

ZDZISŁAW GLIŃSKI
Lublin

Mechanizmy odporności komórkowej i humoralnej owadów^{*)}

Organizmy żywe, niezależnie od stopnia organizacji, rozwiązują wspólne problemy o podstawowym znaczeniu dla życia, a mianowicie: problem oddychania, równowagi wodnej i jonowej, odżywiania, rozmnażania, ruchu, reakcji na bodźce, integracji i homeostazy, a także rozpoznawania składników własnych, obrony przed wniknięciem substancji obcych i ich likwidacji. W procesie ewolucji zwierzęta wykształciły krańcowo różne rozwiązania tych problemów. Jednakże, mimo niekiedy bardzo dużych różnic morfologicznych, istnieją między żywymi istotami daleko posunięte podobieństwa czynnościowe, zwłaszcza na poziomie komórkowym i molekularnym. Niemniej jednak ograniczenia wypływające z niedostatków metodyki badań (stosowanie metodyk powszechnie przyjętych w immunologii kręgowców, a zwłaszcza ssaków do badań zjawisk odpornościowych u bezkręgowców), a także brak odpowiedzi na niektóre pytania podstawowe, jak: występowanie immunoglobulin lub ich funkcjonalnych odpowiedników, rola lizozymu u owadów — utrudnia dokonanie uogólnień, a także interpretację wielu zjawisk z dziedziny immunologii. Dodatkowe utrudnienia w przeprowadzeniu syntezy stanowią różnice w budowie anatomicznej, fizjologii i cyklach rozwojowych występujące pomiędzy poszczególnymi gatunkami oraz zróżnicowanie nisz ekologicznych zasiedlanych przez owady. Żyją one zarówno na pustyniach, jak i w wodach słodkich i słonych, bytują w zakresie $+80^{\circ}\text{C}$ (wody gejzerów) do -20°C (arktyczne tundry), prowadzą życie właściwie społeczne, gromadne lub samotne (48, 89).

Owady podobnie jak i inne zwierzęta są narażone w okresie całego życia na wpływ szkodliwych czynników środowiskowych, w tym mikroorganizmów i pasożytów. W tych warunkach wykształciły one w rozwoju ewolucyjnym różnego stopnia niewrażliwość na szkodliwe czynniki środowiskowe, głównie na drobnoustroje. Ta odporność naturalna nie wymaga podniecia antygenowej i jest uwarunkowana istnieniem zespołu mechanizmów o różnym stopniu złożoności, których celem jest rozpoznanie i likwidacja substancji obcych dla organizmu. Odporność naturalna zależy od szeregu właściwości anatomicznych i fizjologicznych, rasy, płci, a także sposobie odżywiania i warunków klimatycznych. Na ogół jest ona pozbawiona swoistości immunologicznej i ujawnia się przy pierwszym zetknięciu owada z patogenem. Natężenie odporności naturalnej jest różne: od odporności bezwzględnej, przy któ-

rej patogen nigdy nie wywołuje zachorowań, do odporności względnej łatwo ulegającej załamaniu z chwilą pogorszenia warunków życia gospodarza, zakażenia dużą dawką zjadliwych zarazków, względnie wniknięcia patogena przez inne wrota zakażenia aniżeli w przypadku zakażeń naturalnych.

Odporność naturalną należy zawsze rozpatrywać w relacji żywiciel — patogen. Jest ona bowiem właściwa dla niektórych rzędów, gatunków, często ras i szczepów owadów, a nawet dla określonych stadiów rozwojowych tego samego gatunku w odniesieniu do ściśle określonego patogena. Poliedrozy atakują najczęściej owady z rzędu *Lepidoptera* i *Hymenoptera*, rzadziej *Diptera* (8), niektóre rasy pszczół są bardziej podatne na zgnilec złośliwy, linie jedwabników na pebrynę, bielinka kapustnika na zakażenie wirusami granuloz.

Ciekawie przedstawia się zależność między występowaniem odporności naturalnej oraz wiekiem i stadiami rozwojowymi owadów. W wielu przypadkach wyłącznie stadia larwalne są wrażliwe na zakażenie (kiślica i zgnilec złośliwy pszczół, pebryna jedwabników, choroba mleczna szarańczaków), natomiast osobniki dorosłe nie chorują. Pokażna liczba chorób dotyczy wyłącznie osobników dorosłych (paralize pszczół, riketsjozy). Z reguły odporność na większość chorób bakteryjnych i wirusowych wzrasta z postępowaniem stadiów rozwojowych i wiekiem owadów. Klasycznym przykładem jest choroba roztoczowa pszczół, zakażenie *Aedes aegypti* przez *Plasmodium galinaceum* (80) lub *Glossina palpalis* przez *Trypanosoma gambiense* (21).

Przyczyny wzrostu odporności naturalnej wraz z wiekiem, „maturition immunity” (71) są złożone. Przynajmniej w części wyjaśniono je u pszczoły miodnej, u której odporność czerwia na zgnilec złośliwy jest uwarunkowana wzrostem stężenia cukrów redukujących w jelicie środkowym, obniżeniem potencjału oksydoredukcyjnego treści pokarmu, a także różnicami w składzie pożywienia czerwia z linii odpornych i wrażliwych (4, 5, 78).

Odporność naturalna jest uwarunkowana genetycznie, na co wskazują m.in. badania Huffa (39), Warda (84) i Mc Donalda (49). Podatność *Culex pipiens* na zakażenie *Plasmodium catenarum* i *P. reticulatum* zależy od obecności pojedynczego genu recesywnego, odporność *Aedes aegypti* na zakażenie *Brugia malaya* kontroluje gen recesywny sprzężony z płcią, zaś różnice w odporności różnych ras pszczół na zgnilec złośliwy zależą od występowania dwóch genów recesywnych (5, 33).

^{*)} Referat przedstawiony na VII Kongresie PTNW, Lublin 15—17.IX.1983.

Pomimo ogromnego zróżnicowania owadów zarówno pod względem morfologicznym i fizjologicznym oraz daleko posuniętych różnic w cyklach rozwojowych i warunkach optymalnych do wzrostu i rozwoju, odporność naturalna jest uwarunkowana występowaniem u owadów kilku wspólnych mechanizmów. Z reguły współdziałają one ze sobą, przez co efekt ostateczny jest sumą działań jednostkowych. Wśród nich najważniejszą rolę odgrywają bariery anatomiczne, chroniące ustrój przed zakażeniem, czynniki humoralne i komórkowe, hamujące zakażenie w przewodzie pokarmowym i jamie ciała, odczyny komórkowe, niespecyficzne substancje tkanek i płynów zdrowych owadów o działaniu hamującym i niszczącym patogeny, u niektórych gatunków również odporność sekrecyjna i behawioralna.

Okrywa ciała ze względu na swoją specyficzną budowę anatomiczną (trójwarstwowy oskórek spoczywający na silnej błonie podstawowej, impregnowany sklerotyną, chityną i kutikulina, warstwa lipidów) stanowi barierę mechaniczną dla patogenów. U pewnych gatunków owadów względnie w niektórych stadiach rozwojowych w *integumentum* występują substancje o silnym działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybowym (kwas karowy, karylowy, kaprylowy; 44, 79). W przewodzie pokarmowym barierę stanowi nabłonek ściany jelit, błona podstawowa, pokrycie chityną przedniego i tylnego odcinka jelit, wytwarzanie śluzu, a także błona perytroficzna.

Znacznie większą rolę przypisuje się barierom fizjologicznym przewodu pokarmowego, jakie stanowią odczyn i potencjał oksydoredukcyjny treści pokarmowej, enzymy trawienne i antybioza.

Wielowarstwowa błona perytroficzna, przepuszczalna dla enzymów i produktów trawienia (87) nie tylko ochrania nabłonek jelita środkowego przed uszkodzeniami mechanicznymi, ale i przed zakażeniem. Błona ta, twardniejąca w miarę upływu czasu, stanowi nieprzepuszczalną barierę dla pasożytów. U *Simulium* ponad 50% mikrofilarii *Onchocerca vulvulans* ginie po 6—10 godzinach po otoczeniu błoną perytroficzną (24). Stwardniała i zgrubiała błona perytroficzna hamuje przenikanie ookinet *P. gallinaceum* z jelit *Aedes aegypti* (77).

Nabłonek jelitowy stanowi nie tylko mechaniczną, ale i fizjologiczną barierę dla zarazków. Warstwa ładunków elektrycznych na powierzchni nabłonka utrudnia adsorpcję patogenów, zaś regulacja przez nabłonek jelitowy stężenia potasu w organizmie wpływa pośrednio na hamowanie rozwoju patogenów w komórkach i hemolimfie (34). Sok jelitowy i glikoproteiny (1, 19) hamują replikację niektórych wirusów i bakterii. Również brak niektórych substancji w pożywieniu owadów zapobiega zakażeniu względnie hamuje rozwój

patogenów w tkankach gospodarza. Świeżo wgrzyżone pszczoły pozbawione pokarmu białkowego (pyłek) są odporne na zakażenie *Nosema apis* (70).

Liczne drobnoustroje zasiedlające stale lub okresowo przewód pokarmowy, zwłaszcza z rodzaju *Lactobacillus* i *Streptococcus* wytwarzają produkty metabolizmu hamujące wzrost i rozwój patogenów. Duże znaczenie w antybiozie odgrywa bakteryjny lizozym i substancje o działaniu przeciwgrzybowym.

Jednym z zadziwiających fenomenów biologii jest właściwość pewnych wyspecjalizowanych komórek do rozpoznawania i usuwania z organizmu substancji zbędnych lub szkodliwych. Fagocyty rozróżniają nie tylko składniki własne ustroju (self) od substancji obcych (non-self), ale także rozróżniają między własnymi składnikami niezbędne i zbędne dla organizmu. Wielu badaczy uważa fagocytozę jeżeli nie za jedyną, to co najmniej za najważniejszy przejaw odporności owadów (13, 74). W rozwoju ewolucyjnym fagocytoza pojawia się jako pierwszy mechanizm odporności, przy czym na wszystkich szczeblach rozwoju filogenetycznego fagocyty cechuje zdolność rozpoznawania self od non-self.

U owadów sposoby tego rozpoznawania nie są dokładnie poznane. W oparciu o obserwacje *in vivo* i badania z użyciem hodowli hemocytów owadów wysunięto kilka poglądów. Według pierwszego poglądu zarówno rozpoznanie jak i fagocytoza odbywają się przy współdziałaniu substancji białkowych hemolify. Pełnią one rolę analogiczną do immunoglobulin u kręgowców pomimo braku jakichkolwiek podobieństw strukturalnych między nimi. Substancje te występują w hemolimfie owadów odpornych na zakażenie, brak ich w hemolimfie gospodarzy wrażliwych. Rozpoznanie odbywa się przy udziale ameboidalnych hemocytów (62).

Według drugiego poglądu rozpoznanie, przynajmniej u pewnych gatunków owadów, jest uwarunkowane występowaniem specyficznych receptorów na powierzchni błony komórek fagocytujących (22, 65). Trypsynowanie, które niszczy receptory błony fagocytów *Periplaneta americana* i *Blattella germanica*, hamuje rozpoznanie i adherencję (29). Wysunięto również hipotezę, że tylko twory opłaszczone tkanką łączną gospodarza, względnie posiadające błonę podstawową są rozpoznawane przez fagocyty owadów jako self. Mechaniczne uszkodzenie łącznotkankowej otoczki lub jej usunięcie za pomocą substancji powierzchniowo czynnych powoduje rozpoznawanie jako non-self (63). Hipotezę tę podważają obserwacje, że hemocyty gospodarza nie posiadają ani otoczki łącznotkankowej, ani błony podstawowej, a mimo tego są rozpoznawane jako self. U *Diptera* w pewnych stadiach rozwojowych własne komórki organizmu nie posiadają otoczki, a są rozpoznawane jako własne.

Również pewną rolę w procesie rozpoznania odgrywa struktura chemiczna powierzchni substancji fagocytowanej. U *Orthoptera* przeszczepy allogeniczne nie są inkapsulowane. Inkapsulacja ma miejsce po ekspozycji tych przeszczepów na kolagenazę i lecytynazę C, co potwierdza udział struktury chemicznej powierzchni w rozpoznawaniu self od non-self. Nie można także wykluczyć możliwości specyficznego rozpoznawania na poziomie molekularnym przez „coated vesicles” błony cytoplazmatycznej komórek fagocytujących (20).

Po wnikięciu substancji obcych do jamy ciała z reguły wzrasta ogólna ilość hemocytów w rezultacie zwiększenia częstotliwości podziałów mitotycznych lub przejścia do hemolimfy komórek osiadłych (61, 79). Zmienia się przy tym skład jakościowy elementów morfotycznych hemolimfy, ponieważ w początkowym okresie zakażenia ulega zwiększeniu ilość plazmatocytów tj. komórek najbardziej aktywnych w fagocytozie (91). W dalszych etapach fagocytozy ogólna ilość hemocytów może spadać (26).

Obserwowano także szybkie obniżenie zarówno ilości komórek fagocytujących, jak i pozostałych rodzajów hemocytów po zakażeniach riketsjami, wirusami poliedroz i granuloz, spowodowane bezpośrednim działaniem uszkadzającym tych patogenów. W analizie zachowania się elementów morfotycznych hemolimfy należy uwzględniać wpływ samego przerwania ciągłości tkanek. Po zranieniach ilość hemocytów wzrasta o około 1%, po iniekcji jałowej wody destylowanej do jamy ciała o około 5% (91).

U gąsienic *Galleria mellonella* i *Pieris brassicae* występują specyficzne zmiany w składzie jakościowym hemocytów po iniekcji do jamy ciała zarówno patogennych, jak i niepatogennych bakterii, polegające na szybkim (5 minut) obniżeniu liczby plazmatocytów. Są one indukowane przez białko ciepłochwienne uwalniane do hemolimfy przez plazmatocyty. Spadek ilości plazmatocytów, który jest proporcjonalny do ilości komórek bakteryjnych wprowadzonych do hemocelu, poprzedza aglomerację i wytwarzanie guzków (17, 18, 26).

Zasadniczą rolę w fagocytozie odgrywiają plazmatocyty, przy czym mikroplazmatocyty są aktywniejsze od makroplazmatocytów, nieco słabsze właściwości wykazują komórki perikardialne i adipohemocyty (59, 88, 90). Pozostałe komórki hemolimfy posiadają tę zdolność u niektórych gatunków owadów i w pewnych okolicznościach.

W fagocytozie, poza rodzajem materiału i jego wielkością, odgrywa rolę ilość i kształt cząsteczek, gatunek, stadia rozwojowe i wiek owadów, temperatura i wilgotność względna środowiska (61).

Efekty fagocytozy należy rozpatrywać w aspekcie usuwania substancji obcych z krążenia oraz w aspekcie hamowania lub likwidacji

zakażenia. Fagocytoza stanowi efektywny mechanizm obronny wtedy, gdy sfagocytowane cząsteczki ulegną destrukcji lub zostają odłożone w agregatach komórkowych. W krańcowych przypadkach mogą one namnażać się w fagocytach, a nawet zakażenie może się szerzyć za pośrednictwem fagocytów. W hamowaniu zakażeń należy uwzględniać współdziałanie mechanizmów obrony humoralnej z fagocytozą, a także wpływ hormonów. Zaburzenia równowagi hormonalnej indukowane przez niektóre metabolity pasożytów wpływają na przepuszczalność błon komórkowych hemocytów dla tyrozyny i jej pochodnych, co prowadzi do przedwczesnego dojrzewania, migracji fagocytów i lizy. Uwolnione w procesie lizy substancje indukują melanizację, agregację, adhezję oraz odkładanie melaniny.

Dotychczas brak przekonujących dowodów na istnienie hemotaksji, zaś udział opsonin w fagocytozie u owadów jest nadal nie wyjaśniony. Whitecomb i wsp. (86) oraz Lackie (46) przypisują pewną rolę w opsonizacji hemaglutyninom typu euglobulin. U owadów, u których nie występują hemaglutyniny, immunizacja nie zwiększa indeksu fagocytarnego i szybkości hemolimfy z zarazków, zaś iniekcje zymosanu obniżają liczbę komórek fagocytujących i zwiększają podatność owadów na zakażenie nawet awirulentnymi szczepami bakterii (33).

W obronie komórkowej owadów są zaangażowane ponadto mechanizmy, które nie występują u kręgowców. Należy do nich aglomeracja, inkapsulacja i wytwarzanie guzków. Aglomeracja polega na tworzeniu skupisk sferulocytów z bakteriami, strzępkami grzybni, pasożytami i ich jajami z następowym ich osadzeniem na powierzchni narządów wewnętrznych (26, 55). Często aglomeracja poprzedza powstawanie guzków o znekrotyzowanych centrach (55).

Ciała obce o średnicy powyżej 10 nm nie są fagocytowane i ulegają inkapsulacji. Występuje ona zasadniczo u wszystkich gatunków owadów począwszy od drugiego stadium larwalnego i przebiega w kilku fazach. W fazie pierwszej wokół inkapsulowanego materiału wykształca się kilkuwarstwowa otoczka hemocytarna przepojona mukopolisacharydami. W fazie drugiej odkłada się melanina, w trzeciej powstaje otoczka zewnętrzna złożona z kilku warstw hemocytów (inkapsulacja melanotyczna). W inkapsulacji niemelanotycznej nie występuje faza druga. Efektem inkapsulacji jest sekwestracja inkapsulowanego materiału (64). Przynajmniej u *Drosophila* istnieje ścisły związek między równowagą hormonalną i inkapsulacją. Ligacja pierścienia mózgowego całkowicie hamuje inkapsulację.

Niekiedy złogi bakteryjne są inkapsulowane i fagocytowane, co prowadzi do powstawania guzków (56). W ich obręb jest często włączana część ciała tłuszczowego lub rozgałęzienia tcha-

wek. U *Galleria mellonella* i *Pieris brassicae* wytwarzanie guzków poprzedza agregacja (54). Typowy guzek składa się z ziarnistych znekrotyzowanych hemocytów, melaniny i bakterii otoczonych kapsułką utworzoną przez spłaszczony hemocyt.

W ścisłym związku z reakcjami obrony komórkowej pozostaje proces melanizacji hemolimfy i odkładania melaniny i melaninopodobnych substancji w otoczkach i guzkach (11, 69). Z ziarnistych hemocytów rozpadających się w trakcie wytwarzania guzków i przed inkapsulacją, uwalnia się oksydaza wielofenolowa, enzym aktywny w procesie melanizacji hemolimfy. Zmelanizowane guzki i otoczki izolują bardzo dokładnie obce substancje od płynów ciała owadów. U pewnych gatunków owadów wykazano występowanie związków między melanizacją a inkapsulacją. Zahamowanie melanizacji hemolimfy hamuje inkapsulację. W przebiegu melanizacji powstają chinony i produkty metabolizmu pośredniego tyrozyny, które poprzez interakcję z układami enzymatycznymi patogenów mogą wzmacniać obronę organizmu.

U owadów społecznych występuje odporność sekrecyjna i behawioralna. U pszczoł odporność sekrecyjna jest związana z występowaniem w miodzie i w pierzde układu oksydazy glukozy (29, 30), w mleczku kwasu 10-hydroksy-delta 2-decenowego. Ilość tego kwasu wzrasta znamienne w mleczku pszczoł ras odpornych na zgnilec złośliwy (9). Odporność behawioralna, kolonijna, przejawia się w szybszym wykrywaniu i usuwaniu martwego czerwia z plastrów i dokładniejszym oczyszczaniu komórek plastrów przez pszczoły ras odpornych na zgnilec złośliwy (81).

W płynach owadów występują czynniki humoralne, odgrywające rolę w odporności naturalnej (60, 66, 75), a również indukowane, aktywne w stosunku do mikroorganizmów, obcych białek, lipopolisacharydów, którym przypisuje się udział w odporności nabytej (10, 16, 28, 58).

Najważniejszym problemem w badaniach właściwości tych substancji jest dobór kryteriów oceny, czy można je uznać za odpowiedniki przeciwciał kręgowców. Przyjęcie za kryterium właściwości fizyko-chemicznych, względnie powinowactwa antygenowego, wyklucza tę możliwość. Natomiast gdy przyjmie się za kryterium swoistość serologiczną oraz ich wzrost ilościowy w płynach ustrojowych po naturalnym zakażeniu lub sztucznej indukcji okazuje się, że przynajmniej niektóre z nich mogą spełniać pewne funkcje, będące domeną immunoglobulin kręgowców (92). Fakt, że dotychczas nie wykazano występowania u owadów białek o właściwościach fizyko-chemicznych i biologicznych immunoglobulin nie budzi zdziwienia. Owady nie posiadają zarówno narządów limfatycznych, jak i odpowiedników funkcjonalnych

tych układów występujących u kręgowców. W środkowym paleozoiku szlaki ewolucyjne stawonogów i kręgowców są już tak rozbieżne, że u każdego z tych typów wykształciły się efektywne, a przy tym krańcowo różne systemy obrony humoralnej.

Bardziej racjonalny wydaje się pogląd zakładający wykształcenie u bezkręgowców, jak i u kręgowców, na pewnym etapie ewolucji, systemu obrony humoralnej, opartego na identycznej podstawie biochemicznej (64). W tym pierwotnym systemie obronnym są zaangażowane mukopolisacharydy, aktywne u bezkręgowców i kręgowców w reakcjach obrony komórkowej. U kręgowców, ze względu na niewystarczającą swoistość, małą efektywność i łatwość przełamania reakcji obronnych przez nie sterowanych, ten pierwotny system obrony humoralnej został uzupełniony systemem immunoglobulinowym, który obecnie odgrywa rolę dominującą. Pewne światło na mechanizmy odporności humoralnej owadów rzuciły badania nad rolą naturalnych substancji występujących w hemolimfie owadów, zwłaszcza lizozymu i hemaglutynin, a także badania nad indukowaniem odporności.

Pomimo, że obecnie nie przypisuje się lizozymowi decydującego znaczenia w odporności humoralnej owadów, nadal jest uzasadniony pogląd o jego dużym znaczeniu w odporności przeciwko zakażeniom, wywołanym przez bakterie gram dodatnie, zwłaszcza najbardziej podatne na działanie lizozymu (52, 86). Aczkolwiek w następstwie indukcji (iniekcje do hemocelu szczepionek bakteryjnych i innych substancji obcych, wody destylowanej, jałowego bulionu, a nawet po nakłuciu powłok ciała) wzrasta zarówno poziom lizozymu w hemolimfie, jak i działanie ochronne, to jednak nie zawsze można wykazać istnienie zależności między tymi dwoma zjawiskami (75). U larw *Galleria mellonella* po indukcji działanie ochronne zanika szybciej pomimo utrzymywania się wysokiego poziomu lizozymu (15). Badania nad indukcją odporności i selektywną syntezą lizozymu wykazały, że w hemolimfie wzrasta również stężenie frakcji białek, przy czym mogą pojawiać się nowe frakcje białek niskocząsteczkowych, które nie występują u osobników normalnych (40, 52). Źródłem lizozymu są hemocyty. Proces uwalniania lizozymu nie jest wyłącznie efektem degranulacji hemocytów w przebiegu fagocytozy, ponieważ stymulacja fagocytozy nie zwiększa stężenia lizozymu w płynach ciała owadów.

Natężenie i czas utrzymywania się zwiększonej aktywności litycznej hemolimfy zależy od rodzaju induktora. U *Spodoptera iridiana* aktywność lityczna indukowana iniekcją płynu fizjologicznego lub nakłuciem powłok ciała obniża się istotnie po 24 h, zaś aktywność indukowana szczepionkami bakteryjnymi, zwłaszcza LPS, osiąga wyższy poziom i utrzymuje

się przez 96 h. Indukowane działanie ochronne cechuje niska swoistość i brak pamięci immunologicznej (3).

Lizozym współdziała z innymi czynnikami hemolimfy, jak: związki chelatujące, kwasy, kofaktory, polipeptydy o aktywności zbliżonej do lizozymu (25, 43, 40). Fakt, że wzrost i utrzymywanie się zwiększonego poziomu lizozymu w hemolimfie po indukcji jest skorelowany ze zwiększeniem aktywności komórkowych mechanizmów obronnych, przemawia za komplementarnością tych mechanizmów w obronie przed zakażeniami bakteryjnymi.

W infekcjach wirusowych hamowanie zakażeń może występować na skutek interferencji nieswoistej i swoistej. Interferencja nieswoista może u owadów wystąpić nawet po stosowaniu wirusa inaktywowanego (38). Całkowitą interferencję swoistą indukuje wirus *stomatitis* u *Drosophila* na zakażenie tym samym typem serologicznym i częściową na zakażenie odmiennym typem serologicznym. Pojawienie się substancji o właściwościach interferonu można indukować w hodowlach tkanek owadów pod wpływem induktorów Poly I i Poly C (6, 23). Niemniej jednak mechanizmy odporności przeciw wirusowej rzadko hamują skutecznie przenoszenie chorób wirusowych roślin i zwierząt przez owady (47).

We krwi i płynach ustrojowych bezkręgowców występują substancje reagujące ze strukturami na powierzchni erytrocytów niektórych gatunków ssaków powodując ich aglutynację. Niektóre z tych hemaglutynin działają wybiórczo na krwinki czerwone pewnych gatunków podobnie jak lektyny wyosobnione z roślin. U owadów hemaglutyniny pojawiają się począwszy od czwartego stadium larwalnego, wykazują właściwość aglutynacji i nie tylko erytrocytów, ale także bakterii i pasożytów (32, 35). Parish (51) oraz Jurenko i wsp. (41) przypisują hemaglutyninom owadów rolę w rozpoznawaniu substancji obcych, udział w nadzorze immunologicznym i opsonizacji, zaś Lackie (46) ponadto w protekcji. Wydaje się, że nie występują wewnątrzgatunkowe różnice w aktywności hemaglutyniny w stosunku do erytrocytów, notuje się natomiast różnice w mianie aglutynacji (31, 45). Specyficzność hemaglutynin u *Periplaneta americana* i *Melanoplus* nie jest skierowana przeciwko jednemu receptorowi węglowodanowemu. Hamowanie hemaglutynacji zarówno przez glukozydy, jak i przez galaktozydy wskazuje albo na szeroki zakres ich specyficzności, bądź na występowanie w hemolimfie wielu aglutynin różniących się swoistością w stosunku do węglowodanów. Natura chemiczna hemaglutynin nie jest w pełni określona (27, 45). U *Periplaneta*, *Melanoplus* i *Terogryllus* za hemaglutynację są odpowiedzialne białka typu euglobulin (32, 41, 66). Są one wrażliwe na ogrzewanie i EDTA. U *Acriddae* i *Periplaneta* hemaglutynację erytrocy-

tów królika powodują ponadto lipidy hemolimfy (46). Nie ulega ona hamowaniu pod wpływem węglowodanów w odróżnieniu od hemaglutynacji wywołanej przez białka typu euglobulin (82).

Często obserwuje się zjawisko bakteriobójczego działania hemolimfy zdrowych owadów, a także wzrost aktywności bakteriobójczej po immunizacji bakteriami i owoalbuminą. Szczegółowe badania wskazują na udział czynników ciepłoopornych i ciepłowrażliwych w bakteriolizie (12, 14, 36, 72, 73).

Czynnik bakteriobójczy hemolimfy zdrowych larw *Galleria mellonella* o masie 7000 daltonów jest oporny na ogrzewanie, nie traci aktywności pod wpływem trypsyny i nie cechuje się specyficznością działania. Jego aktywność wzrasta po immunizacji. Po immunizacji w hemolimfie pojawia się drugi czynnik o masie około 2000 daltonów. U *Locusta migratoria* występują czynniki bakteriologiczne, termostabilne o masie poniżej 5000 daltonów, odporne na działanie enzymów proteolitycznych i glikolitycznych, indukowane immunizacją. Ich aktywność utrzymuje się przez okres około 10 dni, tj. w okresie utrzymywania się protekcji. Termolabilne czynniki bakteriobójcze o naturze białkowej indukowano u *Hyalophora cecropia* (11, 25, 53). Wzrostowi ich aktywności towarzyszy zwiększenie syntezy polipeptydów.

Uznane już za klasyczne badania, które prowadzili Stephens i Marshall (76), Gingrich (28) i Scott (66) jednoznacznie wykazały możliwość indukcji odporności humoralnej u owadów. U *Oncopeltus fasciatus* iniekcja zabitych komórek *Pseudomonas aeruginosa* do jamy ciała indukuje odporność na zakażenie żywymi komórkami tego zarazka. To działanie ochronne jest skorelowane z występowaniem w hemolimfie immunizowanych owadów polipeptydu o działaniu bakteriologicznym. Pojawia się on po 4 h po wacytacji, osiąga miano maksymalne po 24 h i znika z hemolimfy po 72 h. Odporność można przenieść na osobniki wrażliwe za pośrednictwem hemolimfy owadów immunizowanych. Jednakże ta substancja o działaniu ochronnym jest pozbawiona specyficzności. Ponadto zarówno iniekcje płynu fizjologicznego, jak i samo nakłucie powłok ciała owada, a więc bodźce powodujące zaburzenie równowagi fizjologicznej, powodują wystąpienie protekcji. U innych gatunków owadów czynniki indukowane osiągają maksymalną aktywność po 24—48 h po indukcji, która utrzymuje się przez okres tygodnia (7, 28, 67). Ta odporność cechuje się niewielką swoistością i nie występuje odpowiedź wtórna.

Ten dotychczas powszechnie przyjmowany pogląd o względnym braku specyficzności odporności indukowanej, krótkim okresie jej utrzymywania i braku odpowiedzi wtórnej na ponowną indukcję podważają obserwacje Rheins i wsp. (58). U *Periplaneta americana*

po indukcji białkiem jadu pszczoły i CBV pojawia się substancja wykazująca dużą specyficzność, która osiąga maksymalne stężenie w hemolimfie po 2 tygodniach. Owady immunizowane są odporne na letalne dawki jadów, którymi indukowano odporność, giną po podaniu jadów heterologicznych. Co więcej, po ponownym podaniu jadu homologicznego występuje odpowiedź wtórna. Odporność można przenieść za pośrednictwem hemolimfy wolnej od komórek z osobników immunizowanych na osobniki wrażliwe. Indukowany czynnik hemolimfy *P. americana* wykazuje właściwości precypityny (57). Wytwarza on linie precypitacyjne w odczynie Ouchterlony'ego. Za jego naturą białkową przemawia utrata pod wpływem trypsyny zarówno zdolności reagowania w odczynie precypitacji, jak i właściwości protekcji u osobników wrażliwych.

Dobrymi induktorami odporności są szczepionki bakteryjne zabite ogrzewaniem i inaktywowane formaliną, bakteryjne lipopolisacharydy i polisacharydy. Obserwacje wskazujące na rozpoznawanie polisacharydów we wszystkich mechanizmach obronnych owadów oraz fakt, że protekcji nie można indukować stosując szorstkie formy bakterii wskazują, że węglowodany są głównymi induktorami odporności (83). Indukcja zależy też od wielkości dawki induktora. Nie występuje przy dawce niższej od progowej, dawka wyższa od maksymalnej daje efekt toksyczny. Efektem indukcji i zakażeń naturalnych są ponadto zmiany w obrazie elektroforetycznym białek hemolimfy, które zasadniczo mają charakter ilościowy. W pewnych przypadkach pojawiają się nowe frakcje białek niskocząsteczkowych, lub znikają frakcje występujące u normalnych osobników.

Pomimo rozległych badań nad odpornością owadów, nadal nie można zaprezentować jednoznacznej odpowiedzi na kilka pytań o podstawowym znaczeniu: 1. czy istnieje pamięć immunologiczna, a więc i odpowiedź wtórna u wszystkich gatunków owadów, 2. jaki jest zakres swoistości odporności, 3. jakie są podstawy molekularne obserwowanych zjawisk. Dotychczas pamięć immunologiczną wykazano u *P. americana* w przypadku odporności antytoksycznej. Badania przeprowadzone na *Galleria mellonella* wskazują, że swoistość zależy od rodzaju induktorów (6, 42, 57, 58). Protekcję na zakażenie *Proteus vulgaris* można uzyskać u *G. mellonella* po stosowaniu różnych szczepionek i endotoksyn, nie wykazuje więc ona cech swoistości. Ale już w przypadku zakażeń *Serratia marcescens* i *Proteus mirabilis* wyższą protekcję daje wakcynacja szczepami homologicznymi, niższą szczepami heterologicznymi. Natomiast w przypadku *Proteus rettgeri* protekcja występuje tylko po immunizacji szczepem homologicznym zarazką, a więc cechuje się wysoką specyficznością. Odpowiedź na

ostatnie pytanie — o molekularne podstawy zjawisk odpornościowych — wymaga dalszych badań.

Piśmiennictwo

- Aizawa K.: *Insect. Path.* 4, 72, 1962.
- Anderson R. S., Holmes B., Good A.: *J. Invertebr. Path.* 12, 271, 1973.
- Anderson R. S., Cook M. L.: *J. Invertebr. Path.* 33, 197, 1979.
- Bailey L., Lee D. C.: *J. gen. Microbiol.* 29, 711, 1962.
- Bambrick J. F., Rothenbuhler W. C.: *J. Insect Path.* 3, 381, 1961.
- Bergold G. H., Ramirez N.: *Moving frontiers in invertebrate virology.* (Meinick J. S.), Karger S., Basel, 1972.
- Bettini S. J.: *J. Invertebr. Path.* 7, 378, 1965.
- Beutler A., Opfinger E., Wahl O.: *Z. Vergleich. Physiol.* 32, 383, 1949.
- Bium M. S., Novak A. F., Faber S.: *Science* 130, 452, 1959.
- Boman H. G., Nilsson I., Pye A., Paul K., Rasmuson T.: *Inf. Immun.* 10, 136, 1974.
- Brewer F. D., Vinson S. B.: *J. Invertebr. Path.* 18, 287, 1971.
- Briggs J. D.: *J. exp. Zool.* 136, 155, 1958.
- Burnet F. M.: *Nature.* Lond. 218, 426, 1969.
- Chadwick J. S.: *Fedn. Proc.* 261, 1675, 1957.
- Chadwick J. S.: *J. Invertebr. Path.* 15, 445, 1970.
- Chadwick J. S., Vilk E.: *J. Invertebr. Path.* 14, 440, 1969.
- Chain B. M., Anderson R. S.: *J. Insect Physiol.* 28, 377, 1982.
- Chain B. M., Anderson R. S.: *J. Insect Physiol.* 29, 1, 1983.
- Chamberlain R. W., Sudia W. D.: *A. Rev. Entomol.* 6, 371, 1961.
- Crossley A. C. S.: *Tissue and Cell* 4, 529, 1972.
- Davidson E. W.: *J. Invertebr. Path.* 11, 165, 1969.
- Dunphy G. B., Nolan R. A.: *J. Invertebr. Path.* 39, 81, 1982.
- Enzman P. J.: *Arch. ges. Virusforsch.* 41, 382, 1973.
- Ewert A.: *J. trop. Med. Hyg.* 14, 254, 1965.
- Faye L., Pye A., Rasmuson T., Boman H. G., Bowman I. A.: *Inf. Immun.* 12, 1426, 1975.
- Gagen J. S., Ratcliffe N. A.: *J. Invertebr. Path.* 28, 17, 1976.
- Gilliam M., Jeter W. S.: *J. Invertebr. Path.* 16, 69, 1970.
- Gingrich R. D.: *J. Insect Physiol.* 10, 179, 1964.
- Gonnet M., Abelle Fr. 648, 24, 1981.
- Gonnet M., Lane P.: *An. Abeille* 3, 349, 1960.
- Hapner K. D.: *J. Insect Physiol.* 29, 161, 1983.
- Hapner K. D., Jeryman M. A.: *Insect Biochem.* 11, 287, 1981.
- Harsberger J. C., Hempel A. M.: *J. Invertebr. Path.* 10, 176, 1968.
- Harvey W. R., Wood J. L.: *Role of membranes in secretory processes.* Bolis L. et al., Noth Holl. Publ. Co Amsterdam 310, 1972.
- Henry J. A.: *A. Rev. Entomol.* 25, 49, 1981.
- Hink W. F.: *Transpl. Proc.* 2, 233, 1970.
- Horohov D. H., Dunn P. E.: *J. Invertebr. Path.* 40, 327, 1982.
- Huangn A., Baltimore D.: *Nature.* Lond. 220, 325, 1976.
- Huff C. G.: *Physiol. Rev.* 20, 68, 1940.
- Jarosz J.: *Biol. Zentbl.* 88, 459, 1979.
- Jurenko R., Manfredi K., Hapner K. D.: *J. Insect Physiol.* 28, 177, 1982.
- Karp R. D., Rheins L. A.: *Dev. Comp. Immunol.* 4, 679, 1980.
- Kinoshita T., Inoue K.: *Inf. Immun.* 16, 32, 1977.
- Koidsumi S.: *Insect Physiol.* 1, 40, 1957.
- Komo H., Mizuno D., Natori S.: *J. Biol. Chem.* 29, 19, 1980.
- Lackie A. M.: *J. Insect Physiol.* 27, 139, 1981.
- Marchalans J. J.: *Immunity and evolution.* Arnold A., London 1977.
- Michener C. D.: *A. Rev. Entomol.* 14, 299, 1969.
- Mc Donald W. W.: *An. trop. Med.* 56, 373, 1962.
- Mohring W., Storz R., Messner B.: *Biol. Zentbl.* 89, 611, 1970.
- Parish C. R.: *Nature.* Lond. 267, 711, 1977.
- Powning R. F., Davidson W. J.: *Comp. Biochem. Physiol.* 45, 693, 1973.
- Pye A., Boman H. G.: *Inf. Immun.* 17, 408, 1977.
- Ratcliffe N. A.: *J. Invertebr. Path.* 26, 217, 1976.
- Ratcliffe N. A., Gagen S. J.: *J. Invertebr. Path.* 28, 313, 1976.
- Ratcliffe N. A., Gagen S. J.: *J. Invertebr. Path.* 28, 373, 1976.
- Rheins L. A., Karp R. D., Butz A.: *Dev. Comp. Immunol.*
- Rheins L. A., Karp R. D.: *J. Invertebr. Path.* 40, 190, 1982.
- Rosenboom M.: *Arch. need. Zool.* 2, 432, 1937.
- Rowley A. F., Ratcliffe N. A.: *Immunology* 40, 483, 1980.
- Ryan M., Nicholas W. L.: *J. Invertebr. Path.* 18, 299, 1972.
- Salt G.: *Parasitology* 53, 527, 1963.
- Salt G.: *RC. Sos. Lond.* 165, 155, 1966.
- Salt G.: *The cellular defence reactions of insects.* Cambridge Univ. Press, Cambridge, 16, 1970.
- Scott M. T.: *Immunology* 21, 817, 1971.
- Scott M. T.: *J. Invertebr. Path.* 19, 66, 1972.
- Seaman G. R., Robert N. L.: *Science* 161, 1359, 1968.
- Smith A. C.: *J. Invertebr. Path.* 29, 326, 1977.
- Smith A. C., Rowler A. F., Ratcliffe N. A.: *J. Invertebr. Path.* 29, 232, 1977.
- Steche W.: *Z. Bienenforsch.* 5, 145, 1960.
- Steinhaus E. A.: *Principles of insect pathology.* Mc Graw Hill, NY, 1969.
- Stephens J. M.: *Can. J. Zool.* 3, 30, 1952.
- Stephens J. M.: *Can. J. Microbiol.* 8, 491, 1962.
- Stephens J. M.: *Can. J. Microbiol.* 2, 203, 1959.

75. Stephens J. M.: Can. J. Microbiol. 9, 491, 1962.
 76. Stephens J. M., Marshall J. H.: Can. J. Microbiol. 8, 719, 1962.
 77. Stohler H. H.: Acta Trop. 18, 236, 1957.
 78. Sturtevant A. P.: J. Agric. Res. 28, 129, 1924.
 79. Tauber O. E.: Annls. Entomol. Soc. Am. 83, 113, 1940.
 80. Terzian L. A., Stahler N., Irreverere F.: J. Immun. 76, 308, 1956.
 81. Thompson V. C., Rothenbuhler W. C.: J. Econ. Entomol. 50, 731, 1957.
 82. Tshon Y., Sharon N.: Blochim. biophys. Acta 642, 336, 1981.
 83. Uhlenbruch G.: Invertebrate immunity. Progress Immunol. 11, 292, 1974.
 84. Ward R. A.: Expl. Parasit. 13, 328, 1963.
 85. Weiser J.: Immunity of insects to protozoa. N. Holl. Publ. Co. Amsterdam, 1969.
 86. Whitecomb R. F., Shapiro M., Granados R. R.: Physiology of insecta. Rockstein E, Acad. Press NY, 5, 447, 1974.
 87. Wigglesworth V. B.: Methuen's Mon. Biol. Subjects. Methuen Co, London 43, 1956.
 88. Wigglesworth V. B.: Reticuloendothel. Soc. 74, 208, 1970.
 89. Wilson E. O.: The insect societies. Harvard Univ. Press, Cambridge Mass. 1971.
 90. Wittig G.: J. Invertebr. Path. 10, 211, 1963.
 91. Wittig G.: J. Invertebr. Path. 14, 425, 1969.
 92. Zablocki B., Jacobs E.: Wiad. parazyt. 20, 587, 1974.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Gliński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin.

Z HISTORII WETERYNARII

Rys historyczny rozwoju odkażania przy zwalczaniu zaraźliwych chorób zwierzęcych

WIKTOR SKRZYPEK

Opole

Powszechnie wiadomo, że odkażanie stanowi integralną część postępowania w likwidacji zaraźliwych chorób zwierzęcych. W obecnych warunkach trudno sobie wyobrazić skuteczne zwalczanie epizootii bez udziału zmechanizowanych ekip dezynfekcyjnych, którymi dysponuje państwowa służba weterynaryjna. Dezynfekcja spełnia też zasadniczą rolę w działalności zapobiegawczej, przy czym skuteczność takich akcji jest uzależniona od poprawy warunków sanitarnych wsi, poziomu i skuteczności nadzoru nad obrotem zwierzętami i produktami pochodzenia zwierzęcego oraz nieszkodliwym usuwaniem zwłok zwierzęcych. Te czynności decydują w końcowym efekcie o likwidacji zaraźliwych chorób zwierzęcych (4).

Postępy w rozwoju odkażania są uzależnione od rozwoju nauk przyrodniczych. Hipokrates wiązał znaczenie wody, powietrza i środowiska ze zdrowiem ludzi. Jako przyczynę przenoszenia się chorób zaraźliwych uważał on powietrze, dlatego w czasie epidemii, aby uwolnić ludzi od zarazy, zalecał odymianie domów siarką i wzniesienie ognia na ulicach (9). Twierdził ponadto, że czynnikiem zakaźnym są wytwory gnijącej materii czyli miazmy. Według Arystotelesa świerzbi i księgosusz przenosiły się przez dotyk, zaś Lukrecjusz w I w.n.e. donosił, że przenoszący się czynnik zaraźliwy jest żywy i nazwał go *contagium vivum*. Dopiero w okresie Odrodzenia choroby zaraźliwe podzielono na kontaktowe i miazmatyczne, przy czym uważano, że czynnik zakaźny nie rozmnaża się poza ustrojem. Z kolei miazma miała być substancją zakaźną, którą rozprzestrzeniały powietrze i woda. Stykanie się zwierząt nie było w tym przypadku konieczne. Wiedzano też na podstawie obserwacji, że choroby kontaktowe rozprzestrzeniały się powoli i powoli znikaly jako enzootie, podczas gdy choroby miazmatyczne pojawiały się nagle, szerzyły się gwałtownie i szybko znikaly (26).

W średniowieczu ludność wierzyła w spontaniczne powstawanie chorób lub zesłanie ich przez Boga. Dlatego w czasie epidemii lub epizootii stosowano zabiegi magiczne m.in. przez okadzanie zwierząt. Miało to się przyczynić do oddalenia „złych duchów” (6).

Nieznamość mechanizmów przenoszenia się zaraźliwych chorób zwierzęcych dowodzi ordynacja z 1562 r., wydana w Sienie, dawnym powiecie toruńskim, która stanowiła, że jeśli koń padnie z powodu świerzbu lub nosaczyny, należy go zagrzebać lub wrzucić do Wisły. Postęp w tym zakresie wykazało Kolegium Medyczne w Wiedniu, które w 1598 r. uchwaliło, aby zwłok zwierząt chorych z powodu zarazy nie wrzucać do rzek. Innych zarządzeń tego rodzaju w XVI i XVII w. nie wydawano (6). W piśmiennictwie z początku XVII w. spotykamy się jednakże z pouczeniami o karmieniu koni w stajniach przy karczmach lub zajazdach. Właściciele tych zwierząt mieli podawać koniom obrok w karmiakach, bowiem żłoby mogły być zakażone przez uprzednio stojące tam konie (12).

Od czasu, kiedy na początku XVIII w. epizootie księgosuszu obejmowały coraz większe obszary i powodowały wielkie straty materialne, zaczęły się ukazywać zarządzenia policyjno-weterynaryjne, mające na celu szybką likwidację zarazy. Pierwsze tego rodzaju zarządzenie wydano w 1711 r. w Austrii. Po dwóch miesiącach uczyniły to Prusy, później liczba zarządzeń rosła nieustannie (6). W tym też czasie Włoch Lancisi opracował przepisy sanitarno-weterynaryjne, przewidujące spalanie wszystkich przedmiotów, z którymi stykały się chore zwierzęta, a także bielienie ścian pomieszczeń inwentarskich. Po ośmiu dniach miało nastąpić odymienie kadzidłem z czosnku i jałowca oraz wymycie koryt octem i siarką. Odzież pasterzy zwierząt należało odymić, słomę i siano w zagrodach zapowietrzonych spalić, zaś pomiesz-