

gospodarstwie kształtował się na podobnym poziomie. Wyniki stosowania preparatów zawierających GnRH w okresie zimowym są zgodne z tymi, jakie osiągnęli inni autorzy (4, 5, 11). Okres żywienia letniego cechuje się niższym odsetkiem zaburzeń owulacji u krów, aczkolwiek w gospodarstwie o wyższej wydajności mlecznej osiągnięto po preparatach hormonalnych 10% wzrost zapładniałości.

W oparciu o analizę wyników badań własnych, jak też ocenę danych literaturowych można stwierdzić, że terapia hormonalna tzw. bezobjawowej jałowości może być prowadzona w dobrym skutkiem w gospodarstwach, które są w stanie zastosować równoległą poprawę warunków pielęgnacyjno-żywniowych. Aplikowanie w takich warunkach preparatów różnych firm, zawierających GnRH, może prowadzić do ograniczenia występowania opóźnionej owulacji i znacznego wzrostu zapładniałości krów mlecznych.

#### Piśmiennictwo

1. Aehnelt E., Konermann H.: Züchtungskunde 33, 357, 1961.
2. Berger C.: Mh. Vet. Med. 40, 260, 1985.
3. Bostedt H., Kuhn A., Schädlich R., Schwarz S.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 90, 113, 1977.
4. Ehlers H.: Untersuchungen über den Einfluss eines synthetischen Gonadotropin-Releasing-Hormons (GnRH) auf die Besamungsergebnisse bei Kühen. Praca dokt. Hannover 1977.
5. Goldbeck U.: Verbesserung der Erstbesamungsergebnisse bei Rindern durch Gonadotropin-Releasing-Hormone (GnRH) Praca dokt. Hannover 1976.
6. Grunert E.: Dt. tierärztl. Wschr. 83, 558, 1976.
7. Grunert E., Berchtold M.: Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 1982.
8. Hinrichs E.: Untersuchungen über den Einfluss von HCG auf die Besamungsergebnisse bei Rindern. Praca dokt. Hannover 1976.
9. Günzler O., Krieger H., Jordan E.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 23, 451, 1976.
10. Holtemöller B.: Tierärztl. Umsch. 36, 51, 1981.
11. Humke R., Körber K.: Prakt. Tierarzt. 32, 491, 1977.
12. Leidl W., Bostedt H., Lamprecht W., Prinzen R., Wendt V.: Tierärztl. Umsch. 34, 546, 1979.
13. Schels H. F., Mostafawi D.: Vet. Rec. 103, 31, 1978.
14. Tholen I.: Untersuchungen über den Einfluss von GnRH auf die Besamungsergebnisse bei Rindern. Praca dokt. Hannover 1974.
15. Żebracki A.: Biul. Zakł. Uoowsz. Pos. Roln. ART Olsztyn 11, 23, 1978.

Adres autora: dr Andrzej Raś, ul. Prawna 4/8, 10-693 Olsztyn

## CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

IWONA MARKOWSKA-DANIEL

### Stymulacja odpowiedzi immunologicznej przy pomocy naturalnych i chemicznych immunomodulatorów w terapii i profilaktyce

Zakład Badania Chorób Świń Instytutu Weterynarii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Prawidłowa czynność układu odpornościowego chroni organizm przed rozwojem zakażeń bakteryjnych, wirusowych i grzybiczych, pomimo praktycznie stałej obecności wymienionych mikroorganizmów na błonach śluzowych, tkankach nabłonkowych i skórze. Czynność ta uwarunkowana jest stałością homeostazy organizmu i podlega wpływom układów: nerwowego, hormonalnego i immunologicznego (21).

W ostatnim 20-leciu problem sterowania odczynami odpornościowymi stał się przedmiotem zainteresowania bardzo wielu ośrodków naukowo-badawczych na całym świecie. Do badań klinicznych wprowadzono wiele nowych substancji, modulujących odpowiedź immunologiczną i podnoszących odporność ustroju na różnego rodzaju infekcje.

Efektom działania czynników immunomodulujących jest zmiana odpowiedzi immunologicznej organizmu na patogeny bakteryjne lub wirusowe; wyrażać się to może skróceniem czasu wymaganego dla wywołania efektu odpowiedzi lub podniesieniem jej poziomu i przedłużeniem czasu trwania. Immunomodulacja obejmuje zarówno wzmacnianie, jak i osłabienie odpowiedzi immunologicznej. Może dotyczyć zmian ilościowych i jakościowych w fazie indukcji lub ekspresji odpowiedzi humoralnej bądź komórkowej. Współcześnie rozpatrywana jest w dwojaki sposób: albo jako zjawisko biologiczne występujące w ustroju i warunkujące w aspekcie odpornościowym jego homeostazę lub jako stan wyindukowany przez wprowadzenie czynników egzogennych np. leków (23).

Preparaty immunomodulujące różnią się sposobem i siłą działania. Łączącą je cechą jest fakt posiadania wspólnego wewnątrzkomórkowego mechanizmu nu-

kleotydownego, zmieniają one bowiem funkcjonowanie komórek układu odpornościowego na drodze zmiany wzajemnego stosunku cAMP do cGMP. Uważa się, że wzrost poziomu cAMP prowadzi do wzmożenia wydzielania, któremu nie towarzyszy wzmożenie proliferacji, natomiast wzrost cGMP prowadzi do proliferacji limfocytów, zwłaszcza typu B, wzrostu sekrecji przeciwciał i wystąpienia zjawiska cytotoksyczności oraz pobudzenia aktywności makrofagów (22).

Stymulację procesów immunologicznych wykorzystuje się obecnie w terapii chorób nowotworowych i zakaźnych oraz wielu schorzeń z dziedziny interny, pediatrii, neurologii, a także dermatologii (31). Coraz częściej modulatory stosowane są w celu pobudzenia odporności nieswoistej u noworodków zwierząt użytkowych (3), aby ograniczyć zachorowania i straty w tym okresie, powstałe na skutek występowania chorób warunkowo zakaźnych.

Znane dotychczas preparaty stymulujące można podzielić na: 1) swoiste (szczepionki i autoszczepionki) oraz 2) nieswoiste — różne związki o działaniu immunostymulacyjnym, immunomodulującym lub immunorekonstytucyjnym (42). Preparaty te mogą być pochodzenia naturalnego lub syntetycznego. Do najbardziej znanych modulatorów naturalnych zaliczyć należy: pączki kwasooorne BCG, beztlenowe maczugowce z rodzaju *Propionibacterium*, lipopolisacharydy, peptydy, wyciągi z bakterii, grzybów i drożdży, czy ekstrakty ziołowe np. wyciąg z aloesu. Drugą grupę stanowią stymulatory syntetyczne, o w pełni zdefiniowanej strukturze chemicznej i mechanizmie działania (34).

## Preparaty naturalne

W procesach modulacji odpowiedzi immunologicznej dominującą rolę odgrywają modulatory niespecyficzne, o wielokierunkowym mechanizmie działania. Takie właściwości posiadają m.in. szeroko obecnie stosowane w profilaktyce i terapii drobnoustroje z rodzaju *Propionibacterium*.

Beztlenowce zaliczane do propionibakterii stanowią grupę szczepów o różnej aktywności biologicznej. Znanych jest obecnie ponad 20 różnych szczepów, wśród których największą aktywność wykazują *Propionibacterium granulosum*, *acnes* i *avidium*.

Propionibakterie, w zależności od drogi podania, dawki inokulum, czasu iniekcji (przed, po, w czasie choroby) oraz statusu odpornościowego zwierzęcia, mogą działać immunostymulacyjnie, bądź też immunosupresyjnie (30).

Aktywność biologiczna wspomnianego gatunku drobnoustrojów związana jest z niektórymi składnikami ich ścian komórkowych, głównie peptydoglikanami, polisacharydami i kwasem teichowym oraz wzajemnym stosunkiem tych substancji (24). Komórki propionibakterii wykazują swoją aktywność zarówno w formie żywej, jak i zabitej termicznie (6°C — 1 godz., 80°C — 30 min.), czy chemicznie (1% formaldehyd). Również alkalizacja zawiesiny bakterii do pH = 11,1 nie znosi ich właściwości uczulających, a zakwaszenie do pH = 1,6 tylko częściowo je osłabia (6).

Mechanizm działania propionibakterii polega przede wszystkim na aktywacji makrofagów (27). Stwierdzono, że pobudzają one również układ granulocytów, wpływając przede wszystkim na przyspieszenie proliferacji młodych granulocytów w szpiku. Efektem tego jest podwyższenie liczebności puli rezerwowej i zwiększenie liczby dojrzałych granulocytów będących do dyspozycji ustroju (1). Podanie preparatu powoduje nasiloną chemotaksję zarówno na bodźce swoiste i nieswoiste, wzrost indeksu fagocytarnego i % komórek fagocytujących (granulocytów krwi obwodowej i komórek układu monocytarno-makrofagowego). *In vivo* wyraża się to przyspieszonym oczyszczaniem krwi z substancji obcych i bakterii. Efektem działania omawianego rodzaju bakterii jest ponadto podwyższony odsetek granulocytów redukujących nitro BT oraz obniżanie się aż do całkowitej normalizacji poziomu lizozymu w surowicy krwi, spadek aktywności transaminaz, fosfatazy zasadowej oraz DNA-polimerazy.

Propionibakterie nasilają również odpowiedź humoralną na różne antygeny, podwyższając miano przeciwciał skierowanych przeciw antygenom T-zależnym. Mechanizm aktywacji limfocytów B nie jest w pełni wyjaśniony. Askonas i Jarskova (6) podali, że labilizując błony komórkowe makrofagów powodują one wzrost koncentracji antygenów na ich powierzchni, co stymuluje zarówno limfocyty B i T. Niekiedy podanie propionibakterii pobudzając odporność humoralną upośledza odpowiedź komórkową (24). Wprowadzenie tego rodzaju bakterii znacznie osłabia reakcje nadwrażliwości typu późnego oraz reakcje odrzucania przeszczepów. Zjawisko to związane jest z upośledzeniem proliferacji limfocytów w wyniku indukcji powstawania komórek Ts. Scott (24) uważa, że obserwowana immunosupresja związana jest ze zmianą dystrybucji limfocytów w ustroju, tzn. z ich względnym niedoborem na obwodzie i akumulacją w śledzionie, za co odpowiedzialne są aktywowane makrofagi. Immunostymu-

lacja wywołana podaniem propionibakterii ma charakter długotrwały, a zmiany zapoczątkowane ich podaniem utrzymują się co najmniej kilka tygodni (24).

Propionibakterie wykazują znaczne działanie ochronne przed zakażeniami wirusowymi (25). Właściwość ta zależy w dużym stopniu od zdolności mikroorganizmów do indukcji endogennego interferonu i uwalniania przez aktywowane makrofagi substancji o działaniu przeciwwirusowym, o charakterze innym niż interferon (24). Wykazują one także silne działanie przeciwnowotworowe, zarówno typu profilaktycznego, jak i terapeutycznego (7, 38, 41), polegające na hamowaniu wzrostu guza już rozwiniętego i hamowaniu rozwoju przerzutów. Stymulują one odporność skierowaną przeciwko różnym co do etiologii przeszczepialnym nowotworom jak np. rak Erlicha w formie wysiękowej i guzowatej, Levisa, mięsaki, włókniako-mięsaki oraz gruczolakoraki (6). Na podkreślenie zasługuje fakt, że indukowana odporność nie jest znoszona przez naświetlanie dawką 200—400 radów dla myszy, ani podaniem surowicy antylimfocytarnej, czy zabiegami tymektomii i splenektomii.

Niezwykłe interesujące wyniki dały przeprowadzone ostatnio w Japonii badania, wykazujące stałe występowanie propionibakterii w szpiku kostnym zdrowych ludzi i zanikanie ich przy raku żołądka. Powstaje więc przypuszczenie, że beztlenowce maczugowce mogą spełniać w organizmie rolę naturalnych immunostymulatorów przeciwnowotworowych (6).

Terapia przy użyciu propionibakterii nie jest w zasadzie ograniczona efektami ubocznymi działania leku z uwagi na fakt, że mają one charakter przejściowy, krótkotrwały. Podanie dożylnie leku powoduje występowanie podwyższonej c.c. u pacjentów, okresowych objawów „grypowych”, ból głowy oraz nudności (27). Podwyższonej c.c. towarzyszyła kilkugodzinna leukocytoza, granulocytowa i limfocytoza, nie stwierdzono natomiast statystycznie znamiennych różnic w ilości białka całkowitego w surowicy krwi, ilości albumin i globulin.

Korzystny efekt terapeutyczny uzyskano stosując propionibakterie w zwalczaniu bronchopneumonii cieląt chorujących z zespołem ostrych i chronicznych objawów tej choroby. Stymulacja cieląt powodowała szybsze ustępowanie objawów choroby i zachowanie w lepszej kondycji zwierząt po przechorowaniu. Zaobserwowano także korzystny wpływ preparatu na poziom ciał biologicznie czynnych przekazywanych z siałką cielętom oseskom. Potomstwo od matek immunizowanych cechowała mniejsza śmiertelność, niska zapadalność na bronchopneumonię oraz lepsze przyrosty wagowe (16, 17). Z pozytywnym skutkiem zastosowano również propionibakterie w zwalczaniu nawracającej czyraczności i wirusowego zapalenia wątroby u ludzi oraz zakażeń innymi wirusami, w tym wirusem choroby Newcastle, EMC i CSF. Preparat okazał się także skuteczny w zwalczaniu listeriozy w fermach szynszyli (15).

Oprócz cytowanych przykładowo propionibakterii właściwości immunostymulujące wykazują również elementy strukturalne i metabolity wielu szczepów bakterii, m.in. *Bordetella bronchiseptica*, *Listeria innocua* i *monocytogenes*, *Shigella flexneri*, *Nocardia opaca*, *Actinomyces viscosus*, a także paciorkowce — *Streptococcus olivaceogriseus*, *violaceus*, *haemoliticus* i *pyogenes* (18, 19, 29).

Do ważnych preparatów naturalnych, którym przypisuje się działanie stymulujące zalicza się również Biostyminę — wodny wyciąg z liści aloesu. W wyniku

badan fitochemicznych stwierdzono w niej obecność antrazwiazków, wolnych i związanych aminokwasów oraz pierwiastków śladowych. Biostymina wykazuje duże powinowactwo do układu limfatycznego i granulocytarnego. Wykazano wyraźny wpływ preparatu na wzrost odporności komórkowej nieswoistej i swoistej oraz pewien wpływ na wzrost odporności humoralnej. Zaobserwowano wzrost frakcji  $\gamma$ , liczby limfocytów B oraz populacji komórek produkujących przeciwciała hemolizujące. Biostymina stymuluje także granulopoezę, proces fagocytozy, wzmacnia zdolność pochłaniania, degradacji i rozpoznawania antygenów. Ingeruje również w kinetykę procesów alergicznych, nasilając zwłaszcza ich wczesne etapy, wzmacnia odczyn nadwrażliwości typu późnego. Stosuje się ją u osób wykazujących osłabioną reaktywność układu odpornościowego, w neurologii, dermatologii (leczenie łojotoku, alergii, łuszczyca), okulistyce (terapia *keratitis*) i stomatologii. W weterynarii preparat ten stosuje się głównie w terapii i profilaktyce bronchopneumonii i kolibakteriozy młodych zwierząt (20).

Ostatnio duże zainteresowanie budzi modulacja odpowiedzi immunologicznej przez lipopolisacharydy bakteryjne (LPS), stanowiące grupę makrocząstek charakterystycznych dla bakterii G<sup>(-)</sup>, zlokalizowanych w zewnętrznych warstwach komórek. Uczestniczą one w interakcji komórek ze środowiskiem na drodze działania adiuwantowego, mitogennego, aktywacji makrofagów i indukcji nieswoistej odporności na zakażenie. Lipopolisacharydy składają się z jednostek oligosacharydowych, stanowiących łańcuch specyficzny O, z których wiąże się swoistość immunologiczna oraz z polisacharydu podstawowego i lipidu A, który jest częścią odpowiedzialną za aktywność adiuwantową i mitogenną całej cząsteczki (45). W wyniku oddziaływania z lipidami wchodzącymi w skład błony komórkowej limfocytów B powoduje on zmiany jej właściwości i stanowi sygnał do rozpoczęcia skomplikowanych przemian w metabolizmie komórki. Modulacja odpowiedzi humoralnej pod wpływem LPS dotyczy miana krążących przeciwciał, liczby komórek wytwarzających przeciwciała, czasu przetrwania krążących przeciwciał oraz fazy utajonej odpowiedzi immunologicznej. W świetle znanych badań można rozpatrywać 4 mechanizmy działania LPS: 1) bezpośrednia stymulacja prekursorów limfocytów B, 2) działanie mitogenne na limfocyty B, 3) działanie na funkcję pomocniczą limfocytów T i 4) przekształcenie sygnału tolerogennego w immunogeny (28). Czynniki decydującymi o kierunku modyfikacji odpowiedzi humoralnej są: dawka, droga podania i okres pomiędzy iniekcją LPS i antygenem. W ostatnich latach wykazano, że LPS mogą modulować także odpowiedź immunologiczną typu komórkowego przez bezpośrednią interakcję z limfocytami T, jak również poprzez interakcję z makrofagami. Komórkami najwrażliwszymi na działanie LPS są makrofagi. W wyniku działania LPS na makrofagi dochodzi do zmiany ich metabolizmu, aktywności, a zwłaszcza właściwości fagocytarnych. Procesowi temu towarzyszy zazwyczaj stymulacja tworzenia H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, wzrost syntezy dehydrogenazy mleczanowej, kwaśnej fosfatazy i katepsyny D oraz spadek syntezy B-glukuronidazy, B-galoktozydazy i aminopeptydazy. Bezpośrednie oddziaływanie LPS na makrofagi powoduje aktywację tych komórek do hamowania wzrostu komórek nowotworowych. LPS mogą powodować także zmiany funkcjonalne w makrofagach, które umożliwiają im zabijanie komórek nowotworowych (28). Mechanizm tej reakcji polega prawdopodobnie na kontakcie pomiędzy

komórkami i przechodzeniu lizosomów z komórki aktywowanej do nowotworowej oraz wywoływaniu jej lizy (28). Zdolność do zabijania komórek nowotworowych znajduje się pod kontrolą genetyczną. LPS stymulują także monopoezę, są również jednym z najlepszych stymulatorów syntezy i wydzielania monokin, oddziałując na układ dopełniacza powodując jego aktywację na drodze klasycznej i alternatywnej (28). Stwierdzenie właściwości modulacyjnych LPS doprowadziło do zwrócenia uwagi na potencjalne możliwości zastosowania ich w onkologii oraz w profilaktyce i terapii chorób zakaźnych.

Ważną grupę związków wśród naturalnych immunomodulatorów stanowią polisacharydy, pochodzące z bakterii, grzybów, mchów i roślin wyższych (13). Chemicznie są to połączenia typu glukanu (22). Do najlepiej poznanych należą: lentinan, zymosan, dekstran i glukan. Lentinan działa stymulująco przede wszystkim na komórki T, normalizuje chemicznie zdeprymowaną aktywność komórek Th oraz wzmacnia cytotoksyczność zależną od przeciwciał (22). Dekstran i zymosan pobudzają makrofagi oraz powodują wyraźny wzrost indeksu fagocytarnego (23). Do przedstawionej poniżej grupy immunomodulatorów zaliczyć można także dwupeptyd muramyłowy (MDP) i jego rozpuszczalne w wodzie analogi wykazujące aktywność immunoadiuwantową *in vivo* i *in vitro*. Potęgują one zjawisko fagocytozy oraz przeciwbakteryjną aktywność makrofagów, przy czym wywierają działanie na zróżnicowane ich subpopulacje. Preparatem będącym związkiem strukturalnie podobnym do MDP jest opisany przez Majde i Gordona (22) preparat SM 1213, wykazujący selektywne działanie aktywujące makrofagi i potęgujące ich zdolność fagocytozy.

W przypadku polisacharydów nie obserwuje się stopniowego, charakterystycznego dla wielu innych preparatów narastania odpowiedzi w miarę wzrostu dawki mitogenu. Drugą ciekawą właściwością jest fakt, że nawet w dawce 1000-krotnie wyższej od dawki efektywnej nie wywołują one supresji odpowiedzi komórek (46). Wadą wspomnianych preparatów jest stosunkowo krótki czas pobudzenia układu immunologicznego — 4—5 dni.

Silne właściwości immunomodulacyjne posiadają związki wchodzące w skład ściany komórkowej różnych drobnoustrojów. Należałoby wspomnieć tu o roli kwasów mykoloowych, lipoproteidach czy peptydoglikanie, które wykazują zdolność pobudzania transformacji komórek (45).

Dużą grupę immunomodulatorów stanowią preparaty peptydowe (8, 31, 37, 43). Należą do nich m.in. transfer factor, preparaty grasicy, tymozyna, tymopoetyna, grasiczy czynnik humoralny i surowiczy.

#### Preparaty syntetyczne

Poza przedstawionymi modulatorami naturalnymi stosowane są zarówno w medycynie ludzkiej, jak i weterynaryjnej immunostymulatory syntetyczne. Należą do nich: lewamisol, izoprynozyne, azymekson, pirydoksyna i nitrogranulogen.

Lewamisol, lewoskrętny izomer optyczny tetramisolu wyraźnie stymuluje populację granulocytarną oraz makrofagi. Zarówno *in vivo*, jak i *in vitro* wzmacnia on m.in. fagocytozę, spontaniczną migrację makrofagów, chemotaksję i ruchliwość (10, 12, 36, 40). Preparat ten nasila także cytotoksyczność limfocytów i komórek NK oraz ingeruje w uwalnianie histaminy z uczulonych ko-

mórek. Wpływa również na odporność komórkową poprzez pobudzenie proliferacji limfocytów T, zwiększa bezwzględna liczbę limfocytów T, produkcję limfokin, nasila w sposób znaczny odczyn skórny. *In vitro* pozostaje bez wpływu na poziom immunoglobulin i wytwarzanie przeciwciał, *in vivo* natomiast nasila te procesy. Levamisol wzmacnia dodatkowo mitogeny wpływ Con A i LPS (39) oraz przywraca do normy zaburzone sprzężenie zwrotne między stosunkiem immunoglobulin we krwi a różnicowaniem się limfocytów T na komórki Ts i Th (5, 32). Na czynność limfocytów B oddziałują pośrednio, właśnie poprzez normalizację subpopulacji czynnościowych limfocytów T (46). Preparat ten z reguły nie zmienia istotnie pierwotnej odpowiedzi na wprowadzany antygen, wzmacnia natomiast wyraźnie odpowiedź na powtórny jego ekspozycję. Levamisol wpływa na liczne układy enzymatyczne i aminy biogenne oraz na poziom cyklicznych nukleotydów wewnątrz komórek zaangażowanych w reakcje odpornościowe. Działanie omawianego leku zależy od dawki i czasu stosowania. Początkowo nasila on odpowiedź immunologiczną, ale wielokrotnie jego podawanie przez dłuższy okres czasu może spowodować immunosupresję przez przerwanie różnicowania nowej komórki prekursorowej.

Lewamisol przywraca prawidłowy profil immunologiczny u osób starszych, anergiczych oraz innych z upośledzoną odpornością. Pod jego wpływem wzrasta zdolność ustroju do uwalniania granulocytów szpikowych. W weterynarii lek stosowano w celu wzmocnienia odpowiedzi immunologicznej po zastosowaniu swoistych szczepionek wirusowych lub bakteryjnych u drobiu, owiec i bydła (9, 11), ponadto w profilaktyce schorzeń gruczołu mlekowego i macicy u bydła oraz biegunki u cieląt osesków. Hogarth-Scott oraz Hepburn wykazali wzrost miana przeciwciał w surowicy i sianie po zastosowaniu szczepionki z lewamisolem, co wykorzystano praktycznie w produkcji szczepionki Nilvax.

Szerokie stosowanie przedstawionego preparatu ograniczają stosunkowo liczne objawy uboczne ze strony przewodu pokarmowego, OUN, także objawy grypopodobne, artropatie, reakcje uczuleniowe oraz agranulocytoza, granulocytopenia i białkomocz (4).

Lekiem przeciwwirusowym o działaniu immunoregulacyjnym jest izoprynozyna. Wywiera ona stymulujący wpływ na odpowiedź immunologiczną komórkową i humoralną oraz nieswoiste procesy obronne. Izoprynozyna działa ochronnie na markeny występujące na powierzchni limfocytów T, wzmacnia ich proliferację, przez co ułatwia im rozpoznanie antygeny (33). Wpływa stymulująco na funkcje komórek K doprowadzając do wzmożonej destrukcji komórek docelowych opłaszczonych antygenem. Izoprynozyna ma właściwości wzmacniania procesu fagocytozy, nasila zarówno proces pochłaniania, jak i zabijania bakterii przez neutrofile. Działanie leku jest wielokierunkowe. Potęguje on wpływ mitogenów na komórki T i B (26) i wykazuje powinowactwo do makrofagów, powoduje wzrost ich proliferacji i nasila właściwości fagocytarne (14). Preparat stymuluje ponadto specyficzną syntezę immunoglobulin oraz działanie interferonu zarówno w jego aktywności przeciwwirusowej, jak i przeciwnowotworowej. Lek jest wyjątkowo dobrze tolerowany przez zwierzęta. Izoprynozyna charakteryzuje się minimalną toksycznością, nawet w dużych dawkach nie wywołuje zjawiska immunosupresji. Jest to typowy lek immunopotencjalizujący. Kliniczną poprawę obserwowano po zastosowaniu pre-

paratu u pacjentów chorych na opryszczkę wirusową, półpasiec i grypę.

Znanym immunomodulatorem syntetycznym jest również azymekson. Jego dystrybucja w ustroju oraz metabolizm wiąże się z powinowactwem do tkanki limfatycznej i szpiku kostnego. Dawki niskie leku są dobrze tolerowane, natomiast wysokie indukują toksyczną anemię. W niskich stężeniach preparat pobudza proliferację limfocytów i makrofagów. Indukuje również rozrost układu siateczkowo-śródbłonkowego, *in vivo* nasila odczyny immunologiczne typu komórkowego oraz produkcję przeciwciał po wprowadzeniu antygeny T-zależnego. Posiada on funkcję regulatorową w stosunku do komórek T i makrofagów, nasila granulopoezę i czynność komórek NK (22).

Lek może być z powodzeniem stosowany w leczeniu grzybic, a także w onkoterapii.

Immunomodulatorem o działaniu stymulującym układ odpornościowy okazał się również nitrogranulogen. W małych dawkach preparat powoduje zwiększenie ilości limfocytów T i B, poziomu immunoglobulin, podnosi aktywność fagocytarną granulocytów krwi (35). Lek podaje się w celu uzyskania wysokiej skuteczności terapeutycznej np. w przypadku zwalczania podklinicznych stanów zapalnych wymion przy zastosowaniu minimalnej dawki antybiotyku i równoczesnym oddziaływaniu na układ odpornościowy gruczołu mlekowego. Takie postępowanie przynosi pożądane efekty i wiąże się z faktem synergizmu preparatu z szeregiem antybiotyków w hamowaniu wzrostu *in vitro* wielu gatunków bakterii izolowanych z wydzieliny zapalnej wymion krów (35). Wykazano ponadto, że lek wpływa korzystnie na poziom przeciwciał w sianie i IgM w surowicy krwi, powoduje zmniejszenie ilości przypadków *endometritis* po porodzie, obniża śmiertelność okołoporodową noworodków, u prosiąt osesków korzystnie wpływa na tempo przyrostów m.c., zmniejsza zapadalność młodych zwierząt na bronchopneumonię (21).

Ważną rolę w immunostymulacji układu odpornościowego odgrywają także preparaty bodźcowe, takie jak np. Suimicrovac, Panodina, witamina B6 czy Biovetadina. Stwierdzono, że wpływają one na wzrost liczby leukocytów oraz na poziom aktywności metabolicznej granulocytów, co ma istotne znaczenie w profilaktyce chorób okresu neonatalnego zwierząt (2).

Na zakończenie należy podkreślić również ogromne znaczenie, jakie posiadają niesterydowe leki przeciwzapalne (aspirynopodobne) w profilaktyce immunohomoeostatecznej. Pełnią one rolę potencjalnych protektorów, wspomagających adaptację ustroju na zasadzie hamowania reakcji na czynniki agresji środowiskowej, na wzór naturalnych hormonów adaptacyjnych (21), a ich działanie układowe decyduje o szerokich możliwościach wykorzystania tych preparatów w praktyce weterynaryjnej.

Podsumowując należy podkreślić, że stosowanie środków immunomodulujących wymaga doskonałej znajomości mechanizmów immunologicznych oraz stosowanego leku. Preparaty tego rodzaju ingerują bowiem w bardzo czuły i nie w pełni zbadany system, jakim jest układ odpornościowy. Ujemną stroną ich działania jest obserwowane niejednokrotnie w wyniku przedłużonego stosowania ogólne wyczerpanie reaktywności immunologicznej lub możliwość wywołania supresji. Dlatego też konieczne jest ustalenie dokładnych wskazań do stosowania tego typu terapii, a w trakcie jej prowadzenia monitorowanie układu immunologicznego pacjenta. W doborze preparatu

należy kierować się następującymi kryteriami: jak najniższym działaniem ubocznym, łatwością kontrolowanego podawania przy jednoczesnym dużym jednorazowym stężeniu środka oraz działaniem preparatu ukierunkowanym na makrofagi, które odgrywają rolę w prawidłowej inicjacji reakcji odpornościowej.

## Piśmiennictwo

1. Al-Izzi S. A., Marie M. G.: Am. J. Vet. Res. 43, 2244, 1982.
2. Bartnicka B.: Wpływ doświadczalnego zarażenia prosiąt larwami *Oesophagostomum dentatum* oraz stosowania preparatów bódźcowych na wybrane parametry odporności komórkowej. Praca dokt., Puławy, 1984.
3. Bartnicka B., Kondraki M.: Medycyna Wet. 40, 693, 1984.
4. Bogdanikowa B.: Post. Hig. 33, 125, 1979.
5. Brunner C. J., Muscoplat C. C.: J. Am. Vet. med. Ass. 176, 1159, 1980.
6. Cygan Z.: Medycyna Wet. 33, 654, 1977.
7. Cygan Z., Barcz I., Sikorski T.: Medycyna Wet. 37, 458, 1981.
8. Dąbrowska M., Oriowski K.: Wiad. lek. 41, 1665, 1988.
9. Dębowy J., Obmińska-Tomorzak B.: Medycyna Wet. 43, 357, 1987.
10. Euzeby J. P.: Rev. Med. Vet. 137, 417, 1986.
11. Euzeby J. P.: Rev. Med. Vet. 137, 499, 1986.
12. Fischer G. W., O'Brien J., Hokama Y., Maybee D., Chou S. C.: Cancer Treatment Rep. 32, 1637, 1978.
13. Fliszer-Małyszewska E.: Skojarzone działanie cytostatyków i immunomodulatorów na rozwój przeszczepialnych nowotworów. Praca dokt., Wrocław 1982.
14. Flaming K. P., Blecha F., Fedorka-Craay P. J., Anderson G. S.: Am. J. Vet. Res. 10, 1653, 1989.
15. Furówicz A., Brocla D., Łoczewski P., Czernomysy-Furówicz D.: Medycyna Wet. 5, 289, 1989.
16. Furówicz A., Gos Z., Grupiński T., Czernomysy-Furówicz D.: Medycyna Wet. 45, 30, 1989.
17. Furówicz A., Czernomysy-Furówicz D., Gos Z., Grupiński T., Lewandowska S.: Nowości Wet. 2, 77, 1989.
18. Furówicz A., Grupiński T., Czernomysy-Furówicz D.: Nowości Wet. 3-4, 143, 1989.
19. Furówicz A.: Przegl. hod. 8, 28, 1989.
20. Furówicz A., Czernomysy-Furówicz D., Lewandowska S., Grupiński T., Łoczewski P.: Przegl. hod. 9, 10, 1989.
21. Garbuliński T.: Mat. VIII Kongresu PTNW, Warszawa 1987.
22. Gieldanowski J.: Immunoterapia. Wszelchnica PAN, Ossolineum, 1984.
23. Gieldanowski J.: Post. Hig. 38, 557, 1984.
24. Gil J.: Badania doświadczalne i kliniczne nad działaniem preparatu *Propionibacterium granulosum* w zakażeniach wirusowych wątroby ze szczególnym uwzględnieniem PAZW HBS Ag (-). Praca hab., Warszawa 1984.
25. Gil J., Ziemka J., Brzośko W. J., Dąbrowski M., Dobrowska-Bernstein B., Szmigielski S., Ko H. L., Jeljaszewicz J., Pulverer G.: Hepato-gastroenterd. 31, 109, 1984.
26. Hennessy K. J., Blecha F., Polmann D. S., Kluber E. F.: Am. J. Vet. Res. 48, 477, 1987.
27. Hof H., Pulverer G.: Med. Microbiol. Immunol. 176, 75, 1987.
28. Izdebska-Szymona K., Sitnicka E.: Post. Hig. 41, 211, 1987.
29. Jakontuk P., Sacha P., Borowski J.: Med. Dośw. 41, 15, 1989.
30. Janiak M.: Modyfikacja nieswoistych reakcji cytotoksyczności komórkowej pod wpływem preparatu *Propionibacterium granulosum* KP-45. Praca hab., Warszawa 1986.
31. Janusz M.: Post. Hig. 42, 173, 1988.
32. Koller L. D.: JAVMA, 181, 1102, 1982.
33. Kowalska M., Denys A., Szudłowska T., Biatek J.: Mat. IV Kraj. Symp. Wirusol. Łódź 1985.
34. Lefrancier P.: Comp. Immun. 3, 171, 1985.
35. Malinowski E.: Skojarzone leczenie antybiotykami i środkami wspomagającymi podklinicznych postaci zapalenia gruczołu mleczowego krów w okresie laktacji. Praca hab., Puławy 1989.
36. Matusiewicz R., Wacek W.: Przegl. lek. 42, 557, 1985.
37. Matusiewicz R., Wacek W.: Przegl. lek. 41, 1630, 1988.
38. Płużńska A., Stęprżyńska J., Szmigielski S., Łuczak M., Jeljaszewicz J., Pulverer G.: Anticancer Res. 5, 521, 1985.
39. Purswell B. J., Dave D. L., Brown J., Williams D. J.: Am. J. Vet. Res. 49, 356, 1988.
40. Reza H. R., Ardeholi S., Fabbri B., Teplitz R. L.: Nat. Immun. Cell. Growth. Regul. 6, 167, 1987.
41. Roszkowski K., Gil J., Roszkowski W., Szmigielski S., Nowakowski W., Ko H. L., Pulverer G., Jeljaszewicz J.: Eur. J. Respir. Dis. 62, 425, 1985.
42. Sachochocki Z.: Nieswoista immunostymulacja w leczeniu przewlekłej czyrączności. Praca dokt., Warszawa 1985.
43. Skórski T.: Postępy Biol. 13, 51, 1986.
44. Soroko W.: Ocena czynności układu granulocytów u żołnierzy z nawracającą czynnością leczonych preparatem immunostymulującym *Propionibacterium granulosum*. Praca dokt., Warszawa 1985.
45. Wojskiewicz J.: Post. Hig. 32, 443, 1978.
46. Wójcik M.: Farm. Pol. 41, 133, 1985.

Adres autora: lek. wet. Iwona Markowska-Daniel, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

KONRAD MALICKI, ANNA ŁADYŃSKA, ELŻBIETA MALICKA \*

## Morfologia i właściwości hemaglutynujące koronawirusa jelitowego cieląt. II. Koronawirusowa hemaglutynacja i elucja z erytrocytami szczura\*)

Zakład Wirusologii Katedry Mikrobiologii  
i \* Katedra Patologii Wydziału Weterynaryjnego SGG-AR,  
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

### Summary

**Morphology and haemagglutinating activity of calf intestinal coronavirus. II. Haemagglutination and elution procedures of calf coronavirus with rat erythrocytes**

The detection of coronaviruses in calf faeces by the haemadsorption-elution-haemagglutination assay (HE-HA), described by van Balken et al. (1), may be employed in different laboratory procedures. The experiments were done with coronavirus 800 (11), propagated in faetal lung cells of the calf (10), and rat erythrocytes. There were determined: a) the influence of erythrocyte concentrations on the effectiveness of the haemadsorption-elution assay (Table 1), b) the receptor capacity of erythrocytes assessed in suspensions of a different concentration (Table 2), c) the conditions of the effective elution assay after prior repeated adsorption to erythrocytes (Table 3, 4), d) the possibility of the eluted coronavirus to bind to new erythrocytes, e) the influence of temperature (37—70°C) on the activity of coronavirus haemagglutinin. The usefulness of the obtained parameters was checked using gut washings from diarrhoeic calves. Virions of the virus following the haemadsorption procedure to the surface of rat erythrocytes have been presented (Fig. 1, 2).

Wykrywanie koronawirusa w biegunkowych odchodach cieląt przez zastosowanie techniki hemadsorpcji-elucji w próbie hemaglutynacji (HE-HA), opisane przez van Balkena i wsp. (1), może mieć szersze zastosowanie laboratoryjne, np. do oczyszczania i zagęszczania koronawirusa namnażanego *in vitro*, wykrywania swoistych przeciwciał w testach blokowania itp. Celem pracy było bliższe poznanie parametrów koronawirusowej hemaglutynacji-elucji.

### Materiał i metody

Do badania użyto Coronawirusa 800 (11), uzyskanego od Dr W. Eichhorna z Instytutu Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego w Monachium. Koronawirus namnażano w subkulturach komórek płodowych płuc cieląt (2, 10). W kolejnych pasażach uzyskiwano miano zakaźne rzędu  $10^{4,0-4,4}$ CCID<sub>50</sub>/ml i hemaglutynacyjne 32—128 HJ. Warunki wykonywania hemaglutynacji (HA) wzorowano na sposobach, jakie podali Larski (5) i Chengping (2). Przy wykonywaniu adsorpcji dodawano do wirusa o znanym mianie odpowiednią objętość przepłukanych erytrocytów szczura, potrzebną do uzyskania żądanej, końcowej koncentracji i inkubowano w temperaturze 4°C przez 1 h. Następnie materiał wirowano z szybkością 1500 obr./min. przez 10 minut i zbierano supernatant do wykonania prób kontrolnych. Osad erytrocytów ze związanym wi-

\*) Badania finansowane w C.P.B.P. 04.02., temat 1.6.10.