

Wybrane wskaźniki odporności nieswoistej u psów atopowych i nie wykazujących objawów atopii

PIOTR WILKOŁEK, MARCIN SZCZEPANIK, KATARZYNA SZYMANEK,
MIROSLAWA MAJ-MARTYNIUK

Zakład Diagnostyki Klinicznej Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR,
ul. Głębocka 30, 20-612 Lublin

Wilkołek P., Szczepanik M., Szymanek K., Maj-Martyniuk M.

Selected parameters of nonspecific immunity in atopic and non atopic dogs

Summary

The aim of this study was to evaluate the disturbances of nonspecific immunity in atopic dogs and compare the parameters of immunity to healthy dogs and dogs suffering from other skin diseases. The study was done on 26 atopic dogs: 6 with seasonal symptoms, 9 with non seasonal signs (signs noticed throughout the year), and 11 dogs not classified on account of the short duration of the disease (ill less than 1 year). The study was also performed on 52 dogs with other skin diseases. The results demonstrate that there were nonspecific immunity disturbances concerning dogs with non seasonal signs and dogs with illnesses lasting less than 1 year. These disturbances concern both phagocytosis and intracellular extermination of microorganisms. In dogs with seasonal symptoms disturbances affected only phagocytosis. There were no disturbances in parameters of nonspecific immunity in dogs suffering from other skin diseases.

Keywords: atopy, phagocytosis, dogs

Atopia jest stanem chorobowym definiowanym jako dziedziczna skłonność do wytwarzania swoistych przeciwciał IgE przeciwko alergenom środowiskowym (3). Kliniczne rozpoznanie atopii stawiane jest na podstawie spełnienia przynajmniej 3 z kryteriów głównych i 3 z kryteriów pobocznych wg Willemse (14). Kryteria główne to: świąd, umiejscowienie zmian (w okolicy pyska, łap, fałdów skokowych, na powierzchni grzbietowej nadgarstków), przewlekłe i nawracające zapalenia skóry, predyspozycja rasowa i rodzinna. Natomiast do kryteriów pobocznych zalicza się: wystąpienie pierwszych objawów choroby pomiędzy 1. a 3. rokiem, rumień twarzowej części pyska, obustronne zapalenie spojówek, powierzchowne ropne zapalenie skóry, nadpotliwość, dodatnie wyniki w testach śródskórnych, wzrost poziomu specyficznych IgE oraz wzrost poziomu specyficznych IgG. Kryteria te zostały uzupełnione przez Pascala Prelauda, który zaliczył do nich również: świąd ustępujący po podaniu glikokortykosterydów, rumień okolicy przestrzeni międzypalcowych, zapalenie skóry okolicy warg, rumień skóry małżowin usznych, wiek pojawienia się pierwszych objawów pomiędzy 6. miesiącem a 1. rokiem życia (11). Ponieważ przewlekłe i nawracające zapalenie skóry oraz wtórne powierzchowne ropne jej zapalenie są stanami typowymi dla atopików, można przypuszczać, że, między innymi, mogą być one spowodowane

upośledzeniem odporności nieswoistej np. funkcji układu fagocytarnego.

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że zarówno u psów, jak i ludzi z atopowym zapaleniem skóry często dochodzi do dermatoz ropnych wywołanych głównie przez bakterie z rodzaju *Staphylococcus* oraz drożdżaki z rodzaju *Malassezia*. Stany te mogą być związane zarówno z samouszkodzeniami, jak i być wynikiem zaburzeń w układzie immunologicznym. Zmieniona zapalnie skóra u psów atopowych jest bardziej wrażliwa na antygeny *Staphylococcus* (8). Dowiedziono, że u psów atopowych występuje zwiększone przyleganie gronkowców do korneocytów naskórka, a co za tym idzie – zwiększona jest ilość mikroorganizmów na skórze (2, 7). Niektórzy autorzy (4) uważają te czynniki za główną przyczynę trudności w leczeniu pacjentów, u których stwierdzono atopowe zapalenie skóry. U psów atopowych dochodzi również do dysfunkcji odporności typu komórkowego, co może predysponować zwierzęta te do infekcji skórnych (8). Wiadomo jest, że jednym z podstawowych mechanizmów odporności nieswoistej jest fagocytoza oraz zabijanie wewnątrzkomórkowe, które może przebiegać zarówno na drodze enzymatycznej, jak i poprzez toksyczne oddziaływanie wolnych rodników (13), zaś defekty dotyczące komórek żernych (leuko-

cytów wielojądrzastych i makrofagów) prowadzą do zwiększonej wrażliwości na infekcje (15).

Celem badań było wykazanie u psów z klinicznymi objawami atopii zaburzeń odporności nieswoistej w porównaniu z psami zdrowymi oraz psami chorującymi na inne choroby układu powłokowego.

Material i metody

Badania przeprowadzono u 26 psów atopowych – grupa I (11 samic, 15 samców), w tym 6 z objawami występującymi sezonowo (podgrupa I a), 9 z objawami występującymi przez cały rok (podgrupa I b) oraz 11 psów nie dających się przydzielić do żadnej z tych grup, ze względu na zbyt krótki okres trwania objawów chorobowych – chorujących krócej niż 1 rok (podgrupa I c). Wiek psów atopowych wahał się od 1 do 9 lat. W grupie I było 7 mieszańców, 6 owczarków niemieckich, 3 jamniki, 2 dogi de Bordeaux, 3 boksery, 2 owczarki collie, 1 doberman, 1 buldog, 1 terier walijski. Rozpoznanie atopii stawiane było na podstawie spełnienia przez pacjenta, co najmniej 3 kryteriów głównych i 3 kryteriów pobocznych według Willemse. U wszystkich psów z atopowym zapaleniem skóry (AZS) wykonano testy śródskórne z 16 alergenami (Allergopharma, alergen pchli Artuvetrin®/Test Flea) w celu potwierdzenia występowania swoistego uczulenia.

Grupa II składała się z 52 psów, z innymi niż AZS chorobami skóry (26 – ropne zapalenia skóry, 19 – alergiczne pchle zapalenie skóry, 4 – dermatozy pasożytnicze, 1 – grzybica, 1 – kontaktowe zapalenie skóry, 1 – idiopatyczny zespół keratofototokowy). Wśród tej grupy psów było 32 samce i 20 samic, wiek psów wahał się od 2 miesięcy do 11 lat. Psy te należały do następujących ras: mieszańce (17), owczarki niemieckie (10), rottweilery (4), bullteriery (3), boksery (3), dalmatyńczyki (2), bernardyn (1), foksterier (1), owczarek berneński (1), chow chow (1), pudel (1), mastiff (1), whippet (1), jamnik (1), spaniel (1), dog (1), sznaucer (1).

Grupę III stanowiły psy zdrowe (7), u których dotychczas nie stwierdzono zmian chorobowych ze strony układu powłokowego oraz nie wykazały dodatnich reakcji w testach śródskórnych. Do tej grupy należały mieszańce, 2 samice i 5 samców w wieku od 3 do 9 lat.

Od wszystkich psów jednorazowo pobrano krew z żyły dostopowej na antykoagulat (heparyna 10 j.m./ml) oraz na skrzep (w celu uzyskania po odwirowaniu surowicy). Oznaczono następujące wskaźniki odporności nieswoistej: test redukcji błękitu nitrotetrazoliowego (NBT) oraz stymulowany test redukcji błękitu nitrotetrazoliowego (NBTs) me-

todą Park i wsp. (9). Metoda ta umożliwia zbadanie zdolności do tworzenia rodników tlenowych i nadtlenu wodoru w fagocytach, które to czynniki decydują o zdolności do zabicia pochłoniętych mikroorganizmów oraz pozwalają na ocenę aktualnego stanu czynnościowego granulocytów obojętnochłonnych (10). Indeks fagocytarny (IF) oraz procent komórek fagocytarnych (%KF) oceniano metodą Ładosz i wsp. (6). Ocena aktywności żernej komórek fagocytujących w stosunku do bakterii umożliwia wykrycie defektu fagocytozy, który może być odpowiedzialny za nawracające zakażenia bakteryjne (10). Obecnie brak jest ogólnie przyjętych norm dotyczących wymienionych parametrów odporności nieswoistej u psów. Parametry te były oznaczane przez różnych autorów w przebiegu infekcji bakteryjnych skóry (1, 12) oraz ropomacicza (5), nigdy zaś u psów z atopowym zapaleniem skóry.

Analizę statystyczną wykonano przy użyciu programu Statistica for Windows (StatSoft, Inc. 1995). Istotność różnic pomiędzy wynikami w poszczególnych grupach obliczono przy pomocy testu U Manana Whitneya, przy $p = 0,05$.

Wyniki i omówienie

Wyniki przedstawiono w tab. 1. Najniższą wartość średnią NBT stwierdzono u psów atopowych należących do podgrupy I c, najwyższą zaś u psów z grupy III. Najniższa średnia wartość NBTs była u psów z podgrupy I b, najwyższa natomiast w grupie III. IF najniższą średnią wartość przyjął w podgrupie I a, najwyższą natomiast w grupie III. Najniższy średni procent komórek fagocytujących stwierdzono w grupie III, najwyższy w podgrupie I a.

Statystycznie istotne różnice pomiędzy grupą III (psy zdrowe) a podgrupą psów I b (z objawami występującymi przez cały rok) dotyczyły: NBT, NBTs oraz IF. W zakresie tych parametrów wartości były niższe u psów chorych. Podobnie różnice statystycznie istotne, dotyczące NBT, NBTs i IF stwierdzono pomiędzy podgrupą I c (psy z atopowym zapaleniem skóry, chorujące krócej niż 1 rok) a grupą III. Porównanie podgrupy I a (psy z objawami występującymi sezonowo) z grupą III wykazało istotną różnicę, dotyczącą IF. Stwierdzono również istotną różnicę dotyczącą NBT pomiędzy podgrupą I c (psy chorujące krócej niż 1 rok) a grupą II (psy z innymi niż AZS chorobami skóry). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic, dotyczą-

Tab. 1. Poziom wybranych wskaźników odporności nieswoistej badanych zwierząt ($\bar{x} \pm s$)

Grupa	NBT %	NBTs %	IF	KF %
Psy z atopią sezonową (I a) n = 6	35,67 (\pm 5,54)	59,17 (\pm 11,23)	10,40 (\pm 1,35)**	52,67 (\pm 5,32)
Psy z atopią stałą (I b) n = 9	34,22 (\pm 9,82)**	53,22 (\pm 11,85)**	11,05 (\pm 2,35)**	52,00 (\pm 5,39)
Psy atopowe chorujące krócej niż 1 rok (I c) n = 11	31,90 (\pm 3,91)**	56,90 (\pm 7,13)**	11,70 (\pm 1,69)**	52,36 (\pm 12,42)
Psy z innymi chorobami skóry (II) n = 52	40,02 (\pm 10,08)	59,80 (\pm 9,10)	11,98 (\pm 2,87)	49,96 (\pm 13,60)
Psy zdrowe bez objawów atopii i innych chorób (III) n = 7	56,29 (\pm 20,73)	66,29 (\pm 10,55)	19,50 (\pm 2,50)	49,43 (\pm 15,87)

Objaśnienia: NBT – test redukcji błękitu nitrotetrazoliowego; NBTs – stymulowany test redukcji błękitu nitrotetrazoliowego; IF – indeks fagocytarny; % KF – procent komórek fagocytarnych; ** różnice statystycznie istotne w porównaniu z grupą kontrolną ($p = 0,05$)

cych procentu komórek fagocytyzujących pomiędzy poszczególnymi grupami zwierząt.

Pomiędzy poszczególnymi podgrupami psów atopowych nie występowały różnice statystycznie istotne, dotyczące oznaczanych parametrów odporności nieswoistej. Brak analogicznych badań dotyczących parametrów odporności nieswoistej u psów atopowych uniemożliwia nam bezpośrednie skonfrontowanie naszych wyników z pracami innych autorów. Badania Chammas i wsp. (1) umożliwiły jedynie ustalenie, że psy chorujące na nawracające ropne infekcje skóry nie wykazują zaburzeń dotyczących fagocytozy.

Podsumowanie

Uzyskane wyniki badań wskazują, że psy z atopowym zapaleniem skóry, z objawami występującymi przez cały rok oraz psy chorujące krócej niż 1 rok wykazują zaburzenia w zakresie badanych wskaźników odporności nieswoistej. Zaburzenia te przejawiają się zarówno obniżoną zdolnością do wewnątrzkomórkowego zabijania drobnoustrojów, jak i upośledzeniem fagocytozy, manifestującej się zmniejszeniem ilości sfagocytowanych gronkowców, co wskazuje na supresję nieswoistych komórkowych mechanizmów obronnych. U psów z objawami pojawiającymi się sezonowo zaburzenia odporności nieswoistej dotyczą tylko fagocytozy, nie zaobserwowano zaburzeń związanych z zabijaniem wewnątrzkomórkowym. U psów z innymi chorobami układu powłokowego niż atopowe zapalenie skóry nie stwierdzono zaburzeń w oznaczanych parametrach odporności nieswoistej.

Piśmiennictwo

1. Chammas P., Hagiwara M.: Evaluation of neutrophilic function (chemotaxis, phagocytosis and microbicidal activity) in healthy dogs and in dogs suffering from recurrent deep pyoderma. *Vet. Immun. Immunopathol.* 1998, 64, 123-131.
2. DeBoer D. J., Marsella R.: The ACVD task force on canine atopic dermatitis: the relationship of cutaneous infections of pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Vet. Immun. Immunopathol.* 2001, 81, 239-249.
3. Griffin C. D., Kwochka K., Macdonald J.: *Current Veterinary Dermatology*. Mosby Year Book, St. Louis 1993, s. 99.
4. Harvey R. G., Noble W. C.: A temporal study comparing the carriage of *Staphylococcus intermedius* on normal dogs with atopic dogs in clinical remission. *Vet. Dermatol.* 1994, 5, 21-25.
5. Krzyżanowski J., Wawron W., Krakowski L., Kostro K., Wrona Z., Szczybiał M., Piech T., Kusy R.: Badania nad stanem nieswoistych mechanizmów obronnych u suk z ropomaciczem. *Medycyna Wet.* 2000, 56, 382-385.
6. Ładosz J., Dąbska B. K.: Immunologic reactivity of rat lymphocytes in mixed cultures. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 1973, 16, 559-562.
7. McEwan N. A.: Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine keratinocytes in atopic dermatitis. *Res. Vet. Sci.* 2000, 68, 279-283.
8. Muller G. D.: *Small Animal Dermatology*. Saunders W. B. Company, Philadelphia 1995, s. 503.
9. Park B. H., Fikrig S. M., Smithwick E. M.: Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. A diagnostic acid. *Lancet* 1968, 2, 532-534.
10. Pawelski S. (red.): Diagnostyka laboratoryjna w hematologii. PZWL, Warszawa 1977, 127-130.
11. Prelaud P., Guaguere E., Alhaidari Z., Faivre N., Heripret D.: Reevaluation of diagnostic criteria of canine atopic dermatitis. *Rev. Med. Vet.* 1998, 149, 1057-1064.
12. Shearer D. H., Day M. J.: An investigation of phagocytosis and intracellular killing of *Staphylococcus intermedius* by canine neutrophils in vitro. *Immun. Immunopathol.* 1997, 58, 219-330.
13. Tizard I. R.: *Veterinary Immunology – An Introduction*. Saunders W. B. Company, Philadelphia 2000, s. 18.
14. Willemsse A.: Atopic skin disease: A review and a reconsideration of diagnostic criteria. *J. Small Anim. Pract.* 1986, 27, 771-778.
15. Zeromski J. (red.): *Immunologia*. PZWL Warszawa 1996, s. 291.

Adres autora: Piotr Wilkołek, ul. Modrzewiowa 14/24, 21-040 Świdnik

❖❖❖❖ RECENZJE I BIBLIOGRAFIA ❖❖❖❖

Terrestrial animal health code (Światowy kodeks zdrowia zwierząt), OIE, 12 wydanie, Paryż 2003, str. 515, cena 55 €.

Jest to dwunaste wydanie Światowego kodeksu zdrowia zwierząt, w którym opublikowano wszystkie przepisy obowiązujące przy uznawaniu kraju za wolny od chorób zakaźnych, podlegających obowiązkowi zgłaszania, jak również odnośne wytyczne, dotyczące nadzoru weterynaryjnego nad międzynarodowym handlem zwierzętami i pochodzącymi od nich produktami. Przepisy te, opracowane przez uznanych ekspertów OIE w formie standardów, instrukcji lub zaleceń, zostały formalnie przyjęte podczas 71. Generalnej Sesji Delegatów OIE w maju 2003 roku. Kodeks składa się z czterech części. W pierwszej podano definicję użytych w kodeksie terminów, listy A i B chorób zakaźnych zwierząt objętych obowiązkiem zgłaszania i zwalczania z urzędu oraz przepisy dotyczące międzynarodowego handlu żywymi zwierzętami. Część druga zawiera szczegółowe przepisy obowiązujące przy poszczególnych chorobach. Lista A obejmuje 15 chorób wybitnie zaraźliwych i powodujących duże straty ekonomiczne. W liście B uwzględniono choroby wspólne dla kilku gatunków zwie-

rząt oraz choroby swoiste dla bydła, owiec i kóz, koni, świń, ptaków, królików i pszczoł. Dodatkowo zamieszczono przepisy obowiązujące przy zoonozach przenoszonych przez zwierzęta naczelne. W obecnym wydaniu przeredagowane zostały rozdziały dotyczące monitorowania i postępowania przeciwepizootycznego przy pryszczycy, klasycznym pomorze świń, gorączce doliny Rift, scrapie, gąbczastej encefalopatii bydła, leptospirozie, anaplazmozie i teileriozie bydła. W rozdziale trzecim zamieszczono tabelę z wykazem podstawowych i alternatywnych testów diagnostycznych, zalecanych w międzynarodowym obrocie zwierzętami. Następnie podano przepisy dotyczące kolekcjonowania i kontroli nasienia oraz zarodków, nadzoru weterynaryjnego nad fermami drobiu, zasady przeprowadzenia kwarentanny, dezynfekcji oraz transportu zwierząt. W rozdziale czwartym zaprezentowano wzory międzynarodowych świadectw zdrowia zwierząt domowych i dzikich oraz produktów zwierzęcego pochodzenia obowiązujących w imporcie i eksporcie. Kodeks przeznaczony jest dla lekarzy weterynarii zajmujących się zwalczaniem chorób zakaźnych zwierząt oraz nadzorem sanitarnym nad produktami zwierzęcego pochodzenia.

Stanisław Wołoszyn