

Piśmiennictwo

1. Ahmed R., Oldstone M. B. A.: Mechanisms and biological implications of virus-induced polyclonal B-cell activation, w: Concepts in viral pathogenesis, red. A. L. Notkins, M. B. A. Oldstone. Springer-Verlag, New York 1984.
2. Askonas B. A., Rhodes J. M.: Nature 305, 470, 1985.
3. Bier O. G., Dias da Silva W., Götz D., Mota J.: Fundamentals of immunology. Springer-Verlag, New York 1981.
4. Bundschuh G., Schneeweiss B.: Immunologie — ein Nachschlagewerk. Akademie-Verlag, Berlin 1978.
5. Bundschuh G.: Repetitorium immunologicum. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1986.
6. Goldblum R. M., Pelley R. P., O'Donnell A. A., Pyron D., Heggers J. P.: Lancet 340, 510, 1992.
7. Goodman J. W.: Contemporary topics in immunochemistry, vol. 1, red. F. P. Inman. Plenum Press, New York 1972.
8. Hańczak P., Deptuła W.: Problemy nr 11—12, 45, 1991.
9. Humphrey J. H.: Antibiotica et Chemother. 15, 7, 1969.
10. Janeway C.: Nature 349, 439, 1991.
11. Jäger L.: Klinische Immunologie und Allergologie. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1976.
12. Johnson H. M., Russel J. K., Pontzer C. H.: Scient. American 263, 42, 1992.
13. Johnson H. M., Russel J. K., Pontzer C. H.: Świat Nauki nr 6, 48, 1992.
14. Larski Z., Truszczyński M.: Zarys mikrobiologii weterynaryjnej. Dział Wydawnictw ART, Olsztyn 1992.
15. Marrack P., Kushnir E., Kappler J.: Nature 349, 524, 1991.
16. McGeoch D. J., Randall R. E., Elliot R. M.: J. gen. Virol. 73, 2487, 1992.
17. Nelius D.: Grundriss der immunsuppressiven Chemotherapie innerer Erkrankungen. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1974.
18. Roitt I. M.: Podstawy immunologii. PWN, Warszawa 1977.
19. Fzucidlo L.: Immunologia ogólna i doświadczalna. PWN, Warszawa 1978.
20. Słopek S.: Ilustrowany słownik immunologiczny. PZWL, Warszawa 1983.
21. Tokarski J. (red.): Słownik wyrazów obcych. PWN, Warszawa 1972.
22. Wildführ G., Wildführ W.: Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Epidemiologie, Bd 1. VEB Georg Thieme, Leipzig 1978.

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

ZBIGNIEW GRĄDZKI

artykuł przeglądowy

Niektóre aspekty supresyjnego oddziaływania chemioterapeutyków na reakcje immunologiczne ustroju

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Podjęmowane w ostatnim 20-leciu coraz liczniejsze badania eksperymentalne i kliniczne nad wpływem czynników egzogeno- i endogennych na mechanizmy obronne ustroju należą do najbardziej aktualnych i ciekawych. W tych badaniach na szczególną uwagę zasługują możliwości sterowania odczynami odpornościowymi, stwarzające nowe perspektywy poznawcze oraz posiadające ważne znaczenie aplikacyjne (33, 77). Możliwe jest między innymi zrozumienie zależności między poszczególnymi mechanizmami warunkującymi działanie układu immunologicznego oraz interakcji pozytywnych i negatywnych pomiędzy subpopulacjami limfocytów T, limfocytami B i makrofagami zaangażowanymi w poszczególne fazy odpowiedzi immunologicznej ustroju. Dzięki możliwościom ingerowania poprzez chemioterapię w reakcje immunologiczne organizmu, prowadzącym do wyłączenia lub osłabienia, a niekiedy pobudzenia określonych ogniw w całym łańcuchu odczynów obronnych komórkowych i humoralnych, stworzono podstawy do opracowania nowych metod w terapii przeciwnowotworowej, transplantologii i w chorobach z autoagresji (38). Doprowadziło to także do wyodrębnienia licznej obecnie grupy leków, tzw. immunosupresorów, które stosowane do niedawna prawie wyłącznie w leczeniu nowotworów, w mniejszych dawkach wywołują blok immunologiczny przejawiający się hamowaniem wczesnych i późnych odczynów odpornościowych. Zasięg immunosupresji indukowanej lekami uzależniony jest od szeregu czynników obejmujących między innymi właściwości farmakologiczne leku oraz dawkę, jak również schemat podawania immunosupresora i antygenu.

Fakt powstawania licznych i zróżnicowanych interakcji komórkowych i molekularnych będących następstwem kontaktu antygenu z komórkami układu immunologicznego pozwala z jednej strony na wyodrębnienie następujących po sobie faz odpowiedzi immunologicznej, z drugiej zaś w sposób istotny rzutuje na możliwości i charakter supresyjnego oddziaływania chemio-

terapeutyków w poszczególnych etapach reagowania organizmu na stymulację antygenową.

Ekspozycja ustroju na antygen inicjująca fazę dośrodkową odpowiedzi immunologicznej warunkuje uruchomienie komórkowych i humoralnych mechanizmów zapalenia, które prowadzą do degradacji antygenu i jego transportu do obwodowych organów limfoidalnych, gdzie jest on prezentowany immunokompetentnym, antygenowo-specyficznym limfocytom. Supresyjne oddziaływanie leków na tym etapie odpowiedzi immunologicznej może być związane z ich wpływem na ilość i funkcje makrofagów, a także limfocytów B i T w kontekście udziału tych komórek w procesach pochłaniania, przygotowania i prezentacji antygenu. Spośród immunosupresorów z grupy czynników alkilujących, cechujących się aktywnością modulacyjną w stosunku do wszystkich faz odpowiedzi immunologicznej najwszechstronniej zbadanym preparatem jest cyklofosfamid (Cy), którego zastosowanie w odpowiednich dawkach i według określonego schematu, powoduje obniżenie tak liczby, jak i funkcji makrofagów. Wykazano, że podanie tego leku myszom, obok redukcji liczby makrofagów otrzewnowych powodowało obniżenie zdolności pochłaniania bakterii i wirusów przez te komórki (19, 54), hamowało fazę trawienia wewnątrzkomórkowego w procesie fagocytozy (49) oraz prowadziło do znacznego zmniejszenia retencji cząstek antygenu w obwodowych organach limfoidalnych (42). Podobną wrażliwość na Cy wykazano w odniesieniu do fagocytów krwi obwodowej świń morskich (24) i ludzi (13). Względna oporność na czynniki alkilujące wykazują natomiast makrofagi pęcherzyków płucnych. Podawanie Cy w dawkach wywołujących leukopenię nie redukuje ilości tych komórek u szczurów (62), świń morskich (25, 48) i psów (32, 53) oraz częściowo tylko obniża zdolność do pochłaniania i degradacji antygenu przez makrofagi płucne.

Czynniki hamujące syntezę DNA działają depresyjnie na liczbę i funkcje makrofagów przez selektywne

zmniejszenie produkcji tych komórek w szpiku, co jest spowodowane hamowaniem przez te leki cyklu komórkowego promonocytów i opóźnianiem podziałów mitotycznych (19, 63, 73). Takie antymetabolity, jak: 6-merkaptopuryna (6-MP), azatiopryna i metotreksat (MTX), blokują tworzenie wysięku monocytarnego podczas reakcji zapalnej, przy czym nie obserwowano ich supresyjnego wpływu na granulocyty i limfocyty krwi obwodowej (26). Depresyjną aktywność w odniesieniu do liczby i funkcji makrofagów wykazują także hormony sterydowe (12). Jednym z mechanizmów ich działania jest modyfikowanie struktury błony komórkowej, co uwiadcza się dysfunkcją receptorów błonowych dla fragmentu Fc immunoglobulin oraz C3b dopełniacza. Z klinicznego punktu widzenia istotne znaczenie ma fakt, że obok preparatów o silnym działaniu immunosupresyjnym wykorzystywanych w onkologii i transplantologii, również antybiotyki powszechnie stosowane w medycynie ludzkiej i weterynaryjnej mogą wpływać niekorzystnie na mechanizmy obronne ustroju (56). Supresyjne oddziaływanie chloramfenikolu w fazie aferentnej odpowiedzi immunologicznej związane jest głównie z jego wpływem na fagocytozę i aktywność oddechową komórek żernych (28, 29). Depresyjny wpływ na funkcje chemotaktyczne i fagocytarne leukocytów wywierają także antybiotyki z grupy tetracyklin, co potwierdzono w badaniach eksperymentalnych u ludzi (5, 17, 18, 35) i zwierząt (66).

Limfocyty uczestniczące w fazie wstępnej odpowiedzi immunologicznej są komórkami immunokompetentnymi, ale niezaangażowanymi. Ich większość krąży pomiędzy krwią i chłonną do momentu kontaktu z antygenem, po czym lokalizują się one w obwodowych organach limfoidalnych. Modulujący wpływ leków na te komórki może wyrażać się w formie zmian w liczbie limfocytów, ich dystrybucji oraz wzajemnych proporcji poszczególnych subpopulacji, przy czym selektywność działania chemioterapeutyków może być związana z faktyczną zróżnicowaną wrażliwością komórek lub z różnicami w kinetyce powrotu do normy (recovery kinetics) limfocytów B i T. Badania nad wpływem Cy na limfocyty immunokompetentne tkanki limfoidalnej wykazały większą względną wrażliwość na lek limfocytów B, co manifestowało się preferencyjnym niszczeniem tych komórek w strefach B-zależnych narządów limfatycznych (69, 70). Istotne różnice stwierdzono także analizując kinetykę repopulacji tkanki przez limfocyty B i T w następstwie podania zwierzętom Cy (15, 55).

Leki immunosupresyjne, których mechanizm działania polega na hamowaniu syntezy DNA, mogą w odpowiednich dawkach redukować liczbę limfocytów uczestniczących w fazie dośrodkowej odpowiedzi immunologicznej, jakkolwiek komórki te nie są aktywne mitotycznie. Depresyjny wpływ na limfocyty T myszy i świnek morskich wykazano między innymi w odniesieniu do azatiopryny (2), przy czym istotnym wydaje się fakt zależności podatności komórek na supresję od miejsca ich lokalizacji w ustroju. Nie stwierdzono natomiast istotnego wpływu 6-MP i MTX na liczbę limfocytów i proporcje poszczególnych subpopulacji we krwi i węzłach chłonnych u świnek morskich (27). Oddziaływanie hormonów sterydowych na limfocyty immunokompetentne krwi i tkanki limfoidalnej może powodować przemieszczanie się tych komórek do innych tkanek, zwłaszcza do szpiku kostnego, nie zawsze natomiast ich bezpośrednią destrukcję (16, 68).

Spośród antybiotyków o działaniu immunosupresyjnym, czasowe uszkodzenie limfocytów grasicy i śledziony myszy oraz krwi obwodowej u ludzi wykazano w odniesieniu do niektórych preparatów przeciwnowotworowych takich, jak daunomycyna i bleomycyna, przy braku ich wybiórczej aktywności przeciwko poszczególnym subpopulacjom komórek (44). Wysoką wybiórczość działania supresyjnego przeciwko limfocytom T wykazuje natomiast cyklosporyna A (CsA), będąca pierwszym lekiem tej grupy działającym selektywnie prawie wyłącznie na układ odpornościowy (6, 36). Mechanizm jej działania polega na blokowaniu syntezy receptora dla interleukiny 2 (IL-2) oraz samej IL-2, która jest konieczna do ekspansji klonalnej uczulonych limfocytów.

Faza centralna odpowiedzi immunologicznej jest fazą produktywną, w której antygenowo-specyficzne limfocyty wychwycone z recyrkulacji przez specyficzne łącznie się z determinantami antygenowymi i makrofagowymi wchodzą w stadium wzmożonej syntezy DNA, po której następuje różnicowanie i proliferacja komórek postępujące wzdłuż dwóch linii kierunkowych: regulacyjnej i efektorowej. Modulujące oddziaływanie chemioterapeutyków na syntezę komórkowego DNA oraz różnicowanie limfocytów pomocniczych, supresyjnych i efektorowych jest w dużym stopniu zdeterminowane kolejnością oraz czasem podania antygeny w stosunku do aplikacji immunomodulatora. Z badań eksperymentalnych z użyciem różnych grup leków wynika ponadto, że wielkość supresji syntezy DNA po stymulacji limfocytów przez antygeny lub mitogeny może zależeć także od miejsca lokalizacji komórek, użytego stymulatora, a nawet metody oceny, co potwierdzono w odniesieniu do działania czynników alkilujących (3, 58) i antymetabolitów (43, 44). Kliniczne wykorzystanie indukowanej lekami immunosupresji determinowane jest głównie możliwością ich selektywnego wpływu na różne grupy komórek zaangażowanych w reakcjach immunologicznych. Preferencyjny efekt hamujący na syntezę DNA przez limfocyty B wywiera między innymi antymycyna D (8), w odróżnieniu od CsA (74) i hormonów sterydowych (64), wykazujących wybiórcze działanie w stosunku do komórek T.

Stosowane w terapii immunosupresory mogą także oddziaływać modulująco na komórki regulacyjne biorące udział w centralnej fazie odpowiedzi immunologicznej. Blokujące działanie Cy na limfocyty T-supresyjne znane jest od dawna (23, 60). W efekcie, każda odpowiedź immunologiczna podlegająca regulacji przez te komórki może być wzmagana dzięki ich eliminacji przez Cy, co stwierdzono między innymi w badaniach reakcji nadwrażliwości opóźnionej i alergii kontaktowej u myszy (31), a także indukcji tolerancji immunologicznej (51) oraz reaktywności ustroju w stosunku do przeszczepów (75). Podatność supresyjnych limfocytów T na działanie Cy wydaje się zależeć od stopnia ich rozwoju, na co wskazuje fakt, że związek ten intensywnie hamuje prekursorów tych komórek, natomiast wywiera niewielki wpływ na limfocyty dojrzałe, które już zetknęły się z antygenem (7, 20). Podobną aktywność przeciwko supresyjnym limfocytom T wykazują także leki z grupy antymetabolitów, co stwierdzono na przykładzie działania metotreksatu (45) oraz analogów zasad purynowych — azatiopryny i 6-MP (14).

Badania eksperymentalne dotyczące modulacji przez leki różnicowania limfocytów pomocniczych wykazały również, że eliminacja tych komórek lub ograniczenie

ich funkcji mogą decydować o zmianie charakteru regulowanej przez nie odpowiedzi immunologicznej. Na przykład podanie Cy zwierzętom laboratoryjnym w okresie od 1—5 dni po indukcji komórek pomocniczych przez mitogeny lub antygen, powodowało długotrwałe zahamowanie produkcji przeciwciał (61, 72). Działanie hormonów sterydowych na limfocyty T-helper wiąże się z selektywną eliminacją przez tę grupę leków komórek T posiadających receptory dla fragmentu Fc IgM (64), biorących aktywny udział w indukowanej mitogenami syntezie przeciwciał. Depresyjny wpływ na limfocyty T-pomocnicze wywierają także niektóre antybiotyki stosowane w chemioterapii nowotworów takie, jak adriamycyna, daunomycyna i CsA (1).

Rozwój komórek efektorowych w fazie centralnej odpowiedzi immunologicznej może również ulegać modyfikacjom pod wpływem chemioterapeutyków, jakkolwiek nie można w tym przypadku wykluczyć możliwości silniejszego wpływu na komórki regulujące ich funkcje. Wykazano, że wiele leków, między innymi Cy, 6-MP, prednizolon i aktynomycyna D działa silniej immunosupresyjnie w toku pierwotnej odpowiedzi humoralnej niż wtórnej, co może być związane ze zróżnicowaną aktywnością mitotyczną, konieczną dla ekspresji funkcji efektorowych przez niezaangażowane limfocyty B i komórki pamięci (39).

Efektorowe limfocyty T przechodzące etap różnicowania w centralnej fazie odpowiedzi immunologicznej pośredniczą w reakcjach cytotoksyczności komórkowej, nadwrażliwości typu późnego, odrzucania przeszczepów oraz w produkcji limfokin w odpowiedzi na stymulację antygenową. Różnicowanie tych komórek podlega kontroli regulacyjnej przez limfocyty supresyjne i pomocnicze, przy czym prawidłowością oddziaływania immunosupresorów w tym układzie jest większa oporność na leki ze strony prekursorów efektorowych komórek T i komórek pomocniczych w porównaniu do prekursorów komórek supresyjnych. Różnicowanie efektorowych limfocytów T może być blokowane przez Cy podawany przed lub po iniekcji antygeny, przy zastosowaniu odpowiednio wysokiej dawki leku (55). Istotną rolę odgrywać może również droga podania antygeny i użycie adjuwantów (30), warunki oceny — *in vitro* lub *in vivo* (40), a także miejsce lokalizacji efektorowych limfocytów T (58).

Supresyjne oddziaływanie antymetabolitów na różnicowanie efektorowych komórek T widoczne jest głównie w trakcie pierwotnej reakcji ustroju na stymulację antygenową. U pacjentów leczonych 5-Fluorouracyłem (5-FU), należącym do grupy analogów zasad pirymidynowych, stwierdzono depresję rozwoju nadwrażliwości kontaktowej na dwunitrochlorobenzen (DNCB), natomiast brak wpływu leku lub nawet wzmoczenie reakcji na przypominającą dawkę alergen (41). Zależność ta sugeruje, że elementem decydującym o modulacji tej reakcji komórkowej jest oddziaływanie 5-FU na dzielące się limfocyty. Nie można również wykluczyć możliwości wybiórczej eliminacji przez antymetabolity limfocytów T-supresyjnych, co tłumaczyłoby obserwowaną stymulację reakcji alergicznej. Analogiczna sytuacja, w której dochodzi do wzrostu różnicowania efektorowych komórek T może mieć miejsce w przypadku stosowania hormonów sterydowych selektywnie eliminujących limfocyty supresyjne, co związane jest z większą wrażliwością na te leki prekursorów komórek supresyjnych w porównaniu do prekursorów limfocytów efektorowych (57).

Supresyjne działanie na rozwój efektorowych limfocytów T wywierają także niektóre antybiotyki. Zahamowanie wystąpienia odczynu miejscowego na tuberkulę, reakcji przeszczep przeciw gospodarzowi i odrzucania przeszczepu, uzyskano w trakcie stosowania CsA (74). Podobny efekt blokowania reakcji nadwrażliwości opóźnionej, z udziałem efektorowych limfocytów T, stwierdzono w trakcie podawania myszom aktywnym D i chloramfenikolu (76).

Faza odśrodkowa (eferentna) odpowiedzi immunologicznej cechuje się ekspresją efektorowych funkcji odpornościowych rozwiniętych w fazie centralnej. Wpływ chemioterapeutyków o działaniu immunotropowym na ten etap jest często trudny do określenia, ponieważ oddziaływanie leków na mechanizmy regulujące rozwój komórek efektorowych oraz możliwości bezpośredniego blokowania specyficznych funkcji limfocytów nie są łatwe do rozróżnienia. Efektorowe funkcje limfocytów B są na ogół odporne na supresję indukowaną przez chemioterapię. Uczestnictwo efektorowych limfocytów T w reakcjach odpornościowych może być rozważane w kontekście cytotoksyczności tych komórek oraz produkcji limfokin. Badania wpływu Cy na odporność komórkową u świnek morskich nabytą po immunizacji frakcją PPD prątków gruźlicy wykazały zahamowanie indukowanej mitogenem transformacji limfocytów T oraz depresję stymulowanej PPD produkcji limfokiny MIF (4). Zbliżone wyniki uzyskano w ocenie oddziaływania chloramfenikolu na odporność komórkową. Antybiotyk ten w stężeniach klinicznie osiągalnych istotnie hamował transformację limfocytów ludzkich po stymulacji antygenowej. Minimalny efekt obserwowano natomiast w przypadku blastogenezy indukowanej przez mitogeny, prawdopodobnie z powodu silniejszej stymulacji i intensywniejszej odpowiedzi generowanej przez te czynniki (11). Supresyjny wpływ na efektorowe funkcje limfocytów wywierają także antybiotyki z grupy tetracyklin. U myszy, którym podawano leki z tej grupy wykazano ograniczoną zdolność do rozwoju skórnej reakcji nadwrażliwości opóźnionej na erytrocyty owcze (66). Doksyacyklina oraz — w mniejszym stopniu — tetracyklina wywierały także supresyjny efekt na indukowaną mitogenami odpowiedź proliferacyjną ludzkich limfocytów T (67). W przeciwieństwie do oddziaływania na mechanizmy odporności komórkowej, nie obserwowano istotnego wpływu hamującego tetracyklin w stosunku do produkcji przeciwciał.

Badania możliwości ingerowania chemioterapeutyków w funkcje limfocytów T-cytotoksycznych (Tc) wykazały większą oporność komórek dojrzałych w porównaniu do ich prekursorów. Przykładowo Cy powodował eliminację prekursorowych komórek Tc biorących udział w odrzucaniu przeszczepu, bez oddziaływania na aktywność cytotoksyczną limfocytów wstępnie uczulonych antygenem (10). Cytotoksyczność w stosunku do komórek obcych obserwowana w fazie eferentnej odpowiedzi immunologicznej może być także uwarunkowana aktywnością komórek zerowych (null cells), wśród których zidentyfikowano dwa odmienne typy funkcjonalne określane jako komórki K (killer cells) i NK (natural killer cells), odpowiedzialne odpowiednio za cytotoksyczność komórkową zależną od przeciwciał (ADCC) oraz cytotoksyczność spontaniczną. Oddziaływanie leków immunosupresyjnych na te mechanizmy wydaje się zależeć od wielu czynników, stąd też badania eksperymentalne tych procesów dają często wyniki

rozbieżne, co można zauważyć na przykładzie działania Cy. W jednym z doświadczeń wykazano, że lek ten w warunkach *in vitro* obniżał aktywność ADCC komórek krwi świnki morskiej (22), w innych z kolei stwierdzono jej istotny wzrost (21, 46, 47). Autorzy sugerują, że efekt stymulacyjny może być w tym przypadku uwarunkowany bezpośrednim wpływem leku na komórki efektorowe, prowadzącym do wzrostu ekspresji receptorów Fc, lub też modulacją układów regulacyjnych kontrolujących ten proces. Wśród antybiotyków immunosupresyjnych, częściowe zahamowanie aktywności ADCC powodowały aktynomycyna D i puromycyna, natomiast mitomycyna C nie wywierała żadnego efektu (71). Wydaje się prawdopodobne, że spadek aktywności ADCC obserwowany przy stosowaniu niektórych leków może być związany z redystrybucją komórek efektorowych do innych tkanek, co wykazano między innymi w badaniach nad wpływem azatiopryny (9) i hormonów sterydowych (52). Azatiopryna, Cy oraz wysokie dawki hydrokortyzonu powodowały także istotne obniżenie aktywności subpopulacji komórek NK, przy czym powrót do normy następował w ciągu 7 dni od zaprzestania podawania leków (34).

Przedstawione efekty supresyjnego oddziaływania różnych grup chemioterapeutyków na reakcje immunologiczne ustroju mogą być wypadkową wielu czynników. Rodzaj zastosowanego immunosupresora, jego dawka oraz schemat stosowania niewątpliwie rzutują w pierwszym rzędzie na zasięg i charakter uzyskanej immunomodulacji. Nie można też wykluczyć roli, jaką w procesie tym odgrywają czynniki wewnętrz- i zewnętrzne decydujące o stanie funkcjonalnym układu immunologicznego organizmu. Dzięki właściwościom osłabiania, względnie znoszenia określonych odczynów immunologicznych przez różne grupy chemioterapeutyków, stało się możliwe praktyczne wykozystanie tych leków w niektórych stanach chorobowych u ludzi i zwierząt. Biologiczny efekt działania immunosupresorów łączy w sobie jednak, obok korzyści terapeutycznych, także liczne działania uboczne, co wynika z faktu, że leki te mogą w równym stopniu blokować funkcje komórek układu immunologicznego, jak i innych komórek spełniających ważne czynności życiowe w ustroju. Liczba działań ubocznych związanych z terapią immunosupresyjną jest znaczna i w dużej mierze zależy od rodzaju stosowanego leku, przy czym wśród wspólnych i najczęściej występujących należy wymienić ogólne obniżenie odporności, infekcje wirusowe, bakteryjne i grzybicze (37, 50), reakcje alergiczne, a także działanie teratogenne i karcinogenne, przy czym zjawiska te są zazwyczaj proporcjonalne do zastosowanej dawki preparatu (77).

Ograniczona selektywność działania immunosupresorów w odniesieniu do określonych reakcji obronnych jest głównym powodem, dla którego wskazania do ich aplikacji ogranicza się obecnie do wybranych jednostek klinicznych oraz badań eksperymentalnych. Z drugiej jednak strony inspiruje ona do podejmowania dalszych intensywnych badań nad molekularnymi mechanizmami działania leków immunosupresyjnych oraz nad możliwością praktycznego wykorzystania ich farmakologicznego ingerowania w odczyn odpornościowy ustroju (59).

Piśmiennictwo

- Athanassiades P. H., Platts-Mills T. A., Asherson G. L., Oliver R. T.: Eur. J. Cancer 14, 971, 1978.
- Bach J. F., Dardenne M.: Cell Immunol. 6, 384, 1973.
- Balow J. E., Hurley D. L., Fauci A. S.: J. clin. Invest. 56, 65, 1975.
- Balow J. E., Parrillo J. E., Fauci A. S.: Immunology 32, 899, 1977.
- Belsheim J., Gnarpe H., Persson S.: Scand. J. Infect. Dis. 11, 141, 1979.
- Beveridge T.: Transplant. Proc. 24, 116, 1992.
- Bonavida B., Hutchinson I. V., Thomas A.: Transplant. Proc. 11, 872, 1979.
- Brent L.: Transplant. Proc. 11, 839, 1979.
- Campbell A. C., Skinner J. M., Madenian I. C.: Clin. exp. Immunol. 24, 49, 1976.
- Cherniakovskaya I. I., Fontalin L. N., Rubakova E. I.: Bull. Eksp. Biol. Med. 63, 192, 1978.
- DaMert G. J., Sohle P. G.: J. infect. Dis. 139, 129, 1979.
- LeBoues L. J., Anderson N. V.: Am. J. vet. Res. 52, 839, 1991.
- Deinard A. S., Fortuny I. E., Theologides A., Anderson G. L., Goer J., Kennedy B.: Cancer 33, 1210, 1974.
- Demetriu A., Fauci A. S.: Transplant. Proc. 11, 178, 1979.
- Dumont A. F.: Int. Arch. Allergy 47, 110, 1974.
- Fauci A. S.: Immunology 33, 669, 1975.
- Forsgren A., Banck G.: Infection 6, 81, 1978.
- Forsgren A., Schmeling D., Quie P. G.: J. infect. Dis. 133, 412, 1974.
- Gadeberg O. V., Rhodes J. M., Larsen S. O.: Immunology 28, 59, 1975.
- Gill H. K., Liew F. Y.: Eur. J. Imm. 8, 172, 1978.
- Giordano M., Colombo L.: Journal of Immunopharmacology 4, 315, 1982.
- Haynes B. B., Fauci A. S.: J. Clin. Invest. 61, 703, 1978.
- Hengst J. C., Mokyr M. B., Dray S.: Cancer Res. 40, 2135, 1980.
- Hunninghake G. W., Fauci A. S.: J. Immunol. 117, 337, 1976.
- Hunninghake G. W., Fauci A. S.: Clin. exp. Immunol. 27, 555, 1977.
- Hurd E. R., Ziff M.: J. exp. Med. 128, 785, 1938.
- Johansen K. S., Johansen T. S., Talmage D. W.: Allergy Clin. Imm. 54, 38, 1974.
- Kaplan S. S., Finch S.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 134, 287, 1970.
- Kaplan S. S., Perillie P. E., Finch S. C.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 139, 839, 1969.
- Kerckhaert J., Hofhuis F. M., Willers J. M.: Cell Immunol. 20, 232, 1977.
- Limpens J., Scheper R. J.: Clin. exp. Immunol. 64, 383, 1991.
- Lockhard Y. G., Sharbaugh R. J., Arhelger R. B., Grogan J. B.: J. Ret. Soc. 9, 97, 1971.
- Mackiewicz S.: Immunoterapia w chorobach o podłożu autoimmunologicznym, w: Immunoterapia, red. W. Michajłow, E. Halon, PAN 1984.
- Mantovani A., Luini W., Peri G., Vecchi A., Spreafico F.: J. Natl. Cancer Inst. 61, 1255, 1978.
- Martin R. R., Warr G. A., Souch R. B., Yeager H., Knight V.: J. infect. Dis. 129, 119, 1974.
- Mason J.: Transplant. Proc. 24, 49, 1992.
- Meunier F., Aoun M., Bitar N.: Clin. Infect. Dis. 14, 129, 1992.
- Miller E.: J. Vet. Intern. Med. 6, 103, 1992.
- Miller J. J., Cole L. J.: J. exp. Med. 123, 109, 1967.
- Milton J. D., Carpenter C. D., Addison I. E.: Cell Immunol. 24, 508, 1976.
- Mitchell M. S., DeConti R. C.: Cancer 33, 184, 1970.
- Nettesheim P., Hammons A. S.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 133, 696, 1970.
- Nordman E., Saalmaa H., Zolvanen A.: Cancer 41, 64, 1978.
- Ohnuma T., Arkin H., Minowada J., Holland J. F.: J. Natl. Cancer Inst. 60, 149, 1978.
- Orbach-Arbouys S., Castes M.: Immunology 33, 365, 1979.
- Palermo M. S., Giordano M., Olabuenaga S., Isturiz M. A.: Cellular Immunology 33, 338, 1985.
- Palermo M. S., Giordano M., Serebrinsky G. P., Gefner J. R., Ballat I., Isturiz M. A.: Immunology Letters 15, 13, 1987.
- Pennington J. E.: Ann. Rev. Respir. Dis. 118, 319, 1978.
- Pervezzeva E. R.: Farmak. Toks. 41, 422, 1978.
- Perfect J. R.: Rev. Infect. Dis. 13, 104, 1991.
- Polak L., Turk J. L.: Nature (London) 249, 654, 1974.
- Purves E. C., Brown K.: Transplantation 25, 4, 1978.
- Reynolds H. Y., Kazmierowski L. A., Dale D. C.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 151, 756, 1976.
- Rhodes J. M., Birch-Anderson A., Rav H.: Acta path. microbiol. scand. 33, 443, 1975.
- Riccardi C., Fioretti M. C., Giampietri A., Puccetti P., Goldin A.: Transplantation 25, 63, 1978.
- Rzedzicki J., Kowalska M.: Medycyna Wet. 48, 291, 1992.
- Schechter B., Feldman M.: J. Immunol. 119, 1563, 1977.
- Scheiffarth E., Leykams D., Warnatz H., Baenkler H. W.: Res. Exp. Med. 163, 198, 1973.
- Schreier M. H., Zenke G., Borel J. F., Bauman G.: Transplant. Proc. 24, 19, 1992.
- Schwartz A., Askenase P. W., Gershon R. K.: J. Immunol. 121, 1573, 1978.
- Schwarze G.: Clin. exp. Immunol. 27, 32, 1977.
- Sharbough R. J., Grogan J. B.: Antimicrob. Agents Chemother. 9, 468, 1989.
- Sieger L.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 156, 406, 1977.
- Stevenson J. R., Kreiling J. A., Taylor R.: Immunol. Invest. 18, 951, 1989.
- Stockman G. D., Heim L. R., South M. A., Trentin J. J.: J. Immunol. 119, 177, 1973.
- Thang Y. H., Ferrante A.: Clin. exp. Immunol. 39, 723, 1980.
- Thong Y. H., Ferrante A.: Clin. exp. Immunol. 35, 443, 1979.
- Toft P., Tonnesen E., Stendsen P., Rasmussen J. W.: APMIS 103, 154, 1992.
- Turk J. L., Poulter L. W.: Clin. exp. Immunol. 10, 285, 1972.
- Turk J. L., Parker D., Poulter L. W.: Immunology 23, 493, 1972.
- Urbanik S. J.: Br. J. Haemat. 42, 315, 1979.
- Van Den Broek A. A., Keuning F. J.: Dev. Biol. Stand. 38, 167, 1977.

73. Van Furth R., Gassman A. E., Diesselhoff-Den Dulk M. M.: J. exp. Med. 141, 131, 1975.
 74. White J. G., Plumb A. M., Pawelec G., Brons G.: Transplantation 27, 55, 1979.
 75. Wood M. L., Monaco A. P.: J. Immun. 118, 1456, 1977.
 76. Youmans A. S., Youmans G. P.: Infect. Immun. 19, 212, 1978.

77. Zabłocki B.: Podstawy teoretyczne immunosupresji i zasięg jej zastosowań, w: Immunoterapia, red. W. Michałłow, E. Hałon, PAN 1984.

Adres autora: dr Zbigniew Grądzki, ul. Tatarakowa 2/52, 20-541 Lublin

SYLVIA KÖLBL, STANISŁAW KLIMENTOWSKI *

artykuł przeglądowy

Aktualne możliwości diagnostyczne w chorobach wirusowych psów i kotów. I. Zakażenia wirusowe psów

Federalny Instytut Zwalczenia Chorób Wirusowych Zwierząt Domowych Emil-Behring-Weg 3,
1231 Wiedeń — Hetzendorf

* Katedra Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej,
Pl. Grunwaldzki 45, 50-386 Wrocław

Wczesne i szybkie rozpoznawanie chorób zakaźnych jest warunkiem skutecznego i racjonalnego postępowania przeciwepizootycznego. Dotychczas rozpoznawanie chorób wirusowych opierało się na bezpośrednim wykrywaniu zarazków lub pośrednio na wykazywaniu obecności przeciwciał wytwarzanych w ustroju w odpowiedzi na zakażenie. Obecnie obok metod tradycyjnych coraz częściej znajdują zastosowanie, szczególnie w chorobach wirusowych, techniki oparte na hybrydyzacji lub polimeryzacji kwasów nukleinowych.

Obecność zarazka, zależnie od momentu i czasu trwania zakażenia, można wykazać we krwi, płynach ustrojowych, wydzielinach i wydalinach, wymazach z błon śluzowych i w próbkach z biopsji, wykorzystując w tym celu różne techniki diagnostyczne jak: hodowle komórkowe, mikroskop elektronowy; odczyny serologiczne i próby biologiczne. Granice wykrywalności zależą od koncentracji wirusa w pobranym materiale, jego trwałości i związanym z tym utrzymaniem właściwości biologicznych oraz zjawisk immunologicznych zachodzących u zakażonego zwierzęcia.

W zależności od rodzaju zarazka, organizm z różną szybkością wytwarza przeciwciała antywirusowe, których stwierdzenie jest pośrednią metodą wykrywania zakażenia wirusowego. Ponadto obecność przeciwciał w surowicy krwi pozwala na retrospektywną diagnozę. Czas utrzymywania się przeciwciał zależy przede wszystkim od rodzaju wirusa i przebiegu choroby (zakażenia cykliczne, zakażenia trwałe). Jedynie szczegółowa analiza każdego przypadku zakażenia i doskonalą znajomość używanych metod badania umożliwia postawienie pewnej diagnozy choroby wirusowej.

Obecnie w klinice małych zwierząt wykonuje się szczegółowe badania laboratoryjne, które umożliwiają dostępne na rynku gotowe testy diagnostyczne. Opierają się one przede wszystkim na technice ELISA i pozwalają w krótkim czasie (1—2 godz.) określić jakościowo i ilościowo obecność antygenu lub przeciwciał. Wadą tych szybkich testów pozostaje jednak czasami niespecyficzna reakcja tła i niepełna wiedza użytkownika w interpretacji uzyskanych wyników. Jedynie szczegółowe rozpatrzenie każdego przypadku zakażenia i praktyczna znajomość przebiegu testu umożliwiają z dużą pewnością rozpoznanie choroby zakaźnej. Z danych statystycznych zebranych w Federalnym Instytucie Weterynarii w Wiedniu wynika, że zakażenia wirusowe są w 31,1% przyczyną padnięć psów.

Parwowiroza. Jest najczęściej występującą chorobą

wirusową. U psów wyizolowano dotychczas 3 parwowirusy: (a) tzw. „minute virus of canines” — CPV1; (b) adenoasociatę parwovirus — canine AAV; (c) canine parvovirus — CPV2. Dwa pierwsze wirusy nie wywołują zmian klinicznych. Chorobotwórczy CPV2 został po raz pierwszy wyizolowany w 1978 r. i zidentyfikowany jako rekombinant pomiędzy wirusem panleukopenii kotów i wirusem zapalenia jelit norek, przez co tłumaczone jest jego ścisłe pokrewieństwo pomiędzy tymi 3 wirusami (52). W Austrii pierwsze przypadki parwowirusy pojawiły się w 1980 r. (25).

Naturalnymi gospodarzami parwowirusa są psowate i norki, zaś u kotów występują zakażenia latentne. Psy są wrażliwe w każdym wieku, a kał i ślina zakażonych zwierząt są źródłem zarazka przez 2—3 tygodnie. W 1 g kału wydalanych jest ok. 10^9 cząsteczek wirusa, co ma również znaczenie diagnostyczne. CPV2 jest wysoce zaraźliwy i bardzo oporny w środowisku, stąd przy zagęszczeniu zwierząt wzrasta w krótkim czasie wskaźnik zakaźności. CPV2, podobnie jak PLV, ma powinowactwo do komórek ze wzmoczoną mitozą, a szczególnie do nabłonka jelitowego oraz u szceniąt do mięśnia sercowego. Tzw. postać sercowa pojawia się u szceniąt najczęściej pomiędzy 3 a 13 tyg. życia. Szczenięta padają bez jakichkolwiek wyraźnych objawów. Rozpoznanie w takim przypadku może być postawione w oparciu o metodę bezpośredniej immunofluorescencji (IF) lub izolację wirusa. Zamrożone wycinki śledziony, węzłów chłonnych, grasicy, jelita cienkiego i mięśnia sercowego okazują się najlepszym materiałem do badań IF. W preparatach widoczna jest wewnątrzjądrowa lub wewnątrzcytoplazmatyczna drobnoziarnista fluorescencja. Izolację CPV przeprowadza się na liniach ciągłych komórek nerki psa lub kota. Namnożenie się wirusa w komórkach na szkiełku nakrywkowym uwidacznia się 3—5 dnia. W bezpośredniej IF — pojawia się typowa, brylantowa fluorescencja jądra (31). U zwierząt z objawami enteritis możliwe jest badanie kału i wykrycie w nim wirusa. Tradycyjne metody jak mikroskopia elektronowa i hodowla komórkowa są długotrwałe (3—5 dni) i kosztowne (3). Również hemaglutynacja ze świeżymi erytrocytami świni lub małpy trwa 48 godz. i ma tendencję do reakcji nieswoistych.

Obecnie najlepszą i najszybszą metodą badania jest test ELISA. Gotowe zestawy są osiągalne w handlu i stosowane w naszych laboratoriach. Obecność wirusa w kale lub wymazie kałowym określa się przy użyciu przeciwciał monoklonalnych. Wynik uzyskuje się w cią-