

Autoreferat

dr Wojciech Barański

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Olsztyn, 2013

1. Imię i nazwisko

Wojciech Barański

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

- Szkoła podstawowa nr 11 w Gdyni
- matura, I Liceum Ogólnokształcące im. Zasłużonych Ludzi Morza w Gdyni
- tytuł: lekarz weterynarii, 1998, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie
- stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, rok 2002, tytuł rozprawy doktorskiej: Stan zdrowotny macicy i płodność klaczy w rui źrebięcej, promotor prof. dr hab. Tomasz Janowski
- tytuł: specjalista rozrodu zwierząt, Puławy, 2003

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

- 10.1995-06.1997 – Katedra Anatomii Prawidłowej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie, student-asystent
- 01.04.1998 – 31.01.2002 – Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie, doktorant
- 01.02.2002 – 31.03.2003 Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie, asystent
- 01.04.2003 – do chwili obecnej Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej 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.)

jednotematyczny cykl publikacji

- a) tytuł osiągnięcia naukowego:

WYBRANE ASPEKTY ETIOPATOGENEZY, ROZPOZNAWANIA I WPŁYWU
NA PŁODNOŚĆ PODKLINICZNEGO ZAPALENIA BŁONY ŚLUZOWEJ
MACICY U BYDŁA

b) publikacje:

1. W. Barański, M. Podhalicz-Dzięgielewska, S. Zduńczyk, T. Janowski (2012): The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytological thresholds. *Theriogenology* 78, 1939 – 1947 (MNiSW – 35, IF – 2,082)

Wkład własny - 80% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań, udział w opracowaniu metodyki badań, udział w zebraniu materiału, opracowanie statystyczne wyników, interpretacja wyników badań, napisanie publikacji

2. W. Barański, S. Zduńczyk, T. Janowski (2013): Reproductive performance of cows with subclinical endometritis diagnosed by different cytological thresholds in the postpartum period. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 41, 15-19 (MNiSW – 15, IF – 0,368)

Wkład własny 80% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań, udział w opracowaniu metodyki badań, udział w zebraniu materiału, opracowanie statystyczne wyników, interpretacja wyników badań, napisanie publikacji

3. W. Barański, K. Łukasik, D. Skarzyński, M. Sztachańska, S. Zduńczyk, T. Janowski (2013): Secretion of prostaglandins and leukotrienes by endometrial cells in cows with subclinical and clinical endometritis. *Theriogenology* 80, 766-772 (MNiSW – 35, IF – 2,082)

Wkład własny 70% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań, udział w opracowaniu metodyki badań, zebranie materiału, opracowanie statystyczne wyników, interpretacja wyników badań, napisanie publikacji

c) omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Od wielu lat w hodowli krów mlecznych obserwowany jest wzrost wydajności mlecznej i jednocześnie spadek płodności. Na występowanie tej tendencji składa się wiele czynników natury żywieniowej, organizacyjnej i zdrowotnej. Wśród tych ostatnich jedną z

przyczyn są zaburzenia involucji macicy po porodzie oraz stany zapalne jej błony śluzowej. Diagnostyka klinicznych stanów zapalnych błony śluzowej macicy lub całego narządu jest względnie łatwa przy wykorzystaniu badania przez prostnicę i wziernikowania pochwy. Kryteria stosowane przy rozpoznaniu tej choroby dotyczą oceny średnicy rogów macicy i szyjki macicy, charakteru wypływu. Dużo większy problem diagnostyczny stanowią podkliniczne stany zapalne błony śluzowej macicy, o których mówimy w przypadkach braku objawów klinicznych przy jednoczesnym znacznym spadku płodności. Nową metodą diagnostyczną pozwalającą na stwierdzenie podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy jest badanie cytologiczne wymazów pobranych z wnętrza tego narządu po pokonaniu bariery szyjki macicy. Ten sposób pobierania próbek macicznych jest u krów nowością. Metoda cytologiczna polega na liczeniu komórek układu białokrwinkowego i nabłonka w rozmazie, a następnie ocenie odsetka neutrofilii wielojądrzastych. Obecnie proponowane są dwie metody pozyskiwania komórek *endometrium* w celu diagnozowania podklinicznego *endometritis*. Jedną z nich to aspiracja wypłuczyn z jamy macicy, druga zaś polega na użyciu szczoteczki do cytologii (tzw. cytobrush). Badania porównawcze wykazały, że metoda z wykorzystaniem szczoteczki jest bardziej wiarygodna dając bardziej ujednolicone wyniki. Ponieważ badanie cytologiczne wymazów z macicy jest wykorzystywane w tym celu od niedawna, wciąż nie określono jednoznacznie liczby neutrofilii jaka powinna być podstawą do stawiania diagnozy. Niektórzy badacze prawidłowy poziom neutrofilii uzależniają również od okresu po porodzie, który jest wyższy u zwierząt we wczesnym puerperium, obniżając się stopniowo wraz z upływem czasu. Badania w okresie poporodowym w celu zdiagnozowania *endometritis subclinica* są najczęściej wykonywane w 4. i 6. tygodniu po porodzie. Stosowane dotychczas wartości odsetka neutrofilii wahają się od 4% do 18% i zależą od autora i czasu pobierania. Dane epidemiologiczne dotyczące występowania tego schorzenia bardzo się różnią w badaniach prowadzonych w Kanadzie, Stanach Zjednoczonych czy w Niemczech i wahają się od 9% do 53%. Jednocześnie brak jest informacji dotyczących występowania tych stanów w Polsce. Również dane dotyczące wpływu tej choroby na wskaźniki rozrodcze krów mlecznych są bardzo odmienne w różnych pracach. Znaczna część badaczy stwierdzała obniżone wskaźniki rozrodu (wydłużony okres międzyciążowy, zmniejszone prawdopodobieństwo zajścia w ciążę po pierwszej sztucznej inseminacji, obniżoną całkowitą skuteczność zacielenia) u krów z podklinicznym zapaleniem błony śluzowej macicy w porównaniu do grupy zwierząt zdrowych. Natomiast niektórzy autorzy podają, że takiego wpływu nie zaobserwowali, przy czym ze względu na różne kryteria, czas i metody pobierania próbek w wielu przypadkach wyniki ciężko porównać.

Nie jest także poznana etiopatogeneza tego schorzenia, przy czym obecnie prowadzone są immunologiczno-endokrynne badania nad procesami jego powstawania. Leukocyty wielojądrzaste uwzględniane przy diagnozowaniu są podstawowym czynnikiem obronnym macicy, a ich napływ może być spowodowany różnymi czynnikami. Odpowiedź immunologiczna jest regulowana poprzez czynniki prozapalne takie jak prostaglandyny E_2 i $F_{2\alpha}$, leukotrieny oraz cytokiny ($TNF\alpha$, interleukina 1 i 6). Do tej pory prowadzono jedynie badania nad poziomem prostaglandyn we krwi lub płynie macicznym krów z klinicznym *endometritis*. Wyższy poziom prostaglandyny $F_{2\alpha}$ stwierdzono we krwi krów ze stanem zapalnym macicy niż u zdrowych, ale w innych doświadczeniach nie potwierdzono tej zależności w odniesieniu do płynu w macicy. Ponadto wyższy poziom prostaglandyny E_2 w wydzielinie macicznej stwierdzano u krów z ostrym stanem zapalnym błony śluzowej macicy w porównaniu do łagodniejszych postaci tego schorzenia. Bardzo ograniczone są natomiast informacje dotyczące sekrecji leukotrienów B_4 i C_4 u krów ze stanami zapalnymi śluzówki macicy różnego stopnia. We wcześniejszych badaniach stwierdzono jedynie, że podanie leukotrienu B_4 indukuje napływ leukocytów do macicy i takie postępowanie jest uznawane za model eksperymentalnie wywołanego *endometritis* u krów. Brak natomiast badań dotyczących sekrecji prostaglandyn i leukotrienów przez komórki pobrane przyżyciowo z błony śluzowej macicy krów zdrowych i z *endometritis* różnego stopnia w tym również *endometritis subclinica*.

W Polsce brak było dotychczas badań nad rolą i znaczeniem podklinicznego *endometritis* uwzględniających występowanie tego schorzenia, dynamikę jego przebiegu, wpływ na płodność oraz mechanizmy etiopatogenetyczne. Własne badania epidemiologiczne prowadzone były na grupie 422 krów po porodzie, z których 222 zwierząt, bez klinicznych objawów *endometritis* i nie leczonych po ostatnim porodzie, zostało zakwalifikowanych do doświadczenia. Krowy były dwukrotnie badane klinicznie, w czwartym i szóstym tygodniu po porodzie. Badania obejmowały kontrolę ginekologiczną układu rozrodczego poprzez wziernikowanie oraz badanie rektalne i ultrasonograficzne, a następnie metodą cytobrush pobierano próbki z wnętrza macicy do oceny bakteriologicznej i cytologicznej *endometrium*. W celu zdiagnozowania podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy przyjęto trzy poziomy odsetka leukocytów uwzględniając przy tym także okres po porodzie. W czwartym tygodniu po porodzie *endometritis subclinica* diagnozowano, jeżeli odsetek leukocytów wielojądrzastych był wyższy niż 5%, 8% i 18%, natomiast w szóstym tygodniu po porodzie przyjęto kryteria powyżej 5%, 8% i 10% leukocytów. Wykorzystując powyższe kryteria utworzono 6 grup doświadczalnych (z podklinicznym zapaleniem błony śluzowej macicy) i

kontrolnych (zdrowych). Następnie w odniesieniu do tak utworzonych grup badawczych obliczono takie wskaźniki płodności jak okres międzyciążowy, międzywycieleniowy, skuteczność pierwszej inseminacji, indeks inseminacyjny, całkowita skuteczność inseminacji. Tak przeprowadzony eksperyment pozwolił na wszechstronną ocenę wpływu diagnozowanego przy pomocy różnych kryteriów cytologicznych podklinicznego stanu zapalnego błony śluzowej macicy na płodność badanych krów.

Badania dotyczące sekrecji mediatorów prozapalnych z *endometrium* przeprowadzono w czwartym tygodniu po porodzie na 75 krowach, z których 12 miało kliniczne, ropne zapalenie błony śluzowej macicy, zaś pozostałe 63 zwierzęta nie wykazywały objawów klinicznych *endometritis*. W tych badaniach do diagnozowania podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy przyjęto dwa poziomy odsetka leukocytów wielojądrzastych (>5% i >18%). Wśród zdrowych klinicznie krów przy limicie >5% leukocytów podkliniczne zapalenie błony śluzowej macicy stwierdzono u 68,25% krów, zaś przy limicie >18% leukocytów u 57,14% krów. Zwierzęta z klinicznym *endometritis* pełniły rolę „kontroli pozytywnej”.

Generalnie, tak prowadzone badania miały na celu:

1. Ocenę częstotliwości występowania podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy krów w okresie poporodowym.
2. Określenie dynamiki występowania podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy krów w okresie poporodowym.
3. Ocenę flory bakteryjnej na podstawie wymazów pozyskanych z wnętrza macicy od krów ze stwierdzonym *endometritis subclinica* i zdrowych.
4. Korelację wyników bakteriologicznych i cytologicznych uzyskanych z macicy krów z *endometritis subclinica* i zdrowych.
5. Ocenę wartości wskaźników rozrodczych (okres międzyciążowy, międzywycieleniowy, skuteczność pierwszej inseminacji, indeks inseminacyjny, całkowita skuteczność inseminacji) krów, u których stwierdzono to schorzenie w porównaniu do zdrowych.
6. Porównanie sekrecji prostaglandyny $F_{2\alpha}$ i E_2 oraz leukotrienów B_4 i C_4 przez komórki pobrane z wnętrza macicy od krów zdrowych, z podklinicznym i klinicznym zapaleniem błony śluzowej macicy.
7. Ocenę powiązania poziomu wybranych mediatorów prozapalnych z wynikami badania cytologicznego w celu diagnozowania *endometritis subclinica*.

Wyniki badań

1. Częstość występowania podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy wynosiła od 18,9% do 75,4% w zależności od stada, okresu poporodowego i przyjętego limitu leukocytów wielojądrzastych. Uśredniając liczbę zwierząt w obu stadach w czwartym tygodniu po porodzie schorzenie to stwierdzono u 48,2% krów przyjmując limit >18% leukocytów wielojądrzastych, 59% (>8% leukocytów) i 66,67% przy limicie >5% leukocytów. W szóstym tygodniu częstość *endometritis subclinica* zmniejszyła się mniej więcej o połowę i wynosiła odpowiednio 26,13% (>10%), 27% (>8%) i 35,13% (>5%). Uzyskane wyniki częściowo pokrywają się z danymi uzyskanymi przez zagranicznych badaczy, wykazując jednocześnie duże różnice w częstości występowania tego schorzenia pomiędzy stadami.
2. U większości krów w obu badaniach nie stwierdzono podklinicznego *endometritis* (18%-46%) lub wraz z upływem czasu od porodu obserwowano zanikanie tego schorzenia (33%-42%). U części zwierząt stan zapalny utrzymywał się w obu okresach kontroli po porodzie (7%-33%), natomiast u 6%-17% zwierząt *endometritis subclinica* zdiagnozowano wyłącznie w drugim badaniu. Ta grupa zwierząt wskazuje na możliwość wystąpienia podklinicznego stanu zapalnego błony śluzowej macicy, pomimo wcześniej stwierdzonej prawidłowej involucji i regeneracji macicy. Jednakże powrót podklinicznej postaci tego schorzenia nie doprowadził do rozwinięcia się klinicznego *endometritis* w czasie badania w szóstym tygodniu po porodzie.
3. W badaniach bakteriologicznych wymazów z macicy stwierdzono 13 gatunków drobnoustrojów. Najczęściej występowały bakterie saprofityczne *Streptococcus acidominimus* (43,7%) i *Escherichia coli* (25,2%), w kilku przypadkach stwierdzono bakterie z rodzaju *Trueperella pyogenes* (7,8%) i *Staphylococcus aureus* (1,9%), mimo braku objawów klinicznych zapalenia błony śluzowej macicy. Liczba krów u których wykryto bakterie w wymazach z macicy zmniejszyła się o ponad 50% porównując badanie w czwartym i szóstym tygodniu po porodzie. Uzyskane wyniki wskazują, że w wielu przypadkach zdiagnozowanego badaniem cytologicznym *endometritis subclinica* obserwowano brak wzrostu flory bakteryjnej, w innych zaś obecna była mieszana flora saprofityczna, co sugeruje, że bakterie nie są istotnym czynnikiem w powstawaniu tego schorzenia.
4. Zgodność wyników badania cytologicznego i bakteriologicznego uzyskana w badaniach była niska. W czwartym tygodniu po porodzie oba badania były pozytywne u 19,4% - 37,8% badanych krów, zaś oba negatywne u 15,3% do 35,9% zwierząt w zależności od stada i przyjętego limitu odsetka leukocytów. W świetle uzyskanych wyników badanie

cytologiczne należy uznać za bardziej przydatne do diagnozowania podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy niż badanie bakteriologiczne. Wyniki te są zgodne z wcześniejszymi badaniami bakteriologicznymi (pkt. 3), a także sugerują występowanie bezbakteryjnego podłoża podklinicznych zapaleń.

5. Okres międzyciążowy był dłuższy u wszystkich grup ze stwierdzonym podklinicznym stanem zapalnym błony śluzowej macicy, ale różnice były statystycznie istotne tylko w badaniu w czwartym tygodniu w przypadku użycia limitu $>18\%$ leukocytów wielojądrzastych ($115,9 \pm 7,8$ vs $151,54 \pm 9,5$ dni), zaś w szóstym tygodniu przy limitach $>10\%$ ($125,1 \pm 6,6$ vs 155 ± 15 dni) i $>8\%$ leukocytów ($128,4 \pm 7,3$ vs 155 ± 15 dni). Skuteczność pierwszej inseminacji była statystycznie wyższa we wszystkich grupach krów zdrowych ($49,6\% - 55,4\%$) w porównaniu do krów z *endometritis subclinica* ($27,1\% - 37,8\%$) w badaniu w czwartym tygodniu po porodzie, przy czym najwyższy poziom istotności stwierdzono przy zastosowaniu limitu $>18\%$ leukocytów wielojądrzastych. Indeks inseminacyjny był wyższy u krów ze stwierdzonym podklinicznym stanem zapalnym błony śluzowej macicy i wynosił 2,3-2,4, natomiast w przypadku grup krów zdrowych wahał się od 1,8-1,9. Oceniając całkowitą skuteczność zacielenia w ciągu 300 dni po porodzie uzyskane wyniki były bardzo podobne i wynosiły $83,2\% - 96,7\%$ w grupach krów z podklinicznym zapaleniem błony śluzowej macicy oraz $85,2\% - 93,4\%$ w grupach zwierząt zdrowych. Biorąc pod uwagę wartości wskaźników rozrodu w celu diagnozowania podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy u krów wydaje się, że należy się opierać na limicie $>18\%$ leukocytów w czwartym tygodniu po porodzie, ponieważ płodność tej grupy najbardziej różniła się statystycznie istotnie od grupy kontrolnej. Generalnie wykazano negatywny wpływ podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy na rozród, ale głównie w grupach diagnozowanych w 4 tygodniu po porodzie przy kryterium $>18\%$ leukocytów. Niekorzystny wpływ dotyczył przede wszystkim wskaźników płodności charakteryzujących skuteczność inseminacji.
6. Najwyższe poziomy sekrecji badanych mediatorów zapalnych wykazano w grupie krów z klinicznym *endometritis* i różniły się one statystycznie zarówno od krów z podklinicznym *endometritis* jak i zdrowych. Sekrecja prostaglandyny E_2 była statystycznie wyższa w grupie zwierząt z podklinicznym stanem zapalnym zdiagnozowanym przy użyciu limitu $>18\%$ leukocytów ($6,68$ ng/ml), niż w grupie krów z podklinicznym zapaleniem błony śluzowej macicy diagnozowanym przy poziomie $> 5\%$ leukocytów ($2,4$ ng/ml) oraz w grupie krów zdrowych ($2,37$ ng/ml). Natomiast w grupie krów z podklinicznym stanem zapalnym ($>18\%$ leukocytów) prostaglandyna $F_{2\alpha}$ była wydzielana w mniejszych

ilościach niż w grupie zwierząt kontrolnych (1629 pg/ml vs 2797 pg/ml), zaś różnica ta była statystycznie istotna ($p < 0,05$). Nie zaobserwowano różnic w wydzielaniu leukotrienów B₄ i C₄ pomiędzy krowami z *endometritis subclinica* i zdrowymi. Ta część badań wykazała, że w podklinicznych stanach zapalnych *endometrium* sekrecja PGE₂ dominuje nad wydzielaniem PGF_{2α}, ale jedynie przy *endometritis subclinica* diagnozowanym przy wykorzystaniu kryterium >18% leukocytów wielojądrzastych.

7. Porównując wyniki badania cytologicznego i poziomy sekrecji badanych mediatorów prozapalnych można stwierdzić, że podobnie jak w badaniach epidemiologicznych limit >18% leukocytów jest najbardziej wiarygodny do diagnozowania podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy. Natomiast spośród badanych mediatorów prozapalnych prostaglandynę E₂ można uznać za najwłaściwszy marker toczących się podklinicznych procesów zapalnych w śluzówce macicy.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo – badawczych, dydaktycznych i organizacyjnych

W prowadzonych przeze mnie pozostałych badaniach naukowych wyróżnić można następujące kierunki badawcze:

- a. Określenie dynamiki poporodowej inwolucji macicy u kłaczy ocenianej klinicznie, ultrasonograficznie, cytologicznie i bakteriologicznie oraz jej wpływ na płodność kłaczy
- b. Możliwość monitorowania przebiegu fizjologicznej i patologicznej ciąży u kłaczy poprzez określenie poziomu nieskoniugowanych estrogenów w kale
- c. Ocena przydatności zintegrowanego programu opieki lekarsko-weterynaryjnej do kontroli stanu zdrowia, rozrodu i produktywności wysokowydajnych krów mlecznych
- d. Przyczyny powtarzania rui u krów ze szczególnym uwzględnieniem podklinicznych stanów zapalnych *endometrium*

a) U kłaczy ze względu na specyfikę rozrodu, stan zdrowotny macicy po porodzie jest bardzo istotny w aspekcie możliwości zajścia w ciążę i jej utrzymania, gdyż zwierzęta te są wprowadzane do rozrodu już w drugim tygodniu po porodzie. Celem badań było diagnozowanie klinicznych i podklinicznych stanów zapalnych macicy po porodzie przy użyciu badań ultrasonograficznych, cytologicznych i bakteriologicznych. Oceniano częstotliwość ich występowania po porodach prawidłowych i patologicznych, korelacje

zapalenia błony śluzowej macicy z czasem wystąpienia rui źrebięcej oraz analizowano płodność w rui źrebięcej i w całym sezonie rozrodczym z uwzględnieniem występowania wczesnej i późnej śmierci zarodkowej. Jednocześnie badano czynność jajników w celu określenia czasu i częstotliwości wystąpienia pierwszej rui po porodzie. Największe nasilenie pojawiania się zewnętrznych objawów rujowych miało miejsce pomiędzy 6 a 12 dniem po porodzie, z czego 43% rui wystąpiło w 8 i 9 dniu. Średnia długość rui źrebięcej wynosiła $5,04 \pm 1,71$ dnia. Bakteriami najczęściej wyizolowanymi z wnętrza macicy były paciorkowce β -hemolityczne – 29,2%, pałeczki okrężnicy – 27,7%, zaś paciorkowce α -hemolityczne, podobnie jak gronkowce koagulazoujemne wyizolowano tylko u 10,8% klaczy. Przedłużoną regenerację błony śluzowej macicy stwierdzono u ponad 40% klaczy, podczas gdy zapalenie błony śluzowej macicy wykazano u ponad 20% kontrolowanych klaczy. Jednocześnie u ponad 30% stwierdzono prawidłowy przebieg involucji macicy i brak stanów zapalnych. Jednym z celów pracy była ocena korelacji pomiędzy badaniem bakteriologicznym i cytologicznym. Uzyskane wyniki wykazały niską 17-procentową zgodność tych metod. Znacznie częściej stwierdzano obecność flory bakteryjnej (60%) bez zmian patologicznych w obrazie cytologicznym wymazów. W pracy wykazano także, że równoczesne wykonanie tych badań u klaczy przed wprowadzeniem ich do rozrodu pozwala w dużym stopniu ocenić stany fizjologiczne i patologiczne macicy, jak również może być wykorzystane do prognozowania zajścia w ciążę badanych zwierząt. Klacze z pozytywnym wynikiem badania bakteriologicznego i cytologicznego w rui źrebięcej zażrebiły się tylko w 18,2%, zaś przy negatywnych obu badaniach płodność w tej rui wyniosła 54,5%. Ta zależność była nadal obserwowana w kolejnej rui, przy czym różnice nie były już tak znaczne (33% przy obu badaniach pozytywnych i 40% przy obu negatywnych). Prowadzone badania wykazały, że u klaczy po ciężkich porodach lub u których wystąpiły schorzenia okresu poporodowego ruja źrebięca nie powinna być wykorzystywana do rozrodu, gdyż w tej grupie zwierząt nie uzyskano w pierwszej rui żadnej ciąży. Natomiast u klaczy z prawidłowym porodem ruja ta może z powodzeniem być wykorzystana do krycia. Wykazano, że u większości klaczy w rui źrebięcej, obecne we wnętrzu macicy bakterie często nie ograniczają możliwości zajścia klaczy w ciążę. W przypadku wykonywania sztucznego unasieniania zalecane jest wykonywanie obu badań przed inseminacją w celu zwiększenia skuteczności tego zabiegu.

b) Badania dotyczące możliwości monitorowania przebiegu fizjologicznej i patologicznej ciąży u klaczy poprzez badanie poziomu nieskoniugowanych estrogenów w kale klaczy wykazały, że w ciąży stężenie estrogenów wynosiło od 40 do 200 ng/g i rosło wraz z jej

rozwojem. U klaczy które donosiły ciążę miało typowy przebieg znany z oznaczeń tych hormonów we krwi. U klaczy, u których doszło do wystąpienia śmierci zarodkowej w długim okresie nie obserwowano zmian poziomu estrogenów przed zakończeniem ciąży, natomiast u klaczy które poroniły stwierdzany był nagły spadek stężenia estrogenów w kale. Prace te wykazały przydatność nieinwazyjnej metody diagnostycznej do kontroli przebiegu ciąży patologicznej, która może zostać wykorzystana także w badaniach u dziko żyjących kopytnych.

c) Kolejnym kierunkiem badań była ocena zintegrowanego programu opieki lekarsko-weterynaryjnej nad stadami bydła mlecznego w Polsce północno-wschodniej. Aktualny wysoki poziom produkcji mleka oraz wielkość stad wymuszają zmianę sposobu zarządzania stadem. Prawidłowe zarządzanie stadem krów mlecznych daje szansę na utrzymanie wysokiej wydajności mlecznej bez pogorszenia zdrowia i płodności zwierząt przy jednoczesnym zmniejszeniu zużycia leków, co ma istotne znaczenie w zapewnieniu bezpieczeństwa żywności i ochronie konsumentów. Postępowanie takie wpisuje się w preferowany obecnie system kontroli żywności w przebiegu całego łańcucha produkcji i przetwarzania żywności. Program zintegrowanej opieki lekarsko-weterynaryjnej polega między innymi na jak najwcześniejszym wykryciu stanów podklinicznych, aby nie dopuścić do wystąpienia klinicznych postaci chorób, jednoczesnej kontroli płodności zwierząt z uwzględnieniem prawidłowego żywienia zwierząt obarczonych bardzo wysoką produkcją mleka i oceną stanu epidemiologicznego całego stada. Dzięki kontroli parametrów mleka i krwi krów możliwe jest ograniczenie występowania m.in. zapaleń gruczołu mlekowego, chorób metabolicznych czy schorzeń układu rozrodczego w stadzie. Podobne programy były w Polsce słabo rozpowszechnione, ponadto problemy te zyskały na znaczeniu wraz ze zmianami hodowlano-środowiskowymi w fermach krów mlecznych zainicjowanych w końcu lat 90-tych ubiegłego wieku.

Przeprowadzone badania wykazały, że odsetek ronień wynosił 4,0% (1,3-7,1%), zatrzymanie łożyska występowało u 9,7% (5,7-15,6%) krów, natomiast zapalenie błony śluzowej macicy dotyczyło 18,3% (5,7-42,7%) zwierząt. Cichą ruję stwierdzano w badanych stadach średnio u 32,1% (12,5-49,2%) krów, torbiele jajnikowe u 7,1 % (0-17,7%), zaś afunkcję jajników u 7,6% (1,4-16,9%). Częstotliwość występowania wszystkich form klinicznych zaburzeń płodności różniła się statystycznie pomiędzy stadami. Średnio skuteczność pierwszej

inseminacji wynosiła w badanych stadach 52,3% (44-65,3%), zaś indeks inseminacyjny 1,8 (1,5-2,1). Średnia długość okresu międzywycieleniowego miała wartość $399,7 \pm 62,8$ dni, a odsetek wybrakowanych krów z powodu niepłodności wynosił 4,6% (0-9,1%). Także wskaźniki płodności różniły się istotnie pomiędzy stadami.

Uzyskane wyniki wskazują jednoznacznie na duże zróżnicowanie występowania zaburzeń płodności w badanych stadach. Dotyczy to zarówno rodzaju stwierdzanych schorzeń, jak również częstotliwości ich występowania. Potwierdza to panujący powszechnie pogląd, że zaburzenia rozrodu w poszczególnych stadach cechują się silnie zaznaczoną specyfiką. Wynika to z unikalnych dla każdego stada warunków żywieniowych, środowiskowych i organizacyjnych. Biorąc pod uwagę częstotliwość występowania, spośród ocenianych w czasie badań klinicznych form zaburzeń płodności, szczególne znaczenie wydają się odgrywać cicha ruja, *endometritis* i zatrzymanie łożyska. Nieco mniejszą rolę natomiast przypisać można afunkcji jajników oraz torbielom jajników. Obecnie w Polsce brakuje danych epidemiologicznych dotyczących zdrowia krów, klinicznych form niepłodności i wartości wskaźników rozrodczych, a uzyskane w badaniach własnych wyniki są pierwszymi w kraju danymi opisującymi występowanie zaburzeń rozrodu, zdrowia i produktywności krów mlecznych w warunkach aktualnych realiów produkcyjno-żywieniowych.

d) Kolejny kierunek badawczy w moim dorobku to badanie przyczyn niepłodności u tzw. krów powtarzających, czyli zwierząt inseminowanych nieskutecznie minimum trzy razy ze szczególnym uwzględnieniem *endometritis subclinica*. W pierwszym etapie badań określano kliniczne przyczyny powtarzania, wykazując że w około 50% przypadków możliwe jest ich rozpoznanie przy wykorzystaniu powszechnie stosowanych metod diagnostycznych. U pozostałej połowy krów schorzenie to miało charakter podkliniczny. Następnie w tej grupie zwierząt badano częstotliwość występowania podklinicznego zapalenia błony śluzowej macicy w powiązaniu z występującymi bakteriami oraz ekspresję mRNA cyklooksygenazy 2 (COX-2), syntazy $\text{PGF}_{2\alpha}$ (PGFS) i E_2 (PGES), czynnika martwicy guzów (TNF α), oraz syntaz tlenku azotu (iNOS oraz eNOS) u krów zdrowych i z potwierdzonym podklinicznym *endometritis*. Ponieważ prawidłowe funkcjonowanie maczynego układu immunologicznego (szczególnie limfocytów T i makrofagów) jest kluczowe dla utrzymania ciąży również te elementy były celem prowadzonych badań. Oceniano występowanie i lokalizację makrofagów CD14+ i limfocytów T CD4+ i CD8+ w błonie śluzowej macicy krów zdrowych i z podklinicznym *endometritis*.

Występowanie podklinicznego zapalenia błony śluzowej stwierdzono u 40,2% badanych zwierząt, przy czym wśród 62,7% tych zwierząt jednocześnie stwierdzono obecność bakterii w macicy. Najczęściej wykrywanymi drobnoustrojami były *Streptococcus acidominimus* (42.8%) i *Escherichia coli* (21.4%). Szczegółowe badania biopłatów pobranych od krów zdrowych i z podklinicznym endometritis wykazały, że u zwierząt chorych była podwyższona ekspresja mRNA TNF α i iNOS, podczas gdy ekspresja eNOS nie różniła się pomiędzy grupami. W przypadku badań nad syntazami prostaglandyn zaobserwowano jedynie podwyższoną ekspresję COX-2 w grupie z *endometritis subclinica*, zaś ekspresja syntaz prostaglandyn E₂ i F_{2 α} była bardzo zbliżona w obu grupach. Częstotliwość występowania i umiejscowienie w błonie śluzowej limfocytów CD4⁺ nie różniły się pomiędzy badanymi grupami, zaś limfocyty CD8⁺ były obecne w większej liczbie w nabłonku niż limfocyty CD4⁺. Stwierdzano je znacznie częściej w warstwie zbitej niż gąbczastej błony śluzowej, przy czym ich liczba była podobna w grupie krów zdrowych i chorych. W warstwie gąbczastej i zbitej obecne były pojedyncze makrofagi CD14⁺, przy czym u krów ze stwierdzonym zapaleniem podklinicznym liczba ta była nieco wyższa.

Podsumowując, w pracach tych wykazano, że podkliniczne zapalenie błony śluzowej macicy jest istotną przyczyną powtarzania rui u krów mlecznych. Określono także, że wzmożona ekspresja TNF α i tlenku azotu (NO) może towarzyszyć zaburzeniom zapłodnienia i śmierci zarodków u zwierząt dotkniętych tym schorzeniem.

W czasie swojej dotychczasowej pracy publikowałem także liczne artykuły w czasopismach zawodowych przeznaczonych dla lekarzy weterynarii – praktyków, a także hodowców bydła. Dotyczyły one między innymi diagnozowania i terapii schorzeń okresu okołoporodowego, metod ich zapobiegania u krów mlecznych i koni, a także hodowli, opieki lekarsko-weterynaryjnej i prowadzenia rozrodu w stadach bydła mięsnego. Szczególnie te ostatnie zagadnienia były w wielu wypadkach mało znane, zaś ze względu na zwiększone zainteresowanie tym kierunkiem hodowli w Polsce stają się coraz bardziej aktualne i potrzebne.

W czasie pracy w Katedrze Rozrodu Zwierząt z Kliniką jestem łącznie autorem i współautorem 40 prac oryginalnych i przeglądowych. Sumaryczna punktacja wg wykazu MEN wynosi 334,6 (punkty liczone wg roku publikacji), zaś ich Impact Factor wynosi 9,54 (liczony wg roku publikacji).

Do podanej powyżej punktacji nie zostały wliczone punkty z cyklu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (habilitacji) dla której punkty Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa

Wyższego wynoszą 85, zaś sumaryczny IF 4,532 (punkty liczone wg roku publikacji). Mój wskaźnik Hirscha wynosi 3, zaś indeks cytowań 36.

W czasie mojej pracy w Katedrze byłem uczestnikiem konferencji naukowych w kraju i za granicą, których efektem jest opublikowanie 31 komunikatów naukowych. Brałem aktywny udział w renomowanych kongresach (World Buiatric Congress) i konferencjach takich organizacji jak ESDAR (European Society for Domestic Animals Reproduction) przedstawiając na nich własne wyniki badań.

Działalność dydaktyczna

Moja działalność dydaktyczna obejmowała:

- w latach 1995-1997 prowadzenie zajęć ze studentami z przedmiotu „Anatomia prawidłowa zwierząt” na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie
- od roku 1998 prowadzenie zajęć z przedmiotów „Rozród i położnictwo zwierząt” i „Andrologia i sztuczne unasiennianie”
- w roku 2009 opracowałem cykl wykładów i ćwiczeń z przedmiotu „Technologie w produkcji zwierzęcej – bydło” i od roku 2009 prowadzę te zajęcia ze studentami
- od roku 2009 prowadzę teoretyczne i praktyczne zajęcia fakultatywne dla studentów z przedmiotów „Ultrasonografia dużych zwierząt”, „Opieka lekarsko-weterynaryjna krów mlecznych”, „Choroby noworodków – cielęta”

W roku 2010 zostałem wybrany przez studentów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie na najlepszego nauczyciela akademickiego Wydziału oraz najlepszego nauczyciela akademickiego Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego.

Osiągnięcia organizacyjne

Od roku 2003 jestem członkiem zespołu Katedry Rozrodu Zwierząt z Kliniką prowadzącego wyjazdową działalność kliniczną w odniesieniu do zwierząt gospodarskich i koni. Organizacja tej działalności, aktywne uczestnictwo studentów i usługi oferowane przez pracowników zostały bardzo dobrze ocenione podczas dwukrotnej (w roku 2006 i 2012) wizytacji unijnych ekspertów działających z ramienia Europejskiego Stowarzyszenia ds. Oceny Jakości Kształcenia (European Association of Establishments for Veterinary

Education) na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie przyznającej akredytację europejską.

W czasie mojej pracy naukowej brałem udział jako kierownik lub wykonawca w następujących projektach badawczych:

- Projekt N N308 306937 Niektóre aspekty rozpoznawania i etiopatogenezy cytologicznego zapalenia błony śluzowej macicy u bydła. 2009-2012, kierownik projektu
- COST Action FAO702 „Maternal interaction with gametes and embryos”, “Wybrane aspekty środowiska macicznego u powtarzających krów”. 2009-2011, wykonawca projektu
- POL/013/02 "The establishment of a professional veterinary herd health and production management advisory programme for cattle farms in Poland". 2003-2006, wykonawca projektu
- Grant MNiSW 2 P06K 025 30 "Wpływ niesterydowych leków przeciwzapalnych na funkcję wydzielniczą jajnika krowy". 2006-2009, wykonawca projektu
- Projekt N311 056 31/0237 "Wpływ przedłużonych okresów międzywycieleniowych na wydajność, skład i jakość mleka, płodność oraz efektywność produkcji krów w województwie warmińsko-mazurskim". 2006-2009, wykonawca projektu

Wykonywałem także recenzje oryginalnych artykułów dla renomowanych, międzynarodowych czasopism jak *Theriogenology* i *Animal Reproduction Science*.

W czasie pracy w Katedrze Rozrodu Zwierząt z Kliniką odbyłem następujące zagraniczne staże naukowo-dydaktyczne:

- Finlandia, Saari Unit, Katedra Rozrodu Zwierząt Uniwersytetu w Helsinkach, staż dydaktyczny, 1 miesiąc, 2000r.
- Belgia, Katedra Rozrodu i Opieki nad Stadem Uniwersytetu w Ghent, staż naukowo-dydaktyczny, 3 miesiące, 2003r.
- Belgia, Uniwersytet w Ghent, kurs: "Modern production systems of food producing animals, including health care, health surveillance, and the correct use of medicines". 1 tydzień, 2003r.
- Niemcy, Hannover, Szkoła Weterynaryjna, Katedra Chorób Bydła, staż naukowo-dydaktyczny, 2 tygodnie, 2011r.

W okresie pracy uzyskałem następujące nagrody i wyróżnienia:

1. Nagroda Zespołowa Rektora UW-M w Olsztynie, II stopnia, za osiągnięcia w dziedzinie organizacyjnej, 2002r.
2. Nagroda Zespołowa Rektora UW-M w Olsztynie, III stopnia, za osiągnięcia w dziedzinie naukowej, 2003r.
3. Nagroda Zespołowa Rektora UW-M w Olsztynie, I stopnia, za osiągnięcia w dziedzinie naukowej, 2003r.
4. Nagroda Zespołowa Rektora UW-M w Olsztynie, III stopnia, za osiągnięcia w dziedzinie organizacyjnej, 2004r.
5. Nagroda Zespołowa Rektora UW-M w Olsztynie, II stopnia, za osiągnięcia w dziedzinie organizacyjnej, 2006r.
6. Nagroda Zespołowa Rektora UW-M w Olsztynie, II stopnia, za osiągnięcia w dziedzinie dydaktycznej, 2008r.
7. Tytuł „Belfer 2010” – wybór na najlepszego nauczyciela akademickiego Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w roku 2010r.
8. Nagroda Zespołowa Rektora UW-M w Olsztynie, II stopnia, za osiągnięcia w dziedzinie naukowej, 2011r.
9. Nagroda Indywidualna Rektora UW-M w Olsztynie, III stopnia, za osiągnięcia w dziedzinie dydaktycznej, 2011r.

W 2011r. zostałem odznaczony Srebrnym Krzyżem Zasługi

Wojciech Baranowski