

Dr n. wet. Sylwia Prochowska

Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

AUTOREFERAT

Wrocław, 2022

1. Imię i nazwisko

Sylwia Prochowska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

07.02.2012 – tytuł lekarza weterynarii

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

25.04.2017 – stopień doktora nauk weterynaryjnych

Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Analiza właściwości oraz kompetencji zapłodnieniowej plemników uzyskanych z cewki moczowej i najądrzy kota domowego”.

Promotor: prof. dr hab. Wojciech Niżański

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

od lipca 2017 do chwili obecnej: adiunkt w Katedrze Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

- 4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Badania nad pobieraniem oraz właściwościami nasienia kota domowego (*Felis catus*) ze szczególnym uwzględnieniem podłoża i znaczenia nieprawidłowej morfologii plemników

- 4.2. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe

Na osiągnięcie składa się cykl 4 powiązanych tematycznie artykułów naukowych o łącznym **IF: 9,524** i sumie **punktów MNiSW: 480**.

Publikacja	IF	Punkty MNiSW
<p>P1 Prochowska S., Nizański W. Transscrotal stimulation of the testes and epididymides improves urethral sperm collection in domestic cats. <i>Reprod Fertil Dev.</i> 2021;33(6):437-440. doi: 10.1071/RD21010.</p> <p><i>Wkład własny: opracowanie koncepcji badań oraz metody masażu, przeprowadzenie eksperymentów, analiza i interpretacja uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu i korespondencja z czasopismem (corresponding author).</i></p>	1,721	140
<p>P2 Prochowska S., Nizański W., Partyka A., Kochan J., Młodawska W., Nowak A., Skotnicki J., Grega T., Pałys M.: Influence of the type of semen and morphology of individual sperm cells on the results of ICSI in domestic cats. <i>Theriogenology.</i> 2019;131:140-145. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.10.031</p> <p><i>Wkład własny: opracowanie metodyki badań, pozyskanie materiału badawczego, przeprowadzenie eksperymentów, analiza statystyczna uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu.</i></p>	2,299	140
<p>P3 Prochowska S., Partyka A, Nizański W. Expression of Apoptosis-Related Genes in Cat Testicular Tissue in Relation to Sperm Morphology and Seasonality-A Preliminary Study. <i>Animals (Basel).</i> 2021;11(2):489. doi: 10.3390/ani11020489.</p> <p><i>Wkład własny: opracowanie koncepcji badań, pozyskanie materiału badawczego, współuczestnictwo w przeprowadzaniu eksperymentów oraz analizie i interpretacji uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu i korespondencja z czasopismem (corresponding author).</i></p>	2,752	100
<p>P4 Prochowska S, Nizański W, Fontbonne A. Hypo-Osmotic Swelling Test (HOST) for Feline Spermatozoa: The Simplified Procedure and the Aspect of Sperm Morphology. <i>Animals (Basel).</i> 2022;12(7):903. doi: 10.3390/ani12070903.</p>	2,752	100

Wkład własny: opracowanie koncepcji badań oraz metodyki, przeprowadzenie eksperymentów, analiza i interpretacja uzyskanych wyników, przygotowanie manuskryptu i korespondencja z czasopismem (corresponding author).

Razem: 9,524 480

Wartości punktowe MNiSW oraz wartości wskaźników IF poszczególnych prac podano zgodnie z rokiem wydania publikacji. Oświadczenia współautorów znajdują się w Załączniku nr 5.

Omówienie osiągnięcia naukowego

4.2.1. Wprowadzenie

Prace nad biotechnikami rozrodu u kotów rozpoczęły się w latach 70 ubiegłego wieku (Sojka i wsp. 1970, Hamner i wsp. 1970, Platz i wsp. 1978), mimo to techniki takie jak kriokonserwacja nasienia, sztuczna inseminacja czy zapłodnienie in vitro w dalszym ciągu nie są stosowane u tego gatunku na taką skalę, jak ma to miejsce u zwierząt gospodarskich, koni czy psów. Jedną z głównych przyczyn tej sytuacji były trudności z pobraniem nasienia kocurów (Rijsselaere i Van Soom 2010). Z tego powodu badanie nasienia i diagnostyka niepłodności była praktycznie nie wykonywana u tego gatunku. Ograniczone było również stosowanie sztucznej inseminacji. Ponieważ kot domowy jest traktowany jako organizm modelowy dla dzikich kotowatych, trudności z prowadzeniem badań na nasieniu kota hamowały postęp nad zastosowaniem biotechnik rozrodu u innych przedstawicieli rodziny Felidae.

Do 2008 roku możliwe było pobranie nasienia od kocura przy pomocy trzech metod: z wykorzystaniem sztucznej pochwy, poprzez elektroejakulację oraz poprzez pokastracyjne nacinanie ogonów najądrzy (Rijsselaere i Van Soom 2010). Każda z nich obarczona jest pewnymi zasadniczymi wadami. Pobieranie nasienia na sztuczną pochwę wymaga wcześniejszego treningu samca (czasem trwającego do 5,5 miesiąca (Valiente i wsp. 2014)), obecności kotki w okresie rui oraz wykazywania przez samca libido (Ackerman i Lopes 2020). Nie każdego samca da się przyuczyć do pobierania nasienia tą metodą (Ackerman i Lopes 2020), przez co metoda ta nie znajduje zastosowania w praktyce klinicznej. W przeciwieństwie do pobierania na sztuczną pochwę, elektroejakulacja może być zastosowana u każdego samca, u którego można zastosować znieczulenie ogólne i nie wymaga wcześniejszego treningu (Rijsselaere i Van Soom 2010). Charakteryzuje się wysoką skutecznością, jednak jest kwestionowana z punktu widzenia etyki i z tego powodu zakazana u zwierząt gospodarskich w wielu krajach (Palmer 2005). W badaniach naukowych powszechnie wykorzystywane jest pozyskiwanie plemników z ogonów najądrzy, ze względu na dobrą dostępność materiału

w postaci gonad usuwanych w trakcie zabiegów rutynowych kastracji (Niżański i wsp. 2005). Jest to również metoda „ostatniej szansy” na pozyskanie i zachowanie materiału genetycznego w przypadku śmierci samca, przez co jest szczególnie wartościowa w kontekście bankowania materiału od przedstawicieli zagrożonych gatunków (Niżański i wsp. 2005). Jednakże nie jest możliwa ona do zastosowania u aktywnych reproduktorów i nie da się jej wykorzystać w badaniach wymagających kilkukrotnego pobrania nasienia od tego samego samca.

Opisanie przez Zambelli i wsp. (2008) metody pobierania nasienia poprzez katetyzację cewki moczowej po podaniu medetomidyny okazało się przełomowe i technika ta stała się metodą z wyboru do pobierania nasienia u kotów. Podanie leku z grupy agonistów receptora α -2 adrenomimetycznego (np. medetomidyny) powoduje skurcz nasieniowodów i wypchnięcie plemników do cewki moczowej, skąd mogą być one odzyskane poprzez wprowadzenie cewnika (Zambelli i wsp. 2008). Metoda ta jest prosta, atraumatyczna, nie wymaga wcześniejszego treningu samca ani specjalnego sprzętu, nie budzi zastrzeżeń etycznych, jest również możliwa do zastosowania wielokrotnie u tego samego samca.

Pomimo niewątpliwych zalet, w około 5-8% przypadków próby pobrania nasienia cewkowego kończą się niepowodzeniem (brak plemników pomimo ich obecności w najądrzu) (Zambelli i wsp. 2008, Prochowska i wsp. 2015). Dodatkowo istnieje duże zróżnicowanie w całkowitej liczbie plemników możliwych do uzyskania tą techniką - od $1,3 \times 10^6$ do $231,0 \times 10^6$, niezależnie od wieku czy sezonu rozrodczego (Prochowska i wsp. 2015). W wielu przypadkach liczba plemników jest niewystarczająca dla jednej dawki inseminacyjnej – do skutecznej inseminacji dopochwowej potrzeba aż 80×10^6 plemników (Tanaka i wsp. 2000), a w przypadku inseminacji domacicznej nasieniem mrożonym – 50×10^6 plemników (Tsutsui i wsp. 2000). Niska liczba plemników ogranicza również możliwość prowadzenia badań naukowych na nasieniu kota domowego – niejednokrotnie konieczne jest łączenie nasienia pozyskanego od kilku samców (Chatdarong i wsp. 2010, Kunkitti i wsp. 2017). Z tego powodu opracowanie protokołu pozwalającego na zwiększenie liczby pozyskiwanych plemników wydaje się być kluczowe do dalszego rozwoju biotechnik rozrodu i ich rutynowego stosowania u kota domowego.

Oprócz relatywnie małej liczby plemników, nasienia kota domowego charakteryzuje częste występowanie teratozoospermii, tj. obecności w ejakulacie $>60\%$ nieprawidłowych morfologicznie plemników (Howard i wsp. 1991). Wiele dzikich kotowatych również wykazuje złą jakość morfologiczną nasienia (Pukhazenthi i wsp. 2006). W skrajnych przypadkach odsetek prawidłowych plemników nie przekracza 20%, np. u gepardów średnio 18,4% (Crosier i wsp. 2007), a u panter florydzkich jedynie 6,5% (Barone i wsp. 1994). Uważa

się, że zła jakość nasienia u tych gatunków związana jest z niską różnorodnością genetyczną (Pukhazenthi i wsp. 2006), co udało się odwzorować w warunkach eksperymentalnych w hodowli kotów o wysokim stopniu inbredu (Howard i wsp. 1992). Z drugiej strony, podłoże genetyczne nie jest jedynym wytłumaczeniem – badania na dzikich kotowatych z ogrodów zoologicznych wskazują żywienie i stres jako potencjalne czynniki odpowiedzialne za obniżenie jakości nasienia (Swanson i wsp. 2003). Wśród innych przyczyn wymienić można zaburzenie równowagi hormonalnej w jądrach (Müller i wsp. 2012). Teratozoospermia może występować również jako zjawisko przejściowe - jakość morfologiczna nasienia może się różnić pomiędzy dwoma ejakulatami tego samego kocura pobranymi w odstępach czasowych (Axnér i Linde Forsberg 2007). Wskazuje to, że podłoże teratozoospermii u kota domowego pozostaje więc w dalszym ciągu nie w pełni zbadane.

Kryterium dla teratozoospermii (>60% plemników nieprawidłowych) zostało ustalone na podstawie badań *in vitro* – próbki nasienia o tak wysokim odsetku nieprawidłowych plemników wykazały gorsze wyniki testów interakcji gamet (Howard i wsp. 1991). Badania innych zespołów wykazały, że plemniki teratozoospermicznych samców charakteryzują gorsze parametry ruchliwości oceniane przy użyciu komputerowo wspomaganą analizy nasienia (Stachecki i wsp. 1993, Prochowska i wsp. 2015), upośledzona zdolność kapacytacji i reakcji akrosomowej (Long i wsp. 1996), nieprawidłowa struktura chromatyny (Penfold i wsp. 2003) i niższa ekspresja fosfolipazy C Zeta (Villaverde i wsp. 2013). Co ważne, nawet pozornie prawidłowe plemniki od samców teratozoospermicznych wykazywały obniżony potencjał zapłodnieniowy w warunkach pozaustrojowych (Howard i wsp. 1991). Pomimo tego, zarówno dane literaturowe (Axnér i Linde Forsberg 2007), jak i nasze obserwacje kliniczne pokazują, że często kocury pozostają płodne pomimo niskiego odsetka prawidłowych plemników. Poddaje to w wątpliwość czy ustalone kryteria normospermogramu są prawidłowe (Axnér i Linde Forsberg 2007), jak również rodzi wiele pytań o znaczenie i właściwą ocenę teratozoospermii w warunkach klinicznych.

Przedstawione aspekty skłoniły mnie do podjęcia dwóch kierunków badawczych – optymalizacji pobierania nasienia od kota domowego celem pozyskania większej liczby plemników, jak również poszukiwania potencjalnych przyczyn teratozoospermii u tego gatunku oraz jej znaczenia w ocenie nasienia oraz zastosowaniu biotechnik rozrodu.

4.2.2. Omówienie wyników osiągnięcia

Publikacja 1: Prochowska S., Niżański W. Transscrotal stimulation of the testes and epididymides improves urethral sperm collection in domestic cats. *Reprod Fertil Dev.* 2021;33(6):437-440. doi: 10.1071/RD21010.

Chociaż pobieranie nasienia metodą katetyzacji cewki moczowej po podaniu medetomidyny charakteryzuje się ogólnie wysoką skutecznością, często liczba plemników pobranych od kocurów o potwierdzonej płodności była niewystarczająca do wykorzystania ich w biotechnikach rozrodu ($<10 \times 10^6$), co skłoniło wiele zespołów naukowców do podjęcia prac badawczych nad ulepszeniem tej metody.

Do tej pory opublikowano kilka wyników badań mających na celu optymalizację pobierania nasienia cewkowego, przy czym prace te koncentrowały się na różnych dawkach medetomidyny (Cunto i wsp. 2015), zastosowaniu różnych środków farmakologicznych z grupy α -2 mimetyków (Swanson i wsp. 2017, Pisu i wsp. 2017, da Silva i wsp. 2019, Madrigal-Valverde i wsp. 2020) lub zastosowania kilkukrotnego cewnikowania w różnych odstępach czasowych (Cunto i wsp. 2015). Żadna z tych modyfikacji nie pozwoliła na znaczącą poprawę. Analizując wyniki uzyskane podczas realizacji pracy doktorskiej, jak również w późniejszej pracy klinicznej zauważyliśmy (obserwacje osobiste), że całkowita liczba plemników była wyższa, gdy nasienie było pobierane od samców już przygotowanych do kastracji (po depilacji i oczyszczeniu moszny). Skłoniło nas to do postawienia hipotezy, że manualna stymulacja moszny lub jąder stymuluje wyrzut plemników do cewki moczowej.

Celem sprawdzenia tej hipotezy przeprowadzono badanie, w którym do rutynowo stosowanego protokołu pobierania nasienia dodano etap manualnej, przezmosznowej stymulacji jąder i najądrzy.

Badanie przeprowadzono na 20 dojrzałych płciowo samcach kota domowego różnych ras, pacjentów Ambulatorium Katedry Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. W początkowym etapie nasienie pobierano rutynowo wg. metodyki opisanej przez Zambelli i wsp. (2008): po ok. 10-15 min od podania medetomidyny w dawce 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.m., do cewki moczowej wprowadzano kateter celem pobrania znajdujących się tam plemników. Pobrany próbkę umieszczano w probówce z 200 μl rozrzedzalnika TRIS. Następnie wykonywano palcami przezmosznowy masaż jąder i najądrzy przez 2 min, ze szczególnym uwzględnieniem ogonów najądrzy. Zaraz po masażu wykonywano drugą katetyzację cewki moczowej, a pozyskane plemniki również zawieszano

w rozrzedzalniku TRIS. Obie próbki poddawano analizie, w trakcie której oceniano mikroskopowo ruchliwość subiektywną, przeprowadzano komputerowo wspomaganą analizę nasienia (CASA) pozwalającą ocenić koncentrację, całkowitą liczbę plemników oraz szczegółowe parametry ruchu plemników oraz wykonywano preparaty eozynowo-nigrozynowe do oceny żywotności i morfologii plemników.

Analiza wyników pokazała, że chociaż całkowita liczba plemników wykazała duże wahania zarówno w pierwszej (przed masażem, 0 do $78,0 \times 10^6$ plemników), jak i w drugiej próbce (po masażu, 2,9 do $93,2 \times 10^6$ plemników), masaż przezmosznowy pozwolił na uzyskanie istotnie wyższej liczby plemników. Na szczególną uwagę zasługiwały przypadki, gdzie pierwsze cewnikowanie było nieskuteczne (brak plemników, 5 przypadków) lub niezadowolające ($< 5 \times 10^6$ plemników, 5 przypadków), a w których zastosowanie masażu przezmosznowego i powtórne cewnikowanie pozwoliło pozyskać $> 10 \times 10^6$ plemników w 9/10 przypadków. Co więcej, próbka pobrana po masażu charakteryzowała się istotnie wyższym odsetkiem plemników ruchliwych i prawidłowych morfologicznie oraz niższym odsetkiem plemników poruszających się wolno (subpopulacja SLOW).

Opracowana i opisana w tej publikacji metoda przezmosznowego masażu jąder nie była nigdy wcześniej stosowana u żadnego gatunku zwierząt, co świadczy o jej innowacyjności. Ponieważ okazała się wysoce skuteczna, jest ona obecnie stosowana rutynowo do pobierania nasienia kocurów w Ambulatorium Katedry Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich UPWr.

Publikacja 2: Prochowska S., Niżański W., Partyka A., Kochan J., Młodawska W., Nowak A., Skotnicki J., Grega T., Pałys M.: Influence of the type of semen and morphology of individual sperm cells on the results of ICSI in domestic cats. *Theriogenology*. 2019;131:140-145. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.10.031

U kotów dowiedziono, że wysoki odsetek nieprawidłowych plemników negatywnie wpływa na wyniki testu wiązania do osłonki przejrzystej oocytu (ang. Zona-Binding Assay) (Howard i wsp. 1991) oraz wyniki zapłodnienia in vitro tzw. klasycznego (Penfold i wsp. 2003), jednak nie ma on wpływu na wyniki zapłodnienia metodą docytoplazmatycznej iniekcji plemnika (ang. Intracytoplasmic Sperm Injection, ICSI) (Penfold i wsp. 2003). Te różnice tłumaczone są faktem, że w klasycznej metodzie zapłodnienia pozaustrojowego (polegającej na koinkubacji komórek jajowych i plemników) tylko żywe, ruchliwe, zdolne do kapacytacji i reakcji akrosomalnej plemniki mają szansę zapłodnić komórkę jajową. W przeciwieństwie do klasycznego zapłodnienia in-vitro, w zapłodnieniu metodą ICSI plemnik jest wprowadzany do

cytoplazmy oocyty za pomocą mikromanipulatora, dlatego do procedury można wykorzystać plemniki nie posiadające wyżej wymienionych cech, choć w przypadku plemników nieruchliwych lub wykazujących pewne wady morfologiczne wiąże się to z niższą skutecznością (Nagy i wsp. 1998, de Vos i wsp. 2003). Z tego powodu generalną zasadą jest wybór ruchliwego, „najlepiej wyglądającego” plemnika do mikroiniekcji, co pozwala podnieść skuteczność zapłodnienia – u medycynie człowieka istnieje szereg metod pozwalających na selekcję „najlepszych” plemników (Baldini 2021). Metody te nie są rutynowo stosowane u zwierząt, prawdopodobnie z braku takiej potrzeby – większość gatunków, u których zapłodnienie pozaustrojowe jest stosowane, wykazuje dobrą jakość nasienia. Podczas przeprowadzania ICSI u kota domowego zauważyliśmy, że u niektórych osobników ze względu na wysoki odsetek wadliwych morfologicznie plemników, czasem trudno było znaleźć wystarczającą liczbę ruchliwych, morfologicznie prawidłowych plemników. Ponieważ podobna sytuacja może występować w przypadku cennych, unikatowych próbek nasienia (np. od uznanych reproduktorów kota domowego lub od zagrożonych gatunków dzikich kotowatych) postawiliśmy sobie za cel sprawdzenie, czy nieprawidłowe morfologicznie plemniki mogą być wykorzystywane do zapłodnienia metodą ICSI.

Nie tylko „wygląd” plemnika ma znaczenie - pochodzenie plemników (ejakulowane, najądrzowe, jądrzowe) również może wpływać na wynik ICSI (Nagy i wsp. 1998, de Vos i wsp. 2003). U kotów wykorzystanie do ICSI plemników pozyskanych z jąder skutkowało niższym odsetkiem blastocyst w porównaniu do nasienia ejakulowanego (Comizzoli i wsp. 2006). Podczas badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej wykazałam, że pochodzenie plemników (najądrzowe vs. cewkowe) nie ma wpływu na wyniki zapłodnienia metodą klasyczną (Prochowska i Nizański 2017), jednak w literaturze brak było bezpośredniego porównania nasienia najądrzowego i cewkowego przy metodzie ICSI.

Celem badań opisanych w tej publikacji była ocena wpływu rodzaju plemników kota domowego (pozyskanych z najądrzy lub z cewki moczowej) oraz morfologii pojedynczych plemników na wyniki zapłodnienia pozaustrojowego metodą ICSI. Badanie zostało podzielone na dwa eksperymenty.

W eksperymencie I próbki nasienia z cewki moczowej (przed kastracją) i najądrzy (pokastracyjnie) pobrano od 7 dojrzałych płciowo kocurów metodą odpowiednio katetyzacji cewki moczowej po podaniu medetomidyny (wg. Zambelli i wsp. 2008) oraz poprzez nacinanie ogonów najądrzy w buforze TRIS (Nizański i wsp. 2005). Następnie plemniki zamrożono wg rutynowej procedury (Nizański i wsp. 2005) i przechowywano w ciekłym azocie. Oocyty

do zapłodnienia *in vitro* pozyskiwano z jajników usuniętych podczas rutynowych zabiegów owariohisterektomii kotek i poddawano dojrzewaniu pozaustrojowemu przez 24 godz. (Waurich i wsp. 2010). Następnie dokonywano zapłodnienia pozaustrojowego metodą ICSI z wykorzystaniem rozmrożonych plemników cewkowych (CT) i najądrzowych (EP). Do mikroiniekcji wybierano tylko plemniki ruchliwe o prawidłowej morfologii. Po zapłodnieniu oocyty/zarodki hodowano przez siedem dni, codziennie obserwując i notując ich rozwój. Doświadczenie przeprowadzono w 12 powtórzeniach dla próbek CT (całkowita liczba oocytów $n=107$) oraz w 14 powtórzeniach dla próbek EP (całkowita liczba oocytów $n=122$).

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w odsetku oocytów zapłodnionych, jak również w dalszym rozwoju zarodków pomiędzy badanymi grupami, co pozwoliło stwierdzić, że plemniki pozyskane z najądrzy i z cewki moczowej mogą być z równym powodzeniem wykorzystane do zapłodnienia *in vitro* metodą ICSI.

W eksperymencie II wykorzystano kriokonserwowane nasienie najądrzowe uzyskane pokastracyjnie od 14 kocurów. Plemniki 10 osobników oceniono pod kątem integralności chromatyny za pomocą barwienia oranżem akrydyny, z wykorzystaniem cytometru przepływowego. W większości próbek plemniki wykazały niską fragmentację DNA (średni %DFI $2,4 \pm 2,5\%$), co było zgodne z naszymi wcześniejszymi danymi (Prochowska i wsp. 2016), z wyjątkiem jednego osobnika, dla którego %DFI wyniósł 14,9%. Dojrzałe w warunkach *in vitro* komórki jajowe zapładniano metodą ICSI z wykorzystaniem plemników bez widocznych nieprawidłowości (plemniki prawidłowy, liczba zapłodnionych oocytów $n=100$) lub plemników z jedną z następujących nieprawidłowości: nieprawidłowa główka ($n=37$), nieprawidłowa wstawka ($n=52$), kropla bliższa ($n=67$) lub kropla dalsza ($n=57$). Morfologiczną ocenę plemników przeprowadzono w powiększeniu $\times 400$. Doświadczenie przeprowadzono w 20 powtórzeniach.

Nie zaobserwowano żadnych statystycznie istotnych różnic między grupami morfologicznymi. Niezależnie od morfologii wybranego plemnika ponad 50% zarodków osiągnęło stadium moruli (zakres od 57,8% do 78,8%) i średnio 25% zarodków rozwinęło się do stadium blastocysty (zakres od 17,8% do 30,3%). Jedynie u osobnika z wysokim %DFI wyniki hodowli zarodków były dużo gorsze – tylko jeden z ośmiu oocytów (12,5%) poddanych mikroiniekcji został zapłodniony (grupa plemników prawidłowych), a jego rozwój został zatrzymany w stadium moruli.

Wyniki niniejszego badania, wraz z naszymi wcześniejszymi obserwacjami dotyczącymi wysokiej integralności struktury chromatyny i DNA plemników kota domowego, potwierdziły przydatność metody ICSI u kota domowego nawet w bardzo ciężkich

przypadkach, kiedy w nasieniu prawie nie ma prawidłowych plemników. W takich sytuacjach możliwe jest uzyskanie zarodków z wykorzystaniem nieprawidłowych plemników z taką samą szansą powodzenia jak w przypadku prawidłowego plemnika. To kluczowe informacje, które można wykorzystać w programach ochrony zagrożonych dzikich kotów. Z drugiej strony należy mieć na uwadze, że badanie dotyczyło bardzo wczesnego, przedimplantacyjnego rozwoju zarodków. Możliwe jest, że zarodki uzyskane z wykorzystaniem nieprawidłowych morfologicznie plemników posiadają wady, które mogłyby ujawnić się w późniejszych etapach ciąży i doprowadzić do zamarcia płodów lub narodzin potomstwa z wadami rozwojowymi. Konieczne są dalsze badania w tym obszarze.

Publikacja 3: Prochowska S., Partyka A, Niżański W. Expression of Apoptosis-Related Genes in Cat Testicular Tissue in Relation to Sperm Morphology and Seasonality-A Preliminary Study. *Animals (Basel)*. 2021;11(2):489. doi: 10.3390/ani11020489.

Niewiele wiadomo na temat apoptozy w jądrach kotów domowych. Została ona zbadana przez Siemieniuch (2008) w odniesieniu do wieku i sezonu rozrodczego, ujawniając istotne różnice związane z wiekiem, ale nie sezonem rozrodczym. Jednak sezonowość rozrodu u kocurów jest tematem kontrowersyjnym. Niektórzy autorzy wykazywali sezonowe zmiany w masie jąder, stężeniu testosteronu i jakości nasienia (Blottner i Jewgenow 2007, Tsutsui i wsp. 2009), których nie obserwowali inni badacze (Spindler i Wildt 1999, Prochowska i wsp. 2015). W związku z tym procesy apoptotyczne mogą nadal być zaangażowane regulację (lub zaburzenia) spermatogenezy poza sezonem rozrodczym, kiedy obserwuje się zmiany w jakości nasienia.

Związek apoptozy w przebiegu spermatogenezy z jakością nasienia był przedmiotem badań autorów niemieckich (Jewgenow i wsp. 2009). Prowadząc badania na kolonii kotów eksperymentalnych o wysokim współczynniku inbrodu wykazali oni obniżoną apoptozę komórek szeregu spermatogenicznego, skutkującą wyższym stosunkiem komórek rozrodczych do komórek Sertoliego oraz produkcją większej liczby plemników, ale o bardzo wysokim odsetku wad (teratozoospermia na tle homozygotyczności). Jednak te obserwacje nie potwierdziły się dla ogólnej populacji kotów, gdzie pomimo występowania teratozoospermii, stosunek komórek rozrodczych do komórek Sertoliego był prawidłowy (Jewgenow i wsp. 2013). Etiologia tego typu teratozoospermii jest nieznana, a rola apoptozy nie została wcześniej zbadana. Biorąc pod uwagę rozbieżne dane dotyczące teratozoospermii, jak i sezonowości

rozrodu kocurów, postanowiliśmy sprawdzić na poziomie molekularnym zaangażowanie mechanizmów apoptotycznych w spermatogenezę u kotów.

Celem pracy była ocena, czy ekspresja genów związanych z apoptozą w tkance jądrowej kotów domowych różni się: (1) między dawcami normozoospermicznymi i teratozoospermicznymi oraz (2) między próbkami pobranymi w sezonie rozrodczym i poza sezonem.

Materiał do badań stanowiła tkanka jąder pobrana pokastracyjnie od 22 kotów poddanych zabiegowi rutynowej orchidektomii w Katedrze Rozrodu i Klinice Zwierząt Gospodarskich Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Dodatkowo przed kastracją pobrano nasienie cewkowe metodą opisaną przez Zambelli i wsp. (2008) i oceniano morfologię plemników po barwieniu eozyną-nigrozyną. W zależności od miesiąca, w którym wykonano orchidektomię, próbki podzielono na dwie grupy: pobrane w okresie rozrodczym (marzec–wrzesień) oraz poza sezonem (grudzień–luty). W odniesieniu do morfologii kocury zostały sklasyfikowane jako normozoospermiczne, gdy w próbce nasienia było >60% normalnych plemników, lub teratozoospermiczne, gdy było <60% normalnych plemników. Badanie było podzielone na dwa eksperymenty. W eksperymencie I oznaczano ekspresję dwóch genów antyapoptotycznych (BCL2L1 i BCL2) oraz dwóch genów pro-apoptotycznych (BAX i BAD) w 12 próbkach. W eksperymencie II oceniano ekspresję genów związanych z apoptozą poprzez szlak receptora śmierci: gen receptora śmierci Fas (FAS) i ligandu Fas (FASLG); oraz z kaskadą kaspaz: gen kaspazy 3 (CASP3), kaspazy 8 (CASP8), kaspazy 9 (CASP9) i kaspazy 10 (CASP10). Eksperyment II przeprowadzono na próbkach od 18 osobników.

Podczas analizy wyników zauważono wyraźnie gorszą jakość nasienia poza sezonem rozrodczym – liczba kocurów zakwalifikowanych jak normozoospermiczne w okresie od grudnia do lutego wyniosła jeden w eksperymencie I oraz zero w eksperymencie II.

Nie stwierdzono różnic pomiędzy grupami normo- i teratozoospermicznymi dla żadnego z analizowanych genów. Porównanie próbek pobranych w okresie rozrodczym i poza sezonem wykazało istotnie wyższą ekspresję dwóch genów antyapoptotycznych (BCL2L1 i BCL2) w okresie poza sezonem reprodukcyjnym. Dodatkowo stwierdzono istotnie wyższą ekspresję genu CASP10 u kotów teratozoospermicznych poza okresem rozrodczym w porównaniu z sezonem rozrodczym.

Wyniki wykazały, że w ogólnej populacji kotów teratozoospermia nie jest związana z dysregulacją apoptozy w jądrach na poziomie ekspresji genów. Z drugiej strony zróżnicowana ekspresja niektórych genów pro- i antyapoptotycznych w okresie poza reprodukcyjnym może

wskazywać na zaangażowanie mechanizmów apoptotycznych w sezonowe pogorszenie jakości nasienia u kotów.

Publikacja 4: Prochowska S, Niżański W, Fontbonne A. Hypo-Osmotic Swelling Test (HOST) for Feline Spermatozoa: The Simplified Procedure and the Aspect of Sperm Morphology. *Animals (Basel)*. 2022;12(7):903. doi: 10.3390/ani12070903.

Test hipoosmotyczny plemników (ang. Hypoosmotic Swelling Test, test HOS, HOST) jest szeroko stosowany do oceny funkcjonalnej integralności błon cytoplazmatycznych plemników zarówno u ludzi (WHO 2010), jak i wielu gatunków zwierząt (Zubair i wsp. 2015). Test ten opiera się na zjawisku, że przy nienaruszonej błonie komórkowej warunki hipoosmotyczne powodują napływ płynu do komórki i jej obrzęk. W przypadku plemników obrzęk objawia się nie wzrostem objętości, ale zwijaniem się witki plemnika. Dlatego plemniki o zagiętej, zawiniętej witce (HOST-dodatnie) są klasyfikowane jako żywe, o nienaruszonej błonie komórkowej.

Chociaż HOST jest bardzo prosty i niedrogi, potrzeba zastosowania specjalnego medium hipoosmotycznego oraz inkubatora/łaźni wodnej oraz stosunkowo długi czas inkubacji (co najmniej 30 min) sprawiają, że test ten nie jest wykorzystywany w praktyce weterynaryjnej. Wykazano jednak, że w przypadku plemników ludzkich i zwierzęcych (psów, buhajów, kozłów, trutni), HOST można wiarygodnie przeprowadzić w wodzie destylowanej przez 5 minut (Nava-Trujillo i wsp. 2011, Hishinuma i Sekine 2003, Nur i wsp. 2011, Lomeo i Giambersio 1991, Fuse i wsp. 1993), co jest czasem określane jako „test wodny”. Protokół nie był testowany wcześniej dla plemników kota.

Plemniki poddane warunkom hipoosmotycznym wykazują różne wzorce zwijania, od niewielkiego zawinięcia na czubku witki, przez różne etapy zginania i zwijania, aż do pełnego zwinięcia włącznie z wstawką (Jeyendran i wsp. 1984). Rozerwanie błony komórkowej w trakcie nazywane jest despiralizacją i objawia się nagłym rozprostowaniem plemnika (Drevius i Eriksson 1966). Niektóre wady plemników (wgięcie witki, pętla witki) już obecne w natywnej próbce nasienia przypominają te wzorce i może się zdarzyć, że takie nieprawidłowe plemniki zostaną błędnie sklasyfikowane jako HOST-pozytywne (Takahashi i wsp. 1980). Z tego powodu w niektórych badaniach odsetek plemników z wadami witki był odejmowany od wyników testu HOST (Takahashi i wsp. 1980, Neild i wsp. 2000). Z drugiej strony nie można zakładać, że każdy nieprawidłowy plemnik ma zaburzoną integralność błony cytoplazmatycznej - według naszej wiedzy nie ma badań sprawdzających, jak żywe,

nieprawidłowe morfologicznie plemniki reagują na warunki hipoosmotyczne. Ze względu na wysoki odsetek teratozoospermii u kotowatych, zbadanie tego aspektu zdawało się być szczególnie ważne u tego gatunku, zwłaszcza że plemniki są narażone na zmiany ciśnienia osmotycznego nie tylko w warunkach eksperymentalnych, ale np. w trakcie kriokonserwacji.

Celem pracy było uproszczenie procedury HOST do oceny nasienia kotów poprzez wykorzystanie wody destylowanej jako roztworu hipoosmotycznego w kombinacji z różnymi temperaturami i czasem inkubacji. Drugim celem było sprawdzenie, jak plemniki o różnych wadach morfologicznych reagują na warunki hipoosmotyczne.

Nasienie cewkowe pobrano od 19 samców kota domowego według Zambelli i wsp. (2008) z dodatkową stymulacją przezmoszną opisaną w Publikacji 1. W nasieniu oceniano następujące parametry: ruchliwość subiektywna, całkowitą liczbą plemników i szczegółowe parametry ruchu (za pomocą komputerowo wspomaganą analizy nasienia CASA) oraz żywotność i morfologię po barwieniu eozyną i nigrozyną.

W eksperymencie I testowano różne protokoły HOST: dwa roztwory hipoosmotyczne (50 mOsm/kg fruktoza lub woda destylowana - 0 mOsm/kg), dwie temperatury inkubacji (37°C lub pokojowa) oraz dwa czasy inkubacji (5 min i 30 min). Po inkubacji zliczano pod mikroskopem odsetek plemników, które uległy zwinięciu (HOST-dodatnich). Eksperyment przeprowadzono na nasieniu 13 kotów.

W eksperymencie II analizowano wpływ wad morfologicznych plemników na zdolność reakcji w warunkach hipoosmotycznych. W tym celu za pomocą mikromanipulatora przenoszono pojedynczo żywe, ruchliwe plemniki do kropli wody destylowanej i obserwowano je pod mikroskopem. Dla każdego plemnika odnotowywano rodzaj wady (zgięcie witki, pętla witki, nieprawidłowa wstawka, kropla bliższa, kropla dalsza lub brak nieprawidłowości – plemnik prawidłowy) oraz rodzaj reakcji (czas i stopień reakcji, despiralizację, brak reakcji). Wykorzystano nasienie od 6 kotów i oceniono co najmniej 50 plemników od każdego osobnika.

W eksperymencie I nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między ocenianymi zmiennymi. Wyniki HOST w każdej kombinacji były istotnie skorelowane z żywotnością, ale nie z ruchliwością subiektywną i morfologią. W eksperymencie II nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w reakcji plemników z różnymi wadami na warunki hipoosmotyczne, z wyjątkiem częstszej despiralizacji plemników z kroplą dalszą w porównaniu z plemnikami prawidłowymi. Najczęstszym wzorcem było natychmiastowe pełne zwinięcie (>60%), niezależnie od morfologii plemników.

W pracy potwierdzono możliwość zastosowania uproszczonej procedury hipoosmotycznego testu plemników (wykonywanego w wodzie destylowanej przez 5 min w temperaturze pokojowej) do oceny funkcjonalności błon komórkowych plemników kotów, co może skutkować częstszym wykorzystaniem tego testu w praktyce klinicznej. Udowodniono również, że nieprawidłowe morfologicznie plemniki są w pełni zdolne do reakcji na warunki hipoosmotyczne, co powinno być brane pod uwagę podczas wykonywania testu HOST.

4.2.3. Podsumowanie osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe stanowi cykl 4 powiązanych tematycznie artykułów naukowych o łącznym **IF: 9,524** i sumie **punktów MNiSW: 480**.

Celem badań przedstawionych w ramach cyklu prac, wskazanych jako szczególne osiągnięcie w procedurze postępowania habilitacyjnego, była optymalizacja pobierania nasienia od kocurów oraz zgłębienie różnych aspektów teratozoospermii, które mogą mieć znaczenie kliniczne u tego gatunku.

Do najważniejszych osiągnięć rozprawy habilitacyjnej należy zaliczyć:

1. Opracowanie prostej i łatwej do zastosowania w warunkach klinicznych modyfikacji protokołu pobierania nasienia cewkowego kocurów (zastosowanie stymulacji przezmosznowej przed cewnikowaniem), która pozwala na pozyskanie znacznie większej liczby plemników, o lepszej jakości. Ponieważ relatywnie niska liczba plemników w nasieniu kota domowego ogranicza zastosowanie biotechnik rozrodu oraz prowadzenie badań u tego gatunku, opisana przeze mnie metoda stanowi istotny wkład w rozwój dyscypliny i może zostać wykorzystana zarówno w celach klinicznych jak i naukowych.
2. Wykazanie, że przy zastosowaniu metody ICSI (docytoplazmatycznej iniekcji plemnika), wady morfologiczne plemników nie mają wpływu na skuteczność sztucznego zapłodnienia i preimplantacyjny rozwój zarodków, dzięki czemu możliwe jest zastosowanie ICSI nawet w skrajnych przypadkach teratozoospermii, kiedy praktycznie brak jest w nasieniu prawidłowych plemników. Ponieważ taka sytuacja może mieć miejsce w przypadku cennych samców dzikich kotowatych, wiedza ta może zostać wykorzystana w ochronie ginących gatunków.

3. Wykazanie braku różnic pomiędzy ekspresją wybranych genów pro i antyapoptotycznych w tkance jądrowej kocurów wykazujących normo- i teratozoospermie, co przemawia za tym, że mechanizmy apoptotyczne nie są zaangażowane w powstawianie zjawiska teratozoospermii w ogólnej populacji kocurów.
4. Wykazanie istotnych różnic pomiędzy ekspresją genów anty-apoptotycznych BCL2L1 oraz BCL2 w tkance jądrowej kocurów pobranej w trakcie sezonu rozrodczego oraz poza sezonem, co wskazuje na zaangażowanie mechanizmów apoptotycznych w sezonowe zmiany jakości nasienia u kotów domowych.
5. Opracowanie uproszczonej procedury testu hypoosmotycznego (HOST) do oceny funkcjonalności błon komórkowych plemników, co może przyczynić się do szerszego wykorzystania tego testu w warunkach klinicznych.
6. Wykazanie, że żywe plemniki kota domowego o nieprawidłowej morfologii reagują na warunki hypoosmotyczne tak samo jak plemniki prawidłowe, dlatego ich obecność w nasieniu nie fałszuje wyników testu HOST i stosowana czasem praktyka korygowania wyniku nie powinna być stosowana. Ponieważ plemniki są narażone na warunki hypoosmotyczne nie tylko w warunkach testowych, ale również podczas procesu kriokonserwacji, wyniki te mogą być wykorzystane w badaniach nad mrożeniem nasienia kota domowego.

Podsumowując, wyniki przedstawione w omawianych pracach mają duży potencjał praktyczny i mogą zostać wykorzystane w klinikach weterynaryjnych do poprawy pobierania i oceny nasienia kocurów, a przez to do szerszego wykorzystania biotechnik rozrodu u tego gatunku. Dodatkowo, poszerzono wiedzę o mechanizmach teratozoospermii oraz o właściwościach nieprawidłowych morfologicznie plemników kota domowego. Ponieważ kot domowy jest organizmem modelowym dla dzikich kotowatych, wykazane osiągnięcia mogą być ekstrapolowane na innych przedstawicieli rodziny Felidae i przyczynić się do szerszego zastosowania biotechnik rozrodu u ginących gatunków kotowatych.

4.2.4. Piśmiennictwo

1. Ackermann CL, Lopes MD. Training tom cats for semen collection using an artificial vagina: a retrospective study. *J Feline Med Surg.* 2020;22(12):1155-1159.
2. Axné E, Linde Forsberg C. Sperm morphology in the domestic cat, and its relation with fertility: A retrospective study. *Reprod Domest Anim.* 2007;42(3):282-291.

3. Baldini D, Ferri D, Baldini GM, Lot D, Catino A, Vizziello D, Vizziello G. Sperm Selection for ICSI: Do We Have a Winner? *Cells*. 2021;10(12):3566.
4. Barone MA, Roelke ME, Howard J, Brown JL, Anderson AE, Wildt DE. Reproductive Characteristics of Male Florida Panthers: Comparative Studies from Florida, Texas, Colorado, Latin America, and North American Zoos. *J Mammal*. 1994;75(1):150-162.
5. Blottner S, Jewgenow K. Moderate seasonality in testis function of domestic cat. *Reprod Domest Anim*. 2007;42(5):536-540.
6. Chatdarong K, Thuwanut P, Morrell JM. Single-layer centrifugation through colloid selects improved quality of epididymal cat sperm. *Theriogenology*. 2010;73:1284-1292.
7. Comizzoli P, Wildt DE, Pukazhenthil BS. In vitro development of domestic cat embryos following intra-cytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa. *Theriogenology*. 2006;66(6-7):1659-1663.
8. Crosier AE, Marker L, Howard J, Pukazhenthil BS, Henghali JN, Wildt DE. Ejaculate traits in the Namibian cheetah (*Acinonyx jubatus*): influence of age, season and captivity. *Reprod Fertil Dev*. 2007;19(2):370-82.
9. Cunto M., Küster D.G., Bini C., Cartolano C., Pietra M., Zambelli D. Influence of Different Protocols of Urethral Catheterization after Pharmacological Induction (Ur.Ca.P.I.) on Semen Quality in the Domestic Cat. *Reprod Domest Anim*. 2015;50: 999-1002.
10. da Silva M.C.C., Ullony K.M., de Araújo G.R., Jorge-Neto P.N., de Deco-Souza T. Comparação entre dois fármacos alfa dois agonistas para a colheita farmacológica de sêmen de gatos domésticos. In proceedings of IV Reunião Anual da Associação Brasileira de Andrologia Animal, Goiânia, GO, 2019, 247-250.
11. De Vos A, Van De Velde H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, Van Steirteghem A. Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 2003;79(1):42-48.
12. Drevious LO, Eriksson H. Osmotic swelling of mammalian spermatozoa. *Exp Cell Res*. 1966;42(1):136-156.
13. Fuse H, Ohta S, Sakamoto M, Kazama T, Katayama T. Hypoosmotic swelling test with a medium of distilled water. *Arch Androl*. 1993;30(2):111-116.
14. Hamner C.E., Jennings L.L., Sojka N.J. Cat (*Felis catus* L.) spermatozoa require capacitation. *J. Reprod. Fertil*. 1970;23:477-480.
15. Hishinuma M, Sekine J. Evaluation of membrane integrity of canine epididymal spermatozoa by short hypoosmotic swelling test with ultrapure water. *J Vet Med Sci*. 2003;65(7):817-820.
16. Howard J, Bush M, Wildt DE. Teratospermia in domestic cats compromises penetration of zona-free hamster ova and cat zonae pellucidae. *J Androl*. 1991;12(1):36-45.
17. Howard J, Haskins M, Patterson D, McAloose D, Baker H, Just C, et al. Assisted reproduction in feline animal models of human disease. *Lab Anim Sci* 1992;42:421 (abstract).
18. Jewgenow K, Neubauer K, Blottner S, Schön J, Wildt DE, Pukazhenthil BS. Reduced germ cell apoptosis during spermatogenesis in the teratospermic domestic cat. *J Androl*. 2009;30(4):460-468.
19. Jewgenow K, Pukazhenthil BS, Schoen J. Analysis of Sertoli cell efficiency allows the differentiation between two fundamentally different forms of feline teratospermia. *Theriogenology*. 2013;79(2):261-266.
20. Jeyendran RS, Van der Ven HH, Perez-Pelaez M, Crabo BG, Zaneveld LJ. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fertil*. 1984;70(1):219-228.
21. Kunkitti P, Chatdarong K, Suwimonteerabutr J, Nedumpun T, Johannisson A, Bergqvist AS, Sjunnesson Y, Axner E. Osmotic tolerance of feline epididymal spermatozoa. *Anim Reprod Sci*. 2017;185:148-153.

22. Lomeo AM, Giambersio AM. 'Water-test': a simple method to assess sperm-membrane integrity. *Int J Androl.* 1991;14(4):278-282.
23. Long J, Wildt DE, Wolfe B, Critser JK, DeRossi RV, Howard J. Sperm capacitation and the acrosome reaction are compromised in teratospermic domestic cats. *Biol Reprod.* 1996;54(3):638-646.
24. Madrigal-Valverde M, Bittencourt RF, Ribeiro Filho AD, Barbosa VF, Vieira CA, Romão EA, Carneiro IB, Azevedo MC, Araujo GR. Quality of domestic cat semen collected by urethral catheterization after the use of different alpha 2-adrenergic agonists. *J Feline Med Surg.* 2021;23(8):745-750.
25. Müller G, Martino-Andrade AJ, Santos AS, Reghelin AL, Garcia DM, Sant'Ana GR, Spencoski KM, Meyer KB, Torres SM, Silva Júnior VA, Morais RN. Testicular testosterone: estradiol ratio in domestic cats and its relationship to spermatogenesis and epididymal sperm morphology. *Theriogenology.* 2012;78(6):1224-1234.
26. Nagy ZP, Verheyen G, Tournaye H, Van Steirteghem AC. Special applications of intracytoplasmic sperm injection: the influence of sperm count, motility, morphology, source and sperm antibody on the outcome of ICSI. *Hum Reprod.* 1998;13 Suppl 1:143-54.
27. Nava-Trujillo H, Quintero-Moreno A, Osorio-Melendez C, Guillén J, Carrillo-Fernández F, Finol-Parra G. Use of water test to assess the sperm membrane functional integrity in cryopreserved bull semen. *Revista Científica.* 2011;XXI:211-214.
28. Neild DM, Chaves MG, Flores M, Miragaya MH, Gonzalez E, Agüero A. The HOS test and its relationship to fertility in the stallion. *Andrologia.* 2000;32(6):351-355.
29. Niżański W, Dejneka GJ, Klimowicz M, Dubiel A. Ocena wybranych właściwości plemników najądrzowych kota domowego i ich konserwacja w niskich temperaturach. *Medycyna Wet.* 2005;61:173-178.
30. Nur Z, Seven-Cakmak S, Ustuner B, Cakmak I, Ertürk M, Abramson C, Sagirkaya H, Soylu M. The use of the hypo-osmotic swelling test, water test, and supravital staining in the evaluation of drone sperm. *Apidologie.* 2011;43:31-38.
31. Palmer CW. Welfare aspects of theriogenology: investigating alternatives to electroejaculation of bulls. *Theriogenology.* 2005;64(3):469-479.
32. Penfold LM, Jost L, Evenson DP, Wildt DE. Normospermic versus teratospermic domestic cat sperm chromatin integrity evaluated by flow cytometry and intracytoplasmic sperm injection. *Biol Reprod.* 2003;69(5):1730-1735.
33. Pisu M.C., Ponzio P., Rovella C., Baravalle M., Veronesi M.C.. Usefulness of an injectable anaesthetic protocol for semen collection through urethralcatheterisation in domestic cats. *J Feline Med Surg.* 2017;19:1087-1090.
34. Platz C.C., Wildt D.E., Seager S.W. Pregnancy in the domestic cat after artificial insemination with previously frozen spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 1978;52:279-282.
35. Prochowska S, Niżański W, Ochota M, Partyka A. Characteristics of urethral and epididymal semen collected from domestic cats--A retrospective study of 214 cases. *Theriogenology.* 2015;84(9):1565-1571.
36. Prochowska S, Niżański W, Partyka A. Comparative analysis of in vitro characteristics of fresh and frozen-thawed urethral and epididymal spermatozoa from cats (*Felis domesticus*). *Theriogenology.* 2016;86(8):2063-72.
37. Prochowska S, Niżański W. In vitro fertilizing potential of urethral and epididymal spermatozoa collected from domestic cats (*Felis catus*). *Pol J Vet Sci.* 2017;20(1):19-24.
38. Pukazhenthii BS, Neubauer K, Jewgenow K, Howard J, Wildt DE. The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. *Theriogenology.* 2006;66:112-121.

39. Rijsselaere T., Van Soom A. Semen collection, assessment and artificial insemination in the cat. *Vlaams Diergen Tijds* 2010;79:467–470.
40. Siemieniuch MJ. Apoptotic changes in the epithelium germinativum of the cat (*Felis catus* s. *domestica*, L. 1758) at different ages and breeding seasons. *Reprod Domest Anim.* 2008;43(4):473-476.
41. Sojka N.J., Jennings L.L., Hamner C.E. Artificial insemination in the cat (*Felis catus* L.). *Lab. Anim. Care* 1970;20:198–204.
42. Spindler RE, Wildt DE. Circannual variations in intraovarian oocyte but not epididymal sperm quality in the domestic Cat. *Biol Reprod.* 1999;61(1):188-194.
43. Stachecki JJ, Ginsburg KA, Leach RE, Armant DR. Computer-assisted semen analysis (CASA) of epididymal sperm from the domestic cat. *J Androl.* 1993;14:60-65.
44. Swanson W.F., Bateman H.L., Vansandt L.M. Urethral catheterization and sperm vitrification for simplified semen banking in felids. *Reprod Domest Anim.* 2017;52 Suppl 2:255-260.
45. Swanson WF, Johnson WE, Cambre RC, Citino SB, Quigley KB, Brousset DM, Morais RN, Moreira N, O'Brien SJ, Wildt DE. Reproductive status of endemic felid species in Latin American Zoos and implications for ex situ conservation. *Zoo Biology* 2003;22(5):421-441
46. Takahashi K, Uchida A, Kitao M. Hypoosmotic Swelling Test of Sperm. *Archives of Andrology*, 1990;25(3):225-242.
47. Tanaka A., Takagi Y., Nakagawa K., Fujimoto Y., Hori T., Tsutsui T. Artificial intravaginal insemination using fresh semen in cats. *J Vet Med Sci.*, 2000;62(11):1163-1167.
48. Tsutsui T, Onodera F, Oba H, Mizutani T, Hori T. Plasma hormone levels and semen quality in male cats during non-breeding and breeding seasons. *Reprod Domest Anim.* 2009;44 Suppl 2:291-293.
49. Tsutsui T., Tanaka A., Takagi Y., Nakagawa K., Fujimoto Y., Murai M., Anzai M., Hori T. Unilateral intrauterine horn insemination of frozen semen in cats. *J Vet Med Sci.*, 2000;62(12):1247-1251.
50. Valiente C, Sota PE, Arauz S, et al. Ejaculation training, seminal alkaline phosphatase and semen preservation through cooling in a milk-based extender in domestic cats. *J Feline Med Surg* 2014;16: 312–316.
51. Villaverde AI, Fioratti EG, Fissore RA, He C, Lee HC, Souza FF, Landim-Alvarenga FC, Lopes MD. Identification of phospholipase C zeta in normospermic and teratospermic domestic cat sperm. *Theriogenology.* 2013;80(7):722-729.
52. Waurich R, Ringleb J, Braun BC, Jewgenow K. Embryonic gene activation in in vitro produced embryos of the domestic cat (*Felis catus*). *Reproduction* 2010;140(4):531-540.
53. WHO: WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Switzerland: WHO; 2010.
54. Zambelli D, Prati F, Cunto M, Iacono E, Merlo B. Quality and in vitro fertilizing ability of cryopreserved cat spermatozoa obtained by urethral catheterization after medetomidine administration. *Theriogenology* 2008;69:485–490.
55. Zubair M, Ahmad M, Jamil H. Review on the screening of semen by hypo-osmotic swelling test. *Andrologia.* 2015;47(7):744-750.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Wykaz odbytych staży zagranicznych:

Przed uzyskaniem stopnia doktora:

S1: 01.10-31.12.2013: Staż naukowy w ramach Erasmus LPP: Ghent University, Gandawa, Belgia (3 m-ce)

S2: 10-14.03.2014: Staż szkoleniowy: „Cryopreservation of gametes”: Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research, Berlin, Niemcy (5 dni)

S3: 03.06-02.09.2016: Staż naukowy w ramach Erasmus+: Clinique vétérinaire "les Poumadères" – Centre de Reproduction des Carnivores du Sud-Ouest, L'Isle Jourdain, Francja (3 m-ce)

Po uzyskaniu stopnia doktora:

S4: 30.05-28.06.2019: Staż naukowy w ramach NAWA PROM: L'École nationale vétérinaire d'Alfort, Paris, Maison-Alfort, Francja (1 m-c)

S5: 09-13.12.2019: Staż naukowy w ramach NAWA POLONIUM: INRA Unité Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Nouzilly, Francja (5 dni)

S6: 18-22.10.2021: Staż naukowy w ramach NAWA POLONIUM: INRA Unité Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Nouzilly, Francja (5 dni)

S7: 03.11-01.12.2021: Staż naukowy w ramach stypendium Towarzystwa Biologii Rozrodu: Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazylia, na zaproszenie stowarzyszenia Reprocon (1 m-c)

Potwierdzenia odbycia staży zagranicznych znajdują się w Załączniku nr 6.

Współpraca z innymi uczelniami zagranicznymi

1. Uniwersytet w Gandawie, Belgia

Moja współpraca z Uniwersytetem z Gandawie rozpoczęła się przed uzyskaniem stopnia doktora, w 2013 roku, podczas trzymiesięcznego **stażu naukowego [S1]**, który odbyłam w Katedrze Rozrodu, Położnictwa i Zdrowia Stada pod opieką prof. Ann van Soom i dr Toma Rijsselaere. Podczas stażu prowadziłam prace badawcze nad testem hypoosmotycznym plemników (nasienie psa domowego), oczyszczaniem nasienia

poprzez wirowanie w gradiencie Percoll® (nasienie kota domowego) oraz uczyłam się technik zapłodnienia in-vitro u bydła i koni. Doświadczenie i umiejętności zdobyte podczas tego stażu wykorzystałam w mojej pracy doktorskiej, jak również w późniejszych badaniach prowadzonych na kocie domowym czy żubrach.

Obecnie współpraca z Uniwersytetem w Gandawie odbywa się w ramach **projektu** pt.: “*Multicentryczna międzynarodowa platforma naukowa kluczem do efektywnego prowadzenia badań*”, NAWA APM, nr PPI/APM/2019/1/00044/U/00001, kier. *Wojciech Niżański, 2020-2023*, którego nadrzędnym celem jest stworzenie międzynarodowej sieci ośrodków prowadzących wspólne prace badawczo-rozwojowe w kilku obszarach, m.in. technik wspomaganego rozrodu zwierząt. W ramach tego projektu odbyłam **wizytę studyjną** na Uniwersytecie w Gandawie (25-27.04.2022r.) oraz sprawowałam **opiekę nad doktorantką** z Uniwersytetu w Gandawie podczas jej trzytygodniowego stażu naukowego w Katedrze Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich UPWr, którego celem była optymalizacja kriokonserwacji nasienia kota domowego poprzez dodatek substancji MitoTempo. W szczególności moja rola polegała na wsparciu merytorycznym oraz ocenie plemników przy pomocy cytometru przepływowego i mikroskopu fluorescencyjnego. W ramach współpracy powstała również **publikacja** dotycząca pobierania nasienia od dzikich kotowatych: *Prochowska S., Niżański W., Snoeck F., Wydooghe E, Van Soom A, Kochan J, Stefanyk V. How Can We Introduce ART into Wild Felid Conservation in Practice? Joint Experience in Semen Collection from Captive Wild Felids in Europe. Animals, 2022;12(7):1-13.*

Potwierdzenia współpracy znajdują się w Załącznikach nr 6, 7 i 8.

2. L’Ecole National Veterinaire d’Alfort (ENVA), Francja

Współpracę z EVNA rozpoczęłam w 2019 roku podczas miesięcznego **stażu naukowego [S4]** pod opieką prof. Alaina Fontbonne’a. Podczas stażu skupiałam się na optymalizacji testu hypoosmotycznego plemników dla kota domowego. Wyniki tego eksperymentu zostały opublikowane w **pracy P4** stanowiącej osiągnięcie przedstawione do postępowania habilitacyjnego, jak również zaprezentowane w postaci **doniesienia konferencyjnego**: *Prochowska S., Niżański W., Fontbonne A. A simplified procedure of hypoosmotic swelling test (HOST) for feline spermatozoa. IX Zjazd Towarzystwa Biologii Rozrodu, 2-4.09.2021, on-line.*

Efektym współpracy jest również wspólna **praca przeglądowa** dotycząca niepłodności kotów rasowych, w której jestem autorem części dotyczącej niepłodności samców: *Fontbonne A, Prochowska S, Niewiadomska Z. Infertility in purebred cats - A review of the potential causes. Theriogenology. 2020;158:339-345.*

Obecnie współpraca z ENVA prowadzona jest w ramach w/w **projektu** „*Multicentryczna międzynarodowa platforma naukowa kluczem do efektywnego prowadzenia badań*”, NAWA APM, nr PPI/APM/2019/1/00044/U/00001, kier. *Wojciech Niżański, 2020-2023* i dotyczy badań nad niepłodnością kotów oraz oceny nasienia m.in. markeru jakości ProAKAP4.

Potwierdzenia współpracy znajdują się w Załącznikach nr 6, 7 i 8.

3. INRA, Unité Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Francja

Moja współpraca z INRA, z zespołem prof. Pascala Froment, rozpoczęła się w 2019 roku w ramach **projektu** NAWA POLONIUM pt.: „*Development of tools to create and analyze new extenders for semen cryopreservation*”, NAWA Polonium nr PPN/BIL/2018/1/00146/U/00017, kier. *Agnieszka Partyka, 2019-2021*. Odbyłam dwa krótkoterminowe **staże naukowe** w INRA [**S5 i S6**], podczas których planowane były wspólne prace nad optymalizacją kriokonserwacji nasienia kogutów oraz kota domowego poprzez dodatek proantocyjanidyny oraz omówienie wyników uzyskanych w trakcie eksperymentów przeprowadzanych we Wrocławiu. Rezultatem jest **doniesienie konferencyjne**: *Partyka A., Grandhaye J., Prochowska S., Ligocka Z., Domrazek K., Niżański W., Froment P. Proanthocyanidin is not useful for enhancement of the cryopreserved semen quality in poultry species. IX Zjazd Towarzystwa Biologii Rozrodu, 2-4.09.2021, on-line, drugie doniesienie: Prochowska S., Grandhaye J., Partyka A., Froment P., Niżański W. Addition of proanthocyanidin to freezing extender did not improve post-thaw quality of domestic cat semen* zostało zaakceptowane jako plakat na 25th ESDAR Conference, 28.09-02.10.2022, Thessaloniki. Dodatkowo podczas pobytu w INRA nauczyłam się techniki Western Blotting, którą wykorzystuję w obecnie prowadzonych eksperymentach.

Potwierdzenia współpracy znajdują się w Załącznikach nr 6, 7 i 8.

4. Lwowski Narodowy Uniwersytet Medycyny Weterynaryjnej i Biotechnologii im. Stefana Grzyckiego, Ukraina

Moja współpraca z Lwowskim Uniwersytetem skupia się głównie na zastosowaniu biotechnik rozrodu (kriokonserwacja nasienia i sztuczna inseminacja) u dzikich kotowatych. W trakcie trzech **wizyt badawczych** (jedna w 2018 oraz dwie w 2019 roku) razem z prof. Wojciechem Niżańskim (UPWr) oraz prof. Vasylem Stefanykiem i jego zespołem pobieraliśmy nasienie od tygrysa, ocelota, serwali, lamparta, jaguara oraz przeprowadziliśmy pięć zabiegów nieinwazyjnej, endoskopowej inseminacji samic tych gatunków. Efektem współpracy jest wspomniana wcześniej **publikacja** Prochowska S., Niżański W., Snoeck F, Wydooghe E, Van Soom A, Kochan J, Stefanyk V. *How Can We Introduce ART into Wild Felid Conservation in Practice? Joint Experience in Semen Collection from Captive Wild Felids in Europe. Animals, 2022;12(7):1-13.* oraz **doniesienie konferencyjne**: Prochowska S., Niżański W., Kochan J., Partyka A., Nowak A., Stefanyk W., Ivachiv M., Basarab T., Holumbiovskia T., Kostyshyn L., Skotnicki J., Grega T., Palys P. *Pobieranie nasienia różnych gatunków dzikich kotowatych – doświadczenia własne. XV Międzynarodowy Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek", 12–13.10.2019, Wrocław.* Na zaproszenie Lwowskiego Uniwersytetu wygłosiłam we Lwowie dwa **wykłady konferencyjne** dla lekarzy weterynarii:

Sylwia Prochowska, Wojciech Niżański. Badanie nasienia w praktyce klinicznej – Międzynarodowa Konferencja Naukowa "Lwowsko-wrocławska szkoła weterynaryjna", 15.05.2018, Lwów.

Prochowska S., Niżański W. Jak łatwo i skutecznie pobrać nasienie od kocura. Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Lwowsko-wrocławska szkoła weterynaryjna”, 27-29.05.2019, Lwów.

Potwierdzenia współpracy znajdują się w Załącznikach nr 8 i 9.

5. Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazylia

W 2021 roku rozpoczęła się moja współpraca z Federal University of Mato Grosso do Sul oraz stowarzyszeniem Reprocon. Podczas miesięcznego **stażu naukowego** w Brazylii [S7] razem z naukowcami z Campo Grande (Thyara Deco-Souza, Gediendson Ribeiro De Araújo i Pedro Nacib Jorge Neto) prowadziłam badania nad optymalizacją pobierania i kriokonserwacji nasienia jaguara (*Panthera onca*) oraz

kota pampasowego (*Leopardus braccatus*). Przy okazji prowadzonych doświadczeń zebraliśmy wiele innych cennych danych badawczych, np. u każdego samca wykonano badanie krwi, testometrię, USG jąder oraz jamy brzusznej oraz badanie jąder kamerą termowizyjną. Wyniki są w trakcie analizy, planowane są dwie publikacje podsumowujące przeprowadzone doświadczenia.

Potwierdzenie współpracy znajduje się w Załączniku nr 6.

6. Uniwersytet w Mediolanie

Moja współpraca z Uniwersytetem w Mediolanie reprezentowanym przez prof. Gaję Cecylię Luvoni i jej zespół prowadzona jest od 2020 roku w ramach wspomnianego już **projektu** „*Multicentryczna międzynarodowa platforma naukowa kluczem do efektywnego prowadzenia badań*”, NAWA APM, nr PPI/APM/2019/1/00044/U/00001, kier. Wojciech Niżański, 2020-2023. Współpraca koncentruje się wokół optymalizacji pozaustrojowej hodowli zarodków oraz kriokonserwacji tkanki jajnikowej kota domowego. W ramach projektu sprawowałam opiekę nad doktorantem podczas jego miesięcznego stażu naukowego w Katedrze Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich UPWr, którego celem była optymalizacja protokołów witrifikacji i hodowli tkanki jajników kotów. Jako efekt współpracy powstała jedna **praca przeglądowa**: Colombo, M.; Alkali, I.M.; Prochowska, S.; Luvoni, G.C. *Fighting Like Cats and Dogs: Challenges in Domestic Carnivore Oocyte Development and Promises of Innovative Culture Systems. Animals 2021;11:2135.*

Potwierdzenia współpracy znajdują się w Załącznikach nr 7 i 8.

Współpraca z innymi uczelniami krajowymi

7. Uniwersytet Rolniczy w Krakowie (UR)

Moja współpraca z zespołem z UR w Krakowie (głównie dr Joanną Kochan i dr hab. Wiesławą Młodawską, prof. URK) rozpoczęła się w 2014 roku (przed uzyskaniem stopnia doktora) w ramach **projektu** pt.: „*Zwiększenie innowacyjności i efektywności programów ochrony zasobów genetycznych dzikich kotowatych poprzez utworzenie banku komórek i wdrożenie do praktyki metod pozaustrojowej produkcji zarodków*”. NCBiR PBS nr PBS3/B8/16/2015. kier. Wojciech Niżański, 2014 – 2017, którego celem była optymalizacja na modelu kota domowego oraz wdrożenie do praktyki metod pozaustrojowej produkcji zarodków u dzikich

kotowatych. Prace dotyczyły zaawansowanych technik, takich jak docytoplazmatyczna iniekcja plemnika (ICSI) czy klonowanie somatyczne. Jednym z rezultatów prowadzonych wtedy badań jest publikacja **P2**, stanowiąca osiągnięcie przedstawione do postępowania habilitacyjnego, oraz powstanie jedyne w Europie Środkowo-Wschodniej Banku Komórek Somatycznych, Gamet Kota Domowego i Dzikich Kotowatych (opisane w **publikacji przeglądowej** Kochan J, Niżański W, Moreira N, Cubas ZS, Nowak A, Prochowska S, Partyka A, Młodawska W, Skotnicki J. *ARTs in Wild Felid Conservation Programmes in Poland and in the World. J Vet Res. 2019;13;63(3):457-464* oraz **popularno-naukowej** Niżański W, Kochan J., Prochowska S., Partyka A, Skotnicki J. *Bank komórek kota domowego i dzikich kotowatych działa w Polsce. Mag. Wet. 2018, 12, vol. 27, s. 68-69*), będącego częścią Wrocławskiego Banku Nasienia Zwierząt Towarzyszących oraz Dzikich. Mój wkład w jego powstanie polegał głównie na pobieraniu i kriokonserwacji nasienia kotów rasowych oraz dzikich kotowatych. Miałam również okazję pobierać komórki jajowe serwala i rysia oraz fibroblasty rysia. Współpraca z UR w Krakowie jest kontynuowana do chwili obecnej i skupia się ona głównie na optymalizacji technik zapłodnienia in vitro u kota domowego. Łącznie jako efekt współpracy powstało **15 publikacji, 32 wspólnych doniesień konferencyjnych** oraz **jeden rozdział** w monografii pokonferencyjnej (wymienione w pkt. 7.1 ad.2 i ad.4 oraz w zał. 4), będących istotnym wkładem w rozwój biotechnik rozrodu u kotowatych.

Potwierdzeni współpracy znajdują się w Załącznikach nr 7 i 8.

8. Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (SGGW)

Moja współpraca z reprezentującą SGGW prof. Wandą Olech i dr hab. Anną Duszewską prof. SGGW, trwa od 2017 roku, kiedy w ramach **projektu pt.:** „Kompleksowy projekt ochrony żubra przez Lasy Państwowe” finansowany ze środków Funduszu Leśnego, UMOWA NR OR.271. 3.10.2017, kier. zadania Wojciech Niżański, 2018-2020 zostałam współwykonawcą zadania polegającego na utworzeniu Banku Nasienia Żubrów. W ramach badań prowadziłam prace nad pozyskiwaniem, kriokonserwacją oraz oceną nasienia żubrów, a wyniki tych prac były prezentowane na **sześciu konferencjach naukowych** (wymienione w pkt. 7.1 ad.6). Efektem współpracy jest również jedna **publikacja** przeglądowa: Eberhardt

M., Nizański W., Olech W., Prochowska S. Assisted reproductive techniques in wisents: Achievements and further challenges. Med. Weter. 2021;77(6):279-283.

Potwierdzenia współpracy znajdują się w Załącznikach nr 7 i 8.

9. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie (UWM)

W 2018 roku rozpoczęłam współpracę z dr hab. Marzeną Mogielnicką-Brzozowską prof. UWM, członkiem zespołu prof. Władysława Kordana, w zakresie analizy proteomu plemników oraz plazmy nasienia kota domowego. Efektem współpracy jest **publikacja** opisująca po raz pierwszy pełen proteom nasienia kota: *Mogielnicka-Brzozowska M., Prochowska S., Nizański W., Bromke M.A., Wiśniewski J., Olejnik B., Kuzborska A., Fraser L., Młynarz P., Kordan K. Proteome of cat semen obtained after urethral catheterization. Theriogenology, 2020;141:68-81* oraz dwa **doniesienia konferencyjne**: *Mogielnicka-Brzozowska M., Prochowska S., Nizański W., Kordan W., Kuzborska A., Filipowicz K., Fraser L. Porównanie proteomów plazmy nasienia i ekstraktów plemników kota domowego (Felis catus) przy wykorzystaniu elektroforezy 2D PAGE. XIV Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek", 13–14.10.2018, Wrocław* oraz *Mogielnicka-Brzozowska M., Prochowska S., Nizański W., Bromke M.A., Wiśniewski J., Olejnik B., Kuzborska A., Fraser L., Młynarz P., Kordan W., Analiza składu białkowego plazmy nasienia cewkowego kota domowego (Felis catus) przy wykorzystaniu spektrometrii mas. XV Międzynarodowy Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek", 12–13.10.2019, Wrocław.* Gromadzony jest materiał do dalszych analiz proteomicznych.

Potwierdzenie współpracy znajduje się w Załączniku nr 8.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

Od 2013 roku prowadzę zajęcia (ćwiczenia, wykłady, staże kliniczne) w języku polskim i angielskim dla studentów kierunku weterynaria IV, V i VI roku z następujących przedmiotów:

1. Andrologia i sztuczne unasiennianie
2. Andrology and artificial insemination

3. Choroby psów i kotów - rozród
4. Diseases of Dogs and Cats - reproduction
5. Choroby psów i kotów - staż kliniczny (część „rozdród”)
6. Diseases of Dogs and Cats - Clinical internship (part ‘reproduction’)
7. Opieka weterynaryjna nad rozrodem w hodowli psów i kotów (przedmiot fakultatywny)
8. Veterinary care of reproduction in breeding dogs and cats (przedmiot fakultatywny)

Od 2013 roku prowadziłam również wykłady i zajęcia praktyczne w ramach studiów specjalizacyjnych z zakresu „Choroby psów i kotów” oraz „Rozród zwierząt”.

Od 2016 roku do chwili obecnej jestem opiekunem naukowym studentów prowadzących badania w ramach Studenckich Kół Naukowych – łącznie sprawowałam opiekę nad pięcioma zespołami studentów. Badania jednej ze studentek zostały opublikowane w recenzowanym czasopiśmie z listy JCR: *Polit M, Prochowska S, Nizański W. Comparison of the characteristics of chinchilla epididymal semen after collection, storage at 5°C and cryopreservation. Reprod Domest Anim. 2018;53 Suppl 3:29-36*, a zaprezentowane na międzynarodowych konferencjach zdobyły szereg nagród [pkt. 7, **N12, N13, N15**].

6.2. Osiągnięcia organizacyjne

Od 2017 roku jestem opiekunem rocznika studentów English Division Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu studiujących w latach 2017-2023.

Od 2018 roku pełnię funkcję zastępcy wydziałowego koordynatora Erasmus, przy czym od 2020 roku z powodu urlopu macierzyńskiego koordynatora wykonuję również wszystkie jej obowiązki.

Od 2018 roku jestem członkiem wydziałowego Zespołu doradczego ds. dobrostanu zwierząt (obecnie Zespół ds. dobrostanu zwierząt).

Od 2017 roku pełnię funkcję skarbnika Wrocławskiego oddziału Towarzystwa Biologii Rozrodu (obecnie druga kadencja).

Od 2013 roku biorę udział w organizacji międzynarodowych konferencji naukowych, łącznie byłam członkiem komitetów organizacyjnych **10 konferencji**:

1. III Międzynarodowe Sympozjum Mechanizmy zachowań zwierząt oraz możliwości ich modelowania, Wrocław, 09.05.2013 – członek komitetu organizacyjnego oraz tłumaczenie materiałów konferencyjnych,
2. X Międzynarodowy Kongres Problemy w rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek, Wrocław, 27-28.09.2013r. – członek komitetu organizacyjnego
3. 17th EVSSAR Congress, Wrocław, 26.09.2014r. – członek lokalnego komitetu organizacyjnego,
4. 70-lecie Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu połączone z konferencją „Współczesne wyzwania i możliwości weterynarii”, Wrocław, 28-29.05.2015r. – członek komitetu organizacyjnego,
5. XI Międzynarodowy Kongres Problemy w rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek, Wrocław, 17-18.10.2015r. – członek komitetu organizacyjnego,
6. XII Międzynarodowy Kongres Problemy w rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek, Wrocław, 1-2.10.2016r. – członek komitetu organizacyjnego,
7. XIII Międzynarodowy Kongres Problemy w rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek, Wrocław, 14–15.10.2017r. – członek komitetu organizacyjnego,
8. Konferencja naukowa „Lwowsko-Wrocławska szkoła weterynaryjna”, Wrocław, 15.05.2018r. – członek komitetu organizacyjnego,
9. XIV Międzynarodowy Kongres Problemy w rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek, Wrocław, 13–14.10.2018r. – członek komitetu organizacyjnego oraz komitetu redakcyjnego materiałów konferencyjnych,
10. XV Międzynarodowy Kongres Problemy w rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek, Wrocław, 12–13.10.2019r. – członek komitetu organizacyjnego oraz komitetu redakcyjnego materiałów konferencyjnych.

6.3. Popularyzacja nauki

Do działalności popularyzatorskiej mogę zaliczyć publikowanie prac klinicznych w krajowych czasopismach weterynaryjnych będących cennym źródłem wiedzy praktykujących lekarzy weterynarii – łącznie jestem pierwszym autorem lub współautorem

1 rozdziału opracowania książkowego oraz **16 artykułów** dotyczących tematyki rozrodu zwierząt towarzyszących i neonatologii. Oprócz tego uczestniczyłam, zarówno jako wykładowca, jak i członek komitetu organizacyjnego, w prowadzeniu szkoleń dla różnorodnej grupy odbiorców: **5 kursów** o międzynarodowym zasięgu dla lekarzy weterynarii, w których brali udział uczestnicy z całego świata, **2 wykładów** dla hodowców kotów, **13 warsztatów** praktycznych dla uczniów na różnym etapie edukacji, od szkoły podstawowej po technikum oraz **1 wykładu** dla szerokiego grona odbiorców (on-line, uczestnicy z całego Świata).

6.3.1. Publikacje dedykowane lekarzom weterynarii

1. Pasikowska J., **Prochowska S.**, Buczkowska J., Niżański W., Skrzypczak P. Stany nagłe w neonatologii. W: Stany nagłe w medycynie weterynaryjnej psów i kotów, red. Grzegory Maciej, Elamed, 2020, s.256-281, ISBN 978-83-65883-71-1.
2. **Prochowska S.**, Czogała K., Czogała J.: Usuwanie jądra zatrzymanego w jamie brzusznej z dostępu pachwinowego u psów. Magazyn Weterynaryjny 2013;22:624-628.
3. **Prochowska S.**, Czogała K., Czogała J.: Rozrost włókniakogruczolakowaty gruczołu sutkowego kotek – czy może nas czymś zaskoczyć? Weterynaria w Praktyce 2013;7-8:75-77.
4. **Prochowska S.**, Pasikowska J., Niżański W.: Możliwości zastosowania kabergoliny w leczeniu małych zwierząt. Weterynaria w Praktyce 2014;6:43-50.
5. Niżański W., **Prochowska S.**, Pasikowska J., Gotowiecka M.: Wymazy z narządu rodowego suk – co nowego? Część I: badanie cytologiczne. Praktyczne wskazówki. Weterynaria w Praktyce 2015; 3:90-97.
6. Pasikowska J., **Prochowska S.**, Buczkowska J., Niżański W., Skrzypczak P.: Intensywna terapia noworodków i szczeniąt. Weterynaria w Praktyce 2015;4:78-91.
7. Niżański W., **Prochowska S.**, Pasikowska J., Gotowiecka M.: Wymazy z narządu rodowego suk – co nowego? Praktyczne wskazówki - cz. II. Weterynaria w Praktyce, 2015;6:92-98.
8. **Prochowska S.**, Niżański W.: Pobieranie i ocena nasienia kocurów w praktyce klinicznej. Magazyn Weterynaryjny 2016;25:16-24.

9. Bielas W., **Prochowska S.**, Niżański W.: Izoerytroliza kociąt noworodków. *Weterynaria w Praktyce*, 2016;3:48-57.
10. **Prochowska S.**, Niżański W.: Sztuczna inseminacja kotek - realna już dziś? *Weterynaria w Praktyce*, 2016;10:66-70.
11. Niżański W., **Prochowska S.**, Klimowicz-Bodys M.. Zaburzenia płodności kotek. Cz. I. Niepłodność związana z brakiem rui. *Magazyn Weterynaryjny 2017 Vol. 26 nr 242 s. 10-19.*
12. **Prochowska S.**, Niżański W., Rodak O., Pieczewska B.. Fizjologiczne i patologiczne wpływy z pochwy podczas ciąży – diagnostyka różnicowa. *Serwis lekarza weterynarii 2017 Nr 1 Październik 2017 r., s. 20-27.*
13. Niżański W., **Prochowska S.**, Klimowicz-Bodys M. Zaburzenia płodności kotek. Cz. II. Niepłodność związana z ciągłymi objawami estrogenizacji *Magazyn Weterynaryjny 2018 nr 246 s. 60-65.*
14. Niżański W., **Prochowska S.**, Klimowicz-Bodys M.. Zaburzenia płodności kotek. Cz. III. Przypadki niepłodności przy prawidłowo przebiegającym cyklu jajnikowym. *Magazyn Weterynaryjny 2018 nr 252 s. 6-12.*
15. Niżański W, Kochan J., **Prochowska S.**, Partyka A, Skotnicki J. Bank komórek kota domowego i dzikich kotowatych działa w Polsce. *Mag. Wet.* 2018, 12, vol. 27, s. 68-69.
16. **Prochowska S.**, Niżański W. Niepłodność kocurów – podejście praktyczne. Cz. I. Zaburzenia aktu krycia. *Magazyn Weterynaryjny 2020 nr.10 s. 6-11.*
17. **Prochowska S.**, Niżański W. Niepłodność kocurów – podejście praktyczne. Cz. II. Zaburzenia jakości nasienia. *Magazyn Weterynaryjny 2021 nr.1 s. 40-46.*

6.3.2. Kursy dla lekarzy weterynarii o zasięgu międzynarodowym i krajowym (współorganizacja):

1. Prestiżowy, międzynarodowy EVSSAR Course: Reproduction in companion animals Part I, Physiology and pathology in females and artificial insemination. Organizowany we Wrocławiu dwukrotnie: 9-13.10.2017r. i 7-11.10.2019r., na zlecenie European Veterinary Society for Small Animal Reproduction we współpracy z European School for Advanced Veterinary Studies (ESAVS). Coursemaster W. Niżański.
2. Kurs „Pobieranie nasienia od kotów”, Wojciech Niżański, Sylwia Prochowska - 29.11.2019, Kijów, Ukraina.

3. Warsztaty pt.: „Ultrasonografia jamy brzusznej ze szczególnym uwzględnieniem narządu rodowego oraz sztuczna inseminacja małych zwierząt”, odbywające się w ramach Międzynarodowych Kongresów "Problemy w rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek" we Wrocławiu – dwukrotnie: 16.10.2015r, 12.10.2018r.

6.3.3. Warsztaty i wykłady dla hodowców kotów (współorganizacja, wykłady)

1. EDUCATSJA: Seminarium dla hodowców kotów pt. „Rozród kotów” – 19.05.2018r, Wrocław.
2. Dzień Hodowcy: KOTY Czyli co o kotach mówią specjaliści weterynarii. Konferencja Satelitarna przy XIV Międzynarodowym Kongresie „Problemy w rozrodzie małych zwierząt” 13-14.10.2018, Wrocław.

6.3.4. warsztaty i wykłady dla techników, licealistów i uczniów szkoły podstawowej oraz szerokiego grona odbiorców (współorganizacja):

1. Wykład pt.: “Practical experiences on semen collection from different species of wild felids” przedstawiony w ramach Ist International Workshop within APM NAWA project ScienceNet entitled: “ART in rescue of endangered animals”. 17.07.2021, on-line – uczestnicy z całego Świata.
2. Warsztaty dla uczniów technikum weterynaryjnego pt.: „Wspomaganie rozrodu u zwierząt-wprowadzenie”. Organizowane cyklicznie przez UPWr: 23.09.2017, 18-19.09.2018, 07.03.2019, Wrocław.
3. Zajęcia dotyczące technik wspomaganego rozrodu u zwierząt dla uczniów VII Liceum Ogólnokształcącego we Wrocławiu - 20.04.2017, 27.04.2017, 11.05.2017, 18.05.2017, 25.05.2017, 08.06.2017, Wrocław.
4. Kurs dla licealistów w ramach Uniwersytetu Młodego Przyrodnika we Wrocławiu – cykl 4 trzygodzinnych spotkań z częścią praktyczną poświęconych biotechnikom rozrodu u zwierząt - 23.10-11.12.2018, dodatkowo wykład pt.: „Techniki wspomaganego rozrodu zwierząt”, wygłoszony podczas seminarium podsumowującego realizację projektu, 10.12.2020, Wrocław.
5. Warsztaty dla techników weterynarii prowadzone w ramach projektu „Czas na zawodowców” – 18.05.2018, 28.05.2018, 06.06.2018, Wrocław.

7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

7.1. Omówienie osiągnięć naukowych innych niż przedstawione do postępowania habilitacyjnego

Od początku mojej pracy w Katedrze Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich UPWr brałam czynny udział w aktywnościach naukowych Zespołu, przy czym mogę wyróżnić kilka obszarów badawczych:

1. Badania nad pobieraniem, właściwościami i kriokonserwacją nasienia kota domowego.
2. Badania nad optymalizacją zapłodnienia pozaustrojowego na modelu kota domowego.
3. Badania nad niepłodnością kocurów oraz zastosowaniem sztucznej inseminacji u kota domowego.
4. Zastosowanie biotechnik rozrodu u dzikich kotowatych.
5. Pobieranie i kriokonserwacja nasienia żubra.
6. Badania nad właściwościami i kriokonserwacją nasienia innych gatunków (psa domowego, szynszyli, kogutów).

Ad. 1. Badania nad pobieraniem, właściwościami i kriokonserwacją nasienia kota domowego

W 2012 roku rozpoczęłam studia doktoranckie w Katedrze Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich UPWr. Moim promotorem był prof. Wojciech Niżański, a badania koncentrowały się na nowej i jeszcze nie zbadanej w tamtym czasie metodzie pobierania nasienia kota domowego poprzez katetyzację cewki moczowej po podaniu medetomidyny oraz na kriokonserwacji nasienia pozyskanego w ten sposób. W swojej pracy dokonywałam szczegółowej porównawczej oceny właściwości gamet pobranych dwoma metodami (nasienie cewkowe oraz najadrzowe) przed i po rozmrożeniu. Prace były prowadzone w ramach **projektu NCN nr N308 576240 pt.: „Jakość, nasilenie apoptozy i przydatność do zapłodnienia in vitro mrożonych/rozrożonych plemników kota domowego pozyskanych z cewki moczowej i najdrzy”**, którego kierownikiem był mój promotor. Wyniki zostały opublikowane w 4 artykułach [**P5-P8**] stanowiących cykl publikacji będących podstawą pracy doktorskiej pt.:

„Analiza właściwości oraz kompetencji zapłodnieniowej plemników uzyskanych z cewki moczowej i najądrzy kota domowego”, która została wyróżniona dwoma nagrodami [N2, N3]. Najważniejszym wnioskiem z tych badań było udowodnienie, że plemniki pozyskane z cewki moczowej po indukcji farmakologicznej cechują korzystne właściwości strukturalne i funkcjonalne (wysoka żywotność plemników, niski stopień uszkodzenia akrosomów, wysoki potencjał mitochondrialny, prawidłowa struktura chromatyny oraz słabe nasilenie stresu oksydacyjnego i zmian apoptotycznych), które pozwalają na ich wykorzystanie do kriokonserwacji, zapłodnienia in vitro i innych technik wspomaganego rozrodu.

Po uzyskaniu stopnia doktora prace nad nasieniem kota domowego były przeze mnie kontynuowane i częściowo zostały przedstawione jako osiągnięcie do postępowania habilitacyjnego – ich omówienie znajduje się w punkcie 4.3.

Pozostałe badania (prowadzone zarówno przed, jak i po uzyskaniu stopnia doktora) poświęcone były analizie właściwości plemników, w szczególności:

- wpływie stopnia rozrzedzenia na plemniki [P9] – wykazałam, że wraz z wzrastającym rozrzedzeniem gwałtownie spada ruchliwość plemników, jednak pozostałe parametry (integralność akrosomów i chromatyny) pozostają nie zmienione. Żywotność plemników ulega obniżeniu dopiero przy koncentracji 1×10^6 /ml.
- analizie proteomu plemników i plazmy nasienia [P10] – we współpracy z Uniwersytetem Warmińsko-Mazurskim po raz pierwszy opisaliśmy pełen skład białkowy nasienia cewkowego kota domowego, identyfikując 98 białek plemników oraz 106 białek plazmy nasienia, wraz opisem ich funkcji oraz wzajemnych interakcji.

Część badań poświęcona była metodom oceny nasienia oraz ich znaczeniu w badaniach i w praktyce klinicznej [P11, P12, D1, D2].

Obecnie prowadzę badania w ramach trzech przyznanych mi projektów, które koncentrują się na:

- optymalizacji farmakologicznej metody pobierania nasienia od kota domowego
(projekt pt.: „Dlaczego najądrze kota domowego się kurczy? Badania wstępne na poziomie receptorowym.” *MINIATURA 3 (NCN), nr 2019/03/X/NZ3/00704, 2020-2021*)
- badaniu lokalizacji i roli akwaporyn w plemnikach kota domowego
(projekt pt.: „Immunolocalization of selected aquaporins in feline sperm cells”, *EVSSAR Research Grant, 2020-2023*)
- poszukiwaniu mechanizmów i markerów wysokiej i niskiej kriooporności plemników

(projekt pt.: „Fenomen wysokiej i niskiej kriooporności nasienia kota domowego - szeroko zakrojone badania nad potencjalnymi przyczynami i markerami różnej przeżywalności plemników po kriokonserwacji”. SONATA 4 (NCN), nr 2019/35/D/NZ3/02533, 2020-2023)

Do tej pory zbadałam obecność receptorów adrenergicznych w najądrzach kota domowego w kontekście potencjalnych punktów uchwytu innych substancji farmakologicznych mogących stymulować wyrzut nasienia [P13], jednak kontynuacja tych badań nie jest możliwa ze względu na brak zgody Lokalnej Komisji Etycznej. Pozostałe badania nie zostały jeszcze zakończone.

Doświadczenie zdobyte podczas prowadzenia badań, jak również w czasie staży zagranicznych w Niemczech i Francji [S2 i S3] pozwoliło mi na opracowanie własnej, jednostopniowej procedury kriokonserwacji nasienia kota domowego, którą wykorzystuję obecnie podczas komercyjnego mrożenia w ramach działalności Wrocławskiego Banku Nasienia Zwierząt Towarzyszących i Dzikich.

Prace opublikowane z tego obszaru:

P5. Prochowska S., Nizański W., Ochota M., Partyka A.: Characteristics of urethral and epididymal semen collected from domestic cats - a retrospective study of 214 cases. *Theriogenology* 2015;84:1565-1571.

P6. Prochowska S., Nizański W., Partyka A.: Comparative analysis of in vitro characteristics of fresh and frozen-thawed urethral and epididymal spermatozoa from cats (*Felis domesticus*). *Theriogenology* 2016;86:2063-2072.

P7. Prochowska S., Nizański W., Partyka A.: Low levels of apoptotic-like changes in fresh and cryopreserved feline semen collected from urethra and epididymis. *Theriogenology* 2017;88:43-49.

P8. Prochowska S., Nizański W.: In vitro fertilizing potential of urethral and epididymal spermatozoa collected from domestic cats (*Felis catus*). *Polish Journal of Veterinary Science*, 2017;1:19-24.

P9. Prochowska S., Nizański W., Ochota M., Partyka A.: Effect of dilution rate on feline urethral sperm motility, viability, and DNA integrity. *Theriogenology* 2014;82:1273-1280.

P10. Mogielnicka-Brzozowska M., Prochowska S., Nizański W., Bromke M.A., Wiśniewski J., Olejnik B., Kuzborska A., Fraser L., Młynarz P., Kordan K. Proteome of cat semen obtained after urethral catheterization. *Theriogenology*, 2020;141:68-81.

P11. Nizański W, Partyka A, Prochowska S.: Evaluation of spermatozoal function-useful tools or just science. *Reprod Domest Anim* 2016;51 Suppl 1:37-45 (praca przeglądowa).

P12: Kij-Mitka, B.; Cernohorska, H.; Kubickova, S.; Prochowska, S.; Nizański, W.; Kochan, J.; Bugno-Poniewierska, M. Application of the FISH Technique to Visualize Sex Chromosomes in Domestic Cat Spermatozoa. *Animals* 2021;11:2106.

P13. Prochowska S, Dzimira S, Tomaszek A, Nizański W. Immunolocalization of Adrenoceptors in the Reproductive Tract of Male Domestic Cats in Comparison to Rats. *Animals*. 2021; 11(4):1049.

Doniesienia konferencyjne:

D1. Andraszek K., Banaszewska D., **Prochowska S.**, Partyka A., Nizański W.: „Ocena struktury chromatyny w plemnikach kota domowego”. LXXIX Zjazd PTZ, 15-17.09.2014, Siedlce.

D2. Prochowska S., Nizański W., Partyka A.: „Markers of apoptosis in the urethral and epididymal feline semen”. 17th EVSSAR Congress, 26.09.2014, Wrocław.

Ad. 2. Badania nad optymalizacją zapłodnienia pozaustrojowego na modelu kota domowego

Pomimo ponad 50 lat badań nad zapłodnieniem in-vitro u kota domowego w dalszym ciągu jego skuteczność odbiega od tej obserwowanej u bydła czy zwierząt laboratoryjnych. Ponieważ zapłodnienie in-vitro może być cenną metodą wykorzystywaną w ratowaniu ginących gatunków zwierząt, a kot domowy jest organizmem modelowym dla dzikich kotowatych, od 2014 roku do chwili obecnej brałam udział w wielu badaniach w tym obszarze, prowadzonych wspólnie z Uniwersytetem Rolniczym w Krakowie (m.in. w ramach **projektu NCBiR nr PBS3/B8/16/2015 pt.:** „Zwiększenie innowacyjności i efektywności programów ochrony zasobów genetycznych dzikich kotowatych poprzez utworzenie banku komórek i wdrożenie do praktyki metod pozaustrojowej produkcji zarodków”, kier. prof. Wojciech Nizański) oraz od 2021 roku wspólnie z Uniwersytetem w Mediolanie. Próby polepszenia wyników zapłodnienia pozaustrojowego koncentrowały się na:

- wykorzystaniu medium komercyjnego dedykowanego dla bydła lub człowieka [**P14**],
- polepszeniu oceny zarodków poprzez zastosowanie nowoczesnego systemu ciągłego monitoringu tzw. Time-Lapse [**P15-P18**] (prace stanowią podstawę rozprawy doktorskiej Barbary Kij-Mitka),
- porównaniu różnych systemów hodowli zarodków kota domowego, w tym skuteczność koinkubacji wraz z zarodkami innych gatunków [**P19**],
- manipulowaniem warunkami hodowli pozaustrojowej (skład atmosfery, wymiana medium hodowlanego, dodatek inhibitora kaspaz do medium hodowlanego) [**D3-D6**].

O ile modyfikacje wymienione w ostatnim punkcie nie pozwoliły na znaczącą poprawę wyników hodowli, wyniki pozostałych prac wniosły znaczący wkład w rozwój opisywanej dyscypliny. Zastosowanie medium komercyjnego dla bydła pozwala uzyskać lepszą

powtarzalność wyników, co ma kluczowe znaczenie w kontekście wdrażania tych technik, gdzie konieczne jest osiągnięcie pewnego stałego i przewidywalnego rezultatu. Wykorzystanie systemu Time-Lapse pozwala lepszą na identyfikację zarodków wadliwych lub których rozwój przebiega nieprawidłowo, dzięki czemu możliwa jest selekcja do embriotransferu zarodków o najlepszym potencjale rozwojowym. Koinkubacja z zarodkami na wyższym stadium pozwala na przyspieszenie rozwoju właściwych zarodków. Co istotne, zarodki towarzyszące nie muszą być tego samego gatunku – najlepsze wyniki uzyskiwano dzięki koinkubacji zarodków kota domowego z zarodkami owczymi. W przypadku zastosowania tej metody dla dzikich kotowatych pozwala to na zaoszczędzenie cennego materiału od gatunków zagrożonych.

We współpracy z Uniwersytetem w Mediolanie powstała praca przeglądowa [P23] dotycząca innowacyjnych systemów hodowli zarodków, opisująca m. in. koinkubację oraz systemy hodowli 3D.

Prace opublikowane z tego obszaru:

P14. Prochowska S, Niżański W, Partyka A, Kochan J, Młodawska W, Nowak A, Skotnicki J, Grega T, Pałys M. The use of human and bovine commercial media for oocyte maturation and embryo development in the domestic cat (*Felis catus*). *Reprod Domest Anim.* 2019;54(4):719-726.

P15. Kij B, Kochan J, Nowak A, Niżański W, **Prochowska S**, Fryc K, Bugno-Poniewierska M. Using Time Lapse Monitoring for Determination of Morphological Defect Frequency in Feline Embryos after In Vitro Fertilization (IVF). *Animals (Basel).* 2019;10(1):3.

P16. Kij B, Kochan J, Fryc K, Niżański W, **Prochowska S**, Gabryś J, Nowak A, Bugno-Poniewierska M. The frequency of collapse as a predictor of feline blastocyst quality. *Theriogenology.* 2020;157:372-377.

P17. Kochan J, Nowak A, Kij B, **Prochowska S**, Niżański W. Analysis of Morphokinetic Parameters of Feline Embryos Using a Time-Lapse System. *Animals (Basel).* 2021;11(3):748.

P18. Kij-Mitka B, Kochan J, Bugno-Poniewierska M, Cernohorska H, Kubickova S, Kowal W, **Prochowska S**, Niżański W. Analysis of morphological disorders and ploidy in domestic cat blastocysts. *Theriogenology.* 2022;186:114-121.

P19. Kochan J., Nowak A., Kij B., Fryc K., **Prochowska S.**, Niżański W. A comparison of in vitro culture systems for cat embryos. *Theriogenology,* 2022;179:149-154.

P20. Kochan J, Nowak A, Niżański W, **Prochowska S**, Migdał A, Młodawska W, Partyka A, Witkowski M. Developmental competence of cat (*Felis domesticus*) oocytes and embryos after parthenogenetic stimulation using different methods. *Zygote.* 2018;26:119-126.

P21. Młodawska W., Mrowiec P., Grabowska B., Waliszewska J., Kochan J., Nowak A., Migdał A., Niżański W., **Prochowska S.**, Partyka A., Pałys M., Grega T., Skotnicki J. Determining influence of

culture media and dose-dependent supplementation with basic fibroblast growth factor on the ex vivo proliferative activity of domestic cat dermal fibroblasts in terms of their suitability for cell banking and somatic cell cloning of felids. *Ann. Anim. Sci.*, 2019;19:359-372.

P22. Nowak A, Kochan J, Świętek E, Kij B, **Prochowska S**, Witarski W, Bugno-Poniewierska M, Nizański W. Survivability and developmental competences of domestic cat (*Felis catus*) oocytes after Cryotech method vitrification. *Reprod Domest Anim.* 2020; 55(8):992-997.

P23. Colombo, M.; Alkali, I.M.; **Prochowska, S.**; Luvoni, G.C. Fighting Like Cats and Dogs: Challenges in Domestic Carnivore Oocyte Development and Promises of Innovative Culture Systems. *Animals* 2021;11:2135 (praca przeglądowa).

Doniesienia konferencyjne:

D3. Nowak A., Kochan J., Swietek E., Młodawska W., Migdał A., Partyka A., **Prochowska S.**, Nizański W. Influence of toxicity of media and vitrification protocol on oocytes viability. Use of Cryotech technique for feline oocytes vitrification. XXth EVSSAR Congress, 29.06–1.07.2017, Wiedeń.

D4. Prochowska S., Nizański W., Partyka A., Kochan J., Nowak A., Migdał A., Skotnicki J., Grega T., Pałys M. Brak wpływu dodatku inhibitora kaspaz na dojrzewanie oocytów i rozwój zarodków kota domowego w warunkach in vitro. XIII Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek. 14–15.10.2017, Wrocław.

D5. Prochowska S, Ochota M, Nizański W, Partyka A, Kochan J, Młodawska W, Nowak A, Skotnicki J, Grega T, Pałys M. The effect of reduced oxygen tension on feline oocytes maturation and embryo development in vitro. 5th Winter Workshop of the Society for Biology of Reproduction „Central and Local Regulations of Reproductive Processes”, 14-15.02.2019, Zakopane.

D6. Prochowska S., Nizański W., Partyka A., Kochan J., Nowak A., Młodawska W., Skotnicki J., Grega T, Pałys M. The effect of culture medium renewal on the in vitro development of feline embryos. XXIII ESDAR Conference, 19-22.09.2019, Sankt Petersburg.

Ad. 3. Badania nad niepłodnością oraz zastosowaniem sztucznej inseminacji u kota domowego

Od początku mojej pracy w Katedrze Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich UPWr interesował mnie aspekt niepłodności u kotów domowych oraz możliwości zastosowania biotechnik rozrodu w tego gatunku. Praca w Ambulatorium Katedry Rozrodu dała mi dostęp do niepłodnych pacjentów i analizy tych przypadków. Ciekawą obserwacją były przypadki niepłodności kocurów na tle nieprawidłowej struktury chromatyny [**D7**, **D8**], nie opisane wcześniej u tego gatunku.

Dużym osiągnięciem Zespołu Katedry Rozrodu, którego jestem członkiem, było uzyskanie po raz pierwszy w Polsce miotu kociąt po sztucznej inseminacji [D9, D10]. Usługa sztucznej inseminacji została wdrożona w Ambulatorium Katedry Rozrodu, choć dalej trwają prace nad optymalizacją protokołów stymulacji owulacji oraz nad poprawą jej skuteczności. Zebrane doświadczenie pozwoliło mi na napisanie (jako pierwszy autor lub współautor) artykułu przeglądowego w czasopiśmie międzynarodowym [P24] oraz sześciu artykułów klinicznych dedykowanych lekarzom weterynarii [P25-P30].

Prace opublikowane z tego obszaru:

P24. Fontbonne A, **Prochowska S**, Niewiadomska Z. Infertility in purebred cats - A review of the potential causes. *Theriogenology*. 2020;158:339-345 (praca przeglądowa).

P25. **Prochowska S.**, Nizański W.: Sztuczna inseminacja kotek - realna już dziś? *Weterynaria w Praktyce*, 2016;10:66-70 (praca kliniczna).

P26. Nizański W., **Prochowska S.**, Klimowicz-Bodys M.. Zaburzenia płodności kotek. Cz. I. Niepłodność związana z brakiem rui. *Magazyn Weterynaryjny* 2017 Vol. 26 nr 242 s. 10-19 (praca kliniczna).

P27. Nizański W., **Prochowska S.**, Klimowicz-Bodys M. Zaburzenia płodności kotek. Cz. II. Niepłodność związana z ciągłymi objawami estrogenizacji *Magazyn Weterynaryjny* 2018 nr 246 s. 60-65 (praca kliniczna).

P28. Nizański W., **Prochowska S.**, Klimowicz-Bodys M.. Zaburzenia płodności kotek. Cz. III. Przypadki niepłodności przy prawidłowo przebiegającym cyklu jajnikowym. *Magazyn Weterynaryjny* 2018 nr 252 s. 6-12 (praca kliniczna).

P29. **Prochowska S.**, Nizański W. Niepłodność kocurów – podejście praktyczne. Cz. I. Zaburzenia aktu krycia. *Magazyn Weterynaryjny* 2020 nr.10 s. 6-11 (praca kliniczna).

P30. **Prochowska S.**, Nizański W. Niepłodność kocurów – podejście praktyczne. Cz. II. Zaburzenia jakości nasienia. *Magazyn Weterynaryjny* 2021 nr.1 s. 40-46 (praca kliniczna).

Doniesienia konferencyjne:

D7. **Prochowska S.**, Nizański W. Clinical use of Sperm Chromatin Structure Assay in feline subfertility diagnosis – case reports. XXII EVSSAR Congress, 28-29.06.2019, Berlin.

D8. **Prochowska S.**, Nizański W. Niepłodność kocurów związana z zaburzeniami struktury DNA – opis przypadków. XXVII Międzynarodowy Kongres Medycyny Weterynaryjnej Małych Zwierząt PSLWMZ, 15-17.11.2019, Łódź.

D9. Niżański W., **Prochowska S.**, Ochota M. Pierwsza w Polsce skuteczna domaciczna inseminacja kotki z wykorzystaniem nasienia cewkowego. XIV Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek", 13–14.10.2018, Wrocław.

D10. Niżański W., **Prochowska S.**, Ochota M., Ligocka Z. Clinical use of artificial insemination for the treatment of infertility in cats. FECAVA Euro congress 4-7.09.2019, Sankt Petersburg.

Ad. 4. Zastosowanie biotechnik rozrodu u dzikich kotowatych

Już od czasów studenckich, kiedy była wolontariuszem w Śląskim Ogrodzie Zoologicznym, interesowało mnie zagadnienie ochrony bioróżnorodności oraz korzyści jakie mogą wnieść techniki wspomaganego rozrodu do programów ratowania ginących gatunków. Moja uwaga koncentrowała się w szczególności dzikich kotowatych, z których większość jest zagrożona wyginięciem na co najmniej części obszaru swojego występowania. Zaważyło to na wyborze tematu pracy doktorskiej jak i dalszej kariery naukowej – od początku wszystkie badania na kocie domowym, organizmie modelowym, prowadziłam z myślą ich zastosowania u dzikich kotowatych. Pierwszą okazję miałam już w 2013 roku, kiedy pobrałam i zamroziłam pozyskane pośmiertnie z ogonów najądrzy plemniki ocelota [**M1, P31**].

Dalsze prace w tym obszarze prowadziłam w latach 2014 – 2017 jako wykonawca w **projekcie NCBiR nr PBS3/B8/16/2015 pt.: „Zwiększenie innowacyjności i efektywności programów ochrony zasobów genetycznych dzikich kotowatych poprzez utworzenie banku komórek i wdrożenie do praktyki metod pozaustrojowej produkcji zarodków”**, którego kierownikiem był prof. Wojciech Niżański, realizowanym w konsorcjum z Uniwersytetem Rolniczym w Krakowie i Ogrodem Zoologicznym w Krakowie. W ramach projektu, oprócz prac rozwojowych na modelu kota domowego opisanych w pkt. 2, pobierane były gamety (zarówno plemniki jak i oocyty) oraz fibroblasty skóry od przedstawicieli 16 gatunków dzikich kotowatych, m.in. rysia, żbików, gepardów, manuli, karakali, serwali i lwów. Materiał ten poddawany był ocenie, a następnie procesowi kriokonserwacji i deponowany w ciekłym azocie [**P31-P33, D16, D19, D20**]. Część materiału wykorzystano do procedury klonowania somatycznego, uzyskując zarodki klonalne dzikich kotowatych, w tym pierwsze na Świecie zarodki jaguarundi i rysia. Otrzymane zarodki również zostały poddane kriokonserwacji. Jako efekt wdrażania wyników projektu został utworzony jedyny w Europie Środkowo-Wschodniej Banku Komórek Somatycznych, Gamet Kota Domowego i Dzikich Kotowatych [**P34, P35, D12**], będący częścią Wrocławskiego Banku Nasienia Zwierząt Towarzyszących oraz Dzikich.

Badania nad wdrażaniem biotechnik rozrodu u dzikich kotowatych były kontynuowane we współpracy z Lwowskim Narodowym Uniwersytetem Medycyny Weterynaryjnej

i Biotechnologii im. Stefana Grzyckiego. Dzięki prowadzonym pracom Wrocławski Bank Nasienia Zwierząt Towarzyszących oraz Dzikich został wzbogacony o próbki nasienia tygrysa i ocelota, jak również możliwe było praktyczne wdrożenie endoskopowej techniki inseminacji u samic tygrysa, ocelota, serwala, lamparta i jaguara [P31, D20]. Informacje o działalności Banku zostały rozpowszechnione wśród ogrodów zoologicznych, w efekcie Katedra Rozrodu została poproszona o diagnostyczne pobranie nasienia od kotów arabskich oraz gepardów, w czym uczestniczyłam [P31].

Prace badawcze na dzikich kotowatych są niezwykle utrudnione przez brak dostępu do materiału badawczego. Tym bardziej niepowtarzalną okazją była możliwość odbycia przeze mnie stażu naukowego w Brazylii i prowadzenie badań nad pobieraniem i kriokonserwacją nasienia jaguarów [S7]. W omawianym obszarze jestem także pierwszym autorem lub współautorem prac przeglądowych [P35-P37, M1].

Prace opublikowane z tego obszaru:

P31. Prochowska S., Nizański W, Snoeck F, Wydooghe E, Van Soom A, Kochan J, Stefanyk V. How Can We Introduce ART into Wild Felid Conservation in Practice? Joint Experience in Semen Collection from Captive Wild Felids in Europe. *Animals*, 2022;12(7):1-13.

P32. Nowak A, Kochan J, **Prochowska S**, Partyka A, Młodawska W, Witariski W, Skotnicki J, Grega T, Pałys M, Nizański W. The Viability of Serval (*Leptailurus serval*) and Pallas Cat (*Felis manul*) Oocytes after Cryopreservation Using the Rapid-I Method. *Cryo Letters*. 2019 Jul/Aug;40(4):226-230.

P33. Kochan J, Nowak A, Młodawska W, **Prochowska S**, Partyka A, Skotnicki J, Nizański W. Comparison of the Morphology and Developmental Potential of Oocytes Obtained from Prepubertal and Adult Domestic and Wild Cats. *Animals (Basel)*. 2020;11(1):20.

P34. Nizański W, Kochan J., **Prochowska S.**, Partyka A, Skotnicki J. Bank komórek kota domowego i dzikich kotowatych działa w Polsce. *Mag. Wet.* 2018, 12, vol. 27, s. 68-69 (praca popularno-naukowa).

P35. Kochan J, Nizański W, Moreira N, Cubas ZS, Nowak A, **Prochowska S**, Partyka A, Młodawska W, Skotnicki J. ARTs in Wild Felid Conservation Programmes in Poland and in the World. *J Vet Res*. 2019;13;63(3):457-464 (praca przeglądowa).

P36. Prochowska S., Ochota M., Nizański W.: Współczesne poglądy na możliwości stymulacji rui i owulacji u kotowatych (felidae) poddanych technikom wspomaganego rozrodu. *Med. Weter.* 2014;70:15-19 (praca przeglądowa).

P37. Prochowska S., Nizański W., Partyka A., Kochan J., Młodawska W., Nowak A., Skotnicki J., Grega T., Pałys M. Selected methods of in vitro embryo production in felids – a review. *Animal Science Papers and Reports*, 2017 vol. 35, no. 4, pp. 361-377 (praca przeglądowa).

Rozdział w monografii pokonferencyjnej:

M1. Prochowska S., Nizański W., Partyka A., Kochan J., Grega T. Rola kriokonserwacji gamet, zarodków i tkanek w ochronie zasobów genetycznych populacji na przykładzie dzikich kotowatych. W: Współczesne dylematy polskiego rolnictwa III. T. 2, red. Zarzecka Krystyna, Kondracki Stanisław, Wydawnictwo Państwowej Szkoły Wyższej im. Papieża Jana Pawła II w Białej Podlaskiej, Biała Podlaska, 2014, s.137-144, ISBN 978-83-61044-95-6.

Doniesienia konferencyjne:

D11. Kochan J., Nowak A., Nizański W., Partyka A., **Prochowska S.**, Skotnicki J., Grega T. Ocena organogenezy płodów kota domowego (*Felis catus*) i dzikich kotowatych na przykładzie tygrysa amurkiego (*Panthera tigris altaica*). XI Kongres Problemy w rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek, 17-18.10.2015r, Wrocław.

D12. Nizański W., Kochan J., Młodawska W., Nowak A., Migdał A., **Prochowska S.**, Partyka A., Rodak O., Bugno-Poniewierska M., Witariski W., Skotnicki J., Grega T., Pałys M. Pierwszy w Polsce bank komórek kota domowego i dzikich kotowatych. XII Kongres pt.: „Problemy w rozrodzie małych zwierząt – ciąża, płodność, noworodek”, 1-2.10.2016, Wrocław.

D13. Migdał A., Migdał Ł., Kochan J., Nizański W., Nowak A., **Prochowska S.**, Partyka A., Skotnicki J., Pałys M. Analiza regionu kontrolnego mitochondrialnego DNA u kotowatych. XIII Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek. 14–15.10.2017, Wrocław.

D14. Kochan J., Nizański W., Młodawska W., Nowak A., **Prochowska S.**, Partyka A., Migdał A., Skotnicki J., Pałys T. Assisted reproduction techniques (ART) in conservation of mammals threatened with extinction. International Conference on Biotechnology and Welfare in Animal Science. 19.06.2018, Kraków.

D15. Mrowiec P., Wnęk K., Bochenek M., Kochan J., Nowak A., Migdał A., Nizański W., **Prochowska S.**, Partyka A., Skotnicki J., Młodawska W. Cell cycle synchronization of pallas cat (*Otocolobus manul*) and jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) dermal fibroblast cells. International Conference on Biotechnology and Welfare in Animal Science. 19.06.2018, Kraków.

D16. **Prochowska S.**, Nizanski W, Partyka A, Kochan J, Młodawska W, Nowak A, Suchecki P, Skotnicki J, Grega T, Pałys M. Post- mortem collection, in vitro maturation and detailed assessment of caracal oocytes – a case report. XXII ESDAR Congress, 28-29.09.2018, Kordoba.

D17. Nizanski W, Prochowska S, Partyka A, Kochan J, Młodawska W, Nowak A, Skotnicki J, Grega T, Pałys M. Assisted Reproductive Techniques (ART) in rescue programs of endangered wild felids-possibilities, obstacles and challenges. XXII ESDAR Congress, 28-29.09.2018, Kordoba.

D18. Kochan J., Nowak A., Nizański W., Młodawska W., **Prochowska S.**, Partyka A., Skotnicki J. Morphological characteristics of oocytes collected from pubertal and prepubertal wild Felids. XXII ESDAR Congress, 28-29.09.2018, Kordoba.

D19. Młodawska W., Kochan J., Nizański W., Mrowiec P., Nowak A., Migdał A., **Prochowska S.**, Partyka A., Pałys M., Grega T., Skotnicki J. Uzyskanie i konserwacja komórek somatycznych i oocytów martwych osobników dzikich kotowatych i kota domowego. XIV Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek", 13–14.10.2018, Wrocław.

D20. Prochowska S., Nizański W., Kochan J., Partyka A., Nowak A., Stefanyk W., Ivachiv M., Basarab T., Holumbiovska T., Kostyshyn L., Skotnicki J., Grega T., Pałys P. Pobieranie nasienia różnych gatunków dzikich kotowatych – doświadczenia własne. XV Międzynarodowy Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek", 12–13.10.2019, Wrocław.

Ad. 5 Pobieranie i kriokonserwacja nasienia żubra

Moja aktywność w obszarze zastosowania biotechnik rozrodu do ratowania zagrożonych gatunków nie ograniczała się jedynie do dzikich kotowatych – jako członek Zespołu Katedry Rozrodu byłam wykonawcą projektu finansowanego przez Fundusz Leśny pt. „Kompleksowy projekt ochrony żubra przez Lasy Państwowe”, UMOWA NR OR.271. 3.10.2017, kierownik zadania Wojciech Nizański, którego celem było utworzenie unikalnego na skalę światową Banku Nasienia Żubrów. W ramach badań pozyskiwałam w warunkach terenowych (m.in. w Puszczy Białowieskiej, Puszczy Boreckiej, zagrodach pokazowych żubrów w Bałtowie, Ustroniu) plemniki najądrzowe żubrów oraz poddawałam je podstawowej ocenie i kriokonserwacji z zastosowaniem różnych metod (różne media, oczyszczanie w gradiencie Percoll®), dokonywałam również szczegółowej oceny nasienia chłodzonego i kriokonserwowanego przy pomocy komputerowo wspomaganą analizy nasienia oraz cytometru przepływowego. Wyniki tych prac były prezentowane na konferencjach naukowych [D21-D25]. W omawianym obszarze jestem również współautorem publikacji przeglądowej [P38].

Prace opublikowane z tego obszaru:

P38. Eberhardt M., Nizański W., Olech W., **Prochowska S.** Assisted reproductive techniques in wisents: Achievements and further challenges. Med. Weter. 2021;77(6):279-283 (praca przeglądowa).

Doniesienia konferencyjne:

D21. Nizański W., Partyka A., Bielas W., **Prochowska S.**, Duszevska A., Bielecki W., Olech W. Tworzenie Banku Nasienia Żubra – analiza właściwości strukturalnych i funkcjonalnych plemników przy użyciu cytometru przepływowego przed i po procesie kriokonserwacji, VIII Zjazd Towarzystwa Biologii Rozrodu, 7-9.09.2017, Olsztyn.

D22. Nizański W., Partyka A., Bielas W., **Prochowska S.**, Duszewska A.M., Nowak Z., Olech W.: Bank nasienia żubra –komputerowa i cytometryczna analiza właściwości plemników oraz możliwości ich kriokonserwacji: doświadczenia ostatnich lat. Międzynarodowa konferencja „Żubry w kulturze i sztuce”, 13-14.09.2017, Gołuchów.

D23. Nizański W., Partyka A., Bielas W., **Prochowska S.**, Duszewska AM., Nowak Z., Olech W. Zależność pomiędzy wielkością i masą jąder i najądrzy a właściwościami plemników żubra. Konferencja naukowa „Żubry w Dolinie Sanu”, 5-6.09.2018, Muczne.

D24. Prochowska S, Dzimira S, Partyka A, Bielas W, Smalec B, Duszewska A, Nowak Z, Olech W, Nizański W. Patologie jąder i najądrzy żubrów w świetle przypadków własnych. Międzynarodowa konferencja naukowa „Żubry w Białowieckim mateczniku”, 5-6.09.2019, Białowieża.

D25. Eberhardt M., Nizański W., **Prochowska S.**, Partyka A., Olech W., Duszewska A. M. Wpływ selekcji plemników żubra za pomocą wirowania w gradiencie gęstości Percoll® na ich porozmrożeniową jakość. XVIII Konferencja „Żubry w Puszczy Augustowskiej”, 9-10.09.2021, Augustów.

Ad. 6 Badania nad właściwościami i kriokonserwacją nasienia szynszyli

Chociaż główny nurt moich badań dotyczył kota domowego i zwierząt dzikich, w ramach opieki nad badaniami studentki Martyny Polit prowadziłam prace na nasieniu szynszyli [P39]. W ich trakcie pozyskałyśmy nasienie najądrzowe szynszyli i konserwowałyśmy je w stanie płynnym w 5°C oraz w ciekłym azocie (kriokonserwacja). Zarówno w nasieniu świeżym, jak i po konserwacji, plemniki oceniane były przy pomocy komputerowo wspomaganą analizy nasienia (CASA) oraz cytometru przepływowego (żywołność, integralność akrosomów, potencjał mitochondrialny, peroksydacja lipidów, struktura chromatyny, kapacytacja i nasilenie apoptozy). Była to pierwsza praca tak szczegółowo opisująca właściwości plemników u tego gatunku. Dowiedziono w niej również, że zastosowane protokoły pozwalają na uzyskanie akceptowalnej jakości nasienia po konserwacji, dzięki czemu możliwe jest zastosowanie tych biotechnik rozrodu u szynszyli.

Prace opublikowane z tego obszaru:

P39. Polit M, **Prochowska S,** Nizański W. Comparison of the characteristics of chinchilla epididymal semen after collection, storage at 5°C and cryopreservation. *Reprod Domest Anim.* 2018 Nov;53 Suppl 3:29-36.

7.2. Nagrody

Moja działalność naukowa została uhonorowana szeregiem nagród, z których do najbardziej prestiżowych zaliczam Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców (2021r.) oraz Nagrodę I Stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych przyznaną za pracę doktorską. Czterokrotnie zostałam wyróżniona indywidualnymi Nagrodami Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, a doniesienia konferencyjne, których byłam pierwszym autorem lub współautorem, zostały nagrodzone jedenaście razy.

Poniżej wykaz przyznanych nagród:

- N1. Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców (2021r.).
- N2. Nagroda I Stopnia Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych za pracę doktorską pt. "Analiza właściwości oraz kompetencji zapłodnieniowej plemników uzyskanych z cewki moczowej i najądrzy kota domowego" (2018r.).
- N3. Nagroda Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu indywidualna I stopnia w dziedzinie badań naukowych za uzyskanie stopnia doktora na podstawie pracy doktorskiej stanowiącej cykl publikacji pt. "Analiza właściwości oraz kompetencji zapłodnieniowej plemników uzyskanych z cewki moczowej i najądrzy kota domowego" (2018r.).
- N4. Nagroda Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (dodatek projakościowy) za najwyższą efektywność w publikowaniu prac naukowych (2020r.).
- N5. Nagroda Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu indywidualna III stopnia za osiągnięcia naukowe (2021r.).
- N6. Nagroda Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu indywidualna za osiągnięcia naukowe (2022r.).
- N7. II miejsce w konkursie na najlepszą prezentację ustną za pracę: Prochowska S., Niżański W., Partyka A., Kochan J., Grega T.: „Rola kriokonserwacji gamet, zarodków i tkanek w ochronie zasobów genetycznych populacji na przykładzie dzikich kotowatych”, III konferencja naukowa pt.: „Współczesne dylematy polskiego rolnictwa.” 24-25.06.2014, Biała Podlaska.
- N8. I miejsce w konkursie na najlepszą prezentację ustną za pracę: Prochowska S., Niżański W., Ochota M., Partyka A.: „Zastosowanie katetyzacji cewki moczowej

- do rutynowej oceny nasienia kota domowego.” LXXIX Zjazd PTZ, 15-17.09.2014, Siedlce.
- N9. Nagroda „Best poster” za doniesienie: Prochowska S., Nizański W., Ochota M., Partyka A.: „CASA characteristics of the feline urethral semen”, 17th EVSSAR Congress, 26.09.2014, Wrocław.
- N10. I miejsce w konkursie na najlepszy plakat za doniesienie: Nizański W., Kochan J., Młodawska W., Nowak A., Migdał A., Prochowska S., Partyka A., Rodak O., Bugno-Poniewierska M., Witariski W., Skotnicki J., Grega T., Pałys M.: „Pierwszy w Polsce bank komórek kota domowego i dzikich kotowatych”. XII Kongres pt.: „Problemy w rozrodzie małych zwierząt – ciąża, płodność, noworodek”, 1-2.10.2016, Wrocław.
- N11. II miejsce w konkursie na najlepszy plakat za doniesienie: Prochowska S., Nizański W., Partyka A., Kochan J., Nowak A., Migdał A., Skotnicki J., Grega T., Pałys M.: „Brak różnic w wynikach zapłodnienia pozaustrojowego metodą ICSI przy użyciu plemników cewkowych oraz najądrzowych kota domowego”. XII Kongres pt.: „Problemy w rozrodzie małych zwierząt – ciąża, płodność, noworodek”, 1-2.10.2016, Wrocław.
- N12. III miejsce za najlepsze wystąpienie studenckie w sekcji zwierząt egzotycznych za doniesienie: Mazela M., Prochowska S., Nizański W., Piasecki T.: „The study on the semen quality and methods of semen collection in chinchilla (*Chinchilla lanigera*)”. XXI Międzynarodowa Konferencja (i XXXIII Sejmik) Studenckich Kół Naukowych na UPWr, 24.05.2016, Wrocław.
- N13. III miejsce w konkursie na najlepszy plakat za doniesienie: Mazela M., Prochowska S., Nizański W., Piasecki T.: „Badania na temat jakości nasienia oraz sposobu jego pozyskiwania u szynszyli małej (*Chinchilla lanigera*)”. XII Kongres pt.: „Problemy w rozrodzie małych zwierząt – ciąża, płodność, noworodek”, 1-2.10.2016, Wrocław.
- N14. Nagroda "Best student oral presentation" za doniesienie: Prochowska S., Nizański W., Partyka A., Kochan J., Młodawska W., Nowak A., Skotnicki J., Grega T., Pałys M.: "Sperm abnormalities do not compromise sperm fertilizing potential and embryo development after ICSI in the domestic cat". XXth EVSSAR Congress, 29.06 – 01.07.2017, Wiedeń.
- N15. Nagroda "Best student poster" za doniesienie: Mazela M., Prochowska S., Nizański W.: "Comparison of the characteristics of chinchilla's epididymal semen after

collection, storage at 5oC and cryopreservation." XXth EVSSAR Congress, 29.06 – 01.07.2017, Wiedeń.

N16. II miejsce w konkursie na najlepszy plakat za doniesienie: Młodawska W., Kochan J., Nizański W., Mrowiec P., Nowak A., Migdał A., Prochowska S., Partyka A., Pałys M., Grega T., Skotnicki J. Uzyskanie i konserwacja komórek somatycznych i oocytów martwych osobników dzikich kotowatych i kota domowego. XIV Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek", 13–14.10.2018, Wrocław.

N17. II miejsce w konkursie na najlepszy plakat za doniesienie: Prochowska S., Nizański W., Kochan J., Partyka A., Nowak A., Stefanyk V., Ivachiv M., Basarab T., Holumbiovska T., Kostyshyn L., Skotnicki J., Grega T., Pałys P. Pobieranie nasienia różnych gatunków dzikich kotowatych – doświadczenia własne. XV Kongres "Problemy w rozrodzie małych zwierząt – płodność, ciąża, noworodek", 12–13.10.2019, Wrocław.

7.4 Zestawienie liczbowe dorobku naukowego

Tabela 1. Zestawienie liczbowe dorobku naukowego.

Kategorie prac	<i>Przed uzyskaniem stopnia doktora</i>	<i>Po uzyskaniu stopnia doktora</i>	Łącznie
Publikacje w czasopismach wyróżnionych w JCR	9	24	33
Publikacje w czasopismach nieposiadających współczynnika IF	10	5	15
Artykuły popularnonaukowe	2	0	2
Komunikaty opublikowane w materiałach konferencji naukowych	30	50	80
Rozdziały w książkach	1	2	3
	Łącznie	52	81
		81	133

Tabela 2. Sumaryczna punktacja publikacji.

	<i>Przed uzyskaniem stopnia doktora</i>	<i>Po uzyskaniu stopnia doktora</i>	Łącznie
Sumaryczny <i>Impact factor</i> publikacji	11,128	53,131	64,259
Sumaryczna punktacja MNiSW publikacji	249	2564	2813

Liczba cytowań według bazy Web of Science: bez autocytowań: **94**, z autocytowaniami: **146**

Liczba cytowań według bazy Scopus: bez autocytowań: **102**, z autocytowaniami: **155**

Indeks Hirscha według bazy Web of Science: **7**

Indeks Hirscha według bazy Scopus: **7**

Zestawienie liczbowe dorobku naukowego sporządzono na podstawie analizy bibliometrycznej wykonanej przez Bibliotekę UPWr (Załącznik nr 10).

.....
(podpis wnioskodawcy)