

Материал для исследований составляли струны, взятые от 47 овец, больных эктимой. Этот материал почве телят (HKNC), непрерывную линию (MDBK) и на первичную культуру почек овец (HKNO). Изолировано 2 цитопатогенных штамма вирусов (SB1, SB2) только на HKNO. Это обозначает, что для изолирования вирусов эктимы следует применять исключительно HK того же самого вида животных. Штаммы SB1, SB2 адаптированы для HK скота для получения материала для вакцины.

Saddour M. — Isolation of ecthyma viruses from sheep under field conditions and adaptation of the viruses to heterologic cells

The material in the form of crusts was taken from 47 sheep. The samples were inoculated into calf kidney cells (HKNC), solid cell line (MDBK) and primary ovine kidney cells (HKNO). Two cytopathic strains, designated as SB1 and SB2, were isolated only in HKNO. The strains were adapted to bovine kidney cells in order to obtain a substrate to prepare a vaccine.

PATOLOGIA I TERAPIA

ELŻBIETA SAMOREK-SALAMONOWICZ

Chemioterapia zakażeń wirusowych

Zakład Badania Chorób Drobiu Instytutu Weterynarii,
Al. Partyzantów 55, 24-100 Puławy

Koncepcja Ehrlicha (1854—1915) doprowadziła do odkrycia w 1935 r. przez Domagka sulfamidów. Zapoczątkowany został rozwój chemioterapii, trwający nieprzerwanie do chwili obecnej. Medycyna współczesna posiada wiele środków bakteriobójczych i bakteriostatycznych, które pozwalają na skuteczne zwalczanie szeregu chorób wywoływanych przez bakterie.

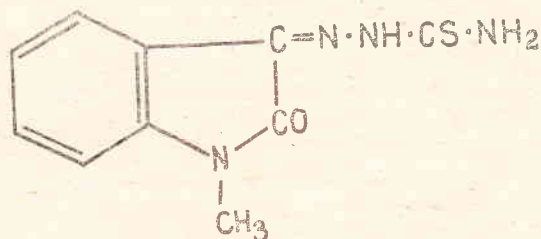
Odmienna sytuacja panuje w dziedzinie zwalczania chorób wirusowych. Liczba stosowanych preparatów przeciwwirusowych jest stosunkowo niewielka, bowiem chemioterapia zakażeń wirusowych opiera się na innych zasadach, niż chemioterapia zakażeń bakteryjnych. Stosuje się substancje, które nie uszkadzają fizjologicznych procesów komórki, a wpływają hamująco na poszczególne stadia zakażenia komórki, czyli uniemożliwiają powstawanie zakaźnych cząstek wirusa. Preparat przeciwwirusowy zdaniem Hermanna (25) jest to substancja nieszkodliwa dla komórek, nie będąca swoistym przeciwciałem ani szczepionką, hamująca syntezę i rozprzestrzenianie się wirusa, stymulująca odporność nieswoistą, łagodząca objawy chorobowe i przyspieszająca rekonwalescencję.

Pierwszym chemioterapeutykiem przeciwwirusowym (1962 r.) przyjętym do praktyki leczniczej był Metisazon z grupy tiosemikarbazonów (ryc. 1), działający na nieswoiste białka i hamujący dojrzewanie wirionów w komórce. Skuteczność jego stwierdzono w przypadkach leczenia albo krótkotrwałego zapobiegania zakażeniom wirusem ospy (4, 45).

Od 1964 roku w profilaktyce grypy wywołanej przez wirus grypy A stosuje się amantadynę, czyli L-adantoaminę (ryc. 2). Jest to trójcykliczna amina, zwalniająca nieco penetrację wirusa, a działająca głównie w momencie odpłaszczania wirusa. Wykazuje ona słabe

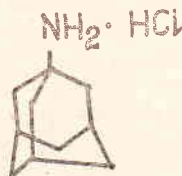
łanie lecznicze przy grypie, natomiast jest dość dobrym profilaktykiem podczas epidemii. Nieestety, wykazano również powstawanie szczepów lekoopornych (26, 27, 32, 39).

Pochodna amantadyny — rimantadyna (ryc. 3) okazała się bardziej skuteczna w badaniach *in vitro* i *in vivo*. Badania kliniczne przeprowadzone z chlorowodorkiem rimantadyny wykazały, że preparat ten jest dobrze tolerowany przez pacjentów i redukuje bądź łagodzi objawy podczas naturalnej infekcji grypy (27, 29). Jednakże należy zaznaczyć, że w pełni skuteczny preparat przeciwgrypowy nie został dotychczas zsyntetyzowany, a opanowanie grypy będzie prawdopodobnie możliwe dopiero wtedy, gdy połączy się swoistą chemioterapię ze swoistą immunizacją.



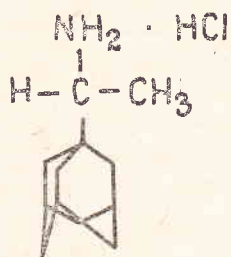
Metisazon

Ryc. 1. Metisazon



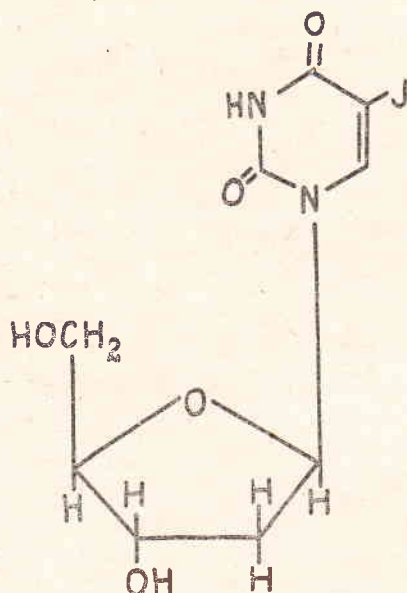
Chlorowodorek amantadyny

Ryc. 2. Amantadyna



Chlorowodorek rimantadyny

Ryc. 3. Rimantadyna



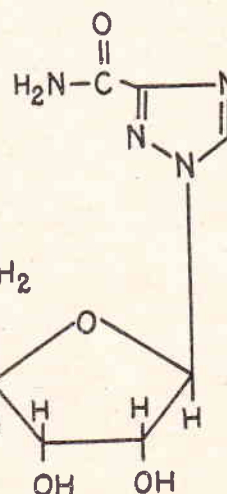
5-Jododezoksyurydyna

Ryc. 4. Jododezoksyurydyna

W chemioterapii zakażeń wirusowych wykorzystano strukturalne analogi pirymidyn i puryn. Są one wbudowane do kwasów nukleinowych w miejsce normalnych, zasad, co prowadzi do unieczynnienia lub zmiany funkcji kwasów nukleinowych. Najczęściej są używane następujące analogi nukleozydów: jododezoksyurydyna (IUDR) (ryc. 4), arabinozyd cytozyny (Ara-C), arabinozyd adeniny (Ara-A) i rybawiryna — analog guanozy. Jednakże stosowanie tych analogów stwarza pewne niebezpieczeństwo. Wykazano bowiem, że np. IUDR inkorporowany do komórek zawierających DNA zintegrowany z prowirusowym DNA, może indukować syntezę onkogennych RNA-wirusów oraz herpeswirusów.

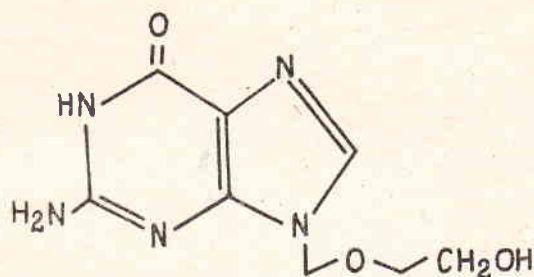
Działanie lecznicze jododezoksyurydyny wykorzystano w leczeniu zmian rogówkowych wywołanych przez wirus *herpes simplex* i krowianki uogólnionej poszczepiennej.

Arabinozyd cytozyny (Ara-C) opisywany pierwotnie jako czynnik przeciwnowotworowy, stosowano z powodzeniem w leczeniu uogólnionego zakażenia wirusem *herpes* oraz w przypadkach zapalenia mózgu na tle herpeswirusowym (50, 52).



Rybawiryna

Ryc. 5. Rybawiryna



Acyklowir

Ryc. 6. Acyklowir

Arabinozyd adeniny (Ara-A lub widarabina) jest aktywny wobec różnych wirusów DNA, przy braku działania na wirusy RNA (1, 11).

Wirazol czyli rybawiryna (ryc. 5) jest syntetycznym nukleozydem o szerokim zakresie działania. Hamuje on syntezę zarówno DNA, jak i RNA wirusów. Mechanizm działania polega na interferencji z kwasami nukleinowymi oraz hamowaniu GMP w zakażonej komórce (27). Wirazol był stosowany w wirusowym zapaleniu wątroby, w schorzeniach dróg oddechowych, w zakażeniach opryszczką, w dermatologii i okulistyce (35, 37). Wyniki terapeutyczne nie były jednoznaczne, a ponadto okazało się, że w wyższych stężeniach wywołuje on szereg objawów ubocznych jak ból głowy, skurcze żołądka, niedokrwistość, poza tym w doświadczeniach przeprowadzonych na chomikach syryjskich ujawniono jego działanie teratogenne (34).

Prócz wspomnianych już preparatów, znane są jeszcze takie związki, jak pochodna guaniny o nazwie handlowej Influmin czy Flumidyn, które są stosowane przeciwko zakażeniom wirusem grypy. Wpływają one na syntezę RNA wirusowego. Jednakże większość autorów uważa je za preparaty o znikomym działaniu profilaktycznym i bez wartości leczniczej (26, 27).

W latach 80-tych w laboratoriach firmy Wellcome zsyntetyzowano nowy preparat o nazwie

handlowej Zovirax, działający przeciwko wirusom z grupy *Herpes*. Substancją czynną tego leku jest Acyclovir czyli 9-2-hydroxyetoxymetyloguanina (ryc. 6) (15, 47). Mechanizm działania acycloviru jest następujący:

W pierwszym stadium acyclovir wnika do komórki zakażonej herpeswirusem, natomiast nie penetruje do komórek nie zakażonych. Dlatego tak się dzieje — dotychczas nie wiadomo, ale zjawisko to pozwala wyeliminować toksyczny wpływ preparatu na komórki zdrowe. W drugim stadium zachodzi fosforylacja acycloviru do aktywnej formy trójfosforanu acycloviru. Reakcja ta jest trójstopniowa. Pod wpływem enzymu specyficznego dla herpeswirusów — kinazy tymidyny, acyclovir przyłącza grupy fosforanową i powstaje jednofosforan acycloviru. Następnie enzymy komórek gospodarza powodują przyłączenie następnej grupy fosforanowej i powstaje dwufosforan acycloviru, a potem aktywna forma — trójfosforan acycloviru (15, 17).

W stadium trzecim trójfosforan acycloviru przy pomocy wirusowej polimerazy DNA jest wbudowywany do łańcucha DNA zamiast trójfosforanu dezoksyguanozyny. W ten sposób łańcuch DNA jest zakończony i replikacja wirusa zostaje zahamowana. O reakcji tej świadczy fakt, że trójfosforan dezoksyguanozyny jest wykrywalny w komórkach w dużo większych ilościach niż trójfosforan acycloviru, który ma 10—30× większe powinowactwo do wirusowej polimerazy DNA niż do polimerazy DNA komórek gospodarza. A zatem toksyczność preparatu jest zredukowana do minimum (15).

Acyclovir hamuje reakcję herpeswirusów zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Stosowano go z powodzeniem u ludzi do leczenia różnych infekcji wywołanych przez wirus *herpes-simplex* czy *varicella zoster*, jak np. zapalenie rogówki, infekcje błon śluzowych, półpasiec, opryszczkowe wrzodziejące zapalenie wypustek nerwu ocznego itp. (29, 38, 47, 48).

Omawiając chemioterapię zakażeń wirusowych nie sposób pominąć interferonu, z którym wiąże się duże nadzieje. Interferon jest glikoproteidem o zdefiniowanej sekwencji aminokwasów, występujących w kilku odmianach molekularnych (28, 53). Hamuje on procesy wewnątrzkomórkowej replikacji wirusów oraz wzrost komórek, szczególnie nowotworowych. Zaliczany jest do tzw. czynników przeciwwzrostowych (28, 53). Pod jego wpływem występuje wzrost aktywności fagocytarnej makrofagów, a także aktywacji ulegają naturalne komórki killer (NK) (10, 28, 40, 43).

W lecnictwie stosuje się interferon egzogeny, jak również preparaty mające na celu pobudzenie organizmu do produkcji własnego endogennego interferonu. Lista induktorów interferonu jest długa, są to na przykład apatogenne żywe wirusy i wirusy inaktywowane, endotoksyny bakteryjne, a także nieswoiste le-

ki bodźcowe. Szczególnie aktywne są syntetyczne polinukleotydy.

Terapię interferonową stosowano z powodzeniem w przypadkach wścieklizny (5), a także w przypadkach wirusowych infekcji dróg oddechowych (42), wątroby (13), oczu (51), grypie (49), półpaścu, ospie wietrznej oraz cytomegalii (3, 7, 16, 19, 30, 31). Oprócz działania przeciw-wirusowego interferon znalazł zastosowanie w leczeniu chorób nowotworowych jak w przypadku mięsaka kostnego, ziarnicy złośliwej, szpiczaka mnogiego, chłoniaka i białaczek (28, 42, 54).

W terapii zakażeń wirusowych znalazły również zastosowanie czynniki wzmagające odpowiedź immunologiczną organizmu czyli immunostymulatory. Takim preparatem jest lewamizol i izoprinozyna.

Lewamizol był początkowo preparatem używanym do zwalczania inwazji pasożytniczych, następnie okazało się, że jest on immunostymulatorem. Stymuluje bowiem populację granulocytarną oraz makrofagi, zwiększa ruchliwość komórek żernych (9, 14). Z dobrymi wynikami został zastosowany w leczeniu herpeswirusowych infekcji u ludzi. Jednakże podawany w wysokich dawkach przez dłuższy okres czasu może powodować immunosupresję (22).

Izoprinozyna jest syntetycznym kompleksowym związkiem inozyny i soli dwumetyloaminoizopropanolu kwasu p-acetoaminobenzoowego (14). Działanie tego preparatu jest zarówno bezpośrednie, jak i pośrednie (44). Bezpośrednie działanie przeciwwirusowe jest trudne do interpretacji. Wiadomo, że związek ten hamuje syntezę wirusowego RNA nie uszkadzając przy tym rybosomów komórki gospodarza. Natomiast działanie pośrednie polega na pobudzeniu odporności gospodarza (44). Wykazano, że izoprinozyna zwiększa fagocytozę, działając na MAF czyli czynnik aktywujący makrofagi (23). Podanie tego leku zwiększa cytostatyczne działanie makrofagów przeciwko komórkom nowotworowym, co wykazano u sztucznie zakażonych myszy (18). Izoprinozyna wzmacnia także wytwarzanie limfokin przez komórki T uprzednio aktywowane mitogenem lub antygenami, aktywuje limfocyty B i komórki NK, niezależnie od produkcji interferonu (6, 46). Obecnie izoprinozynę stosuje się z powodzeniem w leczeniu wielu schorzeń wywoływanych przez DNA-, jak i RNA-wirusy. Stosowana jest w zakażeniach takich, jak: półpasiec, ospa wietrzna, opryszczkowe zapalenie rogówki i jamy ustnej (20), a także wywoływanych przez mykso- i paramyksowirusy jak grypa, odra, czy różyczka i zespół oskrzelowo-płucny (2, 14). Uzyskano także dobre wyniki przy leczeniu wirusowego zapalenia wątroby (36).

Z krajowych preparatów na uwagę zasługuje czynnik grasiczy X (TFX) (12, 21, 55). W jego skład wchodzi 16 aminokwasów. Stosowany jest u pacjentów w niedoborach immunologicznych. Wzmaga syntezę przeciwciał, deter-

minuje różnicowanie się limfocytów T, podnosi klasyczne wskaźniki odpornościowe (22). Znalazi zastosowanie w leczeniu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B oraz zapalenia mózgu na tle wirusowym.

Reasumując należy stwierdzić, że znaleziono dość skuteczne preparaty przeciwwirusowe. Istnieje jeszcze cały szereg preparatów posiadających *in vitro* aktywność przeciwwirusową, jednakże większość z nich posiada właściwości toksyczne dla makroorganizmu. Ponadto ograniczeniem skuteczności klinicznej już stosowanych preparatów jest pojawienie się mutantów lekoopornych, a nawet lekozależnych podobnie jak u bakterii. Znane są szczepy wirusów herpes oporne na acyclovir (47).

Należy podkreślić, że antybiotyki przeciwbakteryjne nie mają wartości w przyczynowym leczeniu zakażeń wirusowych. Wrażliwość bowiem danego czynnika zakaźnego na działanie antybiotyków wyklucza jego przynależność do wirusów. Są one natomiast wskazane do zapobiegania wtórnym powikłaniom bakteryjnym w przebiegu niektórych chorób wirusowych.

Chemioterapia i chemiopronilaktyka zakażeń wirusowych jest dziedziną obiecującą, lecz wymagającą dalszych intensywnych badań. Poszukiwania bowiem nowych skutecznie działających i nietoksycznych substancji przeciwwirusowych wciąż trwają.

W chwili obecnej omawiając chemioterapię zakażeń wirusowych należy wspomnieć o poszukiwaniach skutecznych sposobów leczenia AIDS. Niestety, jak dotychczas nie osiągnięto pożądanych wyników, a śmiertelność nadal wynosi do 100%. Badania wciąż trwają i być może wkrótce dowiemy się o odkryciu leku przeciwko tej groźnej chorobie.

Piśmiennictwo

- Alford C. A., Whitney R. J.: J. Infect. Dis. 133 A, 101, 1976.
- Azzara A., Mezzi A., Carulli G., Martelli M. T., Tangheroni F., Serravalle E., Ambrogi F.: Chemioterapia 3, 179, 1983.
- Ayre J., Nauraez R., LoGerfo J.: Oncology 27, 108, 1973.
- Bauer D. J., St Vincent L., Kenpe C. H., Young P. A., Downie A. W.: Am. J. Epidemiol. 90, 130, 1968.
- Bauer G. M.: Texas Rep. Biol. Med. 33, 442, 1977.
- Balestrino G. C., Montesoro B., Nocera A., Ferrarini M., Hoffman T. J.: Biol. Resp. Modifiers 2, 671, 1983.
- Barton S., Dinzani F.: Texas Rep. Biol. Med. 33, 1, 1977.
- Caster D. J., McManion J. R., McGill J. I., Jones B. R., Friedman F. T.: J. Infect. Dis. 133, A 176, 1976.
- Chang T. W., Weinstein L.: Am. J. Med. Sci. 230, 143, 1973.
- Chanley C., Ceratti J.: Acad. Sci. Paris (D) 264, 499, 1977.
- Chen L. T., Whitney R. J., Alford C. S., Galasso G. J.: J. Infect. Dis. 133, A 184, 1976.
- Czarnecki J., Jaskolski B.: Arch. Immunol. Ther. Exper. 26, 473, 1979.
- Desingier J., Ray M. B., DeGroote J., Bradburne A. F., Desmet J., Edy V., Billiau A., Desommer P., Mortelmans J.: Lancet 2, 645, 1976.
- DeSmet C.: Immunol. Immunopharmacol. 5, 2, 1983.
- Ellon G., Furman F. A., Fyfe J. A., Miranda P., Beauchamp L., Schaeffer H.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74 5716, 1977.
- Emodi G., O'Reilly R., Muller A., Everson L. K., Binswanger U., Just J.: J. Infect. Dis. 133, A 199, 1976.
- Fyfe J. A., Keller P. M., Furman O. A., Miller R. L., Ellon G. B.: J. Biol. Chem. 253, 8121, 1978.
- Flaurentin J., Bruley-Rosset M., Schultz J., Davigny M., Klier N., Mathe G.: Advances in Immunopharmacology, Pergamon Press, Oxford, 1981, s. 311.
- Galasso G. J., Dunck J. K.: Texas Rep. Biol. Med. 35, 1, 1977.
- Galli M., Lazzorin A., Moroni M., Zanussi C.: Lancet 2, 331, 1982.
- Gieldanowski J., Slopek S., Kowalczyk-Brontsz S. H.: Arch. Immunol. Ther. Exper. 26, 893, 1980.
- Gieldanowski J.: Folia, Hig. 38, 567, 1984.
- Haaden J. W., England A., Sauer J. R., Haaden E. M.: Int. J. Immunopharmacol. 1, 17, 1979.
- Ho M., Armstrong J. A.: Ann. Rev. Microbiol. 29, 131, 1975.
- Herrmann E. C., Kucerka L. S.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124, 603, 1967.
- Inglot A. D.: Acta Microbiol. Pol. 5 A, 183, 1972.
- Inglot A. D.: Post. Microbiol. 17, 23, 1978.
- Inglot A. D.: Post. Hig. 33, 83, 1980.
- Jones B. R., Coster D. J., Fiston D. J., Thompson G. M., Cobo L. M., Falcon M. G.: Lancet 23, 243, 1979.
- Jones B. R., Coster D. J., Falcon M. G., Cantell K.: Lancet 21, 126, 1976.
- Jordan G. W., Fried R. P., Merigan T. C.: J. Infect. Dis. 100, 50, 1974.
- Kato N., Eggers H. J.: Virology 37, 632, 1969.
- Kaufman H. E.: J. Infect. Dis. 133, A 96, 1976.
- Khanum L., Fern V. H.: Science 193, 413, 1977.
- Luoy J. P., Johnson M. T., Jones S. R.: Ann. Rev. Med. 20, 201, 1974.
- Mansueti S., LaCasca C., Tripi S.: Riv. Parasitol. 42, 253, 1961.
- Madagh T. H.: Science 192, 123, 1976.
- Michal C., Gentry S. R., Boen J. R., Bean B., Groth K., Bajor H. H.: Lancet 27, 1383, 1981.
- Morgenda M.: Post. Microbiol. 10, 63, 1971.
- Merigan T. C., Rand K. H., Pollard R. B., Abdallah P. S., Jordan G. W., Fried R. P.: Engl. J. Med. 298, 961, 1978.
- Meiz D. H.: Adv. Drug Res. 10, 101, 1975.
- Merigan T. C., Reed S. E., Hall T. S., Tyrrell D. A. J.: Lancet 1, 563, 1973.
- Neighoour A. P., Bloom B. R.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 476, 1979.
- Onishi H., Kousuzume H., Hitoshi J., Matsuzugu O., Morito Y., Mochizuki H., Zussuki Y.: Infect. Immun. 243, 38, 1982.
- Rao A. R., McKendrick G. D., Valayndhan L., Kamalakshi K.: Lancet 1, 1071, 1966.
- Renoux G., Renoux M., Guillaumin J. M., Gouzien C.: Int. J. Immunopharmacol. 1, 415, 1979.
- Schaeffer H. J., Beauchamp L., Miranda P. de, Ellon G. B., Bauer D. J., Collins P.: Nature (London) 272, 583, 1978.
- Selby P. J., Pawels R. J., Jameson D., Hem K., Watson J. G., Thorton R., Morgerstern G., Chink H. M., McElwain T. J., Prentice H. G., Rose M. G., Hofbrandt A. V., Higden D.: Lancet 25, 1267, 1979.
- Soloviev V. D.: Bull. Wild Hlth Org. 41, 683, 1969.
- Steffenagen K. A., Easterday B. C., Galasso G. J.: J. Infect. Dis. 133, 603, 1976.
- Stanley E. D., Jackson G. G., Divda V. A., Rubens M.: J. Infect. Dis. 133, A 121, 1976.
- Stevens L. A., Jordan G. W., Waddell T. F., Merigan T. C.: New Engl. J. Med. 289, 873, 1973.
- Steward H. E.: The Interferon System, Springer Verlag, Wien-New York, 1979.
- Strander L.: Texas Rep. Biol. Med. 35, 423, 1977.
- Slopek S., Gieldanowski J., Kowalczyk-Brontsz S. H.: Arch. Immunol. Ther. Exper. 28, 297, 1980.
- Togo Y., McCracken E. A.: J. Infect. Dis. 133, A 109, 1976.

Adres autora: doc. dr habil. Elżbieta Samorek-Salamonowicz, ul. Leśna 9/48, 24-100 Puławy

WYK J. A., MALAN F. S.: Oporność szczepów tere-nowych Haemonchus contortus z Afryki Południowej na ivermectin, closantel, raxaxonide i preparaty benzimidazolowe. (Resistance of field strains of Haemonchus contortus to ivermectin, closantel, raxaxonide and the benzimidazoles in South Africa). Vet. Rec. 123, 226—228, 1988 (3)

Już w 1937 r. pojawiły się w Afryce szczepy Haemonchus contortus oporne na leki przeciwpasożytnicze. W 1975 r. opisano szczepy H. contortus oporne na preparaty przeciwpasożytnicze z grupy benzimidazoli, później pojawiły się szczepy oporne na closantel i raxaxonide oraz szczepy — Ostertagia oporne na pochodne benzimidazolowe. Badania wrażliwości H. contortus na closantel, fenbendazole, trichlorphon, levamisole, ox-fendazole, raxaxonide i ivermectin wykazały, że 4 z 5 badanych szczepów H. contortus było oporne na ivermectin, 3 szczepy były oporne na trzy badane preparaty. Szybkie nabywanie oporności przez jeden szczep H. contortus na ivermectin nastąpiło mimo przemien-nego stosowania ivermectin z innymi lekami przeciwpasożytniczymi.

G.