

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

KRYSTYNA WAWRZKIEWICZ, JANUSZ WAWRZKIEWICZ
Lublin

Immunomodulacyjne właściwości ziarniaków i pałeczek gramujemnych

W ustroju ludzi i zwierząt występuje w warunkach naturalnych szereg drobnoustrojów zaliczanych do komensali lub symbiontów w zależności od ich relacji do makroorganizmu. Wiadomo, że obecność tych mikroorganizmów nie jest obojętna dla ustroju, a funkcje jakie spełniają są rozmaite: ochrona przed inwazją patogenów (np. *Lactobacillus* w pochwie), synteza witamin (np. *E. coli* w przewodzie pokarmowym) czy enzymatyczny udział w procesie trawienia u przeżuwaczy (np. beztlenowe bakterie celulolityczne w żwacu). Jednakże dopiero w ostatnich latach, wraz z szybkim rozwojem badań z zakresu odporności fizjologicznej, zaczęto zwracać większą uwagę na normalną mikroflorę jako czynnik modulujący odporność organizmu. Okazało się, że mechanizmy immunomodulacji stymulowanej przez drobnoustroje są bardzo zróżnicowane i mogą prowadzić zarówno do pobudzenia, jak i supresji reakcji immunologicznych. Jakkolwiek regulacja genetyczna (54), system samoregulujący oraz system sprzężenia zwrotnego (80) mają decydujące znaczenie w kontroli odpowiedzi immunologicznej, to jednak rola mikroflory ustroju w mobilizowaniu mechanizmów obronnych nie może być niedoceniana. Przeciwnie, wszystkie te złożone systemy fizjologiczno-odpornościowe stanowią wypadkową działania wielu czynników w tym i drobnoustrojów zaliczanych zarówno do komensali i symbiontów, jak i pasożytów antagonistycznych, pojawiających się najczęściej podczas typowej infekcji ze wszystkimi objawami chorobowymi. Taki kontakt bakterii, grzybów czy wirusów powoduje oddziaływanie na makroorganizm bądź nieuszkodzonych komórek, bądź całego szeregu składników drobnoustrojów, z których wiele wykazuje znaczną aktywność farmakologiczną. Należą do nich m. in. endotoksyny pałeczek gramujemnych, peptydoglikan ściany komórkowej bakterii gramododatnich oraz otoczkowe polisacharydy czy fosfolipidy błon komórkowych.

Te same elementy komórki bakteryjnej mogą wywoływać stymulację lub supresję w zależności od ilości tych związków dostarczonych do organizmu oraz drogi i czasu iniekcji w stosunku do antygeny. Dlatego też jest niezwykle trudno określić rolę poszczególnych elementów składowych komórki bez ich izolacji i oczyszczenia. Z drugiej strony naruszenie integralności struktur komórkowych może stwarzać niebezpieczeństwo jednostronnego

śledzenia efektu, bez uwzględnienia współdziałania lub wzajemnego unieczynniania się niektórych komponentów. Używanie jednak poszczególnych, przynajmniej częściowo oczyszczonych składników drobnoustrojów, ułatwia interpretację mechanizmów ich działania, co z kolei stwarza szanse praktycznego wykorzystania w immunoprofilaktyce lub immunoterapii.

W wyniku bowiem stosowania pewnych preparatów leczniczych, głównie antybiotyków o szerokim spektrum działania, lub też depresji naturalnych mechanizmów obronnych przez chroniczny proces choroby, zachodzi konieczność pobudzenia całego systemu odpornościowego, względnie niektórych jego mechanizmów, które zostały częściowo wyłączone spod kontroli złożonego i wielozadaniowego mechanizmu obronnego makroorganizmu.

Ziarniaki

Gramododatnie bakterie kuliste stanowią częsty czynnik etiologiczny rozmaitych schorzeń ludzi i zwierząt, stąd nie bez znaczenia jest ich oddziaływanie na ustrój poprzez szereg komponentów czynnych immunologicznie. Jednym z nich jest peptydoglikan, główny składnik ściany komórkowej, którego immunomodulacyjna aktywność uwarunkowana jest właściwościami fizycznymi, dawką i czasem iniekcji (13). Peptydoglikan *S. aureus* w postaci rozpuszczalnej wykazuje niezależnie od dawki właściwości adiuwancyjne; nie wywiera jednak efektu mitogennego. Częsteczkowy zaś peptydoglikan podany w małej dawce przed lub równocześnie z krwinkami odczynu indukuje wzrost odporności humoralnej, a równocześnie działa mitogennie na splenocyty. Duża dawka preparatu hamuje natomiast wytwarzanie hemolizyn. Działanie immunosupresyjne peptydoglikanu można przenieść za pomocą komórek śledziony, które dodane do hodowli normalnych splenocytów blokują odpowiedź humoralną. Przypuszcza się, że peptydoglikan indukuje bezpośrednio powstawanie populacji immunosupresyjnych makrofagów (14). Z peptydoglikanem ściany komórkowej *S. aureus* związane kowalentnie jest tzw. białko A (77) oddziałujące przede wszystkim na reakcje komórkowe. Użycie optymalnej dawki preparatu hamuje alergię typu późnego. Przypuszcza się, że gronkowcowe białko A pełni funkcję receptora komórkowego dla fragmentu Fc globuli-

ny związanej z antygenem, uniemożliwiając tym samym uwalnianie mediatorów odpowiedzialnych za pojawianie się nadwrażliwości późnej (11). Inny składnik ściany komórkowej paciorkowców, kwas tejchojowy, również wywiera działanie supresyjne, ale głównie na proces wytwarzania przeciwciał (56); podanie myszom preparatu na 1—2 dni przed erytrocytami owczymi wpływa hamująco na produkcję hemolizyn. Sugeruje się, że kwas tejchojowy reagując krzyżowo z krwinkami obniża ich immunogenność.

Zarówno pierwotna jak i wtórna odpowiedź immunologiczna ulega zablokowaniu jeżeli przed iniekcją antygeny podaje się myszom immunosupresyjny czynnik (SF), związany z błoną komórkową paciorkowców (20, 51, 52). Preparat nie działa toksycznie nawet w dużych stężeniach i podanie go po antygenie nie wpływa na reakcje immunologiczne. Działanie SF wg Gaumer i Schwab (29) zachodzi na etapie różnicowania się komórek pnia szpiku kostnego i dotyczy wypaczania funkcji niektórych populacji. Gershon (30) uważa, że wpływ czynnika SF dotyczy późniejszego okresu formowania się limfocytów, gdzie pobudza on wybiórczo subpopulację supresyjnych komórek T. Nie wykluczone również, że SF oddziałuje niekorzystnie na reakcje zachodzące pomiędzy makrofagiem a limfocytom T (25). Ogólnie, zdaniem Schwaba (73), paciorkowcowy czynnik SF zachowuje się jako supresor w stosunku do limfocytów B, a jako aktywator w odniesieniu do pewnych komórek T.

Wysocze oczyszczony produkt białkowy paciorkowców grupy A o cechach pirogennej egzotoksyny także posiada właściwości hamowania odpowiedzi humoralnej. Wykazano przejściową depresję w produkcji przeciwciał klasy IgM u królików, którym po antygenie podano dożylnie egzotoksynę; po 10 dniach wystąpiła jednak wzmożona odpowiedź immunologiczna. Hanna i Watson (37) sądzą, że ten proces inhibicji może być następstwem hamowania fagocytozy i przerabiania antygeny przez makrofagi, lub też wynikiem zróżnicowanej wrażliwości na toksynę supresyjnych limfocytów T i komórek B. Inny czynnik występujący zarówno w ścianie jak i błonie komórkowej oraz metabolitach paciorkowców (48) i gronkowca złocistego wywiera efekt mitogeny na limfocyty ludzkie, a także pobudza je do transformacji.

Pałeczki gramujemne

Escherichia i Salmonella

Istotnym składnikiem strukturalnym ściany bakterii gramujemnych jest endotoksyna, stanowiąca ważny biologicznie heteropolimer złożony z fragmentu lipidowego i wielocukrowego. Zakres aktywności tego lipopolisacharydu (LPS) jest szeroki i zróżnicowany, obejmujący liczne reakcje z dziedziny fizjopatologii i immunologii.

Stosunkowo dobrze poznano działanie LPS na zwierzęce fagocyty jednojądrzaste; okazało się, że działanie to ma z jednej strony charakter aktywujący, z drugiej toksyczny.

Stymulacyjny efekt wyraża się intensyfikacją rozplemu fagocytów (69) i pobudzeniem ich zdolności do rozprzestrzeniania się (61), wzmożoną syntezą enzymów lizosomalnych (27, 61, 81) i białka komórkowego (15), aktywizacją fagocytozy (4, 61) i pinocytozy, a także zwiększoną cytotoksycznością w stosunku do komórek nowotworowych (34). Nie wykluczone, że ta ostatnia właściwość wiąże się ze zdolnością lipopolisacharydów do stymulacji interferonu (78).

Cytotoksyczne działanie endotoksyny stwierdzono *in vitro* i *in vivo* w stosunku do makrofagów mysich i świnki morskiej (32, 38, 47, 75), przy czym stymulacyjny bądź depresyjny wynik mógł występować przy tych samych koncentracjach LPS (38). Endotoksyna *E. coli* ujawniała toksyczny efekt na mysie makrofagi już przy stężeniu 5 µg/ml (32) lub nawet niższym przy 24 godzinnej ekspozycji. Przedłużony do 72 godzin okres ekspozycji wpływał wyraźnie na obniżenie czasu przeżywania monocytów nawet przy stężeniu LPS około 1 µg/ml (84). Obumieranie komórek było wynikiem bezpośredniego oddziaływania lipopolisacharydu, ponieważ zjawisko to obserwowano w hodowlach pozbawionych limfocytów, a dodatek komórek śledziony wrażliwych na LPS nie wzmacniał właściwości bójczych w stosunku do makrofagów wrażliwej i niewrażliwej linii myszek (32).

Obserwacje przeprowadzone na zwierzętach zostały uzupełnione i rozszerzone przez Hammerströma (34, 35) i Unsgaarda (35) o wyniki badań na fagocytach ludzkich. W tym przypadku LPS nie działał jako sygnał wzmagający ekspresję aktywności nowotworobójczej makrofagów, ale przeciwnie przeszkadzając w różnicowaniu się jednojądrzastych fagocytów ludzkich powodował supresję ich właściwości cytotoksycznych (35). Ponadto nietoksyczne stężenia LPS obniżały syntezę białka komórkowego ludzkich monocytów i aktywność wewnątrzkomórkowych enzymów lizosomalnych, sugerując jakby większą wrażliwość na LPS fagocytów ludzkich w porównaniu ze zwierzęcymi. Obniżona zdolność trawienia wewnątrzkomórkowego mogła być wynikiem wiązania się lipopolisacharydu z błoną makrofaga i lizosomami (12).

Wpływ LPS nie ogranicza się jedynie do mononuklearnych fagocytów, ale dotyczy również populacji limfocytów, a więc sfery zjawisk swoistej odpowiedzi immunologicznej.

Endotoksyna *S. typhi* wykazuje efekt immunomodulacyjny na odpowiedź humoralną u myszy immunizowanych krwinkami barana. Dawka i czas jaki upływa między podaniem toksyny a antygeny determinują odpowiedź immunologiczną (67, 79). Antygen podany rów-

nocześnie lub wkrótce po LPS stymuluje odpowiedź humoralną, natomiast iniekcje endotoksyny 1—2 dni przed immunizacją indukują immunosupresję głównie immunoglobulin klasy G i komórek tworzących rozetki (26, 55, 67).

Pewne światło na mechanizm tych zjawisk rzucają badania histologiczne (55). W przypadku supresji u myszy wywołanej endotoksyną, obserwuje się selektywne wyczerpanie limfocytów grasiczo-zależnych ze śledziony i węzłów chłonnych trwające przez okres 6 dni. Wskazuje to na limfotoksyczny efekt lipopolisacharydów. Natomiast u myszy ze wzmożoną odpowiedzią immunologiczną (endotoksyna podana łącznie z antygenem) następuje szybka regeneracja tkanki limfoidalnej, rozplem komórek pironofilnych i tworzenie przeciwciał. Ten synergistyczny efekt antygeny i endotoksyny działający bezpośrednio mitogenicznie na komórki B jest bardziej zrozumiały jeśli przyjmiemy, że endotoksyna zastępuje jakby pomocnicze komórki T, modyfikując w ten sposób antygen T-zależny na T-niezależny (57).

Podanie antygeny w dwa dni po endotoksynie sprawia, że komórki T, podobnie jak poprzednio, występują w obniżonej ilości, a limfocyty B, częściowo zaktywizowane poprzez fragment C3, są niezdolne do wiązania się z antygenem w wyniku czego dochodzi do supresji odpowiedzi humoralnej. Według tej koncepcji główny efekt działania endotoksyny dotyczy więc stymulowanych przez dopełniacz komórek B. Whang i wsp. (83) sugerują odmienny mechanizm reakcji. Według nich supresja produkcji przeciwciał zachodzi wówczas, gdy przed iniekcją poddaje się wspólną inkubacji antygen i endotoksynę *E. coli*. Nie stwierdza się natomiast żadnego efektu, jeśli preparaty stosuje się oddzielnie w tym samym czasie. Efekt depresyjny autorzy tłumaczą bezpośrednią interakcją antygeny i endotoksyny, która wpływa w zasadniczy sposób na zmianę determinantów antygenowych.

Obserwowano także supresyjne działanie lipopolisacharydów na odpowiedź komórkową. Floersheim i Szeszak (24) wykazali jako rezultat działania endotoksyny supresję mechanizmu efektorowego nadwrażliwości późnej. Przyczyną tego miała być zmiana rozprzestrzeniania się w ustroju wrażliwych na antygen limfocytów, bądź też powstałe pod wpływem toksyny zaburzenia w przepuszczalności błony komórkowej. Ponadto ekstrakty mechaniczne rozbitych komórek *E. coli* lub osmotycznie zniszczonych sferoplastów podane przed przeszczepem lub w jeden dzień po zabiegu, powodowały przedłużenie przeżycia przeszczepu z 9,2 do 22,4 dnia.

Ostatnio wykazano, że izolowany z endotoksyny, tzw. wolny lipid A, podobnie jak wyjściowy lipopolisacharyd, wykazuje znaczne powinowactwo do błon komórkowych, a w związku z tym i aktywność immunologiczną. Posiada

on zdolność aktywacji dopełniacza na drodze klasycznej bez obecności przeciwciał (45) i właściwości mitogenne w stosunku do limfocytów zwłaszcza grupy B (62, 66). Również inne składniki ściany komórkowej *E. coli* cechują się aktywnością immunologiczną. Czynnikiem mitogennym dla limfocytów B myszy okazało się np. białko I i w mniejszym stopniu białko II (6).

Immunosupresyjne działanie na limfocyty może być udziałem nie tylko składników ściany komórkowej bakterii gramujemnych, lecz również pewnych enzymów.

Schwartz (74) wykazał, że iniekcja l-asparaginazy przed lub po podaniu erytrocytów wywoływała supresję komórek produkujących przeciwciała. Jednakże z badań innych autorów (41) wynika, że efekt tego enzymu uzależniony jest w znacznym stopniu od czasu iniekcji, a ponadto działanie ma raczej charakter opóźniający, niż hamujący odpowiedź humoralną. Powrót do normy po okresie zaburzeń w wytwarzaniu przeciwciał u myszy traktowanych l-asparaginazą, przypisuje się uzupełnianiu aminokwasu za pośrednictwem syntezy asparaginowej (41).

Stwierdzono (5), że l-asparaginaza w większym stopniu hamuje odpowiedź immunologiczną w stosunku do antygenów T-zależnych, aniżeli np. do lipopolisacharydów — antygeny T-niezależnego, co wskazywałoby na selektywne działanie enzymu na komórki T. Berenbaum i wsp. (5) nie przypuszczają jednak, aby niższa podatność limfocytów B na l-asparaginazę była uwarunkowana genetycznie, lecz sądzą, że różnice we wrażliwości wiążą się z odmiennym mikrośrodowiskiem komórek B i T. Inhibycyjne właściwości enzymu *in vivo* znajdują potwierdzenie w badaniach *in vitro* (41), przy czym trudno ustalić jak głębokim przemianom pod wpływem l-asparaginazy ulegają limfocyty. Zdaniem bowiem Hersha (41) dodatek do hodowli l-asparaginy niwelował hamujące działanie enzymu, natomiast wg Simberkoffa i wsp. (76) dodatek aminokwasu nie miał wpływu na efekt inhibicji *in vitro*. Nie można więc mechanizmu supresji spowodowanej l-asparaginazą tłumaczyć jedynie wyczerpywaniem się aminokwasu w środowisku. Proces wydaje się być bardziej złożony, a u jego podstaw leżą zmiany zachodzące w błonie komórkowej limfocytów (36), być może na skutek degradacji glikoproteidów przez enzym, a zwłaszcza zmiany w receptorach komórki (16). Wypaczoną odpowiedź limfocytów na mitogen *in vitro* obserwowano również pod wpływem innego enzymu *E. coli*, a mianowicie l-glutaminazy (40).

Bordetella pertussis

Inaktywowana szczepionka *B. pertussis* wykazuje immunomodulacyjną aktywność w różnych układach doświadczalnych. Floersheim (21) wykazał, że duże dawki szczepionki zaapli-

kowane świnkom morskim 30 minut przed i 8 godzin po pojawieniu się odczynu tuberkulinowego wyraźnie obniżały reakcję skórą. Ta hiporeaktywna faza miała jednak charakter przejściowy, gdyż iniekcja *B. pertussis* na 16 godzin lub 4 dni przed tuberkuliną nie miała większego wpływu na wynik próby. Supresję odpowiedzi komórkowej obserwowali również inni autorzy. Hirano i wsp. (42) wprowadzając myszom szczepionkę 4 dni przed lub 7 dni po wszczepieniu guza białaczkowego Rauschera obserwowali nasilony wzrost guza i równocześnie redukcję proliferacji komórek śledziony stymulowanych PHA lub adiuwantem Freund. *B. pertussis* podana 2 dni przed przeszczepem allogenicznym u myszy powodowała przedłużenie przeżycia skórno przeszczepu poprzez zwiększoną aktywność surowicy anty-limfocytarnej (8).

Z drugiej strony są obserwacje świadczące o adiuwancyjnym efekcie szczepionki. Wykazali to m. in. Yamamoto i Murata (87), stosując *B. pertussis* obok anatoksyny tężcowej i stwierdzili wzrost reaktywności w odpowiedzi skórnej typu późnego. Również w stosunku do zakażenia wywołanego wirusem LCM (limfocytnego zapalenia opon i spłotów naczyń włosowatych) szczepionka *B. pertussis* wyraźnie wzmacniała odporność komórkową uprzednio zdeprymowaną przez dianhydrocytol (3).

Właściwości modulacyjne szczepionki *B. pertussis* dotyczą także odpowiedzi humoralnej (17, 18, 19), przy czym efekt uwarunkowany jest czasem iniekcji, dawką i rodzajem bodźca antygenowego. Aplikacja szczepionki po podaniu suboptymalnej dawki 2×10^7 krwinek owczych hamowała przejściowo wytwarzanie komórek produkujących przeciwciała, a następnie wzmacniała odpowiedź immunologiczną (19). Howard i wsp. (44) podając myszom *B. pertussis* łącznie z 5 µg otoczkowego antygenu pneumokokowego typu III, stwierdzili redukcję ilości komórek śledziony wytwarzających przeciwciała przeciwko temu antygenowi. Również wg Konga (49) traktowanie myszy *B. pertussis* 2 dni przed, 2 dni po lub równocześnie z polisacharydem pneumokokowym S III w dawce 0,01 — 1 µg, powodowało obniżenie odpowiedzi immunologicznej. Natomiast, w odróżnieniu od wyników Howarda i wsp. (44), szczepionka stosowana zarówno z niższymi, jak i wyższymi stężeniami antygenu pneumokokowego, stymulowała reakcje humoralne. Ponadto w układzie takim miała miejsce produkcja tylko przeciwciał 7S, podczas gdy iniekcja samych pałeczek krztuśca bez polisacharydu, indukowała wytwarzanie zarówno przeciwciał 7S, jak i 19S.

Zjawiska te wiąże się z faktem, iż *Bordetella pertussis* stymuluje w ustroju limfocytozę i powoduje zaburzenia w recyrkulacji małych limfocytów poprzez indukcję zmian na ich powierzchni. Morse (58) wywołał u myszy lim-

focytozę z towarzyszącą depopulacją limfocytów z narządów limfoidalnych i szpiku kostnego. Później Rai i wsp. (68) po wprowadzeniu owcom supernatantu hodowli *B. pertussis*, stwierdzili nadmierny wzrost liczby limfocytów we krwi, połączony z równoczesnym ich wyczerpaniem w śledzionie, a Athanassidiades i Morse (2) potwierdzili te obserwacje w badaniach na myszach.

Z kolei udowodniono, że zmiany zachodzące na powierzchni małych limfocytów pod wpływem antygenów pałeczki krztuśca uniemożliwiają ich powrót z układu krążenia do narządów limfoidalnych (2, 59). Sporną początkowo kwestię stanowił jednak charakter czynnika przyspieszającego limfocytozę. Lehrer i wsp. (50), Sato i wsp. (71) oraz Sato i wsp. (72) wiązali różnorodną aktywność *B. pertussis* (stymulację limfocytozy, właściwości hemaglutynacyjne i adiuwancyjne) z tą samą cząsteczką kształtu nitkowatego. Jednakże późniejsze badania (60) pozwoliły na rozróżnienie czynnika przyspieszającego limfocytozę (LPF) od czynnika wywołującego hemaglutynację; każdy z nich był immunologicznie homogeny, ale posiadał odmienny kształt, co stwierdzono w mikroskopie elektronowym. LPF okazał się typowym immunomodulatorem; dożylna jego iniekcja na 1—3 dni przed erytrocytami owczymi powodowała u myszy spadek miana przeciwciał określanych odczynem hemaglutynacji. Również wtórna odpowiedź w stosunku do krwinek i pierwotna w stosunku do anatoksyny tężcowej ulegały przejściowej depresji (1). Ponadto po dożylniej iniekcji 0,5 µg LPF (65) stwierdzono supresję nadwrażliwości późnej na PPD oraz dłuższe przeżywanie przeszczepu skórno u szczurów. Stopień supresji wydawał się korelować ze stopniem limfocytozy.

Pseudomonas aeruginosa

Nieoczyszczone ekstrakty *P. aeruginosa* powodują *in vivo* depresję odpowiedzi komórkowej. Dawka 0,03 µg/kg wprowadzona dootrzewnowo świnkom morskim bezpośrednio przed i 8 godzin po pojawieniu się reakcji nadwrażliwości późnej na tuberkulinę, obniżała znacznie grubość fałdu skórno w stosunku do kontroli (23). Ekstrakty wywoływały także przedłużenie przeżywania przeszczepów skórnych u myszy.

Przypuszcza się, że depresja reakcji komórkowej spowodowana jest specyficznymi limfocytami supresorowymi (10), których ilość i aktywność wzrasta i które wpływają na indukcyjną fazę odpowiedzi immunologicznej, hamując gromadzenie się normalnych T limfocytów w węzłach chłonnych (28). Ekstrakty *P. aeruginosa* hamują również odpowiedź humoralną. Floersheim i wsp. (22) wykazali wyraźne obniżenie ilości komórek śledziony, produkujących przeciwciała u myszy traktowanych wyciągiem z *P. aeruginosa* 24 godziny

przed podaniem erytrocytów owczych. Obserwowane analogie między efektem działania lipopolisacharydu *E. coli* i *S. typhi* oraz ekstraktu *P. aeruginosa* sugerują, że i w tym ostatnim przypadku aktywnym biologicznie komponentem jest endotoksyna. Endotoksyna *P. aeruginosa* posiada także właściwości stymulacyjne: indukuje wytwarzanie interferonu (46), działa przeciwnowotworowo (43), wzbudza niespecyficzną odporność aktywizując m. in. dopełniacz świnki morskiej na drodze klasycznej oraz alternatywnej (bez obecności przeciwciał) (45) i wywiera efekt adiuwancyjny (70).

Klebsiella pneumoniae

Polisacharydy na ogół znane są ze swej aktywności immunomodulacyjnej i przeciwnowotworowej. Uważa się, że działają przede wszystkim na komórki T, a zwłaszcza na subpopulację limfocytów pomocniczych oraz aktywują nieswoiste makrofagi wzmagając efekt przeciwnowotworowy (31). Jednakże mechanizm działania polisacharydów nie jest w pełni wyjaśniony. Otokowy polisacharyd *Klebsiella pneumoniae* wykazuje aktywność biologiczną i w zależności od warunków doświadczenia może być immunosupresorem lub immunostymulatorem (63). Wprowadzony domięśniowo łącznie z kompletnym adiuwantem Freund'a w okresie 3—30 dni przed antygenem, hamuje odpowiedź humoralną w stosunku do albuminy bydlęcej. Silny efekt adiuwancyjny stwierdza się natomiast, jeżeli iniekcja polisacharydu jest równoczesna z antygenem lub podanie albuminy bydlęcej wyprzedza o 3 dni iniekcję polisacharydu.

Jakkolwiek wyniki te wskazują na pewne analogie do działania endotoksyny, to jednak autorzy uważają, że obserwowana aktywność polisacharydu nie jest spowodowana zanieczyszczeniem endotoksyną. Supresyjny wpływ antygeny polisacharydowego *K. pneumoniae* ujawniono również w badaniach *in vitro*. Dodatek polisacharydu do hodowli komórek śledzionowych mysich działał hamująco na proliferację makrofagów; efektu tego nie można było usunąć poprzez przemycie komórek, jeżeli ich uprzedni kontakt z antygenem wynosił co najmniej 3 godziny (86).

Vibrio cholerae

Immunomodulacyjne działanie *V. cholerae* wiąże się z enterotoksyną — substancją o charakterze białkowym (9). Badania wykazały, że enterotoksyna może pełnić funkcję silnego adiuwantu względnie immunosupresora w zależności od dawki i czasu iniekcji. Northrup i Fauci (64) po inokulacji myszkom 0,05 µg toksyny łącznie z adiuwantem stwierdzili 13-krotny wzrost liczby komórek śledzionowych, wytwarzających przeciwciała przeciwko erytrocytom owczym. Ta sama dawka podana jednak

12 godzin przed lub po antygenie indukowała supresję. Podobne (39) właściwości enterotoksyny wykazano w odniesieniu do odporności komórkowej. Wprowadzenie dootrzewnowo myszkom linii C57 BL/6 komórek mastocytoma łącznie z 1 µg toksyny *V. cholerae* wpływało na aktywność cytolityczną komórek śledziony.

Natomiast iniekcja enterotoksyny w 4 dni później prowadziła do zahamowania efektu cytolitycznego w 70%, a iniekcja między 7—10 dniem znosiła całkowicie aktywność tego typu. Oceniając nadwrażliwość typu późnego i tworzenie się ziarniniaka pod wpływem jaj *Schistosoma mansoni*, Warren i wsp. (82) wykazali wyraźne działanie immunosupresyjne toksyny. Dawka 2,0 µg wprowadzona między 1—3 dniem przed pojawieniem się nadwrażliwości opóźnionej działała silnie depresyjnie. Hamowanie dotyczyło zarówno czynnika hamującego migrację, jak i tworzenia się ziarniniaka. Ponadto stwierdzono dłuższy okres przeżywania przeszczepów u myszy. Przyjmuje się, że jeden z podstawowych mechanizmów działania enterotoksyny przecinkowca cholery polega na stymulacji cykazy adenylowej występującej w błonie komórkowej. Enzym ten przekształca komórkowy ATP w cykliczny adenozylo-3',5'-monofosforan (cAMP), który aktywizując kinazy i fosforylasy doprowadza do nasilenia procesów metabolicznych. Indukcję cykazy adenylowej przez enterotoksynę wykazano w płytkach krwi (88), w komórkach wątroby (33, 88), tarczycy (53), nadnerczy (85), a także w leukocytach (7). Niezależnie od tego enterotoksyna doprowadza do znacznego obniżenia liczby krwinek białych w śledzionie i układzie krążenia. Warren i wsp. (82) sugerują, że spadek ten spowodowany jest selektywnym niszczeniem przez enterotoksynę limfocytów zwłaszcza subpopulacji T.

Dane te mogłyby wskazywać, że limfocyty B pobudzone we właściwym czasie przez enterotoksynę i antygen są zdolne do nasilonej odpowiedzi humoralnej, zaś limfocyty T, selektywnie niszczone, nie są w stanie zachować w pełni swoich funkcji kontrolnych związanych z odpornością komórkową.

Piśmiennictwo

1. Asakawa S.: Jap. J. Med. Sci. Biol. 22, 23, 1969.
2. Athanassiades T. J., Morse S. I.: Blood 42, 611, 1973.
3. Banos Z., Szeri I., Anderlik P.: Acta microbiol. hung. 26, 121, 1979.
4. Bennett W. E., Cohn Z. A.: J. exp. Med. 123, 145, 1966.
5. Berenbaum M. C., Cope W. A., Jeffery W.: Clin. exp. Immun. 15, 565, 1973.
6. Bessler W. G., Henning U.: Z. Immun. Forsch. Immunobiol. 155, 387, 1979.
7. Bourne H. R., Lehrer R. I., Lichtenstein L. M., Weissman G., Zurier R.: J. clin. Invest. 52, 698, 1973.
8. Brent L., Pinto M.: Transplant. Proc. 5, 597, 1973.
9. Chisari F. V., Northrup R. S., Chen L. C.: J. Immunol. 113, 729, 1974.
10. Colizzi V., Garzelli C., Campa M., Falcone G.: Infect Immun. 21, 354, 1978.
11. Cowan F. M., Klein D. L., Armstrong G. R., Pearson J. W.: Biomedicine 30, 241, 1979.
12. Davies M., Stewart-Tull D. E. S., Jackson D. M.: Biochim. biophys. Acta 508, 260, 1978.
13. Dziarski R.: Infect. Immun. 26, 506, 1979.
14. Dziarski R.: J. Reticuloendothel. Soc. 26, 239, 1979.
15. Edelson P., Zwiebel R., Cohn Z. A.: J. exp. Med. 142, 1150, 1975.

16. Fidler I. J., Montgomery P. C.: *Cancer Res.* 32, 2400, 1972.
17. Finger H., Bartoschek M., Emmerling P.: *Path. Microbiol.* 38, 93, 1972.
18. Finger H., Emmerling P., Bruss E.: *Infect. Immun.* 1, 251, 1970.
19. Finger H., Emmerling P., Plager L.: *Infect. Immun.* 5, 783, 1973.
20. Finger H., Heymer B., Hof H., Meister, Bultman B., Hajerkamp O.: *Z. Immun. Forsch.* 147, 449, 1974.
21. Floersheim G. L.: *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 26, 340, 1965.
22. Floersheim G. L., Borel J. F., Wiesinger D., Brundel J., Kis Z.: *Agents Actions* 2, 231, 1972.
23. Floersheim G. L., Hopff W. H., Gasser M., Bucher K.: *Clin. exp. Immun.* 9, 241, 1971.
24. Floersheim G. L., Szeszak J. J.: *Agents Actions* 2, 150, 1972.
25. Folch H., Waksman B. H.: *Cell. Immunol.* 9, 25, 1973.
26. Franzl R. E., McMaster P. D.: *J. exp. Med.* 127, 1087, 1968.
27. Ganguly N. K., Lloyd B., Price C. P., Kingham J. G. C., Lloyd R. S., Triger D. R.: *Lancet* 1, 1073, 1978.
28. Garzelli C., Colizzi V., Campa M., Bozzi L., Falcone G.: *Infect. Immun.* 26, 4, 1979.
29. Gaumer H. R., Schwab J. H.: *Cell. Immunol.* 4, 394, 1972.
30. Gerhson R. K., Cohen P., Hencin R., Liebhauer S.: *J. Immunol.* 108, 586, 1972.
31. Gliedmanowski J.: *Immunologia Polska* V, 347, 1980.
32. Glode L. M., Jaques A., Mergenhagen S. E., Rosenstreich D. L.: *J. Immunol.* 119, 162, 1977.
33. Gorman R. E., Bitensky M. W.: *Nature* 235, 439, 1972.
34. Hammerstrom J.: *Acta path. microbiol. scand. C*, 87, 391, 1979.
35. Hammerstrom J., Unsgaard G.: *Acta path. microbiol. C*, 87, 381, 1979.
36. Han T., Ohnuma T.: *Immunology* 26, 169, 1974.
37. Hanna E. E., Watson D. W.: *J. Bact.* 95, 14, 1968.
38. Heitman D. H.: *Int. Archs. Allergy* 26, 63, 1965.
39. Henney C. S., Lichtenstein L. M., Gillespie E., Rolley R. T.: *J. clin. Invest.* 52, 2853, 1973.
40. Hersh E. M.: *Science* 172, 736, 1971.
41. Hersh E. M.: *Transplant. Proc.* 5, 1211, 1973.
42. Hirano M., Sinkovics J. G., Shullenberger C. C., Howe C. D.: *Science* 158, 1061, 1967.
43. Hoski A., Kanzawa F., Kureitani K., Homm J. Y., Abe C.: *Gann*, 64, 523, 1973.
44. Howard J. G., Christian G. H., Scott M. T.: *Cell. Immunol.* 7, 290, 1973.
45. Inada K.: *Jap. J. exp. Med.* 1, 13, 1980.
46. Kajima Y., Homma J. Y., Abe C.: *Jap. exp. Med.* 41, 493, 1971.
47. Kessel R. W. I., Braun W.: *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* 43, 511, 1965.
48. Keiser H., Kushner I. I., Kaplan M. H.: *J. Immunol.* 106, 1593, 1971.
49. Kong A. S.: *Fedn. Proc.* 33, 732, 1974.
50. Lehrer S. B., Tan E. M., Vaughan J. H.: *J. Immunol.* 113, 18, 1974.
51. Malakian A. H., Schwab J. H.: *Science* 159, 880, 1968.
52. Malakian A. H., Schwab J. H.: *J. exp. Med.* 134, 1253, 1971.
53. Mashiter K., Mashiter G. D., Hauger R. L., Field J. B.: *Endocrinology* 92, 541, 1973.
54. McDevitt H. O., Benaceraff B.: *Adv. Immunol.* 11, 31, 1969.
55. McMaster P. D., Franzl R. E.: *J. exp. Med.* 127, 1109, 1968.
56. Miller G. A., Jackson R. W.: *J. Immunol.* 110, 148, 1973.
57. Moller G., Anderson J., Sjöberg O.: *Cell. Immunol.* 4, 416, 1972.
58. Morse S. I.: *J. exp. Med.* 121, 49, 1965.
59. Morse S. I., Barron B. A.: *J. exp. Med.* 132, 663, 1970.
60. Morse S. I., Morse J. H.: *Fedn. Proc.* 33, 763, 1974.
61. Merland B., Kaplan G.: *Expl. Cell. Res.* 108, 279, 1977.
62. Nagasawa K., Mori R., Kondo S., Hisatsune K.: *J. Neurol. Sci.* 42, 417, 1979.
63. Nakashima I., Kobayashi T., Kato N.: *J. Immunol.* 107, 1112, 1971.
64. Northrup R. S., Fauci A. S.: *J. infect. Dis.* 125, 672, 1972.
65. Ochiai T., Okumura K., Tada T., Iwasa S.: *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 43, 196, 1972.
66. Peavy D. L., Shands J. W., Adler W. H., Smith R. T.: *J. Immunol.* 111, 352, 1973.
67. Pershin S. B., Tumanyan M. A.: *Zb. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 56, 12, 33, 1979.
68. Rai K. R., Chanana A. D., Cronkite E. P., Joel D. D., Stevens J. B.: *Blood* 38, 49, 1971.
69. Ralph P., Nakoinz I.: *Cancer. Res.* 37, 546, 1977.
70. Sasaki M., Ito H., Homma J. Y.: *Jap. J. exp. Med.* 45, 335, 1975.
71. Sato Y., Arai H., Suzuki K.: *Infect. Immun.* 7, 992, 1973.
72. Sato Y., Arai H., Suzuki K.: *Infect. Immun.* 9, 801, 1974.
73. Schwab J. H.: *Bact. Rev.* 2, 121, 1975.
74. Schwartz R. S.: *Nature (London)* 224, 275, 1969.
75. Shands J. W., Peavy D. L., Gormus B. J., Mc Graw J.: *Infect. Immun.* 9, 106, 1974.
76. Simberloff M., Thorbecke S., Thomas L.: *J. exp. Med.* 129, 1163, 1969.
77. Sjöquist J., Movitz J., Johansson I. B.: *Europ. J. Biochem.* 30, 190, 1972.
78. Stinebring W. R., Jenkins S.: *Advances in experimental medicine and biology* 10, 193, 1978.
79. Tumanyan M. A., Pershin S. B.: *Zb. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 56 (11), 33, 1979.
80. Uhr J. W., Moller G.: *Adv. Immunol.* 8, 81, 1968.
81. Wahl L. M., Wahl S. M., Mergenhagen S. E., Martin G. R.: *Proc. natn. Acad. Sci. USA* 71, 3598, 1974.
82. Warren K. S., Mahmoud A. A. F., Boros D. L., Rall T. W., Mandel M. A., Carpenter C. C. J.: *J. Immunol.* 112, 995, 1974.
83. Whang H. W., Luderitz O., Westphal O., Neter E.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 120, 371, 1965.
84. Wiener E., Levanon D.: *Lab. Invest.* 19, 584, 1968.
85. Wolff J., Temple R., Cook G. H.: *Proc. natn. Acad. Sci. USA* 70, 2741, 1972.
86. Yakochi T., Nakashima I., Kato N.: *Microbiol. Immunol.* 23, 487, 1979.
87. Yamamoto A., Murata R.: *Jap. J. med. Sci. Biol.* 31, 393, 1978.
88. Zieve P. D., Pierce N. F., Greenough W. B.: *Johns Hopkins Med. J.* 129, 299, 1971.

Adres autora: prof. dr Krystyna Wawrzekiewicz, ul. B. Chrobrego 1 m. 19, 20-611 Lublin.

BOUILLANT A. M. P., RUCKENBRAUER G. M., EAGLESOME M. D., SAMAGH B. S., SINGH E. L., HARE W. C. D., RANDALL G. C. B.: Próby izolowania wirusa białaczki bydła i wirusa syncycjalnego z krwi, płynu macicznego niezapłodnionych jaj i zarodków od zakażonych krów. (Attempt to isolate bovine leukemia and bovine syncytial viruses from blood, uterine flush fluid, unfertilized ova and embryos from infected donor cattle). *Ann. Rech. Vet.* 12, 385—395, 1981 (4).

Przebadano na obecność wirusa białaczki bydła (BLV) oraz wirusa syncycjalnego (BSV) leukocyty krwi, osad z płynu macicznego, niezapłodnione jaja i zarodki pobrane od krów z białaczką. W badaniach stosowano posiewy na hodowle komórek śledziony płodu jagnięcia, indukując powstawanie syncycjów i odczynny immunofluorescencji. Obecność wirusa białaczki wykazano w leukocytach 73,3% badanych krów. W popłuczynie macicy wirus stwierdzono u 16,0% krów. Wirus BSV występował w leukocytach 93,3% krów i w osadzie z płynu macicznego 84,0% krów. Obecności obydwu badanych wirusów nie wykazano w jajach oraz w zarodkach pochodzących od 20 krów z białaczką.

G.

BARNOUIN J., MIALOT M., LEVIEUX D.: Ocena stanu patologicznego wątroby bydła w oparciu o badanie krwi. Współzależność wyników badań histopatologicznych. (Evaluation de la pathologie hépatique des bovins sur un prelevement de sang. Relations avec l'histopathologie) *Ann. Rech. Vet.* 12, 362—369, 1981 (4).

Na podstawie zmian w wątrobie krów poddanych ubojowi wyróżniono wśród nich trzy grupy zwierząt, grupa N — bez widocznych zmian chorobowych, grupa CD — cholangitis na tle zarażenia *Fasciola hepatica* i grupa AN — silnie uszkodzona wątroba. Krew do badań biochemicznych i serologicznych pobierano od wszystkich zwierząt przed ubojem. U krów z grup CD i AN w odniesieniu do grupy N występował znamieny wzrost poziomu transferazy gamma glutamylowej, dehydrogenazy glutaminianowej, albumin, globulin i białka całkowitego plazmy krwi. Porównanie między grupami CD i AN wykazało znamienne wyższy poziom dehydrogenazy glutaminianowej oraz niższy poziom albumin w płazmie krwi krów z grupy AN. U krów główną przyczyną zmian w wątrobie było zarażenie motylicą wątrobową.

G.