

5. Grela E., Krasucki W.: Trzoda chlewna 30, 6, 1992.
6. Grela E., Lipiec A.: Züchtungskde 63, 399, 1991.
7. Grela E., Lipiec A.: Züchtungskde 64, 66, 1992.
8. Grela E., Walkiewicz A.: Gosp. mięs. 42, 10, 1991.
9. Grela E., Widiński K., Krusiński R.: Prz. hod. 60, 22, 1992.
10. Grela E., Wójcik S., Widiński K., Król W.: Annls Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sect. EE 7, 163, 1989.
11. Huisman J., Van der Poel A. F. B., Versteegen M. W. A., Van Weerden E. J.: World Rev. Anim. Prod. 25, 78, 1990.

12. Kozłowski M., Czarnyszewicz J.: Trzoda chlewna 29, 7, 1991.
13. Petkov K., Nestorowicz K., Jacyno E., Lubowicki R.: Prz. hod. 60, 24, 1992.
14. Schleicher A., Fritz Z., Fuchs B., Preß J.: Biul. Inf. Przem. Pasz. 28, 45, 1989.
15. Urbańczyk J.: Trzoda chlewna 28, 9, 1990.

Adres autora: prof. dr hab. Eugeniusz Grela, ul. Paganiniego 11/25, 20-854 Lublin

ELŻBIETA SAMOREK-SALAMONOWICZ

monografia

Choroba Mareka – mechanizmy odporności

Zakład Anatomii Patologicznej Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Choroba Mareka (MD) jest wysoce zaraźliwą, nowotworową chorobą ptaków, stanowiącą przed wprowadzeniem szczepień jeden z najważniejszych problemów epidemiologicznych i ekonomicznych w hodowli drobiu. Czynnikiem wywołującym tę chorobę jest wirus choroby Mareka należący do rodziny *Herpesviridae* (4). Znane są trzy serotypy tego wirusa (16, 20). Do serotypu 1 zalicza się wszystkie szczepy patogenne należące do czterech patotypów: patotyp 1 — szczepy wysoko patogenne tzw. ostre, patotyp 2 — szczepy wysoko wirulentne, które są wariantami biotypu, patotyp 3 — szczepy umiarkowanie patogenne czyli klasyczne oraz patotyp 4 — szczepy sztucznie atenuowane. Do serotypu 2 należą szczepy naturalnie apatogenne występujące u kur, natomiast do serotypu 3 niepatogenne szczepy występujące u indyków (1).

Wirus choroby Mareka wnika do układu oddechowego kurcząt wraz z cząsteczkami pyłu. Sposób, w jaki przedostaje się potem do śledziona, grasicy i torby Fabrycjusza jest nadal niejasny, chociaż wydaje się, że poważną rolę odgrywają tu makrofagi (2, 8). Z zakażonych komórkach począwszy od 2 dnia po zakażeniu wirus replikuje się powodując lisę komórek. Jest to wczesna, cytolityczna infekcja osiagająca swój szczyt 4—5 dnia po zakażeniu (5, 8). W komórkach nabłonka brodawek piór tworzą się kompletne cząstki wirusowe, uwalniane potem do otoczenia. Od około 21 dnia po zakażeniu zaczynają powstawać guzy nowotworowe, a także nacieki komórkowe w nerwach. We krwi krążą zakażone limfocyty, zawierające kompletne cząstki wirusowe (8). Ta trwała wiremia jest cechą charakterystyczną choroby Mareka. W następstwie cytolizy komórek dochodzi do atrofii torby Fabrycjusza i grasicy, osłabienia reakcji immunologicznych, a w konsekwencji do immunosupresji (2, 3, 8, 13).

Przebieg i następstwa zakażenia wirusem MD zależą od czynników niezależnych od gospodarza oraz od czynników zależnych od gospodarza, czyli statusu immunologicznego ptaka (23). Rodzaje odporności biorących udział w przebiegu choroby Mareka są następujące.

Rezystencja wrodzona

Rezystencja genetyczna. Według Cole'a (9) jest to niewystępowanie zmian nowotworowych i śmiertelności, pomimo zachowanej wrażliwości ptaków na zakażenie wirusem choroby Mareka.

Istnieją dwie formy rezystencji genetycznej. Pierwsza jest związana z układem zgodności tkankowej (MHC — Major Histocompatibility Complex), który początkowo był opisywany jako *locus* grup krwi —

locus B. Obecnie wiadomo, że jest to forma oporności genetycznej związana z mikrochromosomami komórki, kontrolującymi antygeny powierzchniowe. Są to regiony określane jako: B-F, B-L i B-G (14, 15). Regiony B-F i B-L są odpowiedzialne za kooperację pomiędzy komórkami B i T, produkcję immunoglobulin oraz funkcjonowanie pomocniczych komórek T i makrofagów (14). Ponadto gen Ir związany z MHC aktywuje komórki T, B i makrofagi za pośrednictwem antygeny Ia. Ten typ oporności nie ma wyraźnego wpływu na przebieg zakażenia we wczesnych stadiach, czyli w pierwszych 6 dniach po zakażeniu, lecz prawdopodobnie wiąże się z podwyższoną immunokompetencją gospodarza (14).

Druga forma oporności genetycznej oparta jest na niewrażliwości limfocytów T na zakażenie wirusem MD i związanej z tym transformacji nowotworowej. Zależy ona od genów kodujących antygeny powierzchniowe limfocytów T (7, 8). Stwierdzono, że limfocyty T pochodzące od genetycznie wrażliwych kurcząt posiadają większą liczbę receptorów wirusowych na swej powierzchni od genetycznie niewrażliwych ptaków.

Rezystencja wiekowa. Początkowo sądzono, że niewrażliwość wiekowa zależy od dojrzewania systemu immunologicznego (5, 25, 26), szczególnie od odpowiedzi komórkowej zależnej od komórek T. Późniejsze badania wykonane na wrażliwych i opornych liniach ptaków wykazały, że mechanizmy tej odporności są podobne do mechanizmów związanych z MHC (23).

Humoralna odpowiedź immunologiczna

Odpowiedź przeciw wirusowa. Po zakażeniu wirusem MD przeciwciała pojawiają się 5—7 dnia po zakażeniu i są obecne do końca życia ptaka. Ich obecność można wykryć różnymi metodami, jak: seroneutralizacja, immunodyfuzja w żelu agarowym, immunofluorescencja lub ELISA (9, 23). Przeciwciała nie zabezpieczają ptaka przed chorobą, jednakże obecność przeciwciał matczynych przed zakażeniem ogranicza wczesną lityczną fazę infekcji, lecz nie chroni przed zakażeniem wirusem.

Odpowiedź przeciwnowotworowa. Dotychczas brak jest dowodów na ten typ odporności. Obecność przeciwciał nie zabezpiecza ptaka przed nowotworową formą choroby. Surowice ozdrowieńców nie reagują z antygenem towarzyszącym nowotworom np. MATSA (Marek's Disease Tumor — Associated Surface Antigen) (6). Podanie przeciwciał skierowanych przeciwko MATSA również nie chroni ptaków (6, 19). Wy-

daje się więc, że przeciwciała zabezpieczają ptaki tylko we wczesnej fazie replikacji wirusa.

Odpowiedź komórkowa

Odpowiedź przeciwwirusowa zależna od komórek T (T-cell Mediated Antiviral Responses). W latach siedemdziesiątych wykazano, że limfocyty krwi obwodowej pochodzące od immunizowanych wirusem MD ptaków hamują *in vitro* namnażanie wirusa MD (19). Następnie wykazano obecność komórek efektorowych T we frakcji leukocytów pochodzących od kurcząt zakażonych wirusem MD. Komórki zakażone ulegały lizie, gdyż komórki efektorowe były dla nich cytotoksyczne. Cytotoksyczność była skierowana przeciwko antygenom znajdującym się na powierzchni zakażonej komórki docelowej (23).

Odpowiedź przeciwnowotworowa zależna od komórek T (T-cell Mediated Antitumor Responses). Polega ona na działaniu przeciwko antygenom powierzchniowym stransformowanych komórek. Jednakże antygeny te nie są jeszcze całkowicie określone. Początkowo przypuszczano, że działanie cytotoksyczne jest skierowane przeciwko MATSA (27). Jednakże późniejsze badania wykazały, że są różne antygeny MATSA w zależności od miejsca powstania guzów (24). Swoistego antygeny nie udało się wykazać. Jeżeli antygen taki istnieje, jest on przy obecnym stanie wiedzy trudny do wykrycia, lub też zbyt słaby, by indukować reakcje immunologiczne. Zablockowanie MATSA swoistą surowicą lub usunięcie go na drodze enzymatycznej nie ogranicza reakcji cytolitycznej (31). Dopiero przyszłe badania nad immunologią nowotworów mogą przynieść wyjaśnienie tego zagadnienia.

Cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał ADCC (Antibody Dependent Cell — Mediated Cytotoxicity). Badania *in vitro* sugerują, że ten rodzaj cytotoksyczności odgrywa rolę w odporności ptaków przeciwko chorobie Mareka. Mieszanka surowic pochodzących od ptaków zakażonych wirusem MD i komórek śledziony zdrowych ptaków jest cytotoksyczna dla hodowli komórek zakażonych wirusem MD (12). Antygeny wirusowe biorące udział w reakcji nie są jeszcze scharakteryzowane.

Komórki NK (Natural Killer Cells). Zakażenie ptaków wirusem MD powoduje podwyższenie liczby komórek NK, które są pierwszą linią obrony przeciwnowotworowej u ludzi i zwierząt (27, 28, 35). Genetycznie odporne linie kurcząt mają wyższą liczbę komórek NK niż linie wrażliwe (29). Zakażenie wirusem MD powoduje wzrost aktywności komórek NK w organizmie gospodarza. Liczba ich jest znacznie wyższa u ptaków wykazujących regresję guzów nowotworowych niż u ptaków z rozwijającymi się guzami. Ponadto komórki NK pobrane od kurcząt uodpornionych działają cytotoksycznie *in vitro*, jak i po przeniesieniu na inne nie uodpornione pisklęta (*in vivo*) (23).

Makrofagi. Makrofagi stymulują i wzmacniają funkcję supresora nowotworów. Zablowowanie makrofagów poprzez podanie błękitu trypanu, powoduje u zakażonych ptaków wzrost występowania nowotworów (10). Ponadto hodowle makrofagów indukowane limfokinami lub interferonem powodują silne reakcje cytotoksyczne skierowane przeciwko guzom nowotworowym, po zakażeniu wirusem MD (12, 22). Makrofagi również w kooperacji z komórkami B pochodzącymi od uodpornionych ptaków inaktywują wirus, a ponadto

obserwowana jest wzmożona fagocytoza *in vitro* (31, 36).

W odporności komórkowej biorą aktywny udział także limfokiny, szczególnie interleukina 2, wytwarzana przez limfocyty T w obecności makrofagów. Rola jej w przebiegu choroby Mareka jeszcze do końca nie jest wyjaśniona; prawdopodobnie — jak w innych zakażeniach wirusowych — stymuluje aktywność limfocytów (3, 30).

W hamowaniu replikacji wirusa we wczesnej fazie cytolitycznej, rozprzestrzenianiu jego w organizmie, a także w reakcjach cytolitycznych w stosunku do guzów nowotworowych, bierze udział interferon leukocytarny, którego działanie przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe jest znane (31).

Odporność poszczepienna

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że choroba Mareka jest pierwszą chorobą nowotworową zwalczaną za pomocą szczepionki. Stosowane są następujące rodzaje szczepionek:

Szczepionki atenuowane oparte na serotypie 1 wirusa choroby Mareka. Użytkuje się je przez atenuację zjadliwych, onkogennych szczepów. Przykładem takiej szczepionki jest szczepionka oparta na umiarkowanie zjadliwym szczepie CVI 988 (tzw. szczep Rispensa), przepasażowanym przez hodowle komórkowe (18). Wirus występuje w postaci związanej z komórką. Szczepionka ta daje wysoki procent zabezpieczenia piskląt przed wszystkimi zjadliwymi patotypami wirusa choroby Mareka (17, 18).

Szczepionki oparte na naturalnie apatogennych szczepach wirusa MD. Przykładem takiej szczepionki jest szczepionka oparta na szczepie SB 1 (21). Szczep ten występuje w formie związanej z komórką. Szczepionka sporządzona przy użyciu tego szczepu chroni ptaki przed wszystkimi patotypami wirusa MD (32).

Szczepionki oparte na serotypie 3, czyli herpeswirusie indyczym (HVT) (11). Szczepionka ta produkowana jest w postaci zliofilizowanej (wirus wolny od komórek) i w postaci płynnej (wirus związany z komórką). Szczepionka zabezpiecza ptaki przed patotypami zjadliwymi i klasycznymi, natomiast nie w pełni przed patotypami bardzo zjadliwymi (20).

Szczepionki sporządzone z dwóch, a nawet trzech różnych szczepów np. HVT i SB 1 lub Md 11, SB 1 i HVT (32, 33). Podstawą do ich opracowania były obserwacje, że połączenie pewnych szczepów daje lepszą odporność przeciwko wszystkim szczepom występującym w terenie niż szczepionka oparta tylko na jednym serotypie. Jest to spowodowane synergistycznym działaniem dwóch szczepów. Szczepionka tego typu chroni ptaki przed lityczną fazą zakażenia wirusowego i nie powoduje przejściowej immunosupresji (33, 34).

Mechanizm działania szczepionek przeciwko chorobie Mareka polega na: hamowaniu wirusii wirusa terenowego (zjadliwego), zmniejszeniu jego wydalania do otoczenia, niedopuszczeniu do zmian wczesnych, niedopuszczeniu do immunosupresji, zachowaniu immunokompetencji oraz hamowaniu powstawania zmian nowotworowych.

Po szczepieniu u ptaków rozwija się odporność humoralna i komórkowa. Przeciwciała powstają pomiędzy 1 a 2 tygodniem po szczepieniu i są wykrywalne do końca życia ptaka. Jednakże odporność komórkowa gra

tu pierwszoplanową rolę. Hamowana jest wiremia wirusa zjadliwego przez T limfocyty, nie dochodzi do zmian wytwórczych i immunosupresji, jest zachowana immunokompetencja (23, 35). Poprzez eliminację lub ograniczenie litycznej fazy zakażenia wirusowego wydalenie zjadliwego wirusa do otoczenia jest bardzo ograniczone. Istotną rolę w tym procesie odgrywają efektorowe komórki T, makrofagi i komórki NK.

Immunosupresja

W następstwie zakażenia wirusem MD, po pobudzeniu reakcji immunologicznych następuje obniżenie immunokompetencji gospodarza. Powstaje rozległa immunosupresja, zależna od genetycznej wrażliwości kurcząt, onkogenności szczepu wirusowego oraz czynników zewnętrznych, jak: stres, niedobory żywieniowe, skażenie środowiska, infekcje innymi drobnoustrojami, czy też działanie immunosupresorów np. leków (31). Upośledzeniu ulega zarówno odporność humoralna, jak i komórkowa. Prawdopodobnie jest konsekwencją pierwszej litycznej fazy zakażenia limfocytów B lub latentnej infekcji komórek T, a także działania komórek supresyjnych, czy też supresorów produkowanych przez te komórki (23, 31).

Zakażenie wirusem MD osłabia odpowiedź na mitogen komórek T, powoduje opóźnienie odrzucania przeszczepów skórnych oraz komórek transplantacyjnych nowotworowych (36). Podczas cytolitycznej fazy w pierwszym tygodniu po zakażeniu wirusem MD na skutek obniżenia reakcji komórek T na mitogen notuje się wczesną immunosupresję o charakterze przejściowym. Druga faza niereagowania na mitogen jest powodowana przez komórki produkujące rozpuszczalne czynniki supresorowe — prostaglandyny. Rozróżniamy trzy typy supresorów: makrofag supresor, komórki guza i supresor komórek T. Schat (23) sugeruje, że komórki guza MD są w istocie supresorem komórek T. Hamują one także aktywność komórek NK.

Podsumowując należy stwierdzić, że przy obecnym stanie wiedzy o mechanizmach odporności przeciwnowotworowej powstającej po zakażeniu wirusami onko-

gennymi ostatnie słowo nie zostało jeszcze powiedziane. Nie wiadomo co przyniesie przyszłość, w której zostaną na pewno wyjaśnione wszystkie dręczące nas niejasności, a fenomen działania szczepionek przeciwko chorobie Mareka będzie zupełnie zrozumiały.

Piśmiennictwo

1. Bülow V., Biggs P. M.: *Avian Pathol.* 4, 147, 1975.
2. Bülow V.: *Mh. Vet. Med.* 39, 93, 1984.
3. Bülow V., Weiler H., Klasen A.: *Avian Pathol.* 13, 621, 1984.
4. Calnek B. W., Witter R. L.: *Marek's Disease. Disease of Poultry Iowa State Univ. Press, Ames 1984, s. 325.*
5. Calnek B. W.: *J. Natl. Cancer Inst.* 51, 929, 1973.
6. Calnek B. W., Fabricant J., Schat K. A., Murthy K. R.: *J. Natl. Cancer Inst.* 63, 623, 1978.
7. Calnek B. W.: *Marek's Disease. Scientific Basis and Methods of Control.* Payne L. N. wyd. M. Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands. 1985, s. 293.
8. Calnek B. W.: *CRC. Critical Rev. Microbiol.* 12, 293, 1986.
9. Cole R. K.: *Oncogenesis and herpesviruses, IARC Lyon 1972, s. 123.*
10. Haffer K., Sevoian M., Wilder M.: *Int. J. Cancer* 23, 648, 1979.
11. Kawamura A., King D. J., Andersen D. P.: *Avian Dis.* 13, 853, 1969.
12. Kodama H., Sugimoto C., Inage F., Mikami T.: *Avian Pathol.* 8, 33, 1979.
13. Payne L. N., Rennie J.: *J. Natl. Cancer Inst.* 51, 1559, 1973.
14. Pink J. R. L., Droege W., Hale K., Migiano V. C., Ziegler A. A.: *Immunogenetics* 5, 303, 1977.
15. Plachy J., Jurajela V., Beneda V.: *Folia Biol.* 30, 257, 1334.
16. Powell P. C.: *World's Poultry Sci. J.* 42, 205, 1986.
17. Rispen B. H., Van Volten H., Maas H. J., Hendrik J. L.: *Avian Dis.* 16, 168, 1972.
18. Rispen B. H., Van Volten H., Mastebroek N., Maas H. J., Hendrik J. L.: *Avian Dis.* 16, 126, 1972.
19. Ross L. J. N.: *Nature (London)* 268, 644, 1977.
20. Ross L. J. N., Biggs P. M.: *Vaccination against Marek's disease, w: Vaccine intervention against virus-induced tumours red. Goldman J. M., Epstein M. A., wyd. McMillan, London 1986, s. 13.*
21. Schat K. A., Calnek B. W.: *Natl. Cancer Inst.* 60, 1075, 1978.
22. Schat K. A., Calnek B. W.: *Avian Dis.* 22, 693, 1978.
23. Schat K. A.: *Avian immunology: basis and practice T. 2, CRC Press. Inc. Boce Raton, Florida 1987, s. 101.*
24. Schat K. A., Murthy K. K.: *J. Virol.* 34, 130, 1980.
25. Scharma J. M., Witter R. L., Burmester B. R.: *Infect. Immun.* 8, 715, 1973.
26. Scharma J. M., Witter R. L., Purchase H. G.: *Nature (London)* 253, 477, 1975.
27. Scharma J. M.: *Infect. Immun.* 18, 46, 1977.
28. Scharma J. M., Coulson B. D.: *J. Natl. Cancer Inst.* 63, 527, 1979.
29. Scharma J. M.: *Avian Dis.* 25, 882, 1981.
30. Scharma J. M.: *Vet. Immunol. Immunopath.* 5, 125, 1983.
31. Scharma J. M.: *Proc. 3rd Int. Symp. Marek's Disease, Osaka, 1983, s. 227.*
32. Witter R. L.: *Avian Pathol.* 11, 49, 1982.
33. Witter R. L., Lee L. F.: *Avian Pathol.* 13, 75, 1984.
34. Witter R. L., Scharma J. M., Lee L. F., Opitz A. M., Henry C. W.: *Avian Dis.* 28, 44, 1984.
35. Witter R. L.: *World's Poultry Sci. J.* 45, 60, 1989.
36. Theis G. A.: *J. Immunol.* 34, 826, 1981.

Adres autora: prof. dr hab. Elżbieta Samorek-Salamonowicz, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

GRASS W. B.: Wpływ krótkotrwałej ekspozycji kurcząt na kortykosteron na odporność na zakażenie *Escherichia coli* i na odpowiedź humoralną na erytrocyty owcy. (Effect of short-term exposure of chickens to corticosterone on resistance to challenge exposure with *Escherichia coli* and antibody response to sheep erythrocytes). *Am. J. Vet. Res.* 53, 291—293, 1992 (3)

Kurczęta w wieku 8—12 tygodni po uprzedniej 4-tygodniowej adaptacji o stężeniu heterofilów do limfocytów 0,31 otrzymywały przez 30 min. pokarm zawierający 30, 40 lub 60 mg kortykosteronu/kg paszy. Po 0,5—12 godz. kurczęta zakażano do worka powietrznego mniejszego brzuszno 10⁵ cfu *E. coli*. Identyczną dawkę podawano grupie kontrolnej nie ekspozowanej na kortykosteron. Częstotliwość zapalenia worka osierdziowego obniżyła się z 78% do 7% po 2 i 4 godz. po ekspozycji. Jednocześnie stosunek heterofilów do limfocytów przekraczał 1,04. Maksymalna wartość tego stosunku była skorelowana z zawartością hormonu w paszy. Badania z użyciem erytrocytów owcy wykazały, że ekspresja odporności po dożylnym podaniu erytrocytów zaznaczała się najsilniej po 4 godz. po podaniu hormonu. Była ona skorelowana pozytywnie z poziomem limfocytów krwi obwodowej. Zmiany w workach powietrznych w formie ich obrzęku, infiltracji heterofilami, a następnie ostrego obrzęku (po 4 godz. po zakażeniu) nie występowały u kurcząt otrzymujących karmę z dodatkiem 40 mg kortykosteronu/kg paszy.

HANSEN B., DI BARTOLA S. P., CHEW D. J., BROWNIE C., BERRIE H. K.: Profile aminokwasowe u psów z chroniczną niewydolnością nerek karmionych dwoma dietami. (Amino acid profiles in dogs with chronic renal failure fed two diets). *Am. J. Vet. Res.* 53, 335—341, 1992 (3)

Profile aminokwasów surowicy, poziom albumin surowiczych i białka całkowitego surowicy określono dla psów z chorobami nerek. U 9 psów, u których zdiagnozowano chroniczną niewydolność nerek o różnym stopniu nasilenia, klirens egzogennej kreatyniny wynosił 0,5—2,13 mg/kg/min. Kontrolę stanowiła grupa 10 zdrowych psów. Wszystkie psy otrzymywały przez 10 tygodni karmę zawierającą 31% białka. Następnie przez 8 tygodni otrzymywały karmę o zawartości 16% białka. Chronicznej niewydolności nerek towarzyszyły niewielkie stopnia zmiany w stężeniu aminokwasów w surowicy krwi. Dieta bogata w białko obniżała w surowicy stężenie glutaminy, leucyny, proliny i seryny oraz powodowała wzrost poziomu 3-metylohistydyny. Dieta uboga w białko powodowała u psów z chroniczną niewydolnością nerek obniżenie poziomu seryny w surowicy oraz wzrost stężenia cystationiny, fenyloalaniny i 5-metylohistydyny. Zdrowe i chore psy niezależnie od rodzaju diety wydalaly niewielkie ilości aminokwasów z moczem. Klirens metylohistydyny u psów chorych był znacznie niższy niżeli u psów zdrowych.