natomiast różnic w ekspresji mRNA AgRP między owcami z żadnej z grup

eksperymentalnych. Przeprowadzona obserwacja mikroskopowa rozmieszczenia i lokalizacji neuronów NPY w podwzgórzu owiec wykazała jedynie niewielką ilość immunoreaktywnego materiału NPY w każdej grupie zwierząt, jednak we wszystkich badanych fragmentach podwzgórza nie odnotowano tego peptydu w perykarionach komórek nerwowych.

Analizy ekspresji mRNA CART wykazały istotny wzrost tego mRNA w grupie RFa50 w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt. Ponadto zaobserwowano znaczący wzrost ekspresji mRNA CART między grupami RFa10 i RFa50 owiec. Ekspresja mRNA POMC była znacząco zwiększona w grupie RFa10 w porównaniu z grupą kontrolną. Odnotowano również spadek ekspresji mRNA POMC między grupą RFa10 i RFa50. Nie zaobserwowano jednak statystycznie istotnych różnic w ekspresji mRNA PAM między owcami z dowolnej grupy eksperymentalnej.

Uzyskane wyniki są przeciwne do tych otrzymanych z eksperymentów przeprowadzonych na gryzoniach. W badaniach wykonanych na samcach szczurów z ograniczeniem pokarmowym Lectez i wsp. (2009) wykazali, że pojedyncza iniekcja dożylna 26RFa zwiększyła ekspresję mRNA NPY oraz zmniejszyła ekspresję mRNA POMC w VMN. Ci sami autorzy w eksperymencie *in vitro* wykazali zwiększony poziom NPY i zmniejszony poziom α -MSH w pożywce po inkubacji eksplantów podwzgórza szczura z 26RFa. Zaobserwowane różnice między naszymi modelami eksperymentalnymi, a tymi wymienionymi powyżej mogą wynikać z różnych strategii żywieniowych (zwierzęta monogastryczne – gryzonie, przeżuwacze – owce) oraz pory dnia, w której zwierzę spożywa pokarm.

Tym samym wydaje się, że u gryzoni RFa może w pewnych warunkach mieć działanie oreksygenne. Badania nad efektem ograniczenia pokarmu przeprowadzone na samcach myszy wykazały stymulujący wpływ podanego dożylnie 26RFa/QRFP43 na spożycie pokarmu i masę ciała (Chartrel i wsp., 2003; Do Rego i wsp., 2006; Moriya i wsp., 2006). Wyniki tych badań wykazały jednak, że wpływ QRFP43 na regulację homeostazy energetycznej może zależeć od rodzaju diety otrzymywanej przez zwierzę doświadczalne (Do Rego i wsp., 2006). Podobne obserwacje odnotowano w innych badaniach, w których wykazano, że centralnie podawany 26RFa selektywnie zwiększa spożycie pokarmu na diecie wysokotłuszczowej u samic szczurów, ale nie ma wpływu na dietę niskotłuszczową (Primeaux, 2011). Nie można jednak wykluczyć, że wpływ 26RFa/QRFP43 na organizm może zależeć nie tylko od rodzaju diety lub okresu podawania peptydu, ale także od tego, w której części dnia jest on podawany.

4.1.4. Wpływ QRFP43 na aktywność osi gonadotropowej u owcy.

Wyniki badań przeprowadzonych na różnych gatunkach zwierząt wykazały, że najwyższe poziomy ekspresji genu i białka 26RFa/QRFP43 wykryto w jądrach podwzgórza zaangażowanych w regulację osi podwzgórze-przysadka-gonady (HPG). Warto podkreślić, że w tych samych obszarach podwzgórza stwierdzono również obecność receptora GPR103. Ponadto u szczurów wykazano, że podtyp receptora GPR103 znajduje się w POA i AHA, które to jądra zawierają w sobie główną populację neuronów wykazujących ekspresję gonadoliberyny (GnRH) w podwzgórzu. Obecność QRFP43 i GPR103 została również potwierdzona w tkankach rozrodczych, co sugeruje, że peptyd ten może modulować procesy rozrodcze bezpośrednio na poziomie gonad.

Obecnie dostępne informacje na temat udziału 26RFa/QRFP43 w regulacji aktywności osi gonadotropowej pochodzą głównie z doświadczeń przeprowadzonych na gryzoniach. Wyniki badania przeprowadzonego na owarietomizowanych (OVX) szczurach wykazały, że iniekcja domięśniowa zarówno 26RFa, jak i QRFP43 zwiększała poziom LH i FSH we krwi obwodowej (Navarro i wsp., 2006). Autorzy ci wykazali również, że 26RFa stymulował uwalnianie LH i FSH z eksplantów przysadki samców i samic szczurów oraz zwiększał indukowane przez GnRH wydzielanie gonadotropin u samców szczurów (Navarro i wsp., 2006). Podobny efekt zaobserwowano u samców szczurów, u których centralne podawanie QRFP43 podnosiło poziom LH i FSH. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że QRFP43 indukuje uwalnianie GnRH z eksplantów podwzgórza, a podanie antagonisty receptora GnRH blokowało indukowany przez QRFP43 wzrost poziomu LH (Patel i wsp., 2008). Dane te sugerują, że u gryzoni 26RFa/QRFP43 może modulować oś HPG, działając zarówno na poziomie podwzgórza, jak i na poziomie przysadki.

W dostępnej literaturze brakuje informacji dotyczących konkretnych szlaków neuronalnych, za pośrednictwem których QRFP43 może wpływać na ośrodki regulacji osi HPG w podwzgórzu. Nie wiadomo, czy QRFP43 działa bezpośrednio na neurony GnRH, czy pośrednio, poprzez zmianę aktywności neuronów tworzących ośrodek regulacji apetytu lub neuronów tworzących generator pulsów GnRH (neurony kisspeptyny (Kiss)/neurokininy B (NKB)/dynorfiny (Dyn); KNDy) (Navarro i wsp., 2009, Navarro i wsp., 2011, Ruiz-Pino i wsp., 2012, Wójcik-Gładysz i wsp., 2018, Nestor i wsp., 2023). Brakuje również informacji na temat udziału QRFP43 w regulacji funkcji osi gonadotropowej u zwierząt innych niż gryzoni. Dlatego też opisane w publikacji P2 badania miały na celu wykazanie

neuromodulacyjnego działania QRFP43 na aktywność sekrecyjną osi gonadotropowej u owiec.

Uzyskane wyniki wykazały, że centralnie podawany QRFP43 wpłynął na zmniejszenie ekspresji białka GnRH w podwzgórzu. Ponadto zaobserwowano zmiany w ekspresji mRNA neuropeptydów współtworzących układ neuronów KNDy w MBH, a także zmniejszenie ekspresji białka Kiss w wyniosłości pośrodkowej (EM). QRFP43 hamował również aktywność wydzielniczą immunopozytywnych komórek LH w przysadce owiec, prowadząc do zmniejszenia akumulacji białka LH w komórkach gonadotropowych. W wyniku tych zmian koncentracja LH we krwi obwodowej również uległa zmniejszeniu. Jednocześnie zaobserwowano, że ekspresja mRNA FSH β pozostała niezmienną, ale akumulacja tego białka w komórkach przysadki oraz stężenie FSH we krwi obwodowej wzrosły u zwierząt otrzymujących infuzję QRFP43. Obserwowane różnice we wzorcach odpowiedzi LH i FSH wskazują, że u owiec oba układy gonadotropowe zachowują swoją specyficzną wrażliwość na centralną stymulację QRFP43.

Otrzymane wyniki wykazały obniżenie ekspresji mRNA prepro-Dyn (pDyn) u owiec otrzymujących QRFP43, podczas gdy nie odnotowano istotnych zmian w ekspresji mRNA NKB. Był to bardzo zaskakujący wynik, ponieważ równolegle zaobserwowano, że u owiec otrzymujących QRFP43, obniżeniu uległa ekspresja mRNA Kiss. Ponadto analiza mikroskopowa podwzgórza wykazała nietypowe wzorce ekspresji immunopozytywnego białka Kiss u zwierząt otrzymujących infuzję QRFP43. Zmniejszona ilość immunopozytywnego materiału Kiss w zakończeniach nerwowych ME przy jednoczesnej jego dużej akumulacji w obszarze ARC sugerowały, że transport aksonalny tego neuropeptydu został zahamowany. Uzyskane wyniki sugerują, że QRFP43 hamował uwalnianie GnRH z zakończeń nerwowych EM poprzez bezpośrednie działanie na aktywność wydzielniczą neuronów Kiss.

Uzyskane wyniki są przeciwstawne do tych uzyskanych w badaniach nad RF26a i QRFP43 przeprowadzonych na szczurach, które wykazały stymulujący wpływ tych peptydów na uwalnianie GnRH. W badaniach *in vitro* przeprowadzonych na eksplantach MBH pobranych od samców szczura wykazano, że QRFP43 zwiększa uwalnianie GnRH do medium (Patel i wsp., 2008). Przeważające dane uzyskano w badaniach nad RFa, gdzie u samców szczurów dożylna iniekcja QRFP43 zwiększyła poziom LH we krwi (Navarro i wsp., 2006). Badania nad mechanizmami działania innego RFa – RFRP-3 u ssaków wykazały, że wpływ tego peptydu na aktywność osi HPG jest złożony i może różnić się w zależności od kilku czynników. Czynniki te obejmują gatunek i płeć zwierząt, a także ich stan fizjologiczny oraz

sposób podawania badanego związku. W eksperymencie przeprowadzonym na OVX owcach otrzymujących dożylny wlew RFRP-3 wykazano, że peptyd ten zmniejsza jedynie wydzielanie LH bez wpływu na poziom FSH we krwi (Clarke i wsp., 2008). Wyniki innego badania, również przeprowadzonego na OVX owcach, nie wykazały żadnych zmian w stężeniu LH w osoczu po dożylniej iniekcji RFRP-3 (Decourt i wsp., 2016). Te odmienne wyniki sugerują, że działanie poszczególnych peptydów należących do rodziny RFa jest różne i dlatego konieczne jest kontynuowanie badań nad właściwościami tej grupy peptydów służących scharakteryzowaniu ich funkcji u różnych gatunków zwierząt.

4.1.5. Wpływ QRFP43 na aktywność osi podwzgórze-przysadka-tarczyca u owcy.

Oś HPT jest wielopoziomowym systemem regulacyjnym odpowiedzialnym za utrzymanie procesów fizjologicznych, takich jak metabolizm, utrzymanie równowagi energetycznej, liniowy wzrost kości, rozwój mózgu płodu (mielinizacja neuronów) lub regulacja funkcji rozrodczych (cykl owulacyjny i spermatogeneza). Hormon uwalniający tyreotropinę (TRH) jest głównym hormonem osi HPT, a jego synteza zachodzi głównie w PVN podwzgórza (Fekete i wsp., 2000, Feldt-Rasmussen i wsp., 2021). TRH bierze udział w stymulowaniu syntezy i uwalniania TSH z przedniego płata przysadki mózgowej, natomiast TSH z kolei stymuluje produkcję hormonów tarczycy: tyroksyny (T4) i trójjodotyroniny (T3) (Fitzgerald i Bean, 2018). Stosunek między T3 i T4 w organizmie jest regulowany przez procesy wpływające na ich konwersję za pośrednictwem enzymów określanych jako dejodynaza jodotyroninowa (Dio) typu 1 (Dio1), typu 2 (Dio2) i typu 3 (Dio3). Badania wykazały, że podczas gdy Dio2 i Dio3 regulują poziom aktywnego T3 wewnątrzkomórkowo, Dio1 jest dodatkowo odpowiedzialny za dostarczanie T3 do krwiobiegu (Itoh i wsp., 2010, Quignon i wsp., 2020). Jednocześnie stwierdzono, że T4 może być również przekształcany przez Dio3 do nieaktywnej biologicznie formy T3 (rT3). Wspomniany mechanizm działa jak „bufor” zapobiegający nadmiernej syntezie T3 w organizmie. Obecny stan wiedzy wskazuje, że oś HPT może być nie tylko autoregulowana poprzez krótkie lub długie pętle sprzężenia zwrotnego, ale może być również modulowana przez inne hormony i neuroprzekazniki, takie jak leptyna, NPY, AgRP, melatonina lub peptydy RFa (Quignon i wsp., 2020, Ortiga-Carvalho i wsp., 2016).

W dostępnej literaturze dotyczącej funkcjonowania osi HPT i peptydów z rodziny RFa dominują badania opisujące mechanizmy przekazywania informacji z osi HPT do osi HPG.

Brakuje jednak badań wyjaśniających, czy same RFa mogą wywierać jakikolwiek wpływ na oś HPT. Celem badań opisanych w publikacji P3 było wyjaśnienie roli QRFP43 w modulowaniu aktywności osi HPT u owiec.

Uzyskane wyniki wykazały, że centralnie podawany zmniejsza ekspresję mRNA TRH w MBH, jednocześnie nie zmieniając ilości immunopozytywnego materiału TRH w zakończeniach nerwowych EM. Biorąc pod uwagę oreksygeniczne właściwości QRFP43, można by oczekiwać stymulującego wpływu na syntezę i wydzielanie TRH w podwzgórze, co skutkowałoby zwiększonym metabolizmem lub magazynowaniem energii. Pomimo zaobserwowanego braku różnic w ilości immunopozytywnego materiału TRH w EM, odnotowano zmniejszenie ekspresji mRNA receptora TRH w przysadce. Jednocześnie zaobserwowano, że QRFP43 powoduje zmniejszenie ekspresji mRNA TSH β w przysadce mózgowej, przy czym w komórkach przysadki wykazano również podwyższoną ilość immunopozytywnego materiału TSH. Ta rozbieżność między ekspresją na poziomie mRNA i białka w badaniach *in vivo* nie jest rzadkością i można ją przypisać potranskrypcyjnej modyfikacji mRNA. Wyniki wcześniejszych badań własnych wykazały, że hormony takie jak leptyna, grelina, obestatyna lub czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego mogą również w różny sposób wpływać na ekspresję mRNA i białka hormonów związanych z osiami somatotropowymi i gonadotropowymi u owiec (Przybył i wsp., 2020, 2021, Szlis i wsp., 2020). W opisywanym doświadczeniu wykazano również, że QRFP43 zmniejszył stężenie FT4, jednocześnie zwiększając poziom FT3 w osoczu owiec. Obserwacje te wskazują, że QRFP43 może stymulować metabolizm i wydatkowanie energii u owiec poprzez zwiększenie dostępności T3 w krwiobiegu.

Przedstawione w publikacji P3 wyniki szczególnie zasługują na podkreślenie, ponieważ stanowią pierwszy dowód na wpływ QRFP43 na funkcjonowanie osi HPT na wszystkich jej poziomach organizacyjnych w układzie *in vivo*. Brak danych porównawczych dla uzyskanych wyników sugeruje potrzebę prowadzenia dalszych badań, które powinny koncentrować się na wyjaśnieniu roli peptydów z rodziny RFa na aktywność osi HPT u innych gatunków zwierząt. Potrzebne są również dalsze badania w celu wyjaśnienia interakcji QRFP43 z pętlami sprzężenia zwrotnego tej osi.

Kolejnym aspektem poruszonym w publikacji P3 było określenie modulującego wpływu QRFP43 podawanego do IIIw owcy na profil ekspresji mRNA genów kodujących enzymy dejodynaz: Dio1, Dio2 i Dio3, w wybranych tkankach osi HPT. W niniejszym badaniu po raz pierwszy zaobserwowano znaczące zmiany w ekspresji Dio u zwierząt, którym podawano QRFP43. Wykazano, że QRFP43 zmniejsza ekspresję mRNA Dio1 i Dio3 w MBH owiec i

zwiększa ekspresję mRNA Dio2 w tej strukturze mózgu. Zwiększone poziomy Dio2 wskazuje na zwiększoną konwersję T4 do T3 przez komórki mózgowe. Przypuszczenia te potwierdzają wyniki badań przeprowadzonych na chomiku syberyjskim, które wykazały, że długotrwałe działanie światła (długi dzień) zwiększa poziom Dio2 i obniżył poziom Dio3 w mózgu, zwiększając dostępności T3 w tkankach mózgu (Yoshimura i wsp., 2003, Yasuo i wsp., 2005).

Jednocześnie, zaobserwowano znaczące zmniejszenie ekspresji mRNA Dio1 i Dio2 wyłącznie w komórkach przysadki mózgowej owiec otrzymujących wyższą dawkę QRFP43 (grupa RFa50). Niższa dawka QRFP43 stymulowała ekspresję mRNA Dio3, podczas gdy wyższa dawka tego peptydu wywoływała odwrotny efekt, prowadząc do zmniejszenia ekspresji mRNA. Na poziomie tarczycy nie zaobserwowano wpływu QRFP43 na ekspresję mRNA Dio1. QRFP43 w dawce 10 µg powodował natomiast zmniejszenie ekspresji mRNA Dio2, podczas gdy wyższa dawka 50 µg powodowała zwiększenie ekspresji tego mRNA. W przypadku Dio3, obie dawki zastosowane w eksperymencie zwiększały ekspresji mRNA Dio3. Wyniki te sugerują potencjalne zmodyfikowanie metabolizmu komórek tarczycy w kierunku zmniejszenia produkcji aktywnej formy T3, przy jednoczesnym promowaniu tworzenia nieaktywnej formy rT3. Ponadto, wyniki te podkreślają fakt, że działanie RFa jest ściśle zależne od ich stężenia/dawki.

4.1.6. Wpływ QRFP43 na aktywność osi somatotropowej u owcy.

Funkcje osi somatotropowej są regulowane głównie przez dwa antagonistyczne neurohormony: somatostatynę (SRIF) i hormon uwalniający hormon wzrostu (GHRH). Badania immunohistochemiczne wykazały, że neurony wyrażające SRIF znajdują się głównie w PVN i ARC podwzgórza. Stamtąd SRIF jest transportowany do ME. Z kolei komórki syntetyzujące GHRH zlokalizowane są wyłącznie w ARC, skąd neurony transportują ten hormon do zakończeń ME (Wójcik-Gładysz i wsp., 2018). Te peptydy o przeciwstawnym działaniu są odpowiedzialne za kontrolowanie wydzielania hormonu wzrostu (GH) przez komórki somatotropowe zlokalizowane w przednim płacie przysadki.

GH jest głównym hormonem regulującym obwodowe procesy wzrostu, a jego wydzielanie zależy od naprzemiennego uwalniania SRIF i GHRH z zakończeń nerwowych ME. Mechanizm ten skutkuje pulsacyjnym uwalnianiem GH z komórek somatotropowych przysadki do krwi obwodowej (Chen i wsp., 1989). Głównym efektem działania GH jest stymulacja przyrostu masy ciała poprzez promowanie chondrogenyzy i osteogenyzy w komórkach chrząstki kostnej. Dodatkowo, hormony wzrostu bezpośrednio wpływają na regulację metabolizmu węglowodanów poprzez indukowanie glikogenolizy i zwiększanie uwalniania glukozy z wątroby (Jamil Sami, 2007).

Wykazano, że QRFP43 i inne peptydy RFa mogą wpływać na aktywność osi somatotropowej, głównie poprzez zmiany stężenia GH we krwi (Iijima i wsp., 2001; Luque i wsp., 2011; Moriyama i wsp., 2007; Qaiser i wsp., 2012; Sakamoto i wsp., 2003). Celem pracy opisaney w publikacji P4 było zbadanie roli QRFP43 w modulowaniu aktywności kluczowych hormonów osi somatotropowej.

Uzyskane wyniki wykazały, że centralnie podawany QRFP43 wpływał na aktywność osi somatotropowej u samic owiec zarówno na poziomie podwzgórza, jak i przysadki mózgowej. Egzogenny QRFP43 spowodował wzrost ekspresji mRNA SRIF w AHA owiec. Jednak pomimo zwiększonej ekspresji mRNA SRIF, zaobserwowano zmniejszenie ilości immunopozytywnego materiału SRIF w zakończeniach nerwowych ME. Konsekwencją tych zmian może być obniżenie hamującego wpływu SRIF na aktywność komórek somatotropowych przysadki mózgowej. Obserwowany wzrost ilości immunopozytywnego materiału GHRH w ME u owiec otrzymujących infuzje QRFP43 wydaje się potwierdzać ten mechanizm.

Na poziomie przysadki wykazano, że QRFP43 wywołuje specyficzne zmiany w ekspresji mRNA receptorów SRIF (SSTR2 i 5). Zaobserwowano wzrost ekspresji mRNA zarówno dla

SSTR2, jak i SSTR5 w grupie RFa10, przy jednoczesnym obniżeniu ekspresji mRNA obu receptorów w grupie RFa50. Co więcej, QRFP43 wykazywał hamujący wpływ na ekspresję mRNA GHRH, ale tylko przy wyższej dawce peptydu. Zaobserwowano także zmniejszenie ekspresji mRNA GH w przysadce mózgowej. Obserwacja mikroskopowa wykazała wzrost ilości immunopozytywnego materiału GH w komórkach przysadki po infuzji QRFP43.

Uzyskane wyniki mogą sugerować, że w momencie zakończenia infuzji QRFP43 komórki wchodzące w skład osi somatotropowej zostały przestymulowane poprzez nadmierną produkcję GH przez komórki somatotropowe przysadki, co doprowadziło do zwiększonej ekspresji mRNA SRIF i późniejszego hamowania aktywności komórek somatotropowych przysadki przez SRIF. W pracy Qaiser et al. (2012) przeprowadzono badanie na dorosłych samcach małp rezus, którym dożylnie podawano różne dawki QRFP43. Analiza zmian średnich poziomów GH w osoczu wykazała hamujący wpływ QRFP43 na wydzielanie GH, ale tylko przy najwyższych dawkach tego peptydu. W tym badaniu zaobserwowano trend zależny od dawki, charakteryzujący się niewielkim i przejściowym wzrostem średnich stężeń GH, a następnie postępującym spadkiem. Ci sami autorzy zbadali również wpływ 26RFa na stężenie GH we krwi i wykazali, że 26RFa, w przeciwieństwie do QRFP43, stymulował wydzielanie GH i zwiększał poziom GH w krwi. Co więcej, podobnie jak w przypadku QRFP43, efekt ten był zależny od dawki (Qaiser et al., 2012).

Dostępna literatura dostarcza kilku innych doniesień dotyczących peptydów należących do rodziny RFa i ich wpływu na GH (Luque et al., 2011; Sari et al., 2009). Badanie *in vitro* na hodowlach komórek przysadki łososia wykazało, że peptydy LPXRF-amidowe były w stanie stymulować uwalnianie GH a efekt ten był zależny od dawki (Amano i wsp., 2006). Podobnych obserwacji dokonano w badaniach obejmującym hodowane *in vitro* komórki przysadki żaby (Koda i wsp., 2002). Ponadto, badanie przeprowadzone na szczurach otrzymujących iniekcje RFRP-3 wykazało, że RFa mogą wpływać na aktywność osi somatotropowej w sposób zależny od dawki (Johnson i wsp., 2007). W cytowanej pracy dorosłym samcom szczurów podawano różne dawki RFRP-3 (10, 100 i 500 ng) przez stalowe kaniule prowadzące do komory bocznej mózgu, a następnie pobierano krew w celu określenia zmian w poziomie GH w osoczu. Wyniki analizy radioimmunologicznej wykazały, że RFRP-3 w dawce 100 ng zwiększał poziom GH w osoczu, podczas pozostałe dawki nie wykazywały żadnego wpływu lub nawet zmniejszały poziom tego hormonu w osoczu (Johnson i wsp., 2007). Biorąc pod uwagę powyższe badania, wpływ RFa na aktywność osi somatotropowej wydaje się różnić w zależności od rodzaju badanego peptydu, jego dawki, czasu trwania i schematu podawania, a także od organizmu modelowego wykorzystanego w eksperymencie.

Dlatego też wyniki te wydają się potwierdzać naszą hipotezę, że QRFP43 stymuluje aktywność osi somatotropowej u owiec, chociaż długotrwałe podawanie może również aktywować procesy hamujące uwalnianie GH z powodu nadmiernej stymulacji osi. Aby lepiej zrozumieć mechanizm leżący u podstaw tych zmian, potrzebne są dalsze badania, zwłaszcza w celu określenia wpływu długotrwałego podawania QRFP43 na aktywność wydzielniczą osi somatotropowej.

4.1.7. Podsumowanie.

Badania opisane w publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego pozwalają wyjaśnić rolę jaką odgrywa QRFP43 w modulacji aktywności czterech układów hormonalnych na poziomie podwzgórze-przysadka u owcy. Na podstawie wyników doświadczenia przeprowadzonego na 48 owcach rasy Merynos Polski wykazano, że egzogenny QRFP43 podawany do III komory mózgu:

1. moduluje ekspresję mRNA GPR103, NPY, CART i POMC w ARC. Wyniki te pozwalają przypuszczać, że QRFP43 może mieć hamujący wpływ na podwzgórzową sieć neuronalną odpowiedzialną za regulację apetytu u owiec;
2. hamuje aktywność osi gonadotropowej na poziomie podwzgórza poprzez zahamowanie ekspresji i uwalniania GnRH z zakończeń nerwowych EM, które związane jest ze zmniejszoną ekspresją peptydu Kiss, zmniejszając tym samym stężenia LH we krwi. Ponadto wydaje się, że QRFP43 może niezależnie modulować ekspresję i uwalnianie białka FSH, prawdopodobnie poprzez inne systemy regulacyjne, które wymagają dalszych badań;
3. stymuluje aktywność osi HPT, co było szczególnie widoczne w poziomach hormonu TSH, a także FT4 i FT3 we krwi obwodowej. Należy zauważyć, że trzydniowa infuzja QRFP43 doprowadziła do zmniejszenia ekspresji niektórych genów osi HPT. Obserwacja ta sugeruje potencjalne stopniowe nasycenie tkanek tym peptydem, uruchamiając mechanizmy mające na celu tłumienie aktywności osi w celu utrzymania homeostazy;
4. moduluje profile ekspresji mRNA DIO1, DIO2 i DIO3 w tkankach osi HPT, prowadząc do dyskretnych zmian w metabolizmie komórek i ich odpowiedzi na sygnały przekazywane przez T4 i T3;
5. wywiera hamujący wpływ na ekspresję SRIF w podwzgórzu, a także zwiększa poziom GHRH w ME, stymulując w ten sposób syntezę GH w przysadce owiec. Ponadto, QRFP43

może aktywować procesy fizjologiczne na poziomie mRNA, które przygotowują wyciszenie aktywności osi somatotropowej i prowadzą do zmniejszenia uwalniania GH do krwi obwodowej;

Wpływ QRFP43 może być różny u różnych gatunków zwierząt, dlatego też konieczne wydaje się przeprowadzenie dalszych badań, które mogłyby wyjaśnić dokładny mechanizm działania tego RFa w organizmie zwierząt i określić jego krótko- i długotrwałe efekty.

4.1.8. Bibliografia.

- 1) Amano, M., Moriyama, S., Ligo, M., Kitamura, S., Amiya, N., Yamamori, K., Ukena, K., Tsutsui, K., 2006. Novel fish hypothalamic neuropeptides stimulate the release of gonadotrophins and growth hormone from the pituitary of sockeye salmon. *J. Endocrinol.* 188, 417–423.
- 2) Bruzzone F., Lectez B., Alexandre D. et al., 2007. Distribution of 26RFa binding sites and GPR103 mRNA in the central nervous system of the rat. *J. Comp. Neurol.* 503, 573–591.
- 3) Bruzzone F., Lectez B., Tollemer H. et al., 2006. Anatomical distribution and biochemical characterization of the novel RFamide peptide 26RFa in the human hypothalamus and spinal cord. *J. Neurochem.* 99, 616–627.
- 4) Chartrel N., Alonzeau J., Alexandre D., 2011. The RFamide neuropeptide 26RFa and its role in the control of neuroendocrine functions. *Front. Neuroendocrinol.* 32, 387–397.
- 5) Chartrel N., Bruzzone F., Leprince J. et al., 2006. Structure and functions of the novel hypothalamic RFamide neuropeptides R-RFa and 26RFa in vertebrates. *Peptides.* 27, 1110–1120.
- 6) Chen, E.Y., Liao, Y.-C., Smith, D.H., Barrera-Saldaña, H.A., Gelinas, R.E., Seeburg, P.H., 1989. The human growth hormone locus: Nucleotide sequence, biology, and evolution. *Genomics* 4, 479–497.
- 7) Clarke JJ, Sari IP, Qi Y, Smith JT, Parkington HC, Ubuka T, et al. 2008. Potent Action of RFamide-Related Peptide-3 on Pituitary Gonadotropes Indicative of a Hypophysiotropic Role in the Negative Regulation of Gonadotropin Secretion. *Endocrinology* 149, 5811–21.
- 8) Decourt C, Anger K, Robert V, Lomet D, Bartzen-Sprauer J, Caraty A, et al. 2016. No Evidence That RFamide-Related Peptide 3 Directly Modulates LH Secretion in the Ewe. *Endocrinology.* 157, 1566–75.
- 9) Do Rego J.C., Leprince J., Chartrel N. et al., 2006. Behavioral effects of 26RFamide and related peptides. *Peptides.* 27, 2715–2721.
- 10) Fekete, C. et al. 2000. α -Melanocyte-Stimulating Hormone Is Contained in Nerve Terminals Innervating Thyrotropin-Releasing Hormone-Synthesizing Neurons in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus and Prevents Fasting-Induced Suppression of Prothyrotropin-Releasing Hormone Gene E. *J. Neurosci.* 20, 1550–1558.
- 11) Feldt-Rasmussen, U., Effraimidis, G. & Klose, M. 2021. The hypothalamus-pituitary-thyroid (HPT)-axis and its role in physiology and pathophysiology of other hypothalamus-pituitary functions. *Mol. Cell. Endocrinol.* 525, 111173.
- 12) Fitzgerald, S. P., Bean, N. G. 2018. Thyroid stimulating hormone (TSH) autoregulation reduces variation in the TSH response to thyroid hormones. *Temperature* 5, 380–389.

- 13) Fukusumi S., Yoshida H., Fujii R. et al., 2003. A new peptidic ligand and its receptor regulating adrenal function in rats. *J. Biol. Chem.* 278, 46387–46395.
- 14) Iijima, N., Matsumoto, Y., Yano, T., Tanaka, M., Yamamoto, T., Kakihara, K., Kataoka, Y., Tamada, Y., Matsumoto, H., Suzuki, N., Hinuma, S., Ibata, Y., 2001. A novel function of prolactin-releasing peptide in the control of growth hormone via secretion of somatostatin from the hypothalamus. *Endocrinology* 142, 3239–3243.
- 15) Itoh, K., Watanabe, K., Wu, X. & Suzuki, T. 2010. Three members of the iodothyronine deiodinase family, *dio1*, *dio2* and *dio3*, are expressed in spatially and temporally specific patterns during metamorphosis of the flounder, *paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci.* 27, 574–580.
- 16) Jamil Sami, A., 2007. Structure-Function Relation of Somatotropin with Reference to Molecular Modeling. *Curr. Protein Pept. Sci.* 8, 283–292.
- 17) Jiang Y., Luo L., Gustafson E.L. et al., 2003. Identification and characterization of a novel RF-amide peptide ligand for orphan G-protein-coupled receptor SP9155. *J. Biol. Chem.* 278, 27652–27657.
- 18) Johnson, M.A., Tsutsui, K., Fraley, G.S., 2007. Rat RFamide-related peptide-3 stimulates GH secretion, inhibits LH secretion, and has variable effects on sex behavior in the adult male rat. *Horm. Behav.* 51, 171–180.
- 19) Kampe J., Wiedmer P., Pfluger P.T. et al., 2006. Effect of central administration of QRFP (26) peptide on energy balance and characterization of a second QRFP receptor in rat. *Brain Res.* 1119, 133–149.
- 20) Koda, A., Ukena, K., Teranishi, H., Ohta, S., Yamamoto, K., Kikuyama, S., Tsutsui, K., 2002. A novel amphibian hypothalamic neuropeptide: Isolation, localization, and biological activity. *Endocrinology* 143, 411–419.
- 21) Kötter, R., 2001. Neuroscience databases: Tools for exploring brain structure-function relationships. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 356, 1111–1120.
- 22) Lectez B., Jeandel L., El-Yamani F.Z. et al., 2009. The orexigenic activity of the hypothalamic neuropeptide 26RFa is mediated by the neuropeptide Y and proopiomelanocortin neurons of the arcuate nucleus. *Endocrinology.* 150, 2342–2350.
- 23) Leprince J., Bagnol D., Bureau R. et al., 2017. The Arg–Phe-amide peptide 26RFa/glutamine RF-amide peptide and its receptor: IUPHAR Review 24. *British J. Pharmacol.* 20, 3573-3607.
- 24) Luque, R.M., Córdoba-Chacón, J., Gahete, M.D., Navarro, V.M., Tena-Sempere, M., Kineman, R.D., Castaño, J.P., 2011. Kisspeptin regulates gonadotroph and somatotroph function in nonhuman primate pituitary via common and distinct signaling mechanisms. *Endocrinology* 152, 957–966.
- 25) Moriya R., Sano H., Umeda T. et al., 2006. RFamide peptide QRFP43 causes obesity with hyperphagia and reduced thermogenesis in mice. *Endocrinology.* 147, 2916–2922.
- 26) Ortega-Carvalho, T. M., Chiamolera, M. I., Pazos-Moura, C. C. & Wondisford, F. E. 2016. Hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Compr. Physiol.* 6, 1387–1428.
- 27) Patel S.R., Murphy K.G., Thompson E.L. et al., 2008. Pyroglutamylated RFamide peptide 43 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis via gonadotropin-releasing hormone in rats. *Endocrinology.* 149, 4747–4754.
- 28) Primeaux S.D., 2011. QRFP in female rats: Effects on high fat food intake and hypothalamic gene expression across the estrous cycle. *Peptides.* 32, 1270–1275.

- 29)Primeaux S.D., Barnes M.J., Braymer H.D., 2013. Hypothalamic QRFP: Regulation of Food Intake and Fat Selection. *Horm. Metab. Res.* 45, 967–974.
- 30)Przybył, B. J., Szlis, M., Wójcik-Gładysz, A. 2021. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) affects the activity of the gonadotrophic axis in sheep. *Horm. Behav.* 131, 104980.
- 31)Przybył, B. J., Szlis, M., Wójcik-Gładysz, A. 2020. Brain-Derived Neurotrophic Factor Affects mRNA and miRNA Expression of the Appetite Regulating Centre in the Sheep Arcuate Nucleus. *Ann. Anim. Sci.* 20, 853–869.
- 32)Qaiser, F., Wahab, F., Wiqar, M.A., Hashim, R., Leprince, J., Vaudry, H., Tena-Sempere, M., Shahab, M., 2012. Study of the role of novel RF-amide neuropeptides in affecting growth hormone secretion in a representative non-human primate (*Macaca mulatta*). *Endocrine* 42, 658–663.
- 33)Quignon, C., Beymer, M., Gauthier, K., Gauer, F. & Simonneaux, V. 2020. Thyroid hormone receptors are required for the melatonin-dependent control of Rfrp gene expression in mice. *FASEB J.* 34, 12072–12082.
- 34)Ruiz-Pino F, Navarro VM, Bentsen AH, Garcia-Galiano D, Sanchez-Garrido MA, Ciofi P, et al. 2012. Neurokinin B and the control of the gonadotropic axis in the rat: developmental changes, sexual dimorphism, and regulation by gonadal steroids. *Endocrinology* 153, 4818-29.
- 35)Sakamoto, T., Fujimoto, M., Ando, M., 2003. Fishy tales of prolactin-releasing peptide. *Int. Rev. Cytol.* 225, 91–130.
- 36)Sari, I.P., Rao, A., Smith, J.T., Tilbrook, A.J., Clarke, I.J., 2009. Effect of RF-amide-related peptide-3 on luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone synthesis and secretion in ovine pituitary gonadotropes. *Endocrinology* 150, 5549–5556.
- 37)Slaba, J., Krejci, P., Skarda, J., Huybrechts, L.M., Decuypere, E., Herrmann, H., 1994. Plasma profiles of somatotropin and IGF-I in dairy cows following application of two preparations of recombinant bovine somatotropin in a sustained release vehicle. *Physiol. Res.* 43, 37–43.
- 38)Sporns, O., Tononi, G., Kötter, R., 2005. The Human Connectome: A Structural Description of the Human Brain. *PLoS Comput. Biol.* 1, e42.
- 39)Stupnicki, R., Madej, A., 1976. Radioimmunoassay of LH in blood plasma of farm animals. *Endokrinologie* 68, 6–13.
- 40)Strzetelski J. A., Brzóska F., Kowalski Z. M., Osieglowski S., 2014. Zalecenia Żywieniowe dla Przeżuwaczy i Tabele wartości pokarmowej pasz; Kraków, ISSN 978-83-938377-0-0.
- 41)Szlis, M., Wójcik-Gładysz, A. & Przybył, B. J. 2020. Central obestatin administration affect the LH and FSH secretory activity in peripubertal sheep. *Theriogenology* 145, 10–17.
- 42)Navarro V.M., Fernández-Fernández R., Nogueiras R. et al., 2006. Novel role of 26RFa, a hypothalamic RFamide orexigenic peptide, as putative regulator of the gonadotropic axis. *J. Physiol.* 573, 237–249
- 43)Navarro VM, Gottsch ML, Chavkin C, Okamura H, Clifton DK, Steiner RA. , 2009. Regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion by kisspeptin/dynorphin/neurokinin B neurons in the arcuate nucleus of the mouse. *J. Neurosci.* 29, 11859-66.
- 44)Navarro VM, Castellano JM, McConkey SM, Pineda R, Ruiz-Pino F, Pinilla L, et al. 2011. Interactions between kisspeptin and neurokinin B in the control of GnRH secretion in the female rat. *Am. J Physiol. Endocrinol. Metab.* 300, E202-10.

- 45) Nestor CC, Merkley CM, Lehman MN, Hileman SM, Goodman RL. 2023. KNDy neurons as the GnRH pulse generator: Recent studies in ruminants. *Peptides* 164, 171005.
- 46) Takayasu S., Sakurai T., Iwasaki S. et al., 2006. A neuropeptide ligand of the G protein-coupled receptor GPR103 regulates feeding, behavioral arousal, and blood pressure in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103, 7438–7443.
- 47) Traczyk W., Przekop F., 1963. Methods of investigation of the function of the hypothalamus and hypophysis in chronic experiments in sheep. *Acta. Physiol. Pol.* 14, 217–226.
- 48) Welento J., Sztejn S., Milart Z., 1969. Observations on the stereotaxic configuration of the hypothalamic nuclei in the sheep. *Anat. Anz.* 124, 1–27.
- 49) Wójcik-Gładysz A, Szlis M, Przybył BJ, Polkowska J. 2018. Obestatin may affect the GnRH/KNDy gene network in sheep hypothalamus. *Res Vet Sci.* 123, 51–58.
- 50) Yoshimura, T. et al. 2003. Light-induced hormone conversion of T4 to T3 regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature* 426, 178–181.
- 51) Yasuo, S. et al. 2005. The reciprocal switching of two thyroid hormone-activating and -inactivating enzyme genes is involved in the photoperiodic gonadal response of Japanese Quail. *Endocrinology* 146, 2551–2554.

4.2. Pierwsze dodatkowe osiągnięcie naukowe.

Pierwszym dodatkowym osiągnięciem naukowym jest cykl czterech publikacji odnoszących się do neuromodulacyjnego oddziaływania obestatyny na aktywność osi gonadotropowej i somatotropowej u owcy, wydanych w latach 2018-2020. Badania zawarte w tym cyklu publikacyjnym stanowiły częściowo podstawę mojej rozprawy doktorskiej, zredagowanej w formie monografii naukowej pod tytułem: „*Neuromodulacyjne oddziaływanie obestatyny na aktywność osi somatotropowej i gonadotropowej u owiec*”. Obrona rozprawy doktorskiej odbyła się 27 czerwca 2016 r.

W porównaniu do manuskryptu doktoratu, opublikowane prace zostały uzupełnione o analizę wyników ekspresji mRNA: AgRP, CART, POMC, PAM, GPR39, aMSH1R, NPY1R, NPY5R, GnRHR oraz immunohistochemiczne oznaczenie lokalizacji i koncentracji kisspeptyny w jądrze łukowatym i wyniosłości pośrodkowej.

4.3.1. Opis uzyskanych wyników osiągnięcia

Celem przeprowadzonych badań było poznanie mechanizmu działania obestatyny w regulacji aktywności sekrecyjnej hormonów układu somatotropowego i gonadotropowego u niedojrzałych płciowo owiec. Hipoteza badawcza zakładała, że obestatyna może modulować ekspresję genów, magazynowanie oraz uwalnianie hormonów osi somatotropowej i gonadotropowej na poziomie podwzgórza i przysadki.

W celu weryfikacji założeń badawczych wykonano doświadczenie na 32-tygodniowych jarkach rasy Merynos Polski (n=28), w okresie poprzedzającym uzyskanie dojrzałości płciowej (wrzesień-październik). Owce podzielono na dwie grupy doświadczalne: kontrolną otrzymującą infuzję płynu Ringer-Locke'a (n=14), oraz obestatynową otrzymującą infuzję obestatyny rozpuszczonej w płynie Ringer-Locke'a (n=14). W trakcie eksperymentu, przez trzy kolejne dni wykonywano infuzje obestatyny lub płynu Ringer-Locke'a do IIIv. Ponadto, w dniu poprzedzającym wykonanie infuzji (dzień "0") i w trzecim dniu infuzji (dzień "3") przeprowadzono kolekcję krwi w celu oznaczenia stężenia GH, LH i FSH. Bezpośrednio po zakończeniu eksperymentu owce poddano eutanazji w celu pozyskania wybranych struktur podwzgórza i przedniej części przysadki. Podwzgórza oraz przysadki mózgowo pobrano i zabezpieczono do dalszych oznaczeń Real Time RT qPCR i oznaczeń immunohistochemicznych.

Uzyskane wyniki wykazały, że obestatyna powoduje wzrost ekspresji mRNA NPY w MBH, ale obniża neurosekrecyjną aktywność neuronów NPY zlokalizowanych w jądrach

okołokomorowym i ARC. Ponadto stwierdzono, że egzogenna obestatyna wywołuje zmiany na wszystkich poziomach organizacji osi somatotropowej. Obestatyna spowodowała zmiany w aktywności neuronów wykazujących ekspresję GHRH oraz SRIF, prowadzące do wzrostu ekspresji genu GH i ilości immunoreaktywnego materiału GH magazynowanego w komórkach somatotropowych przysadki oraz do zwiększenia stężenia tego hormonu w krwi obwodowej, wynikającego ze wzrostu ilości pulsów GH. Wykazano również, że egzogenna obestatyna powoduje zmiany w ekspresji wybranych mRNA genów generatora pulsów GnRH, obniża aktywność sekrecyjną neuronów GnRH, polegającą na zahamowaniu uwalniania GnRH z zakończeń nerwowych wyniosłości pośrodkowej, a także obniża ekspresję genu receptora GnRH w przysadce. Stwierdzono, że obestatyna hamuje ekspresję mRNA LH β oraz wpływa na akumulację tego hormonu w komórkach gonadotropowych przysadki. Następstwem tych zmian jest obniżenie stężenia LH we krwi obwodowej i zmiana profilu jego uwalniania. Ponadto, uzyskane wyniki wykazały, że obestatyna stymuluje zarówno ekspresję mRNA FSH β jak i białka FSH w komórkach gonadotropowych przysadki, ale nie ma wpływu na jego uwalnianie do krwi obwodowej.

Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że obestatyna może brać udział w modulacji prawidłowego funkcjonowania procesów wzrostu i rozrodu zwierząt na poziomie ośrodkowego układu nerwowego.

Bibliografia:

1. Wójcik-Gładysz A., Szlis M.*, Misztal A., Przybył B.J., Polkowska J. Obestatin stimulates the somatotrophic axis activity in sheep. *Brain Research*, 2018, 1678, 278-287; DOI: 10.1016/j.brainres.2017.10.036

MEiN 2018 = 25 pkt; IF 2018 = 3.039

2. Szlis M., Polkowska J., Skrzeczyńska E., Przybył B.J., Wójcik-Gładysz A. Does obestatin modulate the hypothalamic appetite-regulating network in peripubertal sheep? *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102, 690-700; DOI: 10.1111/jpn.12879

MEiN 2018 = 30 pkt; IF 2018 = 1.781

3. Wójcik-Gładysz A., Szlis M.*, Przybył B.J., Polkowska J. Obestatin may affect the GnRH/KNDy gene network in sheep hypothalamus. *Research in Veterinary Science*, 2019, 123, 51-58; DOI: 10.1016/j.rvsc.2018.12.010

MEiN 2019 = 100 pkt; IF 2019 = 1.987

4. **Szlis M.**, Wójcik-Gładysz A., Przybył B.J. Central obestatin administration affect the LH and FSH secretary activity in peripubertal sheep. *Theriogenology*, 2020, 145, 10-17; DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.01.032

MEiN 2020 = 140 pkt; IF 2020 = 2.748

** autor korespondencyjny*

4.3. Drugie dodatkowe osiągnięcie naukowe.

Drugim dodatkowym osiągnięciem naukowym jest cykl trzech publikacji naukowych, opisujących neuromodulacyjne działanie neurotropowego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w aktywności trzech układów neuralnych odpowiedzialnych za regulację procesów rozrodczych, wzrostowych oraz regulujących łaknienie. Badania zostały wykonane w ramach własnego projektu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki w ramach funduszy konkursu PRELUDIUM 9 (nr projektu 2015/17/N/NZ9/01110) pod tytułem: „*Wpływ neurotropowego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) na ekspresję genów biorących udział w regulacji aktywności hormonów osi gonadotropowej (podwzgórze-przysadka) u owcy*”.

Jednocześnie należy zaznaczyć że, wyniki uzyskane w tym projekcie stanowiły podstawę rozprawy doktorskiej Pana dr Bartosza Jarosława Przybyła, w której pełniłem funkcję promotora pomocniczego. Zgodnie z oświadczeniami autorów, złożonymi wraz z powyższą rozprawą doktorską mój udział w realizacji badań wynosił 30 % i polegał na opracowaniu koncepcji, celu i metodyki badań, wykonaniu doświadczeń na zwierzętach, wykonaniu analiz statystycznych i interpretacji uzyskanych wyników oraz udziale w pisaniu poszczególnych publikacji (w dwóch publikacjach jestem autorem korespondencyjnym, w jednej autorem ostatnim).

4.2.1. Opis doświadczenia i uzyskanych wyników osiągnięcia

Celem przeprowadzonych badań było poznanie modulującego mechanizmu działania BDNF na aktywność sekrecyjną hormonów układu somatotropowego i gonadotropowego u niedojrzałych płciowo owiec. Hipoteza badawcza zakładała, że BDNF może modulować ekspresję genów, magazynowanie oraz uwalnianie hormonów osi somatotropowej i gonadotropowej na poziomie podwzgórza i przysadki.

Doświadczenie wykonano na owcach rasy Merynos Polski ($n = 24$). Przed rozpoczęciem doświadczenia wszystkim zwierzętom zaimplantowano stalowe kaniule prowadzące do trzeciej komory mózgu. U zwierząt przeprowadzono synchronizację rui, a po okresie siedmiu dni od wystąpienia owulacji, w ciągu trzech kolejnych dni, wykonano serię czterech infuzji do trzeciej komory mózgu. Owce z grupy kontrolnej ($n = 8$) otrzymywały roztwór Ringera-Locke'a (480 μ l/dzień), zwierzętom z grupy BDNF 10 ($n = 8$) podawano roztwór Ringera-Locke'a z BDNF w dawce 10 μ g/480 μ l/dzień, natomiast owcom z grupy BDNF 60 ($n = 8$), BDNF w dawce 60 μ g/480 μ l/dzień. W trakcie trwania doświadczenia przeprowadzona

została kolekcja krwi w celu późniejszego oznaczenia stężenia LH, FSH i GH przy wykorzystaniu metody radioimmunologicznej. Ponadto oznaczono stężenie wybranych hormonów (LH, FSH i GH) w przysadce. Bezpośrednio po zakończeniu doświadczenia, od owiec pozyskano określone struktury podwzgórza oraz przysadkę w celu oznaczenia ekspresji mRNA metodą Real-Time RT qPCR.

Po raz pierwszy w badaniu *in vivo* u owcy zaobserwowano modulujący wpływ BDNF na aktywność neuronów współtworzących neurohormonalną sieć regulującą łaknienie na poziomie podwzgórza (neurony NPY/AgRP i CART/ α -MSH). Jednocześnie wykazano, że BDNF moduluje ekspresję wybranych mikroRNA mogących brać udział w procesach postranskrypcyjnej regulacji ekspresji mRNA NPY, CART oraz POMC. Wykazano również, że BDNF oddziałuje na aktywność neuronów KNDy w MBH oraz zmienia ekspresję mRNA GnRH w POA. Ponadto, egzogeny BDNF wpływa na zmianę ekspresji mRNA GHRH w MBH oraz ekspresję mRNA GH, receptora GHRH oraz SSTR 5 w przysadce. Wykazano również, zróżnicowany wpływ BDNF na stężenie LH, FSH oraz GH, zarówno w przysadce, jak i krwi obwodowej.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że BDNF jest zaangażowany w modulację aktywności podwzgórzowej sieci regulującej łaknienie oraz w modulację aktywności osi gonadotropowej i somatotropowej u owcy.

Bibliografia:

1. Przybył, B.J., Szlis, M.*, Wójcik-Gładysz, A. Brain-derived neurotrophic factor affects mRNA and miRNA expression of the appetite regulating centre in the sheep arcuate nucleus. *Annals of Animal Science*, 2020, 20, 853–869; DOI: 10.2478/aoas-2020-0015

MEiN 2021 = 100 pkt; IF 2020 = 2.090

2. Przybył, B.J., Szlis, M.*, Wójcik-Gładysz, A. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) affects the activity of the gonadotrophic axis in sheep. *Hormones and Behavior*, 2021, 131, 104980; DOI: 10.1016/j.yhbeh.2021.104980

MEiN 2021 = 100 pkt; IF 2021 = 3.587

3. Przybył, B.J., Wójcik-Gładysz, A., Gajewska, A., Szlis, M. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) affects somatotrophic axis activity in sheep. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2021, 30, 329-339; DOI: 10.22358/jafs/143353/2021

MEiN 2021 = 100 pkt; IF 2021 = 1.525

* autor korespondencyjny

4.4. Trzecie dodatkowe osiągnięcie naukowe.

Trzecie dodatkowe osiągnięcie naukowe związane jest z zaangażowaniem w badania naukowe skupiających się na wpływie różnych czynników i/lub substancji mających działanie modulujące na zmiany w lipidomie i odporności zwierząt.

1. Lepionka T., Bialek M., Czauderna M., Szlis M., Bialek A. *Lipidomic profile and enzymes activity in hepatic microsomes of rats in physiological and pathological conditions. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23, 442; DOI: 10.3390/ijms23010442*

Badanie miało na celu ocenę, w jaki sposób suplementacja diety olejem z pestek granatowca właściwego (PSO) i ekstraktem z przepętkli ogórkowatej (BME), oddzielnie i/lub łącznie wpływa na profil kwasów tłuszczowych i ich metabolizm w mikrosomach wątroby, a także na aktywność wybranych enzymów mikrosomalnych (COX-2 i CYP1B1), w stanie fizjologicznym oraz we współistniejącym procesie nowotworowym. Zwierzęta doświadczalne (samice szczura rasy Sprague-Dawley; n = 96) podzielono na osiem grup doświadczalnych, różniących się zastosowanymi modyfikacjami diety (kontrola, PSO, BME oraz PSO + BME) oraz wprowadzeniem chemicznego czynnika rakotwórczego (7,12-dimetylobenz[*a*]antracenu).

Uzyskane wyniki wykazały wyraźny wpływ procesu nowotworowego na metabolizm lipidów oraz antagonistyczne działanie stosowanych suplementów diety na zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych oraz aktywność CYP1B1 i COX-2. Zastosowane kompleksowe podejście analityczne z wielowymiarowymi metodami analizy danych (metody chemometryczne) potwierdziły, że aktywność biologiczna surowców roślinnych o udowodnionych właściwościach przeciwnowotworowych, może różnić się w zależności od współistniejącego stanu patologicznego.

2. Konieczka P., Barszcz M., Kowalczyk P., Szlis M., Jankowski J. *The potential of acetylsalicylic acid and vitamin E in modulating inflammatory cascades in chickens under lipopolysaccharide-induced inflammation. Veterinary Research, 2019, 50, 65; DOI: 10.1186/s13567-019-0685-4*

Badanie miało na celu ocenę ekspresji mRNA COX, LOX i CYP450 w tkankach odpornościowych kurczaków w odpowiedzi na stres związany z podaniem lipopolisacharydu

(LPS) *Escherichia coli* oraz zbadanie, czy kwas acetylosalicylowy (ASA) i witamina E (vE) mogą zmieniać ekspresję tych mRNA. Ponadto po raz pierwszy u kurczaków oceniono zużycie tlenu przez mitochondria płytek krwi jako biomarker funkcji mitochondriów w odpowiedzi na ASA i vE.

Badanie wykazało, że LPS osłabił tempo wzrostu ptaków, przy czym suplementacja diety poprzez podanie ASA lub vE nie złagodziły znacząco tego efektu. Jednocześnie wykazano zauważono, że stopniowe zwiększenie ilości vE w diecie wywierało lepszy efekt łagodzący niż stosowane poziomy bazowe. Podany ASA regulował metabolizm kwasu arachidonowego, podczas gdy stopniowo zwiększające się poziomy vE wywoływały oporność na aspirynę podczas podawania LPS. Ekspresja genów w tkankach odpornościowych kurcząt była wysoce zmienna, co wskazuje na złożoną sieć regulacyjną kontrolującą ścieżki zapalne. COX-2 i CYP450 w przeciwieństwie do COX-1, wykazywały zwiększoną ekspresję mRNA w niektórych przypadkach, co sugeruje inicjację nowych sygnałów przeciwzapalnych podczas podawania LPS. Mierząc tempo zużycia tlenu, stwierdzono, że ani poziomy ASA ani vE nie wywierały toksycznego wpływu na mitochondria płytek krwi.

3. *Konieczka P., Barszcz M., Chmielewska N., Cieślak M., Szlis M., Smulikowska S. Interactive effects of dietary lipids and vitamin E level on performance, blood eicosanoids, and response to mitogen stimulation in broiler chickens of different ages. Poultry Science, 2017, 96, 359-369; DOI: 10.3382/ps/pew219*

Badanie miało na celu ocenę wpływu diety zawierającej wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) n-6:n-3 i witaminę E (vE) na poziom prozapalnych eikozanoidów (kwasu dokozaheksaenowego (DHA) i kwasu arachidonowego (AA)) w tkankach odpornościowych kurcząt. W pracy analizowano również zmiany w populacji leukocytów kurcząt brojlerów w różnym wieku po podaniu fitohemaglutyniny (PHA). Wyniki wskazały, że dieta zawierająca mieszankę oleju lnianego i rybnego o niskim stosunku PUFA n-6:n-3 zwiększyła ilość komórek fagocytujących we krwi zwierząt. Jednocześnie, dieta zawierająca olej kukurydziany o wysokim stosunku PUFA n-6:n-3 promowała włączanie AA do tkanek odpornościowych, co w konsekwencji zwiększyło poziom prozapalnych eikozanoidów we krwi obwodowej.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Potwierdzeniem aktywności naukowej, jaką wykazywałam się w więcej niż jednej instytucji naukowej są:

- Odbycie dwutygodniowego stażu naukowego (*Załącznik 7b.*) w Zespole Mechanizmów Działania Hormonów, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. Badania naukowe prowadzone w ramach stażu obejmowały obszar tematyczny związany z neuroendokrynną regulacją procesów rozrodczych u zwierząt. Opiekunem merytorycznym stażu była Pani dr Magdalena Szymańska.
- Odbycie miesięcznego stażu naukowego (*Załącznik 7a.*) w Katedrze Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Badania naukowe prowadzone w ramach stażu obejmowały obszar tematyczny związany z neuroendokrynną regulacją procesów rozrodczych u zwierząt. Opiekunem merytorycznym była Pani dr hab. Ewa Pruszyńska-Oszmałek. Obecnie analizowany są wyniki z badań w celu opracowania manuskryptu publikacji.
- Prowadzenie w latach 2010-2012 badań naukowych w Katedrze Fizjologii Zwierząt, Wydziału Biologii i Biotechnologii, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie w ramach wykonywanej pracy magisterskiej. Badania dotyczyły roli receptorów aktywowanych proliferatorami peroksisomów (PPAR) w regulacji wydzielania 17- β estradiolu w czasie cyklu rujowego u świni. Wyniki otrzymane w ramach badań zostały przedstawione na VI Konferencji Doktorantów w Nitrze.
Kurzyńska A., Bogacka I., Gąglewska M., Brągiel A., Szlis M. The effect of peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) ligands on the secretion of 17- β estradiol by porcine reproductive tissues during the estrous cycle; VI. Vedecká Konferencia Doktorandov s Medzinárodnou účasťou, Nitra, 25.04.2012
- Podjęcie współpracy naukowej, jako kierownik jednego z zadań badawczych, w ramach projektu po tytule „Diminishing of perinatal depression risk in transforming European society” złożonego w konkursie “HORIZON-HLTH-2022-STAYHLTH-01-two-stage” z

europejskimi ośrodkami naukowymi, agencjami państwowymi, przedsiębiorstwami oraz organizacjami społecznymi (szczegóły rozdział 7.3. pod. 2).

- W ramach projektu po tytule „Nanostrukturalne rusztowania polimerowe reagujące na światło do wspomaganie zrostu kości” złożonego w konkursie TECHMATSTRATEG III prowadzonym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, jako kierownik jednego z zadań badawczych podjąłem współpracę z następującymi ośrodkami naukowymi oraz przedsiębiorstwami:
 - Instytut Podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk
 - Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
 - Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii im. gen. K. Kaczkowskiego
 - Sygnis New Technology Sp. z o. o.

- Na podstawie porozumienia, od 2022 r. prowadzona jest ciągła współpraca z Panem profesorem dr hab. n. med. Krzysztofem Czajkowskim oraz Panią dr n. med. Magdalenę Broś-Konopielko z II Katedry i Kliniki Położnictwa i Ginekologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie. Współpraca ma na celu opracowanie i walidację nowej metody oznaczania zawartości BDNF (brain derived neurotrophic factor) techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej w próbkach pozyskanych od kobiet ciężarnych (oraz ich dzieci) w powiązaniu z czynnikami środowiskowymi (dieta, stan odżywienia, aktywność fizyczna, nietrzymanie moczu, czynniki psychologiczne). Obecnie zbierany jest materiał biologiczny niezbędny do wykonania oznaczeń.

- Na podstawie porozumienia z września 2024 r. prowadzona jest współpraca z Panem dr Krzysztofem Papisem i Panią dr Ewą Stachowiak z Przychodni Lekarskiej nOvum w Warszawie. Badania dotyczą projektu pod tytułem „Ocena przydatności do retransplantacji skrawków kory jajnika zamrożonych uprzednio w ramach programu ‘Onkofertility’” realizowanego przez Przychodnię nOvum. Ze względu na charakter projektu otrzymane wyniki objęte będą klauzulą poufności i nie zostaną opublikowane bez zgody Przychodni nOvum.

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

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne.

Najważniejszym osiągnięciem dydaktycznym było pełnienie roli promotora pomocniczego w latach 2018-2022, w przewodzie doktorskim Pana dr Bartosza Jarosława Przybyła. Tytuł rozprawy doktorskiej: *Modulacyjne działanie neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w regulacji osi gonadotropowej i somatotropowej na poziomie podwzgórze-przysadka u owcy*. Rozprawa została wyróżniona przez Radę Naukową Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk oraz w konkursie na najlepsze rozprawy doktorskie z zakresu zootechniki i rybactwa organizowanego przez Polskie Towarzystwo Zootechniczne.

W latach 2020-2024 byłem opiekunem czterech uczniów Zespołu Szkół nr. 21 w Warszawie, specjalności technik analityk, podczas odbywania przez nich praktyk zawodowych w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk:

- Pan Rafał Cegielka
- Pan Maciej Kaczorowski
- Pan Mikołaj Kaczmarczyk
- Pan Kacper Maciejczuk

W 2024 r. byłem opiekunem Pani Natalii Dołęzki ze Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego oraz Pana Szymona Jakóbczyka z Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego, którzy odbywali w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk praktyki zawodowe w ramach programu studiów.

6.2. Osiągnięcia organizacyjne.

- 2012 r. - obecnie – pomoc w organizacji aktywności popularyzatorskich w ramach Festiwalu Nauki i Uniwersytecie Młodego Odkrywcy w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.
- 2016 r. – wspólnie z prof. dr hab. Tomaszem Misztalem przewodniczyłem w I sesji „Centralne i lokalne mechanizmy kontroli ciąży i laktacji” w trakcie trzecich Warsztatów Naukowych organizowanych przez Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk

- 2018 r. – osoba odpowiedzialna za organizacje seminariów naukowych w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.
- 2017-2022 r. – pełnienie funkcji Pełnomocnika ds. obronności w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.
- 2018-2024 r. – pełnienie funkcji Pełnomocnika ds. ochrony informacji niejawnych w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.
- 2020 r. - obecnie – Ekspert Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej.
- 2020 r. - obecnie – Ekspert Narodowego Centrum Badań i Rozwoju.
- 2022 r. - obecnie – członek Zespołu ds. Dobrostanu Zwierząt w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk
- 2023 r. - obecnie – członek Rady Naukowej Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk (przedstawiciel asystentów oraz adiunktów ze stopniem doktora).
- 2023 r. - obecnie – członek Kolegium Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.

6.3. Osiągnięcia w ramach popularyzacji nauki.

W ramach osiągnięć związanych z popularyzacją nauki należy w pierwszej kolejności wymienić, że od 2012 roku pomagam przy organizacji i prowadzeniu zajęć w ramach Festiwalu Nauki odbywającego się w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk. W początkowym okresie (2012-2017) brałem udział głównie w prowadzeniu zajęć przygotowywanych na Piknik Naukowy Festiwalu odbywający się w Pałacu w Jabłonie oraz zajęć w ramach Uniwersytetu Młodego Odkrywcy. Od 2018 r. mój udział w tym wydarzeniu ograniczył się do pomocy organizacyjnej.

Kolejną formą popularyzującą naukę był mój czynny udział w Festynie Rodzinnym i Edukacyjnym organizowanym przez Szkołę Podstawową nr 7 w Legionowie w latach 2015-2017. W ramach festynu przygotowane zostały zajęcia edukacyjne dla dzieci biorących udział w zabawie.

W latach 2020-2021 uczestniczyłem w Kampanii informacyjnej Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi oraz Krajowego Ośrodka Wsparcia Rolnictwa „Kupuj świadomie – PRODUKT POLSKI” poprzez sprawowanie opieki nad uczniami Zespołu Szkół nr 21 w Warszawie,

którzy w ramach praktyk zawodowych przeprowadzili dyskusję i opracowali infografiki na zadane tematy odnoszące się do kampanii.

7. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze oraz informacje dodatkowe.

7.1. Pełnienie roli recenzenta w czasopismach naukowych.

1. ClinicoEconomics and Outcomes Research – jedna recenzja pracy naukowej;
2. Animals – cztery recenzje prac naukowych;
3. Hormones and Behaviour – dwie recenzje prac naukowych;
4. Frontiers in Bioscience Landmark – jedna recenzja pracy naukowej;
5. Agriculture – jedna recenzja pracy naukowej;
6. Reproduction in Domestic Animals – jedna recenzja pracy naukowej;
7. Journal of Zhejiang University – jedna recenzja pracy naukowej;
8. Genes – trzy recenzje prac naukowych;
9. Scientific Reports – jedna recenzja pracy naukowej;
10. International Journal of Molecular Sciences – cztery recenzje prac naukowych;
11. Veterinary Research Communications – jedna recenzja pracy naukowej;
12. Theriogenology – dwie recenzje prac naukowych;
13. Veterinary Research – dwie recenzje prac naukowych;
14. Poultry Science – jedna recenzja pracy naukowej;
15. Reproduction, Fertility and Development – dwie recenzje prac naukowych;
16. Journal of Endocrinology – jedna recenzja pracy naukowej;
17. Livestock Science – jedna recenzja pracy naukowej;
18. Domestic Animal Endocrinology – dwie recenzje prac naukowych;
19. Journal of Neuroendocrinology – dwie recenzje prac naukowych;
20. Small Ruminant Research – jedna recenzja pracy naukowej;
21. BMC Veterinary Research – jedna recenzja pracy naukowej.

7.2. Udział w projektach badawczych.

Własne projekty badawcze:

1. "The role of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on the gene expression regulating secretory activity of gonadotrophic axis hormones in sheep at the hypothalamus pituitary level". Kierownik projektu: dr Michał Szlis; grant PRELUDIUM 9 nr 2015/17/N/NZ9/01110.
2. "The neuromodulatory action of obestatin on the NPY/AgRP and CART/ α -MSH neurons activity in sheep". Kierownik projektu: dr Michał Szlis; Grant na Start, Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.

Pozostałe projekty badawcze:

1. "The role of salsolinol in the regulation of secretory activity of the hypothalamic-pituitary corticotropic system (CRH-ACTH) and gonadotropic releasing hormone (GnRH-LH/FSH) in sheep". Kierownik projektu: prof. dr hab. Tomasz Misztal. Wykonawca w projekcie.
2. "The role of salsolinol (a derivative of dopamine) in the regulation of oxytocin in the reproductive cycle in sheep". Kierownik projektu: prof. dr hab. Tomasz Misztal. Wykonawca w projekcie.
3. "The role of ghrelin in the regulation of the activity of the gonadotropin hormones in sheep". Kierownik projektu: dr hab. Anna Wójcik-Gładysz. Wykonawca w projekcie.
4. "Neuromodulatory effect of salsolinol in the central nervous system and the pituitary gland (a new experimental technique)". Kierownik projektu: prof. dr hab. Tomasz Misztal. Wykonawca w projekcie.
5. "The proportions of fatty acids from the group of n-3 and n-6 and the effect of vitamin E in the diet of chickens as an immunomodulatory factor - the effect on intestinal epithelial structure and concentration of eicosanoids". Kierownik projektu: dr hab. inż. Paweł Konieczka; grant PRELUDIUM nr DEC-2012/05/N/NZ9/01288. Wykonawca w projekcie.
6. "Effect of chicken meat with modified fatty acid composition on lipid metabolism in rats". Kierownik projektu: prof. dr hab. Stanisława Smulikowska. Wykonawca w projekcie.
7. Participation of obestatin in the regulation of somatotrophic hormone activity in sheep". Kierownik projektu: dr hab. Anna Wójcik-Gładysz. Wykonawca w projekcie.

8. "The impact of salsolinol on the amount of prolactin in the hypothalamus and its receptors in the hypothalamus and choroid plexus of the lambs". Kierownik projektu: mgr Małgorzata Hasię; grant PRELUDIUM nr 2012/05/N/NZ9/01581. Wykonawca w projekcie.
9. "The role of 43RF-amide in modulation of gonadotrophic axis secretory activity in sheep". Kierownik projektu: dr Bartosz Jarosław Przybył; grant PRELUDIUM nr 2019/33/N/NZ9/00287. Wykonawca w projekcie.
10. "Alternative *ex vivo* model of the hypothalamic-pituitary system – comparison with classic *in vivo* experiment. Phoenixin participations in the modulation of the gonadotrophic axis activity in sheep". Kierownik projektu: dr hab. Anna Wójcik-Gładysz; grant OPUS nr 2021/41/B/NZ9/00721. Wykonawca w projekcie.

7.3. Współpraca z jednostkami naukowymi.

1. W ramach realizacji wspólnego projektu badawczego, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, od 2022 r. prowadzona jest współpraca naukowa z Panem dr Dawidem Szczepankiewiczem i Panią dr hab. Ewą Pruszyńską-Oszmałek z Katedry Fizjologii, Biochemii i Biostruktury Zwierząt, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.
2. W ramach projektu po tytule „*Diminishing of perinatal depression risk in transforming European society*” złożonego w konkursie “HORIZON-HLTH-2022-STAYHLTH-01-two-stage”, jako kierownik jednego z zadań badawczych podjąłem współpracę z następującymi ośrodkami naukowymi, agencjami państwowymi, przedsiębiorstwami oraz organizacjami społecznymi:
 - Centre National De La Recherche Scientifique CNRS (Francja)
 - Universite De Montpellier (Francja)
 - Agencia Estatal Consejo Superior De Investigaciones Cientificas (Hiszpania)
 - Fundacion Biomedica Galicia SUR (Hiszpania)
 - Fundacion Para La Formacion E Investigacion De Los Profesionales De Lasalud De Extremadura Fundesalud (Hiszpania)
 - Fundacion Para La Investigacion Del Hospital Universitario La Fe De La Comunidad Valenciana (Hiszpania)
 - Servizo Galego De Saude (Hiszpania)
 - Viesoji Istaiga Vilniaus Universiteto Ligonine Santaros Klinikos (Litwa)
 - Riga Maternity Hospital (Łotwa)
 - Fundacja MY Pacjenci (Polska)
 - Instytut Genetyki I Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk (Polska)
 - Warszawski Uniwersytet Medyczny (Polska)
 - Universitatea De Medicina Si Farmacie Carol Davila Din Bucuresti (Rumunia)
 - Software Imagination & Vision SRL (Rumunia)
 - Novareckon SRL (Włochy)
 - Universita Degli Studi Di Torino (Włochy)
 - Societa' Psicoanalitica Italiana – SPI (Włochy)

3. Na podstawie porozumienia, od 2022 r. prowadzona jest ciągła współpraca z Panem profesorem dr hab. n. med. Krzysztofem Czajkowskim oraz Panią dr n. med. Magdaleną Broś-Konopielko z II Katedry i Kliniki Położnictwa i Ginekologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego w Warszawie. Współpraca ma na celu opracowanie i walidację nowej metody oznaczania zawartości BDNF techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej w próbkach pozyskanych od kobiet ciężarnych (oraz ich dzieci) w powiązaniu z czynnikami środowiskowymi (dieta, stan odżywienia, aktywność fizyczna, nietrzymanie moczu, czynniki psychologiczne).

4. W ramach projektu po tytule „*Nanostrukturalne rusztowania polimerowe reagujące na światło do wspomagania wzrostu kości*” złożonego w konkursie TECHMATSTRATEG III prowadzonym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, jako kierownik jednego z zadań badawczych podjąłem współpracę z następującymi ośrodkami naukowymi oraz przedsiębiorstwami:
 - Instytut Podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk
 - Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
 - Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii im. gen. K. Kaczkowskiego
 - Sygnis New Technology Sp. z o. o.

5. Na podstawie porozumienia z września 2024 r. prowadzona jest współpraca z Panem dr Krzysztofem Papisem i Panią dr Ewą Stachowiak z Przychodni Lekarskiej nOvum w Warszawie. Badania dotyczą projektu pod tytułem „Ocena przydatności do retransplantacji skrawków kory jajnika zamrożonych uprzednio w ramach programu ‘Onkofertility’” realizowanego przez Przychodnię nOvum.

7.4. Nagrody, wyróżnienia, stypendia.

1. **2022 r.** – Stypendium Ministra Edukacji i Nauki dla wybitnych młodych naukowców.
2. **2017 r.** – Nagroda za zajęcie trzeciego miejsca w konkursie na najlepsze rozprawy doktorskie w zakresie zootechniki przyznana przez Polskie Towarzystwo Zootechniczne.
3. **2017 r.** – “Meeting Grant” przyznany przez Europejskie Towarzystwo Endokrynologiczne.
4. **2016 r.** – Nagroda drugiego stopnia przyznana przez Dyrektora Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.

5. **2016 r.** – Wyróżnienie rozprawy doktorskiej przyznane przez Radę Naukową Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.
6. **2016 r.** – “Meeting Grant” przyznany przez Europejskie Towarzystwo Endokrynologiczne.
7. **2015 r.** – “Meeting Grant” przyznany przez Europejskie Towarzystwo Endokrynologiczne.
8. **Lata 2013-2015** – Stypendium naukowe za wybitne osiągnięcia naukowe w ramach prowadzonej działalności na Studium Doktoranckim, przyznane przez Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt Polskiej Akademii Nauk oraz Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk.

7.5. Udział w konferencjach naukowych.

1. Kurzyńska A., Bogacka I., Gąglewska M., Brągiel A., Szlis M. The effect of peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) ligands on the secretion of 17- β estradiol by porcine reproductive tissues during the estrous cycle; VI. Vedecká Konferencia Doktorandov s Medzinárodnou účasťou, Nitra, 25.04.2012
2. Szlis M., Wójcik-Gładysz A., The role of obestatin in the regulation of hormones of the hypothalamic-pituitary axis in mammals; III Copernicus Symposium of Life Sciences Students; Toruń, 22-24.03.2013
3. Szlis M., Misztal T., Wańkowska M., Romanowicz K., Polkowska J., Wójcik-Gładysz A. Obestatin affects the secretory activity of luteinizing hormone; XXII Symposium Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism; Kraków, 14-15.06.2013
4. Wójcik-Gładysz A., Wańkowska M., Misztal T., Romanowicz K., Gajewska A., Szlis M., Polkowska J. Ghrelin affect the growth hormone in prepubertal fasted lambs; XXII Symposium Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism; Kraków, 14-15.06.2013
5. Wójcik-Gładysz A., Wańkowska M., Misztal T., Romanowicz K., Gajewska A., Szlis M., Polkowska J. Effect of the intracerebroventricular infusions of ghrelin on the secretory activity of the gonadotrophic axis in fasted prepubertal lambs”, XXII Symposium Molecular and Physiological Aspects of Regulatory Processes of the Organism; Kraków, 14-15.06.2013
6. Konieczka P., Cieślak M., Chmielewska N., Szlis M., Barszcz M., Smulikowska S. Fatty acids and vitamin E as an immune system modulating agents of broiler chickens; I

- Conference of Young Scientists „Biotechnology in animal production”; Warszawa, 24-25.04.2014
7. Konieczka P., Barszcz M., Staśkiewicz Ł., Chmielewska N., Cieślak M., Szlis M., Smulikowska S. Dietary fat source and vitamin E supplementation as factors modulating immune system of broiler chicken; XIVth European Poultry Conference, Stavanger, Norwegia, 23-27.06.2014
 8. Szlis M., Wójcik-Gładysz A., Polkowska J., Wańkowska M., Misztal T., Romanowicz K. Effect of intracerebroventricular ghrelin administered on secretory activity of prepubertal ovine follicle cells; VII Annual Conference of the Polish Society of Reproductive Biology; Toruń, 11-13.09.2014
 9. Wójcik-Gładysz A., Polkowska J., Gajewska A., Misztal T., Romanowicz K., Szlis M. Effect of intracerebroventricular ghrelin administered on the GnRH/LH system secretory activity in prepubertal sheep; VII Annual Conference of the Polish Society of Reproductive Biology; Toruń, 11-13.09.2014
 10. Wójcik-Gładysz A., Gajewska A., Misztal T., Romanowicz K., Szlis M., Polkowska J. The effect of intracerebroventricular infusions of obestatin on the secretory activity of luteinizing hormone in the pituitary in prepubertal female lambs. (preliminary results); IV Annual Conference of the Polish Society of Neuroendocrinology; Łódź, 10-11.10.2014; *Endokrynologia Polska*, 5 (65), 415-439
 11. Wójcik-Gładysz A., Polkowska J., Wańkowska M., Gajewska A., Szlis M., Misztal T. Gonadotropic and somatotrophic axis activity in sheep: the role of orexigenic and anorexigenic peptides; II Scientific Workshop, Jabłonna, 22-23.10.2014
 12. Szlis M., Wójcik-Gładysz A., Krawczyńska A., Polkowska J. Neuromodulating impact of obestatin on GnRH/LH system secretory activity in prepubertal sheep; Preliminary results; II Scientific Workshop, Jabłonna, 22-23.10.2014
 13. Konieczka P., Cieślak M., Szlis M., Chmielewska N., Smulikowska S. Dietary fat source and vitamin E level affect the humoral immunity in broilers. Proc. 20th European Symposium on Poultry Nutrition, Prague, Czech Republic, 24-27.08.2015
 14. Szlis M., Krawczyńska A., Polkowska J., Wójcik-Gładysz A. Neuromodulatory influence of obestatin on GnRH/LH axis activity and NPY gene expression in peripubertal sheep; ESDAR 2015, Varna, Bułgaria, 16-19.09.2015
 15. Szlis M., Krawczyńska A., Cieślak M., Polkowska J., Wójcik-Gładysz A. Neuromodulatory influence of obestatin on somatotrophic axis activity and NPY gene expression in peripubertal sheep; 3rd EYES Meeting, Modena, Włochy, 23-26.09.2015

16. Konieczka P., Barszcz M., Szlis M., Chmielewska N., Cieślak M., Smulikowska S. Dietary ratio of n-6/n-3 fatty acids and vitamin E level alter immune system in broiler chickens; Recent Advances in Animal Nutrition - Australia (2015) Abstracts (Ed RA Swick) pp. 61-62. J. Animal Science, School of Environmental and Rural Science, University of New England, Armidale, NSW 235 Australia. 10.2015
17. Hasiec M., Szlis M., Górski K., Chmielewska N., Romanowicz K., Misztal T. Prolactin receptors mRNA expression in selected brain regions of lactating sheep; The 4th winter workshop of the society for biology of reproduction, Zakopane, Polska, 31-02.02.2016
18. Szlis M., Polkowska J., Wójcik-Gładysz A. Neuromodulacyjne oddziaływanie obestatyny na aktywność hormonów osi gonadotropowej u owiec. Symposium „Rozwój badań w naukach o zwierzętach”, Balice, Polska, 19-20.05.2016
19. Szlis M., Polkowska J., Wójcik-Gładysz A. Can obestatin modulate the GnRH neurons activity? 4th EYES Meeting, Moskwa, Rosja; Problems of Endocrinology, 62, 49-50, DOI: 10.14341/probl201662549-50
20. Szlis M., Przybył B.J., Wójcik-Gładysz A. BDNF a new "agent" in the hypothalamic appetite regulating network and modulator of the KNDy neurons activity. Preliminary results; 5th EYES Meeting, Porto, Portugal, 8-10.09.2017
21. Przybył B.J., Szlis M., Wójcik-Gładysz A. BDNF - possible action on the GnRH/LH axis activity; 5th EYES Meeting, Porto, Portugal, 8-10.09.2017
22. Przybył B.J., Szlis M., Wójcik-Gładysz A. Rola neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (BDNF) w modulacji podwzgórzowej sieci regulującej apetyt. Symposium sprawozdawcze, Wierzba, Poland, 18-20.06.2018
23. Przybył B.J., Szlis M., Wójcik-Gładysz A. BDNF - a central modulator of the GnRH/LH axis activity. Warsztaty Naukowe, Jabłonna, Poland, 14.09.2018
24. Wójcik-Gładysz A., Szlis M., Przybył B.J. BDNF - possible action on the somatotrophic axis activity. Warsztaty Naukowe, Jabłonna, Poland, 14.09.2018
25. Przybył B.J., Szlis M., Wójcik-Gładysz A. BDNF - a central modulator of the GnRH/LH axis activity. V Zjazd Towarzystwa Neuroendokrynologicznego, Kraków, Poland, 21-22.09.2018
26. Wójcik-Gładysz A., Szlis M., Przybył B.J. BDNF - possible action on the somatotrophic axis activity. V Zjazd Towarzystwa Neuroendokrynologicznego, Kraków, Poland, 21-22.09.2018

27. Szlis M., Przybył B.J., Wójcik-Gładysz A. Profiling of miRNA expression in sheep hypothalamus after BDNF treatment. V Zjazd Towarzystwa Neuroendokrynologicznego, Kraków, Poland, 21-22.09.2018
28. Przybył B.J., Szlis M., Wójcik-Gładysz A. The neuroendocrine regulation of energy homeostasis and reproduction, the role of brain-derived neurotrophic factor. Preliminary results. XVI Konferencja Młodych, Warszawa, Poland, 26-28.09.2018
29. Szlis M., Przybył B.J., Wójcik-Gładysz A. Expression of miRNAs in sheep hypothalamus after intracerebroventricular infusion of brain-derived neurotrophic factor. Preliminary results. XVI Konferencja Młodych, Warszawa, Poland, 26-28.09.2018.
30. Przybył B.J., Wysoczański B., Szlis M., Pałatyńska K., Wójcik-Gładysz A. 43RF-amide - possible action on the FSH pituitary cells secretory activity. Preliminary results. VI Zjazd Polskiego Towarzystwa Neuroendokrynologii. Łódź, 18-19.11.2022.
31. Przybył B.J., Pałatyńska K., Szlis M., Wysoczański B., Wójcik-Gładysz A. Does 43RF-amide can modulate the pituitary LH cells secretory activity in sheep? Preliminary results. VI Zjazd Polskiego Towarzystwa Neuroendokrynologii. Łódź, 18-19.11.2022.
32. Pałatyńska K., Przybył B.J., Szlis M., Wysoczański B., Wójcik-Gładysz A. Does 43RF-amide modulate the pituitary gonadotrophe cells secretory activity in sheep? Preliminary results. 2nd International Scientific Conference: Livestock Production: Recent Trends and Future Prospects. Kovno, Lithuania, 16.11.2022.
33. Białek M., Przybył B.J., Białek A., Szlis M., Wojtak W., Wójcik-Gładysz A., Czuderna M. Zawartość substratów i produktów biouwodorowania w treści wybranych odcinków przewodu pokarmowego i tkankach owiec, otrzymujących dokomorowe infuzje 43RFamidu – badania pilotażowe. XXVI Warsztaty Zootechniczne „Nowe wyzwania w hodowli i chowie zwierząt w praktyce”. Kalsk. 07-08.10.2023.
34. Kowalczyk P., Koszelewski D., Misztal T., Szlis M., Gołębiewski M., Świątek M., Rant W., Kramkowski K., Kocot M., Marczyk M., Wypych A., Ostaszewski R. Transfer of CF3-coumarin derivatives with potential antibacterial and anticanceractivity from blood to the cerebrospinal fluid in sheep. XXVII Gliwice Scientific Meetings. Gliwice, November 16-17, 2023.
35. Przybył B.J., Szlis M., Pałatyńska K., Wysoczański B., Wójcik-Gładysz A. The neuroendocrine regulation of reproduction, the role of QRFP43. X Zjazd Towarzystwa Biologii Rozrodu, Warszawa. 12-14.09.2024.
36. Wysoczański B., Przybył B.J., Szlis M., Pałatyńska K., Wójcik-Gładysz A. The development of *ex vivo* hypothalamic-pituitary model. An alternative approach to *in vivo*

- neuroendocrinological studies. X Zjazd Towarzystwa Biologii Rozrodu, Warszawa. 12-14.09.2024.
37. Pałatyńska K., Szlis M., Przybył B.J., Wysoczański B., Wójcik-Gładysz A. The possible effect of phoenixin on the pituitary gonadotrophic cells secretory activity in sheep. Preliminary results. X Zjazd Towarzystwa Biologii Rozrodu, Warszawa. 12-14.09.2024.
38. Szlis M., Przybył B.J., Pałatyńska K., Wysoczański B., Wójcik-Gładysz A. QRFP43 in modulations of HPT axis activity. X Zjazd Towarzystwa Biologii Rozrodu, Warszawa. 12-14.09.2024.

7.6. Dane bibliometryczne.

Dorobek naukowy obejmuje 21 recenzowanych publikacji naukowych, w tym:

- 18 prac naukowych opublikowanych w czasopismach z listy filadelfijskiej (17 prac oryginalnych i dwie prace przeglądowe);
- jedna recenzowana praca przeglądowa w czasopiśmie o zasięgu krajowym;
- jedna recenzowana monografia naukowa.

Dane bibliometryczne obejmujące podział na okres przed i po uzyskaniu stopnia doktora zostały zaprezentowane w tabeli poniżej (stan na 28.08.2025 r.).

Tabela 1. Dane bibliometryczne.

Dane bibliometryczne przed uzyskaniem stopnia doktora			Dane bibliometryczne po uzyskaniu stopnia doktora		
	Według bazy Scopus	Według bazy Web of Science		Według bazy Scopus	Według bazy Web of Science
Liczba cytowań	9	9	Liczba cytowań	149	143
Liczba cytowań bez autocytacji	0	0	Liczba cytowań bez autocytacji	89	87
Indeks H	3	3	Indeks H	8	8
Sumaryczny Impact Factor*	3.843		Sumaryczny Impact Factor*	55.271	
Suma punktów ministerialnych**	65		Suma punktów ministerialnych**	1760	

* zgodnie z rokiem opublikowania danej pracy

** zgodnie z punktacją czasopisma w roku opublikowania danej pracy

7.7. Lista publikacji przed uzyskaniem stopnia doktora.

7.7.1. Publikacje recenzowane.

1. Wójcik-Gładysz A., Wańkowska M., Gajewska A., Misztal T., Zielińska-Górska M., **Szlis M.**, Polkowska J. Effects of intracerebroventricular infusions of ghrelin on secretion of follicle-stimulating hormone in peripubertal female sheep. 2016. *Reproduction, Fertility and Development*, 28, 2065-2074.
2. Wójcik- Gładysz A., **Szlis M.** Hypothalamo - gastrointestinal axis - role in regulation of food intake. 2016. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 25, 97-108.
3. **Szlis M.***, Wójcik-Gładysz A. Neuromodulatory action of obestatin on the secretory activity of the hypothalamicpituitary axis. 2014. *Acta Biologica*, 21, 125-134.
4. Wójcik-Gładysz A., Wańkowska M., Gajewska A., Misztal T., **Szlis M.**, Polkowska J. The effect of intracerebroventricular infusions of ghrelin on the secretory activity of the GnRH/LH system in peripubertal female sheep. 2014. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 23, 299-308.

7.7.2. Publikacje popularnonaukowe

1. **Szlis M.**, 2013. PPAR receptors importance for regulation of reproductive processes; www.biotechnologia.pl
2. **Szlis M.**, 2013. Methods of evaluation of aflatoxyn content in food products; www.biotechnologia.pl
3. **Szlis M.**, 2013. Biodegradation of food products' wraps and packages; www.biotechnologia.pl
4. **Szlis M.**, 2013. Current issues in Flash Chromatography; www.biotechnologia.pl
5. **Szlis M.**, 2013. Effects of obestatin on the endocrine system; www.biotechnologia.pl

7.8. Lista publikacji po uzyskaniu stopnia doktora.

7.8.1. Publikacje recenzowane.

1. **Szlis M.**, Wójcik-Gładysz A., Gajewska A., Przybył B.J. The Mystery Actor in the Neuroendocrine Theater: Who Really Knows Obestatin? Central Focus on Hypothalamic–Pituitary Axes. 2025. *International Journal of Molecular Sciences*, 26, 7395
2. **Szlis M.**, Przybył B.J., Wójcik-Gładysz A. QRFP43 modulates somatotrophic axis activity in female sheep. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34, 4
DOI:10.22358/jafs/204469/2025
3. Przybył B.J., **Szlis M.***, Misztal A., Wójcik-Gładysz A. QRFP43 modulates the activity of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in female sheep. 2025. *Scientific Reports*, 15, 1085
4. Roszkowicz-Ostrowska K., Młotkowska P., Marciniak E., **Szlis M.**, Barszcz M., Misztal T. Activation of BDNF–Trkb signaling in specific structures of the sheep brain by kynurenic acid. 2024. *Cells*, 13, 1928.
5. **Szlis M.**, Przybył B.J., Pałatyńska K., Wójcik-Gładysz A. QRFP43 modulates the activity of the hypothalamic appetite regulatory centre in sheep. 2024. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 33, 281-286.
6. Przybył B. J., **Szlis M.***, Wysoczański B., Wójcik-Gładysz A. The role of QRFP43 in the secretory activity of the gonadotrophic axis in female sheep. 2024. *Scientific Reports*, 14, 8989.
7. Lepionka T., Białek M., Czauderna M., **Szlis M.**, Białek A. Lipidomic profile and enzymes activity in hepatic microsomes of rats in physiological and pathological conditions. 2022. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 442.
8. Przybył B.J., **Szlis M.***, Wójcik-Gładysz A. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) affects the activity of the gonadotrophic axis in sheep. 2021. *Hormones and Behaviour*, 131, 104980.
9. Przybył B.J., **Szlis M.***, Wójcik-Gładysz A. Brain-derived neurotrophic factor affects mRNA and miRNA expression of the appetite regulating centre in the sheep arcuate nucleus. 2020. *Annals of Animal Science*, 3, 853-869.
10. **Szlis M.**, Wójcik-Gładysz A., Przybył B.J. Central obestatin administration affect the LH and FSH secretory activity in peripubertal sheep. 2020. *Theriogenology*, 145, 10-17.

11. Konieczka P., Barszcz M., Kowalczyk P., **Szlis M.**, Jankowski J. The potential of acetylsalicylic acid and vitamin E in modulating inflammatory cascades in chickens under lipopolysaccharide-induced inflammation. 2019. *Veterinary Research*, 50, 1004.
12. Misztal T., Hasiec M., **Szlis M.**, Tomaszewska-Zaremba D., Marciniak E. Stimulatory effect of dopamine derivative, salsolinol, on pulsatile luteinizing hormone secretion in seasonally anestrous sheep: Focus on dopamine, kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone. 2019. *Animal Reproduction Science*, 208, 106102.
13. Wójcik-Gładysz A., **Szlis M.***, Przybył B.J., Polkowska J. Obestatin may affect the GnRH/LH gene network in sheep hypothalamus. 2018. *Research in Veterinary Science*, 123, 51-58.
14. **Szlis M.**, Polkowska J., Skrzeczyńska E., Przybył B.J., Wójcik-Gładysz A. Does obestatin modulate the hypothalamic appetite-regulating network in peripubertal sheep. 2018. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102, 690-700.
15. Wójcik-Gładysz A., **Szlis M.***, Misztal A., Przybył B.J., Polkowska J. Obestatin stimulates the somatotrophic axis activity in sheep. 2018. *Brain Research*, 1678, 278-287.
16. Hasiec M., **Szlis M.**, Chmielewska N., Górski K., Romanowicz K., Misztal T. Effect of salsolinol on ACTH and cortisol response to handling stress in early-anestrous sheep. 2017. *Czech Journal of Animal Sciences*, 62, 130-139.
17. Konieczka P., Barszcz M., Chmielewska N., Cieślak M., **Szlis M.**, Smulikowska S. Interactive effects of dietary lipids and vitamin E level on performance, blood eicosanoids, and response to mitogen stimulation in broiler chickens of different ages. 2017. *Poultry Science*, 92, 359-369.

7.8.2. Recenzowane monografie naukowe.

1. Gajewska A., **Szlis M.**, Wójcik-Gładysz A. 2016. Centralna regulacja rozrodu i pobierania pokarmu. Wybrane aspekty (2016) str. 1-125; ISBN 978-83-945468-0-9



.....
(podpis wnioskodawcy)

