

SPRAWOZDAWCZA
SESJA
NAUKOWA

Wydział Medycyny Weterynaryjnej
SGGW
(streszczenia)

Warszawa, dnia 12 lutego 2019 r.

WIELOMODALNE NANOCZĄSTKI TLENKOWE DO ZASTOSOWANIA JAKO
ŚRODKI KONTRASTUJĄCE W OBRAZOWANIU BIOLOGICZNYM
MULTIMODAL OXIDE NANOPARTICLES AS CONTRAST IN BIOLOGICAL
IMAGING

J. Olszewski¹, J. Kaszewski², Ł. Zdrojkowski¹, M. M. Godlewski¹, A. Urbanik¹, K. Siewruk¹,
Z. Gajewski¹

¹Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie, ²Instytut Fizyki PAN

Obrazowanie przy pomocy rezonansu magnetycznego stanowi aktualnie złoty standard diagnostyki obrazowej. Jest to szybka, bezpieczna, i precyzyjna metoda diagnostyki chorób całego organizmu, szczególnie zmian nowotworowych. Aby zwiększyć czułość i specyficzność badania MRI stosowane są środki kontrastujące. Od blisko 30 lat w zastosowaniach medycznych dominują środki oparte na gadolinie. Preparaty te opierają się na zasadzie chelatowania silnie toksycznych w stanie wolnym jonów gadolinu. Uwalniane w reakcji metalopodstawienia jony kumulują się w organizmie, co uniemożliwia wielokrotne powtarzanie badań i może powodować odległe działania toksyczne. W związku z tym trwają intensywne poszukiwania alternatywnych środków kontrastujących.

W części in vitro powyższych badań zostały wykonane pomiary MRI szeregu rozcieńczeń nanocząstek opartych na kryształach HfO₂, ZrO₂, Eu₂O₃ domieszkowanych różnorodnymi metalami. Próbkę zostały scharakteryzowane pod względem właściwości ferromagnetycznych i fluorescencyjnych. W części in vivo prezentujemy wyniki uzyskane w ramach eksperymentów medycznych na dorosłych szczurach będących pacjentami onkologicznymi. Zwierzęta po okresie adaptacji i kontrolnym skanowaniu w MRI przy użyciu GE MR Discovery mr750w 3.0T GEM Flex coil (GE Healthcare, Milwaukee, MI) dostawały dożołądkowo 1 mililitr zawiesiny nanocząstek (1mg/ml). Następnie były obrazowane po upływie 24h i 48h. Protokół dla wszystkich badań zawierał następujące sekwencje T1 (3D IR-SPGR), T2-ważony (3D FSE), SWI i SS-FSE.

W wyniku badań udowodniliśmy, że właściwości kontrastujące nanocząstek są zależne od ich wielkości, rodzaju tlenku stanowiącego ich bazę, a także domieszki metalicznej. Wytypowane zostały najbardziej obiecujące rodzaje nanomateriałów HfO₂:Gd, ZrO₂:Eu. Część z badanych próbek wykazywała również właściwości scyntylicyjne. W badaniach in vivo potwierdzone zostało działanie kontrastujące nanomateriałów 24h po podaniu do żołądkowym w nerkach, mózgu i guzach nowotworowych u badanych szczurów.

Słowa kluczowe: MRI, nanocząstki, gadolin, nowotwory.

Badania finansowane przez Projekt MJWPU.420-112/12 RPMA.01.01.00-14-002/11 WCB.
Projekt MJWPU.420-112/15 RPMA.01.01.00-14-007/15-00, CBB, KNOW UMO-KNOW
2017/SGGW/Lab2/02/4.

WPLYW AUTOLOGICZNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH
NA AKTYWNOŚĆ EMG SZYJKI MACICY U ŚWINI
THE INFLUENCE OF AUTOLOGOUS MESENCHYMAL STEM CELLS
ON EMG ACTIVITY OF THE UTERINE CERVIX IN PIG

M. Sady^{1,2}, M. Olszewski^{1,2}, J. Olszewski^{1,2}, M. Domino^{1,2}, B. Pawliński^{1,2}, Z. Gajewski^{1,2}

¹Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ²WCB, i CBB Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, WMW, SGGW w Warszawie

Zaburzenia funkcji szyjki macicy stanowią istotny problem kliniczny, a ich diagnostyka jest nadal mało poznana. Nowoczesne metody badań obrazowych i elektrofizjologicznych umożliwiają opisanie i ocenę tego odcinka układu rozrodczego, a w konsekwencji analizę mechanizmów fizjologicznych oraz zaproponowanie metod leczenia występujących stanów patologicznych. Terapia z wykorzystaniem komórek macierzystych (MSC) wydaje się być obiecującą strategią, dlatego postawiono hipotezę, że implantacja autologicznych MSC do warstwy mięśniowej szyjki macicy może wpłynąć na jej czynność skurczową, co zostanie potwierdzone w realizowanych badaniach.

Do badań włączono 12 loszek, które poddano kolejnym zabiegom chirurgicznym: pobranie szpiku kostnego, wszczepienie zawiesiny wyznakowanych MSC do warstwy mięśniowej szyjki macicy i implantacja bipolarnych elektrod, pobranie materiału do dalszych badań.

Wszepione komórki zostały zidentyfikowane w miejscach iniekcji (X-Ray Fluorescence Spectrometry) oraz potwierdzono ich prawidłową morfologię. Wykorzystując wizualizację immunofluorescencyjną z zastosowaniem cytometru skaningowego i mikroskopu konfokalnego z laserem WLL, że w grupie z MSC w porównaniu do sąsiadujących komórek niewyznakowanych ekspresja markera proliferacji komórkowej Ki67 ($M \pm SEM$; $28,87 \pm 9,19$ vs $8,64 \pm 2,40$) jest istotnie statystycznie wyższa, natomiast ekspresja czynnika wzrostu fibroblastów (bFHG) ($M \pm SEM$; $6,9\% \pm 0,94$ vs $21,1\% \pm 3,24$) jest istotnie statystycznie niższa. Odnotowano również istotne różnice w ekspresji czynnika wzrostu hepatocytów (HGF) między grupami komórek wszepionych i sąsiadujących od oddalonych ($M \pm SEM$; $2,4 \pm 0,56$ vs $2,7 \pm 0,37$ vs $0,4 \pm 0,09$; odpowiednio).

Analiza dotychczasowych danych EMG mierzonych metodą telemetryczną pozwala stwierdzić różnice w aktywności mioelektrycznej w odniesieniu do miejsc implantacji elektrod w układzie rozrodczym oraz fazy cyklu jajnikowego świnia, a także wnioskować, że aktywność EMG w rogach i szyjce macicy w przebiegu cyklu rozprzestrzenia się w sposób uporządkowany.

Uzyskane wyniki badań potwierdziły, że MSC przeżywają w miejscu iniekcji, wykazują wyższy potencjał proliferacyjny niż komórki sąsiadujące oraz mogą na nie oddziaływać parakrynnie, a także modulować aktywność skurczową mięśniówki gładkiej szyjki.

Słowa kluczowe: elektromiografia, terapia komórkowa, przeszczep autologiczny, immunofluorescencja, układ rozrodczy, świnia

Grant wewnętrzny dotacja MNiSW dla Młodych Naukowców: SGGW 505-10-023600-Q00291-99

HELMINTOZY ŻUBRÓW (*BISON BONASUS*) W KONTEKŚCIE NARASTAJĄCEGO
ZJAWISKA LEKOOPORNOŚCI PASOŻYTÓW
HELMINTHIASIS OF EUROPEAN BISON IN THE CONTEXT OF GROWING
PHENOMENON OF ANTHELMINTIC RESISTANCE

M. Żygowska, A. M. Pyziel, K. Anusz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska; *martazygowska@gmail.com

W ostatniej dekadzie obserwowany jest na świecie wzrost przypadków oporności nicieni żołądkowo-jelitowych na antyhelmintyki. Oprócz powodowania strat ekonomicznych w hodowlach zwierząt gospodarskich, zjawisko to może wpływać na bioróżnorodność dzikich przeżuwaczy, stanowiąc potencjalne zagrożenia dla żubra, *Bison bonasus*, umieszczonego na liście IUCN, jako gatunek narażony (*vulnerable*). Dotychczas brakuje danych na temat skuteczności odrobaczania dzikich przeżuwaczy. Jedyne doniesienie dotyczy przypadku braku skuteczności benzimidazoli w zwalczaniu *Haemonchus contortus*, którym zarażone były żubry w szwedzkim Avesta Visentpark. Należy rozważyć możliwość transmisji lekoopornych szczepów pasożytów między zwierzętami wolno żyjącymi a hodowlanymi - produkującymi żywność i *vice versa* oraz skutki takiego zjawiska, biorąc pod uwagę fakt, że spośród 43 gatunków nicieni notowanych u gatunku *Bison bonasus*, aż 28 to pasożyty występujące u domowych Bovidae, a pozostałe to gatunki przejęte od jeleniowatych.

Celem pracy jest zbadanie skuteczności odrobaczania żubrów utrzymywanych w zagrodach pokazowych oraz w ośrodkach hodowlanych w Polsce oraz ewentualne wykrycie lekoopornych szczepów nicieni żołądkowo-jelitowych. Skuteczność antyhelmintyków z grupy benzimidazoli i makrocyclicznych laktonów, stosowanych w ramach jesiennego i wiosennego cyklu odrobaczeń, zostanie zbadana z wykorzystaniem testu procentowej redukcji jaj sianych w kale (FECRT). Oporne na benzimidazole szczepy nicieni zostaną wykryte z wykorzystaniem testu wykluwania się larw. Dodatkowo zostaną przeprowadzone badania molekularne, w których amplifikowane będą wybrane markery mitochondrialnego DNA nicieni, w celu poszukiwania mutacji, generujących zmiany w budowie białek pasożyta. Oprócz tego od zwierząt wyeliminowanych z przyczyn hodowlanych/sanitarnych zostaną pobrane trawieńce i ustalony zostanie skład gatunkowy nicieni żołądkowych żubrów utrzymywanych w hodowlach zamkniętych.

Dotychczas zabezpieczono trawieńce od 8 żubrów. Badania morfologiczne nicieni od jednego ze zbadanych zwierząt wykazały obecność 40 osobników krwiopijnego nicienia *Haemonchus contortus*, 510 samców *Ostertagia ostertagi*, 10 samców *O. lyrata* oraz 610 samic z rodziny Ostertagiinae. Oznaczenia morfologiczne zostaną zweryfikowane z użyciem metody PCR. Dodatkowo zostanie zaprojektowany test multipleks PCR, umożliwiający wykrycie fragmentów DNA najczęściej stwierdzanych gatunków nicieni żubrów, co pozwoli na monitoring zarażenia na podstawie wyhodowanych w kale larw nicieni, a co za tym idzie, na bezinwazyjną diagnostykę zarażenia.

Słowa kluczowe: żubr, lekooporność, antyhelmintyki, nicienie żołądkowo-jelitowe, FECRT, test wykluwania się larw, multipleks PCR

WPLYW ZAKAZENIA KÓZ LENTIWIURUSEM MAŁYCH PRZEŻUWACZY NA
NOSICIELSTWO BAKTERII Z RODZAJU *STAPHYLOCOCCUS*
THE INFLUENCE OF SMALL RUMINANT LENTIVIRUS INFECTION OF GOATS ON
THE CARRIAGE OF STAPHYLOCOCCI

A. Moroz¹, O. Szaluś-Jordanow², M. Czopowicz¹, K. Brodzik³, V. Petroniec⁴, E.
Augustynowicz-Kopeć⁴, A. Lutyńska⁵, M. Roszczenko⁵, A. Gołoś-Wójcicka⁵, A.
Korzeniowska-Kowal⁶, A. Gamian⁶, T. Frymus², J. Kaba¹

¹Samodzielna Pracownia Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

²Zakład Chorób Zakaźnych Małych Zwierząt, Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny
Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

³Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego, Zakład Badania Surowic i Szczepionek, Warszawa

⁴Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Zakład Mikrobiologii, Warszawa

⁵Instytut Kardiologii im. Prymasa Tysiąclecia Stefana Kardynała Wyszyńskiego, Warszawa

⁶Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, Wrocław

Jedną z chorób wirusowych występujących powszechnie u kóz w Polsce jest wirusowe zapalenie stawów i mózgu (ang. caprine arthritis-encephalitis, CAE), wywołwane przez lentiwirusa małych przeżuwaczy (ang. small ruminant lentivirus, SRLV). W przebiegu tej choroby rozwija się przewlekłe postępujące zapalenie stawów, głównie nadgarstkowych, któremu może towarzyszyć śródmiąższowe zapalenie płuc oraz wymienia. Chociaż nie wykazano, aby SRLV upośledzał czynność układu odpornościowego, jego zdolność do wywoływania przewlekłego, powoli postępującego zapalenia płuc może predysponować do wtórnych zakażeń wirusowych i bakteryjnych, co może skutkować nosicielstwem bakterii, również tych stanowiących potencjalne zagrożeniem dla zdrowia i życia ludzi, takich jak metycylinooporne szczepy *Staphylococcus aureus* (ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA). W ostatnich latach wykazano, że ich nosicielami i potencjalnym źródłem zakażenia dla ludzi coraz częściej stają się zwierzęta towarzyszące oraz gospodarskie.

W badaniach wykorzystano wymazy z nosa oraz surowice pobrane od 1300 zdrowych klinicznie kóz mlecznych pochodzących z 21 polskich stad. Surowice przebadano w kierunku zakażenia lentiwirusem małych przeżuwaczy (SRLV) używając serologicznego testu immunoenzymatycznego ID Screen MVV-CAEV Indirect Screening test (ID.vet Innovative Diagnostics, Grabels, France). Pobrane wymazy poddano badaniu mikrobiologicznemu. Wykonano posiewy na podłoże Mullera-Hinton z 6,5% dodatkiem NaCl oraz na podłoże Columbia agar z 5% dodatkiem krwi i inkubowano przez 24 h w 37°C. Następnie na podstawie cech fenotypowych 515 izolatów przyporządkowano do gatunku *Staphylococcus*. Identyfikację gatunkową potwierdzono z zastosowaniem pomiaru widm masowych przy użyciu spektrometru masowego MALDI-TOF UltrafleXtreme (Bruker Daltonics) w przypadku 437 izolatów (score value $\geq 2,000$). Metocylinooporność badano przez wykazanie obecności genu *mecA* kodującego białko PBP2a metodą multiplex-PCR. Dla wszystkich izolatów wykonano oznaczenie minimalnego stężenia hamującego (MIC) dla głównych grup antybiotyków (amoksycylina/kwas klawulanowy, cefalotyna, cyprofloksacyna, klindamycyna, gentamycyna, chloramfenikol, mupirocyna). W celu określenia genetycznego podobieństwa szczepów przeprowadzono badanie metodą elektroforetycznego rozkładu fragmentów DNA w zmiennym polu elektrycznym (PFGE).

Wszystkie badane szczepy z gatunku *Staphylococcus* charakteryzowały się potwierdzoną fenotypowo oraz genotypowo wrażliwością na metycylinę. Badania potwierdziły wyjątkowo niski poziom lekooporności tych szczepów na wybrane antybiotyki. Zakażenie SRLV nie miało wpływu na kolonizację jamy nosowej przez gronkowce. W

związku z tym, pod względem przenoszenia *S. aureus*, kozy zakażone SRLV nie wydają się stanowić większego zagrożenia dla ludzi niż kozy wolne od SRLV.

Słowa kluczowe: CAE, SRLV, *Staphylococcus*, zapalenie stawów i mózgu kóz

Badania finansowane ze środków dotacji KNOW Konsorcjum Naukowego „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność”, decyzja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 05-1/KNOW2/2015 (numer umowy UMO-KNOW/2016/SGGW/PRO1/01/3).

WYSTĘPOWANIE OPORNOŚCI NA ANTYBIOTYKI MAKROLIDOWE U SZCZEPÓW
TRUEPERELLA PYOGENES WYIZOLOWANYCH W POLSCE
OCCURRENCE OF MACROLIDE RESISTANCE
IN *TRUEPERELLA PYOGENES* STRAINS ISOLATED IN POLAND
E. Kwiecień, I. Stefańska, M. Rzewuska

Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Trueperella pyogenes (dawniej *Arcanobacterium pyogenes*) to Gram-dodatnie pałeczki wchodzące w skład naturalnej bioty skóry oraz błon śluzowych różnych gatunków zwierząt. Z uwagi na to, że wywołują różne zmiany chorobowe, drobnoustroje te są zaliczane do istotnych w medycynie weterynaryjnej patogenów oportunistycznych. Powodują one głównie zakażenia o charakterze ropnym, których patogenеза nie jest dobrze poznana. W zwalczaniu zakażeń wywoływanych przez *T. pyogenes* obok antybiotyków β -laktamowych, tetracyklin i fluorochinolonów, najczęściej stosowane są także makrolidy. Jednak w ostatnich latach, w wyniku wzmożonego stosowania antybiotyków, odnotowuje się znaczny wzrost lekooporności bakterii, w tym szczepów *T. pyogenes* izolowanych od zwierząt.

Przeprowadzone badanie miało na celu oznaczenie oporności na makrolidy oraz sprawdzenie występowania wybranych genów warunkujących oporność na tę klasę antybiotyków u szczepów *T. pyogenes* o różnym pochodzeniu.

Materiał badawczy stanowiło 96 szczepów *T. pyogenes* wyizolowanych od 6 gatunków zwierząt (bydło, trzoda chlewna, żubry, kozy, owce, antylopa) z różnych typów zakażeń (*mastitis*, *metritis*, *balanoposthitis*, zapalenie płuc, ropnie). Hodowlę bakterii prowadzono na stałym podłożu Columbia Agar z 5% krwi owczej (Graso, Polska) w 37°C przez 48 godzin w atmosferze mikroaerofilnej. Oznaczenie oporności na erytromycynę (ERY), azytromycynę (AZM) i klarytromycynę (CLR) przeprowadzono z zastosowaniem metody gradientowo-dyfuzyjnej z użyciem pasków E-test® (bioMérieux, Francja). Detekcję genów oporności, *erm(X)*, *erm(B)* oraz *msr(A/B)*, wykonano techniką PCR z zastosowaniem par starterów (Genomed, Polska) specyficznych dla poszczególnych genów. Produkty amplifikacji rozdzielano elektroforetycznie, a następnie analizowano w VersaDoc Model 1000 Imaging System (Bio-Rad, USA).

Wśród badanych szczepów *T. pyogenes* oporność na ERY stwierdzono u 7/96 (7,3%), na AZM u 6/96 (6,3%) i na CLR u 8/96 (8,3%). W większości były to szczepy od trzody chlewnej, wyizolowane z przypadków zapalenia płuc. U szczepów wykazujących fenotypową oporność na te antybiotyki stwierdzono także obecność badanych genów, gen *erm(X)* wykryto u 8, a gen *msr(A/B)* u 7 szczepów. Genu *erm(B)* nie wykryto. Wyniki te wskazują, że pałeczki *T. pyogenes* są potencjalnym rezerwuarem genów warunkujących oporność na makrolidy. Jednak dla dokładnego poznania mechanizmów oporności na tę klasę antybiotyków oraz determinujących ją czynników występujących u *T. pyogenes* niezbędne są dalsze badania.

Słowa kluczowe: fenotyp oporności, genotyp oporności, makrolidy, mechanizmy lekooporności, *Trueperella pyogenes*

ROLA AUTOFAGII W TRAKCIE ZAKAŻENIA KOŃSKIM HERPESWIRUSEM TYPU 1
– BADANIA *IN VITRO*
ROLE OF AUTOPHAGY DURING EQUINE HERPESVIRUS TYPE 1 INFECTION
– *IN VITRO* RESEARCH

I. Serafińska, J. Cymerys, M. Chodkowski, A. Golke, A. Słońska, M. W. Bańbura

Zakład Mikrobiologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna
Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Autofagia to wysoce konserwatywny proces komórkowy, odpowiedzialny nie tylko za utrzymywanie homeostazy poprzez eliminację uszkodzonych czy zbędnych białek i organelli, ale również biorący udział w usuwaniu wewnątrzkomórkowych patogenów takich jak wirusy. Uruchomienie szlaku autodegradacji składników komórki może przeciwdziałać replikacji wirusa oraz zapobiegać jego dalszemu rozprzestrzenianiu w organizmie. Z drugiej strony, niektóre wirusy mogą wykorzystywać autofagię w celu namnażania wirionów potomnych. Zbadanie roli procesu autofagii w czasie zakażenia końskim herpeswirusem typu 1 (EHV-1) z pewnością pozwoli na lepsze poznanie mechanizmu działania wirusa, a być może przyczyni się również do opracowania skutecznej metody do walki z zakażeniami wywoływanymi przez herpeswirusy.

W niniejszej pracy, dziesięciodniową hodowlę pierwotną mysich komórek nerwowych traktowano modulatorami procesu autofagii – chlorokiną (25 μ M) oraz rapamycyną (0,1 μ M) przez 24 godziny. Następnie, komórki zakażano EHV-1 i analizowano kinetykę replikacji wirusa przy pomocy metody Real-time PCR. Obecność antygenów wirusowych, a także ich lokalizację w komórce względem białka LC3B, będącego markerem autofagii, zbadano z zastosowaniem mikroskopii konfokalnej. W doświadczeniach użyto trzech szczepów wirusa Jan-E i Rac-H oraz EHV-1 26, a próby zbierano w 2, 24 oraz 48 g.p.z. (godziny po zakażeniu). Kontrolę pozytywną stanowiły komórki zakażone, nie inkubowane z modulatorami.

Wykazano, że modulatory autofagii nie hamowały wnikania końskiego herpeswirusa typu 1 do komórek. Ponadto, EHV-1 replikował się w mysich neuronach zarówno po zahamowaniu, jak i po aktywacji autofagii. Liczba kopii wirusowego DNA 2 g.p.z., w porównaniu do kontroli pozytywnej, znacząco wzrosła zarówno po zastosowaniu aktywatora, jak i inhibitora procesu. Po 24 godzinach od zakażenia poziom replikacji wirusa, po zastosowaniu chemicznych modulatorów autofagii był podobny lub wyższy niż w komórkach nimi nie traktowanych. Po zastosowaniu rapamycyny, liczba kopii wirusowego DNA, 48 g.p.z., nie wzrosła w stosunku do liczby kopii po pierwszym cyklu replikacyjnym (24 g.p.z.). Może to świadczyć o hamowaniu replikacji wirusa po pobudzeniu procesu autofagii, lecz dopiero w dalszych etapach cyklu replikacyjnego. Na podstawie analizy fluorescencji, 2 g.p.z. w komórkach zaobserwowano dużą ilość antygenów wirusowych. Natomiast w czasie 24 i 48 g.p.z. znajdowało się ich znacznie mniej. Ponadto, po 48 godzinach od zakażenia obserwowano w komórkach nagromadzenie białka LC3B, które było zlokalizowane nie tylko w ciele neuronu, ale również w jego wypustkach, czego nie zauważono w 2 i 24 g.p.z.

Podsumowując, wykazano, że modulacja procesu autofagii zmienia kinetykę replikacji EHV-1, co świadczy o znaczącej roli tego procesu podczas zakażenia i może posłużyć do opracowania nowych strategii walki z herpeswirusami.

Słowa kluczowe: autofagia, EHV-1, zakażenie wirusowe, neurony, hodowla pierwotna

Badania sfinansowano ze środków dotacji KNOW Konsorcjum "Zdrowe Zwierzę - Bezpieczna Żywność", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego decyzja nr 05-1/KNOW2/2015.

OCENA WPŁYWU WYSIŁKU NA UKŁAD ODPORNOŚCIOWY KONI
TRENOWANYCH DO RAJDÓW DŁUGODYSTANSOWYCH
THE EFFECT OF PHYSICAL EXERCISE ON IMMUNE FUNCTIONS IN ENDURANCE
ARABIAN HORSES

O. Witkowska-Piłaszewicz¹, P. Baśka², M. Czopowicz³, M. Żmigrodzka¹, A. Rzepecka¹,
A. Winnicka¹, A. Cywińska¹

¹Zakład Patofizjologii Zwierząt, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie, ²[Zakład Farmakologii i Toksykologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie](#), ³[Samodzielna Pracownia Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie](#)

Rutynowy monitoring stanu zdrowia koni sportowych, opierający się na interpretacji wyników badań morfologicznych i biochemicznych krwi (CPK, AST, TP) nie daje kompleksowych informacji o stanie zdrowia i możliwościach adaptacyjnych trenujących koni. Pomocne może być badanie parametrów immunologicznych, jednak większość badań dotyczących tego zagadnienia jest fragmentaryczna i obejmuje zmiany poszczególnych wskaźników po jednokrotnym wysiłku. Zrozumienie oddziaływania wysiłku na układ immunologiczny jest istotne dla bezpiecznego i efektywnego treningu, zwłaszcza w pierwszym sezonie treningowym.

Celem badań było prześledzenie zmian stężeń profilu cytokin w pierwszym sezonie treningowym u koni rajdowych. Badaniami objęto 9 koni czystej krwi arabskiej w wieku 6 - 7 lat. Materiał pobierano co 30 dni przez 5 miesięcy w spoczynku i do 30 minut po sesji treningowej o wysokiej intensywności. Wykonano badania morfologiczne krwi, a w surowicy oznaczono podstawowe wskaźniki biochemiczne oraz stężenia cytokin: IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF α , INF γ metodą ELISA. Ponadto metodą Real-Time PCR określono poziom ekspresji wybranych cytokin: IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α .

Zaobserwowano istotny spadek stężenia wszystkich badanych cytokin. Wskazuje to na adaptację organizmu do wzrastających obciążeń w przebiegu pierwszego sezonu treningowego, wyrażoną uzyskiwaniem tzw. „stanu przeciwzapalnego” w organizmie koni sportowych. Kompleksowa analiza badanych parametrów, na poziomie mRNA oraz białka, pozwoliła poznać mechanizmy, które mogą mieć istotne znaczenie w przewidzeniu możliwości adaptacyjnych konia do treningu oraz w monitorowaniu zarówno postępów treningowych, jak i stanu zdrowia.

Słowa kluczowe: zapalenie, stan przeciwzapalny, rajdy długodystansowe, cytokiny

Badania finansowane z grantu promotorskiego KNOW 500 07 023100 D00100-01 oraz grantu wewnętrznego nr 505-10-023700-Q00385-99.

ROLA KOMÓREK ZREBU W REGULACJI ROZWOJU NABŁONKA GRUCZOŁU
MLEKOWEGO U BYDŁA
ROLE OF STROMAL CELLS IN REGULATION OF BOVINE MAMMARY
EPITHELIUM DEVELOPMENT
Ż. Dziegielewska, M. Gajewska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Gruczoł mlekowy to jeden z nielicznych narządów u ssaków, który podlega naturalnym cyklom proliferacji, różnicowania oraz apoptozy wielokrotnie podczas życia samicy. Zarówno komórki nabłonkowe jak i mioepitelialne na każdym etapie rozwoju gruczołu pozostają w bezpośrednim lub pośrednim kontakcie z komórkami tworzącymi zrąb gruczołu. Najliczniejszą grupę stanowią adipocyty oraz komórki tkanki łącznej, fibroblasty. Wyniki badań wskazują, że rozwój części wydzielniczej gruczołu jest regulowany nie tylko przez hormony, ale również lokalnie wytwarzane czynniki wzrostu oraz oddziaływania międzykomórkowe. Celem badań było zbadanie wpływu czynników parakrynych wydzielanych przez adipocyty na różnym etapie różnicowania na rozwój komórek nabłonka gruczołowego u bydła z wykorzystaniem kultur pierwotnych.

Wyizolowane z torebki tłuszczowej nerki krwi mezenchymalne komórki macierzyste - **bASC** (*ang. bovine adipose derived stem cells*) hodowano w pożywce wzrostowej DMEM/F12 z dodatkiem 10% surowicy. Po osiągnięciu konfluencji pożywkę zmieniano na różnicującą, z dodatkiem izobutylometyloksantyny, rozyglitazonu, deksametazonu oraz ITS (insuliny-transferyny-selenu). Zdolność do różnicowania wyizolowanych preadipocytów potwierdzono barwieniem kropeł tłuszczu z użyciem czerwieni oleistej O (*ang. Oil Red O*) oraz barwieniem fluorescencyjnym LipodTOX™. Następnie zbierano 4 typy pożywek kondycyjnych z poszczególnych etapów różnicowania adipocytów (z dnia 0, 8, 12, 14). Wyizolowane pierwotne komórki nabłonka gruczołowego bydła – **bMEC** (*ang. bovine mammary epithelial cells*) hodowano w pożywce wzrostowej DMEM/F12 z dodatkiem 10% surowicy, transferyny, hydrokortyzonu oraz insuliny. Czystość populacji potwierdzono w barwieniu immunofluorescencyjnym z użyciem markerów: MUC-1, cytokeratyny 18, cytokeratyny 19, cytokeratyny 14 oraz α -SMA. Następnie komórki bMEC traktowano pożywką kondycjonowaną przez 24 godziny. Oceniono następujące parametry: żywotność komórek (test MTT), ich potencjał proliferacyjny (CyQUANT Cell Proliferation Assay) oraz zdolność do migracji na płytkach hemotaksyjnych (BD Falcon™ FluoroBlock™ 24-Multiwell Insert Plates) z wykorzystaniem barwienia przyżyciowego. Dodatkowo zbadano obecność wybranych adipokin w pożywkach kondycjonowanych przy użyciu testów ELISA.

Badania pokazały, że komórki bASC, które po izolacji wykazują morfologię komórek fibroblastycznych, mają zdolność do przeprowadzenia procesu adipogenezy. Otrzymane w hodowli *in vitro* bydłące adipocyty są zdolne do syntezy biologicznie aktywnych związków, m.in. adiponektyny, leptyny oraz chemeryny. Pożywki kondycjonowane zawierające czynniki parakryne wydzielane przez bydłące adipocyty podwyższały żywotność komórek nabłonka gruczołu mlekowego. Z kolei związki wydzielane do pożywki przez niezróżnicowane komórki bASC, wykazujące morfologię fibroblastów, istotnie stymulowały komórki bMEC do migracji, co może świadczyć o roli fibroblastów w rozbudowie tkanki wydzielniczej podczas mammogenezy.

Słowa kluczowe: nabłonek gruczołu mlekowego, adipocyty, pożywka kondycjonowana, oddziaływania parakryne

Badania finansowane przez KNOW2015/CB/PRO1/21

WYKORZYSTANIE MIKROKULEK MAGNETYCZNYCH DO AKTYWACJI
LIMFOCYTÓW T IZOLOWANYCH Z KRWI OBWODOWEJ PSÓW
APPLICATION OF MAGNETIC MICROBEADS FOR ACTIVATION OF T
LYMPHOCYTES ISOLATED FROM CANINE PERIPHERAL BLOOD

I. M. Szopa, J. K. Bujak, A. Łabędź, K. Majchrzak

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Pies domowy (*Canis lupus familiaris*) jest atrakcyjnym modelem do badań z zakresu immunoonkologii. Główne populacje komórek układu odpornościowego psów zostały dobrze scharakteryzowane i wykazują istotną homologię do komórek ludzkich. Niemniej jednak, metody hodowli *in vitro* limfocytów T izolowanych od psów nadal wymagają optymalizacji. Ekspansja limfocytów T w warunkach *in vitro* zależy od ich prawidłowej aktywacji. Zarówno u psów, jak i u ludzi, wymaga ona sygnału przekazywanego poprzez receptor limfocytów T (TCR) oraz sygnału kostymulującego.

Do aktywacji limfocytów T wykorzystano mitogen roślinny – konkanawalinę A oraz mikrokulki magnetyczne pokryte przeciwciałami przeciwko psim cząsteczkom CD3 i CD28, które zapewniają zaangażowanie TCR i kostymulację komórek T. Pierwszym etapem badań było zoptymalizowanie stężenia mikrokulek magnetycznych, przez sprawdzenie ich wpływu na ekspresję CD25 - markera aktywacji. Cząsteczka CD25 to podjednostka α receptora dla interleukiny 2 (IL2R), która jest głównym czynnikiem wzrostu limfocytów T. Następnie określony został wpływ różnych metod aktywacji na zdolność komórek do proliferacji oraz produkcji cytokin efektorowych takich jak IL-2 oraz INF γ .

Badania wykazały, że zastosowanie mikrokulek magnetycznych jest skuteczną metodą aktywacji psich limfocytów T, a optymalny stosunek limfocytów T do mikrokulek magnetycznych wynosi 1 do 0,5. Zastosowanie takiej metody stymulacji pozwoliło na uzyskanie komórek aktywnych metabolicznie, zdolnych do proliferacji oraz wytwarzania cytokin efektorowych. Przeprowadzone badania przyczyniły się do stworzenia protokołu hodowli psich limfocytów T, który może w przyszłości znaleźć zastosowanie w komórkowej immunoterapii przeciwnowotworowej.

Słowa kluczowe: immunoterapia komórkowa, limfocyty T, kostymulacja limfocytów, pies domowy

Badania finansowane z projektu pt. *Modification of signaling pathways of canine Th17 lymphocytes subset to improve adoptive cellular immunotherapy for humans* (Modyfikacja ścieżek sygnałowych w limfocytach subpopulacji Th17 na modelu psa w celu poprawy adoptywnej immunoterapii komórkowej u ludzi) FIRST TEAM Fundacji na rzecz Nauki Polskiej: ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój 2014-2020 (PO IR).

WPLYW INSULINOPODOBNEGO CZYNNIKA WZROSTU-1 NA EKSPRESJĘ
WYBRANYCH ELEMENTÓW SZLAKÓW SYGNAŁOWYCH CZYNNIKÓW
WZROSTU W MYSICH ADIPOCYTACH 3T3-L1.

THE EFFECT OF INSULIN LIKE GROWTH FACTOR-1 ON THE EXPRESSION OF
RELATED ELEMENTS OF GROWTH FACTOR SIGNALING PATHWAYS IN MOUSE
ADIPOCYTES 3T3-L1.

T. Domoradzki

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1), jest znany przede wszystkim z endo- i parakrynnych efektów pobudzających wzrost organizmu. Anaboliczny wpływ IGF-1 na mięśnie szkieletowe można, przynajmniej częściowo, wyjaśnić jego wpływem na ekspresję mikroRNA swoistych dla tkanki mięśniowej i kontrolujących miogenezę, tzw. mio-miRów.

Badania własne wykazały, że zmiany ekspresji i wydzielania cząsteczek mikroRNA, wykazują działanie anty-adipogenne i pro-adipogenne, co sugeruje udział IGF-1 w kontroli rozwoju adipocytów.

Celem pracy było zbadanie wpływu IGF-1 na ekspresję wybranych wskaźników adipogenezy: PPAR γ i FATP4 oraz wybranych elementów szlaków sygnałowych czynników wzrostu: EGF, FGF, TGF β w mysich adipocytach 3T3-L1. Geny wybrano na podstawie analizy ontologicznej genów docelowych dla pro-adipogennych i anty-adipogennych cząsteczek mikroRNA, kontrolowanych przez IGF-1, zgodnie z danymi wskazującymi, że szlaki sygnałowe EGF, FGF i TGF β , znalazły się na liście 10 najważniejszych szlaków zależnych od tych cząsteczek.

Mysie fibroblasty linii 3T3-L1 hodowano w standardowych warunkach (10% NBGS/DMEM). Po osiągnięciu pełnej konfluencji pożywkę zmieniano na różnicującą (10% FBS/DMEM) i hodowlę kontynuowano przez 8 dni. IGF-1 (25 nmol/l) obecny był w pożywce przez cały okres hodowli lub tylko w czasie różnicowania adipogennego. Skutki działania czynnika wzrostu porównywane były z grupą kontrolną (10% FBS/DMEM).

Ekspresję genów: PPAR γ , Fatp4 (wskaźniki adipogenezy), Akt3, Egfr, Fgf7, Prkca, Rasa2 (elementy szlaków EGF i FGF), Tgfb1, Tgfr1, Smad2 (elementy szlaku TGF β), oceniano techniką qPCR, w której jako genów referencyjnych użyto *beta-aktyny* i *gapdh*.

Postęp adipogenezy oraz wpływu IGF-1 na proces adipogenezy w komórkach 3T3-L1, oceniany był również na podstawie obecności kropli lipidowych barwionych przy użyciu czerwieni oleistej.

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że IGF-1 wywiera stymulujący wpływ na gromadzenie triglicerydów w kulturach adipocytów 3T3-L1.

Mechanizm działania IGF-1 może polegać na:

- i) zwiększonej proliferacji komórek poprzedzającej wejście na drogę adipogennego różnicowania, o czym świadczy hamowanie ekspresji Rasa2 i elementów szlaku sygnałowego TGF-beta1, lub/oraz
- ii) przyspieszonym dojrzewaniu różnicujących się adipocytów w kierunku funkcji metabolicznej, o czym świadczy wzrost ekspresji PPAR γ , Fatp4, Akt3 i Prkca.

Słowa kluczowe: adipogeneza, EGF i FGF, IGF-1, szlaki sygnałowe, TGF-beta.

Badania finansowane z grantu wewnętrznego trybu konkursowego nr: 50510023100-P00344-99.

MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA MODELI MATEMATYCZNYCH ODCINKA
ŁĘDŹWIOWEGO KRĘGOSŁUPA U WYBRANYCH RAS PSÓW
POSSIBILITIES OF USING MATHEMATICAL MODELS OF THE LUMBAR SPINE IN
SELECTED DOGS BREEDS

I. Wadowska¹, M. Dzierżęcka¹, S. Paśko²

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska, ²Wydział Mechatroniki, Instytut Mikromechaniki i Fotoniki, Politechnika Warszawska, Warszawa, Polska

U psów, szczególnie dużych ras, odcinkiem kręgosłupa wykazującym najwięcej patologii, jest odcinek lędźwiowo - krzyżowy. Diagnostykę obrazową kręgosłupa u tego gatunku, wciąż przeprowadza się w oparciu o badanie radiologiczne często uzupełnione podaniem kontrastu (mielografia, epidurografia). Dużym postępem w wizualizacji i ocenie budowy kręgosłupa zarówno w ortopedii ludzkiej jak również w medycynie weterynaryjnej, stało się badanie metodą tomografii komputerowej (CT) oraz zastosowanie rezonansu magnetycznego (MRI). Pomimo większej dostępności wymienionych metod, w ortopedii ludzkiej coraz częściej w ocenie postawy używa się metod obrazowania 3D lub 4D. Trójwymiarowa analiza obrazu kręgosłupa jest połączeniem techniki optycznej z cyfrowym przetwarzaniem danych. Pozwala na precyzyjną, bezdotykową ocenę budowy poszczególnych odcinków kręgosłupa. Zaletą metody jest brak szkodliwego promieniowania, niski koszt i precyzja oceny budowy kręgosłupa i postawy. Ocena ta odbywa się dzięki opracowaniu matematycznych modeli budowy kręgosłupa człowieka.

Celem przeprowadzonego badania była próba opracowania modelu matematycznego, opisującego stosunki wysokości oraz długości poszczególnych kręgów odcinka lędźwiowego u psa domowego. Materiał badawczy stanowiły psy wybranych ras ($n = 105$), 58 samców i 47 samic, wiek 1-17 lat, masa ciała 3-72 kg, u których wykonano zdjęcia radiologiczne odcinka lędźwiowo – krzyżowego kręgosłupa. W zależności od wielkości osobnika zakres kV wynosił: 76-54 kV, a mAs: 16-20. Na otrzymanych radiogramach dokonano dwóch pomiarów, którymi zostały objęte wszystkie kręgi lędźwiowe. Pierwszy pomiar przeprowadzony był od wierzchołka wyrostka kolczystego do środka kanału kręgowego, zaś drugi - od środka długości trzonu danego kręgu do środka długości trzonu kolejnego kręgu. Dane z pomiarów, posłużyły do obliczenia odległości każdego kręgu w stosunku do kręgu pierwszego. Przyjmując, że n oznacza indeks kręgu, N - liczbę kręgów lub indeks ostatniego, a $d_{n,n-1}$ odległość danego kręgu od poprzedniego, wówczas wspomniana odległość od kręgu pierwszego $d_{n,1}$ opisana jest następującym wzorem:

$$d_{N,1} = \sum_{k=2}^N d_{n,n-1}$$

Dla każdego osobnika dokonano normalizacji odległości dzieląc zarówno wysokość kręgu h_n jak i odległość od kręgu pierwszego $d_{n,1}$ przez $d_{N,1}$. Wykazano, że w odniesieniu do kręgów lędźwiowych, dla 90% psów oznaczone parametry mieszczą się w zakresie błędu nie przekraczającym 10%, dlatego istnieje możliwość wyznaczenia jednolitego, przybliżonego modelu matematycznego, który łączyłby wysokość kręgów odcinka lędźwiowego kręgosłupa z ich położeniem dla wszystkich psów niezależnie od rasy. Powyższe spostrzeżenie stanowi punkt wyjściowy dla opracowaniu modelu matematycznego budowy kręgosłupa psa metodą obrazowania 3D.

Słowa kluczowe: kręgi lędźwiowe, model matematyczny, psy.

UZYSKIWANIE ZARODKÓW HYBRYDOWYCH *IN VITRO* MIĘDZY KROWĄ BYDŁA
DOMOWEGO (*Bos taurus*) A BYKIEM ŻUBRA (*Bison bonasus*)
IN VITRO PRODUCTION OF HYBRID EMBRYOS BETWEEN COW OF DOMESTIC
CATTLE (*Bos taurus*) AND BULL OF WISENT (*Bison bonasus*)
Magdalena Baraniewicz-Kołek, Paweł Gręda, Anna Maria Duszewska

Zakład Histologii i Embriologii, Katedra Nauk Morfologicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w
Warszawie

Żubr (*Bison bonasus*) jest gatunkiem zagrożonym i chronionym międzynarodowym prawem. Jednym z najnowszych kierunków w jego ochronie jest wykorzystanie procedury produkcji zarodków *in vitro*, obejmującej dojrzewanie oocytów *in vitro*, zapłodnienie *in vitro* oraz hodowlę zarodków *in vitro*. Największym ograniczeniem we wdrożeniu niniejszej procedury w ochronę gatunku jest ekstremalnie ograniczona dostępność oocytów i plemników żubra. Dlatego badania nad możliwościami aplikacyjnymi metody produkcji zarodków *in vitro* opierają się wyłącznie na uzyskiwaniu zarodków hybrydowych między bydłem domowym (*Bos taurus*) a żubrem (*Bison bonasus*).

Celem pracy była ocena kompetencji plemników do zapłodnienia oraz potencji rozwojowych zarodków hybrydowych pomiędzy krową bydła domowego (*Bos taurus*) a bykiem żubra (*Bison bonasus*).

Niedojrzałe oocyty (imCOCs) pobierano z jajników krów (*Bos taurus*) poddanych ubojowi w rzeźni. Następnie imCOCs poddawano dojrzewaniu *in vitro* w pożywce IVM odpowiednio suplementowanej i inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 38,5°C i 5% CO₂. Dojrzałe COCs zapładniano plemnikami pochodzącymi od buhaja (*Bos taurus*) – grupa kontrolna oraz byka żubra (*Bison bonasus*) – grupa doświadczalna. Zapłodnienie przeprowadzono w pożywce IVF odpowiednio suplementowanej, w inkubatorze przez 18 godzin w 38,5°C i 5% CO₂. Zarodki z grupy kontrolnej (bydlęce) i doświadczalnej (hybrydowe) hodowano *in vitro* w pożywce IVC odpowiednio suplementowanej przez 168 godzin w 38,5°C i 5% CO₂. W obu grupach oceniano odsetek zapłodnionych oocytów oraz rozwój zarodków po 48 i 168 godzinach od zapłodnienia. Uzyskane wyniki analizowano przy użyciu programu STATGRAFICS Plus 5.1 z wykorzystaniem jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA).

Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy w odsetku zapłodnionych oocytów pomiędzy zarodkami bydłecy: 93,62±2,37 (grupa kontrolna) a hybrydowymi 92,63±2,05 (grupa doświadczalna) oraz w odsetku zarodków podzielonych pomiędzy zarodkami bydłecy (74,2±1,79) a hybrydowymi (78,34±6,75), a także w odsetku morul/blastocyst pomiędzy zarodkami bydłecy (33,76±2,41) a hybrydowymi (39,12±4,24).

Zastosowana w niniejszych badaniach procedura pozyskiwania *in vitro* zarodków bydłecy pozwala na heterologiczne zapłodnienie oocytów bydłecy (*Bos taurus*) plemnikami żubra (*Bison bonasus*) oraz umożliwia rozwój zarodków hybrydowych.

Słowa kluczowe: hybrydy, bydło, żubr, *in vitro*

Projekt finansowany przez Lasy Państwowe OR.271.3.10.2017.

MAŁOINWAZYJNA OSTEOSYNTeza PRZEZSKÓRNA Z WYKORZYSTANIEM
PŁYTY BLOKOWANEJ (LCP, *LOCKING COMPRESSION PLATE*) W LECZENIU
ZŁAMAŃ KOŚCI DŁUGICH U PSÓW I KOTÓW.
MINIMALLY INVASIVE OSTEOSYNTHESIS WITH LOCKING COMPRESSION
PLATE (LCP) IN THE TREATMENT OF LONG BONE FRACTURES IN DOGS AND
CATS

J. Berczyńska, P. Trębacz, J. Sterna

Zakład Chirurgii i Anestezjologii Małych Zwierząt, Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, Szkoła Główna
Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Wstęp. W ostatnich latach obserwuje się w medycynie gwałtowny rozwój technik chirurgii małoinwazyjnej, a więc technik pozwalających m. in. na zmniejszenie uszkodzeń tkanek w trakcie trwania procedury chirurgicznej. Osteosynteza przezskórna spełnia ten warunek, a u pacjentów leczonych tą techniką obserwuje się znacznie krótszy czas gojenia kości oraz szybsze przywrócenie kończyny do sprawności w porównaniu do leczenia metodami tradycyjnymi.

Cel badań. Celem badania była ocena czasu gojenia i przywrócenia kończyny do sprawności w leczeniu złamań kości długich metodą osteosyntezy przezskórnej z wykorzystaniem płyty blokowanej.

Materiały i metody. U 12 pacjentów, 5 psów i 7 kotów, ze złamaniami kości długich, w średnim wieku 2,98 roku (przedział od 5 miesięcy do 8 lat i 6 miesięcy) wykonano zabiegi osteosyntezy przezskórnej z wykorzystaniem płyty blokowanej jako stabilizatora zewnętrznego. Dystrakcję, repozycję i redukcję złamania uzyskiwano w sposób pośredni, bez ekspozycji przelomu złamania. Płyty blokowane w rozmiarach od 2,4 do 3,5 mocowano naskórną przy pomocy wkrętów korowych, minimum po dwa w każdym z odłamów kości. Kontrolę radiologiczną w co najmniej dwóch projekcjach wykonywano w większości przypadków 2-krotnie, w 30-dniowych odstępach. Jako pełny zrost kości uznawano odtworzenie ciągłości trzech korówek. Podczas każdej kontroli radiologicznej przeprowadzano badanie aparatu ruchu w celu oceny sprawności kończyny.

Wyniki. Średni czas uzyskania radiologicznego zrostu kości wynosił 11 tygodni. Powrót kończyny do sprawności (brak kulawizny) następował średnio po 3 miesiącach. U 3 pacjentów doszło do rozwoju powikłań (wysunięcie śruby, wysunięcie i złamanie śruby, złamanie po usunięciu płyty). U jednego z pacjentów doszło do rozwoju zapalenia kości i szpiku.

Wnioski. Czas gojenia i szybkość powrotu kończyny do sprawności w większości przypadków były zadowalające. Niewielkich rozmiarów, lekka płyta blokowana była noszona z komfortem u wszystkich pacjentów (w okresie leczenia nie doszło do uszkodzeń ciała wywołanych obecnością wszczepów). Skóra w okolicy wszczepów powinna być utrzymywana w czystości, ze względu na prewencję zapalenia kości i szpiku. Demontaż wszczepów był łatwy, nie wymagał długotrwałego znieczulenia oraz nie powodował uszkodzeń tkanek. Przezskórna osteosynteza płytowa z wykorzystaniem płyty blokowanej może być z powodzeniem stosowana jako metoda leczenia złamań kości długich u psów i kotów.

PORÓWNANIE AKTYWNOŚCI WYBRANYCH BIAŁEK OSTREJ FAZY U SUK
ZDROWYCH I Z ROPOMACICZEM
COMPARISON OF ACTIVITY OF SELECTED ACUTE PHASE PROTEINS IN
HEALTHY AND PYOMETRA-AFFECTED BITCHES

S. Kanafa, P. Jurka

Zakład Rozrodu Małych Zwierząt, Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, Szkoła Główna Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska

Wstęp: Celem pracy było poznanie miejscowych procesów odpowiedzialnych za wystąpienie najczęstszej choroby układu rozrodczego starszych, niewykastrowanych suk - ropomacicza oraz ustalenie korelacji pomiędzy układem immunologicznym a układem rozrodczym w etiologii tej patologii. Ocenie podlegały białka ostrej fazy m.in. Inter-alpha-trypsin inhibitor-4 (ITIH4) oraz interleukiny IL-6.

ITIH4 jest to glikoproteina należąca do białek ostrej fazy, o masie ok 120 kD, izolowana wcześniej od ludzi, świń oraz szczurów. W ponad 2/3 sekwencji aminokwasowych wykazuje homologię z ciężkimi łańcuchami (H1, H2 oraz H3) inhibitora rodziny inter-alfa-trypsyn. Do tej pory, nie pojawiły się publikacje dotyczące wpływu i działania ITIH4 u psów. Nie jest znany również dokładny mechanizm działania tego białka ostrej fazy. Z kolei cytokina IL-6 wytwarzana jest przez monocyty i makrofagi. Głównym czynnikiem aktywującym jej wytwarzanie jest IL-1, TNF-alfa oraz LPS. Jest ona uznawana za główny czynnik regulujący odpowiedź zapalną. Charakterystyczną cechą jest łączenie się IL-6 z jej rozpuszczalnym receptorem (sIL-6R), który następnie wiąże się z łańcuchem błonowym przenoszącym sygnał – gp130. IL-6 oddziałuje na limfocyty B i jest odpowiedzialna za uwalnianie immunoglobulin. Dodatkowo, wraz z IL-1 oraz TNF-alfa, jest odpowiedzialna za wzrost temperatury ciała w czasie stanu zapalnego, jest też istotnym elementem w czasie reakcji ostrej fazy.

Materiał i metody: Materiał do badań był pobierany przed zabiegiem owariohisterektomii, w czasie katetyzacji żyły odpromieniowej przedramienia (krew obwodowa), oraz podczas zabiegu z żyły macicznej (krew miejscowa). Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta zdrowe – niewykazujące w badaniu klinicznym objawów chorobowych, u których nie stosowano wcześniej środków hormonalnych, natomiast grupą badaną były zwierzęta, u których zdiagnozowano ropomacicze. Krew była pobierana do probówek z aktywatorem wykrzepiania, granulatem lub żelem separującym, celem uzyskania surowicy. Surowica następnie była mrożona (-71^o C) i po uzyskaniu odpowiednio dużej ilości materiału została rozmrożona i zbadana. Grupę kontrolną w przypadku ITIH4 stanowiło 5 suk, natomiast grupę badaną przy ropomaciczu w formie zamkniętej 16, a w formie otwartej 9 suk. Grupę kontrolną w przypadku IL-6 stanowiło 6 suk, natomiast grupę badaną przy ropomaciczu w formie zamkniętej 26, a w formie otwartej 11 suk.

Wyniki: Stężenie ITIH4 w krwi macicznej w grupie kontrolnej wynosiło średnio 0,35 mg/ml (0.24-0.74), a w krwi obwodowej 0,34 mg/ml (0.28-0.77). W przypadku ropomacicza w formie otwartej średnie stężenie ITIH4 w krwi macicznej wynosiło 1,01 mg/ml (0.22-1.86), a w krwi obwodowej 0,98 mg/ml (0.21-1.88). Przy ropomaciczu w formie zamkniętej wartości te wynosiły kolejne 0,54 mg/ml (0.16-1.51) oraz 0,76 mg/ml (0.15-2.03). Stężenie IL-6 w krwi macicznej w grupie kontrolnej wynosiło średnio 3,2 pg/ml (0-11,6), a w krwi obwodowej stężenie osiągało maksymalną wartość do 5,2 pg/ml. W przypadku ropomacicza w formie otwartej średnie stężenie IL-6 w krwi macicznej wynosiło 39,1 pg/ml (6-285.4), a w krwi obwodowej 26 pg/ml (5.2-105.8). Z kolei przy ropomaciczu w formie zamkniętej średnie stężenie IL-6 w krwi macicznej wynosiło 30,1 pg/ml (6.4-314.5), a w krwi obwodowej 13,6 pg/ml (0-232.5).

Wnioski: Stężenie ITIH4 w krwi miejscowej oraz obwodowej u suk zdrowych oraz chorych

na ropomacicze (forma otwarta i zamknięta) nie wykazało różnic istotnych statystycznie. Poziom IL-6 jest istotnie wyższy u suk z ropomaciczem niż u suk zdrowych zarówno w żyłę macicznej, jak i obwodowej, ale nie różni się istotnie między otwartym i zamkniętym ropomaciczem. Ponadto poziom IL-6 nie różni się istotnie pomiędzy żyłami u suk zdrowych, ale u suk z ropomaciczem (zarówno otwartym jak i zamkniętym) poziom IL-6 jest istotnie wyższy w żyłę macicznej.

OKREŚLENIE PREWALENCJI MYCOPLASMA SPP. I WIRUSÓW SPECYFICZNYCH
DLA GADÓW U ZWIERZĄT TOWARZYSZĄCYCH W POLSCE
THE PREVALENCE OF SPECIFIC VIRUSES AND MYCOPLASMA SPP. IN THE MOST
POPULAR REPTILE SPECIES KEPT IN CAPTIVITY IN POLAND

Joanna Pasterny¹, Jakub Seń¹, Rachel Marschang²

¹Koło Naukowe Medyków Weterynaryjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna
Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, Polska, ²Laboklin GmbH & Co. KG, 97688 Bad Kissingen,
Germany

Wirusy powodują wiele poważnych chorób u pacjentów klinik weterynaryjnych. Znajomość występowania oraz geograficznego zasięgu różnych gatunków wirusów może usprawnić diagnostykę oraz poprawić wyniki leczenia. Jest to szczególnie ważne ze względu na trudność oraz koszty związane z laboratoryjną identyfikacją wirusów. Jak dotąd, zagadnienia związane z prewalencją wirusów występujących u gadów nie zostały szerzej rozpoznane na terenie Polski. Celem badań było zbadanie i oszacowanie stopnia nosicielstwa różnych gatunków wirusów u gadów trzymanyh w warunkach domowych w Polsce.

Na miejsce badania wyznaczone zostały cztery zakłady lecznicze dla zwierząt znajdujące się na terenie Warszawy. Lekarze weterynarii z ukończoną specjalizacją z zakresu chorób zwierząt nieudomowionych w czasie regularnych wizyt pobierali wymazy, które następnie dostarczane były do laboratorium LABOKLIN w Niemczech. Wymazy pobierane były od każdego zwierzęcia z podniebienia oraz z kloaki, a także dodatkowo z powierzchni skóry w przypadku stwierdzenia tam zmian patologicznych. Pobrane próbki pozwoliły wyizolować materiał genetyczny, który z kolei poddany został analizie metodą PCR. Założeniem badania było poszukiwanie materiału genetycznego ranawirusów, adenawirusów oraz herpeswirusów oraz Mycoplazmy, a wśród węży specyficznych grupowo nidowirusów oraz reptarenawirusów. Dodatkowo, w czasie wizyty każdego zwierzęcia wypełniany był anonimowy (bez danych właściciela) formularz, w którym zawarte były pytania o stan utrzymania zwierzęcia i warunki środowiskowe. Pozwoliło to uwzględnić w trakcie analizy wyników ewentualne czynniki predysponujące do nosicielstwa wirusa. W sumie do analizy włączono 240 próbek.

W trakcie prezentacji przedstawiona zostanie analiza wyników uzyskanych w trakcie badania.

Słowa kluczowe: wirusy, PCR, Mycoplasma

Badania finansowane przez Laboklin.