

Udział receptorów Toll-podobnych w patogenezie atopowego zapalenia skóry u ludzi i zwierząt. Część II. Atopowe zapalenie skóry – charakterystyka, występowanie i objawy choroby

Magdalena Bossowska¹, Kourou Dembele², Felix N. Toka³

z Katedry Nauk Przedklinicznych¹ i Katedry Chorób Małych Zwierząt z Kliniką² Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie oraz Ross University School of Veterinary Medicine, St. Kitts, West Indies³

Atopowe zapalenie skóry występuje zarówno u ludzi, jak i psów, kotów oraz koni (1, 2, 3, 4). Jest to zapalenie skóry przebiegające ze świądem oraz przewlekłymi i nawracającymi zmianami wypryskowymi, które zwykle pojawiają się, u ludzi, we wczesnym dzieciństwie i dotyczą około 16% dzieci, ale zmiany chorobowe mogą pojawiać się też w wieku dorosłym. Atopowe zapalenie skóry jest najbardziej rozpowszechnioną chorobą skóry i dotyczy od 10 do 30% ogólnej populacji ludzi, a jej częstość występowania znacznie wzrosła w ciągu ostatnich kilku dekad, w szczególności w krajach wysoko rozwiniętych (5, 6). Zmianom wypryskowym towarzyszy infiltracja komórek stanu zapalnego, takich jak limfocyty, makrofagi czy komórki tuczne. Ponadto obserwuje się zwiększoną liczbę eozynofiliów we krwi obwodowej oraz wysokie stężenie przeciwciał klasy IgE w surowicy. Objawy kliniczne atopowego zapalenia skóry są zróżnicowane, ponieważ wiele chorób przebiega ze świądem i podobnymi objawami, co utrudnia rozpoznanie choroby. Z tego względu ważne jest wykluczenie innych chorób skóry, mających podobne objawy kliniczne (7). Na podstawie badań epidemiologicznych i obserwacji klinicznych (8, 9) u chorych na atopowe zapalenie skóry stwierdzono częstsze występowanie zakażeń bakteryjnych i wirusowych. Ponadto pacjenci z atopowym zapaleniem skóry są szczególnie narażeni na zakażenia skórne wywołane przez *Staphylococcus aureus* lub *Herpes simplex virus* (HSV), co może powodować stany zapalne i utrudniać gojenie się ran (10, 11). Wykazano także, że myszy pozbawione TLR2 są bardziej wrażliwe na zakażenia wywołane przez *Staphylococcus aureus* (12).

Według hipotezy higieny, brak lub ograniczona ekspozycja na różnego typu mikroorganizmy oraz podawanie szczepionek we wczesnym dzieciństwie sprawiają, że dzieci nie chorują na różne choroby i nie nabywają odporności w sposób naturalny.

W konsekwencji może to prowadzić do nieprawidłowych reakcji odpowiedzi immunologicznej wobec niektórych antygenów, np. przewagi limfocytów Th2 w porównaniu z limfocytami Th1 podczas odpowiedzi komórkowej oraz zaburzenia w wytwarzaniu przeciwciał klasy IgE wobec pasożytów, co powoduje nagły wzrost zachorowań na choroby alergiczne (4, 13, 14, 15). Ponadto badania przeprowadzone przez Roduit i wsp. (16) udowadniają, że u dzieci, których matki miały kontakt ze zwierzętami gospodarskimi i kotami w ciąży, występowało zmniejszone ryzyko rozwoju atopowego zapalenia skóry w ciągu pierwszych dwóch lat życia. Dodatkowo, ci sami autorzy wykazali, że dzieci z wyższą ekspresją genów TLR5 i TLR9 przy urodzeniu charakteryzują się zmniejszonym ryzykiem wystąpienia atopowego zapalenia skóry w porównaniu z dziećmi z niższą ekspresją tych receptorów. Wyniki te świadczą o roli wrodzonego układu odpornościowego między efektem ochronnym ekspozycji prenatalnej a rozwojem atopowego zapalenia skóry u dzieci.

Patogeneza atopowego zapalenia skóry

Do tej pory nie udało się jednoznacznie i dokładnie wyjaśnić podłoża atopowego zapalenia skóry. Wiadomo jednak, że do rozwoju tej choroby przyczyniają się przede wszystkim czynniki genetyczne, na które silnie wpływają czynniki środowiskowe (6), czego skutkiem są zaburzenia w odpowiedzi układu immunologicznego na powszechnie występujące alergeny oraz uszkodzenia bariery skóry (17, 18, 19, 20, 21).

Przez wiele lat dominował pogląd, że zmiany skórne u pacjentów chorych na atopowe zapalenie skóry są wynikiem głównie zaburzeń reakcji układu immunologicznego (22). Jednak przełomem w badaniach genetycznych atopowego zapalenia skóry było wykrycie mutacji w genie filagryny (FLG) u ludzi, co jednocześnie zaburzyło

The role of Toll-like receptors (TLRs) in the pathogenesis of atopic dermatitis in humans and animals. Part II. Atopic dermatitis – its characteristics, prevalence and clinical signs

Bossowska M.¹, Dembele K.², Toka F.N.³,
Department of Preclinical Sciences¹, Department of Small Animal Diseases with Clinic², Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Ross University School of Veterinary Medicine, St. Kitts, West Indies³

This article aims at the presentation of atopic disease in companion animals. Atopic dermatitis (AD) may be defined as an inherited susceptibility to sensitization by environmental allergens with the development of cutaneous type I hypersensitivity. AD is a chronic, inflammatory disease that occurs in humans, companion animals and horses. Clinically, it is characterized by intense pruritus, often seasonal, mainly of face, ventral body and feet with self-trauma. Dry skin and eczematous lesions accompanied by otitis externa and secondary pyoderma are present. Two theories are suggested, that complement each other, in explaining inflammatory lesions in patients with AD. The first one is associated with an abnormal Th1/Th2 balance, whereas the second refers to the skin barrier dysfunction. Here, the involvement of TLRs in both innate and adaptive immunity was described. TLRs belong to the big family of pathogen recognition receptors (PRRs), expressed by the cells of innate immunity. They are however, considered as influencing also the profile of developing adaptive immune response. It seems therefore important to discuss the role of TLRs during inflammatory and immune response in the early pathogenesis of AD.

Keywords: atopic dermatitis, pathogenesis, innate immunity, companion animals.

pierwotną hipotezę (23, 24). W związku z pojawieniem się innej teorii na temat patogenezy atopowego zapalenia skóry, zaproponowano dwa mechanizmy obrazujące dwie odrębne hipotezy (25). Pierwszy mechanizm związany z zaburzeniem równowagi pomiędzy populacjami limfocytów Th1 i Th2, a dokładniej przewagą limfocytów Th2 w początkowym etapie choroby, obrazuje hipoteza „z wewnątrz na zewnątrz” (inside-to-outside). Mechanizm ten wiąże się z nadmierną produkcją limfocytów Th2, co prowadzi do zwiększonego wytwarzania cytokin IL-4, IL-5 i IL-13. Natomiast wzrost produkcji tych cytokin powoduje nadmierne wydzielanie przeciwciał klasy IgE na powszechnie występujące alergeny środowiskowe, a także zahamowanie wytwarzania chemokin, peptydów przeciwdrobnoustrojowych (AMP) oraz białek warstwy rogowej skóry, co w konsekwencji prowadzi do wystąpienia defektów w funkcjonowaniu bariery skórnej (26, 27, 28).

Aktualnie większą uwagę naukowców skupia druga hipoteza „z zewnątrz do wewnątrz” (outside-to-inside), która zakłada, że przyczyną łatwego i nadmiernego wnikania alergenów drażniących lub innych bodźców jest defekt bariery skórnej, prowadzący do wywoływania wtórnych reakcji immunologicznych. Powodem wysunięcia tej hipotezy i jednoczesnym przełomem w badaniach patogenezy atopowego zapalenia skóry było wykrycie obecności mutacji w genie filagryny (FLG). Filagryna jest białkiem, którego funkcja polega na spajaniu włókien keratynowych w procesie dojrzewania keratynocytów i tworzeniu zewnętrznej warstwy naskórka. Niedobór FLG prowadzi do uszkodzeń podczas formowania warstwy rogowej naskórka, co związane jest ze zwiększoną transepidermalną utratą wody (TEWL), czyli zmniejszoną zdolnością do utrzymania odpowiedniego nawodnienia warstwy rogowej oraz z podwyższeniem pH (28, 29, 30, 31). Utrzymanie niskiego pH skóry jest niezwykle istotne podczas funkcji ochronnych skóry, m.in. w integralności i spójności warstwy rogowej, w utrzymaniu homeostazy, w obronie przeciwbakteryjnej oraz w aktywacji enzymów zaangażowanych w metabolizm ceramidów (32, 33). Wszystkie te zmiany prowadzą do wysuszenia i pęknięcia naskórka oraz jednocześnie zwiększają ryzyko rozwoju zakażeń spowodowanych przez drobnoustroje (374). Szczegółowe badania nad genem filagryny jednoznacznie wykazały mutacje R501X i 2282del4 jako przyczyny występowania atopowego zapalenia skóry i umożliwiły lepsze zrozumienie podatności genetycznej na występowanie atopii (35, 36). Autorzy dowiedli, że obie mutacje powodują całkowitą utratę funkcjonalnego produktu. Ponadto Lesiak i wsp. (37), analizując częstości występowania mutacji R501X oraz 2282del4 FLG w populacji polskiej, wykazali, że obecność mutacji 2282del4 zwiększa ryzyko powstawania atopowego zapalenia skóry oraz wpływa na jego przebieg kliniczny. Jednak opisane nieprawidłowości obserwuje się u nie więcej niż połowy pacjentów z atopowym zapaleniem skóry.

Nadprodukcja wspomnianych wcześniej cytokin IL-4 i IL-13 wytwarzanych przez Th2 powoduje obniżenie ekspresji filagryny. Ponadto Fallon i wsp. stwierdzili, że u myszy pozbawionych ekspresji filagryny w skórze dochodzi do zwiększonej przezskórnej penetracji alergenów, co bezwzględnie wpływa na rozwój alergii IgE-zależnej i skutkuje wystąpieniem zmian klinicznych. Na podstawie innego badania wykazano rozwój ciężkiej postaci atopowego zapalenia skóry z nasiloną reakcją odpornościową Th2-zależną również u myszy pozbawionych filagryny, lecz po ekspozycji na miejscowe hapteny.

Należy więc podkreślić, że nie tylko wady genetyczne są przyczyną defektów bariery skórnej, ale zarówno zaburzona odpowiedź immunologiczna u osób z atopowym zapaleniem skóry, jak i czynniki środowiskowe mają również wpływ na dysfunkcję bariery skórnej.

Warto więc zauważyć, że patomechanizm atopowego zapalenia skóry jest samonapędzającym się procesem: pojawienie się uszkodzeń w barierze skórnej – przenikanie alergenów i czynników drażniących – zaburzone reakcje układu immunologicznego – dalsze uszkodzenia bariery skórnej – zwiększone przenikanie alergenów i czynników drażniących. Zjawisko to opisuje się jako tzw. błędne koło w atopowym zapaleniu skóry.

Ekspresja receptorów Toll-like w komórkach skóry oraz ich wpływ na patogenezę AZS

Skóra pełni nie tylko rolę fizycznej bariery pomiędzy organizmem a środowiskiem, ale również pełni istotną funkcję w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej podczas wnikania patogenów. Komórki skóry, takie jak keratynocyty, komórki Langerhansa, makrofagi, komórki dendrytyczne, limfocyty T i B oraz komórki tuczne, komórki śródbłonna drobnych naczyń krwionośnych skóry, a także komórki zrębowe, takie jak fibroblasty i adipocyty, wykazują ekspresję receptorów TLR. Receptory Toll-podobne pełnią istotną rolę w układzie odpornościowym skóry, łącząc mechanizmy odporności wrodzonej i nabytej podczas przebiegu reakcji obronnych gospodarza. Rozpoznając wzorce molekularne związane z patogenami (PAMP), chronią skórę przed wniknięciem bakterii (38), wirusów (39, 40, 41, 42) oraz grzybów (43, 45). Po rozpoznaniu odpowiednich ligandów receptory TLR, poprzez różne szlaki sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, prowadzą do aktywacji NF- κ B w celu wytwarzania mediatorów prozapalnych, takich jak cytokiny, chemokiny (głównie TNF- α , IL-12), oraz uruchomienia fagocytozy patogenów. Natomiast ich wzmożona bądź obniżona ekspresja niewątpliwie może mieć wpływ na rozwój niektórych chorób skóry.

U chorych na atopowe zapalenie skóry zdiagnozowano występowanie kilku polimorfizmów TLR. Są to zmiany w sekwencji genów kodujących TLR, które stanowią główną przyczynę występowania uszkodzeń bariery skóry i jej dysfunkcji. Pierwszym polimorfizmem zidentyfikowanym spośród wszystkich receptorów Toll-podobnych była substytucja kwasu asparaginowego w glicynę (Asp299Gly) w domenie zewnątrzkomórkowej TLR4. Mutacja ta wiąże się ze zmniejszoną odpowiedzią na endotoksynę w warunkach *in vitro* (44). Występowanie

polimorfizmu Asp299Gly zwiększa ryzyko zakażeń spowodowanych przez bakterie Gram-ujemne (45, 46, 47). Natomiast inne badania łączą tę mutację ze wzrostem występowania zespołu ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (48). U osób z polimorfizmem Asp299Gly zaobserwowano również niższy poziom fibrynogenu czy krążących cytokin prozapalnych takich jak IL-6 (49).

W genie TLR2 pierwszą zidentyfikowaną mutacją była substytucja argininy w glutaminę (mutacja Arg753Gln, R753Q) występująca w wewnątrzkomórkowej części receptora (50). Jej obecność zmniejsza zdolność reagowania TLR2 na peptydy przeciwbakteryjne *in vitro*. Ponadto zaobserwowano, że myszy pozbawione tego receptora wykazywały zwiększoną podatność na zakażenie wywołane przez *Staphylococcus aureus* (50) oraz że ludzie będący homozygotami pod względem mutacji R753Q również byli bardziej podatni na zakażenia tym gronkowcem. U osób tych zdiagnozowano także obniżoną produkcję IL-8 po ligacji TLR2 z jego ligandem LTA (51). Co więcej Ahmad-Nejad i wsp. (52) wykazali, że obecność polimorfizmu R753Q jest obrazem interakcji między czynnikami genetycznymi a środowiskowymi w przewlekłej postaci atopowego zapalenia skóry.

Fakt, iż komórki wrodzonej odporności pośredniczą w pierwszej linii obrony przed patogenami i określają charakter późniejszej nabytej odpowiedzi odpornościowej na patogeny i alergeny, pozwala twierdzić, że komórki wrodzonej odporności są funkcjonalnie uszkodzone u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry (52). Dodatkowo, skóra osób chorych wykazuje silną podatność na zakażenia HSV czy bakteriami Gram-dodatnimi (*Staphylococcus*, *Streptococcus*), które stymulują receptor Toll-podobny 2 (53). Natomiast zwiększona częstość występowania ciężkich objawów klinicznych wywołanych przez zakażenia tymi drobnoustrojami charakterystyczna u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry sugeruje, że niewydolność w kontrolowaniu tych zakażeń wynika albo z braku, albo z zaburzeń odpowiednich reakcji zapalnych na te patogeny (54, 55). Dlatego też Hasannejad i wsp. (57) zbadali, czy produkcja cytokin prozapalnych za pośrednictwem TLR2 jest selektywnie osłabiona u chorych na atopowe zapalenie skóry. Autorzy wykazali, że produkcja cytokin prozapalnych IL-1 β i TNF- α na drodze aktywacji TLR2 przez dwie subpopulacje monocytów (CD14dim-prozapalne i CD14bright-klasyczne) pochodzących od pacjentów z atopowym zapaleniem skóry jest zmniejszona. Dodatkowo zaobserwowano, że obniżona produkcja tych czynników pojawia się głównie w prozapalnych monocytach CD14dim wykazujących zwiększoną

ekspresję receptora FcεRI o wysokim powinowactwie dla IgE. Co więcej, jednoznacznie stwierdzono, że FcεRI wywiera negatywny wpływ na produkcję cytokin prozapalnych, w której uczestniczy TLR2. Ze względu na fakt, iż stan zapalny skóry u pacjentów chorych na atopowe zapalenie skóry charakteryzuje się obfitą infiltracją monocytów o wysokiej ekspresji FcεRI, co wpływa na ich zdolność do zwalczania wymienionych wcześniej gatunków drobnoustrojów, można przypuszczać, że jest to przyczyna braku odpowiedniej reakcji na powtarzające się i uciążliwe infekcje wywołane przez drobnoustroje stymulujące TLR2. Autorzy, analizując wyniki badań, zauważyli także, że produkcja cytokin przez monocyt CD14^{dim} FcεRI jest wybiórczo upośledzona tylko wtedy, gdy w szlaku sygnalizacyjnym bierze udział TLR2, a nie TLR4, choć oba receptory aktywują NF-κB na drodze szlaku sygnalizacyjnego MyD88-zależnego (57). Jednak spośród wszystkich receptorów Toll-podobnych to właśnie TLR2 ma unikalne zdolności do tworzenia homodimerów z TLR1 lub TLR6, więc możliwe jest, że ścieżki sygnałowe z udziałem TLR2 mogą być pod silniejszym wpływem innych cząsteczek błonowych, takich jak np. FcεRI.

W badaniach przeprowadzonych przez Niebuhr i wsp. (59) porównano wpływ PGN, LTA oraz syntetycznego agonisty TLR2 – Pam3Cys na produkcję cytokin przez monocytów u pacjentów chorych na atopowe zapalenie skóry z polimorfizmem R753Q i bez polimorfizmu oraz u osób zdrowych. Celem tych doświadczeń było sprawdzenie funkcjonalnej roli TLR2 na działanie monocytów za pośrednictwem pomiaru wytwarzania IL-6 i IL-12. Interleukina-6 odgrywa ważną rolę jako cytokina prozapalna, a jej produkcja jest zwiększona zarówno u ludzi, jak i u zwierząt chorych na atopowe zapalenie skóry (59). Interleukina-12 jest ważną prozapalną i immunoregulującą cytokiną wytwarzaną głównie przez monocyt/makrofagi, która stymuluje komórki Th1 i odgrywa istotną rolę w obronie gospodarza (60, 61). Zaobserwowano, że pacjenci chorzy na atopowe zapalenie skóry z mutacją R753Q produkują znacznie większe ilości tych prozapalnych cytokin w porównaniu z pacjentami, u których polimorfizm nie występował, i pacjentami zdrowymi, co może wyjaśniać bardziej nasilone zapalenie skóry u tych osób. Ponadto autorzy zakładają, że TLR2 może być kluczowym receptorem w powiązaniu wrodzonej i nabytej odporności w patogenezie atopowego zapalenia skóry. W badaniach przeprowadzonych przez Niebuhr i wsp. (62) wykazano także swoiste zmiany w keratynocytach pochodzących od pacjentów z atopowym zapaleniem skóry w porównaniu

z osobami zdrowymi, mianowicie obniżoną zdolność do wytwarzania IL-6, IL-8, CCL-20 i MMP-9 oraz zmniejszoną odpowiedź po stymulacji TLR2. Autorzy przypuszczają, że zmiany te mogą przyczyniać się do zwiększonej podatności na zakażenia skórne wywołane przez *Staphylococcus aureus*.

Inny polimorfizm TLR2 (Arg677Trp) został zidentyfikowany u koreańskich pacjentów chorych na trąd. Występowanie tej mutacji osłabia aktywację NF-κB w odpowiedzi na takie patogeny, jak *Mycobacterium leprae* i *Mycobacterium tuberculosis*. Ze względu na to, że mutacja znajduje się w domenie wewnątrzkomórkowej TLR2, zostaje osłabiona również reakcja tego receptora z innymi ligandami, np. peptydoglikanem czy zymosanem. Na podstawie tych obserwacji autorzy stwierdzili, że mutacja Arg677Trp może modulować wrodzoną odpowiedź immunologiczną na inne patogeny, które są rozpoznawane przez TLR2 i może mieć istotny wpływ podczas wyjaśniania patogeny różnego typu zakażeń (63).

Przytoczone powyżej wyniki i rozważania na temat wpływu polimorfizmów na stymulację receptorów Toll-podobnych może mieć niezwykle istotny wpływ w przebiegu różnych chorób u ludzi i zwierząt, w tym także w przebiegu atopowego zapalenia skóry. Co więcej, występowanie tyłu różnych mutacji ma znaczący wpływ na upośledzenie produkcji krytycznych mediatorów biorących udział w patogenezie atopowego zapalenia skóry.

Atopowe zapalenie skóry u psów i kotów – charakterystyka, patogeneza i rozpoznawanie

Atopowe zapalenie skóry u psów jest najczęściej występującą chorobą skóry u tego gatunku zwierząt. Aktualna definicja atopowego zapalenia skóry u psów brzmi następująco: „predysponowana genetycznie przeciwzapalna i świądowa choroba skóry z charakterystycznymi objawami klinicznymi związanymi z przeciwciałami klasy IgE skierowanymi przeciwko najczęstszemu alergenom środowiskowym”. Choroba ta może występować u wszystkich ras psów, jednakże pewne skłonności do atopii występują m.in. u takich ras, jak: cocker spaniel, west high land white terrier, sharpei, owczarek niemiecki, golden retriever, seter irlandzki, labrador retriever oraz terrier szkocki (64).

U kotów atopowe zapalenie skóry jest obecnie uważane za drugą ze względu na częstość występowania chorobę alergiczną u tego gatunku zwierząt. Najczęstszym objawem jest świąd, który pojawia się głównie na skórze głowy i karku, a także może występować w okolicy brzucha, tylnej powierzchni ud lub w przestrzeniach międzypalcowych (65). Oprócz świądu mogą

występować również choroby układu oddechowego przypominające astmę u ludzi. U kotów nie stwierdzono ani predyspozycji rasowej ani predyspozycji związanej z płcią do rozwoju atopowego zapalenia skóry (66).

Ze względu na złożoną i nie do końca wyjaśnioną patogenezę atopowego zapalenia skóry jest to choroba trudna do zdiagnozowania zarówno u psów, jak i u kotów. W patogenezie atopowego zapalenia skóry u psów i kotów zasadniczą rolę odgrywają przeciwciała klasy IgE. Przyczyną choroby jest jednak złożona, a do jej rozwoju przyczyniają się: wady w mechanizmach reakcji odporności wrodzonej, wady w mechanizmach reakcji odporności nabytej, i wady w funkcjonowaniu bariery skóry (67).

U psów i kotów, podobnie jak u człowieka, wady wrodzonego układu immunologicznego związane są z nieprawidłowym działaniem receptorów rozpoznających wzorce molekularne, w tym receptorów Toll-podobnych oraz peptydów przeciwbakteryjnych. Zaburzenia odporności nabytej u psów wiążą się ze zwiększonym wytwarzaniem przeciwciał klasy IgE w odpowiedzi na alergeny środowiskowe oraz zwiększeniem liczby komórek dendrytycznych w skórze. Ponadto często w nacięciu komórkowym pojawiają się limfocyty T, a w niewielkiej ilości limfocyty B. U kotów obserwuje się zarówno zwiększoną liczbę limfocytów T CD4⁺ oraz CD8⁺, jak i wzrost komórek dendrytycznych w skórze. Istnieją również duże podobieństwa w nieprawidłowej ekspresji różnych genów, które pełnią zróżnicowane funkcje w obrębie układu immunologicznego oraz bariery skóry u ludzi i psów. Z badań przeprowadzonych przez Merryman-Simpsona i wsp. (70) za pomocą mikromacierzy wynika, że ekspresja 54 spośród 22 000 genów jest znacznie zmieniona w skórze psów chorych na atopowe zapalenie skóry w porównaniu do skóry psów zdrowych. Co więcej, 16 wśród 54 genów wykazuje zwiększoną bądź zmniejszoną ekspresję zarówno w skórze zmienionej, jak i niezmienionej u psów z atopowym zapaleniem skóry w porównaniu do psów zdrowych. Podobne dane otrzymali Wood i wsp. (71) za pomocą mikromacierzy oraz analizy ilościowej real-time PCR, gdyż ekspresja 11 spośród 20 badanych genów była zmieniona w skórze atopowej w porównaniu ze skórą zdrową u ludzi. Zatem geny o zmienionej ekspresji w obrębie funkcjonowania układu odpornościowego skóry odgrywają istotne znaczenie w patogenezie atopowego zapalenia skóry zarówno u ludzi, jak i u psów.

Pierwsze objawy atopowego zapalenia skóry obserwowane są u psów między 6 miesiącem a 3 rokiem życia zwierzęcia (70). Natomiast u kotów pierwsze objawy kliniczne pojawiają się w wieku od 6 do

24 miesięcy (66). Najbardziej charakterystycznym objawem u obu gatunków zwierząt jest przewlekły i nawracający świąd, który rozpoznaje się po częstym lizaniu, drapaniu, wygryzaniu i ocieraniu się zwierząt. Typowymi miejscami występowania zmian skórnych u psów i kotów są głowa i szyja (głównie okolice oczu, warg, brody), uszy, brzuszną powierzchnia ciała (szyja, pachy, pachwiny) oraz kończyny (przestrzenie międzypalcowe, nadgarstek). Zarówno u ludzi, jak i psów oraz kotów z atopowym zapaleniem skóry zaobserwowano predyspozycje do występowania wtórnych zakażeń bakteryjnych i grzybiczych skóry wywołanych przede wszystkim przez *Staphylococcus aureus* i *Malassezia pachydermatis*. Zakażenia wtórne często stanowią nierozpoznaną przyczynę świądu u psów i kotów. Brak rozpoznania zakażeń skórnych może przyczynić się do niewłaściwego i nadmiernego leczenia preparatami przeciwzapalnymi (71, 72).

Rozpoznanie atopowego zapalenia u psów i kotów jest trudne przede wszystkim ze względu na brak typowych objawów lub cech charakterystycznych dla tej choroby. W rozpoznawaniu atopowego zapalenia skóry u psów wykorzystuje się kliniczne kryteria diagnostyczne podane przez Willemssego i Prelauda, które są użyteczne w badaniach klinicznych i praktyce klinicznej mimo ograniczeń w zakresie czułości i swoistości, jednak ich stosowanie jest wciąż dyskusyjne (73, 74). Ostatnio oprócz kryteriów diagnostycznych Willemssego i Prelauda stosuje się opisane przez Favrota (75). Natomiast u kotów nie określono jeszcze żadnych kryteriów rozpoznawania choroby. Diagnostyka atopowego zapalenia skóry u psów i kotów opiera się przede wszystkim na wykluczeniu innych chorób przebiegających ze świądem, m.in. alergicznego pchlego zapalenia skóry alergii lub nietolerancji pokarmowej czy dermatozy psychogennej (76).

Leczenie atopowego zapalenia skóry jest trudne, długotrwałe i służy poprawieniu komfortu życia. Zwalczanie świądu w atopowym zapaleniu skóry można dokonać poprzez:

- 1) eliminację alergenów ze środowiska lub w otoczeniu psa (trudne do wykonania),
- 2) immunoterapię swoistą poprzez podawanie wyciągów alergenów podskórnie (metoda z wyboru),
- 3) immunoterapię nieswoistą lub leczenie farmakologiczne,
- 4) zwalczanie wtórnych zakażeń bakteryjnych i grzybiczych.

Warto pamiętać, że w leczeniu psów istnieje efekt placebo i wynosi około 9% w odniesieniu do świądu związanego z atopowym zapaleniem skóry. Efekt ten powinien być wzięty pod uwagę podczas badań klinicznych.

Leczenie atopowego zapalenia skóry u psów i kotów zależy od nasilenia objawów klinicznych, czasu trwania choroby oraz preferencji właściciela. Najczęściej leczenie obejmuje unikanie alergenu (eliminacja pierza i tkanin, które są źródłem roztoczy kurzu domowego, usuwanie pleśni za pomocą preparatów antyseptycznych i przeciwwgrzybiczych) i leczenie objawowe świądu. Należy jednak pamiętać, że każdy przypadek jest inny, a kluczem do skutecznego leczenia atopowego zapalenia skóry może być zastosowanie terapii skojarzonej, która łączy leczenie powikłań, eliminację ewentualnego alergenu, swoistą immunoterapię alergenową oraz leczenie objawowe.

Podsumowanie

Mimo licznych badań patogeniza atopowego zapalenia skóry wciąż pozostaje niewyjaśniona. Wiadomo jednak, że przyczyną jej występowania nie jest wyłącznie upośledzenie reakcji układu immunologicznego, lecz także – a może przede wszystkim – współdziałanie czynników genetycznych i środowiskowych.

Czynniki genetyczne wpływają na zaburzenia w funkcjonowaniu bariery skórnej, czego skutkiem są objawy kliniczne, takie jak intensywny świąd, zapalenie skóry, co umożliwia wnikanie alergenów i substancji drażniących oraz predysponuje do zakażeń i kolonizacji przez mikroorganizmy.

Poznanie aktywacji receptorów Toll-podobnych i ich ścieżek sygnałowych pozwala na zrozumienie na poziomie molekularnym mechanizmów działania odporności wrodzonej i nabytej u ludzi i zwierząt. Ponadto możliwość wykrywania związków pomiędzy polimorfizmami w genach kodujących TLR a innymi elementami biorącymi udział w odpowiedzi układu odpornościowego wydają się kluczowe do diagnostyki chorób alergicznych, w tym atopowego zapalenia skóry.

Piśmiennictwo

1. De Benedetto A., Agnihothri R., McGirt L.Y., Bankova L.G., Beck L.A. Atopic dermatitis: a disease caused by innate immune defects? *J. Invest. Dermatol.* 2009, **129**, 14–30.
2. Guaguere E., Prelaud P. *A Practical Guide to Feline Dermatology*. Merial. 1999.
3. Scott D.W., Miller W.H., Griffin C.E. *Small Animal Dermatology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia 2001.
4. Scott D.W., Miller W.H. *Equine Dermatology*. Elsevier Science, 2003.
5. Williams H., Robertson C., Stewart A., Ait-Khaled N., Anabwani G., Anderson R., Asher I., Beasley R., Björkstén B., Burr M., Clayton T., Crane J., Ellwood P., Keil U., Lai C., Mallol J., Martinez F., Mitchell E., Montefort S., Pearce N., Shah J., Sibbald B., Strachan D., von Mutius E., Weiland S.K.: Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999, **103**, 125–138.
6. Leung D.Y., Boguniewicz M., Howell M.D., Nomura I., Hamid Q.A.: New insights into atopic dermatitis. *J. Clin. Invest.* 2004, **113**, 651–657.

7. Brucka-Stemkowska A., Kubik D., Lesiak A., Narbutt J.: Atopowe zapalenie skóry – diagnostyka różnicowa zmian chorobowych. *Alerg. Astma Immun.* 2009, **14**, 223–229.
8. Kaesler S., Volz T., Skabytska Y., Köberle M., Hein U., Chen K.M., Guenova E., Wölbling F., Röcken M., Biedermann T.: Toll-like receptor 2 ligands promote chronic atopic dermatitis through IL-4-mediated suppression of IL-10. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014, **134**, 92–99.
9. Elmariah S.B., Lerner E.A. The missing link between itch and inflammation in atopic dermatitis. *Cell.* 2013, **155**, 267–269.
10. Kyu Han Kim: Overview of atopic dermatitis. *Asia Pac. Allergy.* 2013, **3**, 79–87.
11. Szczepanik M., Adamek L., Wilkołek P.: Diagnostyka atopowego zapalenia skóry u psów oraz ocena obrazu klinicznego choroby. *Życie Wet.* 2010, **85**, 332–337.
12. Nishijima S., Nakagawa M., Sugiyama T., Akamatsu H., Horio T., Kawabata S., Fujita M.: Sensitivity of *Staphylococcus aureus*, isolated from skin infections in 1994, to 19 antimicrobial agents. *J. Int. Med. Res.* 1995, **23**, 328–334.
13. Cho S.H., Strickland I., Boguniewicz M., Leung D.Y.: Fibronectin and fibrinogen contribute to the enhanced binding of *Staphylococcus aureus* to atopic skin. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001, **108**, 269–274.
14. Wollenberg A., Wetzal S., Burgdorf W.H., Haas J.: Viral infections in atopic dermatitis: pathogenic aspects and clinical management. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003, **112**, 667–674.
15. Guzik T.J., Bzowska M., Kasprończak A., Czerniawska-Mysik G., Wójcik K., Szmyd D., Adamek-Guzik T., Pryjma J.: Persistent skin colonization with *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: relationship to clinical and immunological parameters. *Clin. Exp. Allergy.* 2005, **35**, 448–455.
16. Roduit C., Wohlhensinger J., Frei R., Bitter S., Biele C., Loeiger S., Büchele G., Riedler J., Dalphin J.C., Remes S., Roponen M., Pekkanen J., Kabesch M., Schaub B., von Mutius E., Braun-Fahrlander C., Lauener R.: PASTURE Study Group. Prenatal animal contact and gene expression of innate immunity receptors at birth are associated with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011, **127**, 179–185.
17. Miller L.S., O'Connell R.M., Gutierrez M.A., Pietras E.M., Shahangian A., Gross C.E., Thirumala A., Cheung A.L., Cheng G., Modlin R.L.: MyD88 mediates neutrophil recruitment initiated by IL-1R but not TLR2 activation in immunity against *Staphylococcus aureus*. *Immunity.* 2006, **24**, 79–91.
18. Yunginger J.W., Ahlstedt S., Eggleston P.A., Homburger H.A., Nelson H.S., Ownby D.R., Platts-Mills T.A., Sampson H.A., Sicherer S.H., Weinstein A.M., Williams P.B., Wood R.A., Zeiger R.S.: Quantitative IgE antibody assays in allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000, **105**, 1077–1084.
19. Borchers AT1, Keen CL, Gershwin ME.: Hope for the hygiene hypothesis: when the dirt hits the fan. *J. Asthma.* 2005, **42**, 225–47.
20. Dębińska A., Boznański A.: Rola receptorów Toll-podobnych (TLR) w patogeniezie schorzeń alergicznych – gdzie leży prawda? *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2014, **68**, 230–237.
21. Baurecht H., Irvine A.D., Novak N., Illig T., Bühler B., Ring J., Wagenpfeil S., Weidinger S.: Toward a major risk factor for atopic eczema: meta-analysis of filaggrin polymorphism data. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007, **120**(6), 1406–1412.
22. Novak N.: New insights into the mechanism and management of allergic diseases: atopic dermatitis. *Allergy.* 2009, **64**, 265–275.
23. Novak N., Leung D.Y.: Advances in atopic dermatitis. *Curr. Opin. Immunol.* 2011, **23**, 778–783.
24. Boguniewicz M., Leung D.Y.: Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. *Immunol. Rev.* 2011, **242**, 233–246.
25. Werfel T.: The role of leukocytes, keratinocytes, and allergen-specific IgE in the development of atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 2009, **129**, 1878–1891.
26. Palmer C.N., Irvine A.D., Terron-Kwiatkowski A., Zhao Y., Liao H., Lee S.P., Goudie D.R., Sandilands A., Campbell L.E., Smith F.J., O'Regan G.M., Watson R.M., Cecil J.E., Bale S.J., Compton J.G., DiGiovanna J.J., Fleckman P., Lewis-Jones S., Arseculerne G., Sergeant A., Munro C.S., El Houate B., McElreavey K., Halkjaer L.B., Bisgaard H., Mukhopadhyay S., McLean W.H.: Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein. *Nat. Genet.* 2006, **38**, 441–446.
27. Barker J.N., Palmer C.N., Zhao Y., Liao H., Hull P.R., Lee S.P., Allen M.H., Meggitt S.J., Reynolds N.J., Trembath R.C., McLean W.H.: Null mutations in the filaggrin gene (FLG) determine major susceptibility to early-onset atopic dermatitis that persists into adulthood. *J. Invest. Dermatol.* 2007, **127**, 564–567.
28. Bieber T.: Atopic dermatitis. *N. Engl. J. Med.* 2008, **358**, 1483–1494.
29. Ong P.Y., Ohtake T., Brandt C., et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N. Engl. J. Med.* 2002, **347**, 1151–1160.

30. Nomura I, Goleva E, Howell M.D., Hamid Q.A., Ong P.Y., Hall C.F., Darst M.A., Gao B., Boguniewicz M., Travers J.B., Leung D.Y.: Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. *J. Immunol.* 2003, **171**, 3262–3269.
31. Howell M.D., Kim B.E., Gao P., Grant A.V., Boguniewicz M., De Benedetto A., Schneider L., Beck L.A., Barnes K.C., Leung D.Y.: Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007, **120**, 150–155.
32. Lee H.J., Lee S.H.: Epidermal permeability barrier defects and barrier repair therapy in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2014, **6**, 2762–87.
33. Cookson W.O., Ubhi B., Lawrence R., Abecasis G.R., Wallely A.J., Cox H.E., Coleman R., Leaves N.L., Trembath R.C., Moffatt M.E., Harper J.L.: Genetic linkage of childhood atopic dermatitis to psoriasis susceptibility loci. *Nat. Genet.* 2001, **27**, 372–373.
34. Madison K.C.: Barrier function of the skin: "la raison d'être" of the epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 2003, **121**, 231–241.
35. Ring J., Alomar A., Bieber T., Deleuran M., Fink-Wagner A., Gelmetti C., Gieler U., Lipowicz J., Luger T., Oranje AP, Schäfer T., Schwennessen T., Seidenari S., Simon D., Ständer S., Stingl G., Szalai S., Szepletowski J.C., Täieb A., Werfel T., Wollenberg A., Darsow U.: Guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) part I. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2012, **26**, 1045–1060.
36. Hatano Y., Man M.Q., Uchida Y., Crumrine D., Scharshmidt T.C., Kim E.G., Mauro T.M., Feingold K.R., Elias P.M., Holleran W.M.: Maintenance of an acidic stratum corneum prevents emergence of murine atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 2009, **129**, 1824–1835.
37. Lesiak A., Przybyłowska K., Zakrzewski M., Stelmach I., Kunas P., van Geel M., Sza-Jędrzejowska A., Narbutt J.: Mutacje R501X i 2282del4 w genie filagryny a atopowe zapalenie skóry. *Alerg. Astma Immun.* 2010, **15**, 162–169.
38. Scharshmidt T.C., Man M.Q., Hatano Y., Crumrine D., Gunathilake R., Sundberg J.P., Silva K.A., Mauro T.M., Hupe M., Cho S., Wu Y., Celli A., Schmutz M., Feingold K.R., Elias P.M.: Filaggrin deficiency confers a paracellular barrier abnormality that reduces inflammatory thresholds to irritants and haptens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, **124**, 496–506.
39. McInturf J.E., Modlin R.L., Kim J.: The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J. Invest. Dermatol.* 2005, **125**, 1–8.
40. Mempel M., Voelcker V., Köllisch G., Plank C., Rad R., Gerhard M., Schnopp C., Fraunberger P., Walli A.K., Ring J., Abeck D., Ollert M.: Toll-like receptor expression in human keratinocytes: nuclear factor kappaB controlled gene activation by *Staphylococcus aureus* is toll-like receptor 2 but not toll-like receptor 4 or platelet activating factor receptor dependent. *J. Invest. Dermatol.* 2003, **121**, 1389–1396.
41. Morrison L.A.: The Toll of herpes simplex virus infection. *Trends Microbiol.* 2004, **12**, 353–356.
42. Sato A., Linehan M.M., Iwasaki A.: Dual recognition of herpes simplex viruses by TLR2 and TLR9 in dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2006, **103**, 17343–17348.
43. Roeder A., Kirschning C.J., Rupec R.A., Schaller M., Weindl G., Korting H.C.: Toll-like receptors as key mediators in innate antifungal immunity. *Med. Mycol.* 2004, **42**, 485–498.
44. Weindl G., Naglik J.R., Kaesler S., Biedermann T., Hube B., Korting H.C., Schaller M.: Human epithelial cells establish direct antifungal defense through TLR4-mediated signaling. *J. Clin. Invest.* 2007, **117**, 3664–3672.
45. Arbour N.C., Lorenz E., Schutte B.C., Zabner J., Kline J.N., Jones M., Frees K., Watt J.L., Schwartz D.A.: TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat. Genet.* 2000, **25**, 187–191.
46. Agnese D.M., Calvano J.E., Hahn S.J., Coyle S.M., Corbett S.A., Calvano S.E., Lowry S.F.: Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J. Infect. Dis.* 2002, **186**, 1522–1525.
47. Lorenz E., Hallman M., Marttila R., Haataja R., Schwartz D.A.: Association between the Asp299Gly polymorphisms in the Toll-like receptor 4 and premature births in the Finnish population. *Pediatr. Res.* 2002, **52**, 373–376.
48. Child N.J., Yang I.A., Pullett M.C., de Courcy-Golder K., Andrews A.L., Pappachan V.J., Holloway J.W.: Polymorphisms in Toll-like receptor 4 and the systemic inflammatory response syndrome. *Biochem Soc Trans.* 2003, **31**, 652–653.
49. Kiechl S., Lorenz E., Reindl M., Wiedermann C.J., Oberholzer E., Bonora E., Willeit J., Schwartz D.A.: Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N. Engl. J. Med.* 2002, **347**, 185–192.
50. Lorenz E., Mira J.P., Cornish K.L., Arbour N.C., Schwartz D.A.: A novel polymorphism in the toll-like receptor 2 gene and its potential association with staphylococcal infection. *Infect. Immun.* 2000, **68**, 6398–6401.
51. Mrabet-Dahbi S., Dalpke A.H., Niebuhr M., Frey M., Draing C., Brand S., Heeg K., Werfel T., Renz H.: The Toll-like receptor 2 R753Q mutation modifies cytokine production and Toll-like receptor expression in atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008, **121**, 1013–1019.
52. Ahmad-Nejad P., Mrabet-Dahbi S., Breuer K., Klotz M., Werfel T., Herz U., Heeg K., Neumaier M., Renz H.: The toll-like receptor 2 R753Q polymorphism defines a subgroup of patients with atopic dermatitis having severe phenotype. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004, **113**, 565–567.
53. Katsuta M., Takigawa Y., Kimishima M., Inaoka M., Takahashi R., Shiohara T.: NK cells and gamma delta+ T cells are phenotypically and functionally defective due to preferential apoptosis in patients with atopic dermatitis. *J. Immunol.* 2006, **176**, 7736–7744.
54. Kurt-Jones E.A., Sandor E., Ortiz Y., Bowen G.N., Coenter S.L., Wang T.C., Finberg R.W.: Use of murine embryonic fibroblasts to define Toll-like receptor activation and specificity. *J. Endotoxin Res.* 2004, **10**, 419–424.
55. Kang S.S., Kauls L.S., Gaspari A.A.: Toll-like receptors: applications to dermatologic disease. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2006, **54**, 951–983.
56. Homey B., Steinhoff M., Ruzicka T., Leung D.Y.: Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006, **118**, 178–189.
57. Hasannejad H., Takahashi R., Kimishima M., Hayakawa K., Shiohara T.: Selective impairment of Toll-like receptor 2-mediated proinflammatory cytokine production by monocytes from patients with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007, **120**, 69–75.
58. Kaisho T., Akira S.: Toll-like receptor function and signaling. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006, **117**, 979–987.
59. Niebuhr M., Langnickel J., Draing C., Renz H., Kapp A., Werfel T.: Dysregulation of toll-like receptor-2 (TLR-2)-induced effects in monocytes from patients with atopic dermatitis: impact of the TLR-2 R753Q polymorphism. *Allergy* 2008, **63**, 728–734.
60. Marsella R., Olivry T., Maeda S.: Cellular and cytokine kinetics after epicutaneous allergen challenge (atopy patch testing) with house dust mites in high-IgE beagles. *Vet. Dermatol.* 2006, **17**, 111–120.
61. Trinchieri G.: Interleukin-12 and its role in the generation of TH1 cells. *Immunol. Today* 1993, **14**, 335–338.
62. Niebuhr M., Heratizadeh A., Wichmann K., Satzger I., Werfel T.: Intrinsic alterations of pro-inflammatory mediators in unstimulated and TLR-2 stimulated keratinocytes from atopic dermatitis patients. *Exp. Dermatol.* 2011, **20**, 468–472.
63. Bochud P.Y., Hawn T.R., Aderem A.: Cutting edge: a Toll-like receptor 2 polymorphism that is associated with lepromatous leprosy is unable to mediate mycobacterial signaling. *J. Immunol.* 2003, **170**, 3451–3454.
64. Halliwell R.E.W.: Allergic skin diseases in dogs and cats: an introduction. *EJCAP* 2009, **19**, 209–211.
65. Szczepanik M., Wilkołek P.: Atopowe zapalenie skóry u kotów. *Życie Wet.* 2011, **86**, 281–286.
66. Prost C.: Feline atopic dermatitis, clinical sign and diagnosis. *Eur. J. Comp. Anim. Pract.* 2009, **19**, 223–229.
67. Halliwell R.: Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006, **114**, 207–208.
68. Vidémont E., Pin D.: How to treat atopy in cats? *EJCAP* 2009, **19**, 276–282.
69. Carlotti D.N.: How to treat atopic dermatitis in dogs. *EJCAP* 2009, **19**, 268–275.
70. Merryman-Simpson A.E., Wood S.H., Fretwell N., Jones P.G., McLaren W.M., McEwan N.A., Clements D.N., Carter S.D., Ollier W.E., Nuttall T.: Gene (mRNA) expression in canine atopic dermatitis: microarray analysis. *Vet. Dermatol.* 2008, **19**, 59–66.
71. Wood S.H., Ke X., Nuttall T., McEwan N., Ollier W.E., Carter S.D.: Genome-wide association analysis of canine atopic dermatitis and identification of disease related SNPs. *Immunogenetics* 2009, **61**, 765–772.
72. Griffin C.E., De Boer D.J.: The ACVD taskforce on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2001, **81**, 255–269.
73. Williams H.C.: Diagnostic criteria for atopic dermatitis. *Lancet* 1996, **348**, 1391–1392.
74. Prelaud P., Guague' re E., Alhaidari Z.: Re-evaluation of diagnostic criteria of canine atopic dermatitis. *Revue Med. Vet.* 1998, **149**, 1057–1064.
75. Favrot C., Steffan J., Seewald W., Picco E.: A prospective study on the clinical features chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet. Dermatol.* 2010, **21**, 23–31.
76. Favrot C., Rostaeh A., Fischer N.: Clinical symptoms, diagnosis and therapy of feline allergic dermatitis. *Schweiz Arch. Tierheilkd.* 2014, **156**, 327–335.

Automat biochemiczny MINDRAY BS-120



Automat hematologiczny 3-diff MINDRAY BC-2800vet



Najnowszy automat hematologiczny 5-diff MINDRAY BC-5000vet



(cytometria przepływowa + laser)

STAMAR[®]

Autoryzowany
i wyłączny dystrybutor sprzętu
firmy **mindray**
do laboratorium weterynaryjnego

Tel.: 601 845 055 (Marek)
726 300 777 (Dominika)