

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZDZISŁAW LARSKI

Olsztyn

Przeciwnowotworowe działanie wirusów

Znaczne są osiągnięcia w leczeniu procesów nowotworowych przy łącznym lub oddzielnym użyciu metod chirurgicznych, chemioterapii, hormonoterapii, radioterapii i immunoterapii, zwłaszcza adoptywnej immunoterapii. Istotą tej ostatniej (jedynym z pierwszych znanych pacjentów leczonych nią był prezydent USA Ronald Reagan) jest, w największym uproszczeniu, dożylnie podanie pacjentowi jego własnych limfocytów, aktywowanych uprzednio *in vitro* czynną immunologicznie substancją, limfokina (interleukina-2, IL-2), wskutek czego stają się one komórkami LAK (ang. lymphokine activated killer cells — aktywowane limfokina komórki zabójcy); równocześnie podaje się dożylnie IL-2. Komórki LAK stanowią więc przeszkoloną brygadę przeciwrakową własnych limfocytów, mogących skutecznie niszczyć komórki nowotworowe.

Dalsze rozwinięcie tej koncepcji stanowią ostatnie prace, mające również na celu wprężenie do niszczenia nowotworu własnych limfocytów pacjenta, ale tych, które wykazują zdolność infiltracji (wnikania) do wnętrza guza nowotworowego. Takie infiltrujące nowotwór limfocyty TIL (ang. tumor infiltrating lymphocytes) uzyskuje się z chirurgicznie pobranego guza, który trawi się enzymami, a z otrzymanej zawiesiny zawierającej komórki nowotworowe i limfocyty TIL zakłada się hodowle w specjalnych warunkach sprzyjających namnażaniu się TIL, a powodujących ginienie komórek nowotworowych. Dożylnie wprowadzenie pacjentowi komórek TIL oraz dodatkowo interleukiny-2 dało dobre efekty m.in. w leczeniu chorych na czerniaka złośliwego w Narodowym Instytucie Rakowym w Bethesda w USA (3); wykazano też w tych badaniach, że mechanizmy działania limfocytów TIL i komórek LAK, omówionych wyżej, są odmienne.

Duże nadzieje wiąże się również z użyciem cytotoksycznych przeciwciał monoklonalnych, niszczących wyłącznie komórki posiadające na swej powierzchni ściśle określony antygen nowotworowy. Efekt takich przeciwciał monoklonalnych można znacznie zwiększyć przez dołączenie do nich przeciwnowotworowych związków toksycznych, które w ten sposób dostarczone zostają ściśle „pod wskazany adres”.

Omówione dotąd metody dotyczą leczenia objawowego, gdyż ich istotą jest usunięcie, zniszczenia objawu, jakim jest guz nowotworowy. Idealem natomiast byłoby znalezienie metody przyczynowego leczenia procesu nowotworowego, tj. usunięcia jego przyczyny, a ta uwarunkowana jest genetycznie. Wiadomo od ponad 20 lat, że komórki ludzi i zwierząt zawierają onkogeny (5, 22), geny dla nowotworów, normalnie zablokowane. Ich odblokowanie pod wpływem wielu czynników, w tym fizycznych (np. promieniowanie), chemicznych (np. skażenie środowiska, też dymem papierosowym) i biologicznych (np. wirusy onkogenne) prowadzi do ich ekspresji w postaci transformacji nowotworowej komórki, a w dalszej konsekwencji do rozwoju nowotworu. Leczenie przyczynowe polegać więc będzie na uniemożliwieniu ujawnienia się działania onkogeny.

Jeden ze sposobów wskazała nam sama przyroda — stwierdzono bowiem ostatnio istnienie naturalnych czynników hamujących wzrost nowotworowy, indukowanych przez specjalne geny, które nazwano antyonkogenami lub genami supresji (hamowania) nowotworów (18, 29). Rozwój nowotworu na poziomie molekularnym jest więc następstwem aktywacji onkogenów, a inaktywacji antyonkogenów (oba rodzaje genów stanowią część normalnego aparatu genetycznego komórki). Poznanie istoty tych zjawisk stwarza podstawy przyszłego przyczynowego leczenia nowotworów.

Zasadą terapii genowej (genoterapii), omówionej ostatnio w sposób dość przystępny przez Gutierrezza i wsp. (10), jest wprowadzenie normalnego genu do komórki somatycznej w celu skorygowania jej nienormalności. Można to wykonać albo przez dodanie nowego genu pozostawiając gen nienormalny (terapia addytywna) lub przez zastąpienie defektywnego genu nowym. Wprowadzenie genu do genomu komórki określa się jako transfekcję, a uzyskać to można przy użyciu kilku metod fizycznych lub przy pomocy wirusów (retrowirusy, adenowirus, wirus opryszczki zwykłej). Oprócz technicznych problemów związanych z tymi niezwykle precyzyjnymi manipulacjami istnieją opory natury etycznej, a ponadto terapia genowa niesie ze sobą teoretycznie niebezpieczeństwo rozwoju wtórnych nowotworów i zaburzeń autoimmunologicznych.

Leczenie przyczynowe nowotworów staje się też możliwe dzięki użyciu otrzymywanych metodą inżynierii genetycznej preparatów, głównie oligonukleotydów (krótkich odcinków kwasu nukleinowego), komplemენტarnych, a więc odpowiadających swoistej sekwencji swoistego DNA lub RNA. Wiązanie się tych nukleotydów do miejsc przepisywania lub tłumaczenia informacji może je selektywnie hamować przez blokowanie ekspresji onkogenów. Warto tu zwrócić uwagę na wyniki uzyskane w USA przez międzynarodowy zespół badaczy, wśród nich dwu Polaków — Szczylika i Skorskiego, wskazujące na możliwość przyczynowego leczenia białaczki przez wybiórcze hamowanie ekspresji onkogeny odpowiedzialnego za tę chorobę (26); za to osiągnięcie naukowe zespół został zgłoszony do Nagrody Nobla.

Interesujące i ważne będą też wyniki badań rozpoczętych w 1992 r. przez Rosenberga i wsp. (cyt. wg 10). Użyto w nich infiltrujących nowotwór limfocytów (TIL), w których umieszczono gen dla TNF (czynnika martwicy nowotworu, omówionego w dalszej części artykułu); takie transfekowane, „uzbrojone” w nowy gen limfocyty podano dożylnie pacjentom cierpiącym na czerniaka złośliwego. Ekspresja tego genu spowoduje w komórkach nowotworu powstawanie niszczącego je TNF-u. Wyniki będą znane już w tym roku. Stosowane są również genetyczne metody stymulacji odpowiedzi immunologicznej organizmu na nowotwór w odniesieniu do innych czynników ochronnych (interleukin, interferonu, makro-fagów, przeciwciał).

Mimo tych wszystkich osiągnięć, postęp w terapii no-

wotworów, których częstość występowania wzrasta, jest zbyt powolny i stale poszukuje się nowych metod leczniczych. Jedną z aktualnych koncepcji jest użycie do tej terapii wirusów. Wiadomo, że niektóre z nich (wirusy onkogenne) wywołują nowotwory, pewne jednak wirusy wykazują działanie przeciwnowotworowe.

Bezpośrednie przeciwnowotworowe (onkolityczne) działanie wirusów

Idea wykorzystania wirusów niechorobotwórczych dla pacjenta w leczeniu nowotworów nie jest nowa, gdyż pierwsze obserwacje wskazujące na celowość takich badań poczyniono już w 1912 r., kiedy de Pace stwierdził u chorej na raka, pokąsanej przez wściekłego psa, cofanie się zmian nowotworowych po serii szczepień przeciwściekliznowych. Mogła to być oczywiście zwykła zbieżność ale z czasem zaczęto gromadzić fakty wskazujące na przeciwnowotworowe działanie wirusów. Przegląd piśmiennictwa do 1969 r. podano w innym artykule (13). Mechanizm takiego działania wirusów wynika ze znanego faktu szczególnie dobrego ich namnażania się w szybko rosnących i mnożących się komórkach, a takimi są, oprócz embrionalnych, także komórki nowotworowe. To wybiórcze powinowactwo do nich nosi nazwę onkotropizmu wirusowego, a jeżeli w następstwie intensywnego namnażania się wirusa dojdzie do uszkodzenia nowotworu mówi się o onkolitycznym działaniu wirusa, przy czym komórki zdrowe nie ulegają uszkodzeniu. Niezależnie od tego bezpośredniego przeciwnowotworowego działania, wprowadzony wirus indukować może powstanie interferonu, również hamującego rozwój nowotworu.

W pierwszym okresie badań nad przeciwnowotworowym działaniem wirusów, kiedy zakładano, że głównym mechanizmem jest ich bezpośrednie działanie uszkadzające nowotwór (dane zebrane głównie w badaniach *in vitro*) stwierdzono, że tę właściwość wykazują szczególnie wirusy neurotropowe, co oczywiście ograniczało ich kliniczne zastosowanie, zwłaszcza u ludzi. W poszukiwaniu onkolitycznego wirusa, nie uszkadzającego układu nerwowego, wykazano, że warunkiem tym odpowiada wirus choroby Newcastle, NDV (rzekomego pomoru drobiu), w nieznacznym tylko stopniu neurotropowy dla naturalnego gospodarza tj. drobiu, nie wykazujący takiego działania u badanych młodych królików, świnek morskich, chomików i szczurów, posiadający przy tym dobre właściwości onkolityczne (6); również podanie tego wirusa do guza rakowego szyjki macicy u kobiety nie spowodowało żadnych objawów ze strony układu nerwowego pacjentki, natomiast wyraźną regresję procesu nowotworowego.

Nie wymienione w poprzednim artykule (13) obserwacje kliniczne świadczą, że przebycie odry w czasie leczenia białaczki u dzieci może wywierać bardzo korzystny efekt wyrażający się wieloletnią remisją (19). Stwierdzono wiele przypadków znikania brodawek skórnych u ludzi po szczepieniu przeciw ospie. Wykazano skuteczność wirusa krowianki (szczepionki przeciwospowej) w leczeniu przerzutowych guzków złośliwego czerniaka u ludzi (12). Csatory (9) na podstawie opisu przypadku, w którym u hodowcy drobiu z zaawansowanym rakiem żołądka z przerzutami, regresja procesu nowotworowego zbiegła się z wybuchem choroby Newcastle (rzekomego pomoru drobiu) w jego farmie, podjął leczenie pacjentów przy użyciu wirusa tej choroby. U chorego na raka prostaty z przerzutami, domięśniowe

wprowadzenie żywego wirusa spowodowało stwierdzone klinicznie i radiologicznie regresję wszystkich guzów, utrzymującą się ponad rok (brak dalszych danych) — podobne korzystne wyniki uzyskano u dwu pacjentów — pacjenta z rakiem pęcherza oraz z rakiem piersi. Wykazano też, że parwowirusowe zakażenie psów powoduje regresję zakaźnego mięsaka płciowego u tych zwierząt (30). U myszy stwierdzono onkolizę puchlinowych guzów Ehrlicha powodowaną przez kilka arbowirusów (16). Taylor i wsp. (27) wykazali regresję mięsaków i raka puchlinowego Ehrlicha u myszy po leczeniu ich enterowirusami bydła. Wykazano przy tym, że efekt leczniczy nie był następstwem działania interferonu, lecz bezpośredniego niszczenia komórek przez wirus. Enterowirus bydła wprowadzony dootrzewnowo królikom hamował u nich rozwój indukowanej sztucznie T — komórkowej białaczki (24). Autorzy tych badań wskazują na możliwość podawania tą drogą określonych szczepów enterowirusów dla przedłużenia życia ludzi chorych na tego typu białaczkę.

Zakres chorobotwórczości (host range) danego wirusa jest z reguły ograniczony do określonych gospodarzy i ich komórek hodowanych *in vitro*. Może on jednak ulegać zmianie z różnych powodów, także w następstwie transformacji nowotworowej komórek. Na przykład Shingu (cyt. wg 24) stwierdził, że użyte przez niego enterowirusy bydła nie zakażają hodowli komórek ludzkich, natomiast zakażają linie ludzkich komórek nowotworowych. Jedną z przyczyn tego zjawiska może być, spowodowane przez transformację nowotworową, odsłonięcie lub zmiana drobin błony komórkowej w sposób czyniący je receptorami dla wirusa. Umożliwia to zakażenie komórek i ewentualną ich destrukcję (onkolizę). Z punktu widzenia terapeutycznego takie zjawisko jest niezwykle korzystne, gdyż biologiczny czynnik przeciwnowotworowy, jakim jest wirus, działa litycznie tylko na komórki nowotworowe nie uszkadzając normalnych.

Takie założenie leży u podstaw podjętej próby leczenia złośliwych glejaków (*gliomata*) przy użyciu mutantu wirusa ludzkiej opryszczki zwykłej (*herpes simplex*), nie posiadającego enzymu kinazy tymidynowej (4, 15). Mutant ten namnaża się dobrze w dzielących się komórkach, a tylko słabo w nie dzielących się. Ponieważ złośliwe glejaki składają się z tych pierwszych, natomiast otaczający je normalny mózg stanowią nie dzielące się neurony i neuroglej, stanowi to teoretyczną podstawę do terapeutycznego zastosowania wirusa. Potwierdzono ją *in vitro* w hodowlach komórek z operacyjnie usuniętych ludzkich glejaków, a *in vivo* u myszy, którym implantowano takie komórki podskórne lub do torebki nerkowej; po wstrzyknięciu do powstałych glejaków wirusa, wzrost ich ulegał zahamowaniu. To samo stwierdzono w odniesieniu do glejaków implantowanych domózgowo. Próby zastosowania takiego leczenia u ludzi związane są z ryzykiem wywołania zakażenia innych dzielących się komórek takich, jak śródbłonka naczyń mózgowych lub, przy ogólnym rozprzestrzenieniu wirusa, także komórek skóry i błon śluzowych. Autorzy pracy wykazali wrażliwość użytego mutantu wirusa na widarabinę i foscarnet (4, 15), które mogłyby być zastosowane w leczeniu wywołanego przez niego zakażenia.

W tych układach, w których wirus wpływa bezpośrednio niszcząc na tkankę nowotworową i to stanowi jedyny mechanizm jego działania, efekt jest krótkotrwały, gdyż szybko rozwijająca się reakcja immunologiczna na wirus znosi, niestety, jego destrukcyjny wpływ na ko-

mórki nowotworowe. Wymagałoby to kolejnego wprowadzenia dalszych wirusów. Zdaniem Webba i Smitha (28) celowe może być pobranie tkanki nowotworowej w celu założenia hodowli jej komórek i określenia cytotoxicznego działania na nie kilku wirusów; najbardziej aktywne z nich można będzie później kolejno wprowadzać pacjentowi dożylnie lub bezpośrednio do guza nowotworowego. Sutton (25) rozważa możliwość innego rozwiązania, a mianowicie użycie, zamiast pełnego wirusa, jego zakaźnego kwasu nukleinowego (DNA lub RNA); zakażone nim, a następnie zniszczone komórki będą uwalniały pełne cząstki wirusa, wywołujące powstanie przeciwciał, ale ten immunitet (swoista odporność) będzie skierowany przeciw białkom wirusa, a nie jego kwasowi nukleinowemu (organizm normalnie nie reaguje na ten składnik). To umożliwi wielokrotne wprowadzenie kwasu nukleinowego nie ulegającego mechanizmom immunologicznym, a powodującego dalszą destrukcję komórek nowotworowych.

Ostatnio nastąpił znaczny wzrost zainteresowania możliwością użycia wirusów w terapii nowotworów, czego wyrazem jest duża liczba badań publikowanych w najważniejszych czasopismach poświęconych zagadnieniom onkologicznym. Wielu badaczy podkreśla celowość takich badań, gdyż użycie wirusów stanowiłoby biologiczną, a więc bardziej naturalną metodę leczenia nowotworów niż to ma miejsce w przypadku innych sposobów terapii, szczególnie chemioterapii, powodującej poważne skutki uboczne. Wzrost zainteresowania tą sprawą jest też następstwem poznania innych możliwych mechanizmów przeciwnowotworowego działania wirusów.

Pośrednie przeciwnowotworowe działanie wirusów

Wbrew pierwotnym założeniom, że zniszczenie guza nowotworowego jest głównie, a może nawet wyłącznie, następstwem bezpośredniego działania wirusa, zebrano wiele danych, wskazujących, że efekt przeciwnowotworowy może być skutkiem reakcji immunologicznej organizmu, wzmożonej przez zakażający wirus. Dla lepszego zrozumienia tych mechanizmów warto poświęcić kilka zdań omówieniu immunologii nowotworów — podać jak organizm broni się przed nimi. Te złożone zjawiska omawia m.in. dość szczegółowo Radzikowski (21), a w sposób bardziej uproszczony Ptak (20).

W każdym organizmie powstają stale wskutek mutacji komórki zmienione. Ocenia się, że u człowieka każdego dnia pojawia się ich około 10 tysięcy, wśród nich też transformowane (zmienione) nowotworowo; słuszne jest więc powiedzenie onkologów, że codziennie chorujemy na raka, jednak dzięki temu, że te zmienione komórki posiadają nowe, obce dla organizmu antygeny, są one usuwane dzięki nadzorowi immunologicznemu, uruchamiającemu mechanizmy humoralne (przeciwciała) i komórkowe (głównie limfocyty T).

W najwcześniejszym okresie wchodzi do akcji najpierw komórki NK (ang. natural killers — naturalni zabójcy) działające niszcząco na komórki nowotworowe, bez uprzedniego kontaktu z antygenem (nie wymagające uczulenia). Po kilku dniach zostają one wsparte działaniem limfocytów T uczulonych, a więc takich, które miały trochę czasu, aby rozpoznać antygeny komórki nowotworowej i przez odpowiednie zmiany, powodujące to właśnie uczulenie, „nabrać siły bojowej”, a także znacznie się namnożyć. Jedne z tych uczulonych limfocytów (cytotoksyczne) niszczą bezpośrednio komórki

nowotworu, inne wytwarzają specjalne substancje (limfokiny) przyciągające na „pole walki” posiłki w postaci innych komórek, np. makrofagów, które rozpoznają, w sposób dotąd niewyjaśniony, komórki zmienione nowotworowo i działają na nie cytotoxicznie bez udziału limfocytów T i przeciwciał. Te ostatnie wytwarzane są przez limfocyty B i również włączają się do akcji przeciw komórkom nowotworowym dzięki zjawisku opsonizacji ułatwiającej ich fagocytozę, a także uruchomieniu specjalnego mechanizmu cytotoxiczności wymagającej obecności przeciwciał. Biorą w tym udział komórki K (ang. killers — zabójcy), monocyty, makrofagi i leukocyty obojętnochłonne.

Biorąc pod uwagę tak złożoną linię obrony można by się spodziewać, że komórka nowotworowa ma małe szanse osiedlenia się i dania początku rozwojowi guza. Niestety tak nie jest. Komórki nowotworowe dysponują bowiem również mechanizmami, które umożliwiają im uniknięcie nadzoru immunologicznego organizmu; na przykład antygeny złuszczone z ich powierzchni łączą się z przeciwciałami oraz limfocytami cytotoxicznymi i tak powstała „zasłona dymna” chroni komórki nowotworowe. Ponadto omówione mechanizmy immunologiczne mogą ulegać upośledzeniu przez różne czynniki immunosupresyjne, w tym też zależne od nowotworu, a także ulegać osłabieniu z wiekiem gospodarza. Nie wiadomo również, czy komórki wszystkich nowotworów posiadają obce dla organizmu antygeny, a z drugiej strony wiadomo, że większość nowotworów wykazuje niewielką antygenowość. Immunogenność nowotworów człowieka jest znacznie mniejsza niż nowotworów myszy. Odpowiedź immunologiczna pojawia się często dopiero wtedy, gdy masa nowotworu jest za duża (a więc za późno), aby mechanizmy nadzoru immunologicznego mogły ten stan opanować.

Nowsze badania, omówione m.in. przez Heicappella i wsp. (11) wykazały, że słabą reakcję immunologiczną organizmu na nowotwór można wzmocnić przez użycie jego komórek zmodyfikowanych przy pomocy różnych czynników w sposób ujawniający dodatkowe antygeny na ich powierzchni. Powoduje to, prawdopodobnie dzięki aktywacji wspomagających limfocytów T, wzmoczenie odpowiedzi na antygen związany z nowotworem (TAA — tumor associated antigen). Bardzo skuteczne okazało się użycie w tym celu wirusów, np. zakażenie komórek nowotworowych wirusami grypy lub choroby Newcastle. Interesujący jest przy tym fakt, że wzrost immunogenności był większy w przypadku komórek nowotworowych zakażonych wirusem nieonkolitycznym niż zakażonych wirusem onkolitycznym. Potwierdza to, że działanie przeciwnowotworowe niektórych wirusów, wyrażające się zniszczeniem nowotworu (onkolizują) nie jest następstwem bezpośredniego ich działania, a uruchomieniem procesów immunologicznych.

Większość badań z użyciem zmodyfikowanych wirusów komórek nowotworowych wykonano w odniesieniu do nowotworów o słabych właściwościach dawania przerzutów (nowotworów słabo metastatycznych). Heicappell i wsp. (11) wykonali badania stosując tę samą metodę, jednak w odniesieniu do wysoce metastatycznego nowotworu. Użyli jednej z odmian chemicznie indukowanego chłoniaka (*lymphoma*), jednego z najbardziej złośliwych nowotworów zwierząt, zabijającego myszy w ciągu 2—3 tygodni. Myszy zakażonych śródskórnie jego komórkami nie można wyleczyć przez chirurgiczne usunięcie pierwotnego guza nawet we wczesnej fazie, gdy jego średnica wynosi zaledwie 5—7 mm,

ponieważ już wtedy ma on mikrometastazy (mikroprzerzuty) w wątrobie, śledzionie, płucach, szpiku kostnym i mózgu. Autorzy usuwali guzy pierwotne, po czym ich komórki zabite napromieniowaniem zmieszane z żywym wirusem choroby Newcastle wprowadzano podskórnie dokoła rany pooperacyjnej. To połączenie postępowania operacyjnego z pooperacyjną immunoterapią powodowało wyleczenie około 56% zwierząt (nie wykryto mikroprzerzutów). W grupie nieleczonych wszystkie myszy zginęły. Z przytoczonych przez Heicappella i wsp. (11) danych uzyskanych przez innych badaczy używających tego samego modelu wynika, że chemioterapia powodowała jedynie przedłużenie czasu przeżywania zwierząt o 25%, adopcyjna immunoterapia (istotę jej omówiono na początku niniejszego artykułu) o 100—200%, nie dając jednak ani jednego wyleczenia.

Cassel i wsp. (7) wykazali dużą skuteczność podskórnego podawania onkolizatu NDV (składającego się z zagegżeczonego wirusa NDV i błon komórek nowotworowych) w pooperacyjnym leczeniu II stadium, z zajęciem regionalnych węzłów chłonnych, złośliwego czerniaka u ludzi; w okresie 3 lat po usunięciu węzłów chłonnych na 32 leczonych onkolizatem u 90% nie stwierdzono zmian nowotworowych, natomiast z 48 pacjentów kontrolnych, nie leczonych, pozostało zdrowymi poniżej 10%.

Zdaniem Hunter-Craiga i wsp. (12) uszkodzenie guza może być też następstwem nieswoistego pobudzenia odpowiedzi immunologicznej gospodarza, a także przypuszczalnie rozwoju procesu zapalnego, zwłaszcza przy wprowadzeniu wirusa wprost do guza, co umożliwiłoby lepszy kontakt cytotoksycznych autoprzeciwciał i cytotoksycznych limfocytów z komórkami nowotworu.

W dalszych rozważaniach dotyczących przeciwnowotworowego działania wirusów mowa będzie o TNF (ang. tumor necrosis factor — czynnik nekrozy nowotworu) i to wymaga krótkiego jego zaprezentowania, opartego głównie na artykule Olda (17), jednego z odkrywców TNF. W 1975 r. Carswell i wsp. (cyt. wg. 14) opisali wykryty przez nich czynnik TNF będący białkiem wytwarzanym przez organizm, niszczącym nowotwory u myszy. Wytwarzają go głównie makrofagi, ale też wiele innych typów komórek ludzkich i zwierzęcych. Występuje w dwu biologicznie identycznych odmianach — alfa i beta; pierwsza wytwarzana jest głównie przez makrofagi, druga — głównie przez limfocyty T i B, obie w następstwie aktywacji różnymi czynnikami, też wirusami, na przykład wirusem choroby Newcastle (14) lub wirusem Sendai (1).

Różne mechanizmy przeciwnowotworowego działania TNF omawia m.in. Old (17). Czynnik ten wpływa na procesy zapalne i immunologiczne, stymulując limfocyty T i inne komórki istotne dla obronności organizmu oraz wydzielane przez nie substancje, i w ten sposób powodować może destrukcję guza nowotworowego. Niezależnie od tego w doświadczeniach na zwierzętach wykazano, że TNF wywołuje szybkie, już w ciągu kilku godzin, uszkodzenie drobnych naczyń krwionośnych zaopatrujących nowotwór, co prowadzi do jego niedożywienia, niedotlenienia, a następnie obumarcia. TNF działa również bezpośrednio niszcząco na komórki nowotworowe, jak to wykazano *in vitro* w omówionych przez Olda badaniach ponad 60 różnych form raka człowieka. Najwrażliwsze na działanie czynnika okazały się komórki raka sutka, natomiast komórki czerniaka skóry reagowały tylko zwolnieniem wzrostu. Z omawianych przez Olda badań innych autorów wynika, że różnice reakcji komórek nowotworowych na TNF związane są

prawdopodobnie z posiadaniem przez nie lub brakiem mechanizmów naprawczych usuwających uszkodzenia wywołane przez TNF. Samo zabicie komórki przez ten czynnik jest, jak się przypuszcza (17), następstwem uczynienia przez TNF śródkomórkowych enzymów, które powodują uwalnianie toksycznych substancji uszkadzających, a w końcu zabijających komórki nowotworowe.

Stwierdzono, że TNF i interferon, czynnik wykazujący także działanie przeciwnowotworowe, działają synergistycznie, to znaczy, iż łączny efekt ich podania jest znacznie większy niż oczekiwany jako suma aktywności obu. W działaniu przeciwnowotworowym TNF ludzki i mysz nie wykazują swoistości gatunkowej, to znaczy, że oba zabijają komórki nowotworowe w równym stopniu (17); tym różni się od interferonu, który jest gatunkowo swoisty. W 1984 r. określono sekwencję aminokwasów ludzkiego TNF i izolowano gen kodujący jego powstawanie, co pozwoliło wytwarzać TNF na skalę przemysłową i podjąć próby kliniczne leczenia raka.

Z danych przytoczonych przez Lorence'a i wsp. (14) wynika, że w testach modelowych na zwierzętach skuteczność lecznicza TNF otrzymanego metodami inżynierii genetycznej (rekombinacyjnego) jest znacznie ograniczona jego toksycznością; dla uzyskania regresji guza u myszy konieczne było użycie dużych, prawie śmiertelnych dawek. Stosowanie takiego egzogenego TNF-u (wytworzonego poza organizmem) jest więc na razie problematyczne, natomiast celowe będzie indukowanie przez odpowiednie czynniki powstania endogenego TNF, własnego tj. wytwarzanego w organizmie pacjenta w miejscu nowotworu. Wymieniony zespół badaczy (14) wykazał, że szczep 73-P wirusa choroby Newcastle (NDV), namnażający się w ludzkich i mysich nowotworach (6) jest nie tylko potężnym induktorem wywołującym powstanie TNF, ale także zwiększającym wrażliwość komórek nowotworowych na jego działanie. W następnej pracy (23) autorzy ci stwierdzili, że dwie badane przez nich linie komórek ludzkiego złośliwego czerniaka, normalnie odporne na działanie TNF, stają się nań wrażliwe, jeżeli podda się je uprzednio działaniu zjadliwego NDV. Szczegółowe badania upoważniają do założenia, że oporność tych nowotworowych komórek na TNF jest zależna od produkcji przez nie pewnych ochronnych białek, których syntezę hamuje NDV, powodując tym samym ich wrażliwość na TNF. Jest to zgodne z wynikami innych badań, w których wykazano wzrost wrażliwości na TNF komórek po zakażeniu ich wirusem *stomatitis vesicularis* (2) oraz adenowirusem typ 2 i herpeswirusem (cyt. wg. 14).

Podsumowanie

Przedstawione w artykule dane wskazują na wielorakość naturalnych, biologicznych mechanizmów przeciwnowotworowego działania wirusów: 1) bezpośrednio uszkodzenie komórek nowotworowych (onkoliza) jako wyraz onkotropizmu, wybiórczego namnażania się w nich wirusa; 2) indukowanie powstawania interferonu; 3) zwiększenie immunologicznej reakcji organizmu na komórki nowotworowe przez uzewnętrznienie ich nowymi antygenów, co powoduje immunologiczny atak przeciwciał i uczulonych limfocytów (immunologiczna onkoliza); 4) indukowanie powstawania czynnika nekrozy nowotworu (TNF), działającego destrukcyjnie zarówno bezpośrednio na komórki nowotworowe oraz niszcząco na drobne naczynia krwionośne zaopatrujące

guz, a ponadto regulującego procesy zapalne i immunologiczne; 5) zwiększające wrażliwość komórek zakażonych wirusem na TNF.

W tym „rankingu” przeciwnowotworowej aktywności czołowe miejsce zajmuje, chorobotwórczy jedynie dla drobiu, wirus choroby Newcastle (NDV), zwłaszcza jego szczep 73-T izolowany po 73 pasażach w komórkach raka puchlinowego Ehrlicha, co prawdopodobnie zwiększyło jego tropizm do nowotworów, a zmniejszyło zjadliwość do układu nerwowego (7). Wirus ten uruchamia wszystkie wymienione wyżej mechanizmy prowadzące do eliminacji guza nowotworowego i jego udziałem są stosunkowo liczne przypadki korzystnych klinicznych zastosowań.

W artykule omówiono prawie wyłącznie badania związane z nowotworami człowieka, sędzić jednak można, że okażą się one przydatne lekarzom wet. z kilku względów. Pierwszy to poznanie niektórych zjawisk immunologicznych, towarzyszących procesom onkogenezy, a także prób znalezienia jeszcze jednej metody terapii stanów chorobowych budzących u każdego zrozumiały lęk.

Przytoczone informacje powinny także skłonić lekarzy wet. praktyków, zwłaszcza zajmujących się leczeniem zwierząt pokojowych (ale także wyjątkowo cennych zwierząt hodowlanych) do podejmowania prób wirusowej terapii przeciwnowotworowej przy naukowej współpracy z laboratoriami wirusologicznymi; przygotowanie onkolizatów i odpowiednich zawiesin wirusów nie wymaga specjalnych urządzeń i drogich odczynników. Uzyskanie efektu leczniczego wzbogaci wiedzę terenowego lekarza wet. i jego satysfakcję zawodową, a wirusologowi dostarczy materiału doświadczonego.

Ostatni wreszcie cel artykułu to zachęcenie wszystkich lekarzy wet. do wnikliwej obserwacji tych przypadków procesów nowotworowych, które z niewiadomych na pozór przyczyn ulegają samoistnej regresji. Konieczne tu będzie drobiazgowo dochodzenie okoliczności zaistniałych w okresie przed cofaniem się procesu nowotworowego (remisje), zwłaszcza dotyczących szczepień i przebytych chorób, szczególnie wirusowych. Przykładem takich powiązań stanowią wspomniane już przypadki wieloletniej remisji białaczki u dzieci w następstwie

przebycia odry, przypadki znikania brodawek skórnych u ludzi po szczepieniu przeciw ospie, czy regresja mięsaka płciowego u psów po przebyciu przez te zwierzęta choroby parwowirusowej. Każdy trop może okazać się cenny — trzeba się takimi obserwacjami dzielić z wirusologiem weterynaryjnym. Wiadomo, jak wiele wspaniałych osiągnięć było następstwem drobnych i na pozór nieistotnych obserwacji lekarzy praktyków, a nawet osób nie mających wykształcenia lekarskiego.

Piśmiennictwo

1. Aderka D., Holtmann H., Toker L., Hahn T., Wallach D.: *J. Immunol.* 136, 2938, 1985.
2. Aderka D., Novick D., Hahn T., Fischer D. G., Wallach D.: *Cell. Immunol.* 92, 218, 1985.
3. Aebersold P., Hyatt C., Johnson S., Hines K., Korcak L., Sanders M., Lotze M., Topollian S., Yang J., Rosenberg S. A.: *J. Natl. Cancer Inst.* 83, 332, 1991.
4. Anon.: *Lancet* 337, 1407, 1991.
5. Bartnik E.: *Kosmos* 34, 113, 1985.
6. Cassel W. A., Garret R. E.: *Cancer* 18, 863, 1965.
7. Cassel W. A., Murray D. R., Phillips H. S.: *Cancer* 52, 856, 1982.
8. Chouaib S., Branellec D., Buurman W. A.: *Immunology Today* 12, 141, 1991.
9. Csatory L. K.: *Lancet* II, 825, 1971.
10. Gutierrez A. A., Lemoine N. R., Sikora K.: *Lancet* 339, 715, 1992.
11. Heicappell R., Schirmacher V., von Hoegen P., Ahlert T., Appelhans B.: *Int. J. Cancer* 37, 569, 1986.
12. Hunter-Craig I., Newton K. A., Westbury G., Lacey B. W.: *Brit. Med. J.* 2, 512, 1970.
13. Larski Z.: *Medycyna Wet.* 26, 658, 1970.
14. Lorence R. M., Rood P. A., Kelley K. W.: *Natl. Cancer Inst.* 80, 1305, 1988.
15. Martuza R. L., Malick A., Markert J. M., Rufner K. L., Coen D. M.: *Science* 252, 354, 1991.
16. Mettler N. E., Clarke D. H., Casals J.: *Infect. Immun.* 37, 23, 1982.
17. Old L. J.: *Scient. Amer.* 256 (5) 19, 1988.
18. Ostrowski K.: *Problemy nry* 1-3, 5, 1990.
19. Pasquinucci G.: *Lancet* I, 136, 1971.
20. Ptak W.: *Podstawy immunologii*. PZWL, Warszawa 1987.
21. Radzikowski C.: *Immunologia nowotworów*, w: *Immunologia*, red. S. Mackiewicz, PZWL, Warszawa 1985.
22. Ratajczak M. Z., Urbanowska E.: *Pol. Tyg. Lek.* 43, 1518, 1988.
23. Rood P. A., Lorence R. M., Kelley K. W.: *Reports J. Natl. Cancer Inst.* 82, 213, 1990.
24. Shingu M., Chhimi M., Taguchi T., Shingu M.: *J. gen. Virol.* 72, 2031, 1991.
25. Sutton P. M.: *Lancet* 337, 1553, 1991.
26. Szczylik C., Skorski T., Nicolaidis N. C., Manzella, Malaguarnera L., Venturelli D., Gewirtz A. M., Calabretta B.: *Science* 253, 562, 1991.
27. Taylor M. W., Cordell B., Souhrada M., Prather S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 68, 836, 1971.
28. Webb H. E., Smith C. E. G.: *Lancet* I, 1206, 1970.
29. Weinberg R. A.: *Problemy nr* 5, 16, 1989.
30. Yang T. J.: *Am. J. vet. Res.* 48, 799, 1987.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Larski, Kortowo, bl. 105, 10-957 Olsztyn

CALLANAN J. J., MCCANDLISH I. A. P., O'NEIL B., LAWRENCE C. E., RIGBY M., PACITTI A. M., JARRETT O.: Chłoniakorak w przebiegu doświadczonego wirusowego zespołu niedoboru immunologicznego kotów. (Lymphosarcoma in experimentally induced feline immunodeficiency virus infection). *Vet. Rec.* 130, 293-295, 1992 (14)

Wykrycie wirusa wywołującego niedobór immunologiczny u kotów (FIV) przyczyniło się do podejmowania licznych badań nad objawami klinicznymi i charakterem zmian chorobowych w przebiegu naturalnego i doświadczonego zakażenia tym wirusem. U kota zakażonego dojrzwonowo 2×10^8 dawek zakaźnych kocich wirusa FIV (szczep Glasgow 8) wystąpił chłoniakorak. Kot był wolny od zakażenia wirusem białaczki kociej (FeLV). Zmiany nowotworowe występowały w wątrobie i w nerkach po 9 miesiącach po zakażeniu wirusem FIV. U kota nie wystąpiły jednak objawy niedoboru immunologicznego związane z zakażeniem wirusem FIV. Wydaje się, że aktywacja limfocytów B związana z działaniem wirusa FIV spowodowała zwiększenie populacji proliferujących limfocytów, które dały początek nowotworzeniu. Rola wirusa FIV w tym procesie nie jest jednak jednoznacznie określona. Analiza immunologiczna oparta o technikę Westernblotting nie wykazała obecności sekwencji prowirusowych wirusa FIV w DNA tkanki nowotworowej.

G.

MC KELLAR Q. A., MIDGLEY D. M., GALBRIGHT E. A., SCOTT E. W., BRADLEY A.: Właściwości kliniczne i farmakologiczne ivermektinu u królików i świnek morskich. (Clinical and pharmacological properties of ivermectin in rabbits and guinea-pigs). *Vet. Rec.* 130, 71-73, 1992 (4)

Ivermectin w dawce 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała w iniekcji podskórnej powodował u królików zarażonych świerzbowcem *Psoroptes cuniculi* cofnięcie objawów klinicznych. Dawka 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ powodowała u świnek morskich zarażonych *Trixacarus caviae* zupełne wyleczenie. U królików, u których ivermectin zastosowano w iniekcji podskórnej w dawce 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ wysokie stężenie leku w tkankach i w płynach ustrojowych utrzymywało się przez okres co najmniej 13 dni. Szybkość spadku poziomu leku była identyczna, jak u owiec i szczurów. Wartość średniego maksymalnego stężenia ivermectin w plazmie królików wynosiła $42,0 \pm 9,7$ ng/ml po $37,2 \pm 5,0$ godz. po iniekcji podskórnej. Wielkość pola pod krzywą reprezentującą zależność pomiędzy stężeniem leku a czasem jego utrzymywania się w organizmie wynosiła 3543 ± 580 ng/ml/godz. U świnek morskich, u których zastosowano ivermectin w iniekcji podskórnej, peroralnie lub miejscowo na skórę, tylko po iniekcjach pojawiał się lek w tkankach i w płynach ustrojowych. Po 72 godz. średni poziom leku wynosił $0,7 \pm 0,3$ ng/ml plazmy.

G.