

Osiągnięcie naukowe pod tytułem:

"Wpływ wybranych substancji na ocenę cytologiczną szpiku kostnego u różnych gatunków zwierząt"

oraz pozostały dorobek naukowy

Anna Maria Snarska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką

Olsztyn, 2019

Autoreferat

dr n. wet. Anna Maria Snarska

**Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie**

Olsztyn, 2019

1. Imię i nazwisko

Anna Maria Snarska

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

2009

Tytuł: specjalista w dziedzinie: Choroby Przeżuwaczy przyznany przez Krajową Komisję ds. Specjalizacji Lekarzy Weterynarii

2004

Stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, tytuł rozprawy doktorskiej:
„Zachowanie się wybranych wskaźników hematologicznych i biochemicznych krwi koników polskich w przebiegu naturalnej inwazji gza *Gasterophilus intestinalis*.”

1994

Tytuł: lekarz weterynarii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych

1. 01.10.1999 - 21.06.2004 Katedra Parazytologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie - doktorant
2. 01.01.2004 - 30.06.2004 Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie - specjalista
3. 01.07.2004 - 31.12.2007 Zespół Chorób Wewnętrznych, Katedra Nauk Klinicznych - specjalista
4. 01.01.2007 - 30.05.2008 Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie - asystent
5. 01.06.2008 - do chwili obecnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie - adiunkt

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

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:

„Wpływ wybranych substancji na ocenę cytologiczną szpiku kostnego u różnych gatunków zwierząt ”

Osiągnięcie naukowe tworzy jednotematyczny cykl następujących publikacji oryginalnych:

4.1.1. *Snarska A., Wysocka D., Rytel L., Żarczyńska K., Sobiech P., Gonkowski S. 2018. The influence of selenium and vitamin E supplementation on cytological assessment of red blood cell line of bone marrow in fallow deer kept in captivity. Polish Journal of Veterinary Sciences 21(3), 431-436. DOI: 10.24425/122614

(MNiSZW₂₀₁₈ 20pkt; IF₂₀₁₈ 0,839)

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i przeprowadzeniu doświadczenia, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.

Mój udział procentowy szacuję na 75%.

4.1.2. *Snarska A., Wysocka D., Rytel L.,Gonkowski S., Pawelec H., Sobiech P. 2018 Simvastatin-induced changes in the leukocytic system of porcine bone marrow. Journal of Veterinary Research 62(3), 329-333, 2018 DOI: 10.2478/jvetres-2018-0034

(MNiSZW₂₀₁₈ 15 pkt; IF₂₀₁₈ 0.811)

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i przeprowadzeniu doświadczenia, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.

Mój udział procentowy szacuję na 70%.

4.1.3. *Snarska A., Wysocka D., Rytel L., Makowska K., Gonkowski S. 2018. Cytological evaluation of the influence of high and low doses of bisphenol A on an erythroblastic cell line of porcine bone marrow. Journal of Veterinary Research 62(4), 543–547 DOI: 10.2478/jvetres-2018-0068

(MNiSZW₂₀₁₈ 15 pkt; IF₂₀₁₈ 0,811)

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i przeprowadzeniu doświadczenia, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.

Mój udział procentowy szacuję na 80%.

**4.1.4. *Snarska A., Wysocka D, Rytel L.: Effect of simvastatin on the process of thrombopoiesis in porcine bone marrow Journal of Veterinary Research 63(1), 117-122
DOI:10.2478/jvetres-2019-0007**

(MNiSZW 2018 15pkt; IF₂₀₁₈ 0,811)

Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, metodyki, zaplanowaniu i przeprowadzeniu doświadczenia, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.

Mój udział procentowy szacuję na 80%.

**autor korespondencyjny*

Łączna punktacja czterech oryginalnych prac, wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji, zgodnie z rokiem opublikowania w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR) wynosi :

- według listy czasopism punktowanych MNiSW - 65 punktów,
- łączny współczynnik oddziaływania, *impact factor* (IF) – 3,272

4.2. Omówienie osiągnięcia naukowego

4.2.1 Wprowadzenie i cel przeprowadzonych badań

U ssaków szpik kostny rozwija się w drugim trymestrze ciąży. Zrąb szpiku stanowi tkanka łączna, w skład której wchodzi: komórki siateczkowe, komórki tłuszczowe, komórki śródbłonka i miocyty oraz nerwy i substancja międzykomórkowa. W budowie szpiku wyróżnia się przedział zewnątrznaczyniowy i zatokowy (śródnaczyniowy). Istotną rolę w procesie krwiotworzenia pełni układ naczyń krwionośnych szpiku, których śródbłonek pełni rolę regulacyjną w procesie migracji komórek hematopoezy. Komórki śródbłonka podtrzymywane są przez komórki zrębu, określane jako komórki przydanki. Rozmazy szpiku

kostnego wskazują, że szpik kostny to układ komórek wszystkich linii rozwojowych na bardzo różnych etapach rozwoju (44).

W medycynie weterynaryjnej ocena cytologiczna szpiku kostnego nie jest badaniem wykonywanym rutynowo. Zazwyczaj wykonuje się ją w przypadku istotnych odstępstw od wartości referencyjnych właściwych dla gatunku w badaniach morfologicznych w powiązaniu z badaniem biochemicznym krwi (po wykluczeniu przyczyn poza szpikowych). Ocena ta powinna być wykonywana w przypadkach, kiedy jej wynik w istotny sposób zmieni wiedzę lekarza weterynarii na temat stanu zdrowia zwierzęcia, pomoże ustalić rokowanie oraz sposób dalszego postępowania ze zwierzęciem.

Szpik kostny jest tkanką łączną płynną bardzo szybko reagującą na wpływy różnych substancji, zarówno wprowadzanych do organizmu zwierzęcia np. podczas terapii (np. witamina E, selen, symwastatyna) jak i przenikających do organizmu ze środowiska (np. bisfenol A).

Suplementacja witaminą E i selenem stosowana u przeżuwaczy chroni przed występowaniem stanów zapalnych wymienia, zatrzymaniem łożyska oraz znacznie łagodzi dolegliwości związane z już występującymi stanami zapalnymi gruczołu mlekowego (4, 12). Dodatek selenu i witaminy E do paszy powoduje wzrost liczby i aktywności fagocytarnej granulocytów obojętnochłonnych i makrofagów (25, 40). Witamina E jest ważnym, rozpuszczalnym w tłuszczach antyoksydantem, który chroni przed peroksydacją lipidową inicjowaną przez wolne rodniki (18, 43). Konsekwencji zdrowotnych stanów niedoborowych selenu jest bardzo wiele. Obserwowano między innymi zahamowanie migracji neutrofilów oraz zaburzenia rozmieszczenia receptorów na ich powierzchni. Wahania stężenia selenu i aktywności peroksydaz są ściśle związane z występowaniem stresu oksydacyjnego u ludzi i zwierząt, prowadząc do pogarszania się stanu zdrowia (16, 37). Co ciekawe, szczególnie u przeżuwaczy, istnieje ścisły związek pomiędzy tempem rozwoju i stopniem zaawansowania patologii w hematopoezie objawiającej się niedokrwistością w odniesieniu do stanów niedoborowych selenu (13, 31). Dowodzi to bezsprzecznie znaczącej roli selenoprotein w regulacji procesów hematopoetycznych. Wysoka aktywność peroksydazy glutationowej (GSH-Px) w osoczu, płytkach i erytrocytach odgrywa kluczową rolę w procesach hematopoezy (3, 6). Warte podkreślenia jest, że stany niedoborowe selenu i witaminy E w znaczącym stopniu sprzyjają lizie błon erytrocytów i powstawaniu methemoglobiny, co można przypisać wzrostowi wewnątrzkomórkowych form tlenu. Dotychczas jedynie u myszy przeprowadzono badania dowodzące bezsprzeczności wpływu związków selenu na aktywność procesów hematopoezy.

W dostępnym piśmiennictwie polskim i anglojęzycznym brakuje danych na temat wpływu suplementacji selenem i witaminą E na procesy hematopoezy u wolnożyjących przeżuwaczy i doniesień na temat oceny cytologicznej szpiku kostnego u tego gatunku zwierząt. Dlatego też celowym wydało się podjęcie tej trudnej tematyki badawczej.

Symwastatyna jest najlepiej poznaną statyną stosowaną u ludzi i zwierząt w celu zmniejszenia stężenia cholesterolu całkowitego i lipoprotein o małej gęstości (LDL) w surowicy (10, 11, 32, 33, 36). Jest ona naturalnym produktem metabolizmu grzyba *Aspergillus terreus* (14, 42). Symwastatyna w niewielkim stopniu usuwana jest przez nerki, dlatego też może być stosowana u pacjentów z niewydolnością nerek. Bezwzględny przeciwwskazaniem do jej stosowania są choroby wątroby oraz mięśni szkieletowych. W niektórych przypadkach w przebiegu leczenia z użyciem statyn obserwowano w wynikach badań laboratoryjnych występowanie niedokrwistości, spadek liczby płytek krwi, a nieznacznego stopnia leukocytoza powodowana była wzrostem liczby eozynofili (1, 8, 22). Interesującym wydaje się sprawdzenie, czy zmiany w wynikach badań hematologicznych w trakcie podawania symwastatyny dotyczą tylko krwi obwodowej czy też zachodzą już na poziomie hematopoezy w szpiku kostnym (23, 24, 34, 35).

Celem stosowania statyn może być także zmniejszenie aktywności płytek krwi w procesach formowania skrzepu u pacjentów z hipercholesterolemią (27, 28, 29). Płytki krwi odgrywają bowiem kluczową rolę w procesach trombogenezy i biorą aktywny udział w progresji zmian miażdżycowych (2, 15). Stosowanie statyn w medycynie ludzkiej w znaczący sposób powoduje spadek średniej objętości płytki (MPV), co wpływa na osłabienie procesów formowania skrzepu (20, 26). W wielu doświadczeniach i badaniach wykorzystywany jest model świni jako najbardziej zbliżony do ludzkiego odnośnie zależności fizjologicznych i podobieństwa genetycznego (9). Znane są także podobieństwa pomiędzy człowiekiem i swinia w reakcjach organizmu na stany patologiczne (30). Dlatego podjęto decyzję o wykorzystaniu tego gatunku do własnych badań nad wpływem symwastatyny na procesy hematopoezy szpikowej.

Jedną z substancji powszechnie występujących w środowisku jest bisfenol A (BPA) (38, 41). Związek ten należy do grupy fenoli i wykazuje działanie podobne do działania syntetycznych niesterydowych związków chemicznych takich jak dietylostylbestrol (DES), wykazując nieco słabszą aktywność estrogenową (7, 17, 19).

Bisfenol A wchodząc w skład pojemników i butelek z tworzyw sztucznych, w których przechowywana jest żywność z łatwością dostaje się do organizmu i negatywnie wpływa na funkcjonowanie tkanek, narządów i układów powodując pogarszanie się stanu zdrowia ludzi i

zwierząt (21). Zmiany patologiczne najczęściej występują u osobników młodych i dotyczyć mogą każdego układu i tkanki (39). Poza tym, ciągle, coraz intensywniejsze zanieczyszczenie środowiska przez odpady z BPA generuje możliwość przenikania bisfenolu A do akwenów wodnych i ujęć wody pitnej zwiększając ryzyko ekspozycji na omawianą substancję zarówno u ludzi jak i u zwierząt gospodarskich i wolnożyjących. Przyjmuje się, że bisfenol A odgrywa ogromną rolę w inicjowaniu zmian towarzyszących astmie poprzez zaburzenie procesów regulowanych przez hormony steroidowe. Prowadząc do uszkodzenia komórek tucznych szpiku kostnego powoduje nadmierne wydzielanie histaminy i cysteinylu, co znacznie nasila objawy dysfunkcji układu oddechowego. Skutkiem tego jest upośledzenie prawidłowej wymiany gazowej u osobników z wcześniej rozwiniętą chorobą astmatyczną (5).

Toksyczność BPA polega również na indukowaniu procesów stresu oksydacyjnego w modelach zwierzęcych, powodując znaczne zmiany w funkcjonowaniu i morfologii komórek i tkanek. W związku ciągle rosnącym ryzykiem zanieczyszczenia środowiska zasadna wydawała się ocena tego, jaką rolę odgrywa bisfenol A w procesach hematopoetycznych u świni. Użycie świni jako zwierzęcia doświadczalnego stworzyło możliwość określenia działania BPA na procesy zachodzące w szpiku kostnym u zwierząt, a także ze względu na genetyczne podobieństwo wykorzystanie wyników w prawidłowej interpretacji wpływu BPA na organizm człowieka.

4.2.2. Materiały

Wszystkie badania przeprowadzono z zachowaniem obowiązujących w Polsce norm prawnych, uzyskując zgody na ich wykonanie od Lokalnej Komisji Etycznej na podstawie Uchwały nr 61/2011, Uchwały nr 61/2010W, oraz Uchwały nr 28/2013. Badania przeprowadzono na dwóch gatunkach zwierząt: danielach (*Dama dama*) z linii Pilsko-Litewskiej i świni domowej (*Sus scrofa domestica*).

Materiał do oceny cytologicznej stanowiły aspiraty szpiku kostnego barwione bezpośrednio po pobraniu metodą May-Grünwalda-Giemsy. Do pobrania materiału użyto igieł MDG o średnicy 18G (w przypadku danieli) oraz igieł biopsyjnych do aspiracji szpiku kostnego Jamshidi 16G (w przypadku świń). Ocenę cytologiczną szpiku kostnego przeprowadzono z wykorzystaniem sumatora hematologicznego (SH-96/24D, Alchem). Identyfikację komórek w rozmazach szpiku kostnego i krwi obwodowej oparto na cechach morfologicznych właściwych dla poszczególnych linii rozwojowych: wybarwienie cytoplazmy i jądra, struktura jądra, występowanie ziarnistości w cytoplazmie, zabarwienie

ziarnistości, stosunek jądra do cytoplazmy, występowanie jąderek, kształt i wielkość komórek. W szpiku kostnym liczone 1000 komórek wszystkich linii rozwojowych, a we krwi obwodowej liczone 100 komórek układu białokrwinkowego.

Pobranie materiału biopsyjnego poprzedzone było pobraniem krwi obwodowej do probówek z K₂EDTA (Vacuette) o pojemności 2 ml. Przy użyciu analizatora hematologicznego ADVIA 2120i wykonano badania morfologiczne. Rozmazy krwi obwodowej barwione metodą May-Grünwalda-Giemsy poddane zostały ocenie cytologicznej przy użyciu mikroskopu świetlnego.

W badaniach przeprowadzonych na danielach oprócz oceny cytologicznej rozmazów szpiku kostnego i krwi obwodowej, wykonano oznaczenie stężenia selenu i witaminy E zastosowano metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) przy użyciu chromatografu HP-1050 (Hewlett Packard).

Wszystkie badania laboratoryjne wykonane zostały w Katedrze Chorób Wewnętrznych z Kliniką Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie.

4.2.3. Omówienie publikacji cyklu z uwzględnieniem metodyki, wyników i osiągniętych celów naukowych

4.2.3.1. Publikacja pierwsza

Snarska A., Wysocka D., Rytel L., Żarczyńska K., Sobiech P., Gonkowski S. 2018. *The influence of selenium and vitamin E supplementation on cytological assessment of red blood cell line of bone marrow in fallow deer kept in captivity* Polish Journal of Veterinary Sciences 21(3), 431-436.

Pierwsza praca dotyczy oceny cytologicznej linii erytroblastycznej szpiku kostnego danieli (*Dama dama*) po suplementacji selenem i witaminą E. W przebiegu eksperymentu zwierzęta podzielone zostały losowo na 2 grupy :

- I grupa (eksperymentalna) - liczyła 10 zwierząt w wieku do 3 dni. Ta grupa danieli otrzymała domięśniowo selen i witaminę E w dawce 3 ml (tokoferol – 50 mg, selenin sodu – 0.5 mg w 1 ml);
- II grupa (kontrolna) - liczyła 10 zwierząt w wieku do 3 dni. Te zwierzęta nie otrzymały żadnej formy suplementacji;

Selen jest pierwiastkiem śladowym, słabo rozpowszechnionym w środowisku. W organizmach żywych wchodzi w skład około 35 białek nazywanych selenoproteinami, z których najistotniejszą jest peroksydaza glutationowa (GSH-Px).

Badaniom poddano 20 klinicznie zdrowych danieli obu płci z linii Pilsko-Litewskiej w wieku do 3 dni. Zwierzęta zostały podzielone losowo na dwie grupy w liczbie 10 sztuk w każdej. Daniele przydzielone do grupy eksperymentalnej otrzymały w dniu 0 selen i witaminę E w dawce 3 ml (tokoferol – 50 mg, selenin sodu – 0.5 mg, w 1 ml) w formie iniekcji domięśniowej.

Ocenie cytologicznej poddano rozmazy szpiku kostnego wybarwione metodą May-Grünwalda-Giemsy. W celu uzupełnienia wyników wykonanej oceny rozmazów szpikowych przeprowadzono także badania morfologiczne krwi obwodowej pobranej z żyły szyjnej zewnętrznej. W surowicy krwi obwodowej oznaczono także stężenie selenu i witaminy E oraz aktywność peroksydazy glutationowej.

Aby zminimalizować wpływ stresu na wartości ocenianych parametrów, zwierzęta zostały odłowione ze stada z wykorzystaniem siatek i poddane sedacji (0.9 mg/kg chlorowodoru ksylazyny, 1.1 mg/kg chlorowodoru tiletaminy i zolazepamu). Miejsce pobrania prób przygotowano zgodnie ze standardowymi procedurami chirurgicznymi. Próbkę krwi i szpiku pobierane były trzykrotnie: w dniu 0 (przed podaniem suplementu) oraz w dniach 15. i 25. po iniekcji suplementu.

Otrzymane wyniki badań dowodzą, że komórki linii erytroblastycznej szpiku kostnego w grupie doświadczalnej ulegały wybarwieniu zdecydowanie intensywniej niż te same komórki w grupie zwierząt nie otrzymujących suplementacji. Ocena cytologiczna rozmazów szpiku kostnego wykazała, że w grupie doświadczalnej nastąpił statystycznie istotny wzrost udziału procentowego proerytroblastów, erytroblastów zasadochłonnych, wielobarwnych i kwasochłonnych już w 15. dniu po suplementacji. Ponadto, w wynikach badań hematologicznych zwierząt z grupy doświadczalnej zaobserwowano statystycznie istotny wzrost stężenia hemoglobiny i liczby erytrocytów, a udział procentowy retikulocytów był wyraźnie wysoki. W 25. dniu trwania eksperymentu udział procentowy proerytroblastów i erytroblastów zasadochłonnych w grupie eksperymentalnej był istotnie wyższy w porównaniu z grupą kontrolną.

Tak wyraźne różnice w otrzymanych wynikach oceny cytologicznej rozmazów szpiku kostnego pomiędzy grupą kontrolną a doświadczalną są dowodem na stymulację procesu erytropoezy u zwierząt otrzymujących preparaty zawierające selen i witaminę E. Ma to bezpośrednie przełożenie na wzrost wartości parametrów krwi obwodowej ocenianych w

badaniach morfologicznych. Wyniki uzyskane w przeprowadzonym eksperymencie dowodzą, że selen i witamina E u młodych danieli wpływają stymulująco na proces erytropoezy na każdym etapie rozwoju erytrocytów już w 15. dniu po suplementacji.

Wart podkreślenia jest fakt, że jest to pierwsza i jak do tej pory jedyna publikacja na świecie opisująca zagadnienia dotyczące erytropoezy szpikowej u danieli (*Dama dama*).

4.2.3.2. Publikacja druga

Snarska A., Wysocka D., Rytel L., Gonkowski S., Pawelec H., Sobiech P. 2018 *Simvastatin-induced changes in the leukocytic system of porcine bone marrow* Journal of Veterinary Research 62(3), 329-333.

Druga publikacja dotyczy oceny cytologicznej komórek układu białokrwinkowego szpiku kostnego świń po doustnym podawaniu 40 mg symwastatyny przez 56 dni. W eksperymencie zwierzęta podzielone zostały losowo na dwie grupy:

- I grupa - liczyła 16 zwierząt. Te zwierzęta otrzymywały symwastatynę w dawce 40 mg *per os* w formie 1 tabletki raz dziennie przez 56 dni
- II grupa - liczyła 16 zwierząt. Te zwierzęta otrzymywały *per os* placebo w formie kapsułek żelatynowych przez cały okres trwania eksperymentu

Symwastatyna jest związkiem organicznym, pochodnym lowastatyny, powszechnie stosowanym w celu obniżenia stężenia cholesterolu u ludzi i zwierząt. Jak wiele środków farmaceutycznych wywołuje szereg działań korzystnych dla pacjenta jak i tych niepożądanych. Celem eksperymentu było wykazanie wpływu symwastatyny na procesy hematopoezy szpikowej u świń.

Badaniom poddano 32 klinicznie zdrowe loszki rasy Wielka Biała Polska o wadze 35-40 kg. Zwierzęta zostały podzielone losowo na dwie grupy, po 16 zwierząt w każdej.

Aspiraty szpiku kostnego pobierane były trzykrotnie: w dniu 0. (przed podaniem symwastatyny) oraz dniach 28. i 56. podawania symwastatyny. Ocenie cytologicznej poddano rozmazy szpiku kostnego wybarwione metodą May-Grünwalda-Giemsy. Miejsce pobrania prób przygotowano zgodnie ze standardowymi procedurami chirurgicznymi, a zwierzęta znieczulono przy użyciu 1.5 mg/kg chlorowodoru ksylazyny podanego domięśniowo i 2.2 mg/kg chlorowodoru tiletaminy i zolazepamu podanych domięśniowo.

Różnice w liczbie wszystkich komórek należących do linii granulocytarnej pomiędzy grupą kontrolną a eksperymentalną nie były statystycznie istotne w dniu 0. W dniach 28. i 56. trwania eksperymentu wpływ symwastatyny na procesy krwiotwórcze był wyraźnie zaznaczony. Polegał on na wzroście liczby komórek układu granulocytarnego. Najistotniejsze zmiany dotyczyły populacji promielocytów, których liczba u zwierząt eksperymentalnych była wielokrotnie wyższa niż w grupie kontrolnej. Mniejsze zmiany zaobserwowano w liczbie mieloblastów, mielocytów i metamielocytów. Co ciekawe, nie odnotowano znaczących różnic ilościowych w liczbie komórek linii granulocytarnej pomiędzy dniem 28. a 56. podawania symwastatyny.

Powyzsze badania dowodzą, że symwastatyna działa pobudzająco na proces granulopoezy w szpiku kostnym świń.

Wartym podkreślenia jest fakt, że istnieje niewiele publikacji podejmujących tematykę oceny cytologicznej szpiku kostnego u świń, a przedstawiona powyżej publikacja jest pierwszą w Polsce i na świecie, podejmującą tematykę wpływu symwastatyny na proces granulopoezy w szpiku.

4.2.3.3. Publikacja trzecia

Snarska A., Wysocka D., Rytel L., Makowska K., Gonkowski S. 2018. *Cytological evaluation of the influence of high and low doses of bisphenol A on an erythroblastic cell line of porcine bone marrow*. Journal of Veterinary Research 62 (4): 543-547.

Kolejna praca doświadczalna wchodząca w skład jednotematycznego osiągnięcia naukowego dotyczy oceny wpływu bisfenolu A na proces erytropoezy. Mając na uwadze powszechne występowanie bisfenolu A w środowisku, zasadnym wydawało się podjęcie badań mających na celu wykazanie wpływu tego związku na procesy hematopoetyczne.

W badaniu tym zwierzęta podzielono na trzy grupy:

- I grupa (kontrolna) - liczyła 5 zwierząt. Te zwierzęta otrzymywały *per os* placebo w formie kapsułek żelatynowych przez 28 dni;
- II grupa (eksperymentalna) - liczyła 5 zwierząt. Te zwierzęta otrzymywały *per os* w formie tabletek bisfenol A w dawce 0.05 mg/kg masy ciała przez 28 dni;
- III grupa (eksperymentalna) - liczyła 5 zwierząt. Te zwierzęta otrzymywały *per os* w formie tabletek bisfenol A w dawce 0.5 mg/kg masy ciała przez 28 dni;

Bisfenol A (BPA) to substancja, która jest powszechnie używana w przemyśle do produkcji poliwęglanów oraz żywic epoksydowych wykorzystywanych między innymi w produkcji opakowań i pojemników na napoje, soczewek kontaktowych, płyt CD, szyb okiennych. Związek ten należy do grupy polifenoli i ksenoestrogenów powszechnie występujących w środowisku. Wiedza na temat wpływu bisfenolu A na procesy hematopoetyczne, w tym na procesy erytropoezy szpikowej jest ciągle niewystarczająca, by ustrzec się przed jego niekorzystnym wpływem na nasze zdrowie. W dostępnym anglojęzycznym piśmiennictwie tematyka szkodliwego wpływu bisfenolu A na zdrowie ludzi i zwierząt cieszy się dużym zainteresowaniem, jednakże brakuje prac podejmujących tematykę wpływu bisfenolu A na procesy hematopoetyczne.

Doświadczenie miało na celu wykazanie, czy powszechnie uznawane za bezpieczne niewielkie, dopuszczalne dawki BPA (0.05mg/kg dziennie) powodują zmiany w erytropoezie szpikowej, oraz czy dziesięciokrotne przekroczenie tych dawek (0.5mg/kg dziennie) spowoduje zaburzenia hematopoezy.

Aspiraty szpiku kostnego pobierane były dwukrotnie: na początku eksperymentu (przed podaniem BPA) i w 28. dniu od rozpoczęcia podawania BPA. Ocenie cytologicznej poddano rozmazy szpiku kostnego wybarwione metodą May-Grünwalda-Giemsy. Miejsce pobrania prób przygotowano zgodnie ze standardowymi procedurami chirurgicznymi, a zwierzęta znieczulono przy użyciu 1.5 mg/kg chlorowodoru ksylazyny podanego domięśniowo i 2.2 mg/kg chlorowodoru tiletaminu i zolazepamu podanych domięśniowo. Krew do badań hematologicznych pobierana była dwukrotnie (na początku i końcu eksperymentu) do probówek z K₂EDTA o pojemności 2ml.

Otrzymane wyniki jednoznacznie świadczą o zmianie aktywności hematopoetycznej szpiku kostnego polegającej na spadku produkcji liczby komórek układu erytroblastycznego (TOTAL ERBL) w obydwu grupach. W grupie otrzymującej wyższe dawki BPA zauważalne było zaburzenie dojrzewania erytrocytów polegające na spadku udziału % erytroblastów i spadku w ocenianych rozmazach szpiku kostnego. W wynikach badań morfologicznych notowany był spadek średniej objętości krwinki czerwonej (MCV) co daje obraz anemii mikrocytarnej.

Przeprowadzone badania udowodniły szkodliwy wpływ zarówno wysokich jak i niskich dawek bisfenolu A na procesy erytropoezy.

Pomimo wielkiego zainteresowania świata naukowego wpływem powszechnie występującego BPA na organizmy żywe, brakowało prac opisujących wpływ tego związku na

procesy krwiotworzenia w szpiku. Dlatego zasadnym wydało się podjęcie tej trudnej a zarazem niezmiernie ważnej tematyki badawczej. Jest z niewielu prac na świecie opisująca zaburzenia procesów hematopoezy wskutek ekspozycji na wysokie i niskie dawki BPA. Ponadto wyniki tej pracy bezsprzecznie dowodzą potrzeby ponownej weryfikacji dopuszczalnych dawek BPA, ponieważ uznawane do tej pory za bezpieczne, niewielkie dawki BPA powodują zaburzenia erytropoezy.

4.2.3.4. Publikacja czwarta

Snarska A., Wysocka D, Rytel L.: Effect of simvastatin on the process of thrombopoiesis in porcine bone marrow. *Journal of Veterinary Research* 63(1), 117-122 DOI:10.2478/jvetres-2019-0007

Ostatnia praca przedstawia wyniki doświadczenia mającego na celu określenie wpływu symwastatyny na procesy trombopoezy zachodzące w szpiku kostnym świni domowej.

W badaniu tym zwierzęta podzielono na dwie grupy:

- I grupa - liczyła 16 zwierząt. Te zwierzęta otrzymywały symwastatynę w dawce 40 mg *per os* w formie 1 tabletki raz dziennie przez 56 dni;
- II grupa - liczyła 16 zwierząt. Te zwierzęta otrzymywały *per os* placebo w formie kapsułek żelatynowych przez okres trwania eksperymentu;

Symwastatyna to naturalny metabolit grzyba *Aspergillus terreus*, który jest stosowany u ludzi i zwierząt w celu obniżenia poziomu cholesterolu całkowitego (TC) w surowicy i lipoprotein o małej gęstości (LDL). Substancje z grupy statyn są stosowane na całym świecie w celu zmniejszenia aktywności płytek krwi w procesach tworzenia skrzepów u pacjentów z hipercholesterolemią. Płytki krwi odgrywają kluczową rolę w powstawaniu skrzepów krwi i aktywnie uczestniczą w progresji zmian miażdżycowych. Stosowanie statyn w leczeniu ludzi znacząco wpływa na zmianę średniej objętości płytek krwi (MPV), co wpływa na osłabienie tworzenia się skrzepów. Celem przeprowadzonych badań było sprawdzenie w jaki sposób symwastatyna wpływa na powstawanie płytek na etapie trombopoezy w szpiku kostnym oraz jak ten wpływ przekłada się na wskaźniki płytkowe w badaniu hematologicznym krwi.

Do badań jako zwierzęcia modelowego użyto świni domowej ze względu na jej duże podobieństwo fizjologiczne i genetyczne do modelu ludzkiego.

Badania przeprowadzono na 32 loszkach rasy Wielka Biała Polska o wadze 35-40 kg, podzielonych losowo na dwie równe grupy: doświadczalną- otrzymującą *per os* symwastatynę w dawce 40 mg *per os* w formie 1 tabletki raz dziennie przez 56 dni oraz kontrolną- otrzymującą *per os* placebo w formie kapsułek żelatynowych przez okres trwania eksperymentu. Próbkę krwi oraz szpiku kostnego pozyskano trzykrotnie w czasie trwania doświadczenia: przed rozpoczęciem podawania symwastatyny (0) oraz 28. i 56. dnia od rozpoczęcia eksperymentu. Pobrany materiał został poddany badaniom morfologicznym (krew pełna) oraz ocenie cytologicznej (rozmaży krwi pełnej i szpiku kostnego wybarwione metodą May-Grünwalda-Giemsy). Miejsce pobrania prób przygotowano zgodnie ze standardowymi procedurami chirurgicznymi, a zwierzęta znieczulono przy użyciu 1.5 mg/kg chlorowodorku ksylazyny podanego domięśniowo i 2.2 mg/kg chlorowodorku tiletaminy i zolazepamu podanych domięśniowo.

Podczas trwania eksperymentu liczba płytek krwi (PLT) i średnia objętość płytki (MPV) były wyższe w grupie kontrolnej niż w grupie eksperymentalnej, lecz nie były to różnice statystycznie istotne. Ocena cytologiczna szpiku kostnego wskazała statystycznie istotne różnice polegające na spadku udziału procentowego promegakariocytów na każdym etapie doświadczenia. Różnice w liczbie i udziale procentowym pozostałych komórek tej linii nie były statystycznie istotne.

Wyniki uzyskane podczas eksperymentu wskazały, że symwastatyna osłabia aktywność procesu trombopoezy szpikowej na etapie promegakariocytów.

4.2.4. Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone badania miały na celu wykazanie wpływu wymienionych substancji na procesy hematopoezy szpikowej u zwierząt. Wszystkie badania laboratoryjne wykonane zostały w Katedrze Chorób Wewnętrznych z Kliniką UWM w Olsztynie. Na podstawie uzyskanych wyników badań z opisanego cyklu publikacji nasuwają się następujące wnioski i spostrzeżenia:

1. Suplementacja selenem i witaminą E u młodych zwierząt (*Dama dama*) istotnie wpływa na pobudzenie procesów erytropoezy już w 15 dniu od rozpoczęcia suplementacji.

2. Wpływ symwastatyny na proces granulopoezy u świń jest bezsprzeczny i skutkuje wzrostem udziału procentowego komórek układu granulocytarnego na każdym etapie ich rozwoju.
3. Bisfenol A, substancja występująca powszechnie w środowisku odgrywa ogromną rolę w procesie hematopoezy szpikowej powodując zdecydowane spowolnienie i osłabienie procesu erytropoezy.
4. Stosowanie nawet niskich dawek bisfenolu A skutkuje powstawaniem anemii mikrocytarnej.
5. Symwastatyna osłabia aktywność procesu trombopoezy szpikowej na etapie promegakariocytów.

4.2.5. Piśmiennictwo

1. Al-Ani B.: Simvastatin inhibits neutrophil degranulation induced by anti-neutrophil cytoplasm auto-antibodies and N-formylmethionine-leucine-phenylalanine (fMLP) peptide. *Saudi Med J* 2013, 34, 477–483
2. Al-Rasheed N.M., Al-Rasheed N.M., Hasan I.H., Al-Ajmi H.N., Mohamad R.A., Mahmoud A.M.: Simvastatin ameliorates diabetic cardiomyopathy by attenuating oxidative stress and inflammation in rats. *Oxid Med Cell Longev* 2017, doi: 10.1155/2017/1092015.
3. Arthur JR (2000) The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci* 57: 1825-1835.
4. Bickhardt K, Ganter M, Sallmann P, Fuhrmann H (1999) Investigations on manifestations of vitamin E and selenium deficiency in sheep and goats. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 106: 242-247.
5. Boyce J.A.: The role of mast cells in asthma. *Prostagland Leukotr Essen Fatty Acids* 2003, 69, 195–205.
6. Canli Ö, Alankus YB, Grootjans S, Vegi N, Hültner L, Hoppe PS, Schroeder T. Vandenberghe P, Bornkamm GW, Greten FR (2015) Glutathione peroxidase 4 prevents necroptosis in mouse erythroid precursors. *Blood* 127: 139-148.
7. Cavalieri E.L., Rogan E.G.: Is Bisphenol A a weak carcinogen like the natural estrogens and diethylstilbestrol? *IUMB Life* 2010, 62, 746–751.
8. Chello M., Anselmi A., Spadaccio C., Patti G., Goffredo C., Di Sciascio G., Covino E.: Simvastatin increases neutrophil apoptosis and reduces inflammatory reaction after coronary surgery. *Ann Thorac Surg* 2007, 83, 1374–1380.

9. Cone S.G, Warren P.B., Fisher M.B. 2017. Rise of the Pigs: Utilization of the Porcine Model to Study Musculoskeletal Biomechanics and Tissue Engineering During Skeletal Growth. *Tissue Eng Part C Methods*. 23 (11): 763-780.
10. Fathi H.A., Allam A., Elsabahy M., Fetih G., El-Badry M.: Nanostructured lipid carriers for improved oral delivery and prolonged antihyperlipidemic effect of simvastatin. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2017, 28, 236–245.
11. Gaddam V., Li D.Y., Mehta J.L.: Anti-thrombotic effects of atrovastatin- an effect unrelated to lipid lowering. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2002, 7, 247–253.
12. Hoffman PR (2007) Mechanisms by which selenium influences immune responses. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 55: 289-297.
13. Hollenbach B, Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A, Kohrle J, Schomburg L (2008) New assay for the measurement of selenoprotein P as a sepsis biomarker from serum. *J Trace Elem Med Biol* 22: 24-32.
14. Huang X., Liang Y., Yang Y., Lu X.: Single-step production of the simvastatin precursor monacolin J by engineering of an industrial strain of *Aspergillus terreus*. *Metab Eng* 2017, 42, 109–114.
15. Jenne C.N., Kubes P.: Platelets in inflammation and infection. *Platelets* 2015, 26, 286–292.
16. Kamada H, Nonaka I, Ueda Y, Murai M (2007) Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin G absorption by newborn calves. *J Dairy Sci* 90: 5665-5670.
17. MacLusky N.J., Hajszan T., Leranath C.: The environmental estrogen bisphenol A inhibits estradiol-induced hippocampal synaptogenesis. *Environ Health Perspect* 2005, 113, 675–679.
18. Maggini S, Wintergerst ES, Beveridge S, Hornig DH (2007) Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses *Br J Nutr* 98 (Suppl 1): S29-S35.
19. Maffini M.V., Rubin B.S., Sonnenschein C., Soto A.M.: Endocrine disruptors and reproductive health: the case of bisphenol-A. *Mol Cell Endocrinol* 2006, 254–255, 179–186.
20. Martin J.F., Trowbridge E.A., Salmon G., Plumb J.: The biological significance of platelet volume: its relationship to bleeding time, thromboxane B2 production and megakaryocyte nuclear DNA concentration. *Thromb Res* 1983, 443–460.

21. Matsushima A., Kakuta Y., Teramoto T., Koshihara T., Liu X., Okada H., Tokunaga T., Kawabata S., Kimura M., Shimohigashi Y.: Structural evidence for endocrine disruptor bisphenol A binding to human nuclear receptor ERR α . *J Biochem* 2007, 142, 517–524.
22. Namazi M.R., Handjani F., Sodaifi M.: The potential utility of statins as novel weapons against graft-versus-host disease. *Med Hypotheses* 2005, 65, 1203–1204.
23. Newman A., Clutterbuck R.D., Powles R.L., Chan J., Chen D., Rossini G., Boyce B., Zhao M., Gutierrez G.: Selective inhibition of primary acute myeloid leukaemia cell growth by simvastatin. *Leukemia* 1994, 8, 2023–2029.
24. Newman A., Clutterbuck R.D., Powles R.L., Millar J.L.: Selective inhibition of primary acute myeloid leukaemia cell growth by lovastatin. *Leukemia* 1994, 8, 274–280.
25. Nuttall KL (2006) Evaluating of selenium poisoning. *Ann Clin Lab Sci* 36: 409-420.
26. Owens A.P. 3rd, Mackman N.: The antithrombotic effects of statins. *Annu Rev Med* 2014, 65, 433–445.
27. Puccetti L., Pasqui A.L., Auteri A., Bruni F.: Mechanisms for antiplatelet action of statins. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 2005, 5, 121–126.
28. Puccetti L., Pasqui A.L., Pastorelli M., Bova G., Cercignani M., Palazzuoli A., Angori P., Auteri A., Bruni F.: Time-dependent effect of statins on platelet function in hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest* 2002, 32, 901–908.
29. Rodriguez A.L., Wójcik B.M., Wróblewski S.K., Myers D.D. Jr, Wakefield T.W., Diaz J.A.: Statins, inflammation and deep vein thrombosis: a systematic review. *J Thromb Thrombolysis* 2012, 33, 371–382.
30. Rubessa M., Polkoff K., Bionaz M., Monaco E., Milner D.J., Hollister S.J., Goldwasser M.S., Wheeler M.B. (2017) Use of Pig as a Model for Mesenchymal Stem Cell Therapies for Bone Regeneration. *Anim Biotechnol.* 28(4):275-287.
31. Semba RD, Ricks MO, Ferrucci L, Xue QL, Guralnik JM, Fried LP (2009) Low serum selenium is associated with anemia among older adults in the United States. *Eur J Clin Nutr* 63: 93-99.
32. Sikora J., Kostka B., Marczyk I., Krajewska U., Chałubiński M., Broncel M.: Effect of statins on platelet function in patients with hyperlipidemia. *Arch Med Sci* 2013, 9, 622–628.

33. Sivri N., Tekin G., Yalta K., Aksoy Y., Senen K., Yetkin E.: Statins decrease mean platelet volume irrespective of cholesterol lowering effect. *Kardiol Pol* 2013, 71, 1042–1047.
34. Slawinska A., Kandefer-Szerszen M.: The anticancer properties of statins. *Postępy Hig Med Dosw* 2008, 62, 393–404.
35. Snarska A., Gonkowski S., Rytel L., Pomianowski A., Babińska I., Otrocka-Domagala I., Żarczyńska K., Wysocka D., Sobiech P.: Influence of simvastatin on red blood cell line in porcine bone marrow. *Pol J Vet Sci* 2017, 20, 811–814.
36. Sukpat S., Isrrasena N., Patumraj S.: Pleiotropic effects of simvastatin on wound healing in diabetic mice. *J Med Assoc Thai* 2016, 99, 213–219.
37. Tinggi U (2003) Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review *Toxicol Lett* 137: 103-110.
38. Tiwari D., Kamble J., Chilgunde S., Patil P., Maru G., Kawle D., Bhartiya U., Joseph L., Vanage G.: Clastogenic and mutagenic effects of Bisphenol A: an endocrine disruptor. *Mutat Res* 2012, 743, 83–90.
39. Tiwari D., Vanage G.: Bisphenol A induces oxidative stress in bone marrow cells, lymphocytes, and reproductive organs of Holtzman rats. *Int J Toxicol* 2017, 36, 142–152.
40. Whanger P, Vendeland S, Park YC, Xia Y (1996) Metabolism of sub-toxic levels of selenium in animals and humans. *Ann Clin Lab Sci* 26: 99–113.
41. Vandenberg L.N., Hauser R., Marcus M., Olea N., Welshons W.V.: Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol* 2007, 24, 139–177.
42. Vilimanovich U., Bosnjak M., Bogdanovic A., Markovic I., Isakovic A., Kravic-Stevovic T., Mircic A., Trajkovic V., Bumbasirevic V.: Statin-mediated inhibition of cholesterol synthesis induces cytoprotective autophagy in human leukemic cells. *Eur J Pharmacol* 2015, 15, 415–428.
43. Yang DY, Chang CJ, Peh HC, Chen MT (2004). Anti-peroxidation effects of vitamin E on low density lipoprotein and milk fat globule membrane of lactating goats: in vivo versus metal ion challenge in vitro. *Comp Biochem Physiol A* 139: 11-20.
44. Yu VW, Scadden DT. (2016). Heterogeneity of the bone marrow niche. *Curr Opin Hematol.* 23(4): 331-338.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora

Podczas realizacji studiów doktoranckich brałam czynny udział w pracach badawczych prowadzonych w Katedrze Parazytologii, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie, których efektem było powstanie kilku prac dotyczących inwazji pasożytniczych u koników polskich. Tematyka tych prac obejmowała problemy dotyczące prawidłowej diagnostyki i terapii chorób pasożytniczych.

Koniki polskie są zwierzętami niezwykle odpornymi na różnego rodzaju choroby w tym choroby układu pokarmowego i oddechowego. Zwierzęta te przez cały rok przebywają na świeżym powietrzu, co wyraźnie wskazuje na ich doskonałe przystosowanie do warunków klimatycznych Puszczy Piskiej (**praca 5.1.1**). Spośród problemów dermatologicznych występujących u koników polskich na pierwszy plan wysuwają się uszkodzenia skóry takie jak zadrapania, otarcia, ugryzienia i ślady po uszkodzeniach wynikające z silnych kopnięć.

Rozważając zalety zdrowotne koników polskich zwrócono uwagę na inwazje ślupkowców, glist i tasiemców, a także na inwazje gza żołądkowo-jelitowego, kleszczy, muchówek, jusznic, bąków, ślepaków i komarów. Przeprowadzone badania dowiodły, że nawet dwukrotne odrobaczanie tych zwierząt w ciągu roku (kwiecień i grudzień) nie zlikwidowało inwazji ślupkowców i glist (**praca 5.1.2**). W grupie zwierząt młodych i klaczy ze źrebiętami odnotowano największą liczbę jaj gza żołądkowo-jelitowego na włosach po przyśrodkowej stronie stawu nadgarstkowego i pęcín. W wyniku licznych obserwacji zwierząt na pastwiskach dowiedziono, że w grupie źrebiąt ssących największy wzrost liczby jaj składanych w okolicy pęcín nastąpił w okresie siedmiu dni (**praca 5.1.3**).

Inwazje pasożytów wewnętrznych są powszechnym problemem u dorosłych koników polskich i ich źrebiąt. Większość z nich dotknięta jest inwazją nicieni z rodziny *Strongylidae*, *Parascaris* oraz *Strongyloides*. Wolnożyjące koniki polskie w zdecydowanie większym stopniu dotknięte są inwazją ślupkowców niż koniki z chowu alkierzowego i konie robocze. Analiza otrzymanych wyników wskazuje, że problemem jest obecność jaj i larw w stajniach, na wybiegach i pastwiskach gdzie zwierzęta te przebywają całą dobę od wczesnej wiosny do późnej jesieni (**praca 5.1.4**).

Celem kolejnych badań dotyczących wolnożyjących koników polskich była ocena zarażenia wolno żyjących koników polskich pasożytami wewnętrznymi w różnych grupach wiekowych oraz ocena liczebności występowania jaj gza *Gasterophilus intestinalis* na sierści u klaczy, źrebiąt ssących oraz klaczek i ogierków koników polskich w cyklu rocznym (praca 5.1.5).

Przeprowadzone i opisane badania dowiodły, że koniki polskie niezależnie od płci i wieku dotknięte są inwazją gza *Gasterophilus intestinalis*. Wart podkreślenia jest jednak fakt, że nawet bardzo liczne inwazje pasożytów wewnętrznych i zewnętrznych nie powodują znacznego pogorszenia się stanu zdrowia tych zwierząt zarówno pod względem oceny stanu zwierzęcia w podstawowym badaniu klinicznym jak i w badaniach laboratoryjnych.

Wykaz publikacji z tego okresu zamieszczono poniżej:

5.1.1. Romaniuk K., Jaworski Z., **Snarska A.** 2001. Występowanie pasożytów wewnętrznych u koników polskich z chowu leśnego. Med. Weter. 57: 204-206.

5.1.2. Romaniuk K., Jaworski Z., **Snarska A.** 2002. Dynamika inwazji nicieni z rodziny *Strongylidae* u koników polskich i ich źrebiąt. Med. Weter. 58: 467-469.

5.1.3. Romaniuk K., **Snarska A.** 2002. Występowanie jaj gza *Gasterophilus intestinalis* u klaczy, źrebiąt ssących oraz klaczek i ogierków koników polskich. Med. Weter. 58: 641-643.

5.1.4. Romaniuk K., Jaworski Z., Golonka M., **Snarska A.** 2003. Występowanie i dynamika inwazji pasożytów wewnętrznych u koników polskich z chowu wolnego. Med. Weter. 59: 617-619 .

5.1.5. Romaniuk K., **Snarska A.** 2001. Gasterofiloza koni. Magazyn Wet., 10 (57): 8-10.

5.2. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych moje zainteresowania naukowe i kliniczne skupiły się na ocenie cytologicznej szpiku kostnego u różnych gatunków zwierząt, diagnostyce zaburzeń koagulologicznych, chorób biegunkowych u cieląt, zaburzeń

równowagi kwasowo-zasadowej i chorób pasożytniczych oraz wpływie mikro i makroelementów na stan zdrowia zwierząt.

5.2.1. Badania dotyczące chorób pasożytniczych

Prace podejmujące tematykę inwazji pasożytniczych u koników polskich były kontynuacją założeń mojej pracy doktorskiej.

W pracach tych opisane zostały odstępstwa w wynikach badań laboratoryjnych u koników polskich powstałe wskutek naturalnej inwazji gza *Gasterophilus intestinalis*. Wyniki badań dowiodły, że inwazja gzów powoduje niedokrwistość objawiającą się spadkiem stężenia hemoglobiny i wartości liczby hematokrytowej oraz leukopenię. Przeprowadzone badania wykazały, że w pierwszym okresie inwazji gza wzrasta aktywność fosfatazy zasadowej, która powraca do normy w okresie dojrzewania larw III stadium. Zawartość większości pierwiastków mineralnych (Na, K, Ca i Pin) w okresie pełnego rozwoju larw gza wykazywała tendencję spadkową.

Przystosowanie koników polskich do warunków naturalnych oraz ich wyjątkowa odporność na patogeny, w tym i na inwazje larw gza, nie powoduje klinicznych objawów chorobowych.

Wykaz publikacji dotyczących tej tematyki:

5.2.1.1. Snarska A., Romaniuk K. 2005. Zmiany biochemiczne krwi koników polskich w przebiegu gasterofilozy. *Med. Wet.*, 61(4): 455-457.

5.2.1.2. Snarska A., Romaniuk K. 2005. Zmiany hematologiczne krwi koników polskich zakażonych gzem *Gasterophilus intestinalis*. *Med. Wet.*, 61(5): 514-517.

5.2.2. Badania dotyczące zaburzeń krzepnięcia

Problematyka zaburzeń krzepnięcia stała się jednym z obszarów moich zainteresowań badawczych.

Badania profilu układu krzepnięcia u krów z lewostronnym przemieszczeniem trawieńca wykazały powstawanie syndromu wewnętrznego wykrzepiania (DIC). Określenie stopnia zaawansowania tych zmian ma bardzo istotne znaczenie w prognozowaniu przebiegu, czasu trwania i zakończenia procesu chorobowego. Dzięki prawidłowej diagnostyce zaburzeń

koagulologicznych istnieje możliwość (w zależności od stopnia zaburzeń aktywności układu krzepnięcia) kwalifikacji poszczególnych zwierząt do przeprowadzenia chirurgicznej repozycji przemieszczonego trawieńca i przewidzenia mogących pojawić się komplikacji oraz skutecznego im przeciwdziałania. Badania koagulologiczne obejmowały oznaczenie czasu trombinowego (TT), czasu protrombinowego (PT), czasu częściowo aktywowanej tromboplastyny (APTT), D-dimerów, aktywności antytrombiny III (AT III) oraz liczby płytek krwi (PLT). Wyniki badań jednoznacznie dowiodły, że lewostronne przemieszczenie trawieńca niesie za sobą poważne ryzyko występowania zespołu wewnątrznaczyniowego wykrzepiania (DIC), będącego przyczyną upadków zwierząt. W badaniach tych brałam aktywny udział wykonując część oznaczeń laboratoryjnych. Opisywane zagadnienie stało się tematem pracy oryginalnej (5.2.2.1.)

Kolejna publikacja podejmująca tematykę zaburzeń krzepnięcia u zwierząt dotyczy zmian w gospodarce kwasowo-zasadowej u cieląt w przebiegu biegunek. Celem badań w podjętym projekcie badawczym było wykazanie związku pomiędzy zaburzeniami równowagi kwasowo-zasadowej a zaburzeniami krzepnięcia u nowonarodzonych cieląt z wyraźną biegunką. Badania obejmowały oznaczenie we krwi żyłnej pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻, BE, O₂SAT, ctCO₂ oraz elektrolitów (K⁺, Na⁺, Cl⁻). Badania koagulologiczne obejmowały oznaczenie czasu trombinowego (TT), czasu protrombinowego (PT), czasu częściowo aktywowanej tromboplastyny (APTT), stężenia fibrynogenu, D-dimerów, aktywności antytrombiny III (AT III) oraz liczby płytek krwi (PLT). Uzyskane wyniki wykazały, że u cieląt z niewyrównaną kwasocią metaboliczną występują zdecydowane zaburzenia krzepnięcia związane z przedłużeniem czasu trombinowego i czasu częściowo aktywowanej tromboplastyny. W grupie cieląt z biegunką liczba płytek krwi była wyższa, notowano u nich wzrost aktywności AT III i stężenia D-dimerów. Otrzymane wyniki badań pozwalają przypuszczać, że w grupie cieląt biegunkowych rozwinię się zespół wewnątrznaczyniowego wykrzepiania. Mój udział w powstaniu publikacji polegał na wykonaniu oznaczeń koagulologicznych i oznaczeń równowagi kwasowo-zasadowej. Wyniki badań przedstawione zostały w publikacji: 5.2.2.2.

Kolejna praca badawcza (5.2.2.3.), której jestem współautorem dotyczyła powstawania zaburzeń koagulologicznych u bydła rasy holsztyńsko-fryzyjskiej podczas infekcji *Chlamydia spp.* w Kazachstanie. Badania koagulologiczne obejmowały oznaczenie czasu trombinowego (TT), czasu protrombinowego (PT), czasu częściowo aktywowanej tromboplastyny (APTT), stężenia fibrynogenu, D-dimerów, aktywności antytrombiny III (AT III) oraz liczby płytek krwi (PLT) i liczby krwinek białych (WBC). Wyniki badań wskazały,

że w grupie zwierząt zainfekowanych nastąpił spadek PT i APTT, przy zdecydowanym wzroście aktywności AT III. Otrzymane wyniki badań pozwalają przypuszczać, że infekcje *Chlamydia spp.* mogą generować ryzyko powstawania skrzepów i zwiększać możliwość powstawania zaburzeń krzepnięcia w przebiegu DIC.

Wykaz publikacji dotyczących tej tematyki:

5.2.2.1. Sobiech P., Radwińska J., Krystkiewicz W., Snarska A., Stopyra A. 2008 Changes in the coagulation profile of cattle with left abomasal displacement. Polish Journal of Veterinary Sciences 11: 301-306.

5.2.2.2. Sobiech, P., Rękawek, W., Ali, M., Targoński, R., Żarczyńska, K., Snarska A., Stopyra, A. 2013. Changes in blood acid-base balance parameters and coagulation profile during diarrhea in calves. Pol. Jour. Of Vet. Scienc. 16(3): 543-549.

5.2.2.3. Sobiech P., Radwińska J., Targoński R., Eleusizowa A., Tuyakova R., Żarczyńska K., Mitura A., Snarska A. 2017. Changes of the blood coagulation system of Holstein-Friesian heifers during the course of chlamydiosis. Veterinarski Arhiv 87(1): 25-33.

5.2.3. Ocena cytologiczna szpiku kostnego

Kolejne prace badawcze w których jestem pierwszym autorem dotyczą oceny cytologicznej szpiku kostnego u krów rasy holsztyńsko-fryzyskiej.

Wart podkreślenia jest fakt, że są to pierwsze w Polsce badania, które podejmują tematykę oceny cytologicznej szpiku kostnego u przeżuwaczy. W oryginalnej pracy **5.2.3.1.** przedstawiono wyniki oceny cytologicznej szpiku kostnego krów rasy holsztyńsko-fryzyskiej, u których stwierdzono zakażenie wirusem BVDV. Celem przeprowadzonych badań było wykazanie zaburzeń hematopoezy u krów z klinicznymi objawami BVD/MD. Otrzymane wyniki oceny cytologicznej szpiku kostnego wyraźnie wskazały, że zakażenie wirusem BVDV powoduje spowolnienie i osłabienie procesów hematopoezy polegające na spadku udziału procentowego komórek szeregu erytoblastycznego i komórek wszystkich linii rozwojowych układu białokrwinkowego i płytkotwórczego.

Tematyka dwóch kolejnych oryginalnych prac badawczych (**5.2.3.2. i 5.2.3.3.**) dotyczy oceny cytologicznej komórek szpiku kostnego krów. Ocena cytologiczna rozmazów szpiku

pozwoili na wykazanie subtelnych rónic w morfologii komórek tego gatunku zwierząt w porównaniu do tych samych komórek u innych gatunków.

Cytologiczna ocena rozmazów szpiku kostnego danieli jest rzadkością w weterynarii. W Polsce i na świecie sà to pierwsze badania opisujàce zagadnienia dotyczàce hematopoezy u tego gatunku. Praca badawcza 5.2.3.4., której jestem autorem i autorem korespondencyjnym została poświęcona cytologicznej ocenie rozmazów szpiku kostnego ciążarnych danieli ze szczególnym uwzględnieniem linii megakariocytowej i ocenie parametrów krzepnięcia takich jak: oznaczenie czasu trombinowego (TT), czasu protrombinowego (PT), czasu częściowo aktywowanej tromboplastyny (APTT), stężenia fibrynogenu, D-dimerów, aktywności antytrombiny III (AT III) oraz liczby płytek krwi (PLT). Badania przeprowadzone zostały w dwóch równych grupach zwierząt liczących po 10 sztuk w każdej. Otrzymane wyniki badań wskazały, że liczba płytek krwi w grupie ciążarnych danieli była niższa niż w grupie kontrolnej przy podobnej liczbie komórek tej linii ocenianych w rozmazach szpiku kostnego. Analiza parametrów koagulologicznych wykazała wzrost stężenia fibrynogenu, czasu trombinowego, protrombinowego i czasu częściowo aktywowanej tromboplastyny w grupie samic ciążarnych. Wyniki badań pozwalają domniemywać, że u ciążarnych danieli pomimo spadku liczby trombocytów dochodzi do aktywizacji procesów krzepnięcia.

Wyniki oceny cytologicznej rozmazów szpiku kostnego danieli ujęte w publikacji 5.2.3.5. pozwalają przypuszczać, że pomimo takich samych etapów dojrzewania komórek poszczególnych linii rozwojowych udział procentowy poszczególnych komórek na kolejnych etapach dojrzewania jest nieco odmienny u danieli niż u innych przeżuwaczy, na przykład u bydła.

Kolejnym tematem mojej pracy badawczej stała się ocena cytologiczna szpiku kostnego świń (praca 5.2.3.6.). Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu standardowych dawek symwastatyny na procesy erytropoezy szpikowej u tego gatunku. Ocena cytologiczna rozmazów szpiku kostnego udowodniła, że relatywnie krótkie stosowanie symwastatyny ma istotny wpływ na powstawanie anemii mikrocytarnej, co widoczne było w wynikach badań laboratoryjnych krwi obwodowej.

Wykaz publikacji dotyczących tej tematyki:

5.2.3.1. Snarska A. Krystkiewicz W., Żarczyńska K., Rękawek W., Sobiech P., Radwińska J.: Ocena szpiku kostnego bydła rasy holsztyńsko-fryzyjskiej w przebiegu zakażenia wirusem BVDV. *Med. Weter.* 2013 (69), 187-190.

5.2.3.2. Snarska A. Krystkiewicz W., Sobiech P., Żarczyńska K., Rękawek W., Stopyra A.: Assessment of erythroblastic cells in the bone marrow of healthy Holstein- Friesian cows. Med. Weter.. 2013 (69),540-542

5.2.3.3. Snarska A., Krystkiewicz W., Rękawek W.: Assessment of leukocytes in the bone marrow of healthy Holstein- Friesian cows. Med. Weter.. 2013 (69), 674-677

5.2.3.4. Snarska A., Sobiech P.: Evaluation of bone marrow with particular consideration of the megakaryocyte lineage and coagulation profile in pregnant fallow deer (*Dama dama*). Pol. Jour. of Vet. Scienc. Vol.19, No. 2 (2016), 359-364.

5.2.3.5. Snarska A., Pomianowski A., Sobiech P., Gonkowski S., Lew M., Drażek M., Żarczyńska K., Wysocka D., Rytel L., Stopyra A. 2017. Evaluation of bone marrow in female fallow deer kept in captivity Med. Weter. 73(9): 544-548

5.2.3.6. Snarska A., Gonkowski S., Rytel L., Pomianowski A., Babińska I., Otrocka-Domagała I., Żarczyńska K., Wysocka D., Sobiech P. 2017. Influence of simvastatin on red blood cells line in the porcine bone marrow Pol J Vet Sci. Vol. 20, No. 4 (2017), 743–746.

5.2.4. Wpływ mikro- i makroelementów na zdrowie przeżuwaczy

Kolejnym punktem zainteresowania w przebiegu mojej kariery zawodowej był wpływ mikro i makroelementów na stan zdrowia przeżuwaczy. Aktywnie uczestniczyłam w wielu badaniach, których owocem był szereg publikacji poruszających tę tematykę.

Zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej i wodno-elektrolitowej oraz zmiany stężenia wskaźników mineralnych surowicy w przebiegu pokarmowej dystrofii mięśni cieląt zostały opisane w publikacji **5.2.4.1.** Na podstawie opublikowanych wyników można stwierdzić, że pokarmowa dystrofia mięśni u cieląt przebiega z zaburzeniami równowagi kwasowo-zasadowej i gospodarki wodno-elektrolitowej objawiającymi się niewyrównaną kwasicyą metaboliczną i hiperkaliemią. W przebiegu pokarmowej dystrofii mięśni cieląt nie obserwuje się istotnych zmian w stężeniu wapnia i fosforu w surowicy.

Kolejna praca (**5.2.4.2.**) porusza tematykę wpływu jednokrotnej, domięśniowej suplementacji Se krowom będącym w późnym okresie ciąży na stężenie selenu i żelaza u ich

potomstwa, jak również na status immunologiczny tych cieląt wyrażony stężeniem IgG oraz aktywnością GGTP. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że jednokrotna iniekcja preparatów selenowych krowom przed porodem przyczynia się do poprawy transferu biernego z matki na cielę.

Celem kolejnej pracy (5.2.4.3.) było określenie wpływu suplementacji witaminy E i selenu na wybrane parametry biochemiczne u krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej w okresie przejściowym. Parametrami biochemicznymi oznaczanymi w surowicy były: białko całkowite (TP), glukoza (GLU), cholesterol (CHOL), trójglicerydy (TG), niezestryfikowane kwasy tłuszczowe (NEFA), beta hydroksymaślan (BHB). Poza wymienionymi parametrami ocenie poddano stężenie selenu i witaminy E, aktywność gamma-glutamylotranspeptydazy (GGTP) i aktywność peroksydazy glutationowej. Wyniki badań dowiodły, że aktywność AST, GGTP była wyższa w dniu porodu, natomiast aktywność GSH-Px znacząco wzrosła po porodzie.

Owocem mojego zaangażowania w tematykę związaną z wpływem mikro i makroelementów na stan zdrowia zwierząt były dwie publikacje przeglądowe.

Pierwiastki mineralne, w szczególności mikroelementy, takie jak miedź, mangan, cynk, selen i chrom, wpływają korzystnie na zdrowotność wysokowydajnych krów mlecznych. Dostępność substancji odżywczych jest szczególnie ważna w okresie przejściowym (od 3 tygodni przed porodem do 3-4 tygodni po porodzie). W okresie tym zwierzęta w sposób szczególny narażone są na wiele czynników wpływających negatywnie na ich zdrowotność. W dużym stopniu przyczynia się do tego wysoki stopień ryzyka popełnienia błędów żywieniowych, wynikający głównie z bardzo dynamicznie zachodzących zmian w tym czasie, do których zalicza się: zmianę profilu hormonalnego, utratę apetytu, ujemny bilans energetyczny, nieprawidłowy bilans mineralno-witaminowy, spadek odporności bądź stres oksydacyjny. Suplementacja mikroskładników przyczynia się do zmniejszenia szkodliwego działania wolnych rodników, ponieważ większość mikroelementów tworzy aktywne centra enzymów antyoksydacyjnych. Pierwiastki te warunkują prawidłowe funkcje rozrodcze, rozwój płodu i odporność, jak również przyczyniają się do łagodzenia klinicznych postaci mastitis. W pracy 5.2.4.4. omówiono rolę głównych mikroelementów w żywieniu bydła i ich wpływ na stan zdrowia krów w okresie przejściowym.

Miedź wchodzi w skład wielu metaloenzymów i metaloprotein, odgrywając w ten sposób kluczową rolę regulacyjną w wielu procesach biochemicznych. Do najważniejszych zaliczane są procesy utleniania i redukcji, bowiem miedź, wchodząc w skład oksydazy cytochromu C i dysmutazy ponadtlenkowej, wykazując działanie antyoksydacyjne. Pierwiastek ten uczestniczy w absorpcji i metabolizmie żelaza w organizmie wchodząc w

skład ceruloplazminy. Schorzenia wynikające z niedoboru lub zatrucia miedzią są powszechne u zwierząt gospodarskich. Celem pracy 5.2.4.5. był przegląd informacji dotyczących wpływu miedzi na funkcjonowanie bydła dorosłego i cieląt oraz skutków niedoboru i zatrucia tym pierwiastkiem.

Wykaz publikacji dotyczących tej tematyki:

5.2.4.1. Żarczyńska K., Radwińska J., **Snarska A.**, Rękawek W., Procajło A. 2013. Disturbances in the acid-base and electrolyte balance and changes in serum mineral concentrations in calves diagnosed with nutritional muscular dystrophy. *J. Elem.* 18(2): 307-315;

5.2.4.2. Żarczyńska K, **Snarska A.**, Rytel L., Sobiech P. 2018. Effect of a single-dose parenteral selenium supplement administered to pregnant dairy cows on selenium and iron concentrations and immune status of calves. *Pol J Vet Sci.* 21(2):401-403

5.2.4.3. Sobiech P., Żarczyńska K., Rękawek W., Snarska A., Eleussizowa A., Kowalczyk E., Illek J.: Effect of parenteral supplementation of selenium and vitamin E on selected biochemical parameters in H-F cows during the transition period. *Med. Weter.* 2015, 71 (11), s. 683-689.

Prace przeglądowe:

5.2.4.4. Żarczyńska K., Żarczyński P., Sobiech P., **Snarska A.**, Stopyra A, Wieteska M., Płaczek A. 2017. The effect of micronutrient deficiencies on the health status of transition cows. *J. Elem.*, 22(4): 1223-1234 . DOI: 10.5601/jelem.2017.22.2.1447

5.2.4.5. Wysocka D., **Snarska A.**, Sobiech P. (2019) Copper-an essential micronutrient for calves and adult cattle. *Journal of Elementology* 24(1):101-110.

5.2.5. Pozostała aktywność naukowo-badawcza

Poza licznymi pracami dotyczącymi wymienionej powyżej tematyki uczestniczyłam w wielu innych projektach, które zaowocowały szeregiem publikacji naukowych.

Prawidłowa diagnostyka inwazji pasożytów wewnątrzkrwinkowych u zwierząt towarzyszących jest dużym problemem dla lekarzy weterynarii. W Polsce najczęściej występującymi pasożytami wewnątrzkrwinkowymi u psów są *Babesia spp.* zasiedlająca erytrocyty i *Ehrlichia spp.* najczęściej znajdowana w granulocytach i monocytach, rzadziej w płytkach krwi. Celem przeprowadzonych badań (praca 5.2.5.1) była ocena morfologiczna i ilościowa płytek krwi w przebiegu inwazji tych dwóch pasożytów. Uzyskane wyniki badań dowiodły, że inwazje pasożytów wewnątrzkrwinkowych powodują powstawanie zaburzeń w morfologii trombocytów polegające na powstawaniu płytek olbrzymich i licznych agregatów płytkowych, co w badaniach laboratoryjnych przekłada się na niską liczbę trombocytów w próbkach krwi obwodowej poddawanych analizie.

Kolejna praca badawcza (5.2.5.2.) przedstawia zagadnienia dotyczące analizy parametrów hematologicznych, biochemicznych i gazometrycznych w przebiegu żółtaczki izoerytrocytolitycznej u źrebiąt przed i po transfuzji krwi. W celu oznaczenia stopnia hemolizy oznaczano także stężenie bilirubiny. Żółtaczka izoerytrocytolityczna u źrebiąt jest odpowiednikiem konfliktu serologicznego występującego u ludzi. Otrzymane wyniki badań wskazały, że przed przeprowadzeniem transfuzji oznaczane parametry były zdecydowanie obniżone a rozpoczęcie leczenia i przeprowadzenie transfuzji spowodowały wzrost oznaczanych parametrów do wartości referencyjnych dla gatunku i grupy wiekowej.

Brałam również udział w badaniach dotyczących neurochemicznej charakterystyki neuronów jelitowego układu nerwowego świni domowej (prace 5.2.5.3., 5.2.5.10) Układ ten zlokalizowany w ścianie przewodu pokarmowego cechuje się skomplikowaną budową i dużą niezależnością od centralnego układu nerwowego. Dlatego też bywa często nazywany „drugim mózgiem” lub „mózgiem jelitowym”. Komórki jelitowego układu nerwowego charakteryzują się dużym zróżnicowaniem pod względem neurochemicznym i są zdolne do syntezy szerokiej gamy substancji aktywnych. W badaniach, w których brałam udział stwierdzono, że jedną z substancji aktywnych wykorzystywanych przez neurony jelitowego układu nerwowego w ścianie żołądka świni domowej jest peptyd, którego transkrypcja jest regulowana przez kokainę i amfetaminę (peptyd CART). Obecność tego peptydu wykazano w stosunkowo licznych neuronach zwojów mięśniowych jelitowego układu nerwowego, co sugeruje jego ważną rolę w regulacji czynności motorycznych żołądka. Poza tym wykazano, iż komórki CART – pozytywne mogą również zawierać inne substancje aktywne takie jak naczynioaktywny polipeptyd jelitowy, syntazę tlenu azotu czy substancję P, co z kolei sugeruje, iż CART może być zaangażowany w różnorodne procesy regulacyjne na terenie żołądka. Wyniki tych badań przedstawiono w pracy 5.2.5.3.

Celem kolejnej pracy (5.2.5.4), której jestem współautorem była ocena wybranych parametrów hematologicznych, gospodarki wodno-elektrolitowej i aktywności enzymatycznej (LDH, CK) u koni po długotrwałym wysiłku. Otrzymane wyniki badań dowodzą, że u koni dobrze przygotowanych i utrzymanych nawet po ekstremalnym wysiłku, jakim jest wyścig na dystansie 120 km nie zachodzi konieczność suplementacji pierwiastków.

Uczestniczyłam także w badaniach z zakresu immunofarmakologii (praca 5.2.5.5.). W przeprowadzonych badaniach wykazano, że prostaglandyna E2 (PGE2), będąca zarówno fizjologicznym autakoidem, jak i mediatorem prozapalnym, może upośledzać proliferację bydlęcych komórek NK oraz indukować ich apoptozę. Pierwszy z tych efektów jest wywierany za pośrednictwem receptora EP4, natomiast w wywołaniu drugiego nie pośredniczą receptory EP (czyli receptory dla PGE2), zatem najprawdopodobniej ma on charakter pośredni. Wyniki przedstawionych badań wskazują, że proapoptotyczne i antyproliferacyjne działanie PGE2 najwyraźniej nie występuje przy jej fizjologicznym poziomie, natomiast może mieć miejsce w przebiegu reakcji zapalnej. Ponadto występowanie i natężenie proapoptotycznego działania PGE2 jest zależne od jej stężenia. Uzyskane wyniki sugerują, że stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych (a więc leków wywierających działanie poprzez hamowanie syntezy PGE2) u zwierząt z zakażeniami wirusowymi może chronić komórki NK przed indukowanymi przez PGE2 apoptozą oraz upośledzeniem proliferacji.

Uczestniczyłam w badaniach, które pomogły kwalifikować pacjentów z retinopatią do dalszych badań nad dysplazją siatkówki (praca 5.2.5.6.). Podjęte badania wskazały, że elektretinografia może pomóc w diagnostyce patologii związanych z występowaniem zmienionej aktywności siatkówki, co jest pomocne w podejmowaniu decyzji o zakwalifikowaniu lub wykluczeniu danego zwierzęcia z programu hodowlanego.

W świetle moich zainteresowań badawczych znalazły się także zagadnienia dotyczące chorób dolnych dróg moczowych u kotów. Tematem publikacji z tego zakresu jest analiza przyczyn i otrzymanych wyników badań laboratoryjnych w przebiegu zaburzeń funkcjonowania układu moczowego u kotów (praca 5.2.5.7.). Przeprowadzone badania dowiodły, że ryzyko występowania zaburzeń w układzie moczowym u kotów jest zależne od ich wieku a najczęściej występujące patologie dotyczą zapaleń idiopatycznych pęcherza moczowego i powstawania kamieni w drogach moczowych. Wyniki podjętych badań jednoznacznie wskazują, że ryzyko zmian związanych z nowotworzeniem w drogach moczowych wzrasta wraz z wiekiem.

Moja współpraca z badaczami z Kazachstanu przyniosła efekt w postaci publikacji opisującej wyniki badań dotyczących wpływu dodatków paszowych na parametry krwi obwodowej i wskaźniki mięsności u strusi. Mój udział w projekcie polegał na interpretacji wyników laboratoryjnych.

Celem badań opisanych w pracy **5.2.5.9.** było określenie zmienności izoenzymatycznej LDH w surowicy w przebiegu pokarmowej dystrofii mięśni (PDM) oraz określenie przydatności tego oznaczenia do wykrywania PDM u cieląt. Dodatkowym celem pracy było określenie wpływu niedoboru selenu na stężenie białka całkowitego, trójglicerydów oraz cholesterolu u cieląt. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że w przebiegu pokarmowej dystrofii mięśni cieląt obserwuje się zaburzenia gospodarki tłuszczowej w postaci spadku stężenia cholesterolu oraz spowodowanego lipolizą tkanki tłuszczowej wzrostu stężenia trójglicerydów. W trakcie omawianego schorzenia dochodzi do istotnego wzrostu surowiczej aktywności kinazy kreatynowej i dehydrogenazy mleczanowej oraz wyraźnego wzrostu aktywności frakcji LDH4 i LDH5. Wyniki tego badania wskazują, że aktywność LDH5 i LDH4 może być użytecznym parametrem do wczesnego diagnozowania pokarmowej dystrofii mięśni.

Wykaz prac z tego okresu:

5.2.5.1. Snarska A., Pomianowski A., Krystkiewicz W., Sobiech P., Lew S., Bednarek D: Influence of invasion of intracellular parasites on platelet response in dogs based on clinical cases. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2012, 56: 519-523.

5.2.5.2. Stopyra A., Snarska A.: Selected arterial blood gasometry parameters as indicators of blood transfusion effectiveness in foals with haemolytic disease. Bull Vet Inst Pulawy 58, 467-471, 2014

5.2.5.3. Rękawek W., Sobiech P., Gonkowski S., Żarczyńska K., **Snarska A.,** Waśniewski T., Wojtkiewicz J.: Distribution and chemical coding patterns of cocaine- and amphetamine-regulated transcript-like immunoreactive (CART-LI) neurons in the enteric nervous system of the porcine stomach cardia. Pol. Jour. of Vet. Scienc. Vol.18, No.3 (2015), 515-522.

5.2.5.4. Stopyra A., Żarczyńska K., **Snarska A.**, Sobiech P. 2016. Selected electrolytic, haematological and enzymatic parameters in horses during endurance races. *J Elem.*, 21 (4): 1151-1159.

5.2.5.5. Maślanka T., Chrostowska M., Otrocka-Domagała I., Snarska A., Mikiewicz M., Zuśka-Prot M., Jasięcka A., Ziółkowski H., Markiewicz W., Jaroszewski J.J.: Prostaglandin E2 exerts the proapoptotic and antiproliferative effects on bovine NK cells. *Research in Veterinary Science* 107 (2016) 80-87.

5.2.5.6. M. Drażek., M. Lew., S. Lew., A. Snarska., P. Sobiech: Electroretinographic examination for evaluation of retinal activity in dogs with retinal dysplasia. *Veterinarni Medicina*, 61, 2016 (4): 204-212.

5.2.5.7. Lew-Kojrys S., Mikulska –Skupień E., Snarska A., Krystkiewicz W., Pomianowski A.: Evaluation of clinical sign and causes of lower urinary tract disease in Polish cats. *Veterinarni Medicina*, 62, 2017 (07): 386-393.

5.2.5.8. Shameeva U., Sobiech P., Zhanabekova G., Zhumageldiev A., Ussenbayev A., Khusainov D., Wysocka D., **Snarska A.**, Samardżija M.: The influence of different concentrations of feed additive, based on shell rock and bentonite, on the growth, blood and meat parameters of the African black ostrich (*Struthio camelus*) in South-East Kazakhstan. *Vet. Arhiv* 88, 413-425, 2018

5.2.5.9. Żarczyńska K., Sobiech P., **Snarska A.**, Tobolski D., Pareek, Ch. S. Bednarek D. Applicability of the protein-lipid profile and activity of lactate dehydrogenase isoenzymes for diagnosing nutritional muscular dystrophy in calves (2018) *J Vet Res* 62: (4): 503–509

5.2.5.10. Rytel L., Snarska A., Gonkowski S., Wojtkiewicz J., Szenci O., Sobiech P. Identification of neuropeptide Y (NPY) in superior cervical ganglion (SCG) neurons that project to the oesophagus- A combined immunohistochemical labelling and retrograde tracing study in pigs. *Acta Veterinaria Hungarica* 2019 67(1) 98-105.

5.3. Pozostała działalność publikacyjna mająca na celu popularyzację nauki

W skład mojego dorobku naukowego wchodzi 19 artykułów opublikowanych w czasopiśmie z listy B (prace 5.3.1-5.3.19) oraz 4 rozdziały w monografiach naukowych (prace 5.3.20-5.3.23)

- 5.3.1.** Babińska I., Kuczeńska E., J. Konkiel, Felsmann M.Z., Szarek J., Popławski K., **Snarska A.** Selected aspects of humane animal protection in Polish law. Polish Journal of Natural Sciences 2017, 32 (2), s. 407-419 p-ISSN: 1643-9953 (14 punktów MNiSW)
- 5.3.2.** Sobiech P., Żarczyńska K., Radwińska J., **Snarska A.** Biegunki cieląt. Terapia wspomagająca (nawadnianie) Lecznica Dużych Zwierząt 2011, 6 (2), s. 92-94 p-ISSN: 1895-9024
- 5.3.3.** Radwińska J., **Snarska A.**, Sobiech P. Zaburzenia układu krzepnięcia krwi krów zarażonych wirusem BVD-MD Lecznica Dużych Zwierząt 2011, 6 (2), s. 83-85 p-ISSN: 1895-9024
- 5.3.4.** **Snarska A.**, Radwińska J., Sobiech P. Zmiany w szpiku kostnym w przebiegu BVD/MD u bydła Lecznica Dużych Zwierząt 2011, 6 (2), s. 90-91 p-ISSN: 1895-9024
- 5.3.5.** Kuleta Z., **Snarska A.** Pobieranie szpiku kostnego u bydła Magazyn Weterynaryjny 2010 (supl), s. 1023-1025, p-ISSN: 1230-4425
- 5.3.6.** Kuleta Z., Radwińska J., **Snarska A.**, Sobiech P. Hemoglobinuria wysokomlecznych krów (haemoglobinuria puerperalis) Magazyn Weterynaryjny 2008 (supl), s. 962-964 p-ISSN: 1230-4425
- 5.3.7.** Pomianowski A., Lew S., Kuleta Z., **Snarska A.**, Kasprończ A. Peritoneal dialysis in a dog with acute renal failure caused by the infection with BABESIA CANIS Polish Journal of Natural Sciences 2008, 23 (1), s. 257-267 p-ISSN: 1643-9953 (2 punkty MNiSW)
- 5.3.8.** **Snarska A.**, Kuleta Z., Radwińska J. Diagnostyka różnicowa i postępowanie w chorobach przewodu pokarmowego bydła. Cz. I Magazyn Weterynaryjny 2007, 16 (9) p-ISSN: 1230-4425
- 5.3.9.** Pomianowski A., **Snarska A.** Babeszjoza psów. Leczenie za pomocą transfuzji krwi Weterynaria w Praktyce 2006, 3 (6), s. 18-20 p-ISSN: 1732-1999 (1 punkt MNiSW)
- 5.3.10.** Romaniuk K., **Snarska A.** Gasterofiloza koni Magazyn Weterynaryjny 2001, 10 (5), s. 8-10 p-ISSN: 1230-4425 (Punktacja MNiSW 0.5)
- 5.3.11.** **Snarska A.**, Wioletta Krystkiewicz W. Przydatność diagnostyczna oceny szpiku bydła Magazyn Weterynaryjny 2012, 21 (184), s. 1023-1025 p-ISSN: 1230-4425 (Punktacja MNiSW 3)
- 5.3.12.** Kuleta Z., **Snarska A.**, Radwińska J., Sobiech P. Choroby cieląt okresu odchowu Lecznica Dużych Zwierząt 2011, 6 (2), s. 62-65 p-ISSN: 1895-9024

- 5.3.13.** Sobiech P., Bednarski M., **Snarska A.**, Bednarska M. Wybrane schorzenia pasożytnicze przeżuwaczy *Lecznica Dużych Zwierząt* 2009, 4 (3), s.64-66,68 p-ISSN: 1895-9024
- 5.3.14.** Radwińska J., Snarska A., Kuleta Z. Choroba niebieskiego języka [bluetongue]. Realne zagrożenie Weterynaria w Terenie 2008, 2 (4), s. 6-10 p-ISSN: 1896-7655
- 5.3.15.** Kuleta Z., **Snarska A.** Diagnostyka chorób górnych dróg oddechowych bydła *Magazyn Weterynaryjny* 2007 (supl), s. 6-8 p-ISSN: 1230-4425
- 5.3.16.** Kuleta Z., **Snarska A.**, Sobiech P.. Choroby górnych dróg oddechowych *Magazyn Weterynaryjny* 2006 (supl), s. 27-32 p-ISSN: 1230-4425 (Punktacja MNiSW: 1.0)
- 5.3.17.** Kuleta Z., Pomianowski A., **Snarska A.** Chów cieląt. Opieka weterynaryjna i warunki higieniczne. Część I *Bydło* 2006 (11), s. 66-67 p-ISSN: 1895-2801
- 5.3.18.** Kuleta Z., Pomianowski A., Snarska A. Chów cieląt. Rozwiązania organizacyjne, technologiczne i higieniczne. Część II *Bydło* 2006 (12), s. 68-69 p-ISSN: 1895-2801
- 5.3.19.** Sobiech P., Pomianowski A., **Snarska A.** Aktywność izoenzymów LDH u koźląt w pierwszym okresie życia *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio DD. Medicina Veterinaria* 2005, 60, s. 153-157 p-ISSN: 0301-7737
- 5.3.20.** Rękawek W., Sobiech P., Żarczyńska K., **Snarska A.** Zaburzenia homeostazy u cieląt w przebiegu biegunek W: *Postępy w diagnostyce i terapii chorób wewnętrznych zwierząt / red.: Krzysztof Lutnicki, Wiesław Sitkowski, Mirosława Maj-Martyniuk Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego*, 2012, s. 80-85 p-ISBN: 978-83-7259-206-4
- 5.3.21.** Żarczyńska K., Sobiech P., Radwińska J., **Snarska A.**, Stopyra A., Rękawek W. Zaburzenia homeostazy w przebiegu pokarmowej dystrofii mięśni cieląt W: *Postępy w diagnostyce i terapii chorób wewnętrznych zwierząt / red.: Krzysztof Lutnicki, Wiesław Sitkowski, Mirosława Maj-Martyniuk Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego*, 2012, s. 86-97 p-ISBN: 978-83-7259-206-4
- 5.3.22.** Sobiech P., **Snarska A.**, Żarczyńska K., Rękawek W. Diagnostyka biochemiczna chorób okresu przejściowego bydła W: *Noworodek a środowisko. (Cz. 7), Problemy okresu przejściowego u bydła mlecznego / pod red. Tadeusza Stefaniaka Wrocław: Zakład Immunologii i Prewencji Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego*, 2011, s. 152-157 p-ISBN: 978-83-927907-1-6
- 5.3.23.** Kuleta Z., Snarska A.. Błędy zarządzania stadem i ich wpływ na zdrowotność krów W: *Zarządzanie stadem w aspekcie zdrowia bydła / red.: Mirosław Kleczkowski, Włodzimierz Kluciński, Krzysztof Lutnicki Łomżyńskie Towarzystwo Naukowe im. Wagów*, 2010, s. 45-50 p-ISBN: 978-83-86175-58-1

6. Zestawienie liczbowe dorobku naukowego (dotyczy tylko publikacji pełnotekstowych) uwzględniające rodzaj publikacji, punktację MNiSW oraz współczynnik wpływu (IF)

Rodzaj publikacji	Liczba publikacji	Punktacja MNiSW	IF
Prace oryginalne w czasopismach z listy JCR <i>(w tym wykorzystane w postępowaniu habilitacyjnym)</i>	31 (4)	520 (65)	16,422 (3,272)
Prace oryginalne w czasopismach bez naliczonego IF	10	17,5	-
Prace przeglądowe w czasopismach z listy JCR	2	30	1,368
Prace przeglądowe w czasopismach bez naliczonego IF	9	4	-
Łącznie	52	571,5	17,79

- Punktacje MNiSW podano według komunikatu MNiSW obowiązującego dla roku publikacji. Dla prac z lat 2017 i 2018 punktacje podano według komunikatu MNiSW z roku 2016.
- Współczynnik wpływu (IF) podano dla roku, w którym opublikowano pracę. Dla publikacji z lat 2017 i 2018 podano wartość współczynnika IF z roku 2016.

7. Pozostałe dane bibliograficzne

Liczba cytowań według bazy Web of Science Core Collection: 89 (72 bez autocytowań)

Liczba cytowań według bazy Scopus: 97 (83 bez autocytowań)

Indeks Hirscha według bazy Web of Science Core Collection: 6

Indeks Hirscha według bazy Scopus: 6

W skład mojego dorobku naukowego wchodzi również **19** doniesień konferencyjnych. Doniesienia te były prezentowane w formie ustnej lub plakatowej na konferencjach

krajowych i zagranicznych, a ich tematyka zawarta jest w Załączniku nr 3 wraz z informacjami o parametrach dorobku naukowego, udziale w projektach krajowych i międzynarodowych oraz o otrzymanych nagrodach. Informacje o dorobku dydaktycznym i popularyzatorskim, współpracy naukowej oraz działalności organizacyjnej zamieszczono w Załączniku nr 4 dołączonym do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego.

