

częściowo tożsame z potrzebami kręgowców wyższych.

Wybitny zoolog polski, wieloletni dyrektor Warszawskiego Zoo, Jan Żabiński, uważał, że porozumiewanie się ze zwierzętami dzikimi trzymanymi przez człowieka jest faktycznie umiejętnością odczytywania sygnałów mówiących, jak zwierzę reaguje na stwarzanie mu określonych warunków życia (34). Ryby, płazy i gady swoje stany wewnętrzne sygnalizują być może w sposób dyskretny. Ale dotychczasowe doświadczenia hodowców i wciąż powiększająca się wiedza płynąca z badań terenowych pozwala mieć nadzieję, że behavior, podobnie jak u ssaków i ptaków, stanie się ważnym wskaźnikiem oceny dobrostanu.

Piśmiennictwo

1. Anonim. Wild Pets in the European Union. <http://end-cap.eu/wild-pets-in-the-eu/>
2. Anonim. The Trade in Live Reptiles: Import to United States. 2001. http://www.humanesociety.org/assets/pdfs/wildlife/exotics/reptile_trade_import.pdf
3. Wabnitz C., Taylor M., Green E., Razak T.: *From Ocean to Aquarium. The global trade in marine ornamental species*. UNEP 2003. http://www.unep.org/PDF/From_Ocean_To_Aquarium_report.pdf
4. Moberg G.: *Animal Stress*. American Physiological Society, Bethesda 1985.
5. Pough F., Janis C., Heiser J.: *Vertebrate Life*. Prentice Hall, Upper Saddle River 2002.
6. Nielsen S.: *Fizjologia zwierząt. Adaptacja do środowiska*. PWN, Warszawa 2008.
7. Fischer D., Rehak I.: The ecology, ethology and variability of the European green lizard *Lacerta viridis* from a local population along the river Vitava in Central Bohemia. *Gazella* 2010, **37**, 51-167.
8. Bertolero A., Donoyan J., Weitzmann B.: *Marine Reptiles: Adaptation, Taxonomy, Distribution and Life Cycles. Encyclopedia of Life Support Systems. Developed under the Auspices of the UNESCO*, Eolss Publishers, Oxford 2002-1011. www.eolss.net/Sample-Chapters/C09/E2-27-05-06.pdf
9. Herz P., Huey R., Garland T.: Time budget, thermoregulation and maximal locomotor performance: are reptiles olympians or boy scouts? *American Zoologist* 1988, **28**, 927-938.
10. Secor S., Diamond J.: Evolution of regulatory responses to feeding in snakes. *Physiol. Biochem. Zool.* 2000, **73**, 123-141.
11. Huntingford F., Adams C., Braithwaite A., Kadri S., Pottinger T., Sandoe P., Turnbull J.: Current issues in fish welfare. *J. Fish Biol.* 2006, **68**, 332-372.
12. Kistler C., Heggin D., Wurbel H., Konig B. Preference of structural environment in zebrafish (*Danio rerio*) and checker barbs (*Puntius oligolepis*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2011, **135**, 318-327.
13. Mazgajski J.: *Płazy świata*. PWN, Warszawa 2009.
14. Chum H., Felt S., Garner J., Green S.: Biology, behavior, and environmental enrichment for captive African clawed frog (*Xenopus spp.*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2013, **143**, 150-156.
15. Stebbins R., Cohen N.: *A Natural History of Amphibians*. Princeton University Press, Princeton 1995.
16. Uetz P., Hosek J.: The Reptile Database. www.reptile-database.org
17. Cogger H., Zweifel R. (eds): *Gady i płazy*. ELIPSA, Warszawa 1993.
18. Pianka E., Vitt L.: *Lizards. Windows to the Evolution of Diversity*. University of California Press, Berkeley 2006.
19. Schofield G., Katselidis K., Panayotis D., Pantis J., Hays G.: Behaviour analysis of the loggerhead sea turtle *Caretta caretta* from direct in-water observation. *Endang. Species Res.* 2006, **2**, 71-79.
20. Fraser D.: Assessing animal welfare: different philosophies, different scientific approaches. *Zoo Biology* 2009, **28**, 507-518.
21. Morgan K., Tromberg C.: Sources of stress in captivity. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2007, **102**, 262-302.
22. Bays T., Lightfoot T., Mayer J.: *Exotic Pet Behavior. Birds, Reptiles and Small Mammals*. Saunders-Elsevier, St. Louis 2006.
23. Fossa S. Man-made Fish: Domesticated fishes and their place in the aquatic trade and hobby. *Ornam. Fish Intern. J.* 2004, **44**, 1-16.
24. Gross M.: One species with two biologies: Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the wild and in aquaculture. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1998, **55** (Suppl), 131-144.
25. Kristiansen T., Ferno A., Holm J., Privitera L., Bakke S., Fosseidengen J. Swimming behaviour as indicators of low growth rate and impaired welfare in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) reared at three stocking densities. *Aquaculture* 2004, **230**, 137-151.
26. Francis-Floyd R.: Tropical fish medicine. Behavioral diagnosis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 1988, **12**, 305-316.
27. Mann R., Hyne R., Choung C., Wilson S.: Amphibians and agricultural chemicals. Review of risk in a complex environment. *Environ. Pollut.* 2009, **157**, 2903-2927.
28. Greenberg N.: Sociality, stress, and the corpus striatum of the green anolis lizard. *Physiol. Behav.* 2003, **79**, 429-440.
29. Brien M., Cherkiss M., Parry M., Mazzotti F.: Housing crocodilians in captivity: consideration for Central America and Caribbean. University of Florida Gainesville 2007. <http://edis.ifas.ufl.edu>
30. Moore I., Lemaster M., Mason R.: Behavioural and hormonal responses to capture stress in the male red-sided garter snake *Thamnophis sirtalis parietalis*. *Anim. Behav.* 2000, **59**, 529-534.
31. Boulenger G.: *The Snakes of Europe*. Methuen, London 1913.
32. Warwick C. Assessing reptile welfare using behavioural criteria. *In Practice* 2013, **35**, 123-131. <http://inpractice.bmj.com>.
33. Jepson L.: *Exotic Animal Medicine*. Saunders-Elsevier, London 2009.
34. Żabiński J.: *Porozumienie ze zwierzętami*. PWN, Warszawa 1957.

Prof. Tadeusz Kaleta,
e-mail: tkaleta@gazeta.pl

Profil cytokinowy w niektórych chorobach jamy nosowej psów

Dominika Łukasz, Rafał Sapierzyński

z Zakładu Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Choroby jamy nosowej psów, charakteryzujące się uporczywymi objawami, trudno poddające się leczeniu lub nawracające nadal stanowią wyzwanie diagnostyczne dla wielu lekarzy weterynarii, pomimo że są coraz częściej spotykane. Nowotwory, limfocyтарно- plazmocyтарne zapalenie nosa (lymphocytic-plasmacytic rhinitis – LPR) oraz aspergiloza jamy nosowej (sinonasal aspergillosis – SNA) znajdują się w czołówce przyczyn przewlekłego wypływu z jamy nosowej, kichania, krwotoków czy zaburzeń pasażu powietrza przez górne drogi oddechowe. Patogeneza tych dwóch ostatnich chorób nie została do końca wyjaśniona. Uważa się, że do limfocyтарно- plazmocyтарnego

zapalenia nosa dochodzi w wyniku przewlekłej odpowiedzi immunologicznej na czynniki wziewne (alergeny, zanieczyszczenia) lub w wyniku nietolerancji organizmu na nieinwazyjne grzyby z gatunku *Aspergillus fumigatus*, które stanowią część fizjologicznej flory jamy nosowej psów (1, 2). Wspomniane grzyby odpowiedzialne są za rozwój grzybicy jamy nosowej, do której dochodzi najczęściej w wyniku wtórnych zmian we wrodzonych i/lub nabytych reakcjach odpornościowych (3). Zatem poszukiwanie przyczyn wystąpienia limfocyтарно- plazmocyтарnego zapalenia nosa i aspergilozy jamy nosowej w zaburzeniach funkcjonowania układu immunologicznego jamy nosowej wydaje

się słuszne, a nawet konieczne. Podejrzewa się, że obecność antygenów w górnych drogach oddechowych, przy wadliwej reakcji odpornościowej, prowadzi do uszkodzenia śluzówki nosa, co stymuluje napływ komórek zapalnych oraz pobudza je do produkcji cytokin. Dysproporcja pomiędzy cytokinami pro- i przeciwzapalnymi może odgrywać istotną rolę w patogenezie zarówno limfocyтарно- plazmocyтарnego zapalenia nosa, jak i aspergilozy jamy nosowej (4).

Jeśli chodzi o nowotwory, to za przyczynę ich występowania odpowiada zarówno wiele czynników środowiskowych, jak i predyspozycje poszczególnych osobników. Guzy jamy nosowej rzadko występują, nie roją dobrze, gdyż w 80% są zmianami złośliwymi. Poszukiwanie zmian w ekspresji genów dla poszczególnych mediatorów chemicznych procesów zapalnego i rozrostowego zapewne przyczyni się do znalezienia skutecznych metod walki z nowotworami, a nawet nie do pęci do ich rozwoju.

W prezentowanym artykule zostaną porównane profile cytokinowe wyżej wymienionych chorób jamy nosowej.

Ogólna charakterystyka cytokin

Cytokiny to glikoproteiny o masie cząsteczkowej od kilku do kilkunastu kDa, które stanowią rodzinę białkowych mediatorów międzykomórkowych. Wydzielane przez wiele typów komórek charakteryzują się **plejotropią** (zdolność danej cytokiny do oddziaływania na różne komórki i wywołania różnych efektów biologicznych) oraz **redundacją** (zdolność różnych cytokin do wywołania tego samego efektu). Poprzez swoje oddziaływanie antagonistyczne lub synergistyczne oraz zdolność do indukowania sprzężeń zwrotnych dodatnich bądź ujemnych odgrywają kluczową rolę w reakcjach odpornościowych, reakcjach zapalnych, w procesach rozwoju osobniczego, regeneracji i utrzymania homeostazy tkanek. Cytokiny, posiadając właściwości hormonopodobne, biorą udział w procesach krwiotworzenia, wpływają na funkcje komórek i warunkują ich wzajemne oddziaływanie. Zidentyfikowano już ponad sto kilkadziesiąt cytokin, choć ta liczba stale rośnie.

Te niezmiernie interesujące mediatory międzykomórkowe można podzielić zarówno ze względu na swoje właściwości (cytokiny pro- i przeciwzapalne, proangiogenne, inhibitorowe, hematopoetyczne), jak i podobieństwa w budowie (hematopoetyny, interferony i rodzina IL-10, chemokiny, nadrodzina czynników martwicy nowotworów – TNF). Cytokiny oddziałują na komórki poprzez odpowiednie receptory powierzchniowe, przy czym oddziaływanie to może mieć charakter autokryny (oddziaływanie na te same komórki, które je wydzielają), parakryny (oddziaływanie na komórki znajdujące się w bliskim sąsiedztwie) i endokryny (oddziaływanie na komórki znajdujące się w innych tkankach, narządach). Cytokiny charakteryzują się wysoką aktywnością w niskich stężeniach. W warunkach fizjologicznych występują miejscowo lub w płynach ustrojowych w niewielkich ilościach. Podczas gdy w organizmie, czy to ludzkim, czy zwierzęcym toczy się jakikolwiek proces patologiczny ilość poszczególnych cytokin może wzrosnąć lub zmaleć. Określenie tych zmian charakterystycznych dla danej jednostki chorobowej pozwala stworzyć tzw. profil cytokinowy. Poznanie takiego profilu stanowi bardzo ważny element nowo zdobytej wiedzy oraz często przybliża do odkrycia przyczyny i patogenezę danej choroby (5, 6, 7).

Mechanizmy odporności jamy nosowej

Wraz z każdym oddechem, przez górne drogi oddechowe do organizmu dostają się zarówno czynniki nieorganiczne (dym, sadza), jak i organiczne (pyłki, bakterie,

grzyby, wirusy), które stanowią potencjalne zagrożenie i mogą doprowadzić do rozwoju choroby. Aby temu zapobiec, w obrębie górnych dróg oddechowych, szczególnie w błonie śluzowej, wykształciły się mechanizmy odpornościowe. Tak jak w innych układach organizmu, tak i w jamie nosowej występuje odporność dwojakiego rodzaju: swoista i nieswoista, przy czym główną rolę odgrywa ta druga (8, 9). Pierwszą przeszkodą, jaką napotyka potencjalnie szkodliwe czynniki wziewne, jest urzęsiony dwurzędowy nabłonek walcowaty oraz pokrywająca go wydzielina. Wydzielina ta składa się z dwóch warstw, z których górna zawiera śluz, stanowiący fizyczną barierę oraz wiążący obce cząstki. W dolnej, surowiczej warstwie znajdują się białka bakteriobójcze, takie jak lizozym, laktoferyna, wydzielniczy inhibitor proteazy leukocytarnej, fosfolipaza A₂, defensyny, katelicydyna LL-37 i inne. Substancje te są produkowane przez gruczoły zlokalizowane w błonie śluzowej nosa, komórki nabłonka oraz komórki nacieku zapalnego – makrofagi i neutrofile. Zlepione obce czynniki dzięki ruchom rzęsek dostają się do gardła, gdzie są połykane lub odkształcane. Kolejnym elementem obrony jest mobilizacja nieswoistej działających komórek układu odpornościowego: makrofagów i neutrofilii. Odpowiedź swoista warunkowana jest przez skupiska tkanki limfatycznej, które w jamie nosowej występują w postaci NALT (nasal associated lymphoid tissue). Jej zadaniem jest generowanie miejscowej odpowiedzi immunologicznej, prowadzącej do powstania przeciwciał, głównie IgA, ale też IgE i IgG (10, 11).

Profil cytokinowy zdrowej jamy nosowej

W prawidłowej błonie śluzowej jamy nosowej stężenie cytokin znajduje się na minimalnym poziomie i dopiero zaburzenie miejscowej homeostazy zmienia ich ekspresję. Pomimo że występują różnice w odpowiedzi immunologicznej pomiędzy młodym a dorosłym organizmem, takich różnic brak jest w przypadku profilu cytokinowego. Udowodnili to badacze z Belgii (12), którzy za pomocą RT-PCR porównali ekspresję wybranych cytokin pomiędzy szczeniętami i dorosłymi psami oraz pomiędzy poszczególnymi odcinkami układu oddechowego. Odnotowano natomiast większe stężenie eotaksyny 2 i 3 w płucach w porównaniu do stężenia w śluzówce jamy nosowej. W całym układzie oddechowym ujawniono wysoką ekspresję IL-18 oraz TGF- β w porównaniu do innych cytokin. Stężenie IL-6, IL-10, IL-12 i TNF- α było 10 razy mniejsze, a najniższe wartości wykazywała IL-4, IL-5 i IFN- γ . Biorąc pod uwagę, że IL-18 oraz TGF- β wydzielane są głównie przez limfocyty pomocnicze

Cytokine profiles in some canine nasal diseases

Łukasz D., Sapieryński R., Division of Animal Pathomorphology, Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This paper aims at the presentation of a novel approach to the pathogenesis of some canine nasal diseases. Sinonasal aspergillosis (SNA), lymphocytic-plasmacytic rhinitis (LPR) and neoplasms are the common causes of nasal discharge in dogs. The pathogenesis of SNA and LPR is poorly understood and the local immune response/dysfunction is thought to be involved. Recent years have witnessed a growing number of investigations into the role of cytokines in the development of SNA and LPR. The purpose of this article was to explore the pathogenesis of these diseases by comparing cytokine secretion in nasal mucus of dogs with LPR and SNA. Studies were performed using RT-PCR to establish presence of m-RNA for different cytokines. It has been found that SNA was associated with significantly increased expression of mRNA for IL-8, IL-10, IL-16 and TNF and moderate expression of IL-12 and IL-6, whereas LPR was characterized mostly by increased IL-5 mRNA expression. Therefore, the profile of cytokines in the nasal secretion is different in dogs with LPR when compared to dogs with SNA. It thus indicates important differences in pathogenesis of both diseases. In addition, expression of COX-2 in dogs with nasal epithelial tumors was significantly increased. This over-expression can suggest the possible role of COX-2 in canine nasal carcinogenesis.

Keywords: dog, lymphocytic-plasmacytic rhinitis, nasal tumors, cytokines, COX-2.

Th1, a IL-4 i IL-5 przez limfocyty pomocnicze Th2, możemy stwierdzić, że prawidłowy układ oddechowy psów jest zdominowany przez cytokiny regulatorowe (TGF- β) i odpowiedź typu komórkowego (odpowiedź typu Th1).

Profil cytokinowy w przypadku aspergilozy jamy nosowej u psów

Grzybica jamy nosowej, występująca najczęściej u dorosłych, średnio- i długoczaszkowych psów, jest spowodowana skolonizowaniem śluzówki nosa przez grzyby, głównie z gatunku *Aspergillus fumigatus* (13, 14). Pomimo że patogenezę choroby pozostaje nieznaną, czynnikiem odpowiedzialnym za jej rozwój wydaje się być dysfunkcja układu odpornościowego błony śluzowej jamy nosowej. Wykazano bowiem, że u psów z aspergilozą jamy nosowej występuje osłabiona reaktywność limfocytów krwi obwodowej, a w badaniach

Tabela 1. Zmiana ekspresji poszczególnych rodzajów cytokin w przypadku wybranych chorób jamy nosowej

Jednostka chorobowa	Znaczny wzrost stężenia w tkance	Umiarkowany wzrost w tkance	Spadek stężenia w tkance
Aspergiloza jamy nosowej u psów	IL-8, IL-10, IL-18, TNF α	IL-12, IL-6	IFN- γ
Limfocytarno-plazmocytno zapalenie nosa	IL-5, IL-12	IL-8, IL-10, IL-18, TNF α , IGF- β , MCP-2, MCP-3	IL-4, IL-6
Nowotwór	IL-3, IL-4, IL-10	IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, TGF- β , TNF α , PDGF, VEGF, TNF	–

in vitro wykazano, że *A. fumigatus* może hamować różnicowanie się tych komórek (14, 15). Biorąc pod uwagę obraz histopatologiczny oraz postęp choroby jest ona bardzo podobna do przewlekłego, grzybiczego zapalenia zatok u ludzi. W obu przypadkach obserwuje się owrzodziłą błonę śluzową z intensywnym naciekiem zapalnym, złożonym głównie z komórek plazmatycznych i limfocytów, przy czym plecha grzybicza nie naciera bezpośrednio tkanek tylko pokrywa powierzchnię błony śluzowej lub jest związana z ogniskami martwicy (16). Długotrwałe leczenie, postępujące zmiany lityczne kości nosowych i podniebiennych widoczne na obrazie rentgenowskim lub w tomografii komputerowej oraz ograniczenie całego procesu do jamy nosowej to kolejne cechy wspólne aspergilozy jamy nosowej u psów i grzybiczego zapalenia zatok u ludzi (14, 17). Dokładna analiza nacieku zapalnego sugeruje dominację odpowiedzi immunologicznej typu Th1 z aktywacją limfocytów CD4⁺, produkujących IFN- γ oraz makrofagów, produkujących prozapalne cytokiny, takie jak: IL-6, IL-12, IL-18 i TNF α (18). Może to sugerować, że w przypadku aspergilozy jamy nosowej u psów odporność organizmu jest na tyle silna, aby ograniczyć dalsze rozprzestrzenienie się grzyby, lecz zbyt słaba, aby uwolnić jamę nosową od przewlekłego zakażenia (16). Profil cytokinowy chorujących psów charakteryzuje się znacznym wzrostem ekspresji mRNA dla IL-8, IL-10, IL-18 i TNF α oraz umiarkowanym wzrostem mRNA dla IL-12, IL-6 (19, 20).

IL-8, produkowana przez makrofagi oraz komórki nabłonkowe, zaliczana jest do chemokin. Jest to rodzina podobnych do siebie pod względem budowy cytokin, działających głównie chemotaktycznie, ale też aktywujących na różne populacje leukocytów. Chemokiny odgrywają ważną rolę w reakcjach zapalnych, w odporności przeciwwakcyjnej, krwiotworzeniu, limfopoezie, a także w odpowiedzi przeciwnowotworowej i mechanizmach odrzucania przeszczepów. Można je podzielić na chemokiny prozapalne, wyspecjalizowane w przyciąganiu do miejsc objętych procesem zapalnym komórek efektorowych odpowiedzi immunologicznej, oraz chemokiny limfoidalne, wytwarzane stale i odpowiedzialne za krążenie różnych populacji limfocytów, precyzyjną migrację komórek dendrytycznych oraz dojrzewanie

tymocytów w odpowiednich regionach grucy (6). IL-8, poprzez stymulację migracji neutrofilów oraz pobudzenie ich do fagocytozy konidii *Aspergillus fumigatus*, odgrywa ważną rolę w ochronie przed rozwojem grzybicy jamy nosowej (20).

IL-10, która strukturalnie przypomina interferony, wytwarzana jest głównie przez pobudzone limfocyty T, szczególnie Th2, a także limfocyty B, monocyty, makrofagi i keratynocyty. Jej funkcja polega na hamowaniu odpowiedzi immunologicznej typu komórkowego, poprzez: hamowanie wytwarzania cytokin przez limfocyty Th1 (zwłaszcza IFN- γ i IL-2), makrofagi i monocyty (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF oraz reaktywnych rodników tlenowych i tlenu azotu), hamowanie powstawania limfocytów Th1 pobudzonych przez antygen, hamowanie ekspresji cząsteczek MHC klasy II na monocytach i zmniejszenie zdolności tych komórek do prezentacji antygenów oraz stymulację wytwarzania antagonisty receptora dla IL-1 (6). Wzrost stężenia IL-10 u psów z aspergilozą jamy nosowej prawdopodobnie odpowiedzialny jest za nieskuteczną odpowiedź w zwalczeniu zakażenia w jamie nosowej, pomimo silnie rozwiniętej odpowiedzi Th1 w błonie śluzowej tej okolicy (19). U ludzi poziom tej interleukiny jest swoistym wyznacznikiem prognozy w leczeniu aspergilozy płuc: niski poziom IL-10 wiąże się z korzystnym rokowaniem w rozwoju i leczeniu choroby, a wysoki wskazuje na rokowanie niekorzystne (22). Jednakże wysoki poziom IL-10 u psów z aspergilozą jamy nosowej może być też korzystny, bowiem odpowiada za ograniczenie procesu zapalnego jedynie do jamy nosowej (18).

IL-18, ze względu na podobieństwa strukturalne, zaliczana jest do rodziny IL-1, pomimo że funkcjonalnie bliższa jest IL-12. Produkowana jest głównie przez makrofagi, ale też keratynocyty, większość komórek nabłonkowych i osteoblasty. Magazynowana jest w nieaktywnej formie w cytoplazmie komórek, a wydzielana pod wpływem działania kaspazy 1. IL-18 oddziałuje przede wszystkim na różne populacje limfocytów T i komórek NK: indukuje wytwarzanie INF- γ i IL-2, wzmacnia cytotoksyczność limfocytów T CD8⁺, komórek NK i limfocytów CD4⁺. Poprzez swoje działania na limfocyty CD4⁺, komórki NK, bazoofile i komórki tuczne stymuluje wydzielanie IL-4 i IL-13, co wskazuje na jej udział w odpowiedzi zarówno typu Th1, jak i Th2 (6, 7).

W badaniach doświadczalnych, prowadzonych na myszach, które zakażano grzybami z gatunku *Aspergillus fumigatus*, wykazano, że wzrost IL-18 pełni bardzo ważną rolę w ograniczeniu rozprzestrzeniania się choroby, głównie poprzez stymulację produkcji IFN- γ (21). Dodatkowo IL-18, razem z IL-12 i TNF- α , produkowane w płucach myszy, zapobiegały rozwinięciu się aspergilozy dolnych dróg oddechowych (18, 21). U ludzi wzrost stężenia tej interleukiny obserwowany jest w chorobach autoimmunologicznych i zapalnych, takich jak: reumatoidalne zapalenie stawów, stwardnienie rozsiane, przewlekłe zapalenie wątroby czy nieswoiste choroby jelit (21).

Profil cytokinowy w limfocytarno-plazmocytnym zapaleniu jamy nosowej u psów

Rozpoznanie limfocytarno-plazmocytnego zapalenia jamy nosowej opiera się na badaniu histopatologicznym, w którym obserwujemy nacieki zapalne w błonie śluzowej o różnym stopniu zaawansowania (łagodny, umiarkowany lub intensywny), z wyraźną dominacją limfocytów i komórek plazmatycznych, choć w nacieku obserwowane mogą być też neutrofile i eozynofile (1, 2). Biorąc pod uwagę taki obraz, choroby można porównać do przewlekłego zapalenia nosa i zatok u ludzi, bez występowania polipów (non-poly-poid chronic rhinosinusitis – CRS; 23). Jeżeli jako kryterium porównawcze chcemy użyć profilu cytokinowego, sprawa nieco się komplikuje. Badania przeprowadzone przez zespoły z Belgii i Wielkiej Brytanii, które za pomocą techniki mikromacierzy RNA oraz qRT-PCR określiły profil cytokinowy u psów z limfocytarno-plazmocytnym zapaleniem jamy nosowej, wskazują, że w przypadku tej choroby dochodzi do częściowej odpowiedzi Th2. Porównując profil cytokinowy błony śluzowej psów z LPR z profilem cytokinowym psów zdrowych, obserwowano wzrost ekspresji mRNA kodującego IL-5, IL-8, IL-10, IL-12p19, IL-12p40, IL-18, TNF- α , TGF- β , MCP-2 i MCP-3, z czego interleukina 5 zasługuje na największą uwagę (20). U ludzi wzrost tej cytokiny związany jest z polipowatym przewlekłym zapaleniem nosa i zatok (poly-poid CRS), choć w tej chorobie obserwuje się również wzrost IL-13, a nacieki zapalne złożone są głównie z eozynofili i neutrofilów (23, 24). Wspomniana

IL-5 wytwarzana jest głównie przez limfocyty Th2 i występuje głównie w postaci dimerów. Jej główną rolą jest udział w indukowaniu wzrostu i różnicowaniu eozynofiliów, a także, choć w mniejszym stopniu, udział w powstawaniu limfocytów B, limfocytów Tc i bazofilów (6). Brak lub mierny naciek eozynofiliów w błonie śluzowej nosa psów z limfocytarno-plazmocytnym zapaleniem jamy nosowej w porównaniu do ludzi z polypoid CRS można wytłumaczyć faktem, że za ich napływ odpowiadają głównie eotaksyny 2 i 3, których stężenie nie ulega wzrostowi u chorych psów. Sama IL-5 nie jest w stanie zainicjować eozynofilowego nacieku zapalnego (25), jednak biorąc pod uwagę wzrost jej stężenia możemy zakładać, że limfocytarno-plazmocytnarne zapalenie jamy nosowej powstaje w wyniku nadwrażliwości typu I. Odpowiedź ta jest prawdopodobnie skierowana przeciwko antygenom grzybów, których ilość DNA u psów z limfocytarno-plazmocytnym zapaleniem jamy nosowej jest znacznie wyższa w stosunku do psów zdrowych oraz osobników z nowotworem o tej lokalizacji (26).

Stężenie IL-12 wzrasta zarówno wśród psów z aspergilozą jamy nosowej, jak i limfocytarno-plazmocytnym zapaleniem jamy nosowej. Interleukina ta wytwarzana jest głównie przez komórki prezentujące antygeny (komórki dendrytyczne, makrofagi, lecz nie limfocyty B) oraz keratynocyty, granulocyty i komórki tłuszczne. Jej główne właściwości to: stymulacja proliferacji, aktywacji i cytotoksyczności limfocytów T i komórek NK, indukcja powstawania limfocytów Th1, pobudzenie wydzielania przeciwciał IgG, a hamowanie IgE. Wiele z efektów biologicznych wywołanych przez IL-12 jest pośrednim efektem pobudzenia wydzielania innych cytokin, głównie IFN- γ i TNF. Jedną z najciekawszych właściwości IL-12 jest hamowanie progresji procesów nowotworowych, poprzez hamowanie angiogenezy, stymulację cytotoksyczności komórek NK i limfocytów T oraz komórek żernych. Podczas gdy wzrost stężenia IL-12 w błonie śluzowej jamy nosowej psów z aspergilozą jamy nosowej jest związany z zapewnieniem solidnej i efektywnej odpowiedzi immunologicznej przeciwko *Aspergillus fumigatus*, zwiększenie jej ilości w limfocytarno-plazmocytnym zapaleniu jamy nosowej pozostaje niejasne (20, 27).

Profil cytokinowy w nowotworach jamy nosowej psów

Nowotwory jamy nosowej psów występują stosunkowo rzadko, głównie u osobników w średnim wieku i starszych (28). Ponad 80% guzów tej okolicy ma charakter złośliwy i jest pochodzenia nabłonkowego

(29). Pomimo rzadko występujących przerzutów i ograniczenia procesu nowotworowego do jamy nosowej, rokowanie u chorych psów jest złe. Średnia przeżycia od momentu rozpoznania waha się około 6 miesięcy, a metody leczenia są dosyć ograniczone (30).

Patogeneza powstawania nowotworów jamy nosowej jest niejasna, a wiele czynników, które mogą indukować kancerogenezę dodatkowo utrudnia jej poznanie. Cytokiny uczestniczą w każdym etapie nowotworzenia i odgrywają kluczową rolę we wzajemnych oddziaływaniach składowych mikrośrodowiska guzów (fibroblasty, komórki śródbłonna, komórki odczynowe i elementy macierzy pozakomórkowej). Wpływają bowiem na wzrost i przeżycie komórek nowotworowych, regulują napływ komórek zapalnych do miąższu guza, stymulują powstawanie naczyń krwionośnych, biorą udział w kształtowaniu macierzy pozakomórkowej oraz regulują odpowiedź immunologiczną (7). Źródłem cytokin w miejscach rozrostu nowotworowego jest zrąb, który wykazuje cechy pobudzenia obserwowane w procesach naprawy uszkodzonych tkanek (31). Spośród komórek wchodzących w skład zrębu nowotworowego za produkcję cytokin odpowiadają: fibroblasty (produkują IL-1, IL-6, IL-8, TGF β , PDGF, IGF, VEGF, TNF), makrofagi (produkują: IL-1, IL-6, TNF α , TGF β i IL-10) oraz limfocyty (produkują: IL-6 i IL-10).

Pomimo że niektóre cytokiny wykazują właściwości antyproliferacyjne, w miarę progresji nowotworu zaczynają one stymulować jego wzrost. Przykładowo, TGF β , najlepiej poznany inhibitor wzrostu normalnych komórek nabłonka i komórek krwiotwórczych, w miarę zaawansowania procesu nowotworowego przestaje hamować wzrost komórek nowotworowych oraz nie indukuje apoptozy komórek nieprawidłowych. Dzieje się tak poprzez obniżenie ekspresji lub dysfunkcję receptorów TGF β typu II, a także na skutek mutacji w genach kodujących białka, biorące udział w przekazywaniu sygnałów TGF β (31, 32). W rezultacie TGF β zmienia swoją funkcję i z czynnika antyproliferacyjnego staje się czynnikiem pobudzającym progresję nowotworu (32, 33). Innym przykładem jest IL-10, która hamuje wzrost normalnych melanocytów i komórek linii czerniaka we wczesnym stadium nowotworzenia, a pobudza proliferację w stadiach zaawansowanych lub w komórkach przerzutów (34). Kolejną cechą cytokin jest ich zdolność do indukowania procesów apoptozy, czyli indukowanej śmierci komórek, która niezbędna jest do zachowania homeostazy organizmu. Zdolność ta w niektórych przypadkach zostaje zmieniona na korzyść rozwijającego się nowotworu. Tak np. TNF, aktywator apoptozy, w szpiczaku

mnogim działa antyapoptotycznie (35). Podobnie działa EGF (czynnik naskórkowy wzrostu) i IGF 1 i 2 (insulinopodobny czynnik wzrostu 1 i 2; 36). W chłoniakach ziarnicznych apoptozę hamuje IL-3, w białaczce typu B IL-4, a w szpiczaku mnogim IL-6 (37).

Wiadomo, że angiogeneza jest bardzo ważnym elementem rozwoju nowotworów, a za inicjację tego procesu odpowiadają cytokiny proangiogenne: VEGF, bFGF i IL-8 (38). Dodatkowo inne cytokiny, takie jak: IGF, IL-1, IL-6, IL-8, PDGF, TGF wydzielane przez zrąb guza, stymulują produkcję tych wyżej wymienionych (38). U pacjentów, w których organizmie toczy się proces nowotworowy, często dochodzi do postępującego upośledzenia funkcji układu odpornościowego, którego komórki, izolowane z mikrośrodowiska guzów, cechują się obniżoną cytotoksycznością, pogorszeniem funkcji cytotoxicznych, obniżoną zdolnością do proliferacji i migracji. Pogłębiająca się wówczas polaryzacja odpowiedzi w kierunku Th2 charakteryzuje się wzrostem IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 i IL-13 (39). Wiele cytokin przejawia aktywność przeciwnowotworową, np. TNF α , interferony, TGF β , IL-6, IL-4 i IL-12, ale działanie to zależy od ich stężenia w mikrośrodowisku guza oraz od stopnia zróżnicowania komórek docelowych (40). Dotychczas brak danych opisujących profil cytokinowy jamy nosowej psów z nowotworem.

Aktywność cykloksygenazy w nowotworach jamy nosowej

Bardzo ważnym enzymem z punktu widzenia powstawania nowotworów jamy nosowej, i nie tylko, jest synteza cyklicznego nadtlenku prostaglandynowego, nazywana także cykloksygenazą (COX). COX jest to podstawowy enzym, biorący udział w syntezie prostanoidów (prostaglandyny, prostacykliny i tromboksany) z nienasyconych kwasów tłuszczowych. Występuje w postaci trzech podstawowych izoenzymów: COX-1 (postać konstytutywna), COX-2 (postać indukowalna) i COX-3. Jeśli chodzi o ekspresję genów kodujących COX-1, jest ona stała w niemalże każdej tkance organizmu i odpowiada za utrzymanie prawidłowej funkcji narządów wewnętrznych (41). COX-3 natomiast jest najslabiej zbadaną formą i obecnie wiadomo, że występuje w ośrodkowym układzie nerwowym (42). Jeśli chodzi o proces nowotworowy, to na największą uwagę zasługuje COX-2, której stała ekspresja występuje jedynie w łożysku i tkankach płodu, natomiast indukowalna charakterystyczna jest dla zmian patologicznych. Wzrost ekspresji COX-2 został opisany w wielu nowotworach pierwotnych pochodzenia nabłonkowego u psów oraz raku pęcherza moczowego u krów

(43). Jeśli chodzi o jamę nosową, badania z 2004 r. wykazały nadekspresję tego enzymu nie tylko w komórkach nowotworowych pochodzenia nabłonkowego, ale również w komórkach podścieliska guzów. Co więcej, zwiększona ekspresja cyklooksygenazy-2 występowała również w komórkach nabłonka oddechowego w stadiach poprzedzających zmiany nowotworowe, takich jak dysplazja (44). Rola COX-2 w procesie nowotworzenia pozostaje jednak niejasna i wymaga dalszych badań.

W poszczególnych chorobach organizmu biorą udział określone cytokiny. Zmiana ich stężenia w tkankach objętych czy to procesem zapalnym, czy nowotworowym pozwala stworzyć tzw. profile cytokinowe. Znajomość takich profili jest ważna podczas poznawania patogenez oraz diagnostyki danych jednostek chorobowych. Dalsze badania na ten temat być może pozwolą na stworzenie nowych, nieinwazyjnych metod diagnostycznych chorób jamy nosowej psów oraz pomogą stworzyć innowacyjne, ulepszone metody leczenia.

Piśmiennictwo

- Mackin A.: Lymphoplasmacytic rhinitis. W: King L.G. (edit.): Textbook of Respiratory Diseases in Dogs and Cats. Saunders, St Louis 2004, s. 305-310.
- Windsor R. C., Johnson L. R., Herrgesell E. J., De Cock H. E.: Idiopathic lymphoplasmacytic rhinitis in dogs: 37 cases (1997-2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2004, **224**, 1952-1957.
- Glazer M., Nusair S., Breuer R., Lafair J., Sherman Y., Berkman N.: The role of BAL in the diagnosis of pulmonary mucormycosis. *Chest*, 2000, **117**, 279-282.
- Kołodziejka-Sawerska A., Rychlik A., Depta A., Wdowiak M., Nowicki M., Kander M.: Cytokines in canine inflammatory bowel disease. *Pol. J. Vet. Sci.* 2013, **16**, 165-171.
- Chechlińska M.: Rola cytokin w procesach nowotworzenia. *J. Oncol.* 2003, **6**, 648-659.
- Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W., Stokłosa T.: *Immunologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 2009, 5 wyd., s. 108-129.
- Polińska B., Matowicka-Karna J., Kemon H.: Cytokiny w nieswoistych zapalnych chorobach jelit. *Postępy Hig. Med. Dosw.* 2009, **63**, 389-394.
- Beutler B.: Innate immunity: an overview. *Mol. Immunol.* 2004, **40**, 845-859.
- Roitt I. M., Brostoff J., Malec D.: *Immunology*. 7th ed., Mosby International Ltd., London 1998, s. 252-254.
- Papadaki H. A., Velegriaki M.: The immunology of respiratory system. *Pneumon.* 2007, **4** (20), 384-394.
- Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W., Stokłosa T.: *Immunologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 2009, 5 wyd., s. 273-275.
- Peeters D., Peters I. R., Farnir F., Clercx C., Day M. J.: Real-time PCR quantification of mRNA encoding cytokines and chemokines in histologically normal canine nasal, bronchial and pulmonary tissue. *Vet. Immunol. And Immunopathol.* 2005, **104**, 195-204.
- Matthews K.: Fungal rhinitis. W: King L.G. (edit.): Textbook of Respiratory Diseases in Dogs and Cats. Saunders, St Louis 2004, s. 284-293.
- Sharp N. J., Harvey C. E., Sullivan M.: Canine nasal aspergillosis and penicilliosis. *Comp. Cont. Educ.* 1991, **13**, 41.
- Charapas S. D., Morgan P. A., Holobaugh P., Kim S. J.: Inhibition of cellular immunity by products of *Aspergillus fumigatus*. *J. Med. And Vet. Mycol.* 1986, **24**, 67-76.
- Peeters D., Day M. J., Clercx C.: An immunohistochemical study of canine nasal aspergillosis. *J. Comp. Path.* 2005, **132**, 283-288.
- Saunders J. H., Zonderland J. L., Clercx C., Gielen I., Snaps F. R., Sullivan M., vanBree H., Donderlinger R. F.: Computed tomographic findings in 35 dogs with nasal aspergillosis. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 2002, **43**, 5-9.
- Romani L.: Immunity to fungal infections. *Nat. Rev. Immunol.* 2004, **4**, 1-23.
- Peeters D., Peters I. R., Clercx C., Day M. J.: Quantification of mRNA encoding cytokines and chemokines in nasal biopsies from dogs with sino-nasal aspergillosis. *Vet. Microb.* 2006, **114**, 318-326.
- Peeters D., Peters I. R., Clercx C., Day M. J., Helps C. R., Gabriel A.: Distinct tissue cytokine and chemokine mRNA expression in canine sino-nasal aspergillosis and idiopathic lymphoplasmacytic rhinitis. *Vet. Immunol. And Immunopathol.* 2007, **117**, 95-105.
- Muchamuel T., Debets R., Kastelein R., Churakova T., Abrams J., Hare R., O'Garra A.: Cytokine networking in lungs of immunocompetent mice in response to inhaled *Aspergillus fumigatus*. *Infect. Immun.* 2001, **69**, 1554-1560.
- Roilides E., Sein T., Roden M., Schaufele R. L., Walsh T. J.: Elevated serum concentrations of interleukin-10 in non-neutropenic patients with invasive aspergillosis. *J. Infect. Dis.* 2001, **183**, 518-520.
- Rudack C., Sachse F., Alberty J.: Chronic rhinosinusitis – need for further classification? *Inflamm. Res.* 2004, **53**, 111-117.
- Hamilos D. L., Lund V. J.: Etiology of chronic rhinosinusitis: the role of fungus. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 2004, **193**, 27-31.
- Yang M., Hogan S. P., Mahalingam S., Pope S. M., Zimmermann N., Fulkerson P., Dent L. A., Young I. G., Matthaei K. I., Rothenberg M. E., Foster P. S.: Eotaxin-2 and IL-5 cooperate in the lung to regulate IL-13 production and airway eosinophilia and hyperreactivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003, **112**, 935-943.
- Windsor R. C., Johnson L. R., Sykes J. E., Drazenovich T. L., Leutenegger C. M., De Cock H. E.: Molecular detection of microbes in nasal tissue of dogs with idiopathic lymphoplasmacytic rhinitis. *J. Vet. Intern. Med.* 2006, **20**, 250-256.
- Hunter C. A.: New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent function. *Nat. Rev. Immunol.* 2005, **5**, 521-531.
- Beck E. R., Withrow S. J.: Tumors of the canine nasal cavity. *Vet. Clin. Of North Am.: Small Animal Practice.* 1985, **15**, 455-459.
- Legendre A. M.: Canine nasal and paranasal sinus tumors. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1983, **19**, 115-123.
- Rassnick K. M., Goldkamp C. E., Erb H. N., Scriveri P. V., Njaa B. L.: Evaluation of factors associated with survival in dogs with untreated nasal carcinomas: 139 cases (1993-2003). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2006, **229**, 401-406.
- Tuxhorn J. A., Ayala G. E., Rowley D. R.: Reactive stroma in prostate cancer progression. *J. Urol.* 2001, **166**, 2472-2483.
- Akhurst R. J., Derynck R.: TGF-beta signaling in cancer – a double-edged sword. *Trends. Cell. Biol.* 2001, **11**, 44-51.
- Frynan T. M., Reiss M.: Resistance to inhibition of cell growth by transforming growth factor-beta and its role in oncogenesis. *Crit. Rev. Oncog.* 1993, **4**, 493-540.
- Lu C., Rak J. W., Kerbel R. S.: Interleukin 6 in progression of human solid tumors: transitional changes in the regulation of cell growth, apoptosis and angiogenesis. *Cancer J.* 1997, **10**, 256-261.
- Jourdan M., Tarte K., Legouffe E.: Tumor necrosis factor in a survival and proliferation factor for human myeloma cells. *Eur. Cytokine Netw.* 1999, **10**, 65-70.
- Furstenberger G., Senn J. H.: Insuline-like growth factor and cancer. *Lancet. Oncol.* 2002, **3**, 298-302.
- Hanahan D., Weinberg R.A.: The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000, **100**, 57-70.
- Szala S., Radzikowski C.: Podłoże molekularne angiogenezy nowotworów. *Nowotwory* 1997, **47**, 1-19.
- Shurim M. N., Lu L., Kaliński P.: Th1/Th2 balance in cancer, transplantation and pregnancy. *Springer Semin. Immunopathol.* 1999, **21**, 339-359.
- Old L. J.: Tumor necrosis factor (TNF). *Science.* 1985, **230**, 630-632.
- Burdan F., Chalas A., Szumiło J.: Cyklooksygenaza i prostanojdy – znaczenie biologiczne. *Postępy Hig. Med. Dosw.* 2006, **60**, 129-141.
- Botting R., Ayoub S. S.: COX-3 and the mechanism of action of paracetamol/acetaminophen. *Prostaglandin Leukot. Essent. Fatty. Acids.* 2005, **72**, 85-87.
- Borzacchiello G., Ambrosio V., Perillo A., Galati P., Roberto F.: Cyclooxygenase-1 and -2 expression in urothelial carcinomas of cows. *Vet. Pathol.* 2003, **40**, 455-459.
- Borzacchiello G., Paciello O., Papparella S.: Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in canine nasal carcinomas. *J. Comp. Path.* 2004, **131**, 70-76.

Lek. wet. Dominika Łukasz,
e-mail: dominikalukasz9@tlen.pl

Czy węglowodany są niezbędne w żywieniu psów i kotów?

Adam Mirowski

z Katedry Nauk Morfologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Dużo psów i kotów pobiera znaczne ilości węglowodanów. Zawartość węglowodanów strawnych w karmach komercyjnych dochodzi nawet do 35–55% suchej masy. Generalnie jest ich więcej w karmach dla psów niż dla kotów. Należą do

głównych składników tego rodzaju karm. Czy są jednak niezbędne w diecie tych zwierząt?

Pierwszym pokarmem psów i kotów jest wydzielina gruczołu sutkowego matki. Jednym z najważniejszych jej

składników jest laktoza. Stężenie tego dwucukru w mleku suk i kotek może przekraczać 4% (1, 2, 3, 4, 5, 6). Węglowodany mają więc znaczenie w żywieniu najmłodszych osobników. Stwierdzono, że rozpoczęcie stosowania diety bez węglowodanów przed siedemnastym tygodniem życia niekorzystnie wpływa na przeżywalność szczeniąt (7). W innych badaniach nie wykazano, aby ich brak pogarszał rozwój szczeniąt w wieku od dwóch do dziesięciu miesięcy (8, 9).

Zwraca się uwagę, że węglowodany strawne są potrzebne w okresie ciąży i laktacji suk. Wskazuje na to praca, w której brak węglowodanów doprowadził u części