

AUTOREFERAT

dr n. wet. Roman Dąbrowski

**KATEDRA I KLINIKA ROZRODU ZWIERZĄT
WYDZIAŁ MEDYCyny WETERYNARYJNEJ
UNIwersYTET PRZYRODnicZY W LUBLINIE**

Lublin 2015

AUTOREFERAT

1. Imię i nazwisko

Roman Tomasz Dąbrowski

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

- stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie rok 2005, tytuł rozprawy doktorskiej: Zachowanie się białek ostrej fazy i niektórych wskaźników odporności po zabiegach ovariohysterectomii u psów
- tytuł: specjalista krajowy z zakresu Rozród Zwierząt, Komisja do Spraw Specjalizacji Lekarzy Weterynarii, Puławy, rok 2002
- tytuł: lekarz weterynarii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej AR, Lublin 1997.

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

Od roku 1997 do dnia dzisiejszego - najpierw Akademia Rolnicza, a następnie Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie na stanowiskach:

1. od 01.10.2005 do dnia dzisiejszego - Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, UP w Lublinie, adiunkt
2. od 01.04.1999 - do 30.09.2005 - Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, AR w Lublinie, asystent
3. od 01.10.1997 do 31.03.1999 - Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Zakład Diagnostyki Klinicznej, AR w Lublinie, doktorant.

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust.2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.).

4.1. Jednotematyczny cykl publikacji:

Wartość diagnostyczno-prognostyczna wybranych biomarkerów w ocenie natężenia procesu zapalnego u suk z ropomaciczem oraz w monitorowaniu okresu po zabiegu ovariohysterectomii

publikacje:

4.1.1. Dąbrowski R, Wawron W, Kostro K. Changes in CRP, SAA and Hp produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra. *Theriogenology* 2007, 67, 321–327 (Punkty MNiSzW₂₀₀₇ 24, IF₂₀₀₇ = 1.911).

Praca wyróżniona na liście Top 20 Articles BioMedLib: zestawienie prac przez Bio-Medical Library, University of Minnesota (USA), która kwalifikuje najlepsze publikacje z tego samego obszaru nauki od 2007 roku (załącznik nr 4)

Wkład w autorstwo: 80% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie badań, określenie celu badań, zebranie materiału, wykonanie analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja uzyskanych wyników badań, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

4.1.2. Dąbrowski R, Kostro K, Lisiecka U, Szczubiał M, Krakowski L. Usefulness of C-reactive protein, serum amyloid A component and haptoglobin determinations in bitches with pyometra for monitoring early post-ovariohysterectomy complications. *Theriogenology* 2009, 72, 471–476 (Punkty MNiSzW₂₀₀₉ 24, IF₂₀₀₉ = 2.073).

Praca wyróżniona na liście Top 20 Articles BioMedLib: zestawienie prac przez Bio-Medical Library, University of Minnesota (USA), która kwalifikuje najlepsze publikacje z tego samego obszaru nauki od 2007 roku (załącznik nr 4)

Wkład w autorstwo: 70% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie badań, określenie celu badań, zebranie materiału, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna, interpretacja uzyskanych wyników badań, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

4.1.3. Dąbrowski R, Kocki T, Szczubiał M, Dąbrowski W, Parada-Turska J. Kynurenic acid in plasma and endometrium in bitches with pyometra. *Inflammation* 2013, 36, 131–135 (Punkty MNiSzW₂₀₁₃ 20, IF₂₀₁₃ = 1.921).

Wkład w autorstwo: 70% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie badań, określenie celu badań, zebranie materiału, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna, interpretacja uzyskanych wyników badań, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

4.1.4. Dąbrowski R, Kostro K, Szczubiał M. Concentrations of C-reactive protein, serum amyloid A and haptoglobin in uterine arterial and peripheral blood in bitches with pyometra. *Theriogenology* 2013, 80, 494–497 (Punkty MNiSzW₂₀₁₃ 35, IF₂₀₁₃ = 1.845).

Praca wyróżniona na liście Top 20 Articles BioMedLib: zestawienie prac przez Bio-Medical Library, University of Minnesota (USA), która kwalifikuje najlepsze publikacje z tego samego obszaru nauki od 2007 roku (załącznik nr 4)

Praca wyróżniona na liście Top 20 Articles BioMedLib: zestawienie prac przez Bio-Medical Library, University of Minnesota (USA), która kwalifikuje najlepsze publikacje z tego samego obszaru nauki od 2013 roku (załącznik nr 4)

Wkład w autorstwo: 80% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań, zebranie materiału, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna, interpretacja uzyskanych wyników badań, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

4.1.5. Dąbrowski R, Wawron W. Acute-phase response to monitor postoperative recovery in bitches after ovariohysterectomy. *Annals of Animal Science* 2014, 13, 287–295 (Punkty MNiSzW₂₀₁₄ 20, IF₂₀₁₄ = 0.419).

Wkład w autorstwo: 80% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie badań, określenie celu badań, zebranie materiału, wykonanie analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna, interpretacja uzyskanych wyników badań, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

4.1.6. Dąbrowski R, Szczubiał M, Kostro K, Wawron W, Ceron JJ, Tvarijonavičiute A. Serum IGF-1 and C-reactive protein concentrations pre- and post-ovariohysterectomy. *Theriogenology* 2015, 83, 474–477 (Punkty MNiSzW_{2015*} 30, IF_{2015*} = 1.845).

Wkład w autorstwo: 70% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie badań, określenie celu badań, zebranie materiału, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analizy statystycznej, interpretacja uzyskanych wyników badań, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

Praca wyróżniona na liście Top 20 Articles BioMedLib: zestawienie prac przez Bio-Medical Library, University of Minnesota (USA), która kwalifikuje najlepsze publikacje z tego samego obszaru nauki z ostatniego miesiąca (załącznik nr 4)

4.1.7. Dąbrowski R, Hagman R, Tvarijonaviciute A, Pastor J, Kocki T, Turski W.A. Serum tryptophan and its metabolites in female dogs undergoing ovariohysterectomy as treatment of pyometra or as elective spay surgery. *Theriogenology* 2015, 83, 1279–1286 (Punkty MNiSzW_{2015*} 30, IF_{2015*} = 1.845).

Wkład w autorstwo: 60% - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie badań, określenie celu badań, zebranie materiału, współudział w wykonaniu analiz laboratoryjnych, analizy statystycznej, interpretacja uzyskanych wyników badań, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

Łączna punktacja 7 prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji, zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi:

- wg listy czasopism punktowanych MNiSzW – **183 pkt**
- summaryczny Impact Factor (IF) według listy Journal Citation Reports (JCR) – **11.869**
- łączna liczba cytowań prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji – **75**

Fotokopie publikacji oraz oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstaniu pracy znajdują się w załączeniu

* W przypadku prac przyjętych do druku, lub które ukazały się drukiem w roku 2015 punkty MNiSzW oraz wartość IF podano za rok 2014

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

Od momentu podjęcia pracy w Katedrze i Klinice Rozrodu Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie do chwili obecnej moje zainteresowania naukowe skupiają się głównie wokół problematyki dotyczącej przydatności wybranych biomarkerów w diagnostyce oraz prognozowaniu przebiegu i zejścia ropomacicza u suk. W tym celu w pierwszej kolejności określiłem odpowiedź ostrej fazy na bodziec zapalny na podstawie oznaczenia surowiczego poziomu wybranych białek ostrej fazy (BOF). Planując badania własne już od samego początku kierowałem się przekonaniem, że kształtowanie się surowiczego poziomu białka C-reaktywnego jest bardziej miarodajnym wskaźnikiem niż pełne badanie hematologiczne w ocenie natężenia i przebiegu procesu zapalnego w różnych stanach zapalnych macicy u suk. Natomiast w piśmiennictwie światowym brak jest danych odnośnie przydatności białek ostrej fazy u suk w monitorowaniu okresu pooperacyjnego. Wiadomo bowiem, iż postępowanie chirurgiczne w każdym przypadku prowadzi do rozwoju miejscowego procesu zapalnego wynikającego z przerwania ciągłości tkanek. W takich przypadkach, pomimo podjęcia słusznej decyzji terapeutycznej, trudno jest jednoznacznie ocenić stan ogólny pacjenta i przebieg reakcji zapalnej tylko i wyłącznie na podstawie badań klinicznych oraz wykonywanych rutynowo badań laboratoryjnych. Zatem, istnieje potrzeba opracowania i wdrożenia bardziej czułych wskaźników, które ułatwiłyby lekarzowi ocenę stanu klinicznego pacjenta wraz z określeniem natężenia reakcji zapalnej w celu podjęcia szybkiej terapii zachowawczej lub chirurgicznej.

W krajach takich jak: Szwecja, Norwegia, Finlandia, Hiszpania, Dania, Włochy i Anglia oznaczanie wybranych BOF już od dawna jest wykorzystywane niemal rutynowo do oceny natężenia reakcji zapalnej u psów w różnych stanach chorobowych, w celu podjęcia szybkiej i precyzyjnej decyzji lekarskiej. W Polsce, jak dotąd, główną metodą diagnostyczną na podstawie której określa się nasilenie reakcji zapalnej w przebiegu infekcji oraz okresu pooperacyjnego jest badanie hematologiczne, mające na celu określenie ilości leukocytów (leukogram). Z danych literaturowych oraz obserwacji własnych wynika, że na podstawie leukogramu trudno jest jednoznacznie ocenić natężenie procesu zapalnego toczącego się w organizmie zwierzęcia pod wpływem bodźców szkodliwych, ponieważ w wielu przypadkach ogólna liczba leukocytów nie ulega istotnemu wzrostowi (69). Dlatego w wielu przypadkach chorobowych w których podejrzewany np. bakteryjne zapalenie macicy czy też nieprawidłowy przebieg okresu hospitalizacji, badanie hematologiczne jest niewystarczające, a tym samym niewiarygodne. Z tego też względu, wprowadzenie do rutynowej

weterynaryjnej diagnostyki klinicznej oznaczania dodatkowych i wysoce czułych biomarkerów, ułatwi lekarzowi weterynarii podjęcie szybkiej diagnozy choroby i zastosowanie w odpowiednim czasie skutecznej terapii. Jednym z nich są białka ostrej fazy, których kształtowanie się surowiczych stężeń umożliwia podjęcie szybkiej decyzji odnośnie zejścia procesu chorobowego, ponieważ zastosowanie w nieodpowiednim czasie nieskutecznej terapii przyczynowej może prowadzić nawet do zejścia śmiertelnego pacjenta.

W czasie realizacji badań własnych uzyskane wyniki konsultowałem z prof. dr hab. Władysławem Wawronem z Katedry i Kliniki Rozrodu Zwierząt i prof. dr hab. Krzysztofem Kostro z Katedry Epizootiologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. W momencie zainicjonowania badań byłem pierwszą osobą, która je podjęła o zasięgu krajowym. Należy również podkreślić, iż w tym czasie napotykałem jedynie pojedyncze pozycje literaturowe dotyczące tego zagadnienia. Wyniki obserwacji i badań własnych z lat 2000–2004 stanowiły część mojej pracy doktorskiej, które zostały ujednolicone i opublikowane w jednym z najlepiej, jak dotąd ocenianym czasopiśmie weterynaryjnym – *Theriogenology* (poz. 4.1.1.).

Od 2005 roku do chwili obecnej kontynuuję badania dotyczące oceny przydatności oznaczeń wskaźników reakcji zapalnej w monitorowaniu przebiegu bakteryjnego zapalenia macicy u suk oraz okresu pooperacyjnego. W 2011 roku, podjąłem współpracę z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie oraz z zagranicznymi ośrodkami naukowymi w Szwecji i Hiszpanii, której efektem było określenie możliwości wykorzystania innych biomarkerów do oceny natężenia procesu zapalnego w ropomaciczu u suk (poz. 4.1.3., 4.1.6, 4.1.7).

Głównym zatem celem badań własnych, których wyniki składają się na jednotematyczny cykl publikacji, było prześledzenie zachowania się wybranych biomarkerów w aspekcie ich wykorzystania jako przydatnych wskaźników do oceny natężenia procesu zapalnego w przebiegu ropomacicza u suk. Kolejnym celem przeprowadzonych badań było określenie dynamiki ich stężeń w prawidłowym oraz nieprawidłowym przebiegu okresu po zabiegu ovariohysterctomii u suk jako metody leczenia ropomacicza oraz chirurgicznej metody antykoncepcji. Szczególną wartością praktyczną było przeanalizowanie i porównanie wybranych BOF w prawidłowym i nieprawidłowym okresie pooperacyjnym, w którym zaobserwowano komplikacje w postaci trudno gojących się ran pooperacyjnych (4.1.2).

Chcąc zrealizować powyższy cel badań, niezbędna była wnikliwa analiza reakcji organizmu na bodziec indukujący proces zapalny (poz. 4.1.1., 4.1.2., 4.1.4., 4.1.5). Wiadomo, że homeostazę wewnętrzną organizmu zapewnia przede wszystkim układ nerwowy, immunologiczny oraz wewnętrzny wydzielania (61). Zaburzenia środowiska wewnętrznego organizmu pod wpływem różnych szkodliwych czynników, wśród których istotną rolę odgrywają m.in. procesy zapalne, nowotworowe, urazy mechaniczne oraz zabiegi chirurgiczne powoduje uruchomienie odpowiedzi ostrej fazy (29, 52, 54, 62). Dążność do homeostazy jest silnie zaznaczona w przebiegu zapalenia, w trakcie którego dochodzi do zmian stężeń niektórych biomarkerów, których wartości ulegają wahaniom w zależności od nasilenia immunologicznej odpowiedzi zapalnej (27, 46, 47, 49). Do najczęściej wymienianych jako przydatnych do oceny natężenia i przebiegu reakcji zapalnej biomarkerów zalicza się m.in. białka ostrej fazy (BOF), insulino podobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1), metabolity tryptofanu (TRP) i ocenę aktywności enzymu indoleamino 2,3-dioxygenazy (IDO) (17, 34, 37, 40, 46, 47, 50, 67, 70, 86).

Białka ostrej fazy stanowią grupę białek osocza których stężenia ulegają wahaniom w zależności od czasu i rodzaju bodźca inicjującego proces zapalny (poz. 4.1.1., 4.1.2., 4.1.4., 4.1.5). Produkowane są głównie w wątrobie (w 95%), ale niektóre w okresie zapalenia mogą być również syntetyzowane przez monocyty, komórki nabłonka i fibroblasty (16, 26, 51). Wiadomo, że zmiany surowiczych stężeń białek ostrej fazy u chorych zwierząt są wynikiem zmian w tempie ich biosyntezy w hepatocytach. BOF są wykładnikiem reakcji ostrej fazy (ROF) – czyli niespecyficznej reakcji/odpowiedzi organizmu na bodźce inicjujące proces zapalny (16).

Do głównych białek ostrej fazy u psów należą białka: białko C-reaktywne (CRP), surowiczy składnik amyloidu A (SAA) i haptoglobina (Hp) (11, 65). Stężenia CRP i SAA w surowicy wzrastają już po 4-8 godzinach i osiągają maksymalne wartości po 1–2 dobach od zadziałania bodźca (11). W przypadku Hp stężenie w surowicy wzrasta po 24-48 godz. od zadziałania bodźca i osiąga maksimum dopiero po 4-6 dobach (11). Przyjmuje się, że w surowicy zdrowego psa stężenie CRP nie powinno przekraczać 5mg/mL, stężenie SAA - waha się w granicach od 5 do 80 µg/ml, a stężenie Hp waha się w granicach 0.3 do 3.5 mg/mL. Negatywnym białkiem ostrej fazy u psów jest albumina (11, 27, 65), natomiast z ostatnich danych piśmiennictwa wiadomo, iż do tej grupy BOF zaliczany jest również insulino podobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1) (86).

Poszczególne białka ostrej fazy wykazują różne właściwości fizykochemiczne i biologiczne. Ograniczają one proces zapalny, eliminują czynnik uszkodzający, przyczyniają

się do naprawy uszkodzonych tkanek i narządów (9, 10). Oznaczanie BOF w surowicy krwi ma dużą wartość prognostyczną odnośnie przebiegu i zejścia chorób o etiologii bakteryjnej (np. ropomacicze, zapalenie płuc, zapalenie wymienia), wirusowej (nosówka, zakaźne zapalenie wątroby) i pasożytniczej, po zadziałaniu czynników szkodliwych (toksyczne uszkodzenie wątroby i trzustki, zaawansowane stany marskości wątroby), a także procesów nowotworowych (10, 26, 27, 28, 40, 46, 47, 63, 65, 80). W praktyce klinicznej oznaczanie BOF wykorzystywane jest również w diagnostyce i monitorowaniu przebiegu ciąży u suk (25, 87). Kształtowanie się ich surowiczego poziomu umożliwia ponadto ocenę natężenia stanów zapalnych w przebiegu zakażeń bezobjawowych, których diagnostyka jest utrudniona. Pomiary stężeń BOF służą także monitorowaniu przebiegu okresu pooperacyjnego i wykrywaniu wczesnych powikłań (12). Dlatego też, oznaczanie białek ostrej fazy w codziennej praktyce lekarsko weterynaryjnej może pełnić kluczową rolę w rozwiązaniu trudnych przypadków klinicznych, a zwłaszcza gdy przebieg choroby ma charakter subkliniczny (10, 26, 27, 29).

Drugim biomarkerem coraz częściej wykorzystywanym do oceny natężenia procesów zapalnych u psów w różnych stanach chorobowych jest insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1) (poz. 4.1.6.). Jest on zasadniczym czynnikiem wzrostu organizmu, syntetyzowanym głównie w wątrobie w obecności hormonu wzrostu (hGH) (43, 46, 73). Surowicze wartości stężeń IGF-1 determinuje wiek i płeć oraz wartość odżywcza dostarczanego pożywienia (3, 8, 48, 59, 81, 90). U osobników młodych biologiczną rolę IGF-1 jest stymulowanie wzrostu, zaś u osobników dorosłych, u których proces wzrostu został ukończony, stymulowanie procesów naprawczych (3). Czynniki IGF-1 zwiększa proces glikolizy przy jednoczesnym zmniejszaniu lipolizy, potęguje fagocytarne właściwości neutrofilów i monocytów, spowalnia proces starzenia się poprzez hamowanie zjawiska apoptozy komórek (1, 86). Produkcja i biologiczna aktywność IGF-1 jest modulowana przez cytokiny prozapalne (15, 32, 56). Warto podkreślić, iż w przebiegu procesów zapalnych następuje istotny spadek surowiczego poziomu tego czynnika w wyniku jego zmniejszonej biosyntezy w wątrobie (46). Fakt ten potwierdzają badania eksperymentalne na szczurach i świniami, które wykazały, że w ostrych stanach zapalnych wywołanych zakażeniem bakteryjnym następuje wyraźny spadek IGF-1 w surowicy, zaś w przewlekłych nawet zahamowanie jego produkcji i uwalniania (58, 72).

Kolejnym wskaźnikiem przydatnym w ocenie przebiegu i natężenia procesu zapalnego jest kształtowanie się surowiczego stężenia tryptofanu (TRP) i jego metabolitów: kynureniny (KYN) i kwasu kynureninowego (KYNA) (poz. 4.1.3. i 4.1.7.). Tryptofan jest aminokwasem niezbędnym, który występuje we wszystkich produktach żywnościowych pochodzenia

roślinnego i zwierzęcego (36, 60, 82). Prawidłowe stężenie TRP w organizmie zapewnia normalny rozwój organizmu, przebieg procesów metabolicznych i neurohormonalnych (36, 74, 84). Aminokwas ten uczestniczy także w syntezie niacyny, witamin z grupy B i serotoniny oraz warunkuje dobre samopoczucie i prawidłowy sen (35, 35). Dane piśmiennictwa światowego dostarczają licznych danych dotyczących kształtowania się surowiczego poziomu tryptofanu i jego metabolitów w różnych stanach zapalnych (17, 44, 77, 78, 91). Zmiany wartości TRP, KYN i KYNA w płynach ustrojowych i/lub tkankach są efektem aktywacji w procesie zapalnym enzymu indoleamino 2,3-dioksygenazy (IDO) w aktywowanych makrofagach i monocytach infiltrujących zakażone tkanki (37, 44, 68). Wówczas enzym IDO przekształca TRP do KYN na drodze ścieżki kynureninowej, w wyniku jego stymulacji głównie przez cytokiny (5, 18, 71, 76). Natomiast kwas KYNA powstaje przy współdziałaniu aminotransferazy kynureninowej (66, 79, 85). Jest on jedynym endogennym związkiem, posiadającym właściwości niespecyficznego hamowania receptorów aminokwasów pobudzających przez aminokwasy pobudzające. Ponadto pełni on funkcję liganda dla receptora GPR35 (G-protein receptor 35), który występuje głównie na komórkach układu immunologicznego oraz nabłonku przewodu pokarmowego (89). Receptor GPR35 obecny w tkankach i narządach warunkuje prawidłową odpowiedź immunologiczną na obce antygeny i komórki nowotworowe. Ponadto kwas KYNA wykazuje działanie bakteriobójcze oraz warunkuje prawidłowe trawienie (55).

Mając na uwadze, iż w przebiegu zapalenia uruchomiana jest odpowiedź immunologiczna organizmu, zmiany wartości stężeń opisanych powyżej biomarkerów stają się kluczowymi nieswoistymi wskaźnikami oceny przebiegu i natężenia procesów zapalnych zarówno u człowieka jak i zwierząt. Ponadto są one też przydatne i najbardziej wiarygodne w diagnostyce oraz ocenie skuteczności zastosowanej terapii przyczynowej choroby. W praktyce weterynaryjnej znajomość zmian dynamiki stężeń niektórych biomarkerów stanowi niekwestionowany wskaźnik służący do monitorowania stanu zdrowia zwierząt w różnych stanach fizjologicznych i patologicznych, czego przykładem może być ropomacicze u suk, które stanowi aktualny przedmiot dociekań naukowych. Ropomacicze (bakteryjna infekcja macicy) jest schorzeniem układu rozrodczego u suk będących w fazie metoestrus cyklu rujowego (80). Choroba manifestuje się nagromadzeniem ropy z świetle macicy czemu towarzyszy systemowa odpowiedź zapalna wynikająca z intoksykacji organizmu drobnoustrojami chorobotwórczymi i warunkowo chorobotwórczymi (33, 38, 49). Ropomacicze dotyczy głównie suk powyżej 6 roku życia, chociaż dane piśmiennictwa oraz obserwacje własne wskazują, że notowane jest również u suk młodszych, nawet 4

miesięcznych (2, 38, 64). Najnowsze dane piśmiennictwa wskazują, że na ropomacicze podatne jest aż 19% suk które nigdy nie rodziły (45) i dodatkowo otrzymywały hormonalne preparaty antykoncepcyjne (2). Ostatnie dane piśmiennictwa wskazują na predylekcje rasowe związane z zachorowalnością (45). Wśród najczęściej wymienianych ras psów podatnych na ropomacicze wymienia się między innymi: rotweiler, golden retriever, szkocki owczarek długowłosy, berneński pies pasterski, cavalier king charles spaniel czy też cocker spaniel angielski (30).

Etiopatogeneza ropomacicza wciąż nie jest do końca wyjaśniona. U podstawy ropomacicza leżą przede wszystkim zaburzenia natury hormonalnej stanowiące pierwotną jej przyczynę, zaś wtórnie proces ten wikłany jest przez czynniki infekcyjne. Wiadomo, że w przebiegu schorzenia obserwuje się nadmierną sekrecję gruczołów macicznych oraz proliferację początkowo endometrium – cystic endometrial complex (CEH), a w miarę trwania procesu chorobowego również głębszych warstw ściany macicy (CEH-pyometra-complex) (6, 39, 42). CEH poprzedza typowe ropomacicze do którego dochodzi w wyniku dołączenia się wtórnych infekcji bakteryjnych (6, 21, 22, 31, 39). Zmiany proliferacyjne i sekrecyjne endometrium wynikają z nadmiernej reakcji błony śluzowej macicy na skoordynowane oddziaływanie estrogenów i progesteronu (7, 14). W normalnym cyklu jajnikowym, we wczesnej fazie porującej, stosunkowo wysokie stężenie endogenego progesteronu hamuje rozrost błony śluzowej macicy (19, 88). Natomiast, w przypadku nieprawidłowości czynnościowych jajników dochodzi do zaburzenia wzajemnego stosunku estrogenów i progesteronu (20, 57, 88). Konsekwencją tego faktu jest nadmierna proliferacja komórek endometrium oraz wzmożona ich czynność sekrecyjna we wczesnej fazie porującej, co stanowi punkt wyjściowy do rozwoju endometritis glandularis cystica (20, 88). Należy przy tym zaznaczyć, że estrogen sam nie indukuje ropomacicza, lecz wzmacnia oddziaływanie progesteronu na ścianę macicy (23).

Na podstawie uzyskanych wyników badania histopatologicznego wyizolowanych macic suk z ich różnymi stadiami zapalnymi, Dow (21, 22, 23, 24) podzielił endometritis na cztery grupy: (I) CEH – bez powikłań, (II) CEH z infiltracją komórek plazmatycznych, (III) CEH z równoległym przebiegającym ostrym zapaleniem endometritis oraz (IV) jako przewlekły stan zapalny endometritis/pyometra. Z kolei De Bosschere i wsp. (6) sugeruje, że CEH i ropomacicze powinny być rozpatrywane jako dwie oddzielne jednostki chorobowe w oparciu o obraz kliniczny i wynik badania histologicznego macicy.

Z danych piśmiennictwa wynika, iż z chorobowo zmienionej macicy najczęściej izoluje się szczepy *Escherichia coli* stanowiące w większości przypadków naturalną florę

bakteryjną zasiedlającą układ moczowo-płciowy (41). W normalnych warunkach następuje eliminacja *E.coli* ze światła macicy, minimalizując w ten sposób jej niekorzystny wpływ na endometrium. W przebiegu procesów zapalnych układu rozrodczego wynikających z zaburzeń hormonalnych dochodzi do zdominowania macicy przez *E. coli*, co może wynikać z jej dużej adherencji do mikrokosmków endometrium pod wpływem progesteronu (53, 57, 75). Niektóre serotypy *E.coli* produkują cytotoksyczny czynnik nekrotyzujący (CNF), który bezpośrednio przyczynia się do uszkodzenia endometrium i pogłębienia reakcji zapalnej (13).

Towarzyszący ropomaciczu rozwój procesów zapalnych w narządach mięszzowych wynika z uwalniania ze ściany komórki bakteryjnej *E. coli* endotoksyny bakteryjnej (ET) (38). Endotoksyna ta jest lipopolisacharydem (LPS), który przyczynia się do wystąpienia klinicznych objawów ropomacicza, a niekiedy prowadzi do rozwoju zespołu niewydolności wielonarządowej (SIRS), który może być bezpośrednią przyczyną zejścia śmiertelnego pacjenta (33, 34, 38, 40, 83). Pod wpływem LPS uwolnionego w nadmiernej ilości do krwi dochodzi również do zaburzeń czynnościowych makrofagów w postaci zahamowania lub nadmiernej syntezy i uwalniania biomarkerów (38, 40, 47). Ich oznaczanie w trakcie przebiegu procesów zapalnych u psów ma coraz większe znaczenie nie tylko ze względów poznawczych, ale i praktycznych. Rosnąca populacja psów rasowych zmusza lekarza weterynarii do stosowania coraz to nowszych i bardziej wiarygodnych laboratoryjnych metod diagnostycznych, zwłaszcza przy poszukiwaniu przyczyny pogorszenia się stanu ogólnego pacjenta bez widocznych objawów klinicznych. Dlatego też głównym celem moich wieloletnich badań jako pracownika naukowego w Katedrze i Klinice Rozrodu Zwierząt było wykazanie przydatności oznaczania określonych biomarkerów w monitorowaniu i prognozowaniu zejścia ropomacicza, a zwłaszcza w ocenie stanu zdrowotnego pacjenta po chirurgicznym usunięciu macicy z ropomaciczem. Z tego zakresu badań, które stanowią jednotematyczne osiągnięcie naukowe opublikowano 7 oryginalnych prac w większości zamieszczonych w renomowanych czasopismach o zasięgu światowym.

Celem badań których wyniki zostały przedstawione w publikacji **4.1.1.** (Dąbrowski i wsp.: “Changes in CRP, SAA and Hp produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra”. Theriogenology 2007, 67, 321-327) było prześledzenie kinetyki stężeń CRP, SAA i Hp jako głównych BOF w surowicy suk z ropomaciczem przed zabiegiem ovariohysterectomii oraz w okresie pooperacyjnym. W badaniach tych wykazano, iż u suk w pełni rozwiniętym ropomaciczem notuje się wysokie wartości stężeń surowicznych stężeń CRP i SAA. Były one aż 30- krotnie wyższe w przypadku

stężenia CRP oraz 7-krotnie w przypadku SAA w grupie suk chorych w porównaniu do kontroli którą stanowiły suki zdrowe zakwalifikowane do sterylizacji jako chirurgicznej metody antykoncepcji. Dane te jednoznacznie wskazują, że oznaczanie wymienionych BOF u suk jest przydatne do oceny natężenia procesu zapalnego w ropomaciczu. Należy też podkreślić, iż uzyskane w badaniach własnych wartości BOF nie były zdeterminowane rasą, wiekiem, masą ciała oraz stopniem odżywienia. W 24 godzinie po zabiegu ovariohysterectomii w obu grupach suk, zanotowano maksymalne wartości CRP i SAA, co dowodzi że te BOF są czułymi wskaźnikami natężenia reakcji zapalnej ponieważ bardzo szybko wzrasta ich stężenie po przerwaniu ciągłości tkanek wywołanej zabiegiem operacyjnym. W końcowych terminach oznaczeń zanotowano istotny spadek wartości stężeń CRP i SAA w o obu grupach suk, co świadczy o wygasaniu procesów zapalnych i stopniowym powrocie suk do dobrego stanu ogólnego. Z kolei, w okresie pooperacyjnym maksymalne wartości Hp w obu grupach suk zanotowano dopiero 5 dnia po zabiegu ovariohysterectomii, co potwierdza dane piśmiennictwa, że białko to jest białkiem wolniej reagującym w toczącym się procesie zapalnym, a jego maksymalne wartości stężeń występują po 3 do 5 dobach od zadziałania bodźca zapalnego. Normalizacja stężenia Hp podobnie jak CRP i SAA w obu grupach suk następowała od 10 dnia po zabiegu, co odzwierciedla natężenie stanu zapalnego w końcowym okresie zdrowienia. Rekapitulując wyniki badań własnych należy zaznaczyć, że w pracy tej po raz pierwszy przedstawiono wyniki badań dotyczące dynamiki zmian stężeń CRP, SAA i Hp w ropomaciczu u suk oraz po zabiegu ovariohysterectomii. Świadczy o tym opublikowanie tej pracy w czasopiśmie o zasięgu światowym posiadającym dość wysoki IF oraz liczne jej cytowania przez wielu autorów zagranicznych podejmujących podobne badania (według bazy Web of Science Core Collection: 38).

Praca **4.1.2.** (Dąbrowski i wsp.: “Usefulness of C-reactive protein, serum amyloid A component and haptoglobin determinations in bitches with pyometra for monitoring early post-ovariohysterectomy complications”. *Theriogenology* 2009, 72, 471–476).

W pracy przedstawiono dynamikę kształtowania się surowiczych stężeń BOF u suk z ropomaciczem, u których po zabiegu ovariohysterectomii wystąpiły komplikacje w postaci trudno gojącej się rany pooperacyjnej. Z danych piśmiennictwa światowego oraz obserwacji własnej wynika, iż u suk po zabiegu nieprawidłowe gojenie się rany pooperacyjnej jest obok zapalenia otrzewnej najczęściej spotykanym powikłaniem pooperacyjnym, które we wczesnej fazie rozwoju jest trudne do zdiagnozowania i podjęcia szybkiej interwencji lekarskiej. Z

powodu braku dotychczas czulej i obiektywnej metody wczesnego wykrywania powikłań pooperacyjnych postanowiono określić wartość białek ostrej fazy jako czułych i obiektywnych wskaźników natężenia procesów zapalnych u suk po zabiegu ze szczególnym uwzględnieniem wczesnych powikłań. Dlatego też prześlędzono dynamikę kształtowania się surowicznych stężeń CRP, SAA i Hp u suk po chirurgicznym zabiegu usunięcia macicy z powodu ropomacicza. Monitoring pooperacyjny prowadzony przez okres 17 dni wykazał, iż u części suk już w 4 dniu po zabiegu występuje dalszy istotny wzrost badanych BOF w porównaniu do suk z prawidłowym przebiegiem okresu pooperacyjnego, który korelował z nieprawidłowym gojeniem się rany pooperacyjnej związanym z jej zakażeniem przez *E. coli* i bakterii z rodzaju *Staphylococcus*. Wyniki badań własnych jednoznacznie wskazują, że dynamika zmian stężeń CRP, SAA i Hp jest uwarunkowana przebiegiem okresu pooperacyjnego, co można z powodzeniem wykorzystać w jego monitorowaniu ze szczególnym uwzględnieniem wczesnych powikłań i podjęcia skutecznej terapii przyczynowej.

Praca **4.1.3.** (Dąbrowski i wsp.: “Kynurenic acid in plasma and endometrium in bitches with pyometra”. *Inflammation* 2013, 36, 131–135).

W publikacji porównano surowicze i tkankowe wartości stężeń kwasu kynureninowego u suk z ropomaciczem. Kwas kynureninowy (KYNA) jest zaliczany do metabolitów tryptofanu (TRP) będącego jednym z dziesięciu niezbędnych dla organizmu aminokwasów egzogennych. Wykorzystując dane piśmiennictwa światowego dotyczące zmiany stężeń KYNA w przebiegu procesów zapalnych postanowiono ocenić jego przydatność jako wskaźnika natężenia reakcji zapalnej u suk z ropomaciczem oraz u suk zdrowych. Obie grupy zwierząt zostały poddane zabiegowi ovariohysterectomii. W przeprowadzonych badaniach własnych wykazano, że u suk z ropomaciczem stężenie kwasu KYNA było istotnie wyższe w porównaniu do suk zdrowych zarówno w surowicy jak i w endometrium. Surowiczy oraz tkankowy wzrost wartości stężeń KYNA u suk chorych wynika z aktywacji ścieżki kynureninowej tryptofanu pod wpływem enzymu indoleamino 2,3 – dioksygenazy (IDO) w makrofagach i monocytach, które w trakcie toczącego się zapalenia gromadzą się w surowicy krwi oraz błonie śluzowej macicy. Otrzymane wyniki jednoznacznie wskazują, że w przebiegu procesów zapalnych obejmujących endometrium, macica wykazuje zdolności syntezy wskaźników reakcji zapalnych nie tylko takich jak PGF₂alfa ale również i kwasu KYNA. Uzyskane dane wskazują, iż w trakcie toczącego się ropnego procesu

zapalnego w macicy następuje istotny wzrost kwasu KYNA o właściwościach bakteriobójczych. Na podstawie powyższego można stwierdzić, że oznaczanie KYNA we krwi oraz tkankach można z powodzeniem wykorzystać do oceny natężenia procesu zapalnego w przebiegu ropomacicza u suk.

Praca **4.1.4.** (Dąbrowski R. i wsp.: “Concentrations of C-reactive protein, serum amyloid A and haptoglobin in uterine arterial and peripheral blood in bitches with pyometra”. *Theriogenology* 2013, 80, 494–497).

W Kolejnej pracy przeanalizowano zachowanie się stężeń wybranych BOF w krwi obwodowej oraz tętnicy macicznej u suk zdrowych i z ropomaciczem. W organizmie objętym procesem zapalnym dochodzi zarówno do lokalnej jak i systemowej odpowiedzi zapalnej, której nasilenie można monitorować przy użyciu białek ostrej fazy. Założeniem tych badań była porównawcza analiza kształtowania się stężeń CRP, SAA i Hp w tętnicy macicznej oraz krwi obwodowej u suk z ropomaciczem otwartym i zamkniętym w celu uzyskania faktycznej oceny natężenia procesów zapalnych u suk z ropomaciczem i zdrowych. Z danych piśmiennictwa wynika, iż stężenia BOF są zwykle wyższe w miejscu toczącego się procesu zapalnego w porównaniu do stężeń w krwi obwodowej. Jednakże badania własne nie potwierdziły tego faktu ponieważ stwierdzono, iż zarówno w miejscu toczącego się zapalenia jak i w krwi obwodowej średnie wartości oznaczanych BOF były zbliżone. Fakt ten dowodzi, iż w ropomaciczu u suk oznaczanie białek ostrej fazy w krwi obwodowej umożliwia uzyskanie obiektywnych wyników odzwierciedlających natężenie procesu zapalnego toczącego się w macicy. Ponadto badania te umożliwiły porównawczą ocenę kształtowania się stężeń BOF w zależności od rodzaju ropomacicza. Wskazują one jednoznacznie, iż u suk z ropomaciczem zamkniętym średnie wartości stężeń CRP, SAA i Hp są istotnie wyższe niż u suk z ropomaciczem otwartym. Wyniki te mają dużą wartość aplikacyjną ponieważ na podstawie wielkości ich stężeń można decydować o terminie wykonania zabiegu ovariohysterectomii. Należy podkreślić, iż wyniki tych badań zostały opublikowane w renomowanym periodyku o zasięgu światowym jakim jest *Theriogenology* i są pierwszym doniesieniem dotyczącym tego zagadnienia. Opublikowana praca jest wielokrotnie umieszczana na liście prac „Top Articles, Since 2007 i 2013” (załącznik nr 4).

Praca **4.1.5.** (Dąbrowski R., Wawron W.: “Acute-phase response to monitor postoperative recovery in bitches after ovariohysterectomy”. *Annals of Animal Science* 2014, 13, 287–295).

W publikacji prześlędzono i porównano względem siebie wybrane wskaźniki reakcji ostrej fazy po ovariohysterectomii jako chirurgicznej metody antykoncepcji u suk w celu określenia najczulszego wskaźnika natężenia reakcji zapalnej.

Chirurgiczna metoda antykoncepcji polegająca na usunięciu jajników i macicy u suk zaliczana jest do jednych z najczęściej wykonywanych zabiegów operacyjnych na całym świecie w codziennej praktyce lekarsko weterynaryjnej. Jak każda metoda chirurgiczna prowadzi do przerwania ciągłości tkanek, co manifestuje się rozwojem zarówno miejscowej jak i systemowej reakcji ostrej fazy (ROF), której jednym z wczesnych objawów jest gorączka oraz leukocytoza (9, 69). Z dostępnego piśmiennictwa światowego oraz z badań własnych wynika, że nie zawsze wymienione zmiany pojawiają się, stąd też nie mogą one stanowić obiektywnych wskaźników natężenia procesu zapalnego (69). Dlatego też, celem pracy było porównanie względem siebie CRP jako białka ostrej fazy oraz kształtowania się ogólnej liczby leukocytów (WBC) i ciepłoty wewnętrznej ciała jako wskaźników reakcji ostrej fazy u suk poddanych zabiegowi ovariohysterectomii. Badania te miały na celu wykazanie, który z badanych wskaźników jest najbardziej przydatnym i obiektywnym wskaźnikiem oceny natężenia procesu zapalnego u suk w okresie pooperacyjnym. Po 10-dniowej obserwacji klinicznej oraz oznaczaniu w tym czasie wymienionych wskaźników stwierdzono jednoznacznie, iż w ocenie wielkości natężenia procesu zapalnego bardziej przydatnym i miarodajnym wskaźnikiem jest CRP w porównaniu do pomiaru ciepłoty wewnętrznej ciała i leukogramu w przebiegu prawidłowego okresu pooperacyjnego u suk. Badania te stanowią kolejne potwierdzenie wcześniejszych badań własnych oraz danych piśmiennictwa światowego, że białko C-reaktywne jest czułym i obiektywnym biomarkerem do oceny natężenia procesu zapalnego, a jego oznaczanie u psów jest w szczególności w pełni uzasadnione.

Praca **4.1.6.** (Dąbrowski R. i wsp.: “Serum IGF-1 and C-reactive protein concentrations pre- and post-ovariohysterectomy”. *Theriogenology* 2015, 83, 474-477).

W kolejnej pracy porównano w stosunku do CRP przydatność oznaczania surowiczego poziomu insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF-1) jako kolejnego wskaźnika natężenia procesu zapalnego u suk z ropomaciczem oraz sterylizacji metodą chirurgiczną. Wyniki badań własnych okazały się bardzo interesujące, a mianowicie w pierwszych dniach po zabiegu ovariohysterectomii w obu grupach zwierząt średnie wartości IGF-1 ulegały istotnemu spadkowi przy jednoczesnym wzroście CRP. Natomiast w okresie zdrowienia zaobserwowano reakcję odwrotną, co wskazuje, że jednoczesne oznaczanie tych dwóch wskaźników może być

z powodzeniem wykorzystane do monitorowania natężenia procesu zapalnego u suk po zabiegu chirurgicznym.

Praca 4.1.7. (Dąbrowski R. i wsp.: "Serum tryptophan and its metabolites in female dogs undergoing ovariohysterectomy as treatment of pyometra or as elective spay surgery" *Theriogenology* 2015 – w druku - on line).

Praca dotyczy porównawczej oceny przydatności oznaczania tryptofanu, kynureniny i kwasu kynureninowego oraz aktywności enzymu IDO oraz białka CRP do oceny natężenia procesu zapalnego w przebiegu ropomacicza u suk oraz w okresie pooperacyjnym. Tryptofan (TRP) należy do grupy aminokwasów egzogennych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu, warunkuje przebieg wielu reakcji metabolicznych i jest powszechnie występującym związkem chemicznym obecnym we wszystkich produktach żywnościowych. Metabolity TRP do których należy zaliczyć kynureninę (KYN) oraz kwas kynureninowy (KYNA) zaliczane są również do związków chemicznych warunkujących prawidłowy przebieg reakcji enzymatycznych i neurohormonalnych. Oznaczanie aktywności enzymu IDO oprócz metabolitów TRP w procesach zapalnych jest ważne ze względu na jego dużą czułość jako biomarkera reakcji zapalnej. Badania własne wykazały u suk z ropomaciczem przed zabiegiem, że średnie wartości TRP były istotnie niższe, a KYN, KYNA i aktywności IDO oraz CRP istotnie wyższe w porównaniu do suk zdrowych. Po zabiegu ovariohysterectomii w grupie suk chorych zanotowano dalszy spadek TRP i jego metabolitów: KYN i KYNA. Z kolei, w ostatnim dniu pomiaru nastąpił istotny wzrost TRP przy dalszej tendencji spadkowej KYN i KYNA oraz aktywności enzymu IDO, których średnie wartości były zbliżone do wyjściowych suk grupy kontrolnej. Tym zmianom towarzyszył również istotny spadek surowiczego stężenia CRP. Natomiast u suk poddanych sterylizacji chirurgicznej, 3 dnia po zabiegu, zanotowano istotny spadek TRP przy istotnym wzroście stężenia KYN i KYNA i aktywności enzymu IDO oraz CRP, co świadczy o uruchomieniu ścieżki tryptofanowej w wyniku indukcji zapalnej odpowiedzi immunologicznej. W kolejnych terminach oznaczeń TRP i jego metabolity oraz aktywność enzymu IDO a także CRP ulegały stopniowemu spadkowi. Uzyskane dane jednoznacznie wskazują, że TRP, KYN, KYNA i aktywność enzymu IDO są przydatne podobnie jak białko CRP w monitorowaniu okresu pooperacyjnego u suk.

WNIOSKI

1. Oznaczanie CRP, SAA i Hp jako głównych białek ostrej fazy u psów jest czułym i obiektywnym biomarkerem natężenia procesów zapalnych w okresie trwania ropomacicza. Natomiast w monitorowaniu okresu po zabiegu ovariohysterectomii szczególnie przydatne jest kształtowanie się surowiczego poziomu CRP i SAA, ponieważ umożliwia wczesne wykrycie komplikacji po zabiegu i podjęcie szybkiej interwencji lekarskiej.
2. Najbardziej czułym i miarodajnym biomarkerem spośród badanych wskaźników natężenia procesów zapalnych takich jak: ciepłota wewnętrzna ciała, leukogram i bof, u suk po zabiegach operacyjnych jest białko CRP.
3. Insulinopodobny czynnik wzrostu -1 (IGF-1) jest biomarkerem, który może być zaliczany do markerów przydatnych do oceny natężenia procesu zapalnego w przebiegu ropomacicza u suk, jednakże przy interpretacji uzyskanych jego surowicznych wartości powinno się uwzględnić m.in. masę ciała, wiek oraz ilość i częstotliwość pobierania pokarmu przez dane zwierzę.
4. Ropomacicze u suk jest schorzeniem w przebiegu którego dochodzi do aktywacji ścieżki tryptofanowej, w efekcie której występują surowicze zmiany stężeń TRP, KYN, KYNA i aktywności enzymuIDO. Oznaczanie TRP, KYN, KYNA i aktywności enzymuIDO może być dodatkowym cennym uzupełnieniem oceny natężenia procesów zapalnych u suk związanych z ropomaciczem oraz z przerwaniem ciągłości tkanek wskutek zabiegu ovariohysterectomii.
5. Znaczenie aplikacyjne uzyskanych wyników własnych dla praktyki lekarsko weterynaryjnej polega na możliwości monitorowania procesu chorobowego oraz wczesnego wykrywania komplikacji pooperacyjnych u suk szczególnie po zabiegu ovariohysterectomii jako chirurgicznej metody leczenia ropomaciczu oraz sterylizacji chirurgicznej.

Prace stanowią oryginalny element badań dotyczących prześledzenia dynamiki reakcji ostrej fazy, insulino podobnego czynnika wzrostu oraz metabolitów tryptofanu u psów chorych na ropomacicze oraz po zabiegach ovariohysterectomii wykonanej jako metodę leczenia tego schorzenia oraz chirurgiczną metodę antykoncepcji.

Piśmiennictwo:

1. Ashere A, Nymon A.B, Doerschug K.C, Morrison J.M, Monick M.M, Hunninghake G.W. Insulin-like growth factor-1 improves survival in sepsis via enhanced hepatic bacterial clearance. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2008, 178, 149–157.
2. Baithalu R.K, Maharana B.R, Mishra Ch, Sarangi L, Samal L. Canine pyometra. *Veterinary World* 2010, 3, 340–342.
3. Bann D, Holly J.M, Lashen H, Hardy R, Adams J, Kuh D, Ong K.K, Ben-Shlomo Y. Changes in insulin-like growth factor-I and -II associated with fat but not lean mass in early old age. *Obesity (Silver Spring)* 2015 Feb 3. doi: 10.1002/oby.21002.
4. Bigliardi E, Parmigiani E, Cavirani S, Luppi A, Bonati L, Corradi A. Ultrasonography and Cystic Hyperplasia–Pyometra Complex in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals* 2004, 39, 136–140.
5. Boasso A, Shearer G.M. How does indoleamine 2,3-dioxygenase contribute to HIV-mediated immune dysregulation. *Current Drug Metabolism* 2007, 8, 217–223.
6. De Bosschere H, Ducatelle R, Vermeirsch H, van den Broeck W, Coryn M. Cystic endometrial hyperplasia–pyometra complex in the bitch: should the two entities be disconnected? *Theriogenology* 2001, 55, 1509–1519.
7. De Bosschere H, Ducatelle R, Vermeirsch H, Simoens P, Coryn M. Estrogen–alpha and progesterone receptor expression in cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch. *Animal Reproduction Science* 2002, 70, 251–259.
8. Camplillo B, Paillaud E, Bories PN, Noel M, Porquet D, Le Parco J.C. Serum levels of insulin-like growth factor-1 in the three months following surgery for a hip fracture in elderly: relationship with nutritional status and inflammatory reaction. *Clinical Nutrition* 2000, 19, 349–354.
9. Ceciliani F, Ceron J.J, Eckersall P.D, Sauerwein H. Acute phase proteins in ruminants. *Journal of Proteomics* 2012, 75, 4207–4231.
10. Ceron J.J, Eckersall P.D, Martinez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats; current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology* 2005, 34, 85–99.

11. Chase D, McLauuchlan G, Eckersall P.D, Parkin T, Pratschke K, Pratschke J. Acute phase protein levels in dogs with mast cell tumours and sarcomas. *Veterinary Record* 2012, 170:648.
12. Chaudhury P.K, Jeschke M.G, Monson J.R. What is the diagnostic value of C-reactive protein for the prediction and the exclusion of postoperative infectious complication after colorectal surgery? *Canadian Journal of Surgery* 2014, 57, 417–419.
13. Chen Y.M, Wright P.J, Lee C.S, Browning G.F. Uropathogenic virulence factors in isolates of *Escherichia coli* from clinical cases of canine pyometra and feces of healthy bitches. *Veterinary Microbiology* 2003, 94, 57–69.
14. De Cock H, Vermeirsch H, DucatelleR, De Schepper J. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in Cystic-Endometritis-Pyometra complex in the bitch. *Theriogenology* 1997, 48, 1035–1047.
15. Colson A, Williems B, Thissen J.P. Inhibition of TNF-alpha production by pentoxifylline does not prevent endotoxin-induced decrease in serum IGF-1. *Journal of Endocrinology* 2003, 178, 101–109.
16. Crawford K, Warman S.M, Marques A.I, Yool D.A, Eckersall, P.D, McCulloch E, Lynn K, Mellanby R.J, Gow A.G. Serum haptoglobin concentrations in dogs with liver disease. *Veterinary Record* 2013, 173:579.
17. Dąbrowski W, Kocki T, Piłat J. Parada-Turska J, Malbrain M.L. Changes in plasma kynurenic acid concentration in septic shock patients undergoing continuous veno-venous haemofiltration. *Inflammation* 2014, 37, 223–234.
18. Däubener W, MacKenzie C.R. IFN-gamma activated indoleamine 2,3-dioxygenase activity in human cells is an antiparasitic and an antibacterial effector mechanism. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1999, 467, 517–524.
19. Dhaliwal G.K, England G.C.W, Noakes D.E. Immunocytochemical localization of oestrogen and progesterone receptors in the uterus of the normal bitch during oestrus and metoestrus. *Journal of Reproduction and Fertility* 1997, 51, 167–176.
20. Dhaliwal G.K, England G.C.W, Noakes D.E. The influence of exogenous steroid hormones on steroid receptors, uterine histological structure and the bacterial flora of the normal bitch. *Animal Reproduction Science* 1999, 56, 259–277.
21. Dow C. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *The Veterinary Record* 1957, 69, 1409–1414.

22. Dow C. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Veterinary Record* 1958, 70, 1102–1108.
23. Dow C. Experimental reproduction of the cystic hyperplasia complex in the bitch. *The Journal of Pathology and Bacteriology* 1959a, 78, 267–278.
24. Dow C. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Journal of Comparative Pathology* 1959b, 69, 237–251.
25. Eckersall P.D, Harvey M.J, Ferguson J, Renton J.P, Nickson D, Boyd J. Acute phase proteins in canine pregnancy (*Canis familiaris*). *Journal of Reproduction and Fertility* 1993, 47, 159–164.
26. Eckersall P.D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. *Revue de Médecine Vétérinaire: RevMedVet (Toulouse)* 2000, 151, 577–584.
27. Eckersall P.D, Bell R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal* 2010a, 185, 23–27.
28. Eckersall P.D. Acute phase proteins: from research laboratory to clinic. *Veterinary Clinical Pathology* 2010b, 39, 1–2.
29. Eckersall P.D, Schmidt E.M. The final hurdles for acute phase protein analysis in small animal practice. *Journal of Small Animal Practice* 2014, 55, 1–3.
30. Egenvall A, Hagman R, Bonnett B.N, Hedhammar A, Olson P, Lagerstedt A-S. Breed Risk of Pyometra in Insured Dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2001, 15, 530–538.
31. Enginler S.O, Ateş A, Sığırcı B.D, Sontaş B.H, Sömez K, Karaçam E, Ekici H, Dal G.E, Gürel A. Measurement of C-reactive protein and Prostaglandin F2a Metabolite Concentrations in Differentiation of Canine Pyometra and Cystic Endometrial Hyperplasia/Mucometra. *Reproduction in Domestic Animals* 2014, 49, 641–647.
32. Fournier T, Riches D.W, Winston B.W, Rose D.M, Young S.K, Noble P.W, Lake F.R, Henson P.M. Divergence in macrophage insulin-like growth factor-I (IGF-I) synthesis induced by TNF-alpha and prostaglandin E2. *Journal of Immunology* 1995, 155, 2123–2133.
33. Fransson B, Lagerstedt AS, Hellmen E, Jonsson P. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 1997, 44, 417–426.

34. Fransson B.A, Lagerstedt, Bergstrom A. C-reactive protein, tumor necrosis factor, and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2007, 17, 373–381.
35. Fukuwatari T, Shibata K. Nutritional aspect of tryptophan metabolism. *International Journal of Tryptophan Research* 2013;6 (Supl. 1) 3–8.
36. Garrido M, Espino J, Toribio-Delgado A.F, Cubero J, Maynar-Mariño J.I, Barriga C, Paredes S.D, Rodríguez A.B. A jerte valley cherry-based product as a supply of tryptophan. *International Journal of Tryptophan Research* 2012, 5, 9–14.
37. Gupta N.K, Thaker A.I, Kanuri N, Riehl T.E, Rowley Ch.W, Stenson W.F, Ciorba M.A. Serum analysis of tryptophan catabolism pathway: correlation with Crohn's disease activity. *Inflammatory Bowel Diseases* 2011, 18, 1214–1220.
38. Hagman R, Kindahl H, Lagerstedt AS. Pyometra in bitches induces elevated plasma endotoxin and prostaglandin F_{2α} metabolite levels. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2006a, 47, 55–67.
39. Hagman R, Kindahl H, Fransson B.A, Bergström A, Ström Holst B, Lagerstedt A.S. Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F_{2α} metabolite analysis. *Theriogenology* 2006b, 66, 198–206.
40. Hagman R. Serum α -1-acid glycoprotein concentrations in 26 dogs with pyometra. *Veterinary Clinical Pathology* 2011, 40, 52–59.
41. Hagman R. Clinical and molecular characteristics of pyometra in female dogs. *Reproduction in Domestic Animals* 2012, 47, 323–325.
42. Hardy R.M. Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in VM Shille (Ed.), *Current Therapy in Theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in animals* W.B. Saunders, Philadelphia (1980), pp. 624–630.
43. Heemskerk V.H, Daemen M, Buurman W.A. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and growth hormone (GH) in immunity and inflammation. *Cytokine Growth Factor Reviews* 1999, 10, 5–14.
44. Hol J, Stolker RJ, Klimek M, Stronks DL, Fekkes D. The tryptophan kynurenine pathway, neopterin and IL-6 during vulvectomy and abdominal hysterectomy. *Journal of Biomedical Science* 2014, 20;21(1):102.

45. Jitpean S, Hagman R, Ström Holst B, Höglund O.V, Pettersson A, Egenvall A. Breed variations in the incidence of pyometra and mammary tumours in Swedish dogs. *Reproduction in Domestic Animals* 2012, 6, 347–350.
46. Jitpean S, Holst BS, Höglund OV, Pettersson A, Olsson U, Strage E, Södersten F, Hagman R. Serum insulin-like growth factor-I, iron, C-reactive protein, and serum amyloid A for prediction of outcome in dogs with pyometra. *Theriogenology* 2014a, 82, 43–48.
47. Jitpean S, Pettersson A, Höglund O.V, Ström Holst B, Olsson U, Hagman R. Increased concentrations of Serum amyloid A in dogs with sepsis caused by pyometra. *BMC Veterinary Research* 2014b, 10:273
48. Kanbur-Oksüz N, Derman O, Kinik E. Correlation of sex steroids with IGF-1 and IGFBP-3 during different pubertal stages. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2004, 46, 315-321.
49. Karlsson I, Hagman R, Johannisson A, Wang L, Karlstam E, Wernersson S. Cytokines as immunological markers for systemic inflammation in dogs with pyometra. *Reproduction in Domestic Animals* 2012, 47, 337–341.
50. Karlsson I, Wernersson S, Ambrosen A, Kindahl H, Södersten F, Wang L, Hagman R. Increased concentrations of C-reactive protein but not high-mobility group box 1 in dogs with naturally occurring sepsis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2013, 156, 64–72.
51. Kostro K, Gliński Z, Wojcicka–Lorenowicz K, Krakowski L. Białka ostrej fazy jako markery chorób u zwierząt. *Medycyna Weterynaryjna* 2001, 57, 539–542.
52. Kostro K, Luft-Deptuła D, Gliński Z, Miazga A. Rola białek ostrej fazy w patologii zwierząt. *Życie Weterynaryjne* 2003, 78, 19–25.
53. Krekele N, Marendra M.S, Browning G.F, Holden K.M, Charles J.A, Wright P.J. Uropathogenic virulence factor FimH facilitates binding of uteropathogenic *Escherichia coli* to canine endometrium. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 2012, 35, 461-467.
54. Krška Z, Kvasnlička J, Pesková M, Melechovský D, Demeš R, Polívková J. The acute phase reaction in laparoscopic and open surgery of inguinal hernias. *Rozhledy v Chirurgii (Praha)* 2001, 80, 253–256.
55. Kuc D, Rahnama M, Tomaszewski T, Rzeski W, Wejksza K, Urbanik-Sypniewska T, Parada-Turska J, Wielosz M, Turski W.A. Kynurenic acid in human saliva-does it influence oral microflora? *Pharmacological Reports* 2006, 58, 393-398.

56. Lazarus D.D, Moldawer L.L, Lowry S.F. Insulin-like growth factor-1 activity is inhibited by interleukin-1 alpha, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6. *Lymphokine and Cytokine Research* 1993, 12, 219-223.
57. Leitner M, Aurich J.E, Galabova G, Aurich C, Walter I. Lectin binding patterns in normal canine endometrium and in bitches with pyometra and cystic endometrial hyperplasia. *Histology and Histopathology* 2003, 18, 787–795.
58. Lopez-Calderon A, Soto L, Martin A. Chronic inflammation inhibits GH secretion and alters the serum insulin-like growth factor system in rats. *Life Sciences* 1999, 65, 2049–2060.
59. Maggio M, De Vita F, Lauretani F, Buttò V, Bondi G, Cattabiani Ch, Nouvenne A, Meschi T, Dall'Aglio E, Ceda G.P. IGF-1, the cross road of the nutritional, inflammatory and hormonal pathways to frailty. *Nutrients* 2013, 5, 4184–4205.
60. Małaczewska J, Siwicki A.K, Wójcik R, Turski W.A, Kaczorek E. The in vitro effect of kynurenic acid on the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leukocyte and splenocyte activity. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2014, 17, 453–458.
61. Maśliński S, Ryżewski J. *Patofizjologia, podręcznik dla studentów medycyny*. Warszawa 1992, p.100.
62. Mattila-Vuori A, Salo M, Iisalo E, Pajulo O, Viljanto J. Local and systemic immune response to surgery under balanced anaesthesia in children. *Paediatric Anaesthesia* 2000, 10, 381–388.
63. Méndez J.C, Carretón E, Martínez S, Tvarijonaviciute A, Cerón J.J, Montoya-Alonso J.A. Acute phase response in dogs with *Dirofilaria immitis*. *Veterinary Parasitology* 2014, 204, 420-425.
64. Niskanen M, Thrusfield MV. Associations between age, parity, hormonal therapy and breed and pyometra in Finnish dogs. *Veterinary Record* 1998, 143, 493–498.
65. Nivy R, Caldin M, Lavy E, Shaabon K, Segev G, Aroch I. Serum acute phase protein concentrations in dogs with spirocercosis and their association with esophageal neoplasia – a prospective cohort study. *Veterinary Parasitology*, 2014, 203, 153–159.
66. Okuno E, Du F, Ishikawa T, Tsujimoto M, Nakamura M, Schwarcz R, Kido R. Purification and characterization of kynurenine-pyruvate aminotransferase from rat kidney and brain. *Brain Research* 1990, 534, 37–44.
67. Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care* 2010, 14:R15.

68. Potula R, Poluektova L, Knipe B, Chrastil J, Heilman D, Dou H, Takikawa O, Munn D.H, Gendelman H.E, Persidsky Y. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) enhances elimination of virus-infected macrophages in an animal model of HIV-1 encephalitis. *Blood* 2005, 1, 2382-2390.
69. Póvoa P, Almeida E, Moreira P, Fernandes A, Mealha R, Aragao A, Sabino H. C-reactive protein as an indicator of sepsis. *Intensive Care Medicine* 1998, 24, 1052–1056.
70. Póvoa P. C-reactive protein: a valuable marker of sepsis. *Intensive Care Medicine* 2002, 28, 235–243.
71. Prendergast GC, Chang MY, Mandik-Nayak L Metz R, Muller A.J. Indoleamine 2,3-dioxygenase as a modifier of pathogenic inflammation in cancer and other inflammation-associated diseases. *Current Medicinal Chemistry* 2011, 18, 2257–2262.
72. Priego T, Granado M, de Caceres II, Martin A.I, Villanua M.A, Lopez-Calderon A. Endotoxin at low doses stimulates pituitary GH whereas it decreases IGF-I and IGF-binding protein-3 in rats. *Journal of Endocrinology* 2003, 179, 107–117.
73. Rodriguez-Tarduchy G, Collins M.K.L, Garcia I. Lopezrivias A. Insulin-like growth factor-I inhibits apoptosis in IL-3 dependent hematopoietic-cells. *Journal of Immunology* 1992, 149, 535-540.
74. Roy A, Mukhopadhyay S.K. L-Tryptophan production by auxotrophic and analogue resistant mutants of aureobacterium flavescens. *International Journal of Tryptophan Research* 2011, 4, 39–46.
75. Sandholm M, Vasenius H, Kivistö A.K. Pathogenesis of canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1975, 167, 1006–1010.
76. Schefold JG, Zeden J-P, Fotopoulou C, von HaehlingS, Pschowski R, Hasper D, Volk H.D, Schuett C, Reinke P. Increased indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) activity and elevated serum levels of tryptophan catabolites in patients with chronic kidney disease: a possible link between chronic inflammation and uraemic symptoms. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2009, 24, 1901–1908.
77. Schroecksadel K, Winkler C, Fuith L.C, Fuchs D. Tryptophan degradation in patients with gynecological cancer correlates with immune activation. *Cancer Letters* 2005, 223, 323–329.
78. Schröcksadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clinica Chimica Acta* 2006, 364, 82–90.

79. Schwarcz R, Pellicciari R. Manipulation of brain kynurenes: glial targets, neuronal effects, and clinical opportunities. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2002, 303, 1–10.
80. Sharif H, Hagman R, Wang L, Eriksson S. Elevation of serum thymidine kinase 1 in a bacterial infection: Canine pyometra. *Theriogenology* 2013, 79, 17-23.
81. Sherlock M, Toogood A.A. Aging and the growth hormone/insulin like growth factor-I axis. *Pituitary* 2007, 10, 189–203.
82. Steenberg L, Sellaro R, Colzato L.S. Tryptophan promotes charitable donating. *Frontiers in Psychology* 2014, 17;5:1451.
83. Stone E.A, Littman M.P, Robertson J.L, Bovee K.C. Renal dysfunction in dogs with pyometra. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 1988, 193, 457–464.
84. Tsuji A, Nakata Ch, Sano M, Fukuwatari T, Shibata K. L-Tryptophan metabolism in pregnant mice fed a high L-Tryptophan diet and the effect on maternal, placental, and fetal growth. *International Journal of Tryptophan Research* 2013, 6, 21–33.
85. Turski M.P, Turska M, Paluszkiewicz P, Parada-Turska J, Oxenkrug G.F. Kynurenic acid in the digestive system-new facts, new challenges. *International Journal of Tryptophan Research* 2013, 6, 47–55.
86. Tvarijonavičiute A, Eralp O, Kocaturk M, Yilmaz Z, Ceron J.J. Adiponectin and IGF-1 are negative acute phase proteins in a dog model of acute endotoxaemia. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2011, 140, 147–151.
87. Vannucchi C.I, Mirandola R.M, Oliveira C.M. Acute-phase protein profile during gestation and diestrus: proposal for an early pregnancy test in bitches. *Animal Reproduction Science* 2002, 74, 87–99.
88. Ververidis H.N, Boscos C, Stefanakis A, Saratsis P, Stamou A.I, Krambovitis E. Serum oestradiol-17 β , progesterone and respective cytosol receptor concentrations in bitches with spontaneous pyometra. *Theriogenology* 2004, 62, 614–623.
89. Wang Y, Liu H, McKenzie G, Witting P.K, Stasch J.P, Hahn M, Changsirivathanathamrong D, Wu B.J, Ball H.J, Thomas S.R, Kapoor V, Celermajer D.S, Mellor A.L, Keaney J.F, Hunt N.H, Stocker R. Kynurenic acid is an endothelium-derived relaxin factor produced during inflammation. *Nature Medicine* 2010, 16, 279–85.
90. Waters D.L, Yau C.L, Montoya G.D, Baumgartner R.N. Serum sex hormones, IGF-1, and IGFBP3 exert a sexually dimorphic effect on lean body mass in aging. *The Journals of Gerontology Series A BiolSci Med Sci* 2003, 58A, 648–652.

91. Wennström M, Nielsen H.M, Orhan F, Londos E, Minthon L, Erhardt S. Kynurenic Acid levels in cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's disease or dementia with lewy bodies. *International Journal of Tryptophan Research* 2014, 28, 1–7.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1. Dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych

Po ukończeniu studiów w 1997 roku na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie rozpocząłem studia doktoranckie w zakładzie Diagnostyki Klinicznej Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych Zwierząt. Następnie zostałem zatrudniony w charakterze asystenta w Katedrze i Klinice Rozrodu Zwierząt pod opieką prof. dr hab. Władysława Wawrona, gdzie pracuję do chwili obecnej. Od początku uczestniczyłem aktywnie w działalności i naukowo-dydaktyczno-klinicznej, co po pewnym czasie umożliwiło mi sprecyzowanie swojego profilu naukowo-badawczego. Początkowo dotyczył on problematyki związanej z zapaleniami gruczołu mlekowego u krów oraz metod diagnostycznych stosowanych w rozpoznawaniu chorób układu rozrodczego i gruczołu mlekowego u samic różnych gatunków zwierząt domowych. W tym też okresie podjąłem również współpracę z Uniwersytetem Medycznym w Lublinie. Efektem mojej aktywności są publikacje, które zostały opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych w renomowanych o zasięgu krajowym i zagranicznym periodykach:

1. Wawron W, Piech T, Szczubiał M, Dąbrowski R. Effect of intracisternal administration of antimycotic antibiotics on the udder glandular tissue in cow. Polish Journal of Veterinary Sciences 2001, 4, 59–63.
2. Szczubiał M, Wawron W, Dąbrowski R. Wskaźniki hematologiczne, biochemiczne oraz odporność nieswoista u świń z syndromem MMA. Medycyna Weterynaryjna 2002, 58, 692–694.
3. Szczubiał M, Dąbrowski R, Śmiech A, Łopuszyński W, Wawron W, Kusy R. Przydatność wybranych czynników klinicznych i histopatologicznych w prognozowaniu przebiegu nowotworów złośliwych gruczołu sutkowego suk. Medycyna Weterynaryjna 2004, 60, 160–164.
4. Szczubiał M, Kankofer M, Łopuszyński W, Dąbrowski R, Lipko J. Oxidative stress parameters in bitches with mammary gland tumours. Journal of Veterinary Medicine Series A 2004, 51, 336–340.
5. Kusy R, Śmiech A, Łopuszyński W, Szczubiał M, Dąbrowski R, Krasucki J, Wawron W. Kliniczna i histologiczna charakterystyka nowotworów jajników u suk, Medycyna Weterynaryjna 2005, 61, 775–780.

6. Wawron W, Piech T, Dąbrowski R, Krasucki J. Wpływ podawania preparatów żelazowych na zdrowotność oraz niektóre wskaźniki hematologiczne i immunologiczne prosiąt, *Medycyna Weterynaryjna* 2005, 61, 1400–1404.
7. Dąbrowski W, Dąbrowski R, Wyciszczok T, Falk J. Gospodarka tlenem organizmu ludzkiego na dużych wysokościach. *Wiadomości Lekarskie* 2006, 59, 238–241.

Wyniki badań z tego obszaru były prezentowane również na konferencjach krajowych i międzynarodowych w formie doniesień i posterów:

1. Piech T, Wawron W, Szczubiał M, Dąbrowski R. Próba interpretacji TOK w mleku kozim. XI Kongres PTNW, Lublin 21-23.05.2000.
2. Wrońska-Tyra J, Pasternak K, Dąbrowski R, Dąbrowski W. Zmiany zawartości selenu w surowicy pacjentów poddanych zabiegowi kardiochirurgicznemu. VII Lubelska Środowiskowa Konferencja Magnezjologiczna: Pierwiastki w rolnictwie i medycynie. Lublin 31.05.2003.
3. Wawron W, Dąbrowski R, Krasucki J., Piech T. Przydatność wybranych preparatów żelazowych w profilaktyce anemii prosiąt. Polanica Zdrój 13-14.06.2003.
4. Piech T, Wawron W, Szczubiał M, Kusy R, Dąbrowski R, Krasucki J. Wykorzystanie immunostymulujących właściwości lewamizolu w leczeniu doświadczalnego grzybiczego zapalenia wymienia u krów. XII Kongres PTNW, Warszawa 15-17.09.2004.
5. Wawron W, Piech T, Dąbrowski R. Mastitis u krów jako problem wciąż aktualny. Lubelski Festiwal Nauki, Lublin 20.09.2004.

W celu pogłębienia wiedzy dotyczącej problematyki rozrodu zwierząt podjąłem w 2000 roku Studia Podyplomowe z zakresu Rozrodu Zwierząt, które zakończyłem pozytywnie zdany egzaminem w 2002 roku. W okresie poprzedzającym uzyskanie stopnia doktora nauk weterynaryjnych nawiązałem międzynarodowy kontakt z Kliniką Rozrodu Zwierząt w École Nationale Vétérinaire de Lyon (ENVL) we Francji. Efektem tego był krótko terminowy staż w tamtejszej szkole weterynaryjnej. Nabywane coraz większe doświadczenie lekarsko-weterynaryjne połączone z możliwością konsultacji z naukowym ośrodkiem zagranicznym przyczyniło się do ostatecznego sprecyzowania zainteresowań naukowych w zakresie rozrodu psów, ze szczególnym uwzględnieniem ropomacicza i okresu

pooperacyjnego związanego z zabiegiem ovariohysterectomii. W 2001 roku rozpocząłem gromadzenie materiału biologicznego jaki stanowiła surowica pochodząca od suk zdrowych i z ropomaciczem. Obie grupy suk zostały poddane zabiegowi ovariohysterectomii, która w przypadku suk zdrowych została wykonana jako chirurgiczna metody antykoncepcji, a w przypadku suk chorych - jako metoda leczenia z wyboru bateryjnego zapalenia macicy. Celem tych badań było określenie przydatności wybranych wskaźników odporności nieswoistej oraz białek ostrej fazy w monitorowaniu ropomacicza i okresu pooperacyjnego. Uzyskane wyniki badań własnych z tego zakresu zostały przedstawione w formie dysertacji doktorskiej.

Zakończeniem powyższego etapu mojej działalności naukowo-badawczej było uzyskanie w 2005 roku na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej AR (obecnie UP) w Lublinie stopnia doktora nauk weterynaryjnych na podstawie pracy: "Zachowanie się białek ostrej fazy i niektórych wskaźników odporności po zabiegach ovariohysterectomii u psów", której promotorem był Pan prof. dr hab. Władysław Wawron.

5.2. Dorobek naukowy po uzyskaniu tytułu doktora nauk weterynaryjnych

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych kontynuowałem badania mające na celu kształtowania się wskaźników natężenia procesu zapalnego w przebiegu ropomacicza oraz okresu pooperacyjnego u suk wraz z możliwością ich wykorzystania jako czułych i miarodajnych biomarkerów u tego gatunku zwierząt. Stąd też, głównym kierunkiem prowadzonych przeze mnie badań naukowych w tym okresie są zagadnienia związane z odpowiedzią immunologiczną organizmu na czynniki indukujące proces zapalny jakim jest ropomacicze oraz zabieg ovariohysterectomii u suk jako metody leczenia z wyboru oraz powszechnie stosowana antykoncepcja u suk. Efektem mojej aktywności naukowej po obronie pracy doktorskiej było nawiązanie współpracy z renomowanymi, krajowymi i zagranicznymi ośrodkami naukowymi takimi jak: Uniwersytet Medyczny w Lublinie (prof. W.A. Turski), Uniwersytet w Uppsali/Szwecja (dr R. Hagman) oraz Uniwersytet w Murci/Hiszpania (dr J. Pastor, dr A. Tvarijonaviciute oraz dr J.J. Ceron). Nawiązanie współpracy międzyuczelnianej umożliwiła mi określenie oprócz białek ostrej fazy,

dodatkowych, surowiczych i tkankowych biomarkerów, które okazały się być przydatne do oceny natężenia przebiegu bakteryjnego zapalenia macicy. Zaprezentowane w publikacjach metody diagnostyczne i wyniki badań własnych były pionierskimi zastosowanymi w medycynie weterynaryjnej. Z przedstawicielami wyżej wymienionych ośrodków naukowych w dalszym ciągu kontynuuję współpracę mającą na celu oznaczenia również i molekularnych wskaźników, których wartości mogą okazać się przydatne do oceny natężenia procesu zapalnego w przebiegu ropomaciczu oraz okresu po ovariohysterectomii.

Oprócz swojego zainteresowania dotyczącego tematyki ropomacicza i okresu pooperacyjnego u suk czynnie uczestniczę we wspólnych badaniach naukowych prowadzonych w Katedrze i Klinice Rozrodu Zwierząt, obejmujących takie zagadnienia jak:

1. Ocena natężenia procesu zapalnego oraz statusu oksydacyjnego w przebiegu nowotworów gruczołu sutkowego u suk
2. Ocena statutu oksydacyjnego oraz nieswoistych parametrów odporności nieswoistej w przebiegu ropomacicza u suk, okresu pooperacyjnego
3. Ocena natężenia procesu zapalnego w przebiegu stanów zapalnych gruczołu mlekowego oraz skuteczności ich terapii u krów
4. Ocena statusu oksydacyjnego u suk ciężarnych oraz u świń w okresie okołoporodowym
5. Badania dotyczące niepłodności immunologicznej będące przyczyną wczesnej zamieralności zarodków u klaczy.

5.2.1.

Nowotwory gruczołu sutkowego pod względem częstości występowania u suk zajmują drugie miejsce po nowotworach skóry. Na podstawie przeprowadzonych badań własnych oraz danych literaturowych wiadomo, że aż 46% guzów przebadanych histologicznie to nowotwory o charakterze złośliwym. Jak dotąd, jedyną skuteczną metodą leczenia tego typu nowotworów, jest zabieg mastektomii. Rzadko wykonywana nodulektomia ma na celu usunięcie jedynie samego guza. Metoda zabiegu usunięcia guza uzależniona jest to od rodzaju guza i jego wielkości. W wielu przypadkach gdy zmiana ma charakter złośliwy, dochodzi do wznowy procesu nowotworowego w okolicy blizny pooperacyjnej,

lub przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych i odległych narządów wewnętrznych, a w konsekwencji do śmierci zwierzęcia. Dlatego też ustalenie czynników prognostycznych przy nowotworach gruczołu sutkowego suk, umożliwiając rokowanie co do przebiegu choroby, a przede wszystkim możliwości wystąpienia remisji po operacyjnym usunięciu guza, pozostaje ciągle w kręgu zainteresowań onkologii weterynaryjnej. Dlatego też podjęte badania nad przydatnością oznaczeń CRP i SAA oraz neopteryny (Np), wskaźników stresu oksydacyjnego (TBARS, –SH grupy oraz aktywności GSH-Px) a także E-kadheryny jako obiektywnych wskaźników nasilenia reakcji zapalnej w przebiegu procesu nowotworowego u suk.

Szczubiał M, Dąbrowski R, Bochniarz M, Łopuszyński W. Stężenie białka C-reaktywnego i surowiczego składnika amyloidu A w surowicy suk z nowotworami gruczołu sutkowego. *Medycyna Weterynaryjna* 2008, 6, 818–821.

Szczubiał M, Kankofer M, Albera E, Łopuszyński W, Dąbrowski R. Oxidative/antioxidative status of blood plasma in bitches with mammary gland tumours. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2008, 52, 255–259.

Szczubiał M, Dąbrowski R, Łopuszyński W. Serum neopterin levels in female dogs with malignant mammary tumours. *Veterinary and Comparative Oncology* 2014, 12, 143–148.

Łopuszyński W, Szczubiał M, Klimiuk P, Śmiech A, Dąbrowski R, Bochniarz M. Immunohistochemical evaluation of E-cadherin expression in normal and neoplastic canine mammary glands. *Medycyna Weterynaryjna* 2015, 71, 152–157.

Z przeprowadzonych badań wynika, że u suk cierpiących na nowotwory gruczołu sutkowego dochodzi do zmian surowicznych stężeń wymienionych wskaźników, których wielkość jest proporcjonalna do rozległości procesu nowotworzenia. Dane te sugerują iż jednoczesne oznaczanie CRP, SAA i Np., wybranych wskaźników stresu oksydacyjnego oraz E-kadheryny może być przydatne w rokowaniu zejścia procesu nowotworowego.

5.2.2.

Z dostępnego piśmiennictwa wiadomo, że w przebiegu procesów zapalnych dochodzi do zaburzenia równowagi pomiędzy działaniem reaktywnych form tlenu a biologiczną zdolnością do szybkiej ich dezaktywacji. Efektem tego jest nadprodukcja nadtlenków i wolnych rodników (ROS), które przyczyniają się do oksydacyjnego uszkodzenia składników komórki m.in. białek, lipidów i DNA. Wykazano, że wskaźniki stresu oksydacyjnego mogą być odzwierciedleniem natężenia reakcji zapalnej w trakcie

bakteryjnego zapalenia macicy u suk. Efektem tego są nie tylko surowicze zmiany stężeń reaktywnych form tlenu ale również zmiany ich wartości w endometrium. Dlatego też założeniem badań własnych była ocena nasilenia reakcji zapalnej w macicy na podstawie kształtowania się wskaźników stresu oksydacyjnego. Wyniki jednoznacznie wskazują, że ropomacicze jest schorzeniem w przebiegu którego dochodzi do lokalnych zmian w postaci ograniczenia zdolności obrony błony śluzowej macicy przed wolnymi rodnikami takimi jak peroksydaza glutationu (GSH-Px), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i katalazy (CAT). Wolne rodniki pogłębiają istniejący już stan zapalny endometrium, co wskazuje iż stanowią one ważny i dodatkowy czynnik odpowiedzialny za patogenezę ropomacicza. Przytoczone wyniki stanowią potwierdzenie innych moich badań własnych dotyczących oznaczeń kwasu kynureninowego w endometrium – jako chemicznego wykładnika reakcji zapalnej (poz. 4.1.3). Pozwalają jednocześnie zrozumieć mechanizmy reakcji zapalnej jakie mają miejsce w błonie śluzowej macicy w przebiegu ropomacicza u suk. Stanowią ponadto kolejny dowód, iż w endometrium objętym bakteryjnym stanem zapalnym dochodzi do silnej reakcji zapalnej czego efektem są zmiany tkankowych wartości biomarkerów.

W trakcie ropomacicza u suk oprócz tkankowych zmian wartości biomarkerów dochodzi do również do surowiczych zmian niektórych wskaźników odporności nieswoistej. Wydaje się tym istotne jednoczesne oznaczanie surowiczych i tkankowych parametrów reakcji zapalnej. Wiadomo, że u psów, podobnie jak u innych gatunków zwierząt, głównym mechanizmem nieswoistej odporności komórkowej jest fagocytoza, w której zasadniczą rolę pełnią neutrofile oraz monocyty/makrofagi. Zabieg ovariohysterectomii prowadzi do zmian niektórych parametrów komórkowej odporności nieswoistej w postaci wzrostu aktywności komórek neutrofilów i makrofagów w wyniku zwiększonej przez te komórki syntezy cytokin prozapalnych jako głównych induktorów zapalnej odpowiedzi immunologicznej. Ponadto w okresie pooperacyjnym dochodzi do zmian surowiczych stężeń wskaźników stresu oksydacyjnego. Dlatego też, zmiany powyższych parametrów zostały wykorzystane jako przydatne wskaźniki do oceny stanu ogólnego psów w okresie przed i pooperacyjnym umożliwiające wczesne prognozowanie wystąpienia komplikacji.

Szczubiał M, Dąbrowski R. Activity of antioxidant enzymes in uterine tissue of bitches with pyometra. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 2009, 53, 673–676.

Dąbrowski R. Wskaźniki odporności nieswoistej po zabiegach ovariohysterectomii u suk. Medycyna Weterynaryjna 2007, 63, 557–560.

Dąbrowski R. Zabiegi chirurgiczne a wybrane parametry odporności nieswoistej. *Annales UMCS Sectio DD Medicina Veterinaria* 2008, 63, 11–15.

Szczubiał M, Kankofer M, Bochniarz M, Dąbrowski R. Effects of Ovariohysterectomy on oxidative stress markers in female dogs. *Reproduction in Domestic Animals* 2015 w druku (DOI: 10.1111/rda.12501).

5.2.3.

Zapalenie gruczołu mlekowego u krów (*mastitis*) jest jednym z najczęściej występujących schorzeń u bydła mlecznego stanowiący bardzo poważny problem ekonomiczny związany z ograniczoną produkcją mleka i produktów mlekopochodnych. Główną przyczyną *mastitis* są bakterie chorobotwórcze z grupy paciorkowców, gronkowców, *E. coli* oraz drożdżaki. Drobnoustroje te dostają się najczęściej drogą wstępującą przez kanał strzykowy do tkanki gruczołowej wymienia, gdzie się namnażają oraz wydzielają toksyny, które są przyczyną niekiedy silnie wyrażonych miejscowych i ogólnych objawów klinicznych schorzenia. Miejscowy proces zapalny prowadzi do uruchomienia wielu reakcji obronnych wymienia oraz ogólnoustrojowych, mających na celu obronę organizmu przed szkodliwym działaniem drobnoustrojów. W zależności od czynnika etiologicznego oraz stanu odporności, zapalenie gruczołu mlekowego może przebiegać w postaci jawnej z widocznymi objawami klinicznymi (*mastitis clinica*) lub subklinicznej (*mastitis subclinica*). Liczne dane piśmiennictwa światowego oraz obserwacje własne wskazują, że w stadach krów mlecznych coraz częściej występują grzybicze zapalenia wymienia (*mastitis mycotica*), które stanowić mogą od 2 do 13% wszystkich przypadków *mastitis*. Czynnikiem etiologicznym *mastitis mycotica* w 95,5% przypadków są grzyby z rodzaju *Candida spp.* Istotny problem sanitarny oraz brak skutecznej metody leczenia w badaniach własnych podjęto próbę oceny zastosowania leków przeciwgrzybiczych stosowanych w medycynie ludzkiej w terapii *mastitis mycotica* u krów. Z uwagi na brak leków weterynaryjnych uzyskane wyniki badań własnych potwierdziły dużą skuteczność przeciwgrzybiczych leków ludzkich, które mogą z powodzeniem stosowane u zwierząt.

Skuteczność zastosowanej terapii w leczeniu zapaleń gruczołu mlekowego u krów wymaga właściwego monitoringu z zastosowaniem czułych wskaźników natężenia reakcji zapalnych. Wyniki badań własnych wskazują iż obiecujące wydaje się oznaczanie białek ostrej fazy takich jak ceruloplasmina (Cp) i SAA jako obiektywne wskaźniki zwłaszcza przy ocenie *mastitis subclinica*. Innymi wskaźnikami przydatnymi do oceny natężenia reakcji zapalnej wymienia o przebiegu ostrym i przewlekłym jest laktoferyna (LF) i laktoperoksydaza (LP), co wykazano w badaniach własnych.

Szczubiał M, Dąbrowski R, Kankofer M, Bochniarz M, Albera E. Concentration of serum amyloid a and activity of ceruloplasmin in milk from cows with clinical and subclinical mastitis. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 2008, 52, 391–395.

Wawron W, Bochniarz M, Dąbrowski R. Antifungal susceptibility of yeast isolated from secretion of inflamed mammary glands in cows. Polish Journal of Veterinary Sciences 2010, 13, 487–490.

Szczubiał M, Kankofer M, Dąbrowski R. Antioxidative-related activities of lactoferritin and lactoperoxidase in milk from cows with different forms of mastitis. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 2011, 55, 77–81.

Szczubiał M, Dąbrowski R, Kankofer M, Bochniarz M, Komar M. Concentration of serum amyloid A and ceruloplasmin activity in milk from cows with subclinical mastitis caused by different pathogens. Polish Journal of Veterinary Sciences 2012, 15, 291–296.

5.2.4.

Zachowanie równowagi pomiędzy produkcją i neutralizacją reaktywnych form tlenu (RFT) stanowi kluczowy element utrzymania prawidłowej homeostazy organizmu i dobrego stanu ogólnego pacjenta. Za utrzymanie RFT na bezpiecznym poziomie odpowiada m.in. system obrony antyoksydacyjnej obejmujący enzymy antyoksydacyjne i liczne antyoksydanty nie-enzymatyczne, pochodzenia endogennego i egzogenego. Zaburzenie równowagi antyoksydacyjno-oksydacyjnej, na skutek nadmiernej produkcji RFT lub/i niewydolności mechanizmów antyoksydacyjnych, wywołuje m.in. stres oksydacyjny będący przyczyną zaburzeń procesów metabolicznych i prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego. Może być także przyczyną nieprawidłowego przebiegu ciąży oraz okresu okołoporodowego. Stąd też podjęto badania nad kształtowaniem się wybranych wskaźników stresu oksydacyjnego u suk ciężarnych oraz ich wpływu na przebieg okresu okołoporodowego u macior. Przedstawione wyniki badań wykazały, że czasie ciąży oraz w przebiegu porodu fizjologicznego dochodzi do zaburzenia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej i wystąpienia stresu oksydacyjnego. Jednakże jego nasilenie może być związane z długością fazy wypierania płodów. Uzyskane dane stanowią uzupełnienie wiedzy dotyczącej przebiegu ciąży u suk i okresu okołoporodowego u macior.

Szczubiał M, Dąbrowski R, Bochniarz M, Komar M. The influence of the duration of the expulsive stage of parturition on the occurrence of postpartum oxidative stress in sows with uncomplicated, spontaneous farrowings. Theriogenology 2013, 80, 706–711.

Szczubiał M, Kankofer M, Dąbrowski R, Bochniarz M, Urban-Chmiel R. Assessment of lipid and protein peroxidation markers in non-pregnant and pregnant female dogs. Polish Journal of Veterinary Sciences 2015, 18, 171–179.

5.2.5.

Wczesna zamieralność zarodków (EED) u klaczy związana z utratą ciąży przed 40 dniem od krycia lub zabiegu inseminacji to bardzo duży problem z którym lekarze weterynarii spotykają się w swojej codziennej praktyce lekarsko-weterynaryjnej. Z dostępnej literatury wynika, że najczęstszą przyczyną utraty zarodka jest zapalenie macicy związane z wcześniej przeżytymi porodami. Do zapalenia może również dojść w wyniku reakcji środowiska macicznego na zdeponowane do dróg rodnych nasienie zawierające niespecyficzną florę bakteryjną. Dlatego też przygotowanie środowiska macicznego na przyjęcie zarodka u klaczy i jego rozwój powinno być poprzedzone właściwymi zabiegami terapeutycznymi wykonanymi bezpośrednio po owulacji oraz stale monitorowane odnośnie kontroli stanów zapalnych macicy. W wyniku aktywacji komórek układu immunologicznego na skutek rozwijającego się zapalenia macicy u klaczy dochodzi do istotnych zmian wielu komórkowych i humoralnych wskaźników immunologicznych. Fakt ten potwierdzają dane uzyskane w badaniach własnych i wskazują jednocześnie na ich dużą przydatność wczesnego wykrywania wczesnej zamieralności zarodków. Wykazano, że u klaczy z EED dochodzi do zmiany profilu subpopulacji limfocytów T na korzyść Th1 oraz następuje istotny spadek surowiczego poziomu TGF-beta1.

Krakowski L, Krawczyk C.H, Wrona Z, Dąbrowski R, Jarosz Ł. Levels of selected T lymphocyte subpopulations in peripheral blood of mares which experienced early embryonic death. *Animal Reproduction Sciences* 2010, 120, 71–77.

Publikacje będące wynikiem realizacji powyższych tematów wraz z pełnym wykazem opublikowanych przeze mnie prac naukowych, dokładnymi informacjami o działalności dydaktycznej i popularyzującej naukę oraz współpracy krajowej i zagranicznej znajdują się w załączniku nr 3 do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

