

PRIMER POLYMELIE PRI TELICI KRIŽANKI S CIKASTIM GOVEDOM

Jana Brankovič^{1*}, Marko Cotman¹, Jernej Šmigoc², Jožica Ježek³

¹Inštitut za predklinične vede, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, ²živinozdravniška ambulanta KRI & ZA d.o.o., Cirkovce, ³Klinika za reprodukcijo in velike živali, Veterinarska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Slovenija

jana.brankovic@vf.uni-lj.si

Polymelia ali nadštevilna ektopična okončina (SEL) je prirojena motnja mišičnoskeletnega sistema, ki se pri živalih lahko pojavi na različnih telesnih področjih. Navadno gre za posamične motnje, redkeje kombinirane z drugimi razvojnimi ali podedovanimi anomalijami. Telica, križanka s cikastim govedom, je imela atrezijo anusa in poleg normalno razvitih dveh prsnih in dveh medeničnih okončin tudi SEL na področju presredka. Izvedla se je kirurška rekonstrukcija anusa in ekscizija SEL, na kateri smo opravili patoanatomsko in genetsko preiskavo (primerjava mikrosatelitskih profilov). Dodatna okončina je bila nepopolnoma razvita, deformirana vstran na področju stopala in nefunkcionalna. Kolčnica, stegenica in golenji kosti so bile izrazito zreducirane, medtem ko so bile kosti stopala precej dobro razvite. Okolico kolčnice je zapolnjevalo maščobno tkivo, mišičnega tkiva in živcev nismo našli. Primerjava med mikrosatelitskimi profili je pokazala popolno ujemanje med aleli in zelo verjetno je ektopična okončina pripadala telici. Pojav polymelie in atrezije anusa pri isti živali nakazuje dedovanje mutiranih genov. Operacija atrezije anusa je živali omogočila normalno življenje, uspešna odstranitev dodatne okončine pa izboljšala njeno počutje in izgled živali. Ta študija primera prvič opisuje polymelio pri teletu v Sloveniji.

Ključne besede: tele; malformacija; atrezija anusa; polymelia; cikasto govedo

Uvod

Pri razvojnih defektih pri govedu najdemo kar v 24% prirojene motnje mišičnoskeletnega sistema. Mednje sodi tudi polymelia ali nadštevilna ektopična okončina (SEL), kjer se pri osebkah razvije več okončin kot navadno. Največkrat gre za eno dodatno okončino, redko dve ali več, ki so lahko pritrjene na različnih telesnih področjih. V primeru dodatne okončine na področju medenice to natančneje imenujemo pygomelia ali dipygus. V literaturi poročajo o 2 do 3,5% incidenci SEL pri porodih telet, jagnjet in kozličkov; večinoma gre za posamične motnje, redkeje kombinirane z drugimi razvojnimi ali podedovanimi anomalijami (1). Dodatna okončina je večinoma slabše razvita, deformirana in nefunkcionalna. Včasih se lahko eden od zarodkov začne razvijati kot himera, ki degenerira do te mere, da ostane od njega samo ena ali več okončin pripetih na drug (razvit) zarodek. Prirojene motnje lahko povzročajo genetski dejavniki (mutacije na genih vključenih v fosforilacijske poti, kromosomske napake), zunanji dejavniki (infekcije, toksini, teratogene kemikalije, radioaktivnost, tehnike osemenjevanja, metabolno neravnovesje) ali kombinacija več dejavnikov (2). Pri atreziji anusa gre za ohranitev tanke opne, ki ob rojstvu prekriva analni kanal in zapira lumen črevesja ter s tem onemogoča defekacijo. Ta študija primera prvič opisuje pojav polymelie pri telici križani s cikastim govedom v Sloveniji.

Material in metode

Anamneza

Telica je bila namenjena pitanju v reji s povprečno 25-30 glav pretežno cikastega goveda v občini Videm na južnem robu Dravskega polja, kjer v reji govedo krmijo z izključno doma pridelano krmo. Pozimi so živali v hlevu in krmljene s senom in travno silažo, sicer se živali prosto pasejo in imajo na voljo suho seno. Vitaminski dodatki v obliki lizalnih kamnov so vedno na voljo. Pri teletu je šlo za umetno osemenitev.

Splošni klinični pregled

Veterinar je aprila 2014 ob kliničnem pregledu novorojene telice, križanke med lisastim in cikastim govedom (LS/CK)CK opazil atrezijo anusa in dodatno izraslo okončino zadaj v bližini repa. Telica se je napenjala zaradi onemogočene defekacije, vendar je bila živahna, odzivna, z rahlo povišano frekvenco pulza, temperaturo 38,6 °C in normalno frekvenco dihanja. Pri avskultaciji pljuč in srca ni bilo zaznati nenormalnosti. Popek je bil brez posebnosti. Anus je bil popolnoma zaprt (popolna atrezija, *leva slika*). Strukture in odprtime sečno-spolnega aparata (preddvor nožnice, zunanje ustje sečnice; podsečnični mošnjček, sramnica z ustnicami, presredek in ščegetavček) so bile normalno razvite in žival je urinirala brez posebnosti. Telica je imela normalno razviti dve prsni in dve medenični okončini, poleg pa še dodatno slabo razvito in močno okrnjeno okončnino, ki je bila na trup pritrjena brez sklepne povezave na področju presredka (*regio perinealis*), lateralno od vulve na desni strani (*leva slika*). Gibljivost sklepov dodatne okončine je bila močno omejena, motorične kontrole in občutljivosti na dotik v temu delu ni bilo.

Operativni poseg

Pri telici stari tri dni se je v splošni in lokalni anesteziji izvedla kirurška rekonstrukcija anusa (odstranitev opne) in s kirurško ekcizijo odstranila dodatna okončina (*desna slika*). Pred njeno popolno odstranitvijo je bilo potrebno podvezati žilo, ki je prehajala na to okončnino, domnevno eno od perinealnih vej *a. pudende interne*.

Patoanatomska in genetska preiskava

Po kirurški odstranitvi smo SEL izmerili, odstranili kožo, podkožno tkivo in druge strukture ter termično obdelali kosti.

Vzorci DNA smo izolirali iz tkiva SEL in iz krvi telice s kitom Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega). Iz vzorcev DNA smo s PCR pomnožili mikrosatelite z uporabo kita Finzymes Bovine Genotypes Panel 1.2 (Finzymes). Ločevanje pridobljenih fluorescentno označenih produktov PCR smo opravili z avtomatskim genskim analizatorjem ABI PRISM 310 Genetic Analyser (Applied Biosystems). Rezultate kapilarne elektroforeze smo analizirali s programom GeneMapper® v3.7.

Rezultati

Telico smo spremljali šest mesecev po kirurškem posegu, v tem času ni imela pooperativnih komplikacij. Kirurške rane so se normalno zacelile in vzpostavila se je normalna defekacija. Telica je normalno priraščala.

Patoanatomska preiskava

je pokazala, da je bila dodatna okončina nepopolno razvita, dolžine približno 40 cm ter enakomerno poraščena z dlako, stopalo se je končalo z dvema parkljema. Okončina je bila tanka in deformirano ukrivljena vstran na področju stopala. Glede na obliko prepoznanih kosti, ki naj bi ustrezale kolčnici in zadnjim stopalnicam (tj. zadnji kračnici) ter na podlagi oblikovanosti sklepnih ploskev za nartnice na bazi kračnice sklepamo, da je šlo za dodatno zadnjo desno okončino. Področje kolčnice, stegna in goleni je bilo zelo zreducirano in slabo razvito (na nekaterih delih so bile kosti neprepoznave), medtem ko je bila večina kosti stopala (stopalnice, predvsem pa prstnice) precej dobro razvita. Področje kolčnice je bilo zapolnjeno s precejšnjo količino maščobnega tkiva, med maščobo pa smo našli votlino velikosti približno 5 x 3 cm, ki je bila zmerno napolnjena z redko in bistro rdečkasto tekočino. Mišično tkivo na dodatni okončini ni bilo razvito. Živcev na okončini nismo našli, okončnino je s trupom povezovala tudi večja žila, ki se je končala v maščobi na področju kolčnice. Druga večja žila se je začela v področju nad skočnim sklepom in je potekala po dorzalni strani stopala (v *sulcusu longitudinalis dorsalis* kračnice) do parkljev, kjer se je razcepila na dva kraka, ki sta potekala do obeh distalnih prstnic - parkeljnic (*os ungulare*). Kolčnica je bila popolnoma zraščena kost, dolga 12,4 cm in slabo razvita, vendar še vedno oblikovana tako, da se je dalo določiti kranialni in kaudalni konec kosti. Nanjo se je prislanjala kost v obliki polovične krogle, ki bi lahko ustrezala stegnenični glavi. Stegnenica je bila oblikovno in funkcionalno nerazvita, domnevno sta jo sestavljali dve ločeni kosti nepravilnih ovalnih oblik (polovična krogla, na katero se je prislanjala kost nepravilne piramidalne oblike). Nanjo se je prislanjala manjša trikotna koščica dolžine 4 cm, ki bi lahko ustrezala golenici. Stika oz. sklepne povezave med golenjo kostjo in nartnicami ni bilo (neomejeno premikanje). Stopalo je bilo (v primerjavi s stebrom okončine) bolje razvito. Dokaj razvite nartnice v treh vrstah so bile med sabo koščeno zraščene, a se je dalo razbrati levo petnico in delno razvito skočnico. Distalna vrsta nartnic (*os tarsale I in II+III*) je po vsej verjetnosti manjkala, saj se je na zraščeno kost nartnic pod kotom s sklepom pripravala kračnica. Kračnica je bila najbolj razvita kost dodatne okončine (podobna dvojni cevi, na prečnem prerezu nakazna kvadratasto obliko). Sklepna ploskev na bazi kračnice je bila oblikovana pod kotom, da se je prilegala nartnicam. Longitudinalna žlebova na dorzalni in plantarni strani sta bila nakazana. Na distalnem okrajku so bile sklepne ploskve za proksimalno prstnico nepopolno razvite, predvsem medialni sklepni valj, saj sklepna ploskev in sagitalni greben na njej sploh nista bila izražena. Druge stopalnice ni bilo razvite. Prstnice so bile precej dobro razvite (predvsem za četrti prst), vendar je bil dlančnično-prstnični sklep precej ukrivljenim proti medialni strani.

Genetska preiskava

Primerjava alelov posameznih mikrosatelitov iz DNA, izolirane iz SEL, in DNA, izolirane iz krvi telice, je pokazala ujemanje vseh alelov posameznih mikrosatelitov. Na elektroferogramu ni bilo opaziti dodatnih vrhov, ki bi lahko nakazovali možnost mozaicizma.

Razprava

V tej reji je bil to prvi primer prirojene mišičnoskeletne motnje, zato pojav dveh različnih prirojenih motenj pri teletu križancu s cikastim govedom (pygomelia in atrezija anusa) kaže bolj na dedovanje mutiranih genov kot zunanjih vplivov okolja med osemenitvijo in



Slika: Telica takoj po kotitvi z atrezijo anusa in dodatno ektopično okončino (levo) in telica dva tedna po kirurški odstranitvi dodatne okončine (desno)

brejostjo. Vzrok za polymelio pri sesalcih so lahko kromosomske napake ali mutacije na genih. Mutacije so pri enem ali več genih vključenih v fosforilacijske poti. Te poti regulirajo ubikvitinacijo in posledično razgradnjo proteinov, ki kontrolirajo prehod proteinov, odgovornih za aktivacijo transkripcije genov vključenih v celični cikel in apoptozo, v jedro. Omenjene mutacije na genih in kromosomske napake so lahko tudi posledica zunanjih teratogenov. Primer polymelie pri telici črno bele pasme so opisali Hirsbrunner in sod. (3), vendar je šlo pri njihovem primeru za dodatno sprednjo okončino in telica ni imela drugih malformacij. Po podatkih švicarskih rejских združenj črno belega, lisastega in rjavega goveda se polymelia pojavlja izjemno redko (incidenca pod 0,004%) (3). Dodatna ektopična okončina se je pri naši telici izkazala za zadnjo desno nogo, pritrjeno na trup brez sklepne povezave. Proksimalni del okončine do skočnega sklepa je bil izrazito zreduciran, medtem ko je bilo stopalo dobro ohranjeno, le ukrivljeno v medialno smer. Primerjava profila mikrosatelitov je pokazala popolno identičnost med aleli DNA izolirane iz SEL in krvi telice, kar kaže, da ektopična okončina zelo verjetno pripada telici, vendar pa ne moremo izključiti himere enojajčnega dvojčka. Glede na pretekla poročanja bi dodatna okončina z rastjo lahko povzročala težave pri lokomociji živali (4). Veliko prirojenih motenj pri prežvekovalcih se lahko uspešno sanira s kirurškimi posegi, kar vodi v boljše počutje in videz živali (4).

Starič in Zadnik sta v Sloveniji opisala en primer atrezije anusa in pet primerov atrezije kolona pri moških teletih črno bele pasme (5). V našem primeru je operacija anusa telici omogočila normalno iztrebljanje in s tem preživetje, poleg tega pa je uspešna operativna odstranitev SEL, kljub težavni lokaciji v bližini zunanjih spolovil, preprečila morebitne poškodbe ter živali omogočila nemoteno nadaljnje življenje.

Reference

1. Villagomez DA, Alonso RA. A distinct Mendelian autosomal recessive syndrome involving the association of anotia, palate agenesis, bifid tongue, and polydactyly in the dog. *Can Vet J* 1998; 39: 642-3.
2. Newman SJ, Bailey TL, Jones JC, Digrassie WA, Whittier WD. Multiple congenital anomalies in a calf. *J Vet Diagn Invest* 1999; 11: 368-71.
3. Hirsbrunner G, Keller C, Dolf G. Polymelie bei einem Holstein Friesian Kalb. *Schweizer Archiv Tierheilkunde* 2002; 144: 289-91.
4. Hussein KE, Ali MM, Galal AF. Successful surgical treatment of a supernumerary ectopic limb in a cattle calf. *Eur J Vet Med* 2012; 1: 28-35.
5. Starič J, Zadnik T. Atrezije črevesa pri teletih. Klinični primeri atrezij črevesa na Kliniki za prežvekovalce v Ljubljani. *Veterinarske novice* 2001; 27: 385-94.

Case report: Polymelia in a newborn calf crossbreed with Cika cattle

Polymelia or supernumerary ectopic limb (SEL) is a congenital anomaly of musculoskeletal system that can be found at different animal body regions. This malformation usually occurs solitarily or rarely together with other developmental/ inheritable anomalies. In the case of a newborn female calf (crossbred with Cika cattle) anal atresia together with SEL attached to the perineal region was observed. We performed surgical reconstruction of the anal canal and the SEL removal following pathoanatomical diagnosis and genetic test (microsatellite profiles). The SEL was underdeveloped, partly deformed and not functional. The hip bone, *femur*, *tibia* and *fibula* were extremely reduced while the tarsals, metatarsals and phalanges were developed almost normally. Around the hip bone a large amount of fat tissue was present while the limb was devoid of muscular tissue. Comparisons between microsatellite profiles showed complete similarity of alleles therefore the SEL most likely belongs to the calf. The coincidence of polymelia and anal atresia in the same animal points out the inheritance of abnormal genes. The operation of anal atresia enabled the animal normal life and the successful removal of the SEL improved her wellbeing and appearance. The present paper is the first report of polymelia in a cattle calf in Slovenia.

Key words: calf; congenital anomaly; anal atresia; polymelia; cika cattle