

# Sarkoidy koni – zmiany histopatologiczne

MARIA KATKIEWICZ, SYLWESTER ZAJĄC

Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW,  
ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa

Katkiewicz M., Zajac S.

## Equine sarcoids – histopathological changes

### Summary

The paper describes two cases of sarcoids in horses non-responsive to therapeutic procedures. Microscopic examinations of tumor tissue revealed the presence of an evident difference in the degree of collagen fiber synthesis between both examined tumors. The nuclear expression of proliferate antigen Ki 67 was significantly higher in the tumor tissue exhibiting low collagen fiber synthesis. The differences in the microscopic structure between these 2 tumors were reflected in the degree of differentiation between the cells of the tumors. The paper also discussed the etiopathogenesis of equine sarcoids and the animals' immune status role in the disease development and progress, as well as the latest methods used in effective sarcoid therapy.

**Keywords:** horses, sarcoids

Sarkoidy koni zostały opisane w 1936 r. przez Jacksona, który już wówczas podejrzewał zakaźny charakter tej choroby (4). Zgodnie z pierwotnie wysuwany hipotezą o etiologii wirusowej zmian rozrostowych w sarkoidach koni, jest obecnie potwierdzone, że czynnikiem etiologicznym w powstawaniu tych guzów są wirusy brodawczycy bydła (3). Są to wirusy DNA należące do rodziny *Papovaviridae*, których cechą charakterystyczną jest zdolność wywoływania rozrostów nowotworowych w skórze. W większości przypadków wirusy papillomatozy wywołują powstawanie łagodnych rozrostów nowotworowych, wywodzących się z komórek nabłonka, które obserwuje się zarówno u ludzi, jak i u różnych gatunków zwierząt. Te popularnie spotykane zmiany skórne lub zlokalizowane na błonach śluzowych, określane są mianem brodawczaków (10, 11). Zmiany te często ulegają samostnej regresji, czyli samowyleczeniu. W związku z wirusową etiologią tych zmian chorobowych, samowyleczenie jest uwarunkowane prawidłowym funkcjonowaniem mechanizmów immunologicznych obecnych w skórze lub w błonach śluzowych. Z obserwacji klinicznych wiadomo jednak, że nowotwory te mogą ulegać transformacji w guzy o charakterze złośliwym, a pojawienie się tego typu zmian dowodzi obecności poważnych zaburzeń w odporności zaatakowanej przez wirus tkanki.

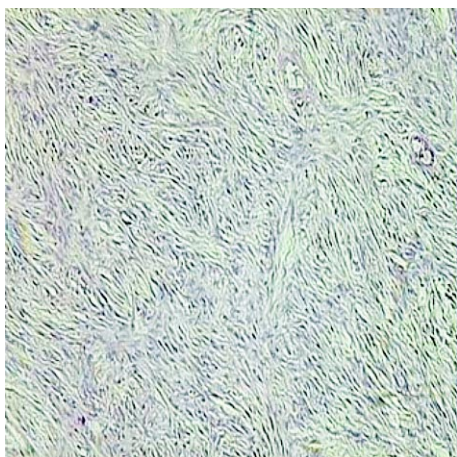
Pewne typy wirusów zaliczane także do tej grupy wykazują zdolność indukcji zmian nowotworowych, zlokalizowanych w obrębie tkanki łącznej włóknistej. Do nich należą wirusy brodawczycy bydła i wirus fibromatozy jeleni. Zakażenie wirusami brodawczycy następuje przez kontakt bezpośredni, rzadziej za pośrednictwem owadów. Wirusy te zbudowane z DNA ulegają integracji z DNA jądra komórek gospodarza. Replikacja wirusa następuje w komórkach warstwy podstawnej nabłonka, czego efektem jest indukcja nadmiernej proliferacji naskórka, któ-

rej towarzyszy proliferacja przyległej tkanki łącznej skóry (12, 17).

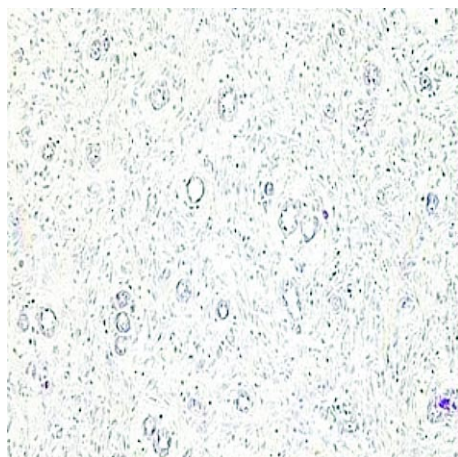
W patogenezie procesu metaplastacji komórek brodawczaka występującego u ludzi wykazano, że obecny w komórkach wirus powoduje inaktywację genów p 53 i p Rb, i zmiany te są odpowiedzialne za wystąpienie zaburzeń w regulacji cyklu komórkowego. Powstawanie charakterystycznych dla brodawczycy cytoplazmatycznych ciałek wtrętowych stanowi wyraz występowania zaburzeń w różnicowaniu się komórek nabłonka. Zaburzenie to w obrazie mikroskopowym widoczne jest w formie gromadzenia się w cytoplazmie komórek nabłonka mikrofilamentów cytokeratyny i keratohialiny. Równocześnie obserwuje się występowanie zasadochłonnych wewnątrzdrogowych ciałek wtrętowych, będących skupiskami wirionów wirusa brodawczycy (1).

Przedstawiony w zarysie mechanizm indukcji zaburzeń w metabolizmie zakażonej komórki prowadzi w efekcie końcowym do jej nekrobiozy. Uwolnione wiriony w procesie rozpadu komórki zakażają następne komórki otaczającej je tkanki. Proces chorobowy jest kontynuowany. Dla lekarza klinicysty, który obserwuje odnowę wzrostu guza po uprzednio wykonanym zabiegu chirurgicznym, nawrót choroby jest informacją o występowaniu u danego konia obniżenia odporności skóry lub błon śluzowych, lub pozostawieniu części zakażonych komórek.

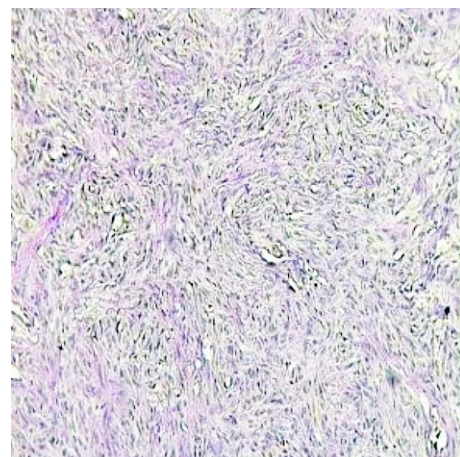
Podobnie jak ma to miejsce w innych zakażeniach wirusowych, choroba może ulec zahamowaniu, przez uruchomienie mechanizmów cytotoksycznych odpowiedzi immunologicznej gospodarza, pozostawiając zakodowaną odporność na zakażenie danym wirusem. Ten typ łagodnego i przemijającego zakażenia opisywano u koni z sarkoidami jako chorobę 1-3 letnich koni (19). Z obserwacji klinicznej wiadomo jednak, że guzki te mogą ulegać rozprzestrzenianiu, a także odnowie po usunięciu



Ryc. 1. Klacz nr 1. Widoczne utkanie guza typowe dla sarkoidów koni. Dość liczne eozynochłonne włókna kolagenowe. HE  $\times 20$



Ryc. 2. Klacz nr 2. Widoczne utkanie guza o małym stopniu zróżnicowania. Nieliczne włókna kolagenowe, naczynia włosowate wysłane wysokimi komórkami śródbłonna. HE  $\times 20$



Ryc. 3. Klacz nr 1. Liczne włókna kolagenowe o utkaniu typowym dla sarkoidów koni. V. Gieson  $\times 20$

chirurgicznym. Może to stanowić objaw braku efektywności działania mechanizmów odpornościowych, a przede wszystkim komórek immunokompetentnych skóry (16).

Sarkoidy koni z punktu widzenia obrazu klinicznego, to jest w oparciu o wygląd makroskopowy guzów, zostały podzielone na 5 typów (14):

- 1) rozrost brodawkowy skóry, zwykle nie pokrytej włosiem, cechujący się powolnym wzrostem;
- 2) wygląd dzikiego mięsa (prolifracja fibroblastów), guz rośnie w obrębie tkanki łącznej skóry, wzrost szybki, często z ubytkami naskórka i owrzodzeniem skóry;
- 3) typ mieszany posiadający cechy 1 i 2 typu rozrostu;
- 4) rozrost ukryty, powierzchnia guza płaska pokryta szorstkim, bardzo zgrubiałym bezwłosym naskórkiem;
- 5) włókniaki tkanki podskórnej, leżące pod niezmienną skórą.

Z obserwacji własnych wynika, że zaproponowany podział sarkoidów na podstawie obrazu klinicznego nie jest w pełni przydatny z klinicznego punktu widzenia. Szczególne wątpliwości nasuwają się przy wyborze optymalnej metody terapeutycznej, jak i prognozowaniu o wystąpieniu ewentualnych nawrotów choroby. Dlatego też w praktyce wybiera się metodę terapii sarkoidów w oparciu o własne doświadczenie i dostępne możliwości techniczne leczenia.

W kilku przypadkach klinicznych próba leczenia sarkoidów przy zastosowaniu metod chirurgicznych, krioterapii oraz stosowaniu preparatów immunostymulujących nie przyniosły pozytywnych rezultatów, o czym świadczyły nawroty choroby. Występowanie rozrostów opornych wobec rutynowo stosowanych metod leczenia skłoniło autorów tego opracowania do bliższego określenia charakteru guzów z zastosowaniem badania mikroskopowego. Do badań histopatologicznych wybrano dwa przypadki odporne na leczenie, w których pomimo zastosowania kilkakrotnych zabiegów chirurgicznych, krioterapii, jak również stosowania preparatów immunostymulujących – występowały nawroty choroby. Wybrane przypadki sarkoidów koni ilustrują możliwość występowania dużego stopnia zróżnicowania struktury mikroskopowej guzów i wynikającego stąd rokowania dotyczącego przebiegu choroby oraz wyboru metod terapii.

## Materiał i metody

Badanie histopatologiczne wykonano z wycinków guzków pobranych od dwóch klaczy: klacz nr 1, lat 7 – zmiany umiejscowione na górnej i dolnej powiece oraz klacz nr 2, lat 8 – zmiany usytuowane na błonie śluzowej nosa, położone 6 cm od brzegu nozdrzy.

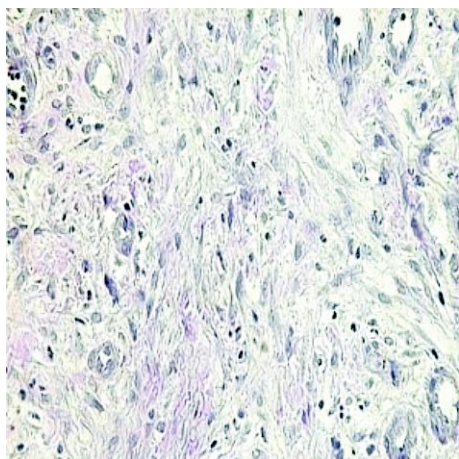
Wycinki utrwalono w buforowanej 10% formalinie, zatopiono w parafinie. Skrawki mikrotomowe barwiono rutynowo hematoksyliną i eozyną oraz metodą van Giesona w celu wybarwienia włókien kolagenowych. Ponadto wykonano reakcję immunocytochemiczną (IPOX) w celu wykrycia obecności antygenu Ki 67 przy użyciu przeciwciał MIB-1 firmy Novocastra NCL-Ki-67-Paraffin-Kit. Do analizy komputerowej obrazu użyto mikroskopu Nikon 104 sprzężonego z komputerem przez kamerę Nikon 75 z wykorzystaniem programu Multi-Scan 96. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, umieszczając w tabelach średnią z odchyleniem standardowym. Średnie wyniki stopnia nasilenia ekspresji Ki 67 poddano analizie wariancji stosując test T, zakładający równe bądź nierówne wariancje. Różnice w wariancjach wyznaczano za pomocą testu F. Do wyliczeń statystycznych użyto programu Statgraphics Plus.

## Wyniki i omówienie

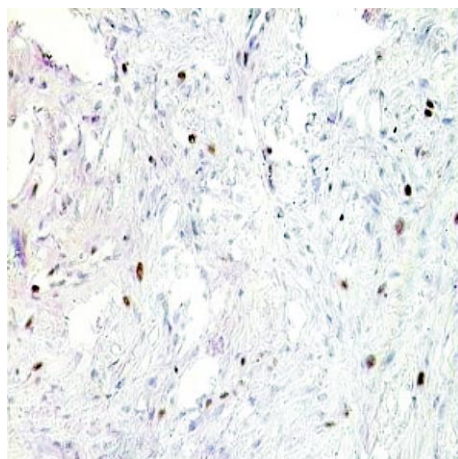
W badaniu histopatologicznym, w obu badanych wycinkach guzków, stwierdzono utkanie charakterystyczne dla sarkoidów koni.

U klaczy nr 1 guzki były zlokalizowane w górnej i dolnej powiece. W obrazie mikroskopowym stwierdzono utkanie złożone z fibroblastów, rozrzuconych włókien kolagenowych oraz naczyń krwionośnych, które posiadały prawidłową strukturę (ryc. 1 i 3). Tylko pojedyncze komórki śródbłonna wykazywały cechy małego stopnia braku zróżnicowania. W obrębie guza stwierdzono ubytek naskórka, co było związane z występowaniem wtórnego zakażenia i indukcją odczynu zapalnego o charakterze ropnym, o czym świadczyła obecność obfitego nacieku granulocytów obojętnochłonnych.

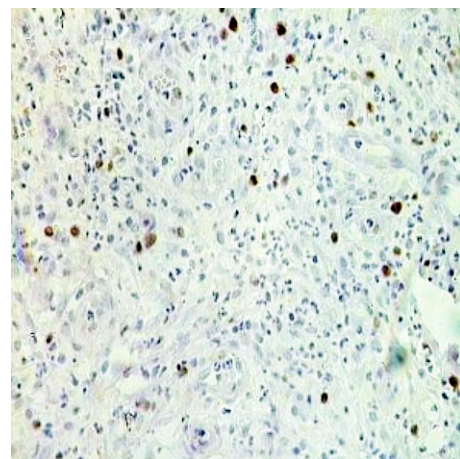
Klacz nr 2 miała usunięty guzek z przedślonka jamy nosowej. Podobnie jak u klaczy nr 1, w części powierzchni guzka, pozbawionej nabłonka obserwowano obfity nacieki zapalny o charakterze ropnym oraz ognis-



Ryc. 4. Klaczy nr 2. Nieliczne włókna kolagenowe i blastyczne postaci naczyń włosowatych. V. Gieson  $\times 40$



Ryc. 5. Klaczy nr 1. Guz o charakterze rozrostu fibroblastycznego. Liczne jądra fibroblastów wykazujące ekspresję antygeny Ki 67. IPOX  $\times 20$



Ryc. 6. Klaczy nr 2. Liczne jądra fibroblastów wykazujące ekspresję antygeny Ki 67, wskazujące na wysoki potencjał proliferacyjny guza. IPOX  $\times 20$

ka nekrobiozy tkanki guza. W głębi guzka nacieki zapalne zanikały. Miąższ guzka stanowiła niedojrzała tkanka mezenchymalna, zbudowana z wrzecionowatych komórek, różnej wielkości, o polimorficznych dużych jasnych jądrach i małych jąderkach (ryc. 2). Włókna kolagenowe były nieliczne, a także wyraźnie mniej liczne niż w guzku powieki pochodzącym od klaczy nr 1 (ryc. 4). W miąższu guza występowały liczne niedojrzałe i posiadające małą średnicę naczynia krwionośne. Naczynia te były wysłane wysokimi komórkami o dużym jasnym jądrze, co stanowiło wyraźną cechę zaburzeń w różnicowaniu komórek śródbłonna.

Wydaje się zatem, że brak efektu terapeutycznego w tych 2 przypadkach wynikał u klaczy nr 1 z umiejscowienia guza i niemożności całkowitego usunięcia zakażonych tkanek podczas zabiegu chirurgicznego, natomiast u klaczy nr 2 z dużej inwazyjności i stosunkowo małego stopnia zróżnicowania tkanki, co może nasuwać podejrzenie występowania metaplastji złośliwej w obserwowanym guzie.

W obu guzach wykonano ocenę stopnia ekspresji antygeny Ki 67 oraz obliczono wartości względne stopnia ekspresji tego antygeny. W wyniku tych obliczeń stwierdzono występowanie statystycznie istotnej różnicy w stopniu ekspresji antygeny Ki 67 między oboma badanymi guzkami ( $p < 0,005$ ). Znacznie wyższy stopień ekspresji antygeny Ki 67 w guzku pochodzącym z przedsionka nosa klaczy nr 2 (ryc. 6), w stosunku do klaczy nr 1 (ryc. 5), dowodzi występowania wyższego stopnia proliferacji komórek tego guzka. Przyjęto, że cecha ta jest charakterystyczna dla rozrostów o charakterze nowotworowym.

Martens i wsp. (8, 9) przeprowadzili badania immunocytochemiczne w celu wykrycia ekspresji keratyny 10, antygeny Ki 67 oraz genu supresorowego 53 w guzach pochodzących ze wszystkich klinicznych typów sarkoidów koni i nie stwierdzili występowania wyraźnej różnicy między badanymi guzami. Autorzy ci uważają, że wszystkie typy kliniczne sarkoidów charakteryzuje wyłącznie obecność DNA wirusa brodawczycy bydła oraz wzrost liczby fibroblastów w skórze. Ten pogląd jest dyskusyjny, bowiem już obserwacje kliniczne nasuwają podejrzenie, iż guzy te różnią się między sobą zarówno stopniem

zróżnicowania, jak i inwazyjności. Przedstawione wyniki badań własnych, zarówno związane ze stopniem zróżnicowania się tkanki guza wyrażonym zdolnością do syntezy włókien kolagenowych, jak i stopniem ekspresji antygeny Ki 67 stanowią dowód różnego stopnia zróżnicowania tkanek pochodzących z obu guzów. Wysoki stopień ekspresji antygeny Ki 67 jest wyrazem wysokiego stopnia proliferacji komórkowej, charakterystycznej dla nowotworów złośliwych. Podobnie, spadek zdolności syntezy włókien kolagenowych przez fibroblasty, oznacza także uszkodzenie tych komórek. Opinia przedstawiona przez Martens i wsp. może wynikać stąd, iż badane guzy, niezależnie od ich lokalizacji, posiadały taki sam stopień atypii, gdyż pochodziły z jednej populacji koni. Obserwacje kliniczne także przemawiają za tym, że sarkoidy u koni mogą manifestować się różnym stopniem inwazyjności, która to cecha jest bezpośrednim wskaźnikiem stopnia zaburzeń w różnicowaniu się komórek nowotworu. Proliferacja komórek nowotworowych stanowi najstarsze kryterium oceny złośliwości nowotworów, zanim oparto tę ocenę o metody patologii molekularnej, a ekspresja antygeny Ki 67 jest markerem stopnia tej proliferacji.

Jak wspomniano, w brodawczycy u ludzi wykazano, iż wirus powoduje inaktywację genu p53. Gen p53 jest genem supresorowym, odpowiedzialnym za transkrypcję genów kodujących różne typy białek regulatorowych cyklu komórkowego (7). Wydaje się, że stopień zainfekowania komórki przez wirus i z tym związany stopień indukcji zmian rozrostowych, są w dużej mierze uwarunkowane statusem immunologicznym gospodarza. Mając to na uwadze, obecnie jest propagowana terapia sarkoidów oparta na nieswoistej immunostymulacji BCG, niezależnie od wykonanego zabiegu chirurgicznego (18).

Przedstawione wyniki badań patomorfologicznych wskazują na możliwość występowania dużych różnic w stopniu zróżnicowania się tkanki sarkoidów. Wydaje się więc, że podział na typy kliniczne wykonany w oparciu o lokalizację guzów może tylko w pewnym stopniu rokować o dalszym rozwoju choroby, np. w związku z ukrwieniem tego rejonu skóry lub grubością naskórka. Obserwowane zaburzenie procesów różnicowania się ko-

mórek i stopnia ich proliferacji tak różny w dwóch opisanych guzach, może wskazywać na działanie onkogenne wirusa brodawczycy bydła.

Z uwagi na fakt, iż przyczyną rozwoju sarkoidów u koni jest zakażenie wirusowe, przebieg tej choroby może stanowić dla lekarza klinicysty pewną informację o statusie immunologicznym konia lub nawet pewnej ograniczonej populacji koni. Najnowsze badania nad występowaniem sarkoidów u koni rasy arabskiej wykazały, iż istnieje statystycznie znamienne korelacja między rozwojem tych guzów, a obecnością u tych koni alleli genetycznie uwarunkowanego niedoboru immunologicznego (2). Należy również brać pod uwagę możliwość występowania u chorego konia niedoborów immunologicznych o innym podłożu etiopatogenetycznym (5).

W praktyce klinicznej najczęściej stosowaną metodą leczenia sarkoidów jest usunięcie chirurgiczne zmian skórnych, lecz w 50% przypadków obserwuje się nawroty choroby (14). Główną przyczyną nawrotów jest pozostawienie podczas zabiegu zakażonych wirusem fragmentów tkanki guza oraz możliwość rozsiewu zakażonych komórek. Rzadziej stosuje się natomiast metodę wymrażania (głównie z powodu braku odpowiedniego sprzętu), która w większości przypadków jest skuteczna (6). Niestety, poważnym ograniczeniem zastosowania tej metody jest często duża objętość guzów oraz ich umiejscowienie uniemożliwiające wykonanie zabiegu, np. w okolicy oczodołu. Zazwyczaj dobry efekt terapeutyczny uzyskuje się przez chirurgiczne usunięcie dużych zmian chorobowych w pierwszym etapie leczenia, a ewentualne ponownie pojawiające się rozrosty usuwa się, wykorzystując zastosowanie metody działania niskich temperatur. Bardzo dobre wyniki leczenia z całkowitą remisją choroby uzyskuje się w tych przypadkach, gdy guzy nie penetrują głęboko w tkankę podskórną, a ich zasięg ogranicza się tylko do skóry.

Jako leczenie wspomagające w przebiegu sarkoidów zalecane jest stosowanie nieswoistych immunomodulatorów, takich jak Baypamun P firmy Bayer i Lydium KLP firmy Nikka Health Prod. W świetle własnego doświadczenia wydaje się, że stosowanie tego typu wspomagającej terapii jest bardzo pomocne. W licznych publikacjach potwierdzono skuteczność stosowania immunomodulatorów w przebiegu sarkoidów koni, np. Studdert i wsp., wykazali korzystne działanie Baypamunu P podawanego w bezpośrednią okolicę zmian chorobowych, co pozwalało uzyskać efekt całkowitego wyleczenia sarkoidów w większości leczonych przypadków (16).

W latach osiemdziesiątych ukazało się wiele doniesień o wysokiej skuteczności laserowej terapii sarkoidów. Obecnie wycofano się jednak ze stosowania tej metody terapeutycznej. Okazało się bowiem, że pod wpływem działania wysokich temperatur w trakcie zabiegu istnieje możliwość uwalniania się DNA wirusa z komórek guza, co w znacznym stopniu zwiększa ryzyko rozsiewu wirusa i pojawienie się nawrotów choroby (17).

Dane piśmiennictwa wskazują na uzyskiwanie dobrych efektów leczniczych w przebiegu sarkoidów z zastosowaniem innych metod, takich jak: leczenie radiologiczne, podawanie środków do stosowania zewnętrznego, takich jak 5-fluorouracil lub podophyllum (Metcalf), stosowanie autoszczepionek wykonanych z autologicznej

tkanki guza czy też immunomodulację przy użyciu szczepionki BCG (13, 20).

W praktyce własnej w kilku przypadkach stosowano 5-fluorouracil w maści do stosowania zewnętrznego na powierzchnię guzów, lecz nie uzyskano zadowalających rezultatów przeprowadzonej terapii. Natomiast leczenie radiologiczne, jakkolwiek skuteczne, jest, niestety, bardzo kosztowne i na razie niedostępne w Polsce.

Godne zalecenia wydaje się stosowanie immunoterapii, szczególnie przy użyciu szczepionki przeciwgruźliczej (BCG) podawanej drogą iniekcji w bezpośrednią okolicę guza (15). Pomimo uzyskiwania wysokiego procentu wyleczonych koni (sięgającego 60-70%), należy jednak brać pod uwagę możliwość wystąpienia powikłań głównie w postaci wstrząsu anafilaktycznego, w szczególności po powtórnym podaniu BCG (18). Informacje o stosowaniu immunoterapii pochodzą z literatury fachowej, natomiast autorzy niniejszej publikacji nie posiadają własnego doświadczenia odnośnie do skuteczności użycia tej metody terapii.

W świetle przedstawionych badań wykazujących istotne różnice w budowie sarkoidów, godne polecenia jest wykonanie badania histopatologicznego wycinków guzów przed podjęciem decyzji o leczeniu zmian.

## Piśmiennictwo

1. Carr E. A., Theon A. P., Madewell B. R., Hitchcock M. E., Schlegel R., Schiller J. T.: Expression of transforming gene (E5) of bovine papillomavirus in sarcoids obtained from horses. *AJVR* 2001, 62, 1212-1223.
2. Ding Q., Bramble L., Yuzbasiyan-Gurkan V., Bell T., Meek K.: DNA-PKcs mutations in dogs and horses: allele frequency and association with neoplasia. *Gene* 2002, 23, 263-283.
3. Fulton R. E., Doane F. W., Mac Person L. W.: The fine structure of equine papillomas and the equine papilloma virus. *J. Ultrastructure Res.* 1970, 30, 328-343.
4. Jubb K. V. F., Kennedy P. C.: *Pathology of Domestic Animals*. Academic Press. 1970, s. 643.
5. Katkiewicz M., Witkowski L., Kita J.: Changes in structure of lymphatic organs in foals died due to *Rhodococcus equi* infection. *Polish J. Vet. Sci.* 2005, 8, 3, 219-224.
6. Klein W. R., Bras G. E., Misdorf W., Steerenberg P. A., de Jong W. H., Tiesjema R. H., Kersjes A. W., Ruitenbergh E. J.: Equine sarcoid: BCG immunotherapy compared to cryosurgery in a prospective randomized clinical trial. *Cancer Immunol. Immunotherapy* 1986, 21, 133-140.
7. Levine A. J.: The cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997, 88, 323-331.
8. Martens A., De Moor A., Demeulemeester J., Ducatelle R.: Histopathological characteristics of five clinical types of equine sarcoid. *Res. Vet. Sci.* 2000, 69, 295-300.
9. Martens A., De Moor A., Demeulemeester J., Peelman L.: Polymerase chain reaction analysis of the surgical margins of equine sarcoids for bovine papilloma virus DNA. *Vet. Surgery* 2001, 30, 460-467.
10. Metcalf J. W.: Improved technique in sarcoid removal. *Proc. Am. Ass. Equine Pract.* 1971, 17, 45-47.
11. Murphy F. A., Gibbs E. P. J., Horzinek M. C., Studdert M. J.: *Veterinary Virology*. Ca, Davis Academic Press. 1999, 341-342.
12. Olson Jr. C., Cook R. H.: Cutaneous sarcoma-like lesions of the horse caused by the agent of bovine papillomavirus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1951, 77, 281-284.
13. Pascoe P. R., Summers P. M.: Clinical survey of tumorous and tumor-like lesions in horses in south-east Queensland. *Equine Vet. J.* 1981, 13, 235-239.
14. Regland W. L., Keown G. C., Spencer G. R.: Equine sarcoid. *Equine Vet. J.* 1970, 2, 2-11.
15. Schwartzman S. M., Cantrell J. L., Ribi E., Ward J.: Immunotherapy of equine sarcoid with cell wall skeleton (CWS) – trehalose dimycolate (TDM) biologic. *Equine Pract.* 1984, 6, 13-23.
16. Studdert M. J.: Virus infections of equines. *Virus Infections of Vertebrates*. M. J. Studdert, Elsevier, Amsterdam 1996, 83-94.
17. Sudberg J. P.: Urges caution with use of laser on lesions of suspected viral origin. *JAVMA* 1990, 196, 1007-1011.
18. Vanselow B. A., Abetz I., Jackson A. R. B.: BCG Emulsion immunotherapy of equine sarcoid. *Equine Vet. J.* 1988, 20, 444-447.
19. Vanselow B. A., Spradbrow P. B.: Equine and bovine papillomavirus infections. *Cyt. Virus Infections of Vertebrates*. M. J. Studdert, Elsevier, Amsterdam 1997, 83-94.
20. Wyn-Jones G.: Treatment of periocular tumors of horses using radioactive gold grains. *Equine Vet.* 1979, 11, 3-10.

Adres autora: prof. dr hab. Maria Katkiewicz, ul. Ebro 45, 01-490 Warszawa