



**WYDZIAŁ
MEDYCYNY
WETERYNARYJNEJ**

Autoreferat

Ocena wybranych parametrów nieswoistej odporności komórkowej i roli alergeno-swoistych przeciwciał IgE w diagnostyce nadwrażliwości skórnych tła immunologicznego u koni.

Dr n. wet. Piotr Wilkołek

Zakład Diagnostyki Klinicznej i Dermatologii Weterynaryjnej

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Lublin, 2020

1. Imię i nazwisko:

Piotr Marian Wilkołek

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania:

- stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych, specjalność dermatologia weterynaryjna, nadany uchwałą Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie w dniu 24 marca 2005; tytuł rozprawy doktorskiej: „Badania doświadczalne nad kontaktowymi właściwościami uczulającymi pochodnych tioamidów u świnek morskich” (promotor Prof. dr hab. Zbigniew J.H. Pomorski; Recenzenci: Prof. dr hab. Adam Stec, Prof. dr hab. Andrzej Depta).

- tytuł: lekarz weterynarii (dyplom lekarza weterynarii nr 27531 z dnia 18.06.1999 r.) wydany przez Akademię Rolniczą w Lublinie.

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych:

2006 do chwili obecnej – adiunkt – Zakład Diagnostyki Klinicznej i Dermatologii Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie (do 2008 r. Akademia Rolnicza w Lublinie).

2003-2005 – asystent – Zakład Diagnostyki Klinicznej i Dermatologii Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie (do 2008 r. Akademia Rolnicza w Lublinie).

1999-2002 – asystent – Zakład Diagnostyki Klinicznej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie (do 2008 r. Akademia Rolnicza w Lublinie).

4. Wskazanie i omówienie osiągnięcia wynikającego z art. 219 ust. 1 pkt 2 lit. b ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.)

4.1. Osiągnięciem naukowym jest jednotematyczny cykl 6 publikacji objęty tytułem:

Ocena wybranych parametrów nieswoistej odporności komórkowej i roli alergenowo-swoistych przeciwciał IgE w diagnostyce nadwrażliwości skórnych tła immunologicznego u koni.

Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe:

4.1.1. Piotr Wilkołek, Marcin Szczepanik, Marcin Gołyński, Łukasz Adamek, Agnieszka Pomorska, Mirosława Maj-Martyniuk, Wiesław Sitkowski. The evaluation of selected parameters of cellular nonspecific immunity in normal and allergic horses. Pol. J. Vet. Sci. 2011, Vol. 14 No. 2, s. 287-288.

IF: 0,565; 20 pkt MNISW

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, nadzorowaniu pracy zespołu wykonującego badania, kwalifikacji materiału, przeprowadzeniu oznaczeń, analizie wyników, oraz przygotowaniu tekstu manuskryptu (autor korespondencyjny).

Mój udział szacuję na 84%.

4.1.2. Piotr Wilkołek, Zbigniew Pomorski, Marcin Szczepanik, Łukasz Adamek, Michał Pluta, Iwona Taszkun, Marcin Gołyński, Anna Rozwód, Wiesław Sitkowski. Assessment of serum levels of allergen-specific immunoglobulin E in different seasons and breeds in healthy horses. Pol. J. Vet. Sci. 2014, Vol. 17 No. 2, s. 331-337.

IF: 0,604; 20 pkt MNISW

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, przeprowadzeniu oznaczeń, analizie otrzymanych wyników, a także przygotowaniu tekstu manuskryptu (autor korespondencyjny).

Mój udział procentowy szacuję na 86%.

4.1.3. Piotr Wilkołek, Wiesław Sitkowski, Marcin Szczepanik, Łukasz Adamek, Michał Pluta, Iwona Tazskun, Marcin Gołyński, Anna Malinowska. Comparison of serum concentrations of environmental allergen-specific IgE in atopic and healthy (nonatopic) horses. Pol. J. Vet. Sci. 2017, Vol. 20 Nr 4, s. 793-798.

IF: 0,839 20 pkt MNISW

Mój wkład w powstanie pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, koordynacji ich realizacji, nadzorowaniu pracy zespołu wykonującego badania, interpretacji wyników badań, napisaniu i przetłumaczeniu wstępnej wersji manuskryptu oraz przeprowadzeniu procesu edytorskiego (autor korespondencyjny).

Mój udział procentowy szacuję na 85%.

4.1.4. Piotr Wilkołek, Marcin Szczepanik, Wiesław Sitkowski, Łukasz Adamek, Michał Pluta, Iwona Tazskun, Marcin Gołyński. A comparison of intradermal skin testing and serum insect allergen-specific IgE determination in horses with insect bite hypersensitivity from 2008-2016. J. Equine Vet. Sci. 2019, 75, 65-68.

IF: 0,880 70 pkt MNISW

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, przeprowadzeniu oznaczeń, analizie otrzymanych wyników, a także przygotowaniu tekstu manuskryptu (autor korespondencyjny).

Mój udział procentowy szacuję na 82%.

4.1.5. Piotr Wilkołek, Marcin Szczepanik, Wiesław Sitkowski, Beata Rodzik, Michał Pluta, Iwona Tazskun, Marcin Gołyński. Evaluation of multiple allergen simultaneous (slgE) testing compared to intradermal testing in the etiological diagnosis of atopic dermatitis in horses. J Vet. Sci. 2019;20:e60.

IF: 1.5 100 pkt MNISW

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, nadzorowaniu pracy zespołu wykonującego badania, kwalifikacji materiału, przeprowadzeniu oznaczeń, analizie wyników, oraz przygotowaniu tekstu manuskryptu (autor korespondencyjny).

Mój udział szacuję na 86%.

4.1.6. Piotr Wilkołek, Marcin Szczepanik, Beata Rodzik, Wiesław Sitkowski, Michał Pluta, Iwona Taszkun, Marcin Gołyński. A comparison of multiple allergen simultaneous tests (MASTs) using allergen-specific IgE concentration and intradermal skin tests in atopic horses with pollen allergy. J Equine Vet. Sci. 2020, 90, 102992.

IF: 0,927 70 pkt MNISW

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji badań, nadzorowaniu pracy zespołu wykonującego badania, kwalifikacji materiału, przeprowadzeniu oznaczeń, analizie wyników, oraz przygotowaniu tekstu manuskryptu (autor korespondencyjny).

Mój udział szacuję na 85%.

Łączna punktacja 6 prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji, zgodnie z rokiem ich opublikowania, wynosi:

- według listy czasopism punktowanych MNiSW: **300 pkt.**

- sumaryczny Impact Factor (IF) według listy JCR: **5,315**

Fotokopie publikacji oraz oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstaniu pracy znajdują się w załącznikach 4 i 5.

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

Podjęcie pracy w Katedrze Chorób Wewnętrznych Zwierząt wiązało się z zainteresowaniami dotyczącymi dermatologii weterynaryjnej i szczególnym działem obejmującym problematykę alergologii u zwierząt towarzyszących. Choroby o podłożu immunologicznym, a zwłaszcza alergie są jednym z głównych problemów zdrowotnych stwierdzanych obecnie u ludzi (Mueller i wsp. 2016, Agache i wsp. 2019), a odsetek dermatoz tła alergicznego u zwierząt w ostatnich latach wzrasta. Do najczęstszych chorób alergicznych u ludzi zalicza się atopowe zapalenie skóry, astmę oskrzelową, nieżyt nosa, anafilaksję, alergię na leki, pokarmy i owady, wyprysk kontaktowy, pokrzywka i obrzęk naczyńioruchowy. Zgodnie z danymi Światowej Organizacji Alergii (WAO) przynajmniej jedną chorobą alergiczną objętych

jest 10-40% globalnej populacji ludzkiej na świecie (Pawankar 2014). W populacji zwierząt różnych gatunków (psy, konie, koty), jak podają dane literaturowe, w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat odsetek zwierząt, u których rozpoznaje się chorobę o podłożu alergicznym, w szczególności atopowe zapalenie skóry, ciągle wzrasta (Kang i wsp. 2014, Jensen-Jarolim i wsp. 2015, Loeffler i wsp. 2018).

W większości definicji chorób alergicznych, biorąc pod uwagę patomechanizm ich rozwoju, podkreśla się istotność alergeno-swoistych przeciwciał klasy E (sIgE) u ludzi. Alergiczny nieżyt nosa (ANN) jest następstwem stanu zapalnego błony śluzowej nosa mediowanego przez IgE. Termin „alergiczne zapalenie spojówek” obejmuje różne odrębne jednostki chorobowe, począwszy od łagodnych, chociaż kłopotliwych postaci zależnej od IgE nadwrażliwości na alergeny wziewne, aż do zapalenia spojówki i rogówki przebiegających z ciężkim zapaleniem alergicznym i z zajęciem rogówki. Atopia, czyli genetyczna predyspozycja do rozwoju nadwrażliwości na powszechnie występujące alergeny wziewne z udziałem IgE, jest najczęściej wykrywanym czynnikiem predysponującym do rozwoju astmy, zwłaszcza u dzieci. Nie u każdego osobnika z klinicznymi objawami alergii da się wykazać udział sIgE i ocenia się, że uczulenie (przeciwciała IgE) przeciw obcym białkom środowiskowym występuje w prawie 40% populacji (Agache i wsp. 2019). W przeciwieństwie do ludzi, u których zdecydowana większość przypadków IgE-zależnej alergii dotyczy dróg oddechowych, u zwierząt głównym docelowym narządem predysponowanym do rozwoju nadwrażliwości jest skóra. Podobnie wykazano, że sIgE są odpowiedzialne za reakcje nadwrażliwości u psów, kotów i koni z silnym powinowactwem do łączenia z receptorem FcεRI na powierzchni mastocytów, bazofilów, komórek dendrytycznych, keratynocytów i monocytów (Hammerberg i Eguiluz-Hernandez 2017).

W dalszym ciągu duże zainteresowanie wzbudza leczenie przyczynowe alergii, jakim jest immunoterapia swoista (ang. allergen-specific immunotherapy; ASIT; odczulanie), które pozwala obniżyć dawki leków lub całkowicie leki wyeliminować. Poprawia to jakość życia ludzi i dobrostan zwierząt oraz zapobiega niepożądanym reakcjom polekowym (Jose-Cunilleras 2001, Wagner 2008). Badania w zakresie alergologii i immunologii doprowadziły także do opracowania innych, nowych metod terapeutycznych w tym leków biologicznych, jakimi są przeciwciała monoklonalne anty-IgE (Pawankar i wsp. 2011). Warunkiem właściwie prowadzonej ASIT jest prawidłowo dobrany zestaw alergenów, które mają w danym przypadku

zasadnicze znaczenie w prowokowaniu reakcji nadwrażliwości (Wagner 2016). Etiologiczna diagnostyka alergii u ludzi i zwierząt bazuje obecnie na testach *in vivo* (testy naskórne, testy skórne punktowe, testy śródskórne) oraz testach *in vitro*, z których najbardziej miarodajne są test degranulacji bazofilów i oznaczenie stężeń (poziomu) sIgE. Wynika to z wyżej wymienionych uwarunkowań rozwoju alergii, zależnych od tej klasy przeciwciał (Wagner 2009a). Najbardziej rozpowszechnione są testy oparte na oznaczaniu sIgE w surowicy, co jest podyktowane także czynnikami praktycznymi. Oznaczanie poziomu sIgE w surowicy jest więc kluczowym i mającym perspektywę rozwoju badaniem diagnostycznym podczas procesu rozpoznawania przyczyn alergii na czynniki środowiskowe (Wagner 2016). Najbardziej rozpowszechnioną metodą oznaczeń u zwierząt jest metoda ELISA (Kalina i wsp. 2003), natomiast u ludzi opiera się obecnie na wykorzystaniu wieloalergenowych platform, gdzie używane są oczyszczone naturalne alergeny lub modyfikowane molekularnie rekombinanty alergenów (ich komponenty). Tak szeroki zakres badań prowadzi do mapowania danego osobnika pod kątem możliwych nadwrażliwości, co ułatwia dobór kierunku badań dodatkowych czy podjęcie leczenia. Platformy oznaczające panele alergenowe (np. 130 epitopów) dają możliwości oceny uczuleń na liczne alergeny w ciągu krótkiego czasu w niewielkiej objętości surowicy, co ułatwia szeroki zakres diagnostyki. Chociaż wielu alergologów nadal uważa za „złoty standard” metody *in vivo* jak testy skaryfikacyjne czy punktowe, to coraz częściej testy *in vitro* stopniowo zastępują w praktyce testy skórne ze względu na wysoką czułość i swoistość wyników badań. Obecnie trwają intensywne badania nad alergenami rekombinowanymi również u zwierząt, które mogą znaleźć zastosowanie w diagnostyce, jak i leczeniu, z użyciem gotowych komercyjnych szczepionek zawierających pełne alergeny lub alergeny zmodyfikowane chemicznie, które charakteryzują się lepszą skutecznością i bezpieczeństwem immunoterapii (Van der Meide i wsp. 2014).

Koń jest szczególnym gatunkiem, u którego rozpoznawanych jest kilka chorób tła alergicznego: atopowe zapalenie skóry (AD), nadwrażliwość na alergeny owadów (IBH), obturacja górnych dróg oddechowych (RAO) i może służyć jako gatunek modelowy w badaniach nad różnymi rodzajami alergii (Stepnik i wsp. 2012, Tilley i wsp. 2012, Verdon i wsp. 2019). W przeciwieństwie do danych literaturowych autorów zagranicznych w Polsce istnieje niewiele danych epizootycznych

oceniających występowanie alergii u koni oraz czynników etiologicznych atopowego zapalenia skóry u tego gatunku, z wyjątkiem doniesień opartych na nielicznej grupie zwierząt (Wilkołek i wsp. 2017). Podobnie jak ma to miejsce u ludzi, psów i kotów, u koni ważną rolę w reakcjach typu natychmiastowego odgrywają alergeno-specyficzne immunoglobuliny klasy E, które mogą być determinowane czynnikami genetycznymi (Eder i wsp. 2001, Wagner i wsp. 2006). Wyniki oparte na ich oznaczaniu dają podstawę do wyboru alergenów w immunoterapii swoistej i decydują o skuteczności leczenia długoterminowego. Ich poziom spada podczas immunoterapii, co decyduje o zmniejszeniu nasileniu objawów alergii (Radwanski i wsp. 2019). Podobnie, jak u ludzi i innych gatunków zwierząt, obecność sIgE obserwowana była zarówno u koni chorych, jak i zwierząt klinicznie zdrowych (Frey i wsp. 2008, Roque i wsp. 2011). Dlatego kluczowa jest ocena znaczenia i wiarygodności testów serologicznych, szczególnie tych, opierających się na metodach stosowanych uniwersalnie i obecnie szybko rozwijających się w alergologii ludzi i zwierząt. Współpracując z Katedrą Hodowli i Użytkowania Koni, Wydziału Biologii Nauki o Zwierzętach i Biogospodarki UP w Lublinie, obecnie prowadzę wielokierunkowe badania dotyczące szeroko pojętej nadwrażliwości na alergeny środowiskowe u różnych ras koni w kontekście etiologicznej diagnostyki alergologicznej chorób skóry w celu wytypowania alergenów odpowiedzialnych za rozwój uczuleń w Polsce i opracowania skutecznych metod leczenia. Dla pewnych grup alergenów, występujących globalnie jak roztocza magazynowe lub domowe, badania mogą mieć istotne aplikacyjne zastosowanie w ustaleniu czynników alergizacji na świecie, dla innych zaś np. w przebiegu pyłkownic głównie dla obszarów Europy Północnej i Środkowej. Badania te stanowią podstawę wyników ujętych w cyklu powiązanych tematycznie publikacji. Cele badawcze w poszczególnych pracach obejmowały:

- ocenę nieswoistych mechanizmów komórkowych u atopowych koni poprzez porównanie wybranych parametrów odpowiedzi komórkowej u koni zdrowych i alergicznych;
- określenie skali potencjalnej zmienności sezonowej i rasowej poziomów alergeno-swoistych przeciwciał klasy E u koni zdrowych w różnych porach roku i u wybranych ras koni;

- ocenę częstości i możliwości zidentyfikowania czynników etiologicznych atopowego zapalenia skóry w Polsce oraz znaczenia sIgE w reakcjach nadwrażliwości skórnej, poprzez badania porównawcze sIgE u koni atopowych i zdrowych;
- oszacowanie znaczenia sIgE i możliwości ich oznaczeń u koni z nadwrażliwością na alergeny owadów, poprzez badanie zgodności wyników testów *in vivo* i *in vitro*.
- ocenę istotności poszczególnych gatunków roztoczy jako alergenów oraz zgodności i wiarygodności wyników testów *in vivo* i *in vitro* (sIgE) u koni z atopowym zapaleniem skóry w alergizacji roztoczowej;
- ocenę roli sIgE u koni z atopowym zapaleniem skóry w pyłkowicach oraz wiarygodności wyników testów *in vivo* i *in vitro*.

4.2.1. Opis szczegółowy prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wraz z omówieniem wyników:

Praca 4.1.1. Piotr Wilkołek, Marcin Szczepanik, Marcin Gołyński, Łukasz Adamek, Agnieszka Pomorska, Mirosława Maj-Martyniuk, Wiesław Sitkowski. The evaluation of selected parameters of cellular nonspecific immunity in normal and allergic horses. Pol. J. Vet. Sci. 2011, Vol. 14 No. 2, s. 287-288.

W przebiegu chorób alergicznych, a w szczególności alergodermatoz u zwierząt, dochodzi do zaburzeń tła immunologicznego - komórkowego i humoralnego. Układ immunologiczny koni cechuje silna nadwrażliwość na alergeny środowiskowe, a objawia się atopowym zapaleniem skóry, alergią na antygeny owadów, rzadziej zaś na alergeny pokarmowe i leki. Klinikznymi postaciami powyższych zaburzeń są pokrzywka i obrzęk naczynioruchowy, nawrotowy ciągły lub sezonowy świąd skóry, zespoły oddechowe przebiegające z dusznością i kaszlem. Ostre postaci alergii są poważnym czynnikiem stresogennym i predysponują do zakażeń bakteryjnych, co może wpływać na status immunologiczny tych zwierząt, w tym odporność komórkową (Chammas i Hagiwara, 1998, Escribano i wp. 2005). Badania własne obejmowały więc ocenę porównawczą wybranych parametrów nieswoistej odpowiedzi komórkowej u koni z różnymi postaciami i nasileniem alergii oraz koni zdrowych. Do grupy zwierząt chorych (AH) włączono 14 koni rasy Małopolskiej i koni półkrwi, z czego w połowie przypadków na podstawie przeprowadzonych testów śródskórnych (Agroskin 20 Horse Panel; Agrolabo, Italy)

stwierdzono polisensibilizację na roztocza magazynowe i domowe, pyłki roślin traw i drzew oraz grzyby pleśniowe i rozpoznano atopowe zapalenie skóry, w połowie zaś dodatnie reakcje na alergeny owadów (ang. insect bite hypersensitivity; IBH). Ważnym elementem procesu diagnostycznego, oprócz wykonania testów śródskórnych, była ocena przebiegu choroby, reakcja na wcześniejsze leczenie oraz wykluczenie innych dermatoz świądowych. Ze względu na nasilenie przebiegu choroby w badaniach własnych podzielono zwierzęta na te z łagodnymi (AH1) i ciężkimi objawami alergii (AH2) na podstawie EDESI (ang. Equine Dermatitis Extent and Severity Index), zmodyfikowanej i dostosowanej metody oceny klinicznej przebiegu choroby do specyfiki zmian skórnych u koni. Grupę koni zdrowych, jako grupę kontrolną, stanowiło 12 zwierząt rasy Małopolskiej, u których nie stwierdzono objawów wskazujących na występowanie alergii i innych chorób układowych oraz nie wykazujących reakcji dodatnich w testach śródskórnych z wyjątkiem histaminy. U wszystkich zwierząt z pełnej krwi żyłnej wykonano oznaczenie parametrów nieswoistej odpowiedzi komórkowej poprzez ocenę aktywności metabolicznej granulocytów obojętnochłonnych krwi obwodowej z zastosowaniem testu spontanicznego NBT, stymulowanego NBTs oraz oznaczeniem indeksu fagocytarnego (IF) i procentu komórek fagocytujących (% KF). Analiza porównawcza wartości NBT i NBTs wskazała zaburzenia aktywności metabolicznej koni z ciężkimi objawami alergii (NBT - 51.5 ± 14.5 oraz NBTs - 67.88 ± 8.8) w porównaniu do koni zdrowych, gdzie wartości te były wyższe (NBT - 62.17 ± 9.17 oraz NBTs - 79.3 ± 7.3 ; $p=0.012$). Wykazano również istotne różnice w wartości IF pomiędzy końmi zdrowymi (9.81 ± 1.61) i z ciężką postacią alergii (13.08 ± 3.08), gdzie wartości różniły się statystycznie istotnie i wskazywały na podwyższone wartości indeksu u koni chorych.

Powyższe dane wskazują na występowanie różnic odporności komórkowej (odpowiedzi komórkowej) dotyczącej wewnątrzkomórkowego metabolizmu oraz fagocytozy granulocytów krwi obwodowej u koni zdrowych i alergicznych, ze szczególnym podkreśleniem wpływu nasilenia objawów klinicznych na powyższe parametry. Pomimo zaburzeń metabolizmu wewnątrzkomórkowego zabijania drobnoustrojów u koni chorych istnieją mechanizmy kompensacyjne, umożliwiające utrzymanie procesów fagocytarnych na wyższym poziomie u koni z alergią.

Praca 4.1.2 Piotr Wilkołek, Zbigniew Pomorski, Marcin Szczepanik, Łukasz Adamek, Michał Pluta, Iwona Taszkun, Marcin Gołyński, Anna Rozwód, Wiesław Sitkowski.

Assessment of serum levels of allergen-specific immunoglobulin E in different seasons and breeds in healthy horses. Pol. J. Vet. Sci. 2014, Vol. 17 No. 2, s. 331-337.

W kolejnej pracy badano wybrane istotne parametry odpowiedzi humoralnej u koni nie wykazujących objawów alergii w celu określenia możliwości występowania reakcji dodatnich u zwierząt zdrowych. Za złoty standard uznawane są testy *in vivo* np. testy śródskórne, których jednak stosowanie praktyczne uwarunkowane jest wieloma ograniczeniami. Szczególnie u koni, gdzie podstawowym warunkiem jest transport zwierzęcia do miejsca wykonania procedury podania śródskórnego wielu alergenów i oceny reakcji skórnych po 30 min., 4 i 24 godzinach (Lebis i wsp. 2002). Testy oparte na diagnostyce *in vitro*, bazujące na oznaczaniu poziomu (stężenia) alergeno-swoistych przeciwciał klasy E (sIgE) w surowicy, takich ograniczeń nie mają, co w praktyce powoduje, że sukcesywnie zastępują testy *in vivo*. Kolejną zaletą testów serologicznych jest mniejszy wpływ leków na wyniki testu, co zapobiega reakcjom fałszywie ujemnym (Petersen i Schott 2009). Interpretacja testów serologicznych powinna jednak odbywać się zgodnie z zasadami, które determinują czas ich wykonania (sezonowość pojawiania się alergenów, a tym samym sIgE) oraz możliwość wystąpienia reakcji u zwierząt zdrowych (Wagner 2009b, Wagner 2016). Występuje zmienność sezonowa obecności sIgE we krwi, jak i cytokin biorących udział w reakcjach nadwrażliwości, co związane jest z czasem ekspozycji na alergen, co z kolei determinuje termin wykonania testów (Meulenbroeks i wsp. 2013). W badaniach własnych przeanalizowano więc występowanie sIgE w surowicy zdrowych zwierząt w różnych sezonach (maj, styczeń) oraz u różnych ras koni. Badania prowadzono łącznie u 42 zwierząt ras Małopolskiej (n=18), koników polskich (n=12) i kuców Felińskich (n=12). Stężenie IgE zostało oznaczone po pobraniu krwi żyłnej w surowicy z zastosowaniem komercyjnego testu (Polycheck Allergie NF Horse Panel, BioCheck GmbH, Germany) opartego na analizie ilościowej z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych. Panel alergenowy zawierał 15 pojedynczych oraz 5 mieszanin alergenów, o wysokim potencjale alergogennym u koni, występujących głównie w Europie Środkowej i Północnej, w tym roztocza magazynowe (*Tyrophagus putrescentiae*, *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*) i domowe (*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*), owadów (*Tabanus spp*, *Culicoides spp*, *Simulium spp*, *Culex spp*, *Stomoxys spp*), grzybów pleśniowych

(*Aspergillus/Penicilium*), pyłków roślin (drzew - brzoza, orzech olcha; platan, dąb, drzewko oliwne), traw (kupkówka, wiechlina, kostrzewa), ambrozji, bylicy pospolitej, babki lancetowatej, żyta, rzepaku oraz bakterii (*Thermoactinomyces* spp/*Micropolyspora* spp). Stwierdzono, że najwyższe wartości stężenia IgE w surowicy u zdrowych koni występowały w maju, a najczęściej pojawiające się reakcje dodatnie notowano dla roztoczy kurzu domowego w 35.71-80.95% i średniej wartości 4.84 kU/L u koników polskich, u koni Małopolskich (3.24 kU/L) oraz kuców Felińskich (2.91 kU/L) oraz roztoczy magazynowych (3.63, 3.52 i 3.1 kU/L), relatywnie w 33.3-42.86% przypadków. Wykazano również średnio wysokie wartości dla niektórych alergenów owadów (0.31-1.51 kU/L) w 9.52-35.71% przypadków. Najwyższe wartości IgE dla pyłków roślin odnotowano dla żyta (2.39 kU/L) i rzepaku (2.20 kU/L) u 52 % zwierząt. U 28.6 % przypadków stwierdzono również dodatnie reakcje dla alergenów grzybów pleśniowych. Brak reakcji dodatnich cechowały się alergeny bakteryjne. W okresie zimy zaś stwierdzono wyłącznie pojedyncze reakcje na alergeny *T. putrescentiae* i *D. farinae*, co istotnie statystycznie różniło je od tych z okresu późnowiosennego. Nie wykazano również w obu okresach sezonowych różnic istotnych pomiędzy poziomami IgE u poszczególnych ras koni za wyjątkiem alergenu *D. pteronyssinus* i *Aspergillus/Penicilium*.

Powyższe wyniki badań wskazują na znaczące różnice w poziomach alergeno-swoitych IgE w różnych okresach roku u tych samych zwierząt, co jednoznacznie związane jest z występowaniem alergenów w środowisku bytowania koni, jednocześnie determinując czas wykonywania testów serologicznych dla tych okresów. Wykonywanie testów opartych na sIgE w okresie zimowym w naszej strefie klimatycznej może skutkować reakcjami fałszywie ujemnymi i nieskutecznością immunoterapii swoistej, opartej na doborze alergenów na podstawie wyników w teście serologicznym. Badania potwierdziły również mnogość reakcji dodatnich u koni bezobjawowych, co może wskazywać na utajoną postać alergii lub wyższą tolerancję alergenową u pewnych osobników.

Praca 4.1.3. Piotr Wilkołek, Wiesław Sitkowski, Marcin Szczepanik, Łukasz Adamek, Michał Pluta, Iwona Taszkun, Marcin Gołyński, A. Malinowska. Comparison of serum concentrations of environmental allergen-specific IgE in atopic and healthy (nonatopic) horses. Pol. J. Vet. Sci. 2017 Vol. 20 Nr 4, s. 793-798.

Kolejna praca dotyczy badania porównawczego stężeń (poziomów) alergeno-swoistych przeciwciał klasy E (sIgE) u koni zdrowych i wykazujących objawy atopowego zapalenia skóry (AZS) w latach 2008-2015. Choroba ta jest jedną z częściej występujących zaburzeń tła alergicznego również u koni na świecie (Rees 2001). Wyniki poprzednich badań wskazujące na możliwość występowania reakcji dodatnich u zdrowych koni, skłaniają do pytania o zasadność powszechnie stosowanych testów serologicznych, opartych na oznaczaniu sIgE w diagnostyce etiologicznej alergii u koni (Marti i wsp 2008). Stwierdzano także występowanie znaczących różnic w wynikach testów *in vivo* i *in vitro* u tego samego osobnika, wykonywanych w tym samym czasie u psów (Popiel i wsp 2015). W badaniach własnych postawiono pytanie czy istnieją również różnice w częstości występowania reakcji dodatnich lub stężeniach sIgE we krwi pomiędzy zwierzętami zdrowymi a wykazującymi objawy atopowego zapalenia skóry u koni? Badania przeprowadzono na grupie 21 zwierząt zdrowych i 21 koniach z AZS, u których stwierdzono całoroczny świąd z okresami jego intensyfikacji w okresie letnim oraz wiążące się z nim zmiany pourazowe, wyłysienia, nadmierne złuszczenie lub liszajowacenie skóry w okolicach głowy, szyi klatki piersiowej i kończyn. Inne przyczyny świądu zostały wykluczone na podstawie dodatkowych badań dermatologicznych (trichogram, badanie cytologiczne, zeszkrobina skóry). U koni stwierdzano również pozytywną reakcję na przeciwswiądowe dawki glikokortykosteroidów. Wszystkie zwierzęta były poddawane rutynowemu odrobaczaniu i szczepieniu. W obu grupach zwierząt wykonano oznaczenia stężeń alergeno-swoistych IgE w okresie letnim czyli największej ekspozycji alergenowej (nasilenie zmian od czerwca do sierpnia). Przed wykonaniem testów zachowywano 6 tygodniowy okres karencji na leki. Badania wykonywano z użyciem komercyjnego testu immuno-enzymatycznego Polycheck Allergie NF Horse Panel, Biocheck GmbH, Munster Germany do oznaczeń ilościowych stężeń przeciwciał w surowicy. Wykazano, że średnie wartości sIgE u koni atopowych różniły się znacząco od koni zdrowych w większości poszczególnych badanych alergenów. W grupie koni chorych najwyższe średnie stężenia sIgE, częstość reakcji dodatnich i różnice statystycznie istotne w porównaniu ze zwierzętami zdrowymi stwierdzono dla roztoczy magazynowych *T. putrescentiae* (12.58 kU/L; 100%; p=0.001) i *A. siro* (6.05 kU/L; 90.5%; p=0.002) oraz roztoczy kurzu domowego *D. farinae* (9.93 kU/L; 100%; p=0.001), owadów *Tabanus* spp (7.25 kU/L; 100%; p=0.001) oraz pyłków roślin rzepaku (6.32 kU/L; 90.5%; p=0.021).

Średnie wartości wykazano dla pyłków żyta (4.82 kU/L; 81%; $p=0.046$) i traw (4.67 kU/L; 81%; $p=0.024$), roztoczy kurzu domowego *D. pteronyssinus* (3.07 kU/L; 85.7%; $p=0.001$). Najniższe średnie wartości u atopowych koni stwierdzono w grupie alergenów grzybów pleśniowych *Aspergillus/Penicillium* (2.73 kU/L; 71.5%; $p=0.011$), pyłków drzew brzozy/olchy/orzecha (2.49 kU/L; 85.7%, $p=0.095$), owadów *Culex* spp (2.71; 61.9%; $p=0.009$), *Stomoxys calcitrans* (2.8 kU/L; 76.2%; $p=0.001$), *Simulium equinum* (1.69 kU/L; 71.4%; $p=0.008$), *Culicoides nubeculosus* (1.54 kU/L; 76.2%; $p=0.042$). Nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych pomiędzy obu grupami koni dla alergenów wykazujących niskie stężenia sIgE jak *Ambrosia* spp, pyłków drzew platan/dąb/drzewo oliwne i bakterii *Thermoactinomyces* spp/*Micropolyspora* spp.

Dzięki powyższym wynikom badań wykazano, że roztocza magazynowe i domowe jako są głównym czynnikiem etiologicznym alergizacji koni z atopowym zapaleniem skóry w Polsce. W okresie ekspozycji na alergeny owadów u koni z AZS dochodzić może do zaostrzenia objawów alergodermatoz i występowania jednocześnie uczuleń wieloważnych (polisensybilizacji) z nadwrażliwością na owady (IBH). Sezonowe alergeny pyłków roślin, w szczególności uprawnych jak żyto i rzepak, stanowią w naszym kraju (możliwie, że także globalnie), poważny odsetek reakcji dodatnich z wysoką częstością uczuleń koni i powinny być również brane pod uwagę w przypadku doboru alergenów w zestawach do immunoterapii swoistej. Jednakże ze względu na pokaźny odsetek dodatnich reakcji w grupie zwierząt zdrowych nie należy na podstawie testów serologicznych, opartych na wyłącznym oznaczaniu sIgE, różnicować zwierząt chorych od zdrowych. Kluczowym wydaje się właściwe wstępne rozpoznanie choroby na podstawie wywiadu, objawów klinicznych i wykluczeniu innych dermatoz świądowych, testy zaś mogą stanowić uzupełnienie procesu diagnostycznego oraz być podstawą do odpowiedniego leczenia przyczynowego, w tym immunoterapii swoistej.

Praca **4.1.4.** Piotr Wilkołek, Marcin Szczepanik, Wiesław Sitkowski, Łukasz Adamek, Michał Pluta, Iwona Taszkun, Marcin Gołyński. A comparison of intradermal skin testing and serum insect allergen-specific IgE determination in horses with insect bite hypersensitivity from 2008-2016. *J Equine Vet. Sci.* 2019, 75:65-68.

Nowe techniki diagnostyczne w alergologii klinicznej przynoszą możliwości dokładniejszej analizy przyczyn rozwoju reakcji nadwrażliwości i wiążącego się z tym

stosowania immunoterapii swoistej lub karencji alergenowej, prowadząc do zwiększenia komfortu życia człowieka i zwierząt w perspektywie długoterminowej. Wiarygodność testów wynikająca z dokładności ich odwzorowania naturalnych mechanizmów immunologicznych oraz umiejętność ich interpretacji jest podstawą skutecznego kontrolowania przewlekłych chorób alergicznych. Wieloalergenowe testy jednoczesne (ang. multiple allergen simultaneous tests, MASTs) są metodą wykrywania przeciwciał swoistych sIgE w jednym oznaczeniu w gotowych zestawach diagnostycznych (Marti i wsp. 2008, Han i wsp. 2013, Rim i wsp. 2016). Upowszechnienie tej metody diagnostycznej w alergologii ludzkiej i weterynaryjnej w ostatnich latach zwiększa się dzięki zmniejszeniu kosztów i uproszczeniu procesu analitycznego. Jednoczesne oznaczenie wielu alergenów polega na zastosowaniu paneli badań np. pediatrycznego, oddechowego, czy panelu dla koni, gdzie dostępne są główne alergeny owadów, roztoczy, roślin i grzybów (Jang i wsp. 2009). Stąd kolejna praca koncentruje się na analizie wyników oznaczeń stężeń sIgE dla głównych alergenów owadów u koni z nadwrażliwością sezonową (letnią, IBH ang. Insect bite hypersensitivity), które są jedną z najczęstszych przyczyn nadwrażliwości u tego gatunku (Ferroglio i wsp. 2006, Schaffartzik i wsp. 2012, Peeters i wsp. 2013, Ziegler i wsp. 2018). Oznaczanie sIgE w surowicy jest obecnie metodą standardowo stosowaną w diagnostyce etiologicznej alergii na owady (Ginel i wsp. 2014). Specyfika regionów geograficznych i występowanie różnych gatunków owadów warunkuje dobór odpowiednich rodzajów alergenów dostosowanych szczególnie do regionu bytowania pacjentów (Steinman i wsp. 2003, Hallamaa i wsp. 2009). Dobrze opracowana standaryzacja metod *in vivo* w nadwrażliwości na owady pozwala na badania porównawcze obu metod (Sloet i wsp. 2009). Szczególnie istotne dla swoistości i czułości testów serologicznych jest użycie przeciwciał monoklonalnych, co wpływa na wiarygodność wyników testów (Wilson i wsp. 2006). W badaniach własnych porównano wyniki testów *in vitro* (serologicznych, sIgE) i testów *in vivo* (śródkórnych; ang. intradermal test, IDT) jako najbardziej miarodajnej metody diagnostycznej (złoty standard), oceniając ich zgodność. Badania prowadzono u 26 koni rasy Małopolskiej w wieku od 2 do 18 lat z typowymi dla nadwrażliwości na owady (IBH) silnego stopnia świadkiem, zmianami pourazowymi w okolicach szyi, nasady ogona grzbietu i brzucha. Testy śródkórne były wykonywane w okolicy bocznej szyi, gdzie podawano śródkórnie histaminę (kontrola dodatnia) i zbuforowany płyn fizjologiczny (kontrola ujemna) oraz wodne roztwory alergenów

owadów *Tabanus* spp, *Culicoides nubeculosus*, *Culex* spp, *Simulium equinum* and *Stomoxys calcitrans* w pełnych ekstraktach alergenowych (ang. whole body extract, WBE) (Agroskin RTU 20, Agrolabo Horse Panel, Scarmagio, Italy). Reakcje skórne w postaci bąbla i rumienia, w skali nasilenia reakcji wg Lebisa (2002) i zgodnie z zaleceniami Langnera (2008), oceniano po 0.5, 4 i 24 godzinach. Oznaczenie stężeń sIgE wykonano immuno-enzymatyczną metodą ilościową z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych (Polycheck Allergie NF Horse Panel, BioCheck GmbH, Münster, Germany) w skali: klasa 0 - <1 kU/l, klasa 1 - 1.0-2.0 kU/l, klasa 2 - 2.0-20 kU/l, klasa 3 - > 20 kU/l. Porównano dla poszczególnych alergenów u każdego osobnika reakcje uzyskane w obu testach i wyliczono korelację, czułość, swoistość, pozytywną i negatywną wartość predykcyjną oraz dokładność testu. Badania wykazały wysoką i średnią korelację testów dla 4 z 5 alergenów owadów, najwyższy wskaźnik dla *Tabanus* spp i *Culicoides* spp. W zależności od rodzaju alergenu stwierdzono różną czułość (średnia 72.6%) i swoistość (63.6%) testu MAST w porównaniu do IDT oraz dokładność od 48-88.5% (średnia 73.3%). Najczęściej pojawiające się dodatnie reakcje notowane były dla alergenów *Tabanus* spp (91%) i *Culicoides* spp (83%), *Simulium* (82%), rzadziej zaś *Culex* spp (67%) i *Stomoxys* (40%).

Opisane badania wskazują na przydatność testów MAST w diagnostyce alergodermatoz koni z IBH i mogą być stosowane jako alternatywa do testów *in vivo*. Niższa swoistość testów wskazuje na prawdopodobieństwo występowania reakcji fałszywie dodatnich, co powinno być brane pod uwagę w wyborze alergenów do immunoterapii swoistej. Obecnie trwają badania nad rekombinowanymi alergenami owadów, głównie *Culicoides* spp, co może w przyszłości zwiększyć swoistość testów serologicznych u koni. Badania te wyeksponowały kluczowe w naszym regionie Europy alergeny owadów *Tabanus* spp i *Culicoides* spp, *Simulium* spp., jako przyczyny IBH u koni.

Praca 4.1.5. Piotr Wilkołek, Marcin Szczepanik, Wiesław Sitkowski, Beata Rodzik, Michał Pluta, Iwona Taszkun, Marcin Gołyński. Evaluation of multiple allergen simultaneous (sIgE) testing compared to intradermal testing in the etiological diagnosis of atopic dermatitis in horses. J Vet. Sci. 2019, 20:e60.

Systemy jednoczesnego wieloalergenowego oznaczania sIgE (multiple allergen simultaneous tests, MAST), oparte na zasadzie testu immuno-

enzymatycznego z zastosowaniem techniki nanoszenia surowicy na pasek błony nitrocelulozowej z wykorzystaniem specyficznych przeciwciał monoklonalnych w stosunku do psich, kocich i końskich sIgE, stają się coraz bardziej rozpowszechnioną metodą stosowaną w praktyce alergologicznej. Podobne zjawisko zauważalne jest także w praktyce medycznej u ludzi. W odczycie wyników testów serologicznych, opartych na technice MAST używana jest komputerowa analiza i przetwarzanie wyników. System panelowy pozwala na szybką analizę wielu alergenów a stężenia przeciwciał w surowicy podawane są ilościowo w jednostkach międzynarodowych w 4 klasach (ujemny, słabo dodatni, dodatni, silnie dodatni). Wiarygodność nowych technik diagnostycznych oceniana jest na podstawie porównania wyników z przyjętym w praktyce "złotym standardem", jakim od wielu lat w diagnostyce etiologicznej alergii są testy skórne (Lorch i wsp. 2001, Morgan i wsp. 2007, Tahon i wsp. 2009). Inną metodą oceny wiarygodności nowych technik testów serologicznych jest porównanie wyników uzyskanych już z innymi, uznanymi metodami analizy alergologicznej za czułe i swoiste np. wykorzystujące panelowe systemy molekularne (Wolthers i Staberg 2013). Odsetek reakcji na roztocza kurzu domowego i roztocza magazynowe w dalszym ciągu statystycznie przewyższa inne alergeny środowiskowe (Roberts i wsp. 2014). Ekspozycja na tą grupę alergenów w większości przypadków cechuje się ciągłością objawów, bez okresów występowania ich sezonowości. Trudnym lub wręcz niemożliwym jest także zastosowanie karencji alergenowej (Wallace i Vogelnest 2010). Dokładna analiza serologiczna sIgE przeciwko roztoczom i wieloletnia immunoterapia swoista zapewnia komfort życia ludziom i zwierzętom. Dlatego w badaniach prowadzonych u 14 koni rasy Małopolskiej w latach 2009-2017 z rozpoznaniem atopowym zapaleniem skóry, przeprowadzono testy śródskórne i uzyskano dodatnie wyniki na roztocza magazynowe (*Tyrophagus putrescentiae*, *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*) i kurzu domowego (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*). Badania miały na celu porównanie wyników testów *in vitro* z testami *in vivo* oraz uzyskanie odpowiedzi czy testy serologiczne można stosować zamiennie z testami śródskórnymi bez uszczerbku na wiarygodność wyników oraz ocenić główne czynniki etiologiczne w tej grupie alergenów u koni. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że najczęściej u koni uczulonych na alergen roztoczowy dodatnie reakcje występowały dla *Tyrophagus putrescentiae* i *Dermatophagoides farinae*, które to powinny zostać wzięte pod uwagę w przypadkach świądu całorocznego u

koni z atopią oraz uznane jako kluczowe alergeny w immunoterapii swoistej koni. Zadawalająca wartość diagnostyczna testu MAST w porównaniu z testami śródskórnymi (IDT), na podstawie pola pod wykresem krzywej ROC, została wykazana dla alergenów *Acarus siro* (AUC=0.969), następnie *Dermatophagoides pteronyssinus* (AUC = 0.844), *Dermatophagoides farinae* (AUC = 0.813) i *Tyrophagus putrescentiae* (AUC = 0.803). Dodatnia najwyższa korelacja pomiędzy wynikami testów MAST i IDT została ustalona dla *A. siro* ($r_s = 0.870$; $p = 0.00005$) i *D. farinae* ($r_s = 0.657$; $p = 0.011$). Zgodność pomiędzy obu testami oceniona na podstawie współczynnika kappa Cohena w ocenie ilościowej (stopień nasilenia reakcji) była zadowalająca dla *A. siro* ($\kappa = 0.569$) i *D. farinae* ($\kappa = 0.485$), natomiast w ocenie dychotomicznej (reakcje dodatnie/ujemne) również dla *D. pteronyssinus* ($\kappa = 0.689$), *A. siro* ($\kappa = 0.569$), *D. farinae* ($\kappa = 0.432$). Czulość testu wahała się w zależności od rodzaju alergenu od 44-89%, specyficzność zaś 60-100%.

Wyniki wskazują na zgodność obu testów głównie dla oceny dychotomicznej, co jest oczywiście wystarczające dla określenia czynników uczulających u danego osobnika oraz właściwego wyboru alergenów do immunoterapii swoistej na podstawie testu MAST, z uwzględnieniem okresów nasilenia objawów w ciągu całego roku obserwacji zwierzęcia. Badania potwierdziły przydatność badań serologicznych opartych na ocenie stężeń sIgE u koni z całoroczną postacią nadwrażliwości skórnej i wyeksponowały rolę kluczowych gatunków roztoczy w Polsce (możliwie, że również w innych krajach) u zwierząt z podejrzeniem alergizacji roztoczowej.

Praca 4.1.6. Piotr Wilkołek, Marcin Szczepanik, Beata Rodzik, Wiesław Sitkowski, Michał Pluta, Iwona Tazskun, Marcin Gołyński. A comparison of multiple allergen simultaneous tests using allergen-specific IgE concentration and intradermal skin tests in atopic horses with pollen allergy. J Equine Vet. Sci. 2020, 90, 102992.

Celem pracy było prześledzenie wiarygodności i zgodności testów alergicznych opartych na oznaczaniu swoistych przeciwciał IgE, opierających się na nowoczesnych technikach immunologiczno-enzymatycznych z testami *in vivo* tradycyjnie używanymi diagnostyce alergologicznej u atopowych koni z

nadwrażliwością skórą spowodowaną alergenami roślinnymi (pyłkowic). Badania prowadzono w latach 2010-2018 u 21 koni rasy małopolskiej z typowymi objawami skórnej nadwrażliwości. Testy *in vivo* (testy śródskórne) wykonywane były w sezonie zimowym i poprzedzały testy serologiczne, natomiast alergeno-swoiste stężenia IgE w surowicy były mierzone w sezonie wiosenno-letnim. Głównym, więc kryterium doboru do grupy badawczej były wyselekcjonowane zwierzęta z wiosenno-letnim sezonowym świądem, gdzie w testach śródskórnych stwierdzono dodatnie reakcje na alergeny roślin (pyłki traw, roślin uprawnych drzew, chwastów). W badaniach serologicznych wykorzystano panelową metodę oznaczeń sIgE z anty-przeciwciałami monoklonalnymi i czterostopniową skalą kontrolną poprawności wykonania procedury oznaczeń. Wartości podawano w jednostkach unit/mL (U/mL), a wyniki zgodnie z czteropunktową skalą (0-3) i zgodnie z nasileniem stężeń sIgE dla poszczególnych alergenów: brak reakcji (0; <1 kU/l), słaba reakcja dodatnia (1; class 1; 1.0-2.0 kU/l), umiarkowana reakcja dodatnia (2; 2.0-20 kU/l), silna reakcja dodatnia (3; >20 kU/l). Najczęstsze reakcje dodatnie stwierdzono dla alergenów żyta *Secale cereale* (IDT, 76%; MAST, 66.7%), traw (IDT, 71%; MAST, 57%) i rzepaku *Brassica napus* (IDT, 52.4%; MAST, 57%). Analiza krzywej ROC (ang. receiver operating characteristic curve) i pola powierzchni pod wykresem ROC (AUC) wykazała, że alergeny *Betula* spp., *Alnus* spp., and *Corylus* spp. miały najwyższą wartość AUC (0.854), następnie *Secale cereale* (0.796), *Plantago lanceolata* (0.726), *Brassica napus* (0.704) i alergeny traw (0.695). Średnia wartość AUC dla wszystkich alergenów wynosiła 0.712 (w przedziale 0.604-0.867), czułość testu serologicznego dla całego panelu alergenowego wyniosła 78% (w zakresie 68-90%), swoistość 86.3% (w zakresie 64-100%), a dokładność 79% (w zakresie 64-87%). Wartości kappa Cohena (κ) i zgodności obu testów dla alergenów pyłków drzew (Panel I)

wyniosły $\kappa=0.767$, żyta $\kappa=0.687$, rzepaku $\kappa=0.671$, traw $\kappa=0.664$. Test serologiczny MAST wykazał zadowalającą zgodność z testem śródskórnym i może być wykorzystywany do diagnostyki alergologicznej u koni z pyłkowicami. Stanowić może główne źródło informacji dla oceny przyczyn alergii sezonowych, różnicując nadwrażliwość na alergeny owadów i pyłków roślin, i decydować ostatecznie o wyborze poszczególnych alergenów do immunoterapii swoistej, pamiętając, że decydującą rolę w interpretacji testów serologicznych ma właściwy dobór chorych zwierząt na podstawie oceny sezonowości nasilania objawów klinicznych.

Powyższe wyniki badań wskazują na wyciągnięcie następujących, głównych wniosków:

1. Alergodermatozy koni przebiegają z zaburzeniami metabolizmu wewnątrzkomórkowego zabijania drobnoustrojów z mechanizmami kompensacji fagocytarnej w porównaniu do koni zdrowych.
2. Poziomy alergeno-swoistych przeciwciał klasy E wahają się w zależności od pory roku i wykrywalne są również u koni zdrowych w okresie ekspozycji na alergen.
3. Zaleca się wykonywanie testów serologicznych opartych na metodzie pomiarów alergeno-swoistych IgE w okresie nasilenia objawów klinicznych lub bezpośrednio po tym okresie.
4. Wykonanie testów u koni w okresie bezobjawowym może wiązać się z otrzymaniem wyników fałszywie ujemnych.
5. Stwierdza się tylko nieznaczne różnice poziomów alergeno-swoistych IgE pomiędzy rasami koni.
6. Konie z atopowym zapaleniem skóry cechują znacznie wyższe poziomy alergeno-swoistych przeciwciał klasy E w surowicy oraz częstość wyników dodatnich, w porównaniu do koni zdrowych, w znacznej większości alergenów środowiskowych.
7. Wieloalergenowe testy jednoczesne (ang. multiple allergen simultaneous tests, MAST) charakteryzują się wysoką dokładnością w diagnostyce etiologicznej u koni z nadwrażliwością na alergeny owadów.

8. U koni z atopowym zapaleniem skóry badany test MAST jest wiarygodnym narzędziem służącym diagnostyce serologicznej (oznaczaniu sIgE) u koni z alergizacją roztoczą.
9. Wiarygodność i zgodność testu MAST w przebiegu pyłkowic u koni z sezonową postacią atopowego zapalenia skóry jest wysoka, lecz zależy od rodzaju badanego alergenu.
10. Głównymi środowiskowymi czynnikami etiologicznymi nadwrażliwości u koni w Polsce, odpowiedzialnymi za rozwój uczuleń są dla owadów - *Tabanus* spp i *Culicoides* spp., roztoczy - *Tyrophagus putrescentiae* i *Dermatophagoides farinae* oraz pyłków roślin - *Secale cereale* (żyta), trawy i *Brassica napus* (rzepaku).

4.3. Charakter aplikacyjny badań/wykorzystanie wyników prac – podsumowanie.

Przeprowadzone badania i uzyskane wyniki umożliwiają szersze zrozumienie mechanizmów immunologicznych, szczególnie zależnych od alergeno-swoistych przeciwciał klasy E, u osobników z nawrotowymi objawami i przewlekłymi postaciami alergii u koni. Obecnie i w przyszłości stanowią będą podstawę do oceny przyczyn alergii u pacjentów z nadwrażliwością na alergeny środowiskowe, zastępując w wielu przypadkach testy *in vivo*, co daje podstawy do podjęcia immunoterapii swoistej i ograniczenia reakcji niepożądanych i skutków ubocznych konwencjonalnych leków. Typowane w badaniach własnych, na podstawie stężeń sIgE w surowicy krwi, główne alergeny u koni w określonych alergodermatozach (nadwrażliwość na alergeny owadów, atopowe zapalenie skóry), umożliwiają ich właściwy dobór i ukierunkowanie prac nad alergenami rekombinowanymi oraz komercyjnymi testami lub platformami wieloalergenowymi, umożliwiającymi szerokie mapowanie pacjentów. Metodyka badań nad wiarygodnością wyników testów serologicznych, zastosowana w badaniach własnych, może być wykorzystana do oceny nowych technik służących diagnostyce alergologicznej u różnych gatunków zwierząt w przebiegu alergodermatoz.

Piśmiennictwo:

1. Agache i wsp. Prioritizing research challenges and funding for allergy and asthma and the need for translational research - The European Strategic Forum on Allergic Diseases. *Allergy*. 2019, 74, 1–13.
2. Stepnik CT, Outerbridge CA, White SD, Kass PH. Equine atopic skin disease and response to allergen-specific immunotherapy: a retrospective study at the University of California-Davis (1991-2008). *Vet. Dermatol.* 2012;23:29-35.
3. Loeffler A, Herrick D, Allen S, Littlewood JD. Long-term management of horses with atopic dermatitis in southeastern England: a retrospective questionnaire study of owners' perceptions. *Vet. Dermatol.* 2018;29:526-e176.
4. Pawankar R: Allergic diseases and asthma: a global public health concern and a call to action. *World Allergy Organ J.* 2014, 7, 1-3.
5. Popiel J, Cekiera A. Comparison of IgE test results with intradermal skin tests for dust mite and storage mites in atopic dogs. *Pol. J. Vet. Sci.* 2015;2:351- 356.
6. Kang MK, Kim HJ, Jang HJ, Park HM. Sensitization rates of causative allergens for dogs with atopic dermatitis: detection of canine allergen-specific IgE. *J. Vet. Sci.* 2014;15:545-550.
7. Wagner B. Immunoglobulin E and allergy. *Equine Vet. J.* 2016;48:13-14.
8. Marti E, Gerber V, Wilson AD, Lavoie JP, Horohov D, Crameri R. Report of the 3rd Havemeyer workshop on allergic diseases of the Horse, Holar, Iceland, June 2007. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008;126:351-361.
9. Wilkołek P, Sitkowski W, Szczepanik M, Adamek Ł, Pluta M, Taszkun I, Gołyński M, Malinowska A. Comparison of serum concentrations of environmental allergen-specific IgE in atopic and healthy (nonatopic) horses. *Pol. J. Vet. Sci.* 2017;20:789-794.
10. Han M, Park H, Park KU, Park MH, Song EY. Comparison of Three Multiple Allergen Simultaneous Tests: RIDA Allergy Screen, MAST Optigen, and Polycheck Allergy. *Biomed Res. Int.* 2013;2013:340513.
11. Jang WR, Nahm CH, Kim JH, Lim DH, Jang TY, Moon YS, Kim JJ. Allergen Specific IgE Measurement with Polycheck Allergy: Comparison of Three Multiple Allergen Simultaneous Tests. *Korean J. Lab. Med.* 2009;29:465-72.

12. Rim JH, Park BG, Kim JH, Kim HS. Comparison and clinical utility evaluation of four multiple allergen simultaneous tests including two newly introduced fully automated analyzers. *Pract. Lab. Med.* 2016;4:50-61.
13. Mueller RS, Janda J, Jenden-Jarolim E, Rhyner C, Marti E. Allergens in veterinary medicine *Allergy* 2016;71:27–35.
14. Wallace JC, Vogelnest JL. Evaluation of the presence of house dust mites in horse rugs. *Vet. Dermatol.* 2010;21:602–607.
15. Peeters LM, Janssens S, Goddeeris BM, De Keyser K, Wilson AD, Kaufmann C, Schaffartzik A, Marti E, Buys N. Evaluation of an IgE ELISA with *Culicoides* spp. extracts and recombinant salivary antigens for diagnosis of insect bite hypersensitivity in Warmblood horses. *Vet. J.* 2013;198:141-147.
16. Verdon M, Lanz S, Rhyner C, Gerber V, Marti E. Allergen-specific immunoglobulin E in sera of horses affected with insect bite hypersensitivity, severe equine asthma or both conditions. *J. Vet. Intern. Med.* 2019;33:266–274.
17. Radwanski NE, Morris DO, Boston RC, Cerundolo R, Lee KW. Longitudinal evaluation of immunological responses to allergen-specific immunotherapy in horses with IgE associated dermatological disease, a pilot study. *Vet. Dermatol.* 2019;30:255-e78.
18. Tahon L, Baselgia S, Gerber V, Doherr MG, Straub R, Robinson NE, Marti E. In vitro allergy tests compared to intradermal testing in horses with recurrent airway obstruction. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2009;127:85–93.
19. Tilley P, Sales JP, Ferreira MB. Comparison of Skin Prick Tests with In Vitro Allergy Tests in the Characterization of Horses with Recurrent Airway Obstruction. *J. Equine Vet. Sci.* 2012;32:719-727.
20. Morgan EE, Miller WH.Jr, Wagner B. A comparison of intradermal testing and detection of allergen-specific immunoglobulin E in serum by enzyme-linked immunosorbent assay in horses affected with skin hypersensitivity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2007;120:160-167.
21. Ferroglio E, Pregel P, Accossato A, Taricco I, Bollo E, Rossi L, Trisciuglio A. Equine *Culicoides* hypersensitivity: evaluation of a skin test and of humoral response. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* 2006;53:30-33.

22. Agarwal R, Aggarwal AN, Garg M, Saikia B, Chakrabarti A. Cut-off values of serum IgE (total and *A. fumigatus* -specific) and eosinophil count in differentiating allergic bronchopulmonary aspergillosis from asthma. *Mycoses* 2014;57:659-663.
23. Roberts H.R., Hurcombe S.D.A., Hillier A., Lorch G.: Equine intradermal test threshold concentrations for house dust mite and storage mite allergens and identification of stable acari fauna. *Vet. Dermatol.* 2014, 25,124–e36.
24. Eder C., Curik I., Brem G., Cramer R., Bodo I., Habe F., Lazary S., Sölkner J., Marti E.: Influence of environmental and genetic factors on allergen-specific immunoglobulin-E levels in sera from Lipizzan horses. *Equine Vet. J.* 2001, 33, 714-720.
25. Jensen-Jarolim E, Einhorn L, Herrmann I, Thalhammer JG, Panakova L.: Pollen allergies in humans and their dogs, cats and horses: differences and similarities. *Clin. Transl. Allergy* 2015, 5,15.
26. Kalina WV, Pettigrew HD, Gershwin LJ.: IgE ELISA using antisera derived from epsilon chain antigenic peptides detects allergen-specific IgE in allergic horses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2003, 92, 137-147.
27. Lorch G, Hillier A, Kwochka KW, Saville WJ, Kohn CW, LeRoy BE.: Comparison of immediate intradermal test reactivity with serum IgE quantitation by use of a radioallergosorbent test and two ELISA in horses with and without atopy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2001, 218, 1314-1322.
28. Marti E, Gerber V, Wilson AD, Lavoie JP, Horohov D, Cramer R, Lun DP, Antczak D, Björnsdóttir S, Björnsdóttir TS, Cunningham F, Dérer M, Frey R, Hamza E, Horin P, Heimann M, Kolm-Stark G, Ólafsdóttir G, Ramery E, Russell C, Schaffartzik A, Svansson V, Torsteinsdóttir S, Wagner B.: Report of the 3rd Havemeyer workshop on allergic diseases of the Horse, Holar, Iceland, June 2007. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008,126, 351-361.
29. Mueller R.S, Janda J, Jensen-Jarolim E, Rhyner C, Marti E.: Allergens in veterinary medicine. *Allergy* 2016, 71, 27-35.
30. Roque JB, O'Leary CA, Kyaw-Tanner M, Latter M, Mason K, Shipstone M, Vogelnest L, Duffy D.: High allergen-specific serum immunoglobulin E levels in nonatopic West Highland white terriers. *Vet. Dermatol.* 2011, 22, 257-266.
31. Wagner B.: IgE in horses: occurrence in health and disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2009a, 132, 21-30.

32. Wagner B, Miller WH Jr, Erb HN, Lunn DP, Antczak DF.: Sensitization of skin mast cells with IgE antibodies to Culicoides allergens occurs frequently in clinically healthy horses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2009b, 132, 53-61.
33. Schaffartzik A, Hamza E, Janda J, Cramer R, Marti R, Rhyner C.: Equine insect bite hypersensitivity: What do we know? *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2012, 147,113– 126.
34. Wagner B, Miller WH, Morgan EE, Hillegas JM, Erb HN, Leibold W.: IgE and IgG antibodies in skin allergy of the horse. *Vet. Res.* 2006, 37, 813-25.
35. Langner KF, Darpel KE, Drolet BS, Fischer A, Hampel S, Heselhaus JE, Mellor PS, Mertens PP, Leibold W.: Comparison of cellular and humoral immunoassays for the assessment of summer eczema in horses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008, 122, 126–137.
36. Ziegler A, Hamza E., Jonsdottir S, Rhyner C, Wagner B, Schüpbach G., Svansson V, Torsteinsdottir S, Marti E.: Longitudinal analysis of allergen-specific IgE and IgG subclasses as potential predictors of insect bite hypersensitivity following first exposure to Culicoides in Icelandic horses. *Vet. Dermatol.* 2018, 29, 51-e22.
37. Frey R, Bergvall K, Egenvall A.: Allergen-specific IgE in Icelandic horses with insect bite hypersensitivity and healthy controls, assessed by FcεR1α-based serology. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008,126,102-9.
38. Ginel P, Hernández E, Lucena R., Blanco B, Novales M, Mozos E.: Allergen-specific immunotherapy in horses with insect bite hypersensitivity: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Vet. Dermatol.* 2014, 25, 29–e10.
39. Wolthers OD, Staberg M.: The Usefulness of the Multiple Allergen Simultaneous Test-Chemiluminescent as Compared to the Phadia Immunocap IgE Test Panel System in Children and Adolescents. *Recent Pa.t Inflamm. Allergy Drug Discov.* 2013, 7, 96-99.
40. Hammerberg B, Eguiluz-Hernandez S.: Therapeutic anti-IgE monoclonal antibody single chain variable fragment (scFv) safety and immunomodulatory effects after one time injection in four dogs. *Vet. Dermatol.* 2017, 28: 52–e13.
41. Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM., van Poppel M, de Raat IJ, van den Boom R, Savelkoul HFJ.: Intradermal testing of horses with and without insect bite hypersensitivity in the Netherlands using an extract of native Culicoides species. *Vet. Dermatol.* 2009, 20, 607–614.

42. Van der Meide NMA, Savelkoul HFJ, Meulenbroeks C, Ducro BJ, Tijhaar E.: Evaluation of a diagnostic ELISA for insect bite hypersensitivity in horses using recombinant Obsoletus complex allergens. *Vet. J.* 2014, 200, 31-37.
43. Meulenbroeks C, van der Meide NMA., Zaiss DMW, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan JJ, van der Lugt JJ, Smak J, Rutten VPMG, Willemse T.: Seasonal differences in cytokine expression in the skin of Shetland ponies suffering from insect bite hypersensitivity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2013,151,147-156.
44. Petersen A, Schott HC: Effects of dexamethasone and hydroxyzine treatment on intradermal testing and allergen-specific IgE serum testing results in horses. *Vet. Dermatol.* 2009, 20, 615-622.
45. Steinman A, Peer G., Klement E.: Epidemiological study of Culicoides hypersensitivity in horses in Israel. *Vet. Rec.* 2003, 152, 748-751.
46. Wilson AD., Harwood L, Torsteinsdottir S, Marti E.: Production of monoclonal antibodies specific for native equine IgE and their application to monitor total serum IgE responses in Icelandic and non-Icelandic horses with insect bite dermal hypersensitivity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006, 112, 156–170.
47. Chammas PP., Hagiwara MH.: Evaluation of neutrophilic function (chemotaxis, phagocytosis and microbicidal activity) in healthy dogs and in dogs suffering from recurrent deep pyoderma. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1998, 64, 123-131.
48. Escribano B, Castejon F, Vivo R., Aguera S, Aguera E, Rubio M.: Nonspecific immune response of peripheral blood neutrophils in two horse breeds (Anglo-Arabian and Spanish-Arabian): response to exercise. *Comperative Immunol. Microbiol. Infectious Disease* 2005, 28, 145-154.
49. Hallamaa RE.: Characteristics of equine summer eczema with emphasis on differences between Finn horses and Icelandic horses in a 11-year study. *Acta Vet. Scand.* 2009, 14, 29-31.
50. Lebis C, Bourdeau P, Marzin-Keller F.: Intradermal skin tests in equine dermatology: a study of 83 horses. *Equine Vet. J.* 2002, 34, 666-672.
51. Rees C.A.: Response to immunotherapy in six related horses with urticaria secondary to atopy. *J Am Vet Med Assoc* 2001, 218, 753-755.
52. Pawankar R, Canonica GW, Holgate ST, Lockey RF.: *Biała Księga Alergii Światowej Organizacji Alergii* 2011-2012. Streszczenie wykonawcze. WAO 2011.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej wraz z omówieniem pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.

Głównym tematem moich zainteresowań naukowych od początku podjęcia pracy naukowo-badawczej od 1999 roku są zagadnienia dotyczące klinicznej i doświadczalnej alergologii oraz szeroko pojętej dermatologii weterynaryjnej, w tym etiopatogenezy reakcji nadwrażliwości, immunologicznych mechanizmów alergii i ocena wiarygodności serologicznych metod diagnostycznych. W czasie prowadzonych badań cały czas uczestniczyłem w działalności klinicznej i aktywnej pracy lekarsko-weterynaryjnej w Przychodni Dermatologicznej oraz Chorób Wewnętrznych Zwierząt UP w Lublinie. Obserwacje wykonywane były zarówno na zwierzętach z naturalnie występującymi chorobami alergicznymi u pacjentów podczas ich leczenia, jak i grupach doświadczalnych np. zwierzętach laboratoryjnych, u których prowokowałem reakcję alergiczną. Szczególnie dla mnie interesujące są nowoczesne metody diagnostyczne, mające praktyczne zastosowanie w procesie wykrywania czynników uczulających u zwierząt. Dodatkowo badania eksperymentalne obejmowały problematykę endokrynologii weterynaryjnej, głównie zaburzeń czynności tarczycy i czynników zawodowego, mikrobiologicznego ryzyka lekarzy weterynarii.

5.1 Zaburzenia odporności nieswoistej w przebiegu atopowego zapalenia skóry u psów.

W początkowym etapie moich prac badawczych zajmowałem się nieswoistymi mechanizmami komórkowymi u psów z atopowym zapaleniem skóry. Celem badań było wykazanie u psów z klinicznymi objawami atopii zaburzeń odporności nieswoistej w porównaniu z psami zdrowymi oraz psami chorującymi na inne choroby układu powłokowego. Ponieważ przewlekłe i nawracające zapalenie skóry oraz wtórne powierzchowne ropne jej zapalenie są stanami typowymi dla atopików, można przypuszczać, że, między innymi, mogą być one spowodowane upośledzeniem odporności nieswoistej np. funkcji układu fagocytarnego. U psów atopowych dochodzi również do dysfunkcji odporności typu komórkowego, co może predysponować te zwierzęta do skórnych zakażeń. Wiadomo jest, że jednym z

podstawowych mechanizmów odporności nieswoistej jest fagocytoza oraz zabijanie wewnątrzkomórkowe, które może przebiegać zarówno na drodze enzymatycznej, jak i poprzez toksyczne oddziaływanie wolnych rodników, zaś defekty dotyczące komórek żernych (leukocytów wielojądrzastych i makrofagów) prowadzą do zwiększonej wrażliwości na zakażenia.

Uzyskane wyniki badań wskazywały, że psy z atopowym zapaleniem skóry z objawami występującymi przez cały rok oraz psy chorujące krócej niż 1 rok wykazują zaburzenia w zakresie badanych wskaźników odporności nieswoistej. Zaburzenia te przejawiają się zarówno obniżoną zdolnością do wewnątrzkomórkowego zabijania drobnoustrojów, jak i upośledzeniem fagocytozy, manifestującej się zmniejszeniem ilości sfagocytowanych gronkowców, co wskazuje na supresję nieswoistych komórkowych mechanizmów obronnych. U psów z objawami pojawiającymi się sezonowo zaburzenia odporności nieswoistej dotyczyły tylko fagocytozy, nie zaobserwowano zaburzeń związanych z zabijaniem wewnątrzkomórkowym. U psów z innymi chorobami układu powłokowego niż atopowe zapalenie skóry nie stwierdzono zaburzeń w oznaczanych parametrach odporności nieswoistej.

Wyniki opublikowano w pracy:

Piotr Wilkołek, Marcin Szczepanik, Katarzyna Szczepanik, Mirosława Maj-Martyniuk. Wybrane wskaźniki odporności nieswoistej u psów atopowych i nie wykazujących objawów atopii. *Med. Wet.* 2004, 60, 1064-1066.

5.2. Właściwości uczulające i drażniące pochodnych tioamidów u świnek morskich.

Prowadziłem badania we współpracy z prof. dr hab. Andrzejem Niewiadomym z Katedry Chemii UP w Lublinie nad szeregiem nowo zsyntetyzowanych substancji chemicznych należących do grupy tioamidów. Pochodne tioamidów są związkami wykazującymi silną aktywność biologiczną. Badania mikrobiologiczne i przedkliniczne wskazują na ich działanie przeciwgrzybicze, przeciwbakteryjne oraz przeciwwirusowe, co stwarza nowe możliwości wykorzystania ich w leczeniu zarówno ludzi, jak i zwierząt. Większość z nich charakteryzuje się aktywnością fungistatyczną w stosunku do dermatofitów (*Trichophyton menthagrophytes*, *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *Microsporum gypseum*, *Epidermophyton floccosum*), pleśni, drożdżaków

(*Candida albicans*, *Trichosporon* sp., *Cryptococcus neoformans*). Wykazują właściwości bakteriostatyczne przeciwko bakteriom Gram-dodatnim, np. gronkowcom. Benzanilidy, tiobenzanilidy oraz ich pochodne wykazują również właściwości przeciwnowotworowe, przeciwpasożytnicze, przeciwbólowe i przeciwzapalne w zależności od rodzaju podstawnika w cząsteczce. Cel podstawowy badań dotyczył wykazania i prześledzenia niepożądanego oddziaływania tioamidów w aspekcie przyszłych leków poprzez udowodnienie wywołania przez cztery nowo zsyntetyzowane związki (2-b-rezorcylo-5,6-dichloro-1,3-benzotiazol, N-1-(benz)-2,4 dihydroksytiobenzamid, N-1-[2-(4.-fenylo-6.-metylo-benzotiazolo)]-2,4 dihydroksytiobenzamid oraz N-1-(3.,5.dibenztriflorometylo)-2.,4.-dihydroksytiobenzamid) reakcji krzyżowych z dwusiarczkiem czterometylo-tiuramu u doświadczalnie uczulonych na tiuram świnek morskich. Ponadto przeanalizowano właściwości drażniące związków po ich naskórnym podaniu, jak też prześledzenie zdolności związków reaktywnych w reakcjach krzyżowych do samodzielnego wywołania u świnek morskich uczulenia kontaktowego.

Stwierdzono, że związki o budowie tioamidów i benzotiazolu cechuje doskonała skórna tolerancja miejscowa, zatem prawdopodobieństwo powodowania przez nie niepożądanych oddziaływań podrażnieniowych, np. po terapeutycznym naskórnym zastosowaniu, jest znikome. 2,4-dihydroksytiobenzamid cechuje reaktywność krzyżowa z tiuramem, podczas gdy N-1-[2-(4.-fenylo-6.-metylo-benzotiazolo)]-2,4-dihydroksytiobenzamid i N-1(3.,5.dibenztriflorometylo)-2,4-dihydroksytiobenzamid oraz benzotiazol nie wykazują powyższej właściwości. 2,4-dihydroksytiobenzamid charakteryzuje się słabymi właściwościami uczulającymi, zatem, zgodnie z klasyfikacją OECD, nie można zaklasyfikować go do grupy związków o wysokim ryzyku powodowania uczuleń kontaktowych. Wydaje się, iż w warunkach szczególnych, np. parenteralnego stosowania 2,4-dihydroksytiobenzamidu u osobników predysponowanych do rozwoju alergii kontaktowej, można liczyć się z potencjalnym ryzykiem powstania uczuleniowych reakcji kontaktowych. Wysoka korelacja pomiędzy testami naskórnymi a testem zahamowania migracji jednoznacznie rozstrzyga o rzeczywistym powstaniu doświadczalnego uczulenia, a zatem o wysokiej przydatności powyższych metod w badaniu uczuleń kontaktowych.

Wyniki opublikowano w pracy:

Piotr Wilkołek.: Badania nad kontaktowymi właściwościami uczulającymi pochodnych tioamidów u świńek morskich. Med. Wet. 2006, 62, 601-728.

5.3. Badania nad czynnikami etiologicznymi alergii u psów i kotów.

W trakcie badań dotyczących czynników uczulających prowadziłem badania statystyczne najczęściej występujących alergizacji z uwzględnieniem etiologii nadwrażliwości u psów, koni i kotów. Badania prowadzone w latach 1999-2003 były wykonane u 81 psów z rozpoznanym atopowym zapaleniem skóry na podstawie kryteriów wg Willemse, u których wykonano testy śródskórne. Wykazano, że najczęściej występującymi alergenami dającymi reakcje dodatnie są roztocza kurzu domowego. Na drugim miejscu pod względem częstości występowania były reakcje na grzyby pleśniowe. Ponieważ obie grupy wyżej wymienionych alergenów znajdują się w kurzu domowym, są stale obecne w środowisku bytowania większości zwierząt. Dominacja tego rodzaju uczuleń może tłumaczyć występowanie objawów choroby przez cały rok u zdecydowanej większości zwierząt. Alergeny roztoczy i pleśni występujące w kurzu domowym, powodują że zwierzęta przebywające w domu mają z nimi ciągły kontakt w okresie całego roku, jednocześnie nie jest możliwe wyeliminowanie kontaktu psa z tego typu alergenami odpowiedzialnymi za rozwój uczulenia. Cechą charakterystyczną dla występujących w Polsce uczuleń jest ponadto fakt częstszego niż w innych krajach, występowania zjawiska polisensybilizacji, czyli uczuleń wieloważnych u atopowych psów, podczas gdy dodatnie odczyny natychmiastowe na jeden alergen stwierdzano sporadycznie.

Wyniki badań zostały przedstawione w publikacji:

Szczepanik M., **Wilkołek P.**, Taszkun I., Pomorski Z.: Atopowe zapalenie skóry psów w świetle alergenów odpowiedzialnych za rozwój uczulenia. Med. Wet. 2005, 61: 305-308.

Dorobek naukowy po uzyskaniu tytułu doktora nauk weterynaryjnych

5.4. Zastosowanie oceny parametrów biofizycznych skóry w ocenie nasilenia objawów atopowego zapalenia skóry u psów, kotów i koni.

Wchodząc w skład zespołu badawczego Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie zajmuję się problematyką zastosowania metod pomiarowych opartych o parametry biofizyczne skóry jak przeznaskórkowa utrata wody (transepidermal water loss, TEWL), uwodnienie naskórka (skin hydration, SH) i pH skóry oraz ocenę zaburzeń bariery naskórkowej u psów, kotów i koni. Istotnym w tym kierunku badawczym jest zastosowanie ww metod w ocenie stanu skóry u zdrowych zwierząt, co stanowi bazę do analiz zaburzeń zachodzących w skórze zmienionej chorobowo lub wpływu podawanych leków miejscowych. W związku z tym, iż czynnie wykonuję pracę lekarza weterynarii o specjalności dermatologia-endokrynologia interesują mnie procesy gojenia skóry i ich ocena przy pomocy opisywanych parametrów, szczególnie w przypadku powszechnie występujących u zwierząt chorób o podłożu alergicznym lub innych chorobach o charakterze zapalno-świądowym. Badania z tego zakresu prowadzone były przez zespół badawczy zajmujący się atopią jako chorobą genetycznie uwarunkowaną, związaną z wytwarzaniem immunoglobulin klasy IgE i IgG w odpowiedzi na swoiste alergeny. U psów choroba manifestuje się przede wszystkim w postaci atopowego zapalenia skóry i przebiega zwykle przez całe życie zwierzęcia. Celem podjętych badań było stwierdzenie korelacji pomiędzy parametrami biofizycznymi skóry (przeznaskórkowa utrata wody i uwodnienie naskórka; TEWL i SH), a natężeniem objawów klinicznych (rumienia) oraz odczynem skóry. Badania opierały się na ocenie za pomocą klinicznego systemu oceny nasilenia zmian skórnych - CADESI (ang. Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) oraz nasileniem zmian skórnych ocenianym w danej okolicy - CADESI L. Ocena zarówno parametrów biofizycznych skóry jak i CADESI umożliwia obiektywizację wyników leczenia i przebiegu choroby. W ramach prowadzonych przez zespół badań dokonano także oceny wpływu leczenia przeciwświądowego cyklosporyną A na zmiany w parametrach TEWL.

W omawianym zakresie tematycznym badań oceniano zależność pomiędzy systemem klinicznym CADESI-03 a przeznaskórkową utratą wody, które prześledzono u 26 psów. Korelację pomiędzy CADESI-03 a parametrami

biofizycznymi skóry (uwodnieniem naskórka, odczynem skóry, natężeniem rumienia) badano zaś u 33 psów. Do oceny wpływu postępowania leczniczego na TEWL użyto 12 psów z atopowym zapaleniem skóry. Pomiar TEWL, uwodnienia naskórka, odczynu skóry oraz natężenia rumienia wykonywano przy zastosowaniu Courage Khazaka Multi Probe Adapter 5 z użyciem sond w 10 okolicach ciała: okolica łędźwiowa, prawy bok klatki piersiowej, wewnętrzna powierzchnia małżowiny usznej prawej, policzek prawy, grzbiet nosa, boczna okolica przedramienia prawego, przestrzeń międzypalcowa kończyny piersiowej prawej, pachwina, brzuch, pachy. Pozytywne korelacje stwierdzone zostały na 5 z 10 badanych okolic ciała. Stwierdzono występowanie dodatnich korelacji pomiędzy CADESI-03 a TEWL na małżowinie usznej ($r=0,59$), grzbiecie nosa ($r=0,62$) i przestrzeni międzypalcowej ($r=0,47$). Ponadto stwierdzono występowanie dodatnich korelacji pomiędzy TEWL a CADESI w okolicy pachy ($r=0,73$), pachwinie ($r=0,55$), przestrzeni między palcowej ($r=0,77$). Ponadto stwierdzono występowanie korelacji pomiędzy uwodnieniem naskórka a CADESI w pachwinie ($r=0,73$) oraz przestrzeni między palcowej ($r=0,82$), także pomiędzy CADESI a uwodnieniem naskórka w przestrzeni między palcowej ($r=0,52$) oraz pomiędzy odczynem skóry a CADESI w okolicy łędźwiowej ($r=0,57$), klatce piersiowej ($r=0,40$), przedramieniu ($r=0,35$). W przypadku natężenia rumienia pozytywne zależności stwierdzono w przestrzeni międzypalcowej w przypadku CADESI ($r=0,6$). Podczas leczenia przeciwsłonecznego stwierdzano stopniowe obniżanie się wartości CADESI-03 i TEWL w przestrzeniach międzypalcowych, policzkach, brzuchu, pachwinie i pachach. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano użyteczność oznaczania TEWL jako parametru oceniającego ciężkość nasilenia objawów chorobowych w przypadku atopowego zapalenia skóry u psów. Badania wskazują na możliwość zastosowania u psów w monitorowaniu nasilenia objawów choroby i efektów leczenia głównie TEWL. Pozostałe parametry korelują znacznie słabiej z CADESI-03 w przypadku atopowego zapalenia skóry u psów.

W kolejnych badaniach oceniających parametry biofizyczne skóry badano różne okolice ciała (6 okolic) u zdrowych i chorujących na atopowe zapalenie skóry kotów. W ten sposób badano wpływ chorób alergicznych na jakość bariery naskórkowej pod kątem utraty naskórkowej wody (TEWL) i nawilżenia naskórka (SH) przy pomocy urządzeń VapoMeter SWL 4605 i Corneometer®CM 825. Wykazano różnice pomiędzy obu grupami zwierząt dla TEWL w okolicy łędźwiowej ($p=0.0049$), dla SH ($p=0.02$) w okolicy pachwinowej, gdzie wartości były niższe u kotów chorych.

Wykazano, że wartości utraty przeznaskórkowej wody są wyższe u kotów chorych, co oznacza uszkodzenie bariery naskórkowej, podobnie jak u ludzi i psów w przebiegu atopowego zapalenia skóry.

Oceniałem również przeznaskórkową utratę wody (TEWL) u różnych ras koni po doświadczalnym uszkodzeniu naskórka w różnych okolicach ciała po stryżeniu i wpływ czynników mechanicznych na zaburzenie bariery naskórkowej u tego gatunku. Badania prowadzone były przy pomocy urządzenia Courage Khazaka Multi Probe Adapter sondą TM 300. Wykazano nieznaczny wpływ stryżenia na oceniany parametr, co potwierdza przydatność i nieznaczny wpływ tej procedury podczas wykonywania badań oceny bariery naskórkowej u koni.

Uzyskane wyniki zostały opublikowane w cyklu następujących prac oryginalnych:

1. Zając M, Szczepanik MP, **Wilkołek PM**, Adamek ŁR, Pomorski ZJ, Sitkowski W, Gołyński M.: Assessment of a correlation between Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI-03) and selected biophysical skin measures (skin hydration, pH, and erythema intensity) in dogs with naturally occurring atopic dermatitis. *Can. J. Vet. Res.* 2015, 79:136-40.2.
2. Zając M., Szczepanik M., **Wilkołek P.**, Adamek Ł., Pomorski Z.: The influence of non-specific anti-pruritus treatment with cyclosporine A on transepidermal water loss (TEWL) in natural atopic dermatitis in dogs. *Pol. J. Vet. Sci.* 2015, 18: 415-424.3.
3. Zając M., Szczepanik M. P., **Wilkołek P.**, M., Adamek Ł. R., Pomorski Z. J. H., Sitkowski W., Gołyński M.. Assessment of the relationship between transepidermal water loss (TEWL) and severity of clinical signs (CADESI-03) in atopic dogs. *Vet. Dermatol.* 2014, 25: 503–e83.
4. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Łukasz Adamek, Grzegorz Kalisz, Marcin Gołyński, Wiesław Sitkowski, Iwona Taszkun. Transepidermal water loss and skin hydration in healthy cats and cats with non-flea non-food hypersensitivity dermatitis (NFNFHD). *Pol. J. Vet. Sci.* 2019 vol. 22 nr 2 s. 237-242.
5. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Łukasz Adamek, Grzegorz Kalisz, Marcin Gołyński, Wiesław Sitkowski, Iwona Taszkun. Correlation between transepidermal water loss (TEWL) and severity of clinical symptoms in cats with atopic dermatitis. *Can. J. Vet. Res.* 2018 vol. 82, no. 4 s. 306-311.
6. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Zbigniew Pomorski. The examination of biophysical parameters of skin (transepidermal water loss, skin hydration and ph

value) in different body regions of normal cats of both sexes. J. Feline. Med. Surg. 2011, vol 13 issue 4 s. 224–230.

7. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Łukasz Adamek, Marcin Gołyński, Wiesław Sitkowski, Iwona Taszkun. Influence of hair clipping on transepidermal water loss values in horses – pilot study. Pol. J. Vet. Sci. 2018 vol. 21 nr 1 s. 35-38.

Ponadto tematyka ta była omawiana w następujących pracach przeglądowych:

1. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Łukasz Adamek, Marcin Gołyński. Parametry biofizyczne skóry i ich zastosowanie w diagnostyce dermatologicznej u zwierząt. Życie Wet. 2010;85:44-47.
2. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Łukasz Adamek, Karina Chmielecka. Aktualne informacje na temat patogenez, rozpoznawania i leczenia atopowego zapalenia skóry. Co nowego wiemy o atopii u psów?. Weter Prakt 2015;12:79-87.
3. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**. Rola zaburzeń bariery skórnej w atopowym zapaleniu skóry u psów. Życie Wet. 2012;87:672-674.

5.5. Ocena zdolności regeneracji bariery naskórkowej strzyków u bydła mlecznego u bydła w różnym wieku.

Kolejnym projektem badawczym w latach 2016-2019, który nadzorowałem z racji sprawowania funkcji promotora pomocniczego pracy doktorskiej, była analiza zmienności parametrów biofizycznych skóry u bydła w trakcie doświadczalnego uszkodzenia naskórka i procesu regeneracji. Obrona pracy doktorskiej lek. wet. Anny Malinowskiej pt. „Ocena parametrów biofizycznych skóry oraz zdolności regeneracji bariery naskórkowej strzyków u bydła mlecznego” miała miejsce w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie w czerwcu 2019 r. W trakcie realizacji badań dokonano oceny funkcji ochronnej naskórka i analizy dynamiki zmian badanych parametrów biofizycznych naskórka strzyków u bydła w różnym wieku i z różnym stopniem jego uszkodzenia po doświadczalnej ekspozycji na bodźce mechaniczne (skaryfikacja naskórka) i chemiczne (laurylosiarczan sodowy) u krów mlecznych użytkowanych w systemie doju automatycznego. Pomiar TEWL, uwodnienia naskórka i odczynu skóry oraz natężenia rumienia wykonywano przy zastosowaniu Courage Khazaka Multi Probe Adapter 5 z użyciem odpowiednich sond. Wykazaliśmy możliwość oceny jakości strzyków z wykorzystaniem ww parametrów w praktyce oraz proces

przyspieszenia stabilizacji parametrów biofizycznych naskórka po zastosowaniu preparatów nawilżających, jak i okluzyjną rolę preparatów odkażająco-nawilżających.

5.6. Alergiczne choroby skóry u zwierząt.

Byłem również członkiem międzynarodowego zespołu badawczego, we współpracy z University of Edinburgh Royal (Dick) School of Veterinary Studies pod kierunkiem Prof. Keitha Thodaya, oceniającego stosowanie generycznej postaci cyklosporyny A (CsA, 100 mg/ml) w dawce 5 mg/kg m.c. co 24 godziny *p.o.* w leczeniu psów z atopowym zapaleniem skóry oraz jej wpływu na aktywność fagocytarną komórek. Badania miały również na celu porównanie skuteczności leczenia CsA z prednizonem w dawce 1 mg/kg m.c. *p.o.* oraz analizę ewentualnych reakcji niepożądanych na lek. Badania prowadzono u psów wyselekcjonowanych na podstawie objawów klinicznych, reakcji na leczenie i dodatnich wynikach testów śródskórnych z alergenami roztoczy, pleśni, pyłków traw, chwastów, drzew. Na podstawie oceny indeksu świadomego (PIS) i systemu oceny klinicznej CADESI-01 oceniano skuteczność leczenia 14, 28 i 42 dnia. Stwierdzono podobne wyniki skuteczności leczenia przy użyciu obu leków ($P=0.113$). Nie stwierdzono również różnic statystycznie istotnych w komórkowej zdolności fagocytarnej pomiędzy psami leczonymi prednizonem i CsA. Zaobserwowano występowanie reakcji niepożądanych u 23% psów wymioty i biegunkę u 15% zwierząt. Pomimo reakcji niepożądanych cyklosporyna A okazała się lekiem skutecznym dającym możliwość kontrolowania objawów atopowego zapalenia skóry u psów. Badanie te potwierdziły przydatność cyklosporyny jako leku mającego istotne znaczenie w leczeniu atopowego zapalenia skóry, dającego możliwość zminimalizowania działań niepożądanych w przewlekłych alergodermatozach u psów.

Wyniki znalazły się w artykułach:

1. Kovalik M., Taszkun I., Pomorski Z., Kozak M., Pomorska D., Szczepanik M., **Wilkołek P.**, Palenik L., Shaw D. J., Broek Van Den A. H. M., Thoday K. L.: Evaluation of a human generic formulation of ciclosporin in the treatment of canine atopic dermatitis with in vitro assessment of the functional capacity of phagocytic cells. *Vet. Rec.* 2011,168: 537-542.
2. Marcel Kovalik, **Piotr Wilkołek**, Marcin Szczepanik, Zbigniew Pomorski, Marian Kozak, Miroslava Kovalikova. Cyklosporyna - nowy lek w leczeniu atopowego zapalenia skóry u psów. *Życie Wet.*2007, 82: 59-62.

W ramach mojego zainteresowania naukowego chorobami alergicznymi u zwierząt opublikowałem kilka prac przeglądowych, z dołączeniem obserwacji własnych, z omawianego zakresu:

1. **Piotr Wilkołek**, Marcin Szczepanik. Diagnostyka alergologiczna koni. Weter. Prakt. 2007, 4: 70-74.
2. Szczepanik M., Pomorska D., **Wilkołek P.**: Diagnostic approach to atopy in cats. Bull. Vet. Inst. Pulawy 2008, 52: 477-480.
3. **Piotr Wilkołek**, Marcin Szczepanik. Zastosowanie immunoterapii swoistej w leczeniu zwierząt z alergią. Życie Wet. 2010, 85: 215-219.
4. Marcin Szczepanik, Łukasz Adamek, **Piotr Wilkołek**. Diagnostyka atopowego zapalenia skóry u psów oraz ocena obrazu klinicznego choroby. Życie Wet. 2010, 85: 332-337.
5. **Piotr Wilkołek**, Marcin Szczepanik, Łukasz Adamek. Aktualne poglądy na temat atopii u koni. Życie Wet. 2011, 86, 439-442.
6. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**. Atopowe zapalenie skóry u kotów. Życie Wet. 2011, 86: 281-286.
7. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**. Diagnostyka serologiczna alergicznych chorób skóry u psów i kotów. Życie Wet. 2013, 88: 374-377.
8. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**. Atopia u koni - rozpoznawanie i leczenie. Mag. Wet. 2013, 22: 27-32.
9. **Piotr Wilkołek**, Marcin Szczepanik, Łukasz Adamek, Marcin Gołyński. Atopowe zapalenie skóry u psów - aktualne wskazania diagnostyczne i leczenie farmakologiczne. Weter. Prakt. 2018, 15, 22-26.
10. **Piotr Wilkołek**, Marcin Szczepanik, Marcin Gołyński.: Fenotypy atopowego zapalenia skóry u psów - symptomatologia choroby. Weter. Prakt. 2019;16:22-27.

5.7. Wpływ naturalnie występującej i eksperymentalnie indukowanej niedoczynności tarczycy na wybrane organy u szczurów i psów.

Zajmowałem się wpływem metimazolu na parametry biofizyczne skóry u szczurów. Celem pracy była ocena przelnaskórkowej utraty wody, nawilżenia oraz odczynu skóry u szczurów w przebiegu eksperymentalnej niedoczynności tarczycy indukowanej metimazolem. Badania przeprowadzono na dorosłych szczurach Wistar obu płci, które podzielono na cztery grupy: kontrolna C1 złożona ze zdrowych

samców (n = 6), kontrolna C2 złożona ze zdrowych samic (n = 6), eksperymentalna E1 złożona z samców otrzymujących 0,05% metimazol (Sigma-Aldrich) z wodą do picia ad libitum (n= 6) i eksperymentalna E2 złożona z samic otrzymujących metimazol jak wyżej (n = 6). Pomiarów biofizycznych parametrów skóry wykonywano na ostrzyżonej skórze po lewej stronie klatki piersiowej w 0, 7, 14, 21 i 28 dniu doświadczenia. Najczęściej występującymi powikłaniami leczenia metimazolem są: agranulocytoza, granulocytopenia, niedokrwistość aplastyczna, trombocytopenia, toczeń rumieniowaty układowy, polekowe zapalenie naczyń i toksyczne uszkodzenie wątroby. Badania pozwoliły ustalić charakter zaburzeń bariery skórnej związanej z niedoczynnością tarczycy wywołaną podawaniem metimazolu. Stwierdzono, że samce wydają się być pod tym względem mniej wrażliwe. Zmiany zaobserwowane u samic wskazują na obecność szybkich mechanizmów, normalizujących TEWL i nawilżenie skóry, przywracających normalne funkcje bariery skórnej. Ocena parametrów biofizycznych skóry może pozwolić na wczesne wykrycie zmian dotyczących funkcji barierowych skóry w przebiegu niedoczynności tarczycy.

Kontynuacją badań nad wpływem zaburzeń czynności tarczycy były badania nad składem aminokwasowym mięśni u szczurów z eksperymentalnie wywołaną niedoczynnością tarczycy we współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie. W przebiegu nadczynności tarczycy synteza białek mięśniowych ulega obniżeniu, a wzrasta uwalnianie aminokwasów z mięśni wskutek proteolizy. W przebiegu niedoczynności tarczycy pojawiają się kliniczne zaburzenia kurczliwości mięśni, jak również miopatie. Celem pracy była ocena stężenia wybranych aminokwasów w mięśniach brzuchatym łydki w przebiegu eksperymentalnej niedoczynności tarczycy indukowanej metimazolem u szczurów. Zaburzenia obrotu białka występujące w przebiegu doświadczalnej niedoczynności tarczycy indukowanej metimazolem prowadzą do zmian w zawartości wielu aminokwasów w mięśniach brzuchatym łydki u szczurów. Obniżone stężenie leucyny, izoleucyny oraz 1-metylohistydyny może powodować poważne zaburzenia funkcji mięśni szkieletowych polegające na zmniejszeniu produkcji białek, osłabieniu regeneracji włókien mięśniowych, pogorszeniu wychwytu i transportu glukozy u samców oraz narażeniu mięśni na skutki stresu oksydacyjnego u samców i samic.

We współpracy z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie i Uniwersytetem Marii-Curie Skłodowskiej prowadziłem badania dotyczące wpływu doświadczalnie

wywołanej niedoczynności tarczycy na czynność układu rozrodczego u szczurów. Ocena miała na celu wykazanie wpływu obniżonych poziomów tarczycy na czynność komórek Sertoliego i Leydiga u samców szczurów rasy Winstar w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazano wpływ hamujący na stężenie testosteronu, hormonów luteinizującego i apoptozę komórek Sertoliego.

Brałem udział w badaniach zajmujących się problematyką naturalnej i doświadczalnej niedoczynności tarczycy u zwierząt we współpracy z Katedrą Immunobiologii Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy. Celem pracy była ocena stężenia całkowitej homocysteiny w odniesieniu do stężenia kwasu foliowego i hormonów tarczycy w surowicy psów z naturalnie występującą niedoczynnością tarczycy. Badania obejmowały 29 psów mieszańców obu płci w wieku od 4 do 12 lat oraz grupę kontrolną składającą się z 10 klinicznie zdrowych osobników w wieku od 5 do 10 lat. W ramach prowadzonych badań ocenialiśmy zależności pomiędzy stężeniem homocysteiny i kwasu foliowego, co pozwoliło ustalić, że u takich zwierząt dochodzi do wzrostu stężenia homocysteiny przy równoczesnym spadku stężenia kwasu foliowego. Psy z naturalnie występującą niedoczynnością tarczycy mogą wykazywać zwiększenie stężenia homocysteiny oraz obniżenie stężenia kwasu foliowego w surowicy, co może być podstawą dla suplementacji u nich tej witaminy. Można zasugerować, że u psów z hipotyreozą podwyższone ryzyko występowania chorób nerek i układu sercowo-naczyniowego może mieć związek z obecnością hiperhomocysteinemii.

Wyniki powyższych badań zostały opublikowane w następujących artykułach:

1. Gołyński M., Szczepanik M., Lutnicki K., Adamek Ł., Gołyńska M., **Wilkołek P.**, Sitkowski W., Kurek Ł., Dębiak P.: Biophysical parameters of rats skin after the administration of methimazole. Bull. Vet. Inst. Pulawy 2014, 58: 315-319.
2. Gołyński M., Szpetnar M, Tatara MR, Lutnicki K, Gołyńska M, Kurek Ł, Szczepanik M, **Wilkołek P.** Content of selected amino acids in the gastrocnemius muscle during experimental hypothyroidism in rats. J Vet. Res. 2016, 60, 489-493.
3. Gołyński M., Lutnicki K., Krumrych W., Szczepanik M., Gołyńska M., **Wilkołek P.**, Adamek Ł., Sitkowski Ł., Kurek Ł.: Relationship between total homocysteine, folic acid, and thyroid hormones in hypothyroid dogs. J. Vet. Intern. Med. 2017, 31:1403–1405.

4. Marcin Gołyński, Michał Metyk, Piotr Szkodziak, Krzysztof Lutnicki, Grzegorz Kalisz, Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Piotr Dobrowolski. Pituitary-testicular axis dysfunction in methimazole-induced hypothyroidism in rats. J. Vet. Res. (Puławy, Print) 2019, vol. 63 issue 1 s. 161-166.

Ponadto w ramach mojego zainteresowania tym tematem zostały opublikowane następujące prace przeglądowe:

1. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Beata Abramowicz, Łukasz Adamek.: Problemy neurologiczne w przebiegu niedoczynności tarczycy u psów. Weter. Prakt. 2016, 13: 79-80, 82-83.
2. Łukasz Adamek, Marcin Gołyński, **Piotr Wilkołek**, Marcin Szczepanik.: Endokrynologia w praktyce. Niedoczynność tarczycy u psów. Weter. Prakt. 2010, 7: 40-43.
3. Gołyński M., Szczepanik M., **Wilkołek P.**, Adamek Ł.: Wybrane czynniki ryzyka u psów z niedoczynnością tarczycy Postępy w diagnostyce i terapii chorób wewnętrznych zwierząt S. 47-53, Lublin, Wydawnictwo UP w Lublinie, 2012, 978-83-7259-206-4.

5.8. Wpływ kapsaicynoidów na narządy mięsne u szczurów.

Uczestniczyłem w badaniach dotyczących wpływu doustnego podawania kapsaicynoidów na stan narządów mięsnych u szczurów. Owoce ostrej papryki habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) są coraz częściej wykorzystywane jako przyprawa. W związku z wpływem kapsaicyny na funkcje adipocytów może ona być wykorzystywana przykładowo w walce z otyłością. Substancja ta stosowana jest ponadto jako lek o działaniu przeciwnowotworowym. Istotne jest czy jej podawanie nie prowadzi do negatywnych skutków. Celem badań było wykazanie czy podawanie kapsaicyny 37 szczurom wpływa na poziom tyroksyny, stan przewodu pokarmowego i narządów mięsnych u szczurów. Badania wykazały, że kapsaicyna jest substancją bezpieczną, nie wykazującą istotnego wpływu na oceniane w badaniach układy. Wyniki badań zostały opublikowane w artykułach:

1. Gołyński M, Lutnicki K, Kalbarczyk G, Adamek Ł, Balicki I, **Wilkołek P**, Szczepanik M, Olech M. The effect of intragastric administration of capsaicinoids from habanero fruits (*Capsicum chinense* Jacq.) on total thyroxin levels in rats. Endokrynol. Ped. 2015, 50: 23-27.

2. Gołyński M, Balicki I, Lutnicki K, Smiech A, Adamek L, Szczepanik M, **Wilkołek P**, Brodzki A, Adaszek L. Systemic and local effects of intragastric administration of the habanero fruit (*Capsicum chinense* Jacquin c.v.) in rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 2015, 66: 259-265.

5.9. Wpływ biologicznych czynników środowiskowych na grupę zawodową lekarzy weterynarii.

We współpracy z Instytutem Medycyny Wsi w Lublinie w badaniach poświęconych ocenie wpływu biologicznych czynników środowiskowych na poszczególne grupy zawodowe oceniałem stężenie i skład mezofilnej flory bakteryjnej w powietrzu wybranych klinik medycznych i weterynaryjnych zlokalizowanych w miastach i na wsi. Liczne badania dotyczące bioaerozoli w dziedzinie przemysłu, rolnictwa i hodowli zwierząt, dotyczące zarówno budynków mieszkalnych, jak i publicznych, prowadzone są nieprzerwanie od wielu lat. Pobieranie próbek powietrza przeprowadzono w latach 2011-2013 w 44 praktykach weterynaryjnych w okresie jesienno-zimowym i wiosenno-letnim. Stężenie bakterii wahało się od 39-5034 cfu/m³, przy wyższych wartościach odnotowanych w biurach działających w miastach. W badanych gabinetach medycznych i weterynaryjnych bakterie Gram-dodatnie składały się z największej grupy mikroorganizmów, wśród których przeważały ziarniaki Gram-dodatnie z rodzaju *Staphylococcus*, z najwyższą średnią 1074,40 cfu/m³ w biurach miejskich w sezonie jesiennym. Najmniejszą grupę reprezentowały bakterie Gram-ujemne ze stężeniami 0.0-215 cfu/m³. W sumie zidentyfikowano 93 rodzaje/gatunki bakterii. 12-miesięczna seria badań wykazała najwyższe stężenia mikroorganizmów jesienią w biurach zlokalizowanych w mieście, a najniższe zimą dla ośrodków wiejskich. Stwierdzono, że środowisko urzędów weterynaryjnych jest siedliskiem bakterii chorobotwórczych i potencjalnie chorobotwórczych, które mogą stwarzać problemy zdrowotne nie tylko dla mieszkańców, ale także dla zwierząt.

Wyniki badań zostały opublikowane w artykule:

Jolanta Sitkowska, Wiesław Sitkowski, Łukasz Sitkowski, Krzysztof Lutnicki, Łukasz Adamek, **Piotr Wilkołek**. Seasonal microbiological quality of air in veterinary practices in Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2015;22(4):614–624.

5.10 Badania epidemiologiczne u psów z guzami z komórek tłuszczowych.

Współpracując z Katedrą Anatomii Patologicznej UP w Lublinie prowadziłem badania określające związek między stopniem złośliwości guza wg. trójstopniowej skali Patnaika a danymi epidemiologicznymi wynikającymi z predyspozycji wiekowych, płciowych, rasowych, wielkości psa i lokalizacji zmian nowotworowych. Badaniem objęto 263 psy różnych ras ze stwierdzoną mastocytomą. Preparaty do oceny mikroskopowej zabarwiono rutynowo hematoksyliną i eozyną oraz błękitem toluidyny. Analiza histopatologiczna została dokonana w oparciu o klasyfikację WHO z uwzględnieniem 3 stopniowej skali złośliwości wg. Patnaika. Prawdopodobieństwo wystąpienia poszczególnych stopni złośliwości GI, GII, GIII ustalono posługując się metodą najmniejszych kwadratów (ang. least-squares means, $lsm \pm se$ (standard error)).

Przeprowadzone analizy wykazały większe prawdopodobieństwo pojawienia się guzów z komórek tłuszczowych w stopniu GI u psów rasy buldog francuski, w młodym wieku 2-6 lat, w okolicy głowy, szyi, tułowia oraz kończyn. Mastocytomy o pośrednim zróżnicowaniu GII wykazały większą tendencję do wystąpienia u takich ras jak bokserzy, dobermanów, jamniki, owczarki i setery, u psów starszych wieku 7-16 lat i lokalizacją w okolicy moszny. Z kolei guzy niskozróżnicowane GIII przedstawiają większe prawdopodobieństwo wystąpienia u psów najstarszych w wieku 11-16 lat, w okolicy pachowej, oraz u shar-pei. Nie stwierdzono zależności między stopniem złośliwości guza a płcią oraz wielkością psów. Badania potwierdziły że stopień zróżnicowania oparty na klasyfikacji Patnaika jest ściśle związany z rasą, wiekiem oraz lokalizacją.

Wyniki badań zostały opublikowane w artykule:

Śmiech A., Ślaska B., Łopuszyński W., Jasik A., Szczepanik M., **Wilkołek P.:** Epidemiological Study of Canine Mast Cell Tumours According to the Histological Malignancy Grade. Pol. J. Vet. Sci. 2017;20 (3):455-465.

5.11. Kierowanie międzynarodowymi i krajowymi projektami badawczymi oraz udział w takich projektach.

W ramach realizacji projektów badawczych brałem udział jako:

6.1 Kierownik projektu: „Ocena kliniczna bezpieczeństwa stosowania oraz skuteczności przeciwko pchłom i kleszczom preparatu multiektifo u psów” we współpracy z Instytutem Przemysłu Organicznego w Warszawie w ramach projektu celowego nr 03732/CT 09-6/2005. Realizacja rok 2006 WKW/U/46.

6.2 Wykonawca grantu: „Ocena wybranych parametrów odpowiedzi immunologicznej w przebiegu atopowego zapalenia skóry psów”, 2010, projekt nr N30801632/1409 finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, wykonawca badań z zastosowaniem technik cytometrii przepływowej w analizie krwi obwodowej psów. Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

5.12. Staże naukowe krajowe i zagraniczne oraz szkolenia

Odbyłem staże zagraniczne, których celem było zapoznanie się z trendami naukowo-badawczymi i metodami nauczania studentów w następujących uczelniach:

Staże długoterminowe

5.12.1 Wielka Brytania, University of Edinburgh, Edinburgh, 21.09.2010-22.10.2010, staż naukowy, prowadzenie zajęć dydaktycznych

5.12.2 Słowacja, Univerzita Veterinarskeho Lekarska v Kosiciach, Interna Klinika, 24.05 –24.06.2005, staż naukowy, Akademia Rolnicza w Lublinie

Staże krótkoterminowe

5.12.3 Francja, Lyon, École Natiolane Vétérinaire de Lyon (ENVL) 3.12 – 12.12.1999, prowadzenie zajęć dydaktycznych, Akademia Rolnicza w Lublinie

5.12.4 Turcja, Mustafa Kemal University, Antakya 3.05-9.05.2010, prowadzenie zajęć dydaktycznych, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

5.12.5 Turcja, Ankara 2011, 7-13.05.2012, prowadzenie zajęć dydaktycznych, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

5.13. Wyróżnienia i nagrody

Zostałem nagrodzony przez władze uczelni następującymi nagrodami:

1. Nagroda Rektora UP w Lublinie, zespołowa III stopnia za osiągnięcia naukowe za cykl oryginalnych publikacji naukowych 2011.
2. Nagroda Rektora UP w Lublinie, zespołowa II stopnia za osiągnięcia dydaktyczne 2012 za podręcznik.
3. Nagroda Rektora UP w Lublinie, zespołowa II stopnia za osiągnięcia dydaktyczne 2017 za podręcznik.
4. Wyróżnienie Rektora UP w Lublinie, za aktywność naukowo-badawczą za rok 2019.

5.14. Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego

Byłem promotorem pomocniczym w pracy doktorskiej lek. wet. Anny Malinowskiej, tytuł rozprawy doktorskiej pt. „Ocena parametrów biofizycznych skóry oraz zdolności regeneracji bariery naskórkowej strzyków u bydła mlecznego” uchwała Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej z dnia 3 czerwca 2019 r.; promotor - dr hab. Iwona Taszkun, promotor pomocniczy - dr n. wet. Piotr Wilkołek.

5.15. Udział w kongresach i konferencjach naukowych

Uczestniczyłem jako prelegent w sympozjach i konferencjach naukowych:

1. **Wilkołek P.:** Buldog przykład psa atopowego. X Jubileuszowy Kongres Polskiego Stowarzyszenia Lekarzy Weterynarii Małych Zwierząt Lublin 26-27 października 2002 r.
2. **Wilkołek P.:** Pomorska A., Szczepanik M., Gołyński M.: Czynniki etiologiczne wybranych chorób alergicznych koni w województwie lubelskim. XII kongres PTNW Olsztyn, wrzesień 2008 r.
3. **Wilkołek P.:** Rozpoznawanie zespołu poliuria/polidipsja XIX Kongres PSLWMZ Warszawa 21-23 października 2011.

4. **Wilkołek P.:** „Objawy kliniczne chorób tarczycy”. Weterynaryjna Szkoła Endokrynologii Elamed 24-25 września 2011 Katowice.
5. **Wilkołek P.:** „Objawy kliniczne chorób tarczycy”. Weterynaryjna Szkoła Endokrynologii Elamed Poznań, 26-27 listopada 2011 r.
6. **Wilkołek P.:** Uogólnione wyłysienia u psów – rozpoznawanie i leczenie. Konferencja Endokrynologia, Dermatologia. Lublin 12-13 grudnia 2015 r.
7. **Wilkołek P.:** Choroby zakaźne i wektorowe. Konferencja Lublin, 9-10 kwietnia 2016.
8. **Wilkołek P.:** Aktualności w diagnostyce alergologicznej *in vivo* i *in vitro* koni. Konferencja PTNW Lublin 8 marca 2017 r.
9. **Wilkołek P.:** Postępowanie diagnostyczne i leczenie przypadków świądu głowy i szyi u kotów. Konferencja Dermatologia psów i kotów. Lublin 8-9 kwietnia 2017 r.
10. **Wilkołek P., Taszkun I.:** Diagnostyka alergologiczna i postępowanie terapeutyczne koni - testy śródskórne i serologiczne w praktyce. Międzynarodowa konferencja naukowa. Lublin, 8-10 marca 2018 r.
11. **Wilkołek P.:** Diagnostyka zaburzeń endokrynologicznych u psów i kotów. Konferencja Endokrynologia. Lublin 1-2 grudnia 2018 r.
12. **Wilkołek P.:** Śmiertelne przypadki w dermatologii weterynaryjnej psów. XIV Warsztaty dermatologiczne. Ustroń 8-10 czerwca 2018 r.
13. **Wilkołek P.:** Zaburzenia nadnerczy u psów. Konferencja endokrynologiczna. Białystok 8 listopada 2019 r.

5.16. Recenzje artykułów naukowych

Recenzowałem 4 oryginalne artykuły naukowe w czasopismach *Allergy*, *Plos One*, *Veterinary Medicine International*, *Acta Veterinaria Hungarica* w latach 2011-2020 oraz 24 recenzje w monografiach dermatologiczno-endokrynologicznych w latach 2017-2020 w *Weterynaria w Praktyce*.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę

6.1. Działalność popularyzująca naukę i organizacyjna

W ramach działalności popularyzującej naukę, współpracując z Zakładem Patomorfologii i Weterynarii Sądowej UP w Lublinie, jestem współautorem pięciotomowego atlasu dermatologicznego, pierwszej w Polsce, oryginalnej publikacji poświęconej dermatologii weterynaryjnej psów i kotów. Atlas, zawierający ponad 1400 autorskich fotografii udokumentowanych przypadków dermatologicznych, szczegółowo omawia i przede wszystkim ilustruje choroby skóry o różnej etiologii. Poszczególne tomy atlasu ukazywały się w latach 2012-2013 nakładem wydawnictwa Medical Tribune Polska.

Poza wymienionym cyklem publikacji książkowych jestem współautorem innych podręczników tematycznych i poświęconych poszczególnym gatunkom zwierząt oraz metodyce badań dermatologicznych dla lekarzy weterynarii i studentów, rozdziałów lub konsultantem merytorycznym rozdziałów książek.

1. „Atlas dermatologiczny psów i kotów, T.1 Choroby alergiczne i immunologiczne”. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Anna Śmiech. Warszawa, Medical Tribune Polska, 2012, 978-83-62597-42-0.
2. „Atlas dermatologiczny psów i kotów, T.2 Choroby pasożytnicze i grzybicze”. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Anna Śmiech. Warszawa, Medical Tribune Polska, 2012, 978-83-62597-57-4.
3. „Atlas dermatologiczny psów i kotów, T.3 Choroby genetyczne i hormonalne”. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Anna Śmiech. Warszawa, Medical Tribune Polska, 2012, 978-83-62597-58-1.
4. „Atlas dermatologiczny psów i kotów. T. 4, Ropne, nowotworowe, psychogenne, środowiskowe, żywieniowe i metaboliczne choroby skóry”. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Anna Śmiech. Warszawa, Medical Tribune Polska, 978-83-62597-71-0.
5. „Atlas dermatologiczny psów i kotów. T. 5, Dermatozy topograficzne”. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Anna Śmiech. Warszawa, Medical Tribune Polska, 978-83-62597-72-7.

6. „Zarys dermatologii koni”. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**. Katowice, Wydawnictwo Elamed, 2009, ISBN 978-83-61190-10-3.
7. „Wygrać z atopią: zasady rozpoznawania i leczenia atopowego zapalenia skóry u psów, kotów i koni”. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**. Katowice, Wydawnictwo Elamed, 2011, ISBN 978-83-61190-26-4.
8. „Wygrać z atopią: zasady rozpoznawania i leczenia atopowego zapalenia skóry u psów, kotów i koni”. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**. Wyd. 2. Katowice, Wydawnictwo Elamed, 2016.
9. „Algorytmy postępowania w chorobach skóry u kotów”. **Piotr Wilkołek**, Marcin Szczepanik, Anna Śmiech. Katowice, Wydawnictwo Elamed, 2018 ISBN 978-83-65883-04-9
10. „Metody diagnostyczne w dermatologii weterynaryjnej. Przewodnik diagnostyczny”. Marcin Szczepanik, **Piotr Wilkołek**, Anna Śmiech. Katowice, Wydawnictwo Elamed, 2019 ISBN 978-83-65883-21-6.
11. „Choroby Skóry Psów i Kotów”. P J. Mckeever, R G. Harvey, T Nuttall. Wydawnictwo Galaktyka, 2006 - konsultacja merytoryczna, redakcja naukowa.
12. „Choroby tarczycy u psów” i „Choroby nadnerczy i steroidoterapia u psów” red. M. Gołyński - autor rozdziałów w monografiach wieloautorskich, monografie przygotowane w ramach Weterynaryjnej Szkoły Endokrynologii, na której byłem wykładowcą w roku 2011 i 2012.

Poza wymienionymi publikacjami książkowymi byłem autorem i współautorem 179 publikacji popularno-naukowych obejmujących głównie problematykę dermatologii i endokrynologii weterynaryjnej (szczegółowy wykaz w załączniku nr 3).

Wielokrotnie brałem udział jako wykładowca lub współorganizator sympozjów, konferencji, szkoleń i warsztatów dla lekarzy weterynarii i studentów. W roku 2004 kształciłem lekarzy weterynarii podczas cyklu trzech seminariów, z zakresu chorób alergicznych u zwierząt towarzyszących w ramach "Akademii po Dyplomie" organizowanej przez wydawnictwo Medical Tribune. Byłem również odpowiedzialny za tłumaczenie z języka angielskiego oraz merytoryczne przygotowanie materiałów IX i X Międzynarodowego Sympozjum Dermatologicznego w latach 2005-2006.

Wielokrotnie prowadziłem wykłady na Warsztatach Dermatologicznych organizowanych przez Sekcję Dermatologów Weterynaryjnych Polskiego Stowarzyszenia Lekarzy Weterynarii Małych Zwierząt (od IV do VIII edycji) w latach 2004-2009 i 2018.

Byłem członkiem Komitetu Organizacyjnego VII, VIII, IX i X i XI Międzynarodowego Sympozjum Dermatologicznego odbywających się w Lublinie w latach 2003-2007, konferencji „Nowe trendy w diagnostyce i terapii chorób wewnętrznych zwierząt domowych” (2006, Lublin) oraz komisji organizacyjnej konferencji międzynarodowej Dermatologia koni 8-10 marca Lublin, 2018 r.

W latach 2011-2015 sprawowałem opiekę nad Sekcją Dermatologiczną Koła Medyków Weterynaryjnych UP w Lublinie, co zaowocowało wynikami badań przedstawionymi na konferencjach naukowych i publikacjach w czasopismach popularno-naukowych dla lekarzy weterynarii.

Byłem redaktorem merytorycznym 4 monografii dermatologiczno-endokrynologicznych wydania specjalnego Weterynarii w Praktyce Elamed w latach 2017, 2018, 2019, 2020.

Od początku mojej pracy zawodowej, czyli od 1999 roku, jestem aktywnie pracującym lekarzem weterynarii, zajmującym się leczeniem psów, kotów i koni, obecnie głównie przypadków referencyjnych z innych praktyk weterynaryjnych, w ramach Przychodni dermatologiczno-endokrynologicznej na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie. Podczas leczenia i profilaktyki zwierząt prowadzę badania i zdobywam doświadczenie zawodowe, które wykorzystuję w badaniach naukowych i działalności dydaktycznej i edukacyjnej, a wymiana doświadczeń klinicznych z innymi lekarzami weterynarii stanowi inspirację dla dalszego samokształcenia i dzielenia się wiedzą z innymi.

6.2. Działalność dydaktyczna

W ramach działalności dydaktycznej na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie prowadziłem zajęcia z przedmiotów Diagnostyka kliniczna, Diagnostyka kliniczna i laboratoryjna (III rok), Choroby koni (IV rok), Choroby bydła (V rok), Dermatologia weterynaryjna (IV rok), Staże kliniczne (VI rok), Dermatologia pielęgnacyjna (II rok, kierunek kosmetologia). Prowadziłem także zajęcia w Royal (Dick) School of Veterinary Studies The University of Edinburgh w ramach przedmiotu Veterinary Dermatology z zakresu “Diagnosis and treatment of the animal immunologic skin diseases”.

7. Inna działalność

Uzyskałem tytuł specjalisty w dziedzinie choroby psów i kotów - Weterynaryjne Centrum Kształcenia Podyplomowego Komisja do Spraw Specjalizacji Lekarzy Weterynarii 3.12.2005.

Współpracuję także z firmami przemysłu bioweterynaryjnego pełniąc funkcję doradcą w opiniowaniu skuteczności preparatów leczniczych, przygotowywaniu ekspertyz, materiałów reklamowych, prasowych i promocyjnych. Wielokrotnie byłem autorem dokumentacji oraz raportów eksperta w procesie harmonizacji czyli dostosowania dokumentacji produktów leczniczych do przepisów obowiązujących w Unii Europejskiej (szczegółowe dane w załączniku 3).

W celu zwiększenia swojej wiedzy i umiejętności w zakresie transferu wiedzy, przedsiębiorczości akademickiej oraz zakładania i działalności firm spin off/spin out w roku 2010 ukończyłem cykl szkoleń "Promocja Nauki szansą Lublina-Nauka w Biznesie".

Spełniam również wszystkie formalne warunki potrzebne do pracy ze zwierzętami doświadczalnymi i dydaktycznymi, ponieważ w 2015 roku ukończyłem szkolenie dla osób wykonujących czynności związane z wykorzystaniem zwierząt do celów naukowych i edukacyjnych zorganizowane na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie zgodnie z § 2 rozp. MNiSW z dn. 5 maja 2015 (Dz. U. poz. 628).

Brałem także udział w pracach Międzynarodowej Komisji Akredytacyjnej w Wyższej Szkole Teologiczno-Humanistycznej w Podkowie Leśnej w dniach 3-5.12.2010.

8. Podsumowanie dorobku naukowego (bibliometryczne podsumowanie osiągnięć naukowych).

Całościowy współczynnik wpływu (IF) wynosi 30.632, zaś liczba punktów ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego – 1516.

Sumaryczny IF publikacji wchodzących w skład mojego osiągnięcia naukowego wynosi 5.315, liczba punktów ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego – 300.

Jestem autorem łącznie 222 publikacji, w tym 34 w czasopismach znajdujących się na liście A MNiSW (w bazie Journal Citation Reports), 122 prac z listy B MNiSW, 10 monografii, 3 rozdziałów monografii, 13 doniesień konferencyjnych, innych 40 publikacji popularnonaukowych dla lekarzy weterynarii.

Według bazy Web of Science liczba punktów Hirscha wynosi 6, zaś liczba cytowań 124, w tym bez autocytowań 70.

Według bazy Scopus liczba punktów Hirscha wynosi 7, zaś liczba cytowań 193, w tym bez autocytowań 136.



.....
(podpis wnioskodawcy)