

# **AUTOREFERAT**

**Wojciech Marek Zygmier**

Zakład Parazytologii i Inwazjologii  
Katedra Nauk Przedklinicznych  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
w Warszawie

Warszawa, 2015

## Autoreferat

### 1. Imię i nazwisko

Wojciech Marek Zygmier

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

- stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa, rok 2008, tytuł rozprawy doktorskiej: Występowanie DNA *Babesia canis canis*, *Borrelia burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum* oraz *Hepatozoon canis* we krwi psów i tkankach kleszczy pasożytniczych u psów w Warszawie.
- tytuł: specjalista weterynaryjnej diagnostyki laboratoryjnej, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Puławy, rok 2011
- tytuł: lekarz weterynarii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa, rok 2003

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

- od 05.05.2008 Zakład Parazytologii i Inwazyjologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, adiunkt
- 2003 – 2007 Zakład Parazytologii i Inwazyjologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, doktorant

### 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:

**b) Publikacje stanowiące osiągnięcie naukowe:**

1. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Bąska P., Długosz E. Low T3 syndrome in canine babesiosis associated with increased serum IL-6 concentration and azotaemia. *Veterinary Parasitology*, 2015, 211, 23-27 (IF<sub>2014</sub> = 2,460, MNiSW = 40 punktów)

**Wkład w autorstwo:** 75% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań oraz ich metodologii, udział w badaniach laboratoryjnych, analiza statystyczna uzyskanych wyników, interpretacja uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu

2. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Bąska P., Długosz E. Increased concentration of serum TNF alpha and its correlations with arterial blood pressure and indices of renal damage in dogs infected with *Babesia canis*. *Parasitology Research*, 2014, 113, 1499-1503 (IF<sub>2014</sub> = 2,098, MNiSW = 30 punktów)

**Wkład w autorstwo:** 75% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań oraz ich metodologii, udział w badaniach laboratoryjnych, analiza statystyczna uzyskanych wyników, interpretacja uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu

3. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O. Increased serum urea to creatinine ratio and its negative correlation with arterial pressure in canine babesiosis. *Acta Parasitologica*, 2014, 59, 548-551. (IF<sub>2014</sub> = 0,905, MNiSW = 15 punktów)

**Wkład w autorstwo:** 85% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań oraz ich metodologii, badania laboratoryjne, analiza statystyczna uzyskanych wyników, interpretacja uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu

4. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O. Association between decreased blood pressure and azotaemia in canine babesiosis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2014, 17, 173-175 (IF<sub>2014</sub> = 0,604, MNiSW = 20 punktów)

**Wkład w autorstwo:** 85% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań oraz ich metodologii, badania laboratoryjne, analiza statystyczna uzyskanych wyników, interpretacja uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu

5. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Wesołowska A., Wędrychowicz H. Urinary creatinine to serum creatinine ratio and renal failure index in dogs infected with *Babesia canis*. *Acta Parasitologica*, 2013, 58, 297-303 (IF<sub>2013</sub> = 0,965, MNiSW = 15 punktów)

**Wkład w autorstwo:** 80% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań oraz ich metodologii, udział w badaniach laboratoryjnych, analiza statystyczna uzyskanych wyników, interpretacja uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu

6. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H. Changes in the SUSPPUP ratio and fractional excretion of strong monovalent electrolytes in hospitalized dogs with canine babesiosis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2012, 15, 791-792 (IF<sub>2012</sub> = 0,570, MNiSW = 20 punktów)

**Wkład w autorstwo:** 85% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań oraz ich metodologii, badania laboratoryjne, analiza statystyczna uzyskanych wyników, interpretacja uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu

7. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H. Strong monovalent electrolyte imbalances in serum of dogs infected with *Babesia canis*. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2012, 3, 107-113 (IF<sub>2012</sub> = 2,353, MNiSW = 30 punktów)

**Wkład w autorstwo:** 80% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań oraz ich metodologii, badania laboratoryjne, analiza statystyczna uzyskanych wyników, interpretacja uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu

8. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H. Euthyroid sick syndrome in canine babesiosis caused by *Babesia canis*. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2012, 56, 525-527 (IF<sub>2012</sub> = 0,377, MNiSW = 15 punktów)

**Wkład w autorstwo:** 80% - opracowanie koncepcji badań, określenie celu badań oraz ich metodologii, badania laboratoryjne, analiza statystyczna uzyskanych wyników, interpretacja uzyskanych wyników oraz przygotowanie manuskryptu

W roku 2015 artykuły nr 2, 3 i 4 zostały nagrodzone przez J.M. Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie Indywidualną Nagrodą II stopnia za osiągnięcia naukowe. W roku 2013 publikacje nr 6, 7 i 8 zostały nagrodzone przez J.M. Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie Zespołową Nagrodą II stopnia za osiągnięcia naukowe.

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

- Według listy **Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego: 185** punktów
- Łączny współczynnik wpływu **impact factor: 10,332**

Aktualny impact factor (IF<sub>2014</sub>) podano dla artykułu opublikowanego w roku 2015 (artykuł nr 1).

Kopie publikacji oraz oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie pracy znajdują się w załączeniu.

**c) Omówienie celu naukowego prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

Babeszjoza psów jest przenoszona przez kleszcze pierwotniaczą chorobą powodowaną przez pasożyty z rodzaju *Babesia*. U psów występuje 6 gatunków należących do tego rodzaju pierwotniaków tj. *B. canis*, *B. vogeli*, *B. rossi*, *B. gibsoni*, *B. conradae* i *B. vulpes* (Irwin 2009, Baneth i wsp. 2015). W Polsce spośród wymienionych gatunków stwierdzano występowanie jedynie *B. canis*. Wynika to z faktu, iż spośród gatunków kleszczy przenoszących pierwotniaki z rodzaju *Babesia* u psów w Polsce występuje jedynie kleszcz *Dermacentor reticulatus* będący żywicielem ostatecznym *B. canis* (Adaszek i Winiarczyk 2008,

Dzięgiel i wsp. 2014, Sobczyk i wsp. 2005, Welc-Fałęciak i wsp. 2009, Zygner i wsp. 2008, Zygner i wsp. 2009).

Przebieg babeszjozy u psów może być różny: od zarażeń podklinicznych i łagodnej postaci choroby do niewydolności wielonarządowej i kończącej się śmiercią choroby. Różnice te zależą w znacznym stopniu od gatunku pierwotniaka powodującego chorobę, ale również od innych czynników takich jak odpowiedź immunologiczna na zarażenie czy wiek zwierząt. Uważa się, że inwazje powodowane przez *B. rossi* powodują najcięższą postać choroby, podczas gdy zarażenia *B. vogeli* prowadzą do podklinicznej bądź łagodnej postaci babeszjozy. Choroba spowodowana zarażeniem występującym w Polsce gatunkiem *B. canis* prowadzi do rozwoju choroby o przebiegu umiarkowanym do ciężkiego (Irwin 2010, Schoeman 2009). Główną rolę w patogenezie choroby odgrywa odpowiedź immunologiczna. W przebiegu choroby dochodzi do rozwoju hemolizy, zespołu uogólnionej reakcji zapalnej oraz zespołu niewydolności wielonarządowej. W przebiegu babeszjozy u psów stwierdzano niewydolność nerek, uszkodzenie serca, wątroby oraz innych narządów (Jacobson 2006, Matijatko i wsp. 2012).

Ostra niewydolność nerek u psów w przebiegu babeszjozy następuje w wyniku uszkodzenia nerek, natomiast jednym z laboratoryjnych objawów tego powikłania jest azotemia (Máthé i wsp. 2007, Matijatko i wsp. 2012). W poprzednich badaniach Irwin i Hutchinson (1991) obserwowali u psów z babeszjozą zmiany histopatologiczne zinterpretowane przez autorów jako spowodowany hemoglobinurią zespół nerczycowy. Hemoglobinurię uznano wtedy, jako istotny czynnik powodujący uszkodzenie nerek w przebiegu babeszjozy psów w wyniku nefrotoksycznego działania met-hemoglobiny, szczególnie nasilającego się w środowisku kwaśnym (Jacobson i Clark 1994, Lobetti i Reyers 1996). Jednakże, w kolejnych badaniach Lobetti i wsp. (1996) wykazali, iż eksperymentalnie wywołana u zdrowych psów hemoglobinemia prowadząca do wystąpienia hemoglobinurii nie powoduje znaczącego uszkodzenia nerek u tych zwierząt. Uznano zatem, że hemoglobinuria w przebiegu babeszjozy psów nie powinna być istotnym czynnikiem wpływającym na rozwój niewydolności nerek i azotemii (Lobetti i wsp. 1996). Podobne wnioski wyciągnęli Lobetti i Jacobson (2001) oraz Zygner i Wędrychowicz (2009). W badaniach tych nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy poziomem azotemii a niedokrwistością, hemoglobinemią czy hemoglobinurią u psów zarażonych *B. rossi* w Republice Południowej Afryki oraz

u psów zarażonych *B. canis* w Polsce (Lobetti i Jacobson 2001, Zygner i Wędrychowicz 2009). Ponadto, Lobetti (2005) wykazał, brak met-hemoglobinemii bądź bardzo niskie stężenie met-hemoglobiny u psów zarażonych pierwotniakami z rodzaju *Babesia* z widoczną met-hemoglobinurią, stwierdzając, iż utlenianie hemoglobiny prowadzące do met-hemoglobinurii następować musi w miedniczkach nerkowych, moczowodach lub pęcherzu moczowym, a zatem hemoglobinuria czy też met-hemoglobinuria nie mają znaczącego wpływu na rozwój niewydolności nerek w przebiegu babeszjozy psów (Lobetti 2005a).

W kolejnych badaniach zasugerowano przednerkowe źródła azotemii w przebiegu babeszjozy psów. Lobetti i Jacobson (2001) badając funkcje nerek u psów zarażonych *B. rossi* stwierdzili, że u tych psów nieznaczne uszkodzenie nerek występuje znacznie częściej niż ostra niewydolność nerek, i zasugerowali, iż azotemia u części psów z babeszjozą może mieć źródło przednerkowe. Ponadto, Jacobson i wsp. (2000) wykazali spadek ciśnienia tętniczego krwi u psów zarażonych *B. rossi*. W pracy tej nie badano związku pomiędzy obniżeniem ciśnienia tętniczego krwi u zarażonych psów a rozwojem azotemii. W dalszych badaniach nad babeszjozą psów obniżone ciśnienie tętnicze krwi wykryto również u psów zarażonych *B. canis* w Polsce i Chorwacji (Matijatko i wsp. 2009, Zygner i Gójska-Zygner 2014).

W różnicowaniu azotemii przednerkowej i nerkowej użyteczne jest oznaczenie stężenia sodu w moczu i surowicy. U psów z azotemią przednerkową w nerkach następuje zatrzymanie sodu, podczas gdy kreatynina jest wydalana, natomiast u psów z ostrym uszkodzeniem nerek (powodującym azotemią nerkową) w nerkach następuje obniżenie wydalania kreatyniny, podczas gdy wydalanie sodu jest zwiększone (Ross 2011). Zatem, frakcyjne wydalanie sodu może być wykorzystane jako wskaźnik uszkodzenia nerek (Waldrop 2008). W związku z tym faktem Lobetti i Jacobson (2001) spodziewali się u psów zarażonych *B. rossi* rozwoju hiponatremii oraz wzrostu frakcyjnego wydalania sodu. Jednakże, pomimo stwierdzonej u tych psów hiponatremii nie zaobserwowano zwiększenia frakcyjnego wydalania sodu. Autorzy ci w związku z tym zasugerowali wzrost wydzielania aldosteronu (powodującego wzrost nerkowej retencji sodu) w odpowiedzi na obniżenie tętniczego ciśnienia krwi, jako jedno z prawdopodobnych wyjaśnień uzyskanych wyników (Lobetti i Jacobson 2001). Podobne wyniki badań uzyskano u psów zarażonych *B. canis* w Polsce (Adaszek i

wsp. 2012, Zygner i wsp. 2012a, Zygner i wsp. 2012b). W jednej z tych prac pomimo stwierdzenia hiponatremii u psów z babeszjozą, nie obserwowano różnicy w wydalaniu frakcyjnym sodu pomiędzy grupą psów zdrowych oraz psów zarażonych *B. canis* (Zygner i wsp. 2012a). Dalsze badania nad babeszjozą psów pokazały również zwiększenie wydzielania aldosteronu u psów zarażonych *B. canis* w odpowiedzi na spadek ciśnienia tętniczego krwi w przebiegu tej choroby (Gójska-Zygner i Zygner 2015), co potwierdziło wcześniejsze podejrzenia Lobetti i Jacobson (2001).

Innym powikłaniem babeszjozy psów jest uszkodzenie mięśnia sercowego (Lobetti 2005b). We wcześniejszych badaniach Lobetti i wsp. (2002) wykazali wzrost stężenia sercowej troponiny I w osoczu krwi psów zarażonych *B. rossi*. Białko to jest jednym z markerów uszkodzenia mięśnia sercowego. W badaniach tych Lobetti i wsp. (2002) stwierdzili zależność pomiędzy stężeniem sercowej troponiny I w osoczu krwi oraz ciężkością przebiegu choroby i występowaniem zmian histologicznych w mięśniu sercowym (martwica mięśnia sercowego, krwotoki w obrębie wsierdza i osierdza, nacieki zapalne oraz formowanie zakrzepów w licznych naczyniach krwionośnych serca) u psów zarażonych *B. rossi*. W pracy tej jednak, podobnie jak w innej pracy nad powikłaniami ze strony serca w przebiegu babeszjozy psów (Dvir i wsp. 2004) nie stwierdzono zależności pomiędzy zmianami w EKG a zmianami histologicznymi w mięśniu sercowym oraz stężeniem sercowej troponiny I w osoczu krwi zarażonych psów. Według Lobetti (2005b) powikłania ze strony serca w przebiegu babeszjozy psów mogą mieć również wpływ na przepływ krwi przez nerki, a uszkodzenie nerek (spowodowane niedotlenieniem komórek kanalików nerkowych na skutek obniżenia ciśnienia krwi) może być wtórne do obserwowanych zmian w mięśniu sercowym. Jednakże, kolejne badania nad powikłaniami ze strony serca w przebiegu babeszjozy psów nie wykazały korelacji pomiędzy stężeniem mózgowego peptydu natriuretycznego (jeden z markerów uszkodzenia mięśnia sercowego) w osoczu krwi a stężeniem mocznika i kreatyniny w surowicy psów zarażonych *B. rossi* (Lobetti i wsp. 2012). Należy jednak zaznaczyć, iż według autorów tej pracy wzrost stężenia mózgowego peptydu natriuretycznego w osoczu następuje wcześniej niż wzrost stężenia sercowej troponiny I w osoczu zarażonych psów, co może tłumaczyć brak korelacji pomiędzy stężeniem mózgowego peptydu natriuretycznego a poziomem azotemii w tych badaniach (Lobetti i wsp. 2012).



W przeprowadzonych na Węgrzech badaniach histologicznych nerek psów zarażonych *B. canis* stwierdzono zmiany typowe dla niedotlenienia tego narządu (Máthé i wsp. 2007). Większość zmian histologicznych obserwowano w kanalikach bliższych. Autorzy tej pracy rzadko natomiast stwierdzali obecność złogów hemoglobiny w kanalikach nerkowych, jak również nie zaobserwowali zmian w kłębuszkach nerkowych (Máthé i wsp. 2007). Należy jednak zaznaczyć, iż w Japonii u koni zarażonych eksperymentalnie *B. caballi* stwierdzono rozwój kłębuszkowego zapalenia nerek (Hanafusa i wsp. 1998). Ponadto, kłębuszkowe zapalenie nerek stwierdzono również w Polsce u psa z ostrą niewydolnością nerek zarażonego *B. canis* (Pomianowski i wsp. 2008). Z kolei w Republice Południowej Afryki w ostatnich badaniach nad uszkodzeniem nerek u psów z babeszjozą stwierdzono zmiany wskazujące zarówno na zaburzenia funkcjonowania kłębuszków jak i kanalików nerkowych u psów zarażonych *B. rossi* (Defauw i wsp. 2012).

Przedstawione dane literaturowe pokazują złożony mechanizm rozwoju azotemii w przebiegu babeszjozy psów. Prawdopodobnie również inne czynniki biorą udział w rozwoju azotemii w przebiegu tej choroby. Lobetti (2005a) sugeruje, iż wzrost stężenia mocznika w surowicy zarażonych psów może mieć związek z nasileniem przemian katabolicznych białek na skutek występujących w przebiegu choroby zapalenia i gorączki. W poprzednich badaniach sugerowano również, że przyczyną wzrostu stężenia mocznika w surowicy psów oraz wzrostu stosunku stężenia mocznika do kreatyniny może wynikać ze zwiększonego dostarczania amoniaku do wątroby wynikającego z hemolizy czy też krwawień dojelitowych (Lobetti 2005a, de Scally i wsp. 2006). Jednakże, według Lobetti (2012) wzrost stosunku stężenia mocznika do kreatyniny na skutek zwiększonego dostarczaniem do wątroby hemoglobiny, błędów laboratoryjnych (fotometryczna interferencja spowodowana wolną hemoglobina w surowicy powodująca fałszywy wzrost stężenia mocznika bądź obniżenie stężenia kreatyniny podczas oznaczania tych stężeń w analizatorze biochemicznym) czy też krwawień dojelitowych wydaje się mało prawdopodobne.

Ponadto, jako czynnik mogący mieć wpływ na rozwój ostrej niewydolności nerek i w konsekwencji azotemii w przebiegu babeszjozy psów należy również uwzględnić zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, który stwierdzano również w niektórych przypadkach tej choroby (Holloway 2000,

Lobetti 2005a, Ruiz de Gopegui i wsp. 2007, Barić Rafaj i wsp. 2009, Barić Rafaj i wsp. 2013).

W przedstawionych powyżej danych literaturowych zaprezentowano mechanizmy rozwoju azotemii w przebiegu babeszjozy psów. Jednakże, większość badań nad tą chorobą dotyczyła psów zarażonych *B. rossi*. Ponadto, autorzy tych badań nie porównywali parametrów laboratoryjnych pomiędzy psami z azotemią i bez azotemii zarażonych pierwotniakami z rodzaju *Babesia*, jak również nie badano związku pomiędzy azotemią a obniżeniem ciśnienia tętniczego krwi u zarażonych psów.

W prezentowanym cyklu badań przyjęto hipotezę, że w przebiegu babeszjozy psów azotemia nerkowa poprzedzona jest azotemią przednerkową, w której rozwoju bierze udział obniżenie ciśnienia tętniczego krwi następujące na skutek działania różnych czynników m.in. podwyższonego stężenia TNF- $\alpha$  czy też obniżonego stężenia hormonów tarczycy we krwi.

Cele pracy:

1. Ocena typu azotemii w przebiegu babeszjozy psów spowodowanej zarażeniem *B. canis*.
2. Ocena związku pomiędzy zmianami w ciśnieniu tętniczym krwi a poziomem azotemii w przebiegu babeszjozy psów.
3. Ocena związku wybranych czynników (stężenia w surowicy hormonów tarczycy, TNF- $\alpha$ , IL-6) z rozwojem azotemii w przebiegu babeszjozy psów.

### **Ocena typu azotemii w przebiegu babeszjozy psów spowodowanej zarażeniem *B. canis***

W nerkach zdrowych psów wchłanianie zwrotne sodu odbywa się w kanalikach nerkowych, z czego większość ma miejsce w kanalikach nerkowych bliższych (DiBartola 2006). Według Lobetti i Jacobson (2001) stwierdzana u części psów z babeszjozą hiponatremia może wskazywać na wczesne zaburzenia funkcjonowania kanalików nerkowych. W badaniach własnych również stwierdzono występowanie hiponatremii u psów z babeszjozą spowodowaną inwazją *B. canis* (Zygner i wsp. 2012b (publikacja nr 7)). Porównując stężenie sodu w surowicy psów z babeszjozą stwierdzono niższe stężenie sodu w surowicy

u psów z azotemią (odwodnione 3 psy spośród 28 zwierząt) w porównaniu z grupą psów bez azotemii (odwodnionych 16 psów spośród 42 zwierząt). W związku z faktem, iż większość odwodnionych psów należała do grupy psów bez azotemii, uzyskany rezultat mógł wynikać ze spadku ciśnienia tętniczego krwi i zmniejszenia perfuzji nerkowej w grupie psów z azotemią. Przyjęto hipotezę, że te zmiany mogły powodować aktywację dwóch mechanizmów: aktywacja układu renina-angiotensyna-aldosteron powodująca zatrzymywanie sodu i wody w organizmie oraz aktywacja wydzielania hormonu antydiuretycznego w wyniku obniżenia ciśnienia tętniczego krwi powodująca zmniejszenie wydalania wody prowadząc do rozcieńczenia jonów sodu we krwi pomimo jego wchłaniania zwrotnego. Wynik ten pozwolił również na postawienie podejrzenia rozwoju azotemii przednerkowej u części psów zarażonych *B. canis*. W późniejszych badaniach potwierdzono również zwiększone wydzielanie aldosteronu w przebiegu babeszjozy psów (Gójska-Zygner i Zygnier 2015).

W kolejnych badaniach stwierdzono wyższą medianę frakcyjnego wydalania sodu u psów z azotemią zarażonych *B. canis* (1,35%) w porównaniu z grupą zarażonych psów bez azotemii (Zygner i wsp. 2012a (publikacja nr 6)). Przyjmuje się, że wartość tego parametru większa niż 2% wskazuje na ostrą martwicę kanalików nerkowych, natomiast wartość poniżej 1% wskazuje na azotemię przednerkową (Waldrop 2008). W związku z tym, uzyskane wyniki (Zygner i wsp. 2012a (publikacja nr 6)) wskazywać mogły na ostrą martwicę kanalików nerkowych u części psów z azotemią zarażonych *B. canis*. Ponadto, wynik tych badań wskazywał na fakt, iż stwierdzona we wcześniejszej pracy hiponatremia (Zygner i wsp. 2012b (publikacja nr 7)) spowodowana mogła być nie tylko rozcieńczeniem jonów sodu w surowicy badanych psów, ale również mogła wynikać ze zwiększonego wydalania frakcyjnego sodu. W omawianej pracy (Zygner i wsp. 2012a (publikacja nr 6)) stwierdzono również silną korelację ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,001$ ) czasu trwania choroby oraz wartości wydalania frakcyjnego sodu. Wynik ten wskazywać może, że przebiegu babeszjozy psów spowodowanej inwazją *B. canis* azotemia przednerkowa w miarę postępu choroby przechodzi w azotemię nerkową.

Wyniki kolejnej pracy nad oceną typu azotemii w przebiegu babeszjozy psów spowodowanej inwazją *B. canis* pozwoliły na rozpoznanie zarówno azotemii przednerkowej jak i nerkowej u zarażonych zwierząt (Zygner i wsp. 2013

(publikacja nr 5)). W różnicowaniu azotemii przednerkowej i nerkowej użyteczne są również dwa parametry takie jak stosunek stężenia kreatyniny w moczu do stężenia kreatyniny w surowicy oraz wskaźnik niewydolności nerek (Waldrop 2008). Wartość stosunku stężenia kreatyniny w moczu do stężenia kreatyniny w surowicy powyżej 40 oraz wartość wskaźnika niewydolności nerek poniżej 1 wskazują na azotemię przednerkową. Te same wskaźniki, odpowiednio, poniżej 20 i powyżej 2 wskazują na azotemię nerkową (Waldrop 2008). W omawianych badaniach (Zygner i wsp. 2013 (publikacja nr 5)) spośród 9 psów z azotemią zarażonych *B. canis* u 3 psów wymienione wskaźniki nerkowe miały wartości typowe dla azotemii przednerkowej, u 5 psów wskaźniki te wskazywały na azotemię nerkową, natomiast u 1 psa najprawdopodobniej rozwijała się azotemia nerkowa (stosunek stężenia kreatyniny w moczu do stężenia kreatyniny w surowicy był poniżej 20, jednak wskaźnik niewydolności nerek wynosił 1,97). Ponadto, stwierdzenie w tej pracy silnej dodatniej korelacji pomiędzy wskaźnikiem niewydolności nerek i czasem trwania choroby było zgodne z wynikami poprzednich badań (Zygner i wsp. 2012a (publikacja nr 6)), co pozwoliło przypuszczać, iż w przebiegu babeszjozy psów spowodowanej inwazją *B. canis* azotemia nerkowa jest następstwem rozwijającej się wcześniej azotemii przednerkowej.

Wyniki omówionych powyżej badań pozwalają na stwierdzenie, iż w przebiegu babeszjozy psów spowodowanej inwazją *B. canis* rozwija się zarówno azotemia przednerkowa jak i nerkowa. Zróżnicowanie pomiędzy odwracalną azotemią przednerkową oraz nieodwracalną ostrą martwicą kanalików nerkowych jest istotne z punktu widzenia lekarza klinicysty. Silna korelacja pomiędzy czasem trwania choroby przed jej rozpoznaniem a wartościami wskaźnika niewydolności nerek i wydalania frakcyjnego sodu pokazuje, że czas, jaki upływa od wystąpienia pierwszych objawów inwazji do podjęcia właściwego leczenia jest kluczowy z klinicznego punktu widzenia. Wyniki omówionych badań opublikowano w następujących artykułach (publikacje nr 5, 6 i 7):

**7. Zygner W., Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H.** Strong monovalent electrolyte imbalances in serum of dogs infected with *Babesia canis*. Ticks and Tick-borne Diseases, 2012, 3, 107-113.

**6. Zygnier W., Gójska-Zygnier O., Wędrychowicz H.** Changes in the SUSPPUP ratio and fractional excretion of strong monovalent electrolytes in hospitalized dogs with canine babesiosis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2012, 15, 791-792.

**5. Zygnier W., Gójska-Zygnier O., Wesołowska A., Wędrychowicz H.** Urinary creatinine to serum creatinine ratio and renal failure index in dogs infected with *Babesia canis*. *Acta Parasitologica*, 2013, 58, 297-303

### **Ocena związku pomiędzy zmianami w ciśnieniu tętniczym krwi a poziomem azotemii w przebiegu babeszjozy psów**

Jak wyżej wspomniano spadek ciśnienia tętniczego krwi obserwowano u psów zarażonych *B. rossi* i *B. canis* (Jacobson i wsp. 2000, Matijatko i wsp. 2009). W pracach tych jednak nie badano wpływu obniżonego ciśnienia tętniczego krwi na rozwój azotemii i stopnia jej zaawansowania. W prezentowanych badaniach nad wpływem obniżenia ciśnienia tętniczego krwi psów zarażonych *B. canis* stwierdzono istotnie niższe ciśnienie skurczowe, rozkurczowe i średnie ciśnienie tętnicze krwi u zarażonych psów w porównaniu z grupą zdrowych psów (Zygnier i Gójska-Zygnier 2014a (publikacja nr 4)). Ponadto, stwierdzono istotnie niższe ciśnienie skurczowe, rozkurczowe i średnie ciśnienie tętnicze krwi u zarażonych psów z azotemią w porównaniu z zarażonymi psami bez azotemii. W badaniach tych wykazano również statystycznie istotną ujemną korelację pomiędzy poziomem azotemii a tętniczym ciśnieniem skurczowym, rozkurczowym oraz średnim u zarażonych psów. Uzyskane wyniki wskazują na wpływ obniżenia tętniczego ciśnienia krwi na rozwój azotemii w przebiegu babeszjozy psów.

W kolejnej pracy oceniano występowanie korelacji pomiędzy ciśnieniem tętniczym krwi a stosunkiem stężenia mocznika do stężenia kreatyniny w surowicy u psów zarażonych *B. canis* (Zygnier i Gójska-Zygnier 2014b (publikacja nr 3)). Stosunek stężenia mocznika do stężenia kreatyniny w surowicy jest jednym ze wskaźników użytecznych w różnicowaniu azotemii przednerkowej i nerkowej. Wzrost wartości tego wskaźnika występuje, gdy wzrost stężenia mocznika w surowicy jest nieadekwatnie wyższy niż wzrost stężenia kreatyniny w surowicy, lub też, gdy pomimo wzrostu stężenia mocznika w surowicy, stężenie kreatyniny pozostaje w zakresie wartości referencyjnych. Wzrost wartości tego wskaźnika

obserwowano wcześniej u psów zarażonych *B. rossi* (de Scally i wsp. 2006, Lobetti 2012). De Scally i wsp. (2006) wykazali, że u zarażonych psów ze stężeniem kreatyniny w zakresie wartości referencyjnych wzrost wartości stosunku stężenia mocznika do stężenia kreatyniny w surowicy nie jest związany z uszkodzeniem nerek. Ponadto, Lobetti (2012) wykluczył hemoglobinemię, błędy laboratoryjne związane z fotometryczną interferencją w analizatorze biochemicznym oraz krwawienia do przewodu pokarmowego, jako przyczynę wzrostu wartości stosunku stężenia mocznika do stężenia kreatyniny w surowicy w przebiegu babeszjozy psów. W pracy tej jednak nie badano wpływu spadku ciśnienia tętniczego krwi na wzrost wartości tego wskaźnika. W prezentowanych badaniach stwierdzono wyższą wartość stosunku stężenia mocznika do stężenia kreatyniny w surowicy u psów zarażonych *B. canis* w porównaniu z grupą zdrowych psów, oraz wyższą wartość tego wskaźnika u zarażonych psów z azotemią w porównaniu z grupą zarażonych psów bez azotemii (Zygner i Gójska-Zygner 2014b (publikacja nr 3)). Wynik ten jest zgodny z wynikami wcześniejszych badań i wskazuje na rozwój azotemii przednerkowej. W omawianej pracy stwierdzono również statystycznie istotne ujemne korelacje pomiędzy wartością stosunku stężenia mocznika do stężenia kreatyniny w surowicy a skurczowym, rozkurczowym i średnim ciśnieniem tętniczym krwi u zarażonych psów. Wyniki te wskazują na wpływ obniżenia ciśnienia tętniczego krwi na wzrost stężenia mocznika w surowicy z równoczesnym nieznacznym wzrostem lub brakiem wzrostu stężenia kreatyniny w surowicy psów z babeszjozą. Należy zaznaczyć jednak, że stwierdzone korelacje nie były wysokie, co wskazywać może, iż również inne czynniki odgrywają rolę we wzroście wartości stosunku stężenia mocznika do stężenia kreatyniny w surowicy w przebiegu babeszjozy psów. W prezentowanych badaniach nie stwierdzono również korelacji pomiędzy wartością omawianego stosunku stężeń a ciśnieniem tętniczym krwi w grupie zarażonych psów z azotemią. Ten brak korelacji prawdopodobnie wynika z faktu, iż w grupie psów z azotemią zarażonych *B. canis* obecne były zarówno psy z azotemią przednerkową (związanej ze wzrostem wartości stosunku stężenia mocznika do stężenia kreatyniny w surowicy) jak i z azotemią nerkową (związanej z obniżeniem wartości stosunku stężenia mocznika do stężenia kreatyniny w surowicy).

Wyniki omówionych wyżej badań wskazują na wpływ obniżenia ciśnienia tętniczego krwi na rozwój azotemii oraz wzrost stężenia mocznika w surowicy z równoczesnym nieznacznym wzrostem lub brakiem wzrostu stężenia kreatyniny w surowicy psów z babeszjozą. Wyniki te wskazują również na znaczenie pomiaru ciśnienia tętniczego krwi u psów z babeszjozą w praktyce klinicznej oraz jego użyteczność w przewidywaniu dalszego rozwoju azotemii u psów zarażonych *B. canis*. Wyniki omówionych badań opublikowano w następujących artykułach (publikacje nr 3 i 4):

**4. Zygnier W., Gójska-Zygnier O.** Association between decreased blood pressure and azotaemia in canine babesiosis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2014, 17, 173-175.

**3. Zygnier W., Gójska-Zygnier O.** Increased serum urea to creatinine ratio and its negative correlation with arterial pressure in canine babesiosis. *Acta Parasitologica*, 2014, 59, 548-551.

#### **Ocena związku wybranych czynników (stężenia w surowicy hormonów tarczycy, TNF- $\alpha$ oraz IL-6) z rozwojem azotemii w przebiegu babeszjozy psów**

Zwiększona produkcja cytokin prozapalnych uważana jest za jeden z istotnych czynników wpływających na ciężkość przebiegu babeszjozy psów (Matijatko i wsp. 2012). Czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- $\alpha$ ) jest jedną z cytokin uznawanych za odpowiedzialną za wystąpienie zaburzeń funkcjonowania nerek w przebiegu babeszjozy psów (Matijatko i wsp. 2009). Zwiększoną produkcję TNF- $\alpha$  obserwowano w przebiegu babeszjozy ludzi, bydła oraz psów (Shaio i Lin 1998, Vaughan-Scott 2001, Kontaš i Salmanoğlu 2006). Cytokina ta bierze udział w syntezie tlenku azotu, którego działanie z kolei związane jest z obniżeniem ciśnienia krwi (Chauvin i wsp. 2009). Jacobson i wsp. (2002) stwierdzili wzrost stężenia metabolitów tlenku azotu w surowicy psów zarażonych *B. rossi*. W wymienionych powyżej pracach na temat wzrostu produkcji TNF- $\alpha$  i metabolitów tlenku azotu w przebiegu babeszjozy psów nie badano jednak wpływu zwiększonej produkcji TNF- $\alpha$  na obniżenie tętniczego ciśnienia krwi oraz rozwój azotemii u zarażonych zwierząt.

Pomimo wcześniejszych badań nad zmianami w stężeniu TNF- $\alpha$  w surowicy psów zarażonych *B. rossi* (Vaughan-Scott 2001 – praca magisterska), wyniki prezentowanych badań nad zmianami w stężeniu TNF- $\alpha$  w surowicy psów z babeszjozą są pierwszymi wynikami na świecie opublikowanymi w czasopiśmie recenzowanym (Zygner i wsp. 2014 (publikacja nr 2)). Wyniki tych badań pokazały silną ujemną korelację pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w surowicy a ciśnieniem tętniczym krwi u psów z babeszjozą. Na tej podstawie, oraz wynikach wcześniejszych badań nad obecnością metabolitów tlenu azotu we krwi psów z babeszjozą (Jacobson i wsp. 2002), stwierdzono, iż TNF- $\alpha$  biorąc udział w syntezie tlenu azotu prowadzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych i przez to powoduje obniżenie ciśnienia tętniczego krwi prowadzącego do rozwoju azotemii w przebiegu babeszjozy psów. Wniosek ten potwierdzać mogą również inne wyniki badań uzyskane w omawianej pracy, w których stwierdzono silną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w surowicy zarażonych psów a poziomem azotemii u tych zwierząt. Stwierdzono również silne korelacje pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w surowicy zarażonych psów a wskaźnikami uszkodzenia nerek takimi jak frakcyjne wydalanie sodu (korelacja dodatnia) oraz stosunek stężenia kreatyniny w moczu do stężenia kreatyniny w surowicy (korelacja ujemna). Wyniki te pokazują wpływ TNF- $\alpha$  na rozwój niewydolności nerek w przebiegu babeszjozy psów. W pracy tej nie stwierdzono jednak istotnej statystycznie korelacji pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w surowicy a wartością wskaźnika niewydolności nerek. Wydaje się prawdopodobne, że brak tej istotności wynikał z małej grupy zwierząt włączanej do prezentowanych badań. W omawianej pracy stwierdzono również silną ujemną korelację pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w surowicy a ciężarem właściwym moczu u zarażonych psów. Wydaje się prawdopodobne, że wynik ten związany jest ze zmianą azotemii przednerkowej (wyższy ciężar właściwy moczu) w nerkową (niższy ciężar właściwy moczu) wraz ze wzrostem stężenia TNF- $\alpha$  w surowicy chorych zwierząt (Ristic i Skeldon 2013). Inny wynik uzyskany w omawianej pracy może potwierdzać to przypuszczenie; stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w surowicy a czasem trwania choroby przed zgłoszeniem zarażonego psa do leczenia.

Wyniki prezentowanych badań wskazują, że TNF- $\alpha$  prowadzi do obniżenia ciśnienia tętniczego krwi i azotemii przednerkowej na początku inwazji, a następnie w miarę postępu choroby, prowadzi również do rozwoju azotemii



nerkowej, najprawdopodobniej na skutek zmniejszonego przepływu krwi przez nerki powodując ich niedotlenienie, co prowadzi do uszkodzenia kanalików nerkowych.

We wcześniejszych badaniach nad babeszjozą psów spowodowaną *B. rossi* stwierdzono również obniżenie stężenia hormonów tarczycy (wolnej i całkowitej tyroksyny) w surowicy zarażonych zwierząt (Schoeman i wsp. 2007, Schoeman i Herrtage 2007). Zjawisko to określane jest, jako zespół eutyreozy chorobowej, zespół niskiej trójiodotyroniny lub zespół niskiej T3 (Wajner i Maia 2012). W pracach tych wykazano, że obniżenie stężenia hormonów tarczycy we krwi związane jest z ciężkością przebiegu babeszjozy oraz śmiertelnością u zarażonych psów. W prezentowanych badaniach stwierdzono, że obniżenie stężenia wolnej i całkowitej tyroksyny występuje również u psów zarażonych *B. canis* (Zygner i wsp. 2012c (publikacja nr 8)). W pracy tej wykazano ujemną korelację pomiędzy stężeniem tyroksyny (zarówno wolnej jak i całkowitej) a poziomem azotemii u zarażonych psów. Podejrzewano, że zjawisko to spowodowane jest wpływem interleukiny 6 (IL-6) na oś podwzgórze-przysadka-tarczyca.

Wiadomo również, iż hormony tarczycy mają wpływ na pracę serca, nerkowy przepływ krwi oraz funkcjonowanie nerek (van Hoek i Daminet 2009). Zmniejszenie przepływu krwi przez nerki oraz obniżenie filtracji nerkowej obserwowano u ludzi, psów i szczurów z niedoczynnością tarczycy (van Hoek i Daminet 2009). Zatem, pomimo faktu, iż w przebiegu babeszjozy u psów dochodzi do rozwoju zespołu eutyreozy chorobowej (a nie niedoczynności tarczycy), stwierdzenie w przebiegu tej choroby zmian w stężeniach hormonów tarczycy rodzi pytanie: czy poziom tych hormonów u psów zarażonych pierwotniakami z rodzaju *Babesia* jedynie odzwierciedla ciężkość choroby, czy też również przyczynia się do jej pogłębienia?

Kolejne badania są pierwszą pracą na świecie, w której zespół niskiej T3 potwierdzono u psów z babeszjozą poprzez wykrycie obniżenia stężenia całkowitej trójiodotyroniny w surowicy (Zygner i wsp. 2015 (publikacja nr 1)). W pracy tej stwierdzono wzrost stężenia IL-6 w surowicy psów zarażonych *B. canis*. Wykazano negatywne korelacje pomiędzy stężeniem w surowicy IL-6 a stężeniami całkowitej T3 i tyreotropiny (TSH) w surowicy zarażonych psów. Uzyskany wynik potwierdzać może hamujący wpływ IL-6 na działanie osi podwzgórze-przysadka-tarczyca w przebiegu babeszjozy psów. Zaobserwowany

efekt najprawdopodobniej wynika z kilku mechanizmów działania IL-6: a) obniżenie aktywności dehidrogenaz typu 1 i 2 będących enzymami przekształcającymi tyroksynę do trójjodotyroniny, będącej aktywnym biologicznie hormonem tarczycy (Wajner i Maia 2012); b) zmniejszenie produkcji i wydzielania tyreoliberyny (TRH) w podwzgórzcu (Warner i Beckett 2010); c) zmniejszenie wydzielania TSH przez bezpośrednią i pośrednią stymulację wydzielania kortyzolu na skutek stymulacji wydzielania hormonu adrenokortykotropowego i kortykoliberyny (Torpy i wsp. 1998, Kishimoto 2003, Warner i Beckett 2010). W omawianej pracy wykazano również silne istotne statystycznie korelacje pomiędzy poziomem azotemii a stężeniami w surowicy IL-6 (korelacja dodatnia) i trójjodotyroniny (korelacja ujemna). W omawianej pracy wykazano związek pomiędzy stężeniem IL-6 w surowicy, zespołem niskiej T3 oraz azotemią. Wydaje się prawdopodobne, że obserwowane w tych badaniach: wzrost stężenia IL-6 w surowicy zarażonych psów oraz obniżenie stężenia w surowicy hormonów tarczycy i TSH wynikały z ciężkości choroby (Wajner i Maia 2012). Jednakże, nie można wykluczyć udziału IL-6 oraz zespołu niskiej T3 w rozwoju azotemii w przebiegu babeszjozy psów. Udział ten może wynikać z wpływu hormonów tarczycy na pracę serca oraz funkcjonowanie nerek (van Hoek i Daminet 2009).

Wyniki przedstawionych badań pokazały wpływ TNF- $\alpha$  na rozwój hipotensji i azotemii oraz związek pomiędzy IL-6, zespołem niskiej T3 i azotemią w przebiegu babeszjozy psów. Wyniki omówionych badań opublikowano w następujących artykułach (publikacje nr 1, 2 i 8):

**8. Zygnier W.,** Gójska-Zygnier O., Wędrychowicz H. Euthyroid sick syndrome in canine babesiosis caused by *Babesia canis*. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2012, 56, 525-527.

**2. Zygnier W.,** Gójska-Zygnier O., Bąska P., Długosz E. Increased concentration of serum TNF alpha and its correlations with arterial blood pressure and indices of renal damage in dogs infected with *Babesia canis*. Parasitology Research, 2014, 113, 1499-1503.

**1. Zygnier W.,** Gójska-Zygnier O., Bąska P., Długosz E. Low T3 syndrome in canine babesiosis associated with increased serum IL-6 concentration and azotaemia. Veterinary Parasitology, 2015, 211, 23-27.

## Podsumowanie

Uzyskane wyniki pozwoliły na potwierdzenie większości tez stawianych w wyżej przyjętej hipotezie, zgodnie z którą stwierdzono, że w przebiegu babeszjozy psów na wczesnym etapie choroby występuje azotemia przednerkowa, natomiast w miarę postępu choroby zaczyna rozwijać się azotemia nerkowa. W rozwoju zarówno azotemii przednerkowej jak i nerkowej bierze udział obniżenie ciśnienia tętniczego krwi, do którego wystąpienia przyczynia się wzrost stężenia we krwi TNF- $\alpha$ . Wykazano również związek pomiędzy zwiększoną produkcją IL-6, obniżeniem stężenia hormonów tarczycy oraz azotemią w przebiegu babeszjozy psów. Nie udało się jednak jednoznacznie ustalić, czy obniżenie stężenia hormonów tarczycy (następujące na skutek działania podwyższonego stężenia IL-6) przyczynia się również do obniżenia ciśnienia tętniczego krwi a następnie rozwoju azotemii u zarażonych psów, aczkolwiek na podstawie uzyskanych wyników nie można tego wykluczyć. Uzyskane wyniki są pierwszymi na świecie, w których wykazano wpływ obniżenia ciśnienia tętniczego krwi na rozwój azotemii przednerkowej i nerkowej w przebiegu babeszjozy psów oraz wpływ zwiększonej produkcji TNF- $\alpha$  na spadek ciśnienia krwi i rozwój azotemii w przebiegu tej choroby.

## Wnioski

Wyniki uzyskane w przedstawionym cyklu publikacji zatytułowanym „Mechanizm rozwoju azotemii u psów chorych na babeszjozę” pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. W przebiegu babeszjozy psów spowodowanej inwazją *B. canis* występuje zarówno azotemia przednerkowa jak i nerkowa.
2. Obniżenie ciśnienia krwi u psów zarażonych *B. canis* prowadzi do rozwoju azotemii oraz wzrostu stosunku stężenia mocznika do kreatyniny w surowicy zarażonych psów.

3. Zażenie psów pierwotniakiem *B. canis* prowadzi do zwiększenia produkcji TNF- $\alpha$ . Cytokina ta przyczynia się do obniżenia ciśnienia tętniczego krwi oraz azotemii przednerkowej i nerkowej.

4. W przebiegu babeszjozy psów spowodowanej inwazją *B. canis* następuje zwiększona produkcja IL-6 powodująca rozwój zespołu niskiej T3, co związane jest ze wzrostem poziomu azotemii.

#### Literatura

Adaszek Ł., Górna M., Winiarczyk S. Electrolyte level and blood pH in dogs infected by various 18S RNA strains of *Babesia canis canis* on the early stage of babesiosis. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 2012, 125, 45-51.

Adaszek Ł., Winiarczyk S. Molecular characterization of *Babesia canis canis* isolates from naturally infected dogs in Poland. *Veterinary Parasitology*, 2008, 152, 235-241.

Baneth G., Florin-Christensen M., Cardoso L., Schnittger L. Reclassification of *Theileria annae* as *Babesia vulpes* sp. nov. *Parasites & Vectors*, 2015, 8, 207 (doi: 10.1186/s13071-015-0830-5).

Barić Rafaj R., Kuleš J., Selanec J., Vrkić N., Zovko V., Zupančič M., Trampuš Bakija A., Matijatko V., Crnogaj M., Mrljak V. Markers of coagulation activation, endothelial stimulation, and inflammation in dogs with babesiosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2013, 27, 1172-1178.

Barić Rafaj R., Matijatko V., Kiš I., Kučer N., Živičnjak T., Lemo N., Žvorc Z., Brkljačić M., Mrljak V. Alterations in some blood coagulation parameters in naturally occurring cases of canine babesiosis. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2009, 57, 295-304.

Chauvin A., Moreau E., Bonnet S., Plantard O., Malandrin L. *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Veterinary Research*, 2009, 40, 37. doi: 10.1051/vetres/2009020

de Scally M.P., Leisewitz A.L., Lobetti R.G., Thompson P.N. The elevated serum urea:creatinine ratio in canine babesiosis in South Africa is not of renal

- origin. Journal of the South African Veterinary Association, 2006, 77, 175-178.
- Defauw P., Schoeman J.P., Smets P., Goddard A., Meyer E., Liebenberg C., Daminet S. Assessment of renal dysfunction using urinary markers in canine babesiosis caused by *Babesia rossi*. Veterinary Parasitology, 2012, 190, 326-332.
- DiBartola S.P. Disorders of sodium and water: hypernatremia and hyponatremia. In: DiBartola S.P. Fluid, Electrolyte, and Acid–Base Disorders in Small Animal Practice. 3rd ed. Saunders Elsevier, St. Louis 2006, pp. 47-79.
- Dvir E., Lobetti R.G., Jacobson L.S., Pearson J., Becker P.T. Electrocardiographic changes and cardiac pathology in canine babesiosis. Journal of Veterinary Cardiology, 2004, 6, 15-23.
- Dzięgiel B., Kubrak T., Adaszek Ł., Dębiak P., Wylupek D., Bogucka-Kocka A., Lechowski J., Winiarczyk S. Prevalence of *Babesia canis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Anaplasma phagocytophilum* in hard ticks collected from meadows of Lubelskie Voivodship (eastern Poland). Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2014, 58, 29-33.
- Gójska-Zygner O., Zygnier W. Hyperaldosteronism and its association with hypotension and azotaemia in canine babesiosis. Veterinary Quarterly, 2015, 35, 37-42.
- Hanafusa Y., Cho K.-O., Kanemaru T., Wada R., Sugimoto C., Onuma M. Pathogenesis of *Babesia caballi* Infection in Experimental Horses. Journal of Veterinary Medical Science, 1998, 60, 1127-1132.
- Holloway S.A. Disseminated Intravascular Coagulation. In: Day M., Mackin A., Littlewood J. Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. BSAVA, Gloucester 2000, pp. 253-260.
- Irwin P.J. Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. Parasites & Vectors, 2009, 2 (Suppl. 1), S4 (doi:10.1186/1756-3305-2-S1-S4).
- Irwin P.J. Canine Babesiosis. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 2010, 40, 1141-1156.
- Irwin P.J., Hutchinson G.W. Clinical and pathological findings of *Babesia* infection in dogs. Australian Veterinary Journal, 1991, 68, 204-209.

- Jacobson L.S. The South African form of severe and complicated canine babesiosis: Clinical advances 1994–2004. *Veterinary Parasitology*, 2006, 138, 126-139.
- Jacobson L.S., Clark I.A. The pathophysiology of canine babesiosis: new approaches to an old puzzle. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1994, 65, 134-145.
- Jacobson L.S., Lobetti R.G., Vaughan-Scott T. Blood pressure changes in dogs with babesiosis. *Journal of the South African Veterinary Association*, 2000, 71, 14-20.
- Jacobson L.S., Lobetti R.G., Becker P., Reyers F., Vaughan-Scott T. Nitric oxide metabolites in naturally occurring canine babesiosis. *Veterinary Parasitology*, 2002, 104, 27-41.
- Kishimoto T. Interleukin-6 (IL-6). In: Thomson A.W., Lotze M. *The Cytokine Handbook*, vol. 1, 4th ed. Academic Press, London 2003, pp. 281-304.
- Kontaş T., Salmanoğlu B. Tumour necrosis factor- $\alpha$ , adenosine deaminase and nitric oxide levels in cattle babesiosis before and after treatment. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2006, 50, 485-487.
- Lobetti R.G. The pathophysiology of renal and cardiac changes in canine babesiosis. PhD thesis, University of Pretoria, 2005a.
- Lobetti R.G. Cardiac involvement in canine babesiosis. *Journal of the South African Veterinary Association*, 2005b, 76, 4-8.
- Lobetti R. Changes in the serum urea: Creatinine ratio in dogs with babesiosis, haemolytic anaemia, and experimental haemoglobinaemia. *Veterinary Journal*, 2012, 191, 253-256.
- Lobetti R.G., Dvir E., Pearson J. Cardiac Troponins in Canine Babesiosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2002, 16, 63-68.
- Lobetti R.G., Jacobson L.S. Renal involvement in dogs with babesiosis. *Journal of the South African Veterinary Association*, 2001, 72, 23-28.
- Lobetti R., Kirberger R., Keller N., Kettner F., Dvir E. NT-ProBNP and cardiac troponin I in virulent canine babesiosis. *Veterinary Parasitology*, 2012, 190, 333-339.
- Lobetti R.G., Reyers F. Met-haemoglobinuria in naturally occurring *Babesia canis* infection. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1996, 67, 88-90.

- Lobetti R.G., Reyers F., Nesbit J.W. The comparative role of haemoglobinaemia and hypoxia in the development of canine babesial nephropathy. *Journal of the South African Veterinary Association*, 1996, 67, 188-198.
- Máthé A., Dobos-Kovács M., Vörös K. Histological and ultrastructural studies of renal lesions in *Babesia canis* infected dogs treated with imidocarb. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2007, 55, 511-523.
- Matijatko V., Kiš I., Torti M., Brkljačić M., Kučer N., Barić Rafaj R., Grden D., Živičnjak T., Mrljak V. Septic shock in canine babesiosis. *Veterinary Parasitology*, 2009, 162, 263-270.
- Matijatko V., Torti M., Schetters T.P. Canine babesiosis in Europe: how many diseases? *Trends in Parasitology*, 2012, 28, 99-105.
- Pomianowski A., Lew S., Kuleta Z., Snarska A., Kasprowicz A. Peritoneal Dialysis in a Dog with Acute Renal Failure caused by the Infection with *Babesia canis*. *Polish Journal of Natural Sciences*, 2008, 23, 257-267.
- Ristic J., Skeldon N. Urinalysis – how to get the most from an easy sample. *Veterinary Ireland Journal*, 2013, 3, 79-84.
- Ross L. Acute kidney injury in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 2011, 41, 1-14.
- Ruiz de Gopegui R., Peñalba B., Goicoa A., Espada Y., Fidalgo L.E., Espino L. Clinico-pathological findings and coagulation disorders in 45 cases of canine babesiosis in Spain. *Veterinary Journal*, 2007, 174, 129-132.
- Sobczyk A.S., Kotomski G., Górski P., Wędrychowicz, H. Usefulness of touch-down PCR assay for the diagnosis of atypical cases of *Babesia canis canis* infections in dogs. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2005, 49, 407-410.
- Schoeman J.P. Canine babesiosis. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 2009, 76, 59-66.
- Schoeman J.P., Herrtage M.E. The response of the pituitary-adrenal and pituitary-thyroidal axes to the plasma glucose perturbations in *Babesia canis rossi* babesiosis. *Journal of the South African Veterinary Association*, 2007, 78, 215-220.
- Schoeman J.P., Rees P., Herrtage M.E. Endocrine predictors of mortality in canine babesiosis caused by *Babesia canis rossi*. *Veterinary Parasitology*, 2007, 148, 75-82.

- Shao M.F., Lin P.R. A case study of cytokine profiles in acute human babesiosis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1998, 58, 335-337.
- Torpy D.J., Tsigos C., Lotsikas A.J., Defensor R., Chrousos G.P., Papanicolaou D.A. Acute and delayed effects of a single-dose injection of interleukin-6 on thyroid function in healthy humans. *Metabolism*, 1998, 47, 1289-1293.
- van Hoek I., Daminet S. Interactions between thyroid and kidney function in pathological conditions of these organ systems: A review. *General and Comparative Endocrinology*, 2009, 160, 205-215.
- Vaughan-Scott T. Serum concentrations of tumour necrosis factor in dogs naturally infected with *Babesia canis* and its relation to severity of disease. MMedVet Thesis. University of Pretoria, South Africa, 2001.
- Wajner S.M., Maia A.L. New insights toward the acute non-thyroidal illness syndrome. *Frontiers in Endocrinology*, 2012, 3, 8. doi: 10.3389/fendo.2012.00008
- Waldrop J.E. Urinary electrolytes, solutes, and osmolality. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 2008, 38, 503-512.
- Warner M.H., Beckett G.J. Mechanisms behind the non-thyroidal illness syndrome: an update. *Journal of Endocrinology*, 2010, 205, 1-13.
- Welc-Falęciak R., Rodo A., Siński E., Bajer A. *Babesia canis* and other tick-borne infections in dogs in Central Poland. *Veterinary Parasitology*, 2009, 166, 191-198.
- Zygner W., Gójska-Zygner O. Association between decreased blood pressure and azotaemia in canine babesiosis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2014a, 17, 173-175.
- Zygner W., Gójska-Zygner O. Increased serum urea to creatinine ratio and its negative correlation with arterial pressure in canine babesiosis. *Acta Parasitologica*, 2014b, 59, 548-551.
- Zygner W., Gójska-Zygner O., Baska P., Długosz E. Increased concentration of serum TNF alpha and its correlations with arterial blood pressure and indices of renal damage in dogs infected with *Babesia canis*. *Parasitology Research*, 2014, 113, 1499-1503.
- Zygner W., Gójska-Zygner O., Baska P., Długosz E. Low T3 syndrome in canine babesiosis associated with increased serum IL-6 concentration and azotaemia. *Veterinary Parasitology*, 2015, 211, 23-27.



- Zygner W., Gójska-Zygner O., Wesołowska A., Wędrychowicz H. Urinary creatinine to serum creatinine ratio and renal failure index in dogs infected with *Babesia canis*. *Acta Parasitologica*, 2013, 58, 297-303
- Zygner W., Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H. Changes in the SUSPPUP ratio and fractional excretion of strong monovalent electrolytes in hospitalized dogs with canine babesiosis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2012a, 15, 791-792.
- Zygner W., Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H. Strong monovalent electrolyte imbalances in serum of dogs infected with *Babesia canis*. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2012b, 3, 107-113.
- Zygner W., Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H. Euthyroid sick syndrome in canine babesiosis caused by *Babesia canis*. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2012c, 56, 525-527.
- Zygner W., Górski P., Wędrychowicz H. Detection of the DNA of *Borrelia afzelii*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia canis* in blood samples from dogs in Warsaw. *Veterinary Record*, 2009, 164, 465-467.
- Zygner W., Jaros S., Wędrychowicz H. Prevalence of *Babesia canis*, *Borrelia afzelii*, and *Anaplasma phagocytophilum* infection in hard ticks removed from dogs in Warsaw (central Poland). *Veterinary Parasitology*, 2008, 153, 139-142.

## **5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych, dydaktycznych i organizacyjnych**

### **Osiągnięcia naukowe przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych**

Głównymi kierunkami moich badań przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych były następujące zagadnienia:

- Występowanie przenoszonych przez kleszcze patogenów u psów w Warszawie
- Zmiany patologiczne obserwowane w badaniu morfologicznym krwi oraz badaniu biochemicznym surowicy psów zarażonych pierwotniakiem *Babesia canis*
- Występowanie *Giardia intestinalis* w populacji psów i kotów w Warszawie

Wyniki tych badań opublikowano w weterynaryjnych i parazytologicznych czasopismach naukowych:

- 1. Zygmunt W.**, Wędrychowicz H. Occurrence of hard ticks in dogs from Warsaw area. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2006, 13(2), 355-359. (IF<sub>2006</sub> = 1,109)
- 2. Zygmunt W.**, Jaros S., Wędrychowicz H. Prevalence of *Babesia canis*, *Borrelia afzelii*, and *Anaplasma phagocytophilum* infection in hard ticks removed from dogs in Warsaw (central Poland). *Veterinary Parasitology*, 2008, 153(1-2), 139-142. (IF<sub>2008</sub> = 2,039)
- 3. Zygmunt W.**, Górski P., Wędrychowicz H. Detection of the DNA of *Borrelia afzelii*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia canis* in blood samples from dogs in Warsaw. *Veterinary Record*, 2009 164(15), 465-467. (IF<sub>2009</sub> = 1,504)
- 4. Zygmunt W.**, Gójska O., Rapacka G., Jaros D., Wędrychowicz H. Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large *Babesia* in domestic dogs in Warsaw (Poland). *Veterinary Parasitology*, 2007, 145(1-2), 146-151. (IF<sub>2007</sub> = 2,016)
- 5. Zygmunt W.**, Rapacka G., Gójska-Zygmunt O., Długosz E., Wędrychowicz H. Biochemical abnormalities observed in serum of dogs infected with large *Babesia* in Warsaw (Poland). *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2007, 10(4), 245-253. (IF<sub>2007</sub> = 0,291)
- 6. Zygmunt W.**, Jaros D., Skowrońska M., Bogdanowicz-Kamirska M., Wędrychowicz H. Występowanie *Giardia intestinalis* u psów domowych w Warszawie. *Wiadomości Parazytologiczne*, 2006, 52(4), 311-315.

Swoje pierwsze badania naukowe rozpocząłem podczas studiów doktoranckich na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. W tamtym czasie badałem występowanie kleszczy właściwych u psów, u których wykazano występowanie gatunków kleszczy takich jak *Dermacentor reticulatus* i *Ixodes ricinus*. Wyniki tych badań opublikowane zostały w czasopiśmie naukowym *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* (publikacja nr 1).

Ponadto, w czasie studiów doktoranckich badałem występowanie u psów i kleszczy przenoszonych przez kleszcze patogenów w Warszawie. W badaniach stwierdzono występowanie u psów oraz w tkankach kleszczy przenoszonych przez nie

patogenów takich jak *Babesia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* i *Borrelia afzelii*. Wyniki tych badań przedstawiłem w mojej rozprawie doktorskiej obronionej z wyróżnieniem w styczniu 2008 roku. Ponadto, wyniki badań opublikowane zostały również w czasopismach recenzowanych (publikacje nr 2 i 3; prace opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych).

W tym czasie rozpocząłem również badania nad zmianami w badaniach morfologicznych i biochemicznych krwi obserwowanymi u psów zarażonych *Babesia canis*. Uzyskane wyniki pozwoliły na opublikowanie dwóch artykułów na temat zmian patologicznych występujących we krwi i surowicy psów zarażonych *B. canis* (publikacje nr 4 i 5). Stwierdzono, iż najczęstszymi zmianami patologicznymi w badaniach krwi psów są: małopłytkowość, anizocytoza, azotemia oraz wzrost aktywności enzymów takich jak AST, ALT i ALP. Tymi publikacjami rozpocząłem swoje badania (nadal prowadzone) nad zmianami patologicznymi obserwowanymi w przebiegu babeszjozy psów oraz patogenezą tej choroby, czego efektem były również kolejne publikacje (opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych) na temat patologicznych zmian obserwowanych u psów zarażonych *B. canis*.

W tym samym czasie brałem również udział w badaniach nad występowaniem pierwotniaka *Giardia intestinalis* u psów i kotów w Warszawie. Wykazano występowanie u psów genotypów *G. intestinalis* takich jak A-I, C i D. Dalszy udział w tych pracach kontynuowałem po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych. Wyniki badań nad występowaniem genotypów *G. intestinalis* u psów w Warszawie opublikowano w czasopiśmie Wiadomości Parazytologiczne (publikacja nr 6).

### **Osiągnięcia naukowe po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych**

Głównym kierunkiem moich badań po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych była ocena zmian patologicznych obserwowanych w przebiegu babeszjozy psów. Prowadziłem również badania nad określeniem nowych ognisk występowania kleszcza *Dermacentor reticulatus*, występowaniem w Warszawie w tkankach kleszczy *Ixodes ricinus* pierwotniaka *Babesia microti*, występowaniem błędów przedlaboratoryjnych w weterynaryjnej diagnostyce parazytologicznej. Uczestniczyłem również w badaniach nad występowaniem u kotów genotypów *Gairdia intestinalis* i badaniach epidemiologicznych nadczynności tarczycy u kotów w

Warszawie. Ponadto, brałem udział w badaniach nad odpowiedzią immunologiczną żywiciela na inwazje spowodowane przez przywrę *Fasciola hepatica* i nicienia *Ancylostoma ceylanicum*.

Wyniki tych badań opublikowano w weterynaryjnych i parazytologicznych czasopismach naukowych:

1. **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Influence of anaemia on azotaemia in dogs infected with *Babesia canis* in Poland. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2009, 53(4), 663-668. (IF<sub>2009</sub> = 0,210)
2. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Długosz E., Wędrychowicz H. Liver enzyme activity in dogs infected with *Babesia canis*. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2011, 55(3), 423-427. (IF<sub>2011</sub> = 0,414)
3. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H. Abnormalities in serum proteins in the course of babesiosis in dogs. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2011, 55(1), 59-65. (IF<sub>2011</sub> = 0,414)
4. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Norbury L.J., Wędrychowicz H. Increased AST/ALT ratio in azotaemic dogs infected with *Babesia canis*. Polish Journal of Veterinary Sciences, 2012, 15(3), 483-486. (IF<sub>2012</sub> = 0,570)
5. Gójska-Zygner O., **Zygner W.** Hyperaldosteronism and its association with hypotension and azotaemia in canine babesiosis. Veterinary Quarterly, 2015, 35(1), 37-42. (IF<sub>2014</sub> = 0,719)
6. **Zygner W.**, Bąska P., Wiśniewski M., Wędrychowicz H. The Molecular Evidence of *Babesia microti* in Hard Ticks Removed from Dogs in Warsaw (central Poland). Polish Journal of Microbiology, 2010, 59(2), 95-97. (IF<sub>2010</sub> = 0,660)
7. **Zygner W.**, Górski P., Wędrychowicz H. New localities of *Dermacentor reticulatus* tick (vector of *Babesia canis canis*) in central and eastern Poland. Polish Journal of Veterinary Sciences, 2009, 12(4), 549-555. (IF<sub>2009</sub> = 0,435)
8. Jaros D., **Zygner W.**, Jaros S., Wędrychowicz H. Detection of *Giardia intestinalis* Assemblages A, B and D in Domestic Cats from Warsaw, Poland. Polish Journal of Microbiology, 2011, 60(3), 259-263. (IF<sub>2011</sub> = 0,760)
9. **Zygner W.**, Jaros D., Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H. Azithromycin in the treatment of a dog infected with *Giardia intestinalis*. Polish Journal of Veterinary Sciences, 2008, 11(3), 231-234. (IF 2008 = 0,465)

10. **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Rola zwierząt jako rezerwuaru giardiozy u ludzi – zoonotyczny potencjał *Giardia intestinalis*. Postępy Mikrobiologii, 2008, 47(3), 287-291.
11. **Zygner W.**, Jaros D. Rozpoznawanie inwazji *Giardia intestinalis* u psów i kotów. Życie Weterynaryjne, 2011, 86(7), 536-539.
12. **Zygner W.**, Bajer A. Trudności w diagnostyce inwazji *Giardia intestinalis* u psów i kotów – wyniki fałszywie dodatnie. Magazyn Weterynaryjny, 2011, 20(173), 1088-1093.
13. **Zygner W.**, Gójska-Zygner O., Sobków K., Wędrychowicz H. The occurrence of pre-analytical errors in diagnosing of parasite infections in dogs and cats in Poland. Veterinarija Ir Zootechnika, 2011, 54(76), 78 – 87. (IF<sub>2011</sub> = 0,232)
14. Jaros S., Jaros D., Wesolowska A., **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Blocking *Fasciola hepatica*'s energy metabolism – a pilot study of vaccine potential of a novel gene – phosphoglycerate kinase. Veterinary Parasitology, 2010, 172(3-4), 229-237. (IF<sub>2010</sub> = 2,331)
15. Jaros S., **Zygner W.**, Januszkiewicz K., Jaros D., Wędrychowicz H. Molecular cloning and bioinformatic characterisation of FhPcW1, a new isoform of cathepsin I from adult *Fasciola hepatica*. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2010, 54(4), 585-590. (IF<sub>2010</sub> = 0,321)
16. Jaros S., Wesolowska A., Jaros D., **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Molecular cloning and characterisation of phosphoglycerate kinase from *Fasciola hepatica*. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2011, 55(3), 417-422. (IF<sub>2011</sub> = 0,414)
17. Wesolowska A., Jaros S., Norbury L.J., Jaros D., **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Microarray analysis of rat immune responses to liver fluke infection following vaccination with *Fasciola hepatica* phosphoglycerate kinase. Experimental Parasitology, 2013, 134(1), 33-38. (IF<sub>2013</sub> = 1,859)
18. Wesolowska A., Norbury L.J., Januszkiewicz K., Jedlina L., Jaros S., Zawistowska-Deniziak A., **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Evaluation of the immune response of male and female rats vaccinated with cDNA encoding a cysteine proteinase of *Fasciola hepatica* (FhPcW1). Acta Parasitologica, 2013, 58(2), 198-206. (IF<sub>2013</sub> = 0,965)

19. Baska P., Wiśniewski M., Krzyżowska M., Długosz E., **Zygner W.**, Górski P., Wędrychowicz H. Molecular cloning and characterisation of *in vitro* immune response against astacin-like metalloprotease Ace-MTP-2 from *Ancylostoma ceylanicum*. *Experimental Parasitology*, 2013, 133(4), 472-482. (IF<sub>2013</sub> = 1,859)
20. Gójska-Zygner O., Lechowski R., **Zygner W.** Prevalence of feline hyperthyroidism in mature cats in urban population in Warsaw. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2014, 58(2), 267-271. (IF<sub>2014</sub> = 0,357)

Po uzyskaniu stopnia doktora w 2008 roku kontynuowałem badania nad zmianami patologicznymi obserwowanymi w przebiegu babeszjozy psów. W pierwszych pracach badałem wpływ niedokrwistości na rozwój azotemii i zmian w aktywności enzymów wątrobowych w surowicy u psów zarażonych *B. canis*, oraz występowanie zmian w stężeniu białek surowicy u zarażonych psów. Stwierdzono brak wpływu niedokrwistości na rozwój azotemii, jak również brak wpływu niedokrwistości na występowaniu zmian w aktywności enzymów wątrobowych u zarażonych psów. W pracy nad zmianami w stężeniach białek surowicy psów z babeszjozą wykazano obniżenie stężenia frakcji  $\alpha$ -globulin oraz wzrost stężenia  $\beta$ -globulin, wzrost wartości stosunku albumin do globulin i hipoglobulinemię. W pracy tej przyjęto, iż obserwowane zmiany wynikały głównie z hemolizy, podwyższonych stężeń transferyny i białka C3a oraz odwodnienia. Wyniki tych badań opublikowano w czasopiśmie *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* (publikacje nr 1, 2 i 3).

W kolejnej pracy nad zmianami występującymi w przebiegu babeszjozy psów badano zmiany wartości wskaźnika de Ritisa (stosunek aktywności AST do ALT w surowicy) u psów zarażonych *B. canis*. Stwierdzono wzrost wartości stosunku AST do ALT w surowicy zarażonych psów oraz jego związek z poziomem azotemii. Najprawdopodobniej nieproporcjonalny wzrost aktywności AST w surowicy psów z babeszjozą względem wzrostu wartości aktywności ALT mógł wynikać z uszkodzenia nerek. Wyniki tych badań opublikowano w czasopiśmie *Polish Journal of Veterinary Sciences* (publikacja nr 4).

W dalszych badaniach nad babeszjozą psów, których wyników nie włączono do jednotematycznego cyklu publikacji, oceniano zmiany w stężeniu aldosteronu w surowicy zarażonych psów. Przed tymi badaniami przyjęto hipotezę, że występujące w przebiegu babeszjozy psów obniżenie ciśnienia tętniczego krwi prowadząc do

obniżenia przepływu krwi przez nerki powinno powodować zwiększenie wydzielania aldosteronu u tych zwierząt. W badaniach tych stwierdzono występowanie wtórnego hiperaldosteronizmu u części psów zarażonych *B. canis*. Ponadto, wykazano negatywne korelacje pomiędzy stężeniem aldosteronu w surowicy zarażonych psów a ciśnieniem tętniczym krwi i stężeniem w surowicy potasu, oraz silną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem aldosteronu w surowicy a poziomem azotemii u tych zwierząt. Uzyskane wyniki potwierdziły wcześniejszą hipotezę, zgodnie z którą uznano, iż występujący w przebiegu babeszjozy psów wtórny hiperaldosteronizm rozwija się w odpowiedzi na obniżenie ciśnienia tętniczego krwi u zarażonych psów. Stwierdzono również, iż zarówno obniżenie ciśnienia tętniczego krwi jak i poziom azotemii w powiązaniu z wysokim stężeniem aldosteronu wskazują, że odpowiedź ta jest niewystarczająca. Wyniki tych badań wskazały również przyczynę obserwowanych we wcześniejszych pracach zmian takich jak hipokaliemia, zwiększone wydalanie frakcyjne potasu oraz wzrost wartości wskaźnika SUSPPUP (stosunek stężenia sodu w surowicy do stężenia sodu w moczu dzielony przez stosunek (stężenia potasu w surowicy)<sup>2</sup> do stężenia potasu w moczu) u psów z babeszjozą. Wyniki omówionych badań opublikowano w czasopiśmie *Veterinary Quarterly* (publikacja nr 5).

Ponadto, opublikowałem 12 artykułów przeglądowych oraz 2 opisy przypadków na temat babeszjozy psów (3 artykuły opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora oraz 11 artykułów opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora). Publikacje wymienione w załączniku nr 3. Celem tych publikacji była popularyzacja wiedzy na temat patologii i diagnostyki babeszjozy psów. Artykuły te opublikowane zostały w weterynaryjnych i parazytologicznych czasopismach takich jak: *Życie Weterynaryjne*, *Magazyn Weterynaryjny*, *Weterynaria w Praktyce* oraz *Wiadomości Parazytologiczne*.

Zgromadzone we wcześniejszych badaniach całkowite DNA wyizolowane z kleszczy *Ixodes ricinus* wykorzystano w kolejnej pracy, w której określono występowanie *Babesia microti* (jeden z gatunków pierwotniaków odpowiedzialnych z rozwój babeszjozy u ludzi) w Warszawie. Stwierdzono występowanie DNA *B. microti* u kleszcza *I. ricinus* w Warszawie. Zarażenie kleszczy tym pierwotniakiem wykryto u 1,86% spośród zbadanych stawonogów. Praca ta jest pierwszą publikacją, w której występowanie *B. microti* zostało potwierdzone w populacji kleszczy *I. ricinus* w

Warszawie. Wyniki tych badań opublikowano w czasopiśmie Polish Journal of Microbiology (publikacja nr 6).

Wiedza na temat rozpoznawania gatunków kleszczy właściwych pozwoliła na przeprowadzenie kolejnych badań nad określeniem nowych ognisk występowania kleszcza *Deramcentor reticulatus* (głównego wektora i żywiciela ostatecznego *Babesia canis*) we wschodniej i środkowej części Polski. W omawianej pracy opisano 24 nowe stanowiska występowania kleszcza *D. reticulatus* w Polsce. Uzyskane wyniki opublikowano w czasopiśmie Polish Journal of Veterinary Sciences (publikacja nr 7). Ponadto, opublikowałem również 3 prace przeglądowe na temat biologii oraz zwalczania kleszczy (2 artykuły opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora oraz 1 artykuł opublikowany po uzyskaniu stopnia doktora). Celem tych prac była popularyzacja wiedzy na temat biologii i zwalczania kleszczy właściwych. Artykuły te zostały opublikowane w krajowych czasopismach weterynaryjnych i mikrobiologicznych takich jak: Weterynaria w Praktyce, Magazyn Weterynaryjny oraz Postępy Mikrobiologii. Publikacje wymienione w załączniku nr 3.

Jak już wcześniej wspomniano podczas studiów doktoranckich brałem również udział w badaniach nad występowaniem u psów i kotów pierwotniaka *Giardia intestinalis* w Warszawie, i badania te były kontynuowane po uzyskaniu stopnia doktora. W tych kolejnych badaniach wykryto występowanie *G. intestinalis* u 3,75% kotów w Warszawie. Określono również genotypy *G. intestinalis* u tych zwierząt: genotyp A, genotyp B i genotyp D. Uzyskane wyniki opublikowano w czasopiśmie Polish Journal of Microbiology (publikacja nr 8). Ponadto, opublikowałem 3 prace przeglądowe oraz 1 opisu przypadku klinicznego. Celem tych prac była popularyzacja wiedzy na temat diagnostyki i epidemiologii inwazji *G. intestinalis* u psów i kotów oraz przedstawienie alternatywnej metody leczenia przyczynowego tej inwazji. Artykuły te opublikowano w weterynaryjnych i mikrobiologicznych czasopismach takich jak: Postępy Mikrobiologii, Polish Journal of Veterinary Sciences, Życie Weterynaryjne oraz Magazyn Weterynaryjny (publikacje nr 9, 10, 11, 12).

Kolejne badania oparte były na obserwacjach błędów przedlaboratoryjnych w diagnostyce parazytologicznej. Stwierdzono wysoką prevalencję błędów przedlaboratoryjnych, spośród których najczęstsze błędy należały do grupy błędów spowodowanych czynnikami pozabiologicznymi. Uzyskane wyniki opublikowano w czasopiśmie Veterinarija Ir Zootechnika (publikacja nr 13). Opublikowałem również 6 artykułów przeglądowych na temat właściwych laboratoryjnych procedur



diagnostycznych, właściwego postępowania przedlaboratoryjnego oraz interpretacji uzyskanych wyników w diagnostyce klinicznej z zakresu parazytologii weterynaryjnej (1 artykuł przed uzyskaniem stopnia doktora oraz 5 artykułów po uzyskaniu stopnia doktora). Celem tych publikacji była popularyzacja wiedzy na temat laboratoryjnych technik stosowanych w diagnostyce chorób pasożytniczych w praktyce weterynaryjnej oraz interpretacji uzyskanych wyników. Artykuły te zostały opublikowane w czasopismach weterynaryjnych takich jak: *Weterynaria w Praktyce*, *Magazyn Weterynaryjny* oraz *Życie Weterynaryjne*. Publikacje wymienione w załączniku nr 3.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych brałem również udział w badaniach nad odpowiedzią immunologiczną żywiciela na inwazje spowodowane przez przywrę *Fasciola hepatica* i nicienia *Ancylostoma ceylanicum*, oraz w badaniach nad epidemiologią nadczynności tarczycy u kotów w Warszawie. W pracach tych wykazano między innymi potencjał enzymów takich jak kinaza fosfoglicerynianowa i proteinaza cysteinowa z przywry *Fasciola hepatica* (FhPGK i FhPcW1) oraz metaloproteaza 2 z nicienia *Ancylostoma ceylanicum* jako antygeny szczepionkowe przeciwko inwazjom tych pasożytów. Ponadto, w badaniach nad występowaniem nadczynności tarczycy u kotów w Warszawie wykazano wysoką częstość występowania tej choroby u starszych kotów. Wyniki tych prac opublikowano w czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym (publikacje nr 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20).

Pozostała aktywność naukowa:

Recenzent artykułów dla czasopism naukowych, prac magisterskich oraz projektu badawczego:

- Recenzje artykułów dla czasopism naukowych:
  - Czasopisma indeksowane w Web of Science™ Core Collection
    - *Revue de Médecine Vétérinaire* (1 manuskrypt w 2008; IF<sub>2008</sub> = 0,267)
    - *Microbial Pathogenesis* (1 manuskrypt w 2011; IF<sub>2011</sub> = 1,938)
    - *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* (1 manuskrypt w 2012; IF<sub>2012</sub> = 3,060)
    - *BioMed Research International* (1 manuskrypt w 2014; IF<sub>2014</sub> = 1,579)
    - *Tropical Animal Health and Production* (1 manuskrypt w 2014; IF<sub>2014</sub> = 0,817)

- Veterinary Parasitology (1 manuskrypt w 2014; IF<sub>2014</sub> = 2,460)
- Polish Journal of Veterinary Sciences (1 manuskrypt w 2015; IF<sub>2014</sub> = 0,604)
- Ticks and Tick-borne Diseases (1 manuskrypt w 2015; IF<sub>2014</sub> = 2,718)
- Veterinární medicína (2 manuskrypty w 2015; IF<sub>2014</sub> = 0,639)
- Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy (1 manuskrypt w 2015; IF<sub>2014</sub> = 0,357)
- Pozostałe czasopisma (nieindeksowane w WoS)
  - Veterinarski Arhiv (1 manuskrypt w 2009; nieindeksowany w WoS w 2009, aktualny IF<sub>2014</sub> = 0,362)
  - Journal of Emergencies Trauma and Shock (1 manuskrypt w 2010)
  - African Journal of Microbiology Research (1 manuskrypt w 2013; nieindeksowany w WoS w 2013, czasopismo było indeksowane w WoS w latach 2007 – 2012)
  - Sokoto Journal of Veterinary Sciences (1 manuskrypt w 2014)
  - Życie Weterynaryjne (1 manuskrypt w 2015)
- Recenzje prac magisterskich:
  - Praca magisterska Agnieszki Szyji: Badania nad występowaniem kokcydiów *Eimeria* spp. w wybranych stadach brojlerów kurzych w Polsce (2008)
  - Praca magisterska Karoliny Golec: Badania serologiczne nad rozprzestrzenieniem glisty psiej *Toxocara canis* w populacji psów na terenie aglomeracji miejskiej Warszawy (2008)
  - Praca magisterska Marty Trelewicz: Rozmieszczenie populacji kleszcza pospolitego (*Ixodes ricinus*) i kleszcza łąkowego (*Dermacentor reticulatus*) w Warszawie i okolicach (2010)
  - Praca magisterska Anny Wróblewskiej: Porównanie preferencji siedliskowych i aktywności sezonowej kleszcza łąkowego (*Dermacentor reticulatus*) i kleszcza pospolitego (*Ixodes ricinus*) na terenie Warszawy (2010)
- Recenzja projektu badawczego:
  - Narodowe Centrum Nauki, projekt OPUS (2012)

Konferencje:

Zygner W. Zmiany w obrazie morfologicznym krwi psów przebiegu babeszjozy. Jubileuszowa konferencja z okazji 60-lecia istnienia Zakładu Parazytologii. SGGW, Warszawa, 2006.

Zygner W., Wędrychowicz H. Rola zwierząt jako rezerwuaru giardiozy u ludzi – zoonotyczny potencjał *Giardia intestinalis*. XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, Szczecin, 2008

Zygner W., Wędrychowicz H. Kleszcze właściwe jako wektory chorób zakaźnych i pasożytniczych. XXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, Szczecin, 2008

Górski P., Zygner W., Trelewicz M., Wróblewska A. Występowanie kleszcza *Ixodes ricinus* w różnych środowiskach w granicach Warszawy. XXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Puławy, 2010

Wesołowska A., Zawistowska-Denziak A., Norbury L.J., Wilkowski P., Januskiewicz K., Pyziel A., Zygner W., Wędrychowicz H. Evaluation of the cellular immune response of male and female rats vaccinated with cDNA encoding a phosphoglycerate kinase of *Fasciola hepatica* (cDNA<sup>Fh</sup>PGK). XXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Szklarska Poręba-Piechowice, 2013

Wesołowska A., Zawistowska-Denziak A., Norbury L.J., Wilkowski P., Januskiewicz K., Pyziel A., Zygner W., Wędrychowicz H. Study of the local immune response in the peritoneal fluid and lymph nodes of rats vaccinated with cDNA encoding a phosphoglycerate kinase of *Fasciola hepatica* (cDNA-FhPGK). XXIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego, Szklarska Poręba-Piechowice, 2013

Udział w badaniach wykonywanych w ramach grantów:

- Grant Ministerstwa Nauki i Informatyzacji nr N 302 018 31/1882
- Grant Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N302 117936
- Grant Unijny nr FOOD-CT-2005-023025 “Design of effective and sustainable control strategies for liver fluke in Europe – DELIVER”

Wyniki tych badań opublikowano w artykułach:

- Jaros S., Jaros D., Wesołowska A., **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Blocking *Fasciola hepatica*'s energy metabolism – a pilot study of vaccine potential of a novel gene – phosphoglycerate kinase. *Veterinary Parasitology*, 2010, 172(3-4), 229-237.

- Jaros S., Wesołowska A., Jaros D., **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Molecular cloning and characterisation of phosphoglycerate kinase from *Fasciola hepatica*. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 2011, 55(3), 417-422.
- Baska P., Wiśniewski M., Krzyżowska M., Długosz E., **Zygner W.**, Górski P., Wędrychowicz H. Molecular cloning and characterisation of *in vitro* immune response against astacin-like metalloprotease Ace-MTP-2 from *Ancylostoma ceylanicum*. Experimental Parasitology, 2013, 133(4), 472-482.
- Wesołowska A., Jaros S., Norbury L.J., Jaros D., **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Microarray analysis of rat immune responses to liver fluke infection following vaccination with *Fasciola hepatica* phosphoglycerate kinase. Experimental Parasitology, 2013, 134(1), 33-38.
- Wesołowska A., Norbury L.J., Januszkiewicz K., Jedlina L., Jaros S., Zawistowska-Deniziak A., **Zygner W.**, Wędrychowicz H. Evaluation of the immune response of male and female rats vaccinated with cDNA encoding a cysteine proteinase of *Fasciola hepatica* (FhPcW1). Acta Parasitologica, 2013, 58(2), 198-206.

Aktywność dydaktyczna:

- Parazytologia i inwazjologia – wybrane wykłady w języku polskim dla studentów III roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, kierunek weterynaria
- Parazytologia i inwazjologia – wybrane ćwiczenia w języku polskim dla studentów III roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, kierunek weterynaria
- Parazytologia i inwazjologia – wybrane wykłady w języku angielskim (dla studentów obcojęzycznych) dla studentów III roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, kierunek weterynaria
- Parazytologia i inwazjologia – wybrane ćwiczenia w języku angielskim (dla studentów obcojęzycznych) dla studentów III roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, kierunek weterynaria
- Diagnostyka chorób pasożytniczych wywoływanych przez insekty i kleszcze – wykłady w języku polskim (fakultet) dla studentów IV roku Wydziału

Medycyny Weterynaryjnej, kierunek weterynaria (opracowanie całego programu i formy przedstawienia zagadnień; fakultet wybierany przez większość studentów IV roku)

- Staż kliniczny z parazytologii (część zajęć) – zajęcia w języku polskim dla studentów V roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, kierunek weterynaria

Od 2008 roku członek Polskiego Towarzystwa Parazytologicznego

Od 2008 roku członek Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW (2 kadencje)

## Podsumowanie aktywności naukowej

Liczbę wszystkich publikacji przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Liczba publikacji

Rodzaj publikacji	Przed uzyskaniem stopnia doktora		Po uzyskaniu stopnia doktora		Osiągnięcie naukowe (jednotematyczny cykl publikacji)		Suma
	Pierwszy autor	Współ-autor	Pierwszy autor	Współ-autor	Pierwszy autor	Współautor	
Rec. prace oryginalne indeksowane w WoS	3	-	9	9	8	-	29
Rec. prace przeglądowe indeksowane w WoS	-	-	2	-	-	-	2
Rec. opisy przypadków indeksowane w WoS	-	-	1	2	-	-	3
Inne prace oryginalne (nieindeks. w WoS)	1	-	-	-	-	-	1
Inne opisy przypadków (nieindeks. w WoS)	1	-	1	2	-	-	4
Popularyzacja wiedzy	13	3	25	1	-	-	42
Suma	18	3	38	14	8	-	81

WoS - Web of Science™ Core Collection

Raport cytowań (według Web of Science™ Core Collection, październik 2015):

- Liczba artykułów: **34**
- Liczba cytowań: **203**
- Liczba cytowań bez autocytowań: **143**
- Liczba cytujących artykułów: **130**
- Liczba cytujących artykułów bez autocytowań: **108**
- Indeks h: **7**

Sumaryczny impact factor (według In Cites™ Journal Citation Report®, październik 2015): **31.357\***

\* Ostatni impact factor (IF<sub>2014</sub>) podano dla dwóch artykułów opublikowanych w 2015 roku



.....  
Wojciech Zygnier