

MEDYCYNA WETERYNARYJNA

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CZASOPISMO POŚWIĘCONE NAUCE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ
 ZAŁOŻONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr Ryszard BADURA, doc. dr Jerzy MAZURCZAK,
prof. dr Abdon STRYSZAK, doc. dr Stanisław WOŁOSZYN — sekretarz naukowy.

RADA PROGRAMOWA

Prof. dr Władysław BIELAŃSKI, prof. dr Mieczysław CENA, prof. dr Bronisław GANCARZ, dr Kazimierz GOLISZEWSKI, prof. dr Roman HOPPE, prof. dr Tadeusz JASTRZĘBSKI, prof. dr Lech JAŚKOWSKI, doc. dr Adam KĄDZIOLKA, płk dr Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr Stanisław KRAUSS, prof. dr Józef KULCZYCKI, prof. dr Zdzisław LARSKI, prof. dr Jerzy LIPANOWICZ, dyr. dr Henryk OBERFELD, prof. dr Wincenty PEZACKI, prof. dr Wiktor STEFANIAK, prof. dr Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr Aleksander ZAKRZEWSKI, prof. dr Eugeniusz ŻARNOWSKI

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZDZISŁAW LARSKI
Olsztyn

Czynniki wpływające na rozwój nowotworów o etiologii wirusowej

W poprzednim artykule (12) omówiono etiologiczną rolę i mechanizm onkogenego działania wirusów. To działanie może być zarówno pobudzane jak i hamowane przez szereg czynników.

Dyspozycja genetyczna odgrywa znaczną rolę, co wykazano na przykład w odniesieniu do wirusów leukozy drobiu. Znane są określone linie hodowlane kur, wykazujące szczególną naturalną wrażliwość, jak też z drugiej strony linie ptaków o dużej oporności. Na przykład wirus erytroblastozy wywołuje u kur rasy Leghorn — linii 15 już po 48 godzinach schorzenie, które kończy się śmiercią w około 9 dni po zakażeniu; natomiast kury tej samej rasy Leghorn ale innych linii (linie 6 i 7), a także rasy Plymouthrock wykazują praktycznie w 100% oporność na wirus (cyt. wg 17). Podobne różnice wykazano w odniesieniu do choroby Mareka (cyt. wg 5). To samo stwierdzono u myszy wobec wirusa raka gruczołu mlecznego; tu udało się przez odpowiednie zabiegi hodowlane uzyskać linie o specjalnie dużej wrażliwości, potrzebne do prac doświadczalnych.

Wpływy hormonalne wywierają również wpływ na rozwój procesu nowotworowego. Wykazano to przy wirusie Bittnera (owariotomia u młodych myszy zapobiegała rozwojowi raka) oraz przy leukemii myszy (hamujące działanie podawania męskich hormonów lub usuwania grasicy). Tu także wspomnieć należy o większej wrażliwości kur niż kogutów na zakażenie wirusem choroby Mareka (20). Ciekawe są doświadczenia Burmestera (3) oparte na

stwierdzeniach innych autorów, że torba Fabrycjusza ptaków odgrywa zasadniczą rolę w rozwoju białaczki limfatycznej; przypuszcza się, że tu powstaje nowotwór pierwotny i jego komórki powodują przerzuty do życiowo ważnych narządów i wycięcie torby uniemożliwia powstanie tego procesu nowotworowego. Otóż Burmester wykazał możliwość hamowania rozwoju torby Fabrycjusza przez stosowanie podskórne androgenów (propionianu testosteronu) w bardzo wczesnym okresie życia piskląt (od pierwszego dnia), a także przez częściowe zanurzanie jaj w trzecim dniu wylęgania w alkoholowym roztworze tego hormonu. Zabiegi te powodowały znaczne, a nawet w pewnych doświadczeniach zupełne, hamowanie powstawania limfatycznej białaczki u dorosłych ptaków. Sposób ten nie może jednak znaleźć na razie praktycznego zastosowania, gdyż zanurzanie jaj w roztworze hormonu zmniejsza wylęgłość o 50—60%, a podawanie podskórne wpływa ujemnie na nieśność oraz powoduje wzrost śmiertelności na innym tle (pozabiałaczkowym).

Młody wiek gospodarza jest prawie z reguły czynnikiem sprzyjającym rozwojowi nowotworu po zakażeniu wirusem onkogenym, co można odnieść zarówno do wpływów hormonalnych jak i głównie immunologicznych, ale może to być również determinowane specjalną wrażliwością młodych komórek. Wyjątek stanowi wirus erytroblastozy kur, wobec którego wrażliwość ptaków wzrasta z wiekiem (cyt. wg 17).

Również stress wywierać może wpływ na częstość rozwoju nowotworów o etiologii wirusowej. Stwierdzono to u myszy zakażonych wirusem polio w warunkach stressu dźwiękowego a także emocjonalnego. Ten ostatni uzyskiwano przez umieszczanie zwierząt w specjalnych klatkach wahadłowych z metalową podłogą pod niskim napięciem (30 V), włączanym na krótko po sygnale, na zmianę (co 5 minut) w przeciwległych częściach klatki. Myszy nauczyły się bardzo szybko unikać tego bodźca, przeskakując tuż po sygnale na drugą stronę klatki. Te warunki zapewniały zachowanie stałego napięcia emocjonalnego (stress „wyczonego unikania”) a zredukowanie do minimum stressu fizycznego i pozwalały utrzymać normalny stan odżywienia zwierząt (9).

Żywnienie może również wywierać wpływ na pojawienie się procesu nowotworowego. Biely i March (1) wykazali, że w warunkach naturalnej ekspozycji (w endemicznym środowisku) zapadalność na białaczkę jest większa u kur trzymany na bogatej diecie niż u żywionych skapo. Dalsze badania tych autorów pozwoliły stwierdzić że karmienie wzbogaconym „startem” wyraża się nie tylko większą zapadalnością lecz także wcześniejszym występowaniem białaczki; to działanie bogatej diety następuje w okresie zakażenia wirusem nowotworowym lub powstania nowotworu, a nie w okresie jego wzrostu. Również częstość występowania mięsaka Rousa zmniejsza się w miarę wyczerpania się rezerw kwasu foliowego w organizmie kur (21). Pewne dane z piśmiennictwa (cyt. wg 1) wskazują, że także wzrost nowotworów można wyraźnie opóźnić przez skrajne ograniczenie diety lub żywienie niedoborowe. Stwierdzono na przykład, że dieta pozbawiona tiaminy, ryboflawiny lub pirydoksyny opóźniała wzrost mięsaka (Sarcoma-180) u białych myszy; to hamowanie ustępowało każdorazowo po dodaniu brakujących witamin do karmy. Duże dawki witaminy A hamują rozwój brodawczycy Shope'a u królików (cyt. wg 14).

Również zakażenie innymi czynnikami może wpływać na rozwój nowotworu. Katzen i wsp. (11) zebrali obserwacje terenowe wskazujące na wzrost ilości przypadków choroby Mareka po likwidacji zakażeń PPL0 (mykoplazmozy) w dużych fermach drobiu, a następnie w warunkach doświadczalnych dowiedli, że *Mycoplasma gallisepticum* zawiera czynnik powodujący przynajmniej przejściowe, a być może i trwałe ustąpienie objawów pewnych postaci choroby Mareka u kurcząt rasy biały Leghorn, zakażonych w warunkach naturalnych. Także zakażenie pewnymi wirusami nienowotworowymi może hamować powstanie lub wzrost nowotworu, a nawet powodować jego rozpad (onkolizę); u podstaw tego hamującego działania leżeć może kilka różnych mechanizmów, między innymi wzrost oporności nieswoistej

wskutek powstawania interferonu działającego na wirus onkogenny.

Czynnikiem sprzyjającym powstaniu i rozwojowi nowotworów są również promienie jonizujące. Trudno na razie powiedzieć, czy ten fizyczny czynnik działa sam czy może łącznie z innymi; pewne obserwacje, a także wyniki doświadczeń wskazują, że może mieć tu miejsce indukcja bezobjawowego zakażenia wirusowego. Kajima i Pollard (10) wykazali u gnotobiotycznych myszy po ekspozycji całego ciała na promienie X, rozwój białaczki limfatycznej (uprzednio badania elektronomikroskopowe dowiodły obecności cząstek wirusa w tkankach tych zwierząt).

Synergizm chemicznych kancerogenów i wirusów jest dalszym istotnym czynnikiem wpływającym na rozwój procesu nowotworowego. Wiadomo, że szereg substancji zarówno naturalnego pochodzenia jak i syntetycznych oraz stanowiących produkty uboczne industrializacji, wywiera działanie onkogenne, a pewne fakty wskazują na ich współdziałanie z wirusami. Takie skojarzone działanie wykazano w doświadczeniach na zwierzętach (cyt. wg 2). Rozwijają się w tych przypadkach znacznie więcej nowotworów i powstają one szybciej niż przy oddzielnym działaniu tych czynników. Stwierdzono to u wirusów papillomy królików Shope'a i polio myszy, u dwu „zwykłych” (nienowotworowych) wirusów — ospy krów i wirusa herpes, u myksowirusów, wirusa polio, zachodniego Nilu i Bunyamvera.

Dla wyjaśnienia istoty skojarzonego działania wirusów i chemicznych kancerogenów podaje się kilka możliwych mechanizmów (24). Pierwszy zakłada, że w następstwie zakażenia wirusowego zwiększa się efektywność dawki czynnika chemicznego w następstwie wzrostu przepuszczalności skóry lub obniżenia zdolności detoksykacyjnych ustroju. Druga koncepcja — „podwójnego bodźca” wobec aparatu genetycznego komórki zakłada raczej zmiany jakościowe, a nie czysto ilościowe.

Trzecia możliwa przyczyna to działanie immunodepresyjne kancerogenu (hamowanie procesów odpornościowych), które ułatwia wirusowi ujawnienie właściwości onkogennych. Ta ostatnia koncepcja jest najmniej prawdopodobna mimo, że przemawiają za nią pozornie pewne dane z prac doświadczalnych z użyciem metylcholantrenu. Tu jednak słuszniejsze byłoby przyjęcie nie działania hamującego reakcję immunologiczną, a produkcję interferonu, gdyż stwierdzono takie działanie metylcholantrenu (cyt. wg 18).

Badania Martiniego i wsp. (13) wskazują na spotęgowanie chemicznej kancerogenezy przez wirusy ECHO, polio i Coxsackie; autorzy sugerują, że „zwykłe” (nienowotworowe) wirusy mogą być naturalnymi przenosicielami, wektorami kancerogenów, do wrażliwych komórek.

Wiązanie tych substancji przez cały wirus polio (ale nie przez jego kwas nukleinowy) stwierdzono *in vitro*. Uprzednie uodpornienie myszy przeciw wirusowi powodowało, że późniejsze wprowadzenie go z karcinogenem nie wywołało powstania nowotworu; autorzy wyciągają stąd wniosek, że może dałoby się zredukować ilość procesów nowotworowych przypisywanych obecnie chemicznym karcinogenom przez uodpornianie przeciw wirusom.

Komitet Ekspertów WHO (24) uważa, że nie ma jeszcze podstaw do klasyfikowania tych działających w sposób skojarzony czynników na „indukujące” i „aktywujące” w ogólnie przyjętym sensie. W większości doświadczeń skojarzone działanie wirusa i kancerogenu następuje równocześnie, a np. przy wirusie herpes i Zachodniego Nilu równoczesne podanie obu czynników jest bezwzględny warunkiem wzmocnienia efektu onkogenego. Ponieważ termin „kokancerogeneza” używa się na ogół wtedy jeżeli „indukcję” można oddzielić czasowo od „aktywacji” uważa się za właściwsze nazywanie opisywanych zjawisk „skojarzonym działaniem”.

Próby interpretacji mechanizmu wzajemnego oddziaływania chemicznego karcinogenu i wirusa onkogenego podaje Hughes (8). Część doświadczalna pracy tego autora dostarcza pewnych dowodów na poparcie hipotezy, że chemiczny karcinogen wiąże się z represorem wirusowej onkogenezy, co z kolei wywołuje nowotworowe działanie wirusa.

Rola czynników immunologicznych jest bezsporna. Szczególnie dużą wrażliwość nowo narodzonych zwierząt na zakażenie wirusem nowotworowym należy tłumaczyć tym, że są one w pierwszych dniach życia immunologicznie niekompetentne i to prowadzi do immunologicznej tolerancji oraz do powstania guza; natomiast próby zakażenia zwierząt starszych dają wyniki ujemne (chyba, że zniszczymy ich aparat immunologiczny np. promieniami X), gdyż transformacja nowotworowa komórek powoduje pojawienie się w nich nowego antygeny, który jako „obcy” stanowi bodziec dla immunologicznie sprawnego (kompetentnego) organizmu; powstające przeciwciała niszczą komórki zawierające takie obce antygeny i nowotwór nie rozwija się. Tym tłumaczy Habel (6) brak onkogenezy po wprowadzeniu wirusa polyomy dorosłym myszom i rzadkość naturalnych nowotworów polyoma u tych zwierząt.

Odporność w procesach nowotworowych o etiologii wirusowej

Wyróżnić tu trzeba odporność przeciw wirusowi onkogenicznemu i odporność przeciw tkance nowotworowej. Oba te zjawiska nie są ze sobą związane, o czym świadczy chociażby brak

wzajemnej zależności w czasie. Odporność przeciw wirusowi pojawia się wcześniej i istotą jej jest obecność przeciwciał krążących we krwi; natomiast odporność przeciw komórkom nowotworowym występuje później i ma charakter komórkowy.

Mechanizmy humoralnej odporności przeciw wirusom onkogenicznym nie różnią się od znanych przy innych wirusach.

Zjawiska immunologiczne leżące u podstaw odporności przeciwnowotworowej nie zostały jeszcze całkowicie dobrze poznane. Największą trudność stanowiło znalezienie sposobu odróżniania swoistej reakcji organizmu na nowotwór od reakcji tegoż organizmu na transplantat normalny. Dopiero użycie do tych prac linii myszy izogenetycznych, otrzymanych przez chów wsobny, pozwoliło oddzielić odczyn organizmu na antygeny nowotworowe od reakcji na obce ale normalne antygeny komórkowe (24).

Dorośle, w odróżnieniu od immunologicznie niekompetentnych noworodków, myszy, chomiki i szczury zakażone wirusem polyomy, nie reagują rozwojem procesu nowotworowego, natomiast rozwija się u nich odporność na izotransplantaty nowotworu wywołanego tym wirusem; to uodpornienie jest następstwem działania samego wirusa i ma charakter swoisty, to znaczy nie powoduje odporności na nowotwory wywołane przez inne wirusy ani indukowane przez czynniki chemiczne. Aktywność antygenowa wirusów nowotworowych związana jest z ich strukturą. Wirusy zawierające DNA są lepszymi antygenami, natomiast zawierające RNA mają słabsze działanie, prawdopodobnie dlatego, że ich swoiste determinanty są przykryte otoczką pochodzącą od komórek gospodarza (cyt. wg 16).

Odczyn immunologiczny na obce antygeny w transformowanych komórkach prowadzi w efekcie końcowym do usunięcia tych ostatnich z organizmu. Ta eliminacja powodowana jest przez te same komórkowe odczyny odpornościowe, które odpowiedzialne są za nadwrażliwość typu późnego i za reakcję na izolowane przeszczepy tkankowe.

Stan odporności zarówno czynnej jak i biernej wyraża się niewrażliwością organizmu na wprowadzenie indukowanych przez ten sam wirus komórek, różnych pod względem morfologicznym nowotworów (mięsaki, włókniakomięsaki, raki, naczyniaki itd), wywołanych nawet u różnych zwierząt.

Swoiste antygeny indukowane przez wirus, warunkujące odporność wykazano w nowotworach wywołanych u chomicząt wirusem SV₄₀ i adenowirusem 12. i przy brodawkach Shope'a u królików (24); szczególnie interesujące są te ostatnie, gdyż stwierdzono, że wprowadzenie królikom tkanki tych nowotworów zwiększa częstość zanikania brodawek pierwotnych, indukowanych wirusem. Odporność przeciw no-

wotworom wywoływanych przez wirusy zawierające RNA uzyskiwano przez uprzednie wprowadzenie zwierzętom-biorcom wirusa albo podprogowych dawek żywych komórek nowotworowych wywołanych danym wirusem (24).

Hamowanie i eliminacja komórek nowotworowych, wprowadzonych do odpornego organizmu zależy, jak to już powiedziano, od obecności w organizmie biorcy immunologicznie czynnych komórek (swoiście uczulonych limfocytów węzłów chłonnych) a efekt ich działania uwarunkowany jest ich ilością i bezpośrednim kontaktem z komórkami nowotworowymi. Tak jest prawie we wszystkich układach za wyjątkiem białaczek indukowanych przez wirus, przy których istotną rolę odgrywają czynniki humoralne (cyt. wg 7); prawdopodobnie jest to związane z większą wrażliwością komórek białaczkowych na przeciwciała. Znaczenie zarówno czynnej jak i biernej odporności humoralnej wykazano też u psów w przebiegu mięsaka narządów płciowych (19).

Próby uodparniania przy pomocy swoistych nowotworowych antygenów transplantacyjnych (TSTA) dały w niektórych przypadkach nieoczekiwane zjawisko. Zamiast spodziewanego hamowania występowało pobudzenie wzrostu nowotworu („immunological enhancement”). To samo stwierdzono też w następstwie biernego przeniesienia surowicy odpornościowej (cyt. wg 2). Pobudzające działanie przypisuje się frakcji przeciwciał 7S (poddawanie surowicy odpornościowej działaniu 2-merkaptotetanolu nie znosi tej właściwości).

Mechanizm zjawiska polega prawdopodobnie na łączeniu się przeciwciał ze swoistymi antygenami komórek nowotworowych. Takie zablokowanie antygenów, z jednej strony zmniejsza ich stymulujące działanie na przynależne węzły chłonne, a z drugiej utrudnia bezpośrednio działanie immunologicznie czynnych komórek na takie zablokowane antygeny (cyt. wg 7). Zjawisko wzmaganie wzrostu w następstwie czynnego uodparniania stwierdzono dotychczas tylko w kilku układach i być może nie ma ono charakteru powszechnego.

Ważną rolę komórkowych mechanizmów obronnych w procesach nowotworowych potwierdzają obserwacje wskazujące, że surowica przeciwlifocytarna (tak cenna w zapobieganiu odrzucaniu przeszczepów) sprzyja rozwojowi nowotworów u zwierząt doświadczalnych.

Duże znaczenie mają dane dotyczące onkolizy odpornościowej. Istota zjawiska polega na tym, że zakażenie komórek nowotworu wirusem nienowotworowym zmienia je tak, że powstające przeciwciała w organizmie powodują ich zniszczenie. Na przykład myszy uodparnione wirusem choroby Newcastle wykazywały większą oporność niż normalne zwierzęta na komórki białaczkowe, zakażone tym wiru-

sem przed transplantacją (4); zjawisko to jest prawdopodobnie charakterystyczne dla wirusów, które dojrzewają na powierzchni komórek; przyjmuje się, że odgrywają tu rolę immunologicznie czynne leukocyty, za czym przemawia wykazanie niszczenia chronicznie zakażonych wirusem świnki komórek, w hodowlach *in vitro*, przez splenocyty od zwierząt odpornych. Podobnie przeciwciała przeciw wirusowi wścieklizny łącznie z komplemtem powodowały *in vitro* cytolizę komórek zakażonych tym wirusem (23). Badania Eatona i Scali (4) dostarczyły dodatkowego dowodu na antygenową konwersję i przeciwwirusową odpornością onkolizę komórek leukemicznych przez wirusy NDV i Sendai.

Praktyczne wykorzystanie zjawisk odpornościowych do zapobiegania chorobom nowotworowym metodą masowych szczepień uzależnione jest jeszcze od dalszych bardziej szczegółowych badań. W odniesieniu do ludzi pogląd Komitetu Ekspertów Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) jest następujący: „w chwili obecnej immunologiczne metody profilaktyki i leczenia nowotworów człowieka opracowane zostały jedynie teoretycznie. Należy podkreślić, że próby eksperymentalnego ich użycia do leczenia nowotworów ludzi wiążą się z ryzykiem takich niebezpiecznych skutków, jak autoimmunizacja i przyspieszenie wzrostu. To ryzyko należy zestawić z wartością tych teoretycznych i klinicznych efektów jakie można będzie uzyskać przy użyciu takich metod”. To bardzo ostrożne sformułowanie uzupełniono jeszcze uwagą, że identyczne ryzyko należy brać pod uwagę przy próbach uodparniania ludzi przeciw znanym i domniemanym wirusom nowotworowym.

Piśmiennictwo obejmujące 24 pozycje u autora.

Adres autora: prof. dr Zdzisław Larski, Olsztyn-Kortowo, blok 37.

BUTJANOW D. D.: Jednoczesne uodparnianie świń przeciwko różycy i pomorowi. (Odnowieniennaja immunizacija swiniej protiv czumy i rozy). Wietierinaria (Moskwa). 46, 2, 39—41 1970.

Metodę jednoczesnego uodparniania świń mieszaną rozpuszczonego liofilizatu lapinizowanej szczepionki przeciwpomorowej i rozpuszczonego liofilizatu atenuowanej szczepionki przeciw różycy (WR₂) zastosowano u 4282 świń, w tym u 860 prosiąt w wieku do 4 miesięcy. Początkowo u części zwierząt stosowano jednocześnie surowicę przeciwpomorową, co jednak okazało się niepotrzebne. Badanie kontrolne świń wybranych z grupy szczepionych wykazało, że jednorazowe szczepienie daje pełną odporność pko pomorowi na 5—7 dzień po szczepieniu ale nie daje dostatecznej odporności pko różycy (z 16 świń zakażonych zjadliwym zarazkiem w 13—76 dni po szczepieniu 8 sztuk wykazało zmiany miejscowe i podniesienie temperatury).

Po powtórnej wakcynacji szczepionką mieszaną odporność na różycę wystąpiła na 7—9 dzień p. v. i trwała 8—9 miesięcy. Autor zaleca szerokie wypróbowanie powyższej metody w terenie.

T. J.