

Naukowa sesja sprawozdawcza za rok 2023 - streszczenia

Rada Dyscypliny Weterynaria
Instytut Medycyny Weterynaryjnej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie



SZKOŁA GŁÓWNA
GOSPODARSTWA
WIEJSKIEGO
Instytut Medycyny
Weterynaryjnej

Warszawa, 7 lutego 2024 r.

Serowacujące zapalenie węzłów chłonnych kóz - epidemiologia, diagnostyka, zapobieganie

K. Biernacka

Samodzielny Zakład Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej,
SGGW w Warszawie

Wstęp

Serowacujące zapalenie węzłów chłonnych, (CLA), jest wywoływane przez *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Choroba objawia się powstawaniem ropni w powierzchownych i głębokich węzłach chłonnych oraz narządach wewnętrznych u owiec i kóz.

Cel badań

Badania prowadzone przez SZEiEW mają na celu:

- a) oszacowanie rozprzestrzenienia CLA w populacji kóz w Polsce
- b) opracowanie nowych metod diagnostycznych
- c) ocenę wpływu stosowania autoszczepionki na przebieg choroby.

Materiały i metody

W celu oszacowania rozprzestrzenienia CLA w populacji kóz w Polsce zbadano testem ELITEST CLA (Hyphen®, Francja) 1283 surowice pochodzące z 86 stad . W każdym stadzie zbadano losowo wybrane 10 - 13 samic i wszystkie samce (1-9 zwierząt).

Opracowywane są nowe metody diagnostyczne CLA, w których jako materiał wykorzystywane są krew, mleko, płyn ustny i wymazy z ropni. Wykrywanie swoistych przeciwciał wykonywane jest za pomocą własnego testu ELISA oraz metodą western blott. Do wykrywania obecności *C. pseudotuberculosis* wykorzystywana jest metoda real - time PCR.

Ocenę wpływu autoszczepionki na przebieg kliniczny CLA wykonano w stadzie gdzie wcześniej stwierdzono chorobę. Osiemdziesięciu trzem zwierzętom podano trzykrotnie autoszczepionkę. Grupę kontrolną stanowiły 22 kozy. Od wszystkich zwierząt co miesiąc pobierane są krew, mleko i płyn ustny (dotychczas 14 pobrań). Obserwowany jest zdrowia zwierząt.

Wyniki

CLA stwierdzono w 86% stad kóz w Polsce.

Własny test ELISA, w przeciwieństwie do komercyjnego, wykrywa przeciwciała nie tylko w surowicy, ale też w płynie ustnym.

Osiem na dziesięć badanych wymazów z ropni, w których za pomocą badania mikrobiologicznego stwierdzono *C. pseudotuberculosis*, było również dodatnich w badaniu metodą real - time PCR.

Obserwacje stanu zdrowia zwierząt po szczepieniu przeciwko CLA nie dają jednoznacznych wyników potwierdzających skuteczność szczepionki.

Wnioski

Prewalencja CLA na poziomie stad w Polsce przewyższa stwierdzaną pod koniec XX i na początku XXI wieku. Świadczy to o szerzeniu się choroby w populacji kóz w Polsce.

Płyn ustny jest odpowiednim materiałem do diagnostyki CLA.

PCR może być stosowany do diagnostyki CLA z wykorzystaniem wymazów z ropnia.

Przeprowadzone badania nie dają podstawy do potwierdzenia skuteczności autoszczepionki w zapobieganiu CLA.

Słowa kluczowe: gruźlica rzekoma, serowacujące zapalenie węzłów chłonnych, CLA, *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Finansowanie badań: 16/491568/SPUB/SP/2021

Charakterystyka aktywności mioelektrycznej wybranych mięśni szkieletowych w stępie

E. Stefanik¹

¹Katedra Chorób Dużych Zwierząt i Klinika, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie,

Elektromiografia powierzchniowa jest obiecującym narzędziem pozwalającym na monitorowanie aktywności ruchowej koni. Wprowadzenie technologii, wykorzystującej bezprzewodowy system przekazywania danych z elektrod powierzchniowych do odbiorników drogą radiową pozwala na jej zastosowanie nie tylko w warunkach laboratoryjnych, ale także codziennego użytkowania, np. w trakcie treningu.

W przypadku ludzi projekt SENIAM opracował europejskie zalecenia dotyczące optymalnej lokalizacji elektrod. W dostępnych badaniach u koni istnieją duże rozbieżności w sposobie umieszczania i lokalizacji poszczególnych elektrod.

Celem badania jest określenie optymalnych lokalizacji elektrod wzdłuż brzuśców wybranych mięśni szkieletowych koni dla pomiarów sygnału sEMG w stępie oraz określenie zależności pomiędzy cechami sygnału sEMG wybranych mięśni szkieletowych koni, a grubością skóry i tkanki podskórnej oraz grubością mięśnia.

Badanie zostało przeprowadzone na 8 osobnikach konia domowego rasy koni polski w wieku 5-12 lat, rasy konik polski. Poszczególne etapy badań obejmowały: przeprowadzenie badania ortopedycznego, przygotowanie koni do badania, lokalizacji brzuśców mięśni (*m. extensor carpi radialis*, *mm. extensor digitorum communis et lateralis*, *m. flexor carpi ulnaris*, *m. extensor carpi ulnaris*) na podstawie badania palpacyjnego struktur kostnych i badania ultrasonograficznego, umieszczeniu elektrod pomiarowych wzdłuż przebiegu brzuśców badanych mięśni i połączenia ich z czujnikami do elektromiografii powierzchniowej, wykonaniu 10 sekundowych pomiarów w trzech powtórzeniach w stępie, przeprowadzeniu pomiaru grubości mięśnia oraz tkanki podskórnej ze skórą nad każdą z elektrod, analizie sygnału i przeprowadzeniu analizy statystycznej.

Amplituda i siła sygnału sEMG wybranych mięśni szkieletowych koni nie jest proporcjonalna do grubości mięśnia, a grubość skóry i tkanki podskórnej nie wpływa na cechy rejestrowego sygnału. Lokalizacja elektrod dla pomiarów sygnału sEMG w stępie jest optymalna w jednej trzeciej bliższej długości brzuśca dla *m. extensor carpi radialis*, w połowie długości brzuśca dla *mm. extensor digitorum communis et lateralis*, w jednej drugiej dalszej długości brzuśca *m. flexor carpi ulnaris*, w jednej trzeciej dalszej długości brzuśca *m. extensor carpi ulnaris*.

Słowa kluczowe: aktywność mioelektryczna, elektromiografia powierzchniowa, sEMG

Praca wykonana w ramach grantu wewnętrznego w latach 2022-2023 pt.: „**Ocena przydatności elektromiografii powierzchniowej (sEMG) oraz wskaźników hipoksji śródoperacyjnej do monitorowanie miopatii poanestetycznej w koni**” (853-2-80-40-730100-B22173)”, kierownik grantu: lek. wet. Elżbieta Stefanik.

Rola alfa 2 makroglobuliny w procesie migracji komórek kostniakomięśaka psów – badania proteomiczne

Sylwia S. Wilk¹, Katarzyna Michalak², Stanisław Winiarczyk²,
Katarzyna A. Zabielska-Koczywas¹

¹ Katedra Chorób Małych Zwierząt i Klinika, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie,

² Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych, UP w Lublinie

Kostniakomięśak psów jest złośliwym nowotworem kości o dużym potencjale przerzutowania. W przypadku tego nowotworu, przerzuty są główną przyczyną zgonów psów. Na obecną chwilę nie ma skutecznej metody leczenia przerzutów kostniakomięśaka. Analizy proteomiczne, w tym spektrometria mas MALDI TOF/TOF MS są szeroko stosowane w celu identyfikacji białek, które mogą być celami molekularnymi lub nowymi markerami choroby nowotworowej.

Głównym celem badań była identyfikacja białek o różnej ekspresji w psich liniach komórkowych kostniakomięśaka o różnych fenotypach złośliwości (OSCA-8 i OSCA-32) oraz w psich osteoblastach (CnOb). Pośrednim celem badań było porównanie zdolności do migracji komórek kostniakomięśaka psów z linii OSCA-8 i OSCA-32 i ich korelacja z fenotypami złośliwości linii komórkowych.

W wyniku przeprowadzonych analiz proteomicznych metodą elektroforezy dwukierunkowej i spektrometrii mas MALDI-TOF/TOF MS zidentyfikowano osiem białek różniących się istotnie statystycznie ekspresją ($p \leq 0,05$) w liniach OSCA-8 i OSCA-32 w porównaniu z CnOb: białko 298 związane z rzęskami i włóknami (CFAP298), ogólny czynnik transkrypcyjny II-I (GTF2I), białko genu 1 polidaktylii z lustrzanym odbiciem (MIPOL1), alfa-2-makroglobulina (A2M), mutaza fosfoglicerynianowa 1 (PGAM1), ubikwityna (UB2L6), białko adaptorowe związane z receptorem ektodysplazyny A (EDARADD) i bogate w leucynę białko 72 (LRRC72). Stosując technikę simple western, potwierdzono wyższą ekspresję A2M

w CnOb w porównaniu z OSCA-8 i OSCA-32 (odpowiednio z niską i brakiem ekspresji A2M). Następnie potwierdzono rolę A2M w procesie migracji komórek nowotworowych, wykazując, w teście gojenia rany, istotne statystycznie zahamowanie migracji komórek z linii OSCA-8 i OSCA-32 traktowanych A2M (zarówno w stężeniu 10mM, jak i 30mM po 12 i 24 godzinach).

Uzyskane wyniki wskazującym na możliwą rolę A2M w hamowaniu przerzutowania komórek kostniakomięśaka psów, jednak konieczne są dalsze badania *in vitro* i *in vivo*, w celu potwierdzenia tej tezy.

Słowa kluczowe: alfa 2 makroglobulina; kostniakomięśak psów; MALDI-TOF/TOF MS; simple western; test gojenia rany

Analiza pokrewieństwa *Listeria monocytogenes* izolowanych z różnych źródeł w aspekcie ochrony zdrowia publicznego- badania wstępne

Zuzanna Strzałkowska¹, Magdalena Kizerwetter-Świda², Dorota Chrobak-Chmiel²,
Karolina Wódz³, Ewa Domańska⁴, Elżbieta Rosiak⁵, Zbigniew Bełkot⁶, Krzysztof Anusz¹,
Joanna Pławińska-Czarnak¹

¹Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, Instytut Medycyny Weterynaryjnej,
SGGW w Warszawie

²Katedra Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie

³Laboratorium Biologii Molekularnej, Vet-Lab Brudzew, Ul. Turkowska 58c, 62-720 Brudzew

⁴Samodzielny Zakład Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny
Weterynaryjnej, SGGW

⁵Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Instytut Nauk o Żywieniu
Człowieka, SGGW w Warszawie

⁶Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Listeria monocytogenes, gram-dodatnia pałeczka, występująca powszechnie w środowisku, jest czynnikiem etiologicznym listeriozy. Zakażenie u ludzi i zwierząt przebiega z bakteriamią, zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych, poronieniami i zakażeniami okołoporodowymi, z wysoką śmiertelnością. Bakteria ta ma zdolność do przetrwania i namnażania się w środowisku kwaśnym oraz w niskiej temperaturze, czyli w warunkach panujących w przetwórstwie i przechowywaniu żywności. Żywność pochodzenia zwierzęcego (mięso i produkty mięsne, ryby, produkty mleczne), roślinnego (surowe warzywa, owoce) oraz mieszana mogą być źródłem *L. monocytogenes*. W 2022 roku, w Unii Europejskiej odnotowano 2 738 przypadków listeriozy u ludzi, w tym w 296 przypadkach potwierdzono, że to żywność była źródłem choroby (raport ECDC/EFSA). W 1 330 przypadkach konieczna była hospitalizacja. Zmarło 286 chorych.

Celem badania było sprawdzenie pokrewieństwa izolatów *L.monocytogenes* uzyskanych z różnych źródeł w kontekście One Health.

L. monocytogenes izolowano z produktów spożywczych i tkanek pochodzenia zwierzęcego zgodnie z normą PN-EN ISO 11290-1:2017-07. Przynależność gatunkową szczepów potwierdzono metodą PCR. Właściwości biochemiczne określono przy użyciu VITEK[®] 2 GP cards. Porównania pokrewieństwa izolatów dokonano metodą elektroforezy w zmiennym polu elektrycznym (PFGE) z wykorzystaniem ApaI. Otrzymane wyniki porównano i pogrupowano względem podobieństwa stosując oprogramowanie BioNumerics v. 7.0 (Applied Maths).

W ramach dotychczasowych badań uzyskano 13 izolatów *L.monocytogenes*. Wśród nich wyróżniono 4 klastry, gdzie podobieństwo izolatów stwierdzono na poziomie od 88,2% (klaster 2) do 90,9% (klaster 1). 2 izolaty nie zostały przyporządkowane do żadnego klastra. Największe podobieństwo stwierdzono w obrębie klastra 1 (90,9%) i 3 (90,5%). W klastrze 1 znalazły się izolaty z ćwiartki kurczaka oraz jelit bażanta zwyczajnego, w 3 z wędzonych łososi i ćwiartki kurczaka. Klaster 2 zawierał izolaty pochodzące z tłuszczu gęsiego, wołowiny, fileta z kurczaka, tuszki kaczki, jelit bażanta, a 4 z wędzonych łososi.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że istnieje duże podobieństwo *L. monocytogenes* wyizolowanych z różnych źródeł. Stwierdzono wysokie pokrewieństwo między izolatami uzyskanymi z mięsa drobiowego i jelit bażanta zwyczajnego. Świadczy to o możliwości szerzenia się zakażenia między środowiskiem ptaków wolnożyjących, hodowlą drobiu lub zakładami produkującymi żywność.

Słowa klucze: *Listeria monocytogenes*, PFGE, One health, wędzony łosoś, bażant zwyczajny

Hodowla *in vitro* zarodków myszy wpływa na funkcję oraz rozkład mitochondriów w ich komórkach.

P. Gręda¹, M. Czernik^{2,3}, D. Winiarczyk²

¹Katedra Nauk Morfologicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie,

²Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt, PAN w Jastrzębcu,

³Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet w Teramo, Włochy,

Mitochondria są organellami, których właściwe funkcjonowanie warunkuje żywotność komórki. Cechą charakterystyczną wczesnych zarodków jest fakt, że pomiędzy zapłodnieniem a implantacją pula mitochondriów w całym zarodku nie przyrasta, więc po każdym bruzdkowaniu potomne blastomery mają ich coraz mniej. Nieprawidłowości w funkcjonowaniu mitochondriów mają wpływ na rozwój samego organizmu, od procesu zapłodnienia, po rozwój zarodkowy i płodowy, jak również łożyska.

Celem niniejszych badań było określenie wpływu typowych warunków hodowli *in vitro* wczesnych zarodków myszy (IVC) na funkcje mitochondriów. Parametry obserwowane w zarodkach grupy IVC porównywano z tymi w zarodkach rozwijających się w warunkach IN VIVO.

Znakowanie mitochondriów barwnikiem Mitotracker Green pozwoliło stwierdzić, że liczba mitochondriów w zarodkach dwukomórkowych IVC była mniejsza niż w zarodkach IN VIVO, chociaż ich lokalizacja i rozkład były podobne w obu grupach. Mitochondria w komórkach blastocysty IN VIVO tworzyły wydłużoną sieć w obrębie całej cytoplazmy, podczas gdy w komórkach blastocysty IVC były pofragmentowane, zaokrąglone i zgrupowane w obszarze okołojądrowym. Także ruchliwość mitochondriów w obrębie cytoplazmy komórek była wyraźnie niższa wśród blastocyst IVC.

Liczba kopii mitochondrialnego DNA w obu grupach zarodków była podobna na wczesnym etapie rozwoju, jednak na etapie blastocysty w grupie IN VIVO była ona wyraźnie wyższa. Badano również ekspresję białek biorących udział w procesach fuzji i fragmentacji mitochondriów przy użyciu technik western blot i immunocytochemii. Rezultaty wskazywały, że hodowla *in vitro* wpływa na obniżenie poziomu ekspresji białek *Mfn1* i *Mfn2* zaangażowanych w procesy fuzji mitochondriów, jednak nie zmienia poziomu białka *Opal* związanego z fragmentacją mitochondriów.

Wyniki badań pokazują, że powszechnie stosowany w laboratoriach system hodowli *in vitro* wczesnych zarodków myszy zaburza funkcjonowanie mitochondriów obecnych w jego komórkach, co pociąga za sobą obniżoną żywotność zarodków. Zagadnienie to jest szczególnie ważne w kontekście działań prowadzonych w klinikach wspomaganego rozrodu.

Słowa kluczowe: mitochondria, zarodki, hodowla *in vitro*;

Finansowanie badań: NCN GA 2016/21/D/NZ3/02610, NCN 2019/35/B/NZ3/02856;

Potencjalna rola czynnika hamującego migrację makrofagów *Dirofilaria repens* w układzie pasożyt - żywiciel

J. Karabowicz¹, E. Długosz¹, M. Wiśniewski¹

¹ Katedra Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie

Dirofilarioza podskórna to pasożytoza psów przenoszona przez komary, której czynnikiem etiologicznym jest *Dirofilaria repens*. Pasożyt ma również potencjał zoonotyczny i może powodować inwazje u ludzi. Dorosłe nicienie bytują głównie w podskórnej tkance łącznej w organizmie żywiciela ostatecznego. Inwazja bardzo często przebiega bez wyraźnych objawów klinicznych i diagnozowana jest przypadkowo, co pozwala sądzić, że *D. repens* efektywnie hamuje odpowiedź immunologiczną żywiciela.

Ortolog ludzkiego czynnika hamującego migrację makrofagów (*macrophage migration inhibitory factor*, MIF) wykryto u wielu gatunków pasożytów, w tym u filarii z rodzajów *Brugia*, *Wuchereria* i *Onchocerca*. MIF jest cytokiną prozapalną o plejotropowym działaniu, która jest kluczowym regulatorem prozapalnej odpowiedzi immunologicznej. Rola ortologów tego białka produkowanych przez pasożyty nie jest do końca poznana. Pojedyncze doniesienia wskazują, że pełnią one istotną funkcję w unikaniu odpowiedzi immunologicznej żywiciela i immunomodulacji.

Celem badań było uzyskanie białka rekombinowanego *Dre*-MIF-1 oraz zbadanie jego potencjalnej roli w układzie pasożyt-żywiciel przez ocenę jego ekspresji w różnych stadiach rozwojowych pasożyta, ocenę jego zdolności do wzbudzania produkcji przeciwciał oraz wpływ na profil cytokin wydzielanych przez makrofagi. W tym celu rekombinowane białko uzyskano w bakteryjnym systemie ekspresji oraz oczyszczono za pomocą chromatografii powinowactwa oraz zbadano obecność wybranych klas przeciwciał (IgG całkowite, IgG1, IgG2, IgE, IgM) rozpoznających r*Dre*-MIF-1 w surowicach naturalnie zarażonych psów. Zbadano także wpływ tego białka na profil wydzielanych cytokin przez makrofagi THP-1.

Wykazano wysoki poziom ekspresji *Dre-mif-1* w stadium dorosłym pasożyta oraz specyficzne rozpoznawanie tego białka przez przeciwciała psa klasy IgG1, co sugeruje znaczącą rolę w przebiegu inwazji. Hipotezę tę potwierdziły eksperymenty *in vitro* z wykorzystaniem makrofagów THP-1, które wskazują na niejednoznaczny udział w regulowaniu odpowiedzi Th1/Th2/Threg przez *Dre*-MIF-1. Badane białko pobudza różnicowanie makrofagów w kierunku fenotypu M1 i dodatkowo uwrażliwia te komórki na działanie LPS. Natomiast jego działanie na komórki pobudzone wstępnie przez LPS jest odwrotne – hamuje wydzielanie prozapalnych cytokin.

Uzyskane wyniki są zgodne z opisanymi w literaturze badaniami dotyczącymi ortologów MIF u innych gatunków pasożytów i potwierdzają immunomodulacyjne właściwości tej cząsteczki.

Słowa kluczowe: czynnik hamujący migrację makrofagów, dirofilarioza, immunomodulacja, makrofag, białko rekombinowane

Wpływ wirusa ektromelii na formowanie i organizację przestrzenną struktur adhezyjnych w mysich komórkach dendrytycznych – model *in vitro*

Z. Biernacka¹, K. Gregorczyk-Zboroch¹, I. Lasocka², A. Ostrowska³, J. Struzik¹, M. Gieryńska¹, F.N. Toka^{1,4}, L. Szulc-Dąbrowska¹

¹Katedra Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie,

²Katedra Biologii Środowiska Zwierząt, Instytut Nauk o Zwierzętach, SGGW w Warszawie,

³Katedra Nanobiotechnologii, Instytut Biologii, SGGW w Warszawie,

⁴Katedra Nauk Biomedycznych, Szkoła Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Rossa w Saint Kitts and Nevis.

Wirus ektromelii (ECTV) to duży DNA wirus należący do rodzaju *Orthopoxvirus* z rodziny *Poxviridae*, który wywołuje śmiertelną dla myszy ospę. ECTV stanowi doskonały model do badania immunobiologii ortopokswirusów, w tym ich interakcji z cytoszkieletem komórki gospodarza. Komórki dendrytyczne (DC) to profesjonalne komórki prezentujące antygen (APC), których zadaniem jest kontrolowanie środowiska okołokomórkowego i wychwytywanie antygenów, a następnie prezentowanie ich limfocytom T we wtórnych narządach limfatycznych. Migracja DC jest możliwa dzięki zmianom w poziomie powierzchniowych cząsteczek adhezyjnych, receptorów chemokin i cytokin oraz rearanżacji białek cytoszkieletu, a także dzięki obecności wyspecjalizowanych struktur adhezyjnych, takich jak podosomy czy struktury ogniskowego przylegania (*focal adhesion* – FA).

Ponieważ podosomy są cechą charakterystyczną niedojrzałych DC, a powstawanie i zanikanie podosomów jest silnie powiązane z funkcjami immunoregulacyjnymi i migracyjnymi DC, oceniono w jaki sposób zakażenie ECTV wpływa na przemianę podosomów, organizację, tworzenie FA oraz migrację i dojrzewanie DC pochodzących ze szpiku kostnego myszy (BMDC).

W tym celu hodowlę pierwotną komórek pochodzenia szpikowego (*bone marrow dendritic cells* – BMDC) uzyskano przy użyciu mrGM-CSF i wykorzystano we właściwych doświadczeniach. Komórki BMDC fenotypowo i funkcjonalnie przypominają cDC, a zwłaszcza populację zapalnych DC, wywodzących się z monocytów. Komórki BMDC (CD11c⁺) uzyskano dzięki separacji magnetycznej w technologii MACS. Komórki zakażano ECTV szczepu Moscow przy MOI=1 i utrwalano w 4, 8, 12, 18 i 24 godzinie zakażenia. W celu scharakteryzowania podosomów i FA w BMDC, białka budujące podosomy i FA barwiono immunofluorescencyjnie. Do określenia fenotypu migracyjnego komórek zastosowano test „gojenia rany”, a analiza cytometryczna pozwoliła określić stopień dojrzewania komórek.

W badaniach wykazano, że ECTV powoduje szybki zanik podosomów we wczesnych stadiach zakażenia, któremu towarzyszy rozwój większych i szerszych FA niż w przypadku komórek kontrolnych. Ponadto „rozpuszczanie” podosomów w zakażonych komórkach nie było powiązane z dojrzewaniem i zwiększoną migracją komórek 2D podczas testu „gojenia rany”. Na tej podstawie można wnosić, że zmiany organizacji struktur adhezyjnych w BMDC mogą zmieniać adhezję/migrację DC podczas niektórych stanów, takich jak zapalenie.

Słowa kluczowe: Wirus ektromelii; komórki dendrytyczne; podosomy; struktury ogniskowego przylegania

Finansowanie badań: NCN UMO-2012/05/D/NZ6/02916.

Wpływ nasyconych oraz nienasyconych kwasów tłuszczowych na aktywność autofagii w hipertroficznym adipocytach

Karolina Ciesielska, Adam Prostek, Małgorzata Gajewska

Katedra Nauk Fizjologicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie,

Otyłość definiuje się jako nieprawidłowe oraz nadmierne gromadzenie się tkanki tłuszczowej, które stanowi ryzyko dla zdrowia i może prowadzić do poważnych patologicznych schorzeń. U osób otyłych obserwuje się przerost (hipertrofia) i rozrost białej tkanki tłuszczowej (WAT). Hipertrofia adipocytów wiąże się ze zwiększonym stresem oksydacyjnym, a także zwiększonym stresem siateczki śródplazmatycznej (ER). Ponadto w hipertroficznym adipocytach odnotowano zwiększoną aktywność autofagii (proces recyklingu wewnątrzkomórkowego). Dieta wysokotłuszczowa sprzyja otyłości, a zawartość kwasów tłuszczowych (FA) w diecie jest istotnym czynnikiem rozwoju zaburzeń metabolicznych związanych z patofizjologią WAT.

Celem pracy było zbadanie wpływu różnych FA na autofagię w mysich adipocytach 3T3-L1, u których hipertrofia została eksperymentalnie zaindukowana. Zróżnicowane adipocyty 3T3-L1 traktowano przez 6 dni kwasem palmitynowym (PA, 0,5 mM) – długołańcuchowym nasyconym kwasem tłuszczowym (LC-SFA) – w celu wywołania morfologii hipertroficznej. Równolegle komórki hodowane bez PA stanowiły kontrolę niehipertroficzną (NHC). Następnie adipocyty inkubowano z różnymi FA przez 48 godzin, po czym metodą Western blot oznaczono poziom białek autofagicznych: LC3, p62, bekliny 1, Atg5. W badaniu wykorzystano następujące FA: SFA: PA (0,5 mM) i kwas laurynowy (LA, 0,5 mM), jednonienasycone kwasy tłuszczowe: kwas oleinowy (OA, 0,5 mM), wielonienasycone kwasy tłuszczowe: kwas eikozapentaenowy (EPA, 0,1 mM) i kwas dokozaheksaenowy (DHA, 0,1 mM). Dodatkowo, w kontroli negatywnej zastosowano chlorochinę (ChQ, 25 μ M) inhibitor degradacji autofagicznej.

Uzyskane wyniki potwierdziły, że dodatek ChQ statystycznie istotnie podwyższa poziom LC3-II (markera autofagii), oraz p62 co świadczy o zaburzonej degradacji autofagicznej. Jednocześnie w adipocytach traktowanych PA zaobserwowano tendencję do podwyższonego poziomu LC3-II, przy stosunkowo wysokim poziomie p62. Adipocyty traktowane EPA oraz DHA wykazywały tendencję do podwyższonego poziomu białka LC3-II, przy obniżonym poziomie p62. Wyniki te nie były istotne statystycznie.

Podsumowując, zastosowany model doświadczalny nie potwierdził jednoznacznie zwiększonej aktywności autofagicznej w hipertroficznym adipocytach. Wyniki sugerują, że kwas palmitynowy zaburza proces degradacji autofagicznej, a wielonienasycone kwasy tłuszczowe pozytywnie regulują aktywność autofagii w hipertroficznym adipocytach,

Słowa kluczowe: otyłość, autofagia, kwasy tłuszczowe

Finansowanie badań: NCN UMO-2018/31/B/NZ9/00658

Sekwencjonowanie nowej generacji (NGS) - korzyści i problemy. Wybrane analizy wykonane w ramach współpracy w projektach badawczych.

DR INŻ. MAGDALENA GUZOWSKA¹

¹Katedra Nauk Fizjologicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie

Sekwencjonowanie nowej generacji (NGS) prężnie rozwija się od ponad 20 lat, a pomimo to corocznie (wraz ze wzrastającą wiedzą i świadomością badaczy) pojawia się szereg nowych metod sekwencjonowania, jak i analizy danych. Obecnie NGS ma znaczenie pomocnicze, umożliwiające wykrywanie przyczyn zaobserwowanych zjawisk biologicznych, jak też coraz większe znaczenie diagnostyczne. Analizie NGS można poddać całe genomy i transkryptomy, jak też ich wybrane elementy. Każdy organizm posiadający kwasy nukleinowe może być przedmiotem badań NGS, niezależnie od aktualnej wiedzy (czy też jej braku) dotyczącej jego genów.

Każdy eksperyment NGS jest dużym wyzwaniem pod względem doboru odpowiedniej metodyki pobierania próbek, przygotowania materiału do sekwencjonowania, metody sekwencjonowania, a przede wszystkim analizy danych. Na przykładzie kilku eksperymentów, wykonanych w ramach współpracy w projektach badawczych, zostaną przedstawione korzyści płynące z wykorzystania NGS, jak i pojawiające się problemy.

W Katedrze Nauk Fizjologicznych znajduje się sekwenator MiSeq (Illumina), który umożliwia np. sekwencjonowanie amplikonów, małych RNA i małych genomów (np. bakteryjnych), natomiast analizowane są również dane pochodzące z sekwencjonowania wykonywanego komercyjnie (np. większych genomów i transkryptomów).

Wykonane analizy umożliwiły m.in.: 1) weryfikację braku efektu off-target, będącego problemem przy modyfikacji DNA metodą CRISPR-Cas9 (sekwencjonowanie linii komórkowych z wyciszonymi izoformami alfa i beta HSP90); 2) analizę wpływu wyciszenia białka SIP/CacyBP na ekspresję genów w komórkach HEK293, która wykazała nierównocенność knock-out'ów, będącą prawdopodobnie wynikiem niekontrolowanej i losowej utraty chromosomów typowej dla tej linii komórkowej; 3) serotypowanie *in silico* bakterii z rodzaju *Salmonella*; 4) charakterystykę zsekwencjonowanych genomów bakterii z rodzaju *Salmonella*, porównanie ich sekwencji do sekwencji zawartych w bazach danych, oraz konieczność weryfikacji uzyskanych danych, szczególnie w przypadku wykorzystywania automatycznych narzędzi analizy dostępnych on-line; oraz 5) ocenę wpływu diety wzbogaconej w beta-glukany na skład mikrobiomu szczurów zdrowych i szczurów z chemicznie wywołanym rakiem jelita grubego (stanowiące szczególne wyzwanie ze względu na wciąż niedoskonałe metody izolacji DNA, istotny wpływ procedury przygotowywania próbek do sekwencjonowania, oraz wciąż rozwijające się metody analizy bioinformatycznej i statystycznej).

Słowa kluczowe: NGS, bioinformatyczna analiza danych mikrobiom, transkryptomika, genomika

Finansowanie badań: brak finansowania.

Wyniki pięcioletniego badania zimowych strat rodzin pszczelich w Polsce w latach 2017-2022

E. Mazur¹, M. Czopowicz², M. Iller³, A. Gajda¹,

¹Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie

²Samodzielny Zakład Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie

³Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Przeprowadzono 5-letnie badanie ankietowe strat rodzin pszczelich (*Apis mellifera*) obejmujące sezony od 2017/18 do 2021/22. Polski monitoring jest częścią europejskiego projektu, koordynowanego przez stowarzyszenie COLOSS (Prevention of honey bee COlony LOSSes). COLOSS zrzesza naukowców i specjalistów z dziedzin związanych z pszczołami (*Apidae*), których celem jest poprawa jakości życia pszczół na poziomie globalnym. Celem badania jest uzyskanie od pszczelarzy danych pozwalających na przeprowadzenie analizy ryzyka utraty rodzin pszczelich. Ankieta była dostępna w formie papierowej i online. Pszczelarze byli zachęceni do jej wypełnienia podczas wykładów, konferencji, na łamach czasopism branżowych i poprzez media społecznościowe. Respondenci wskazali, ile rodzin produkcyjnych zazimowali i ile z tych rodzin utracili w trakcie zimy. Straty rodzin pszczelich były klasyfikowane przez ankietowanych ze względu na przyczynę, a jedną z nich była śmierć pszczół. Pszczelarzy pytano także o podstawowe aspekty gospodarki pasiecznej, m.in. wymianę matek pszczelich czy monitoring pszczół w kierunku pasożyta *Varroa destructor*.

Zebrano pełne dane o 77 867 rodzinach pszczelich od 2169 pszczelarzy. Respondentów podzielono ze względu na ilość rodzin w pasiece i stworzono trzy rodzaje gospodarstw: małe (≤ 25 rodzin), średnie (26-80 rodzin) i duże (> 80 rodzin). Przeprowadzono wieloczynnikową analizę ryzyka utraty rodzin pszczelich dla trzech rodzajów gospodarstw pasiecznych z uwzględnieniem pięciu zmiennych: monitoring warrozy, leczenie warrozy, migracja pszczół, wymiana matek pszczelich i wymiana plastrów gniazdowych na wężę.

Większość pszczelarzy posiadała małe pasieki (56,9%) i odsetek ten nie zmieniał się w trakcie badania. Jednakże, to pszczelarze ze średnimi i dużymi pasiekami zaraportowali więcej rodzin pszczelich (odpowiednio 34686 i 27143 rodziny), niż pszczelarze z małymi pasiekami (16038 rodzin). Najwyższy poziom strat występował w małych pasiekach (14,8%, 95% przedział ufności [95% PU]: 13,2% do 16,7%) i był znacznie wyższy niż w średnich (11,4%, 95% PU: 10,4% do 12,5%) i dużych pasiekach (11,6%, 95% PU: 10,4% do 12,8%). Jediną zmienną, która była statystycznie istotnie związana z obniżeniem poziomu strat we wszystkich rodzajach pasiek była wymiana matek pszczelich.

Słowa kluczowe: *Apis mellifera*, zimowe straty rodzin pszczelich, pszczelarstwo, citizen science

Finansowanie badań: brak

„Opisać nieopisane” – anatomia kliniczna tchawicy Krogulca zwyczajnego (*Accipiter nisus*)

Małgorzata Łabuz, Jakub Masztakowski, Ewa Laskowska, Katarzyna Maj
Opiekun pracy: dr hab. Bartłomiej Jan Bartyzel

Katedra Nauk Morfologicznych
Zakład Anatomii Porównawczej i Klinicznej
Koło Naukowe Medyków Weterynaryjnych
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Medycyna zwierząt egzotycznych, w tym medycyna ptaków, z uwagi na swój dynamiczny rozwój wymaga stałego poszerzania wiedzy z zakresu anatomii tych zwierząt. Dla lekarzy weterynarii zajmujących się leczeniem chorób ptaków domowych oraz nieudomowionych, wiedza z tego zakresu stanowi podstawę właściwej diagnostyki i doboru odpowiednich metod leczenia. Tchawica jako element dolnych dróg oddechowych stanowi drogę transportu powietrza do płuc. Tym samym tworzy ona niezwykle ważny element układu oddechowego, do którego dostęp zewnętrzny, uzyskany w wyniku przeprowadzonej tracheotomii może być istotny w celu przeprowadzenia np. bezpośredniej wentylacji płuc, niejednokrotnie koniecznej w stanach nagłych wynikających z obstrukcji czy zwężenia tego narządu.

Celem badania jest opis morfologii klinicznej tchawicy. Materiał do badań w postaci zwłok krogulców zwyczajnych (*Accipiter nisus*) pozyskano z zasobów Zakładu Anatomii Porównawczej i Klinicznej IWM SGGW oraz Ptasiego Azylu warszawskiego ZOO. Skany tchawic wykonano za pomocą niezwykle dokładnego aparatu micro-CT, a pomiary uzyskanych obrazów zostały nałożone w specjalistycznym programie. W badaniu zmierzono chrząstki tchawicze tego gatunku oraz zestawiono ze sobą wymiary poszczególnych przestrzeni między pierścieniami tchawiczymi. Dodatkowo, zmierzono i zestawiono ze sobą przekroje poprzeczne i podłużne światła tchawicy. Wykonano testy statystyczne.

Zbieranie wyników takich pomiarów i prowadzenie statystyk pozwoli w przyszłości określić m.in. wielkość igieł lub innych narzędzi chirurgicznych koniecznych do przeprowadzenia interwencji medycznych, np. tracheotomii, czy diagnostycznych, takich jak pobranie popłuczyn z tchawicy w celu przeprowadzenia badań laboratoryjnych. Wiedza taka jest zatem istotna dla lekarzy weterynarii pracujących w ośrodkach rehabilitacji dzikich zwierząt czy ogrodach zoologicznych, ponieważ umożliwia ona dokładniejszą diagnostykę, a tym samym coraz lepsze rozpoznawanie chorób oraz dobór metod leczenia.

Słowa kluczowe: krogulec zwyczajny, tchawica, mikrotomografia

Finansowanie badań: środki własne Katedry Nauk Morfologicznych